

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS  
FACULDADE DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

ESTUDO DO PROCESSAMENTO E AVALIAÇÃO  
NUTRICIONAL DE MISTURAS CONTENDO  
LEITE DE SOJA, MILHO, LEITE DE  
VACA E SORO DE QUEIJO

*José Luis Lopez Martinez*

Orientador:

*Dr. Roberto Hermínio Monetti*  
*Professor da Faculdade de Tecnologia de Alimentos*

Tese apresentada à Faculdade de Tecnologia de Alimentos da  
Universidade Estadual de Campinas, para obtenção do título  
de Mestre em Ciências em Tecnologia de Alimentos.

.1975.

UNICAMP  
BIBLIOTECA CENTRAL

À minha esposa

Melba

## INDICE

	página
RESUMO	i
SUMMARY	iv
I. INTRODUÇÃO	1
II. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
III. MATERIAIS E MÉTODOS.....	46
A. Materiais.....	46
.1. Ingredientes (nutrientes) para en- saíes biológicos e misturas.....	46
.2. Reativos.....	46
.3. Aparelhos e equipamentos de labora- tório.....	46
.4. Equipamento de planta piloto.....	46
.5. Animais utilizados nos ensaios.....	47
B. Métodos.....	47
.1. Maceração.....	48
.2. Inativação de enzima lipoxidase.....	49
.3. Moagem.....	49
.4. Filtração ou separação de sólidos in- solúveis.....	49
.5. Cozimento.....	49
.6. Secagem.....	50
.7. Preparo do leite de milho para die- tas dos ensaios biológicos.....	51
.8. Análises físicas e químicas.....	52
.9. Ensaios biológicos.....	53

IV. RESULTADOS .....	58
.1. Análises químicas e físicas.....	58
.2. Absorção de água pelos grãos de soja....	60
.3. Determinação da atividade residual do inibidor de tripsina (fator antitripsina residual) em função do tratamento térmi- co do leite de soja.....	62
.4. Ensaio biológico.....	66
V. DISCUSSÃO DE RESULTADOS.....	72
.1. Análises químicas e físicas.....	72
.2. Efeito da temperatura da água da macera- ção na absorção desta, pelos grãos de so- ja.....	72
.3. Efeito da moagem dos grãos com água quen- te entre 80 e 96°C, no sabor do leite de soja.....	73
.4. Atividade residual do inibidor de tripsi- na em função do tratamento térmico do - leite de soja.....	74
.5. Crescimento dos ratos "Whistar" alimenta- dos com leite de soja que teve diferen- tes tratamentos térmicos (avaliação do PER).....	75
.6. Crescimento dos ratos "Whistar" alimenta- dos com misturas de leite de soja e ou- tros nutrientes (milho e metionina, lei- te de vaca e soro de queijo).....	77
.7. Correlação do fator antitripsina resi- dual no leite de soja (após tratamento - térmico) e o valor PER.....	78

.9. Comparação dos valores de PER e ganho de peso dos ratos alimentados com as dietas de leite de soja e leite de soja e outros nutrientes.....	79
VI. CONCLUSÕES.....	81
VII. BIBLIOGRAFIA .....	84

## R E S U M O

As condições adotadas para a produção do leite de soja, foram escolhidas da literatura e para cada etapa de produção (maceração, inativação da lipoxidase, moagem, filtração e secagem), empregaram-se as técnicas mais simples para se trabalhar a nível de planta piloto e de se obter um leite de boas qualidades sensoriais e nutricionais.

Encontrou-se que a temperatura exerce influência na velocidade de absorção de água pelos grãos de soja durante a maceração. A 60°C durante 1 hora os grãos absorvem uma quantidade de água igual a seu peso inicial e a 25°C em 8-12 horas, apenas conseguem o mesmo aumento de peso. Esta última técnica a 25°C foi a empregada - por sua facilidade na obtenção do leite de soja.

A técnica da moagem dos grãos escolhida foi a que produziu a melhor inativação da lipoxidase e extração das proteínas solúveis da soja. Com inativação da lipoxidase feita antes da moagem, pela submersão dos grãos de soja durante 3 min. em água fervendo a 96°C, obteve-se um leite com características aceitáveis de odor e sabor, mas uma parte das proteínas são insolubilizadas pelo efeito do calor aplicado, sedimentando-se quando o leite é deixado em repouso. Enquanto que, moendo-se os grãos com água quente entre 80-96°C em um liquidificador doméstico durante 5 min., obteve-se um leite com melhor odor e sabor; com suas proteínas solubilizadas que não sedimentaram quando deixado em repouso por vários dias.

No preparo do leite para os ensaios biológicos os grãos de soja foram macerados durante 8 hrs a 25°C e moídos com água a temperatura ambiente na relação 9:1 (água:grãos). O leite obtido foi filtrado e cozido em banho-maria e em autoclave. Pelo cozimento do leite em B.M. a 96°C por 60 e 90 min., conseguiu-se destruir 69 e 70% do fator antitripsina respectivamente. Pelo cozimento em autoclave a 121°C por 15 e 30 min. conseguiu-se destruir 83 e 84% do fator antitripsina, respectivamente.

A secagem do leite foi feita num spray-dryer tamanho planta piloto, com ar de entrada a 200-220°C, obtendo-se um leite em pó com boas características de odor, sabor, cor, granulometria e o seu valor nutricional não foi diminuído pela alta temperatura do ar.

Para a obtenção do leite de milho, sofrem a ação de  $\alpha$  amilase, para desdobrar o amido em dextrinas. O extrato obtido foi secado no spray-dryer, obtendo um pó de boas características sensoriais e mais digestível para ser usado em ensaios biológicos.

Dos leites de soja sem cozimento e cozidos durante 30, 45 e 60 min. a 96°C, obtiveram-se os seguintes PER: 0,30; 2,27; 2,13; 2,36 respectivamente. Quando cozido 15 min. a 121°C o PER foi 2,16. - Estes PER foram calculados em relação ao PER da caseína padronizada (2,5). Concluiu-se que o melhor cozimento do leite de soja foi quando tratado 60 min. a 96°C com PER 2,36.

No confronto dos valores de PER com os do fator anti-tripsina residual observou-se aparente falta de correlação entre os dois parâmetros.

A composição percentual das proteínas nas misturas de leite de soja com outros ingredientes e seus PER foram: a) leite de soja 70% e leite de vaca 30% PER 2,42. Esta mistura teve um bom valor nutricional, aproximadamente 80% do leite de vaca (PER 3,1) o que nos parece importante considerando-se a alta porcentagem empregada de proteína vegetal. b) Leite de soja 80% e soro de queijo 20%, PER 1,06. Esta mistura mostrou baixo valor nutricional, pois os animais apresentaram pouco crescimento ao longo da experiência. c) Soro de queijo 100%, PER negativo - 0,84. O soro de queijo mostrou-se prejudicial à saúde dos ratos, sendo que 4 morreram e os 2 remanescentes ficaram em péssimas condições de saúde. d) Leite de soja 60% e leite de milho 40%, PER 1,91. Neste caso o PER teve queda em relação ao PER 2,36 do leite de soja (100%).

e) Mesmas proporções de (d) mais 0,2% metionina, PER 2,24. Mostra-se a possibilidade de se produzir uma dieta com proporções maiores de leite de milho com valor nutricional quase que o mesmo do leite de soja. Não foi testado o leite de milho (100%), na dieta dos ratos porque o milho contém proteína de menor valor nutricional que a soja.

Uma outra observação foi que as misturas do leite de soja com outros nutrientes foram pouco ingeridas pelos animais, 25-32g, se compararmos com a ingestão da caseína, 41g, fato que afetou o aumento dos pesos dos ratos, 50-60g e 90g respectivamente.



## S U M M A R Y

Conditions given in the literature for the production of soymilk (soaking, lipoxidase inactivation, water grinding, filtration and drying) were studied.

The easiest techniques for working at pilot plant level - that would give a soymilk with good sensory and nutritional qualities were chosen. It was found out that the water absorption velocity of soybeans is a function of the water temperature; at 60°C - in 1 hr., the amount of water absorbed by the soybeans is equal to its initial dry weight. At 25°C, 8-12 hrs. are required to absorb the same amount of water. The latter technique (at 25°C) was employed in this work because its simplicity.

The grain grinding technique was selected, accordingly to its lipoxidase inactivation efficiency and soluble protein extractibility. With lipoxidase inactivation done before grinding by a 3 min. immersion in nearly boiling water (96°C), a milk without "beany flavor" was obtained, but some proteins were insolubilized by the applied heat, precipitating when the milk was allowed to stand. However, by grinding the soybeans with water heated between 80-96°C - in a domestic blender for 5 min, soymilk with better taste qualities was obtained and its solubilized proteins did not precipitate even after standing for some days.

The soymilk employed for the biological assays was produced from soybeans soaked 8 hrs. with water at room temperature (25°C) - and ground at 25°C also, with a 9:1 grain: water ratio.

By heating the milk at 96°C for 60 min. and 90 min., 69 and 70% of the antitrypsin factor was destroyed, respectively; at 121°C for 15 and 30 min, 83 and 84% of the same factor was destroyed. The soymilk was dried in a spray-dryer, at 200-220°C inlet air temperature. The powdered milk obtained had good aroma, taste (flavor), - colour and texture and its nutritional value was not lowered by -

the high air inlet temperature.

Corn milk was obtained from grains submitted to  $\alpha$ -amylase action, splitting the starch to dextrans. The spray-dried powdered milk obtained had good sensory qualities and was more digestive - for the biological assays.

With raw soymilk heated for periods of 0, 30, 45 and 60 min. at 96°C, the following PER values were obtained: 0,30; 2,27; 2,13 and 2,36 respectively. When the soymilk was heated 15 min at 121°C the PER was 2,16. These PER values were standardized with a casein control taken as 2,5.

It was concluded that the best heating for soymilk is 60 min. at 96°C to obtain a PER value of 2,36. No apparent correlation was observed between PER values and antytriptic residual factors.

The composition of mixtures of other protein containing - foods with soymilk and their PER values were: a) 70% soymilk and 30% cow's milk, PER 2,42. this mixture had a good nutritional value, about 80% of that for cow's milk (PER 3,1) which seems important - considering the high proportion of vegetable protein used. b) 80% soymilk and 20% cheese whey, PER 1,06. this mixture showed low nutritional value, since animal growth was poor. c) 100% cheese whey, PER - 0,84. The whey showed harmful properties for rats, since - four died and the other two survived the experiment in a condition of very poor health. d) 60% soymilk and 40% corn milk, PER 1,91. This PER is less than the 100% soymilk PER 2,36. e) The same proportions as (d) plus 0,2% methionine, PER 2,24. This mixture shows possibilities of producing a diet with higher proportions of corn milk and with almost the same nutritional value as soymilk. The 100% corn milk was not tested with the rats, because of its know - lower nutritional value.

Something else that was observed, was the low ingestion, of soymilk mixtures by the animals, 25-32 g, against 41 g of casein, being affected negatively, because of this fact the weight gains - of the rats were 50-60 g and 90 g respectively.

## I - INTRODUÇÃO

O leite de soja, extrato aquoso resultante da moagem úmida de grãos de soja, reúne qualidades nutricionais, suficientemente valiosas para despertar o interesse de nutricionistas e pesquisadores de disciplinas científicas afins. Fato, pelo qual o leite de soja tem sido estudado amplamente em diversos aspectos desde a matéria-prima utilizada para sua obtenção, até as diversas técnicas empregadas na produção e características finais do mesmo.

Torna-se importante salientar que o leite de soja, tanto por possuir qualidades nutricionais como alimento como pela tecnologia relativamente simples para sua obtenção, vem despertando o interesse de órgãos e instituições governamentais preocupados em prover de alimentos nutritivos a amplos setores populacionais, especialmente nos países de poucos recursos alimentícios.

Não obstante as citadas vantagens apresentadas pelo leite de soja, existem algumas desvantagens, as quais devem ser ressaltadas, como suas características sensoriais de odor, sabor e textura; ao mesmo tempo é importante lembrar que alguns fatores, que podem reduzir o valor nutricional deste, ainda não são totalmente conhecidos. Mesmo considerando que existe uma grande semelhança entre o modelo protéico do leite de vaca e o do leite de soja no tocante à composição de aminoácidos essenciais, é difícil afirmar que, apenas por este fato, o produto natural venha a ser substituído satisfatoriamente pelo produto manufaturado. Além disso, o valor nutricional das diversas proteínas, considerando as diferentes origens, isto é, vegetais e animais para o leite de soja e de vaca respectivamente, juntamente com as já mencionadas características sensoriais, vêm completar a afirmação anterior.

Do mesmo modo, ao se pretender substituir permanentemente o leite de vaca pelo de soja podem surgir deficiências nutri

cionais no consumidor, fato esse que pode ser devido às diferenças existentes entre esses leites.

Deve-se também levar em conta o parcial desconhecimento que ainda se tem da complexa natureza do leite de vaca quanto a totalidade de suas propriedades nutricionais, fisiológicas e da natureza bioquímica de seus componentes; fato que acontece em maior escala e profundidade com o leite de soja, resultando assim ser impossível ter certeza da influência que os múltiplos componentes presentes neste leite podem ter na nutrição do homem. Tal é o caso dos fatores antinutricionais e tóxicos presentes naturalmente nos grãos de soja, fatores esses que ainda não foram identificados na sua totalidade e cujos efeitos fisiológicos no homem não são de todo conhecidos.

Deve-se mencionar também o esforço que muitos cientistas têm desenvolvido com o objetivo de conseguir com que o leite de soja, embora não sendo um substituto do leite de vaca, pelo menos seja um alimento que possa trazer, principalmente, uma grande contribuição protéica na dieta diária do homem; isso sem se considerar o seu valor calórico, vitamínico e mineral, valores estes que podem cobrir uma parcela razoável das necessidades calórica, vitamínica e mineral do ser humano, quando não se tem dietas básicas que as cobrem eficientemente.

Uma criança de 6 anos, ou um adulto, que ingere 400 ml - diários do leite de soja, pode cobrir assim suas necessidades protéicas em 40 a 50% e 20% respectivamente (considerando um leite com 3% de proteínas, similar ao conteúdo protéico do leite de vaca).

Os trabalhos científicos e técnicos realizados, buscando incorporar o leite de soja na dieta diária de crianças, são variados e numerosos, dentre os quais, os mais importantes dizem respeito a formulações que fornecem e suplementem tanto o valor nutricional do leite, como vitaminas, minerais, sabor e textura (chocolate, baunilha, morango etc.).

Outras formulações incluem leite de vaca, na proporção apropriada para manter o valor biológico deste, além de suas características sensoriais (80% do leite de vaca e 20% de leite de soja). Neste trabalho foram preparadas e testadas, por meio de ensaios biológicos (PER), formulações com leite de vaca, soro de queijo, leite de milho e adição do aminoácido metionina (0,2 % DL-Metionina). Misturas de farinha de soja com milho, acrescidas de metionina, são comumente citadas em publicações.

Em países onde se consome algum cereal em larga escala, são realizados estudos e testes biológicos procurando acrescentar soja à esse cereal, visando assim enriquecer a alimentação.

As vantagens econômicas resultantes do uso de uma leguminosa, como a soja, na alimentação diária do homem, como substituta das proteínas de origem animal, sejam do leite de vaca ou da carne, são evidentes. Basta considerar os custos do cultivo da soja e a produção do leite a partir desta, comparados com os altos custos da criação e manutenção do gado leiteiro e de corte.

Visamos neste trabalho estudar as possibilidades de se produzir um leite de menor custo, que o leite de vaca, utilizando produtos de origem vegetal, tais como, soja e milho. Estudou-se também a complementação destes leites com leite de vaca, soro de queijo e metionina. Tratou-se de alcançar os objetivos deste trabalho seguindo o mais próximo possível as técnicas já descritas a respeito, na literatura.

## II - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Considera-se o leite de soja como um derivado não fermentado de soja que tem sido tradicionalmente preparado a partir desta e usado como alimento humano desde antes da era cristã, na China (80).

Usualmente elabora-se o leite de soja macerando os grãos da leguminosa em água, de 8 a 12 horas, moendo-os posteriormente com água, aquecendo ou cozendo posteriormente a mistura obtida, para melhorar suas propriedades de odor, sabor e valor nutricional, filtrando-a finalmente para separar a fase líquida da sólida, Bourne (13).

O leite de soja pode ser obtido a partir do grão completo ou a partir da farinha integral, que inclui a casca no primeiro caso, ainda que, tradicionalmente se obtem a partir de grãos completos de boa qualidade (80).

### A. PRODUÇÃO DE LEITE DE SOJA

Smith e Circle (80) pag. 358, consideram geralmente como etapas fundamentais na produção do leite de soja, as seguintes:

- a) Lavagem dos grãos, com água.
- b) Maceração, deixam-se os grãos durante 6 a 12 hrs. em água 3:1. (3 partes de água para 1 parte de grãos).
- c) Moagem úmida, moem-se com água na razão de 9:1.
- d) Filtração e cozimento.
- e) Secagem.

#### 1. Maceração

As opiniões são diversas no que diz respeito de como se deve desenvolver esta etapa, pois considera-se que desta etapa -

dependem das propriedades finais do produto e o rendimento do processo.

Lo et al. (55), prepararam leite de soja a partir de grãos macerados durante 9 horas em água à temperatura ambiente, e obtiveram rendimentos de extração de sólidos de leite maiores que no caso de grãos não macerados ou de leite obtido a partir da farinha de soja, no entanto houve perda de 1,6% de sólidos na água de maceração. As temperaturas da água usada para a extração na moagem, foram entre 55°C e 65°C e obtiveram-se elevados rendimentos de sólidos no leite, em ambos os tratamentos dos grãos (maceração). No entanto quando se maceraram os grãos à temperatura ambiente e a água de moagem foi de 45°C a 80°C, os rendimentos de extração foram ótimos comparados com os alcançados usando água a outras temperaturas ou pré-tratando os grãos de maneira diferente.

Os grãos macerados sempre renderam maiores volumes de leite de soja, que os não macerados ou que a farinha. Observou-se que a moagem a temperaturas acima de 85°C, acarretou dificuldades na filtragem baixando os rendimentos do leite produzido.

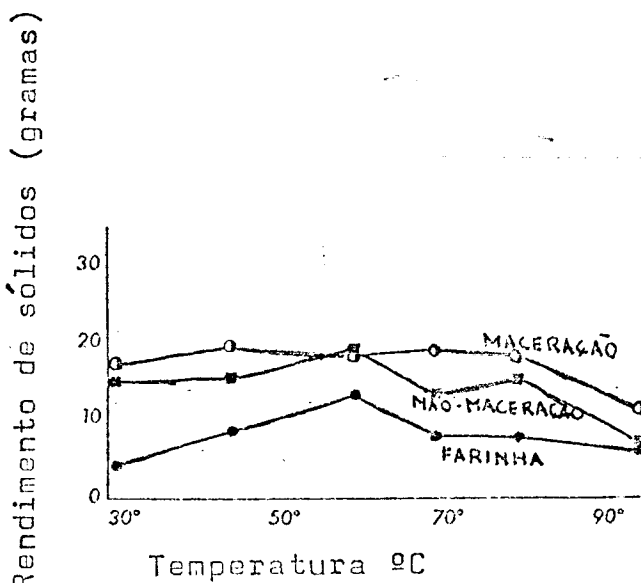


FIGURA 1: Rendimento total de sólidos de leite de soja a várias temperaturas e pré-tratamentos. Lo et al (55)

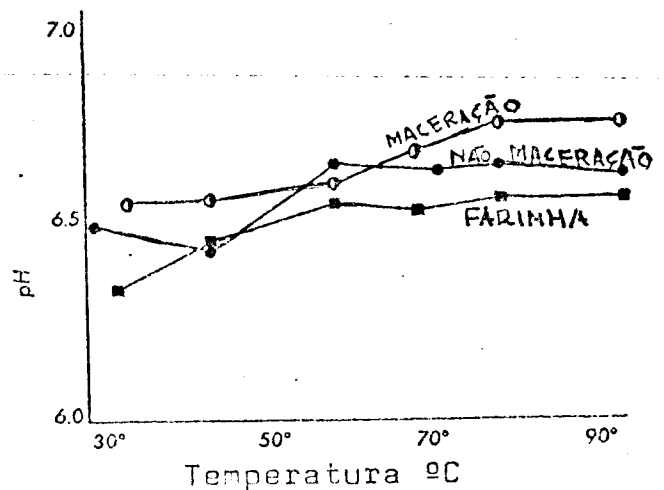


FIGURA 2: pH do leite de soja extraído a várias temperaturas a partir de três pré-tratamentos dos grãos. Lo et al. (55)

Badenhop e Haackler (5), pesquisaram o efeito da maceração alcalina de grãos de soja, em solução de hidróxido de sódio, como pré-tratamento para preparação do leite de soja.

As condições de alcalinidade na maceração fizeram mais susceptível ao calor o inibidor da tripsina, sendo por conseguinte mais fácil sua destruição durante o processo de moagem úmida e quente.

As condições alcalinas também se mostraram favoráveis com respeito ao conteúdo ligeiramente maior de niacina no leite. Ambas as coisas, melhoram o valor nutricional do leite de soja.

Uma desvantagem do pré-tratamento alcalino dos grãos de soja foi percebido como destruição parcial do amino ácido cisteína, que teve como consequência, baixos valores de PER, obtidos com este leite de soja de alto pH. No entanto a seriedade deste problema somente se considerou para leites com pH de 8,0 ou maiores. O leite de soja que reuniu as melhores características foi processado a quente, com pH 7,37, que reteve 5,9% de inibidor de tripsina, 1,41 g de cisteína por 16 g de nitrogênio (1,74 g/16 g de N, no processo de pH 6,55) e um valor de 2,18 PER (comparado com 2,5 PER de caseína).

Hand et al. (35), dentre três experiências realizadas para a obtenção do leite de soja, (Quadro 1) concluíram que a partir de grãos de soja inteiros, macerados em condições comuns (água de maceração à temperatura ambiente e durante 8 a 12 horas) e moídos num desintegrador "Rietz" com água suficiente para obter uma mistura com 16% de sólidos foi o melhor.

O máximo rendimento de extração de sólidos obtido pelo processo de extração por água foi 65%. Os 23% de sólidos de soja e a casca, perdeu-se como resíduo insolúvel. Os outros processos tiveram rendimentos maiores na extração de sólidos de soja. O leite obtido com grãos que foram descascados em seco continha 90% dos sólidos originais da soja e 96% do nitrogênio; a única perda foi nas cascas. O leite de grãos macerados e descascados em seco continham 80% de sólidos e 90% do nitrogênio, originais.



Com respeito ao sabor, odor e consistência (flavor), a equipe de provadores deu a sua preferência para o leite obtido a partir de grãos inteiros macerados e moidos com água, o segundo lugar se considerou para o processo de grãos inteiros descascados em sêco e dissolvidos em água. O terceiro processo foi o menos preferido.

QUADRO 1: RESULTADOS DO TESTE SENSORIAL COM LEITE DE SOJA OBTIDO POR TRÊS PROCESSOS DIFERENTES DE PRODUÇÃO. Hand et al (35).

	PREFERÊNCIAS MÉDIAS	
	Flavor	Consistência
Grãos de soja inteiros descascados em sêco	6.1	6.8
Grãos de soja inteiros macerados e descascados	5.2.	5.8
Grãos de soja inteiros macerados e moidos com água	6.7	8.1

A diferença em pontos considera-se insignificante, uma vez que são aceitáveis os três tipos de leites produzidos. A maior diferença encontrada entre estes leites é a consistência; que pode ter favorecido os resultados.

Lo et al. (55), pesquisaram como varia a composição química e o rendimento na produção do leite de soja, quando se emprega a maceração como pré-tratamento de extração. Encontrando que quando o tempo de maceração aumenta, maiores quantidades de sólidos solúveis se dissolvem na água de maceração sendo perdidos. Análises de sólidos mostraram a seguinte composição: 23,3% proteína crua, da qual

48,7% era nitrogênio não protéico; 2,8% gordura; 4,5% sacarose; - 1,5% rafinose; 3,5% estroglicos e 30,7% de outros carboidratos. As modificações aparentemente metabólicas, ocorridas durante a maceração ocasionaram que o teor original de proteínas nos grãos, (43%) baixara para 30% em 24 horas de maceração, e a 36% em 72 horas. O nitrogênio não protéico aumentou durante os mesmos intervalos de tempo de 0,16% a 0,28% e 0,86%. A gordura decresceu de 24% a 19% em 72 horas. Portanto recomendam os autores a maceração dos grãos o mínimo de tempo, necessário para alcançar o dôbro do seu pêso sêco original aproximadamente. Isto permite que os grãos sejam facilmente moídos conseguindo-se a ruptura da maioria de suas células, que assim liberam seus constituintes à fração do leite de soja.

A diferença entre o leite de soja produzido a partir de grãos de soja macerados 16 e 72 hrs Hand et al (35) é observada principalmente nos seus conteúdos finais de gordura livre a saber, 13 e 18% respectivamente; e na gordura não livre (bound) 15,6 e 5,2%. Estes resultados aparentemente não implicam diferenças na qualidade do leite de soja, nem na sua composição geral, mas análises quantitativas sobre a proteína verdadeira e nitrogênio não protéico, junto com as análises de amino ácidos totais e livres, poderiam mostrar diferenças nas frações de proteína crua com o maior tempo de maceração. Também alguns açúcares da soja são modificados na sua composição pela maceração; o mesmo pode dizer-se para os oligossacarídeos como para polissacarídeos. O conteúdo vitamínico também é susceptível de variação com o tempo de maceração, De, (24).

Badenhop e Wilkens (6), encontraram que o tempo de maceração dos grãos de soja em água, como pré-tratamento para a produção do leite de soja, afetava grandemente a formação de 1-octen-3-ol. A quantidade deste composto formado à temperatura de 50°C, aumentou com o tempo de maceração e alcançou um máximo, aproximadamente depois de 6 hrs; a velocidade ótima se alcançou com pH de 6-7. Uma fração pura de 1-octen-3-ol, isolado demonstrou ser levorotatório. Baseando-se nestes dados os autores supõem que a formação de 1-oc

tem-3-ol, é enzimática. Determinações de esterase em grãos de soja nas concentrações de 0,5 a 1,0 ppm, são suficientes para produzir aroma no leite de soja.

Hinojosa (43) estudou a maceração de grãos de soja inteiros a 28°C e 58°C nas seguintes soluções: água potável com pH 7,37 e água potável com 0,5% de polifosfato de sódio (pH 8,4).

No caso da água potável os grãos levaram 8 hrs a 28°C para absorver água até dobrar o seu peso original seco, enquanto que os grãos macerados em solução de polifosfato, à mesma temperatura (28°C), conseguiram absorver a mesma quantidade de água em 3,30 hrs. Quando macerados com as antes mencionadas soluções a 58°C, os grãos em água potável dobraram seu peso em 60 min., e os grãos em solução de polifosfato de sódio em 45 min. Demonstrando-se, pelo exposto, que o polifosfato de sódio na concentração de 0,5% em água, exerce influência marcante na velocidade de absorção de água pelos grãos de soja.

Os sólidos totais perdidos durante a maceração variaram de 1 a 5%, e o nitrogênio total entre 0,02 e 0,11% para 4 hrs. de maceração, segundo Bressani e Elias (14).

Bourne, (13) recomenda o uso de água potável à temperatura ambiente, durante 5 a 10 horas, para a maceração dos grãos de soja inteiros, e utiliza este processo para a produção de leite de soja a nível de planta piloto na Universidade de Filipinas. Bourne cita os trabalhos prévios de Hand et al, (35), que usou água com 0,1% de NaOH na maceração dos grãos de soja e água de moagem à 97°C, contendo 0,15% de NaHCO<sub>3</sub>.

Outros colaboradores de Bourne (Carmen Puerto Llano, do Departamento de Química da Universidade de Filipinas. Fev. 1970), recomendam também o uso da água potável para macerar a soja durante 4 a 16 horas até conseguir o aumento ao dobro de peso dos ditos grãos.

Badenhop e Hackler (7), estudaram os efeitos da maceração na perda de cisteína dos grãos de soja e a correção desta deficiência

adicionando metionina (0,001), ao leite de soja produzido. Os resultados de avaliação biológica do leite esferuaram-se determinando o PER, e resultaram suficientemente satisfatórios.

## .2. Moagem

Tradicionalmente a moagem tem sido feita depois de ter a soja macerada, como se viu anteriormente na maceração. Bourne (13), cita diferentes termos que se referem ao sabor, odor etc. que o leite produzido tem, como resultado da moagem tradicional; termos como "beany", "bitter", "painty", "throat-catching" etc. que se referem ao sabor objetável do produto obtido. Cita uma lista de 40 compostos voláteis encontrados no leite de soja, quando os grãos foram moidos à frio. Estes voláteis são a causa das características principais de odor e sabor desagradáveis do leite de soja. Cita como causa principal do desenvolvimento destes voláteis a atividade que a enzima lipoxidase, naturalmente presente na soja desenvolve, tão logo os grãos sejam moidos. A enzima ataca as cadeias longas dos ácidos graxos não-saturados, produzindo grande quantidade de compostos de peso molecular menor.

A inativação adequada da enzima pode prevenir a formação dos compostos que causam mau sabor ao leite.

Se os grãos de soja são cozidos antes de serem moidos a lipoxidase é inativada e o produto tem sabor suave, livre de sabores característicos (beany-flavor). No entanto, este procedimento de cocção, faz que mais proteínas se façam insolúveis em água, resultando um produto mais como suspensão de células que uma solução verdadeira ou emulsão coloidal protéico-gordurosa.

Se os grãos são moidos com água, seguido de aquecimento da mistura, produto da moagem, o sabor da soja característico está presente. Os compostos que o ocasionam formam-se rapidamente durante e após a moagem, não importando a rapidez de aquecimento da mistura, para inativar a lipoxidase.

Uma nova técnica foi desenvolvida para produzir o leite de so

ja com odor e sabor suave, no lugar do indesejável "beany flavor". Foi pré-aquecendo o leite de água fervente e usando água quente a 96°C para moer os grãos, com temperaturas sempre acima de 80°C. Com estas condições de trabalho, a enzima é inativada antes que possa atuar, sobre os ácidos graxos insaturados, causando o "beany flavor"; e além disso solubilizar as proteínas na água de moagem - antes que pela ação do calor se façam insolúveis. O resultado deste processo é leite de soja livre de sabores característicos desagradáveis, com melhor rendimento de extração de proteínas, e uma verdadeira solução coloidal, protéico-gordurosa que é estável e não deposita no fundo dos recipientes, quando fica em repouso; como é o caso do leite tradicionalmente preparado, que antes foi comentado.

Outros autores, Wilkens e Mattick (93), recomendam também o uso de água quente, entre 80 e 100°C, para moer os grãos e manter o produto resultante durante 10 min. entre as mencionadas temperaturas, com o objetivo de inativar a lipoxidase completamente. Enzima esta, causadora do "beany-flavor". No caso de que se usem temperaturas de trabalho entre 60 e 80°C os autores recomendam o emprego de antioxidantes adicionados à água. Neste caso, se a temperatura usada é de 60°C, se obtém máxima extração de sólidos no leite de soja.

Não se demonstrou que o uso de antioxidantes resultará em significância, para evitar o desenvolvimento do "beany-flavor" porque o uso do ácido nordihidroguairético (NDGA), exerceu efeito benéfico quando o processo de moagem se praticou à 80°C, reduzindo a formação de voláteis, mas não se teve resultados evidentes quando a temperatura foi de 100°C.

Blain e Shearer (10), confirmaram os resultados anteriores, obtidos com o uso de NDGA; considerando este ácido como antioxidante efetivo, mas só dentro de limitada faixa de temperatura, dentro da qual parece atuar sobre o sistema ativo da lipoxidase, na catálise de oxidação de cis-cis-1-4-pentadieno de ácidos graxos ou ésteres. Blain assinala portanto que a temperatura mínima de moagem

com água deve ser entre 60 e 80°C, caso contrário, para temperaturas abaixo de 60°C, esta água (H<sub>2</sub>O) resulta inativa como antioxidante, sobretudo se usado com as limitações que impõe "The Food and Drug Administration", devido ao efeito catalítico autoprotetor da enzima lipoxidase presente nos grãos de soja.

Wilkens e Mattick (93) observaram em outras de suas experiências, o efeito que a maceração tem sobre a ativação potencial da lipoxidase. Assinalaram que a soja que foi macerada e moída - produziu maior quantidade de voláteis, que a soja que não foi macerada e moída igualmente à 80°C.

Wilkens e Mattick, tem demonstrado a inativação da enzima - lipoxidase, fora da etapa de moagem, com calor seco à 100°C aplicado durante 30 min. a grãos inteiros ou descascados. Este tratamento demonstrou ter pouca influência sobre a inativação da lipoxidase ou extratibilidade da proteína com água.

O uso de calor seco à 200°C por 15 ou 30 min., baixou consideravelmente a atividade da lipoxidase. Mas ao mesmo tempo a extratibilidade da proteína com água, foi drasticamente reduzida.

Lo, et al. (55) citam o processo de moagem para a produção do leite de soja, praticado à 90°C e na relação de água 1:10 - (grãos:água). Estes autores para diversos processos de produção do leite de soja que mencionam em seu trabalho, recomendam a inativação da enzima lipoxidase à 100°C, com vapor, durante 45 min. (de grãos de soja que tenham sido macerados ou não, previamente), secagem posterior dos grãos, descascamento e moagem a seco. Adicionando-se posteriormente quantidade suficiente de água para obter a concentração de sólidos de 16%. A moagem antes citada, pratica-se em um moinho de martelos.

Em uma segunda experiência, Lo et al. (55), moeram grãos de soja macerados, com água, na relação de 1:8, em um desintegrador "Rietz".

Estudos a nível de planta piloto, desenvolvidos por Hand et al. (35), fazem referência ao uso da moagem com água na relação de

9:1 (água:grãos), a quente (65°C), em um desintegrador "Rietz". Em outra experiência estes mesmos autores citam também o uso de um moinho de martelos para moer grãos descascados, levando o produto da moagem à solução com água à 65°C, até a concentração de 16% de sólidos. Recomendam a homogeneização da mistura à 2000 psi de pressão, que depois é secada no spray-dryer. Este processo de moagem com água, chamado também de extração com água, é avaliado com respeito ao método de moagem à seco com moinho de martelos, verificando o seguinte: a porcentagem de gordura no leite produzido é mais alto para o método aquoso; os carboidratos passam ao resíduo como ingrediente principal, embora pouco se conheça a respeito da composição destes (35). Neste método a destruição da lipoxidase é alcançada por aquecimento à 121°C durante 5 a 10 min. ou durante 30 a 45 min. à 93°C. A destruição da urease se consegue rapidamente em ambos casos do aquecimento pelo que não é considerada mais na discussão dos resultados. Foi observado que a rancidez nos produtos de soja, era controlada a um mínimo quando os grãos eram pré-tratados com calor, antes de moê-los.

Outras características importantes, que foram determinadas são os índices biológicos, PER. Que se encontram satisfatórios para as diferentes frações obtidas na produção do leite de soja, a saber: 2,51, 2,71, 2,11, 2,22 e que correspondem a grãos descascados, resíduo (depois de moído e filtrado) insolúvel em água, leite de soja solúvel em água, e coágulo (obtido do leite, por precipitação ácida). Alguns comentários sobre o sabor, etc. de produtos obtidos por estes métodos já foram feitos na seção anterior de maceração, (Quadro nº1 - pág. 7)

### .3. Filtração

Quando o leite de soja é produzido pelo método de extração com água, Hand et al. (35), recomendam o uso do filtro prensa, para separar o leite dos resíduos sólidos insolúveis. O leite as-

cin obtido é uma solução verdadeira, e portanto, quando posteriormente é armazenado em repouso, não sofre separação em fases.

Paralelamente existe um outro processo, onde os grãos de soja inteiros, previamente descascados, são passados num moinho de martelos, e o produto final da moagem dissolvido em água. Neste caso, ainda que o leite resultante não precise ser filtrado, é passado num homogeneizador sob pressão de 2000 psi para que se obtenha uma solução que não sofra separação em fases posteriormente.

#### .4. Cozimento

Esta etapa do processo é destinada a melhorar o valor nutricional do leite de soja, pela aplicação de calor. São diversos os métodos pelos quais se trata de avaliar o resultado do cozimento do leite e numerosos autores recomendam o cozimento deste (51, 65).

O cozimento é importante pois contribui para a destruição de fatores antinutricionais, naturalmente presentes na soja e no leite obtido a partir desta. O fator antitripsina pode ser considerado como um dos que impedem a digestão eficiente das proteínas do leite de soja pelos animais monogástricos; sendo que, às vezes, sua determinação quantitativa é utilizada como guia para avaliar o valor nutricional do leite. Outros fatores antinutricionais, como hemaglutinina, urease, ácido fítico, etc. também são eliminados do leite por meio do cozimento, mas geralmente não são significativos para avaliar a qualidade nutricional do leite. (51, 65).

Os efeitos da aplicação do calor, são também avaliados considerando a qualidade proteínica do leite (lisina disponível) (86).

Hackler, et al. (31), estudaram o efeito que produzia no leite de soja aquecendo à 93°C e 121°C, durante diferentes tempos. Os resultados foram avaliados biologicamente alimentando ratos brancos. Foram considerados também outros parâmetros de avalia-



ção, como o fator antitripsina e lisina disponível, presente no leite de soja produzido.

Concluiu-se das experiências antes citadas, que a eficiência das proteínas (PER), e conteúdo de lisina disponível, não se alteraram cozinhando o leite de 1 a 6 horas à 95°C. Enquanto que se se cozinhava durante 32 min. à 121°C o PER, declinava ~~marcadamente no seu valor.~~ Igualmente sucedeu com o conteúdo de lisina disponível. Este decréscimo no conteúdo de lisina disponível foi ainda maior quando o cozimento à 121°C, se prolongou de 32 a 40 min. Os resultados anteriormente discutidos indicaram que o PER, obtido com leite de soja processado à quente, depende de ambas variáveis, tempo e temperatura de tratamento. Finalmente concluíram os autores deste trabalho, que os dados obtidos de lisina disponível por análise, parecem ser mais indicativos da qualidade proteíca, quando o leite é super aquecido durante o processo, que quando este não sofre suficiente tratamento térmico, para inativar os fatores antinutricionais, já conhecidos. Neste último caso a determinação do inibidor de tripsina residual no leite de soja depois de processado, é mais indicativo.

Mitchell e Hamilton (60), foram dos primeiros investigadores a conhecer a importância do calor, para a modificação do valor nutricional do leite de soja, e em geral de alimentos proteicos.

De maneira similar a Mitchel e Hamilton (60), Hayword e - Hafner (40), afirmaram que uma das causas mais comuns na variação do valor nutricional dos produtos de soja depende do grau de cozimento aplicado. A importância dos trabalhos citados é devida ao enfoque particular que fazem ao estudo da variação na qualidade - nutricional de produtos de soja obtidos por extração aquosa, devido à aplicação do calor, como é o caso do leite de soja.

Klose et al (48), estudaram também o efeito benéfico do valor nutricional das proteínas da soja, quando são processadas a quente adequadamente.

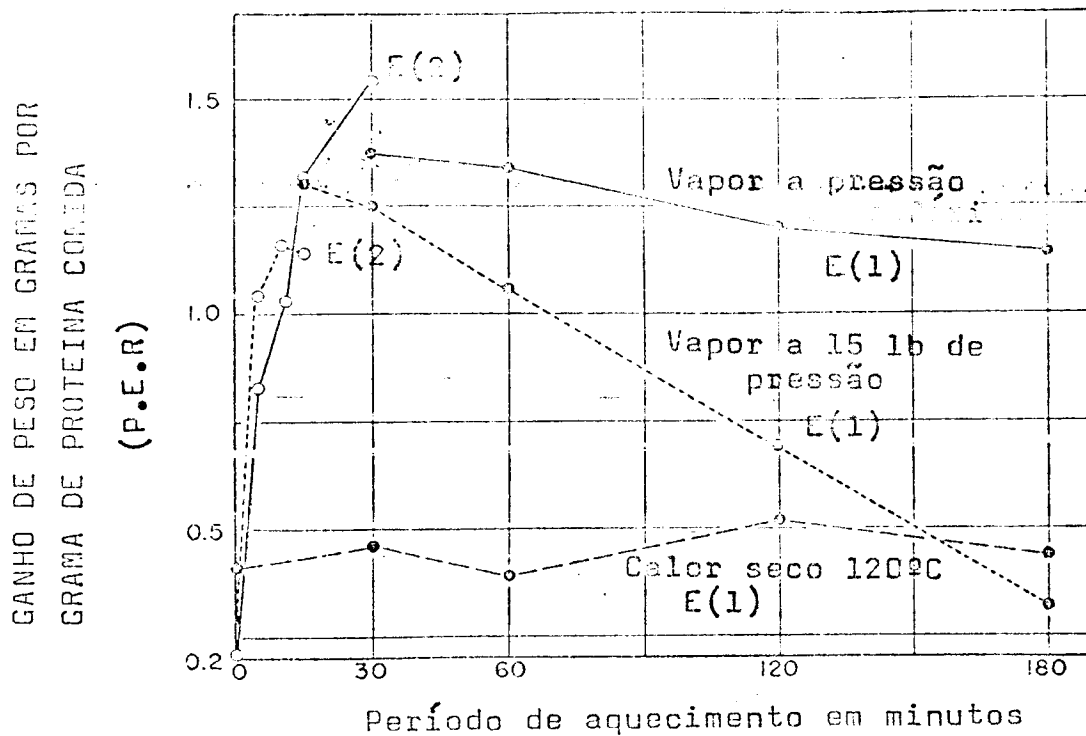


FIGURA 3: Efeito do tipo e grau de tratamento térmico no valor nutricional da proteína de soja. Klose et al (48).

E(1) Experimento 1 E(2) Experimento 2

Expondo os grãos de soja a vapor a pressão atmosférica ou 15 lb/pol<sup>2</sup> de pressão, melhorou-se o valor nutricional máximo, e decaiu este, por exposição prolongada a estas condições de aquecimento. (Veja figura 3)

O calor seco (120°C) foi ineficiente.

Diferentes autores, Hayward e Hafner (40); Hayward e Steenbock (41), estabeleceram com clareza o proveito que se obtém no valor nutricional das proteínas de soja por meio do aquecimento. A diferença do valor nutricional mínimo destes, quando não são aquecidos ou cozidos.

É importante assinalar, o alto teor de lisina no leite de soja, comparado com outros cereais, embora deve-se lembrar que o super-aquecimento do leite de soja, reduz o conteúdo do aminoácido lisina e ainda mais o aminoácido metionina. Klose et al (48).

#### .5. Secagem

A secagem do leite de soja é uma etapa do processo que tem como objetivo primordial, adaptar o produto às condições mais adequadas do mercado. Por exemplo: aumentar o tempo de conservação do produto em condições econômicas; quer dizer sem que sofra alterações físicas ou químicas que depreciem ou diminuam seu valor nutricional, e que por outro lado o volume do mesmo e peso, sejam mínimos, reduzindo os custos de transporte, embalagem e armazenamento, tal é o caso do leite em pó.

Junto às anteriores considerações, existem outras de tipo técnico devidas à secagem que afetam as condições finais do produto. Tais condições técnicas de secagem tem sido estudadas por Hackler et al. (31).

Hackler et al. (31), avaliam o efeito da temperatura de entrada ao spray-dryer e outros métodos de secagem, sobre a qualidade nutricional do leite. Os resultados indicam que temperaturas

de entrada ao spray-dryer de 277°C ou maiores, causam baixos rendimentos na utilização das proteínas do leite de soja, pelo tracto gastrointestinal dos ratos, conjuntamente com a queda do conteúdo de lisina disponível na mesma.

Nas experiências antes citadas os principais parâmetros - usados para a avaliação dos resultados, são: inibidor de tripsina residual, lisina disponível e PER (praticado com ratos albinos).

Hand et al. (35), em investigações de planta piloto, secaram em spray-dryer, leites de soja obtidos por diferentes processos, e concluindo que o leite produzido pelos métodos tradicionais (extração com água) possuía melhores características de aroma, sabor e consistência (conforme quadro 1, pág. 7 ); onde os maiores valores correspondem as melhores características apontadas por - uma equipe de provadores.

As temperaturas de secagem do leite mencionado no parágrafo anterior, foram de 210°C na entrada do ar no spray-dryer e 95°C na saída. O PER foi avaliado, obtendo-se um valor de 2,71 para o leite produzido por extração com água (método tradicional) é de 2,51 e 2,20 para leites produzidos por métodos não tradicionais. Os valores de PER mencionados não apresentam diferenças significativas entre eles, mesmo em relação ao PER 2,5 obtido com a caseína padrão.

Van Buren et al. (86), estudaram as variações de algumas - das propriedades de leites de soja em pó, causadas pelas diferentes condições térmicas aplicadas aos processos de produção. Van Buren et al. (86), propuseram algumas equações de regressão linear, em função de parâmetros determinados analiticamente, como nitrogênio solúvel, lisina disponível, grupos amino livres e valores de Hunter, "L", pretendendo substituir assim as práticas tradicionais para determinação do PER. Os autores desta experiência concluíram suas investigações com a exposição de da-

dos comparativos para quatro processos de secagem de leite de soja, (spray-dryer, freeze, atmospheric roll, e vacuum roll) que não mostram diferenças significantes entre os valores de PER obtidos experimentalmente e calculados com a equação citada. Os valores de PER, para os quatro processos mencionados, são, 2,22; 2,14; 2,16; 2,23 (experimental) e 2,02; 2,18; 2,08; 1,98 (analítico).

As justificações de considerar ou não o nitrogênio solúvel, a lisina disponível, os grupos amino livres e o valor de Hunter "L" como parâmetros da equação proposta vêm expostas a seguir.

Os valores de nitrogênio disponível, sofrem variações ascendentes no início do aquecimento do leite e descendente depois, não justificando assim seu uso para determinar com segurança a qualidade das proteínas do leite de soja. A lisina é talvez o índice mais aceito para avaliar os danos sofridos pelo leite devido ao superaquecimento durante sua produção, o que provoca alterações no grupo amino epsilon e, mesmo com a lisina presente em quantidades suficientes na soja, tem na sua determinação um índice geral do dano sofrido na qualidade nutricional da proteína de soja. Os grupos amino-livres tem demonstrado estar altamente correlacionados com o valor biológico da proteína da soja. Mas para prolonga dos aquecimentos no processo enquanto estes aumentaram, a qualidade proteica diminuiu, mas podem ser considerados para avaliação da qualidade proteínica do leite de soja processada a quente.

Os valores de Hunter "L" são certos até o ponto que indicam gradualmente a existência de reações de Maillard.

Dados adicionais de alguma importância, são proporcionados por Hackler et al (31), que ao fazer o estudo do efeito da temperatura de entrada ao spray-dryer, sobre a qualidade das proteínas do leite de soja encontraram, que a medida que a temperatura de entrada ascende o valor do fator inibidor de tripsina residual

descendo, por exemplo à temperatura de ebulição de 145°C, tem-se um valor de 6% e para 316°C tem-se só 3%.

## B. COMPOSIÇÃO DO LEITE DE SOJA

### Proteínas

Segundo Smith e Circle (80), o leite de soja num sentido tradicional, é um simples extrato aquoso dos grãos de soja.

O leite de soja tem adquirido considerável interesse da parte dos nutricionistas, pois consideram que esta é um possível substituto do leite de vaca, ou do leite humano; particularmente para a alimentação de crianças, que sejam alérgicas ao leite animal, ou quando não há meios econômicos para se adquirir a preços razoáveis.

O leite de soja e o leite de vaca, contém aproximadamente a mesma quantidade de proteínas (3,5-4,0%) e a composição de aminoácidos mostra estrita semelhança. A principal deficiência das proteínas de soja, comparada com as proteínas do leite de vaca ou leite humano, é o conteúdo de metionina. Experiências realizadas com animais tem demonstrado que o valor nutricional do leite de soja está dentro da faixa de 60% a 90% comparado com o de vaca; o Quadro 2 ilustra a composição típica de diferentes leites, de soja e animal.

(Veja o Quadro 2 na página seguinte)

QUADRO 2: Comparação da composição de aminoácidos essenciais do leite de soja, do leite de vaca e humano. Smith e Circle (80)

Aminoácido	L	E	I	T	E
Essencial	Soja (tradicional)	Soja (comercial)	Vaca		Humano
	gramas/16gN <sub>2</sub>				
Isoleucina	5,1	4,7		7,5	5,5
Leucina	8,3	8,1		11,0	9,1
Lisina	6,2	6,4		8,7	6,6
Metionina	1,4	1,2		3,2	-
Cisteína	1,7	0,9		1,0	
AA sulfurados	3,1	2,1		4,2	4,0
Fenilalanina		5,3			
Tirosina		-			
AA aromáticos	9,0			11,5	9,5
Treonina	3,8	3,9		4,7	4,5
Triptofano	1,3	1,1		1,5	1,6
Valina	4,9	5,0		7,0	6,2
Valor nutritivo					
BV	80			87	100
Digestibilidade	95			91	90
NPU	76			79	90

Shurpalekar e Korula (75); Harkins e Sarett (36) Oliveira e Scatena (64), tem efetuado experiências para suplementar o valor nutricional do leite de soja por adição de metionina conseguindo valores de PER essencialmente do mesmo nível que o leite de vaca.

## 2. Gordura

Os principais ácidos graxos insaturados que constituem o óleo de soja, são ácido linolênico (8-9% do total de ácidos graxos) linoleico (46-51%), oleico (21-26%) e ácidos graxos saturados (19-20%). O conteúdo (20% do peso do grão) varia com a variedade de soja e a localização do cultivo, Smith e Circle (80).

### .3. Carboidratos

Smith e Circle (80) consideram que ainda que a principal - contribuição que a soja possa dar à nutrição do homem, se deve à quantidade e qualidade das proteínas que esta contém, deve ser tomado em conta o valor de outros constituintes. Por exemplo, o óleo e carboidratos que a soja contém podem ser de grande ajuda para - satisfazer as necessidades alimentícias de populações deficientes em calorias. Igualmente as vitaminas e minerais da soja, podem ser de importância significativa para dietas em tais constituintes.

A energia disponível na soja para o metabolismo, pode se - calcular a partir do conteúdo de carboidratos, gordura e proteína, mesmo se considerarmos que em dietas livres de carboidratos, a energia calórica pode ser tomada das proteínas mesmas.

Watt e Merrill (89), consideram que o valor calórico da proteína, pode ser calculada multiplicando por 3,47 cal por grama de proteína. Os mesmos autores estabeleceram valor de 8,37 cal por grama, para o óleo de soja. No que se refere a carboidratos entre 22% e 29% em peso dos grãos de soja inteiros pode considerar-se como úteis, Daubert (23). Ainda quando só uma porção deste material seja metabolizável para propósitos energéticos, substâncias como galactoses, pentose e hemiceluloses que são usadas em baixa proporção, representam grande parte do total. Aspinwall e Begbie (4), calcularam o fator 1,68 cal por grama de carboidrato como utilizável para a soja em função de sua digestibilidade.

Mas Watt e Merrill (89) consideram que 97% dos carboidratos presentes na soja e seus produtos são completamente digeríveis, pelo que estabelece um fator calórico com valor de 4,07 cal por grama. Para o caso do leite de soja, coágulo de soja e concentrados protéicos, este fator pode ser aplicável em vista de que na



preparação destes produtos, se elimina os mais insolúveis e indigeríveis carboidratos.

A fração total de carboidratos que pode ser classificada - como fibra crua, varia de 0,1% a 5% dependendo do produto, o primeiro valor seria aplicado ao coágulo de soja e o segundo para o leite de soja, obtida a partir de grãos inteiros, Watt e Merrill, (89).

Desde que a metade da fibra crua é atribuída à casca do grão, seu conteúdo no leite de soja, é grandemente reduzido, se se produz esta, a partir de grãos descascados.

A eliminação da fibra crua pode ser benéfica para melhorar a digestibilidade do produto, particularmente em animais monogástricos como o homem. Swaminathan (85) demonstrou que a digestibilidade é maior em produtos vegetais com baixo conteúdo de fibra.

#### .4. Vitaminas

Os produtos de soja não se podem considerar como bons provedores de vitaminas, mas quando as dietas são escassas nesta, a soja pode desenvolver um papel importante para o manutenção da saúde.

Westerman e Oliver (91), informam que a farinha de soja ao nível de 3% pode substituir o germen de trigo como fonte de vitamina B.

Zucker e Zucker (95) consideram igualmente que se a metade das proteínas requeridas na dieta diária de um homem adulto fosse providas por farinha de soja; então 1/3 - 1/2 de seus requerimentos de tiamina, riboflavina e ácido nicotínico ficariam cobertos.

## 5. Minerais

A soja e seus produtos são considerados de duvidosa qualidade no conteúdo de minerais, devido, não à sua ausência nos grãos de soja, senão a sua pouca disponibilidade, Daniels e Nicols, (22).

Pode existir algum tipo de constituinte na soja que interfere na assimilação de certos minerais, principalmente cálcio e fósforo (ácido fítico).

## 6. Enzimas

Circle (21) resumiu da literatura todas as enzimas e alterações enzimáticas que ocorrem durante a germinação da soja. Uma compilação dos principais grupos encontrados em grãos maduros de soja, abrange pelo menos 20 enzimas, das quais são consideradas como as mais importantes amilases ( $\alpha$  e  $\beta$ ), lipases, lipoperoxidases, lipoxigenase (lipoxidase) e proteinases.

As amilases  $\alpha$  e  $\beta$  são consideradas responsáveis pela atividade amilolítica de algumas partes da soja; isto é, são capazes de liquefazer o amido.

Nakamura (61) reporta que a atividade de  $\alpha$ -amilase da soja é muito mais alta que a de outras leguminosas investigadas. A atividade amilolítica das amilases é desconhecida nos grãos de soja, pois as sementes maduras desta não contém amido.

## Lipases

Perl e Diamant (68) isolaram duas frações distintas de lipases, a partir de torta desengordurada de soja. As lipases hidrolizam o óleo de soja mais rápido que os outros óleos vegetais.

## Lipoperoxidase

Blain e Styles (11) reportaram que os extratos de soja tem atividade de lipoperoxidase similar à do citrocromo c, visto que ambos utilizam peróxido de linoleato, no branqueamento do -caroteno.

## Lipoxigenase (lipoxidase)

A lipoxidase cataliza a oxidação de lipídeos contendo sistema cis-cis 1,4 pentadieno, por oxigênio a hidroperóxidos.

Métodos de purificação, propriedades e mecanismos das reações de lipoxidase foram revisados por André e Hou (2).

Yasumoto e Yamamoto (94) demonstraram que o ácido norhidroguaiarético, o mais efetivo antioxidante fenólico, afeta a lipoxi

dase em duas formas: como um antioxidante convencional e como um potente inativador da enzima. A lipoxidase cataliza sua própria destruição na presença de oxigênio e ácidos graxos, Smith e Lands (81).

O Tofu e o leite de soja produzido da maneira tradicional-oriental contém atividade residual de lipoxidase, André e Hou(2). Alguma atividade de lipoxidase se apresenta em grãos de soja com baixa umidade (14,7%), Kopeikovskii e Kashevatskaya (49). Vários investigadores tem demonstrado que as plantas usualmente possuem múltiplas formas de lipoxidase, uma que ataca somente os ácidos graxos livres e a outra os triglicerídeos dos ácidos livres.

Quatro isoenzimas de lipoxidase tem sido identificadas, nos grãos de soja, Guss e Richardson (28).

#### Proteinases

Este termo refere-se a enzimas proteolíticas. O nome Soyin foi proposto inicialmente para as proteinases de soja, Circle(21), e para a hemaglutinina de soja. A ação proteolítica das proteínas nos extratos de soja, não é inibida pelos inibidores da tripsina. (80).

#### Urease

Nas três variedades de soja analisadas, Adams, Horosoy e Lincoln, não se encontraram variações significativas em seu conteúdo de urease. Ao se comparar a atividade da urease em sementes-jovens e maduras, encontrou-se que a atividade nas primeiras é apenas 3% da atividade das segundas, Birk e Waldeman (9). Smith e Better (82) demonstraram que a atividade da urease varia de acôrdo com a variedade e localização.

A casca tem baixa atividade de urease e o hipocotil, em base ao peso, tem quase o dobro de atividade que os cotiledones.

A determinação da atividade da urease constitui um índice, do grau de tratamento térmico a que os produtos de soja foram submetidos, quando não há superaquecimento.

## 7. Inibidores protéicos

Os inibidores proteicos tem um papel importante, tanto nas reações fisiológicas como patológicas. Numerosos trabalhos que estudaram a relação entre nutrição animal e os inibidores de tripsina da soja, tem sido realizados: Weyer, (90), Vogel e Trautschold (87), Rackis (69), Liener e Kakade (52).

Os diferentes inibidores de tripsina existentes na soja tem sido isolados e caracterizados; conhecem-se pelo menos de 7 a 10 destes inibidores protéicos, Rackis e Sasame (71). Alguns dos que tem sido melhor identificados recebem nomes como SBTIA<sub>1</sub>, SBTIA<sub>2</sub>, - SBTIB<sub>1</sub>, SBTIB<sub>2</sub>, AA, F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub>, F<sub>3</sub>, inibidor de Kunitz, etc. Os autores destes trabalhos de identificação, são diversos: Kunitz, Birk, Frattali, Yamamoto e Ikenaka, Steiner. Frattali e Steiner, segundo Smith e Circle (80) supõem que a existência desta diversidade de inibidores é devido à heterogenizidade genética.

Liener e Kakade (52) tem resumido as enzimas que são e não inibidas por inibidores protéicos de plantas.

Com respeito ao corpo humano, Travis e Robert, segundo Smith e Circle (80), informam que o serum é inibido pelo inibidor de Kunitz; entretanto a tripsina humana do pâncreas não é.

Nas plantas as principais funções dos inibidores protéicos são três: a) evitam a germinação das sementes, impedindo a autólise; b) regulam o metabolismo e síntese de proteínas; c) evitam

o ataque de insetos nocivos, Smith e Circle (80).

Singh et al, segundo Smith e Circle (80), informa que nem todas as variedades de soja tem o inibidor de Kunitz, mas que um outro inibidor da tripsina deve estar presente.

Em geral a torta crua de soja, causa inibição do crescimento, diminui a energia metabolizável das dietas, reduz a absorção de gordura, hipertrofia o pâncreas, estimula a hipersecreção de enzimas pancreáticas em frangos e ratos, Smith e Circle (80).

Como já apresentou-se na seção correspondente ao cozimento do leite de soja, a maior parte dos inibidores protéicos são inibidos pelo calor e beneficia-se paralelamente o valor nutricional das proteínas.

### C. AVALIAÇÃO DO VALOR NUTRICIONAL DO LEITE DE SOJA

Avaliar o valor nutricional do leite de soja é uma tarefa difícil e ampla que requer as mais diversas considerações afim de oferecer um panorama o mais próximo possível acêrca das propriedades nutricionais reais do leite.

Começaremos citando literatura que faz referência às neces

sidades protéicas e de aminoácidos do homem. Posteriormente, a bibliografia existente sobre a avaliação da qualidade protéica que inclui os testes de laboratório mais ilustrativos a respeito. A parte que corresponde a outros fatores que afetam seu valor nutricional, como componentes biologicamente ativos, vitaminas, minerais, e condições de processo de produção de leite de soja (cozimento), já foi descrita em outras seções anteriores desta revisão bibliográfica.

#### .1. Necessidades protéicas

Muitos artigos e livros tem sido escritos abordando este tema. As informações sobre necessidades protéicas, são geralmente dadas com respeito à idade da pessoa, sexo e peso, ou dependendo de especiais estados fisiológicos como são a mãe gestante ou lactante, (80) (Veja Bibliografia e quadro 3)

#### .2. Necessidades de aminoácidos

É comumente aceitável a necessidade de aminoácidos essenciais na dieta diária do homem, a saber: isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptofano, e valina, - sendo que a metionina é usada para a síntese da cisteína, e fenilalanina para a síntese de tirosina. Smith e Circle (80).

QUADRO 3: Necessidade protéica diária por idade e estado fisiológico, (80)

IDADE E ESTADO DE CRESCIMENTO	NECESSIDADE PROTÉICA Gm/Kg peso corporal	
	NAS <sup>1</sup>	FAO <sup>2</sup>
Bebês 0 - 3 meses	2,2	2,3
3 - 6 "	2,0	1,8
6 - 9 "	1,8 - 2,0	1,5
9 - 12 "	1,8 - 2,0	1,2
Crianças		
1 - 3 anos	1,8	1,1
4 - 6 "	1,6	1,0
7 - 9 "	1,4	0,9
10 - 12 "	1,3	0,9
Jovens		
13 - 15 anos	1,0	0,8
16 - 19 "	0,9	0,8
Adultos		
20 "	0,9	0,7
Na gestação	1,1	0,8
Na lactação	1,3	1,0

<sup>1</sup> Nat. Acad. of Sci., 1968

<sup>2</sup> FAO, 1965

Mais importante que a quantidade de cada aminoácido requerido é o modelo ou proporção de cada aminoácido com respeito aos demais. Em outras palavras, quando a quantidade absoluta de cada aminoácido tem sido satisfeita na dieta, é de maior importância, a proporção em que estes se encontram, pois isto determina a qualidade protéica na dieta.

Mitchell e Block, segundo Smith e Circle (80) propôs 20 anos atrás, a proteína do ovo de galinha como padrão de referência pa-



ra avaliar a qualidade proteica; os alimentos 510/440 recom-  
mandam a proteína do ovo como modelo de avaliação protéica.

### 3. Composição de aminoácidos

A composição de aminoácidos tem sido determinada por diversos autores para a soja, Circle (21). Tem-se encontrado que a metionina, o aminoácido limitante na proteína da soja, não varia de acordo com a temporada ou localização das plantas, mas sim encontrando-se proporcionalmente com o maior nível do conteúdo protéico nas mesmas (80).

É importante assinalar a metionina e cisteína, como aminoácidos limitantes na proteína de soja e a lisina o aminoácido que se encontra na proteína de soja em maior proporção que na proteína do ovo e na maioria das plantas (80).

### 4. Técnicas biológicas

Fatores que são considerados como de primeira importância por esta técnica, são os seguintes: (1) Digestibilidade da proteína, (porcentagem dos aminoácidos disponíveis a partir da proteína fornecida) (2) a proporção em que os aminoácidos podem ser absorvidos pelo tracto gastrointestinal; (3) interações complexas com outros nutrientes, que podem afetar digestibilidade e a absorção antes mencionadas. Por conseguinte, ainda que a composição de aminoácidos seja considerada de boa qualidade, será o teste biológico, que indicará, finalmente, a melhor dieta protéica.

As experiências com animais são custosas e demoradas, mas com seres humanos resultam ainda mais complicadas, nestas condições, qual geralmente os resultados são aceitos como bons para se fazer extrapolação dos resultados para o homem, Howe (44). No entanto, as grandes diferenças que se observam nas características durante os testes tais como: proporção que guarda o crescimento, de um rato num período certo de tempo (ex. quatro semanas) e o tempo de anos que um ser humano precisa para crescer a adulto.

#### 5. PER (quociente de eficiência protéica)

Este método considerado de fácil aplicação é amplamente usado para a avaliação biológica da qualidade protéica.

Osborne e Mendel (65) propuseram o método PER, que consiste na determinação dos aumentos de peso de animais em fase de crescimento (rato) dividido pelo peso das proteínas ingerida; quando se pratica este método sob condições padrões pode conduzir a resultados reproduzíveis, Derse, segundo Smith e Circle (80). Considerando que em condições padrões, se tem um valor 2,5 de PER, para a caseína se ajustam os resultados a este padrão. Outros métodos - como Balanço de Nitrogênio ou aminoácidos do plasma, não foram considerados no presente trabalho.

#### 6. Disponibilidade de aminoácidos

Os trabalhos conduzidos a este respeito, tem demonstrado que desde 65 até 100% dos aminoácidos presentes na soja, são disponíveis para sua digestão pelo tracto gastrointestinal. É valioso portanto notar-se que só a metade ou menos da metionina e lisina presentes na soja, são disponíveis quando a proteína de soja não sofre nenhum tratamento térmico, Smith e Circle (80).

## 7. Testes físicos

O tratamento com calor nos processos de obtenção dos diferentes produtos de soja acarreta significativas mudanças nutricionais à proteína de soja, assim como deterioração da mesma, no caso da má aplicação do calor. Para avaliar as condições de processo térmico é possível determinar diferentes propriedades físicas, como solubilidade em água e outros sistemas de solventes, índice de refração, fluorescência e propriedades correlativas, Smith e Circle (80)

## 8. Componentes biologicamente ativos

Falou-se destes componentes ao se referir aos compostos que constituem o leite de soja, e ao se tratar do cozimento na produção do mesmo. A bibliografia adicional sobre isto, enfoca principalmente os componentes biológicos ativos como: urease, inibidor de tripsina e hemaglutinina, Smith e Circle (80).

### Urease

Caskey e Knapp, (19) consideram que o processo de cozimento dos produtos de soja é necessário para inativar a enzima urease, naturalmente presente nesta leguminosa.

Borchers et al (12) notaram que a urease é mais facilmente destruída pelo calor do que o inibidor de tripsina; pelo que recomenda não seja considerada como uma determinação adequada para avaliar o tratamento térmico (cozimento); por outra parte o teste da urease, é de pouco valor para determinar-se produtos de soja que foram superaquecidos.

### Inibidor de tripsina

A determinação deste fator é de importância, pelo valor que se lhe atribui como fator antinutricional, quando não é apropriada

mente destruído, pela aplicação de calor (convivente), (70).

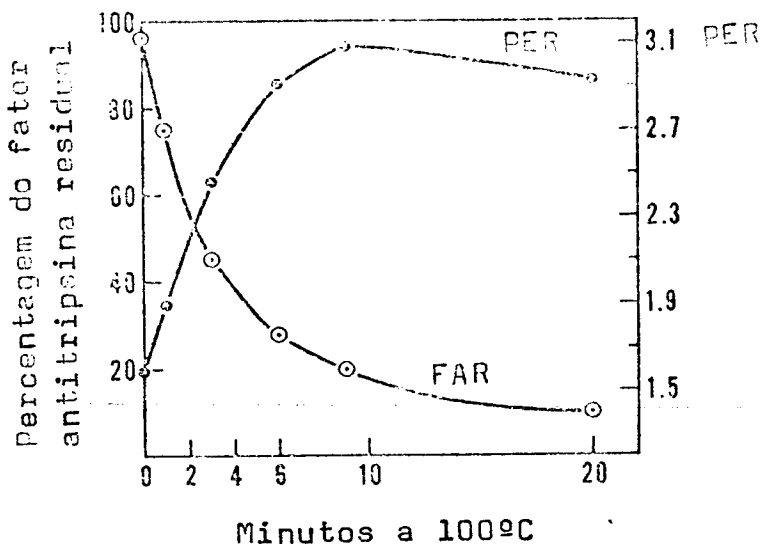


FIGURA 4: Efeito do vapor a pressão atmosférica na atividade do inibidor da tripsina e quocientes de eficiência protéica da farinha de soja (70).

A literatura que existe a respeito, é numerosa. Rackis (69), Liener e Kakade (52), Borchers et al (12), Rackis (74).

Estes autores, (69), (52), (12) que tem escrito sobre os - efeitos fisiológicos deste fator, concordam em que não é um índice absoluto que determina as propriedades nutricionais dos produtos de soja (leite). Pois, em alguns casos tem sido possível se verificar que a presença deste, em porcentagem significativa na

dieta de animais (determinação de PER), não afeta o crescimento.

Kakade e Simons (46) não puderam observar nenhuma correlação entre a atividade do inibidor de tripsina, em mais de 100 extrações de diferentes variedades de grãos de soja e o PER nem de outros fatores como atividade da hemaglutinina, conteúdo total de aminoácidos sulfurados, ou atividade do inibidor de quimotripsina.

São numerosos os autores que tem apresentado trabalhos, com respeito aos efeitos nutricionais e fisiológicos dos inibidores protéicos citados, Rackis, 1965; Gertler, 1967; Kakade et al, 1970 segundo Smith e Circle (80). Rackis, encontrou que o inibidor - de Kunits era responsável pela totalidade da hipertrofia pancreática e por 30-60% da inibição no crescimento de ratos alimentados com torta de soja crua.

Conseguiu-se isolar outra fração de baixo peso molecular obtida do coágulo (curd) de soja, que inibe o crescimento dos ratos sem causar hipertrofia pancreática. A fração residual insolúvel em água resultante da produção de leite de soja cru, atua como inibidora do crescimento e causadora da hipertrofia pancreática, em ratos e frangos, Smith e Circle (80).

#### Hemaglutinina

A destruição de hemaglutinina, foi citada anteriormente ao se comentar os componentes biológicos da soja.

Os autores que tem trabalhado sobre a inativação desta enzima, concordam em que o tratamento térmico (cozimento) do leite de soja, melhora paralelamente as propriedades nutricionais desta. Liener e Hill, (54). Um procedimento fotocolorimétrico para medir a atividade de hemaglutinina em extratos de soja foi descrito por Liener, segundo Smith e Circle (80). Kakade e Simons (46) não encontrou correlação nenhuma entre o PER e a hemaglutinina.

A hemaglutinina tem o efeito principal de aglutinar os glóbulos vermelhos do sangue, sendo chamada, na Bibliografia, indistintamente por fitohemaglutinina, fitaglutinina ou lectina. Inicialmente chamou-se "Soyin", mas atualmente prefere-se chamá-la - "hemaglutinina de soja", Smith e Circle (80).

São conhecidas 4 diferentes formas de hemaglutina, designadas A, B, C, e D, segundo Catsimpolac e Meyer, (20).

Estas hemaglutininas são glicoproteínas que contém 4,5% de manose e 1% de glucosamina.

A toxicidade da hemaglutinina de soja, é comparável com a lectina de muitas outras plantas, mas a da ricina é mil vezes mais tóxica. Liener e Rose (53), afirmam que a hemaglutinina é responsável por 50% de inibição do crescimento dos ratos alimentados com torta crua de soja. Birk e Gertler, segundo Smith e Circle (80), encontraram que as hemaglutininas são somente responsáveis por uma parte pequena da inibição do crescimento de frangos e ratos, pois a atividade da hemaglutinina comparada com o fator anti tripsina, é rapidamente inativada pela digestão gástrica. Os extratos crus de soja usualmente contém ambos os inibidores, a tripsina e a hemaglutinina, De Muelenaere, segundo Smith e Circle(80). Muitos trabalhos de investigação, informam que a atividade da hemaglutinina de grãos de soja crua, é rapidamente destruída por tratamento com calor úmido.

## 9. Fatores de crescimento (vitaminas e minerais)

Na parte anterior, referente à composição do leite de soja, foram citadas as vitaminas e minerais que são encontradas naturalmente na soja. Mencionou-se a presença das vitaminas B<sub>12</sub>, D<sub>2</sub>, D<sub>3</sub>, cálcio, fósforo, zinco e alguns outros minerais essenciais como fatores que promovem o crescimento (95). Por outro lado, o ácido fítico é um outro componente da soja que possivelmente, atua bloqueando a assimilação dos mencionados fatores de crescimento pelo tracto gastro-intestinal (22).

Diversos autores, Wilcox e Carlson (92) citam estudos sobre a propriedade de produtos derivados da soja que promovem o crescimento, e possuem um fator antiperóxico como são os fosfolipídeos de soja. Também citam a adição de ácido etileno diamino tetraacético (EDTA) como um agente coadjuvante do crescimento.

Todos os ensaios tem sido realizados pelos autores, em perus, frangos, pássaros, ratos etc., Smith e Circle (80).

### Raquitismo

Carlson et al, segundo Smith e Circle (80), mencionam o alto nível de vitamina D como causa das propriedades antiraquíticas das tortas de soja ou dos extratos aquosos (leite de soja).

Thompson et al, segundo Smith e Circle (80), recomendam que o processo térmico na autoclave seja conduzido durante pelo menos 60 min. para destruir os fatores raquitogênicos presentes nos concentrados protéicos de soja, que interferem com assimilação normal da vitamina D, tais como  $\beta$ -caroteno e ácido fítico.

### Constituintes fenólicos

Os componentes ginestein, daidzein, fenólicos tem sido identificados e isolados por diferentes métodos e diferentes quantida

des a partir de grãos de soja ou tortas desengorduradas de soja. (88).

Os compostos fenólicos genistein e diadzein encontram-se em tão pequenas quantidades na soja, que sua atividade estrogênica é considerada insignificante para o corpo humano.

Bickoff et al, (8) informam alguns efeitos fisiológicos observados em ratos alimentados com diferentes níveis de Genistin e Genestein, tais como, inibição do crescimento, depósito de ferro no fígado, elevado conteúdo de manganês nos ossos, etc.

Walz (88) informa que os níveis aparentemente presentes dos compostos antes citados, fenólicos, na soja, não tem possibilidade de conseguir efeitos fisiológicos.

Os compostos isoflavanóides ainda não foram determinados - quantitativamente com exatidão aceitável nos produtos protéicos de soja (88).

#### 10. Adição de aminoácidos sulfurados ao leite de soja para complementar seu valor nutricional.

Oliveira e Scatena (64), prepararam leite de soja em pó, com equipamento padrão, e testaram biologicamente, alimentando ratos. O nível protéico foi de 10% e suplementou-se a dieta com metionina 0,15 e 0,30%, obtendo-se valores de PER para ambos de 2,7. Comparando com as dietas de soja que não foram suplementadas nas que se obtiveram valores PER de 1,8-1,9. Outros investigadores, Shurpalekar e Korula (76); Harkins e Sarett. (36), também fizeram experiências similares e obtiveram resultados igualmente positivos.



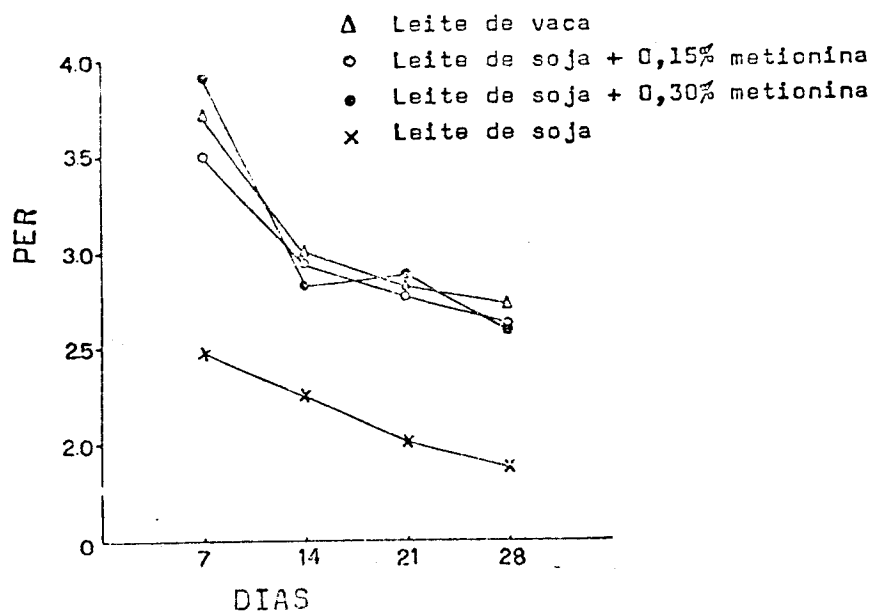


FIGURA 5: Quocientes de eficiência calculados com leite de vaca desengordurada, leite de soja e leite de vaca com metionina, (nível protéico 10%), (64).

As experiências realizadas baseiam-se na deficiência de aminoácidos sulfurados do leite de soja, com respeito ao leite de vaca. Os índices de valor nutricional do leite de soja são 60%-90% com respeito ao leite de vaca, mas quando o leite de soja é enriquecido com metionina, o valor nutricional deste se eleva essencialmente ao mesmo nível que o de leite de vaca.

Hackler e Stillings (33, 34), demonstraram o efeito que a temperatura e o tempo de duração do tratamento térmico durante a produção exercem sobre a composição final dos aminoácidos do leite de soja. Em tratamentos térmicos onde o leite foi aquecido a

93°C durante diversos intervalos de tempo, conforme a figura 6, a composição inicial de aminoácidos não sofreu nenhuma alteração não baixando o PER, enquanto que no leite aquecido a 121°C durante diferentes intervalos de tempo, conforme a figura 7, a cisteína mostrou-se susceptível ao calor, sendo gradualmente destruída a essa temperatura quando em longos períodos de tempo, o mesmo acontecendo com o triptofano quando o leite foi aquecido por mais de 60 min., a 121°C.

A destruição da cisteína e do triptofano pelo calor provocou a queda do valor nutricional do leite (PER).

As figuras 6 e 7 mostram a relação existente entre os valores de PER e as temperaturas (93 e 121°C) aplicadas ao leite de soja durante o tratamento térmico. A figura 8 mostra o efeito que a temperatura do ar na entrada do spray-dryer exerce sobre o valor nutricional do leite (PER), (33).

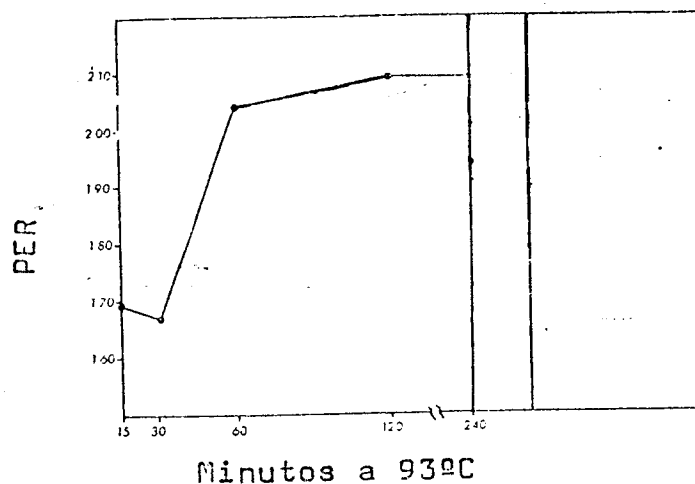


FIGURA 6: Efeito do tempo de processamento a 93°C, no quociente de eficiência proteica (PER) (33).

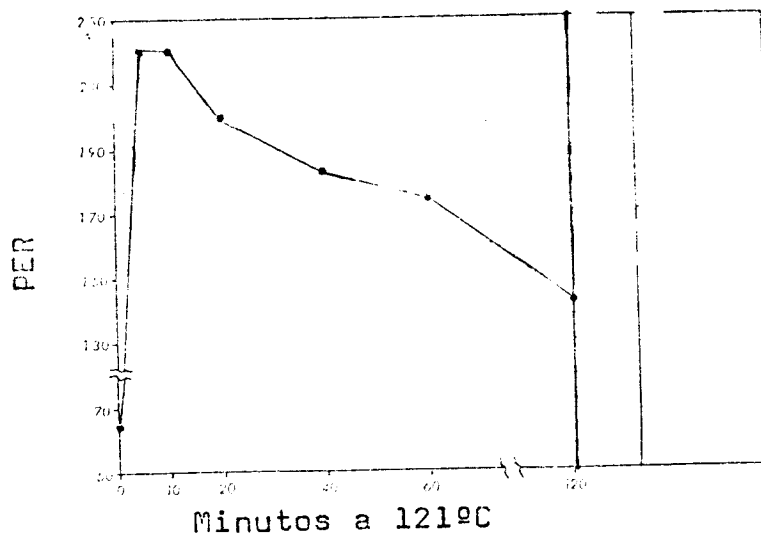


FIGURA 7: Efeito do tempo de processamento a 121°C no quociente de eficiência protéica (PER) (33).

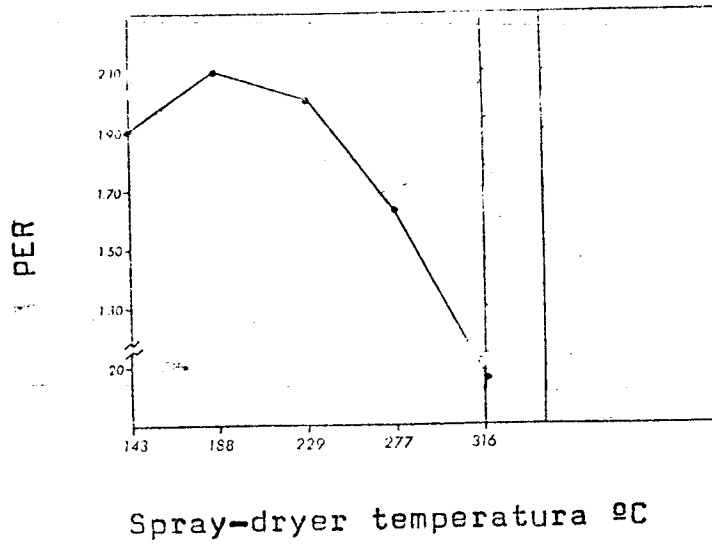


FIGURA 8: Efeito da temperatura de entrada de ar ao spray-dryer no PER, (33).

Como resultado da maceração alcalina (que foi citada na seção 1. maceração) segundo Bodanhop e Hookler (8), tem-se vários efeitos, incrementa-se a disponibilidade de niacina, se reduz a atividade do inibidor de tripsina e também é reduzida a quantidade de cisteína, como indicam as determinações posteriores de PER. Complementou-se então o leite de soja em estudo, com 0,35% de DL-metionina, conseguindo elevar os valores de PER, significativamente. Exemplo:

pH 6,50.	PER	1,44	(s/metionina)
pH 6,50	PER	2,22	(c/metionina)

Relacionado à esta experiência, foi demonstrado que os processos térmicos aplicados ao leite e a suplementação com metionina, produz melhores resultados, quando são avaliados como PER.

Outros autores como Klose et al. (48), que foram citados também anteriormente (na seção de cozimento do leite de soja), verificaram o aumento na eficiência das dietas, complementadas com metionina, leucina e lisina. Os leites foram superaquecidos, pelo que sua lisina disponível, leucina e cisteína decresceram; sendo posteriormente suplementadas, ditas dietas, com esses aminoácidos conseguindo aumentar os valores de PER substancialmente.

Os valores máximos de PER foram alcançados quando usou-se metionina, leucina e lisina. No entanto valores de PER iguais aos do controle, caseína, somente foram obtidos ao se adicionar 10 aminoácidos essenciais.

Experiências similares as anteriores foram realizadas por Bressani e Elias (14), os quais enriqueceram dietas a base de milho e soja com L-lisina, DL-metionina e treonina; obtiveram os maiores resultados quando adicionaram os três aminoácidos citados.

## 11. Condições de processo que aumentam a qualidade protéica do leite de soja.

Com respeito às melhores condições de processo para melhorar a qualidade protéica do leite de soja, é fácil obter conclusões dos numerosos trabalhos citados, através desta revisão bibliográfica. Pode-se recomendar por exemplo a maceração de grãos em água de 8 a 12 hrs. ligeiramente alcalina, e à temperatura ambiente, descascando depois os grãos e moendo-se a temperaturas superiores a 80°C, mas menores de 100°C na relação certa de água (9:1) (água:grãos), (5, 13, 55).

O produto resultante é mantido durante 10 min. entre estas temperaturas e depois filtrado cozinha-se o extrato obtido (leite) no mínimo 60 min. à 93°C ou 15 min. à 121°C em autoclave (13).

Alimenta-se depois um spray-dryer a temperaturas que podem ser entre 180°C e 250°C (mas menores a 277°C) (33). Por exemplo a 210°C, se obterá um pó fino que contém elevado teor protéico, com índice de valor biológico de 70%-80% com relação ao leite de vaca, livre de sabores irritantes ou desagradáveis, e de bom aspecto, considerando-se separadamente a possibilidade de enriquecer o produto com DL-metionina, na proporção de 0,35% (7) ou 0,2% (14). O rendimento da extração de sólidos de leite a partir do grão de soja é aproximadamente de 65%, (35).

O produto pode ser misturado com outros nutrientes, como vitamina e minerais, para melhorar ainda mais seu valor nutricional.

A mistura deste leite de soja em pó, com outros alimentos como extrato de milho, leite de vaca, soro de queijo, etc, também pode ser considerada (15, 16, 17).

## 12. Outras misturas que melhoram o valor nutricional do leite de soja.

A soja e os produtos derivados desta (leite de soja) como já se viu anteriormente, aproximam-se muito ao modelo ideal proteico de referência, citado pela FAO 1965, segundo Smith e Circle (80) (proteína do ovo) diferindo apenas na deficiência da soja em aminoácidos sulfurados que se pode considerar como algo negativo. Por outro lado, contém excesso de lisina, aminoácido que em muitas outras plantas e cereais é limitante.

A falta de aminoácidos como metionina pode ser compensada misturando soja com cereais, contendo tais aminoácidos; tal é o uso do milho; Bressani e Marengo (15).

O milho é ao mesmo tempo enriquecido em lisina ao ser misturado com soja. As proporções em que as misturas devem ser feitas para obter os melhores resultados possíveis, tem sido estudados, principalmente por Bressani e seus colaboradores (14). O autor reporta os resultados que obteve ao estudar o valor nutricional complementar do milho e soja, de uma mistura chamada INCAP-14, constituída principalmente por 58% de farinha de milho, 38% de farinha de soja, 3% de levedura de torula, 1% de fosfato de cálcio e 4.500 unidades internacionais de vitamina A, por 100 g de mistura contendo aproximadamente 27% de proteína. A formulação foi avaliada com cães na etapa de crescimento e com ratos. Os resultados obtidos foram ligeiramente menores aos obtidos com caseína.

O aminoácido limitante foi a metionina, mas somente quando a proteína era administrada a baixos níveis. A adição de treonina, e lisina na presença de metionina causou incrementos altamente significativos no PER. A formula 14 (milho-soja) foi misturada posteriormente com proteínas do leite de vaca. Obteve-se li

geira melhoria do PER, a saber: para milho e soja (40:60) se obteve um PER 2,91 e para a fórmula 14 e leite desnatado em pó (40:60) o PER foi de 2.95. Avaliando este com o PER, os resultados indicaram que misturas deficientes em lisina, são melhoradas na sua qualidade quando são preparadas com milho Opaco-2. As misturas cujo principal recurso protéico é farinha de soja, não são beneficiados na qualidade protéica, ao ser misturadas com o milho Opaco-2.

Bressani (17) recomenda a mistura de leite de soja com leite de vaca em proporção tal que esta última retenha seu valor protéico-biológico e também o sabor e a textura da mesma, para evitar a perda de interesse no produto como leite, substituto do leite de vaca.

A proporção recomendável seria 80 partes de leite (desengordurado ou integral) e 20 partes de soja (desengordurada ou integral) com o que se obtém uma mistura que retém o valor biológico do leite puro.

O mesmo autor, recomenda a secagem por aspersão (spray-dryer) das misturas de leite de vaca e soja. A adição do soro de queijo se se deixa abaixar o teor de sólidos de soja é factível, utilizando-se assim um produto láctico que atualmente se descarta. Neste caso, pode-se incrementar a quantidade do leite de soja a 30-35 partes já que a lacto-albumina resiste mais diluição da qualidade protéica devido a que contém mais metionina por grama de nitrogênio, que o leite desengordurado ou leite integral.

Dimler (25), mostram uma tabela a comparação típica de aminoácidos para a proteína de ovo, farinha de soja, farinha de milho e uma mistura de 75 partes de farinha de milho com 25 partes de farinha de soja, obtendo-se um modelo de composição de aminoácidos mais perto do ideal (do ovo).

As investigações do Instituto Tecnológico de Alimentos (CFTI) na Índia, como o Instituto de Nutrição da América Central e Panamá (INCAP) na Guatemala, tem se dirigido à elaboração de misturas vegetais com proteínas, usando os produtos tradicionais das populações locais. Suplementando as misturas com soja e fortificando-as com vitaminas e minerais e em alguns casos com aminoácidos essenciais. Para assegurar um adequada dieta destes nutrientes, a avaliação biológica das citadas dietas, em função do PER, tem demonstrado valores do nível do PER que obtem-se com o leite de vaca(80).



### III -- MATERIAIS E MÉTODOS

#### A. - MATERIAIS:

A soja em grão para a produção do leite de soja, utilizada neste trabalho, foi da variedade Santa Rosa, safra de 1973 e 1974, fornecida pela Cooperativa Agrícola de Cotia.

#### .1. Ingredientes (nutrientes) para os ensaios biológicos e misturas:

Utilizaram-se produtos comerciais técnicos ou farmacêuticos, com exceção dos sais minerais que eram quimicamente puros, a saber: caseína comercial, fornecida pela Indústria e Comércio de Laticínios Tacrigy Ltda.; amido de milho tipo alimentício (Refinações de Milho Brasil); óleo comercial de soja (SAMBRA); sacarose (Açúcar refinado União); vitaminas, grau farmacêutico (NBCO); sais minerais, diversas procedências, todos p.a.. Foram utilizados para o suplemento das proteínas de soja, leite de vaca integral em pó, e soro de queijo desmineralizado em pó, fornecidos pela Companhia Industrial e Comercial Brasileira de Produtos Alimentares NESTLÉ; milho amarelo variedade Cateto, em grão e D.L. metionina, grau farmacêutico.

#### .2. Reativos:

Todos os reativos utilizados para as análises foram quimicamente puros (p.a.) e de diversas procedências (Merck, Baker, Sigma, Ecibra, Carlo Erba, etc.)

#### .3. Aparelhos e Equipamentos de laboratório:

Os principais aparelhos, utilizados foram, além de vidraria e utensílios comuns de laboratório (balões volumétricos, balança

analítica, estufa, dessecador, termômetro, bureta, pipetas, etc.).

- Espectrofotômetro Perkins Elmer. U.S.A.
- Centrífuga Sorvall super speed RC2-B.
- Banho - Maria, Soc. Fabbe Ltda. Modelo L69
- Autoclave Luferco, Lutz Ferrando, Ótica e Instrumental Científico S.A.
- Potenciômetro, Corning digital 110.
- Gaiolas individuais de tela e chapas galvanizadas para ratos.

#### 4. Equipamento de planta piloto:

O equipamento de planta piloto foi, além dos utensílios comuns (cubas, mangueiras, bombas, cuba de maceração, etc.)

- Moinho de discos, fabricado pela indústria de Máquinas D'Andrea do Brasil, tipo 1.
- Finisher. PFAF Calderaria e Mecânica Ltda.
- Jôgo de peneiras Granutest US.
- Spray dryer, Nyro Atomizer.

#### 5. Animais utilizados nos ensaios:

- Ratos brancos da raça "Whistar" com idade de 20-25 dias (Pêso médio por rato 45-55 g) todos machos, provenientes da colônia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto e da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, S.P.

#### B.-MÉTODOS:

No preparo do leite de soja na planta piloto, líquido e em pó as etapas seguidas foram:

Maceração.

Inativação enzimática.

Moagem.

Filtração ou separação de sólidos insolúveis.

Cozimento.

Secagem.

Preparo do leite de milho, para dietas dos ensaios biológicos.

Análises químicas e físicas.

Ensaio biológicos.

#### 1. Maceração:

A maceração foi feita com água potável (pH 7,3-7,4 a temperatura ambiente (25°C), por 8-10 hrs. em uma cuba da planta piloto.

Os grãos de soja, colocados numa cesta de tela, foram submersos na água. O aumento de peso registrado pelos grãos foi de 2,2. em relação a seu peso seco original, devido à água absorvida, durante a maceração.

Um outro ensaio de maceração foi efetuado com grãos de soja da mesma variedade Santa Rosa, safra de 1973. Neste caso utilizou-se água potável (pH 7,3) à 60°C. Os grãos foram submersos na água por um período de 1 hora e meia com o qual foi atingido quase o dobro (2,25) do peso original, dos grãos secos e o dobro do seu tamanho original.

Ambas as macerações citadas, foram usadas durante a produção do leite, para verificar as possibilidades de seu uso na produção do leite.

## .2. Inativação enzimática:

Devido à falta de equipamento na planta piloto para se fazer a moagem à quente (90-100°C), ou com água fervente, e mantendo sempre a temperatura de trabalho acima de 80°C como recomenda a bibliografia, optou-se pela inativação enzimática antes da moagem, nos grãos inteiros de soja pela submersão destes, em água fervente (96°C) durante 3 min. e depois esfriados rapidamente com água à temperatura ambiente (25°C).

.3. Moagem: os grãos esfriados, após a inativação enzimática foram moidos no moinho de discos, na relação de 9:1 (água: grãos peso seco), a água foi adicionada continuamente durante a moagem. O moinho trabalhou com uma abertura entre discos aproximada de 1 a 1,5 mm e com uma velocidade de 2.100 rpm. A água usada na moagem foi potável com pH 7,3 e a temperatura ambiente de 25°C.

## .4. Filtração ou separação de sólidos insolúveis:

Praticou-se com um "finisher" marca Anton PFAF CALDEREIRA E MECÂNICA LTDA, usando-se malha de 0,02 polegadas e com capacidade aproximada de 1000 kg/hora. A velocidade de rotação foi de 240 rpm.

Precisou-se peneirar o produto obtido do "finisher", para se obter um leite com menos sólidos insolúveis. A peneiragem foi manual com uma malha de 70 mesh. (USBS 70, Tyler 65).

.5. Cozimento: o leite obtido com uma concentração aproximada de 16% de sólidos, foi posto em recipientes de aço inoxidá-

vel, com capacidade de 10 l para cada lote, para uma única vez. O leite foi aquecido em 20 min. até 94-95°C a esta temperatura conservou-se em recipientes, com o leite de soja, durante 0, 30, 45, 60, 90 min. Um outro lote de 3 recipientes foi autoclavado à 121°C durante 15, 30 e 45 min. cada um, respectivamente.

.6. Secagem: após o cozimento obtiveram-se vários lotes de leite líquido de soja, a saber:

QUADRO 4: Lotes de leite de soja com diferentes temperaturas e tempos de tratamento térmico.

	tempo de tratamento térmico (min.) (cozimento)
leite de soja cru.....	0
"          96°C .....	30 min.
"          " .....	45 "
"          " .....	60 "
"          " .....	90 "
leite de soja na autoclave (121°C) .....	15 "
"          " .....	30 "
"          " .....	45 "

Os diferentes lotes de leite de soja foram secados no spray-dryer (Nyro Atomizer). Empregando-se temperaturas de entrada do ar no spray-dryer de (200-210°C) e de 100-110°C na saída.

As condições de trabalho deste equipamento, foram estudadas afim de se conseguir a secagem do leite, encontrando-se que para

24.000 r.p.m. do disco dispersor do produto (o disco trabalha de 6.000 até 24.000 rpm) foi obtido um pó de granulação fina, não queimado ou dourado, de cor quase branca, ligeiramente creme.

Outras características do atomizador (spray-dryer) são as seguintes:

- velocidade do disco para aspersão centrífuga 24.000 rpm.
- capacidade de evaporação com o disco de aspersão centrífuga 11-12 Kg de água/hr.
- o ar era aspirado pelo exaustor, sendo aquecido, pela combustão do gás butano (comercial), diretamente.

.7. Preparo do leite de milho, para dietas dos ensaios biológicos:

O milho foi processado para ser utilizado no preparo de dietas dos ensaios biológicos, segundo as seguintes etapas:

a) Maceração em água à temperatura ambiente, durante 24 hrs.

b) Moagem. Foi realizada no um moinho de discos; moendo-se os grãos de milho até conseguir a mais fina granulometria possível. Para ajudar a moagem, foram alimentadas partes iguais em peso de grãos e água potável. A mistura foi recebida num recipiente de aço inoxidável e levada a banho-maria em água fervendo; a mistura foi adicionada de  $\alpha$ -amilase, grau farmacêutico.

c) Liquefação do milho. Durante este processo o amido do milho é desdobrado a dextrina pela enzima  $\alpha$ -amilase (ajudada pela aplicação de calor). A mistura foi aquecida até 80°C e com agitação contínua durante 45 min. até perceber-se a liquefação do milho. (a mistura diminui em viscosidade, apresentando um aspecto mais fluido). Neste ponto o aquecimento foi levado até 93°C.

Afim de se parar a ação da enzima, a temperatura de 95°C é mantida durante 20 min. O produto obtido contém até dissacarídeos.

d) Secagem do extrato. Empregou-se o Myro Atomizer (spray-dryer), para a secagem.

O extrato foi alimentado à 60°C de temperatura, e a entrada de ar ao spray-dryer, foi de 210-220°C, sendo a temperatura de saída de 100-105°C. A velocidade da turbina do spray-dryer, foi de 24.000 rpm. e a alimentação do produto na relação 6 Kg de extrato/hora. Não foi usado nenhum outro aditivo no spray-dryer para secagem.

#### .8. Análises químicas e físicas

- Umidade. A umidade foi feita pelo método da estufa segundo o descrito no AOAC, procedimento 20.4 (sixth edition, 1945 p. 237).

- Nitrogênio total. Foi determinado pelo método micro-Kjeldahl descrito no AOAC, segundo o procedimento 2.23, cujo teor multiplicado pelo fator 6.25, representa a percentagem de proteína bruta.

- Cinzas. Foram determinadas segundo o procedimento 20.5 no AOAC, para cinzas (sixth edition, 1945 p.238).

- Fibra Crua. Foi determinada pela digestão de uma amostra de leite de soja em pó, desengordurada com éter, e levada a um balão com ácido acético, ácido tricloroacético e 5 ml de HNO<sub>3</sub> concentrado, durante 30 min. a partir do início da ebulição. Após, foi filtrado o resíduo e lavado com água quente, secado em estufa e pesado, segundo procedimento elaborado no laboratório de bioqu<sup>í</sup>mica, na FTA-UNICAMP, para fibra crua.

- Determinação da atividade residual da antitripsina, em função do tempo de tratamento térmico. Os tratamentos foram de 0, 5, 10, 15, 20, 30 e 45 minutos. O método empregado foi segundo o original de Kakimoto et al que utiliza caseína e leitura espectrofotométrica dos aminoácidos hidrolizados em função da concentração de tripsina.

- Determinação de Gordura.

Empregou-se o método descrito por Lo, et al. (57) que baseia-se na extração da gordura com clancel e cloroformio. Este método é simples na sua aplicação e oferece resultados num nível de precisão, com erros menores que 0.5%. As amostras tinham na ordem de 30-33% de gordura.

- Determinação de Carboidratos.

Foram obtidos em percentagem por diferença após determinar proteínas, gordura, cinzas, umidade e fibra crua.

#### .9. Ensaio biológicos.

Para a determinação do valor biológico das proteínas, nas amostras de leite de soja em pó, submetidas a diferentes temperaturas e tempos de tratamento térmico, como as diferentes misturas com outros nutrientes (leite de vaca, soro de queijo, milho e milho enriquecido com metionina), determinou-se o valor PER (quociente de eficiência protéica), utilizando-se testes de crescimento com ratos. Em todos os casos, a caseína foi usada como padrão. Durante o experimento, os animais foram mantidos em gaiolas individuais com água e comida "ad libitum".

A composição em percentagem das dietas, utilizadas para a determinação dos valores PER, está especificada no Quadro 5, na página seguinte.



QUADRO 5: Composição de nutrientes em percentagem, das dietas utilizadas nos ensaios biológicos.

COMPONENTES	PERCENTAGEM	%
Nível proteico (proveniente de cada amostra)	±	10
Gordura total (corrigida com óleo de soja)		8
Mistura de sais minerais (Ver quadro 7)		4
Mistura de vitaminas (NBC) **		2
Carboidratos *		76
Amido (Refinações de Milho Brasil) 50%		
Sacarose (Açúcar União) 26%		

\* As quantidades adicionadas de amido e sacarose (comercial) foram usadas só para complementar as não contidas nos nutrientes da dieta básica.

\*\* Nutritional Biochemicals Corporation.

QUADRO 5: Composição proteica dos alimentos para a dieta 11-11-11  
 1958.

PROTEÍNA PROVENIENTE DE AMOSTRA Nº	COMPONENTES PROTÉICOS	NÍVEL PROTÉICO NA DIETA %
C <sub>1</sub>	Caseína 100%	11,5
M <sub>3</sub>	Soja 80% + Soro 20% de queijo	11,5
M <sub>4</sub>	Soja 70% + leite de vaca 30%	11,5
M <sub>5</sub>	- Soro de queijo 100%	10,3
M <sub>6</sub>	Soja 60% + Milho 40%	10,5
M <sub>7</sub>	Soja 60% + Milho 40% + + metionina	10,2
M <sub>8</sub> M <sub>9</sub> M <sub>10</sub> M <sub>11</sub> M <sub>12</sub>	Soja 100%	12,9, 11,5 10,8 11,4

\* 1 As misturas M<sub>3</sub>, M<sub>4</sub>, M<sub>6</sub>, M<sub>7</sub> foram feitas com leite de soja co  
 zida à 96°C durante 60 min., e secada no spray-dryer (210°C  
 e 100°C, temperaturas do ar na entrada e saída do spray-dryer)

\* 2 As misturas M<sub>8</sub>, M<sub>9</sub>, M<sub>10</sub>, M<sub>11</sub> foram feitas com leite de soja  
 em pó cozida 0, 30, 45 e 60 min. a 96°C e secadas no spray-  
 dryer nas mesmas condições que as outras misturas.

\* 3 A mistura M<sub>12</sub> foi preparada com um leite de soja em pó, cozi  
 da na autoclave à 121°C durante 15 min. e secada no spray-  
 dryer.

QUADRO 7: Mistura de sais minerais usada nas dietas para os  
ensaios biológicos.

COMPONENTES	PERCENTAGEM
Molibdato de Amônia . $4H_2O$	0,003
Carbonato de Cálcio	29,290
Fosfato de Cálcio . $2H_2O$	0,430
Sulfato Cúprico	0,156
Citrato Férrico . $6H_2O$	0,623
Sulfato de Magnésio . $7H_2O$	9,980
Sulfato de Manganês . $H_2O$	0,121
Iodeto de Potássio	0,0005
Fosfato de Potássio	34,310
Cloreto de Sódio	25,060
Selenito de Sódio . $5H_2O$	0,002
Cloreto de Zinco	0,020

Fonte: Roger, Q.R., e Harper, A.E. J.Nutr., 67:267-273  
1965.

Considerou-se, na composição das dietas, o nitrogênio total como nitrogênio protéico. Do amido de milho e da sacarose extraiam-se as quantidades presentes nas amostras, e do óleo extraiu-se o óleo presente na soja, ou leite de vaca.

A pesagem inicial dos ratos foi feita na hora que eles começaram a ser alimentados nas gaiolas com as respectivas dietas. A partir da primeira pesagem, estabelecidas como primeiro dia, foram feitas pesagens regulares cada 4 dias, pelo período de 4 semanas (1ª, 5ª, 9ª, 17ª, 21ª e 28ª).

As pesagens compreenderam sempre o peso de cada rato e respectiva ração consumida.

Calculou-se no final, o valor PER que é o quociente do ganho de peso pela proteína consumida. Os valores encontrados, foram corrigidos para caseína igual a 2,50.

#### IV. RESULTADOS

##### .1. Análises Químicas e físicas

No Quadro 8 na página seguinte, estão representadas as determinações feitas nas amostras de leites de soja preparados na planta pilôto, e das matérias-primas provenientes da indústria e utilizadas no preparo das dietas para os ensaios biológicos.

As composições protéicas de ditas dietas foram apresentadas no quadro 6.

QUADRO 8: Composição média das amostras do leite de soja em pó, produzidas na planta piloto e outros nutrientes.

LEITE DE SOJA EM PÓ	N x 6,25	GORDURA	CARBOIDRATOS	CINZAS	UMIDADE	FIBRA CRUA
0 min	57,7	30,7	5,0	2,0	3,1	1,5
30 97°C	58,0	30,2	4,9	1,9	3,0	2,0
45 97°C	58,0	31,6	2,6	2,3	3,3	2,2
60 97°C	54,2	32,3	6,7	2,4	2,9	1,5
15 121°C	53,6	32,2	7,4	2,2	3,0	1,6
Leite de vaca integral em pó	28,0	28,0	35,0	6,0	3,0	-
Soro de queijo desmineralizado em pó	13,0	-	83,0	-	4,0	-
Extrato do milho	7,7	-	88,8	-	3,5	-

QUADRO 9: Absorção de água pelos grãos de soja.

Água potável                      pH = 7,3  
 Variedade Santa Rosa

Tempo hrs.	Pêso do grão macerado	
	Temperatura da água	
	25°C	60°C
0	1.00	1.00
1	1.60	2.15
2	1.70	2.20
3	1.80	-
4	1.85	-
5	1.90	-
6	1.95	-
7	1.97	-
8	2.00	-

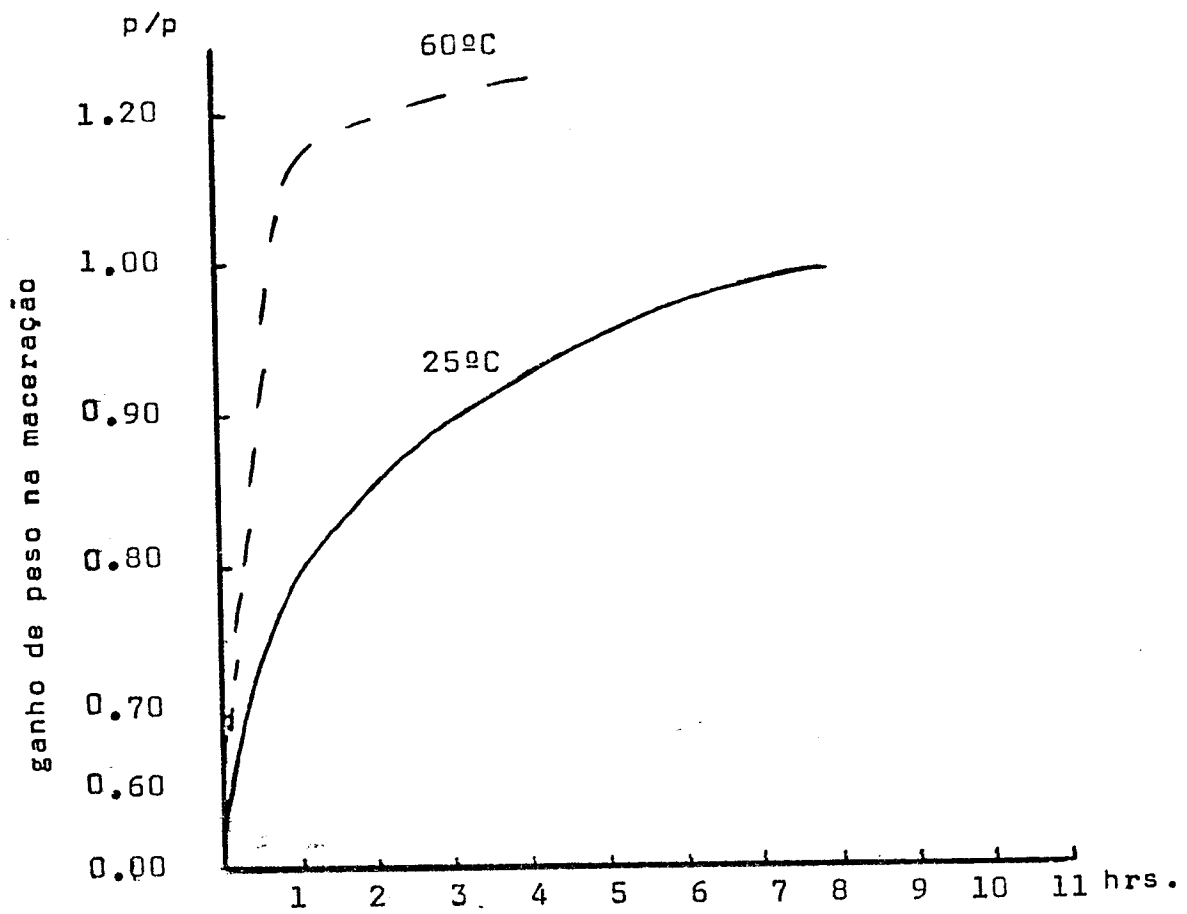


FIGURA 10: Curvas de absorção de água pelos grãos de soja (Variedade Santa Rosa).  
Água pH 7,3



.2. Determinação da atividade residual do inibidor de tripsina (Fator residual antitripsina) em função do tratamento térmico do leite de soja.

Na página seguinte é apresentada a curva de inativação do fator antitripsina residual em função do tempo de tratamento térmico, feito nas amostras de leite de soja, a dois níveis de temperatura, 96 a 121°C. Usou-se o método descrito na página 53. Calculou-se a inativação da antitripsina em função das unidades de tripsina inibidas, nas condições do método, Kakade et al (47).

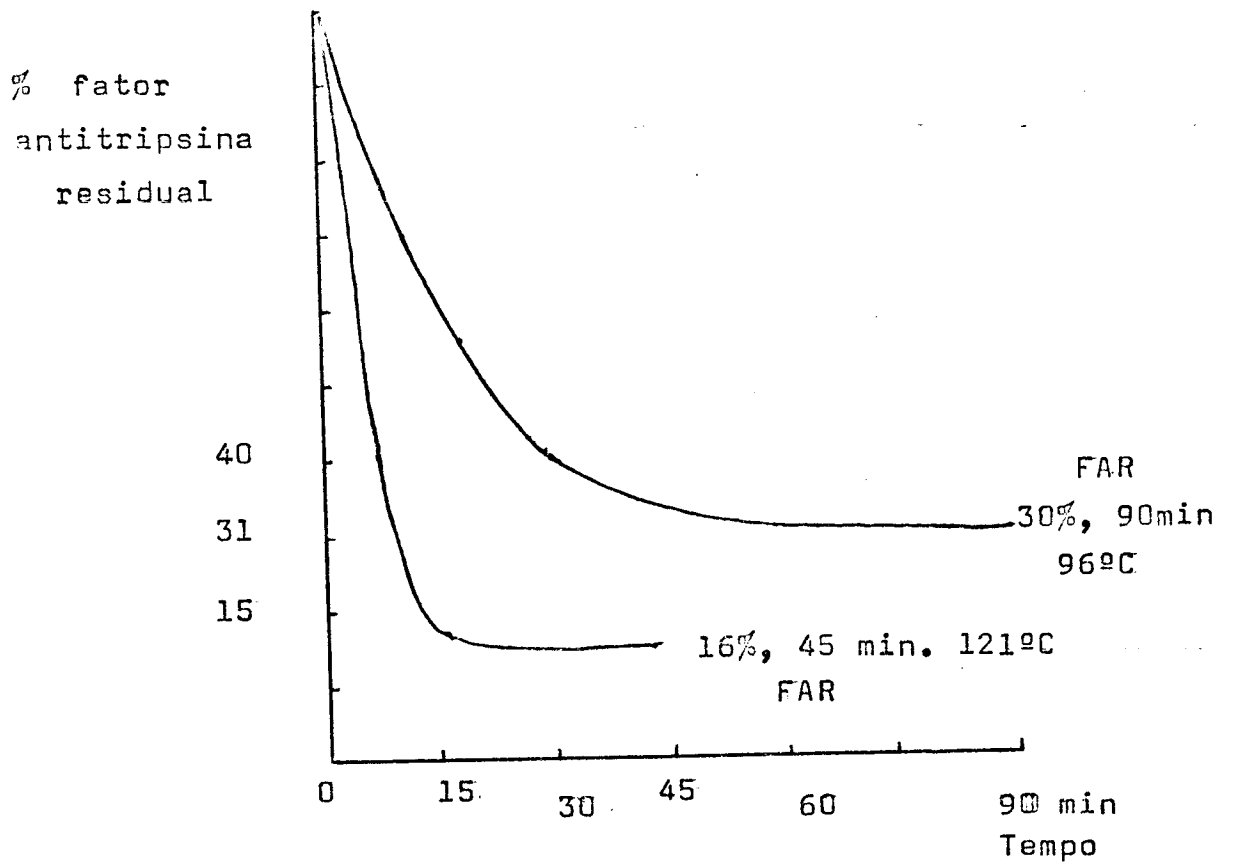


FIGURA 11: Fator antitripsina residual no leite de soja, após diferentes tempos e temperaturas de tratamento térmico.

F.A.R. = Fator antitripsina residual

QUADRO 10: Fator antitripsina correspondente  
ao tratamento térmico do leite de  
soja.

COMPONENTE	TRATAMENTO TÉRMICO	FATOR ANTITRIPSINA RESIDUAL
Leite cru	0 min.	100
Leite cozido	30 " 97°C	40
"	45 " "	33
"	60 " "	31
"	90 " "	30
"	15 " 121°C	17
"	30 " "	16
"	45 " "	16

QUADRO 11: Dados no ensaio biológico, com ratos de raça "Whistar" alimentados com as dietas feitas com leite de soja e outros nutrientes. (leite de vaca, soro de queijo, milho, metionina)

M <sub>0</sub>	D I E T A	Tratamento térmico	Peso médio ganho total por rata	Proteína total consumida por rato.	D.P. †	D.P. ‡	D.P. †	D.P. ‡	PER CORRIGIDO SEIENA =	OBSERVAÇÕES
C <sub>1</sub>	Caseína	-	90,1 †	41,0 ‡	D.P.	2,19 †	D.P.	2,50 ‡	2,50	não houve morte
M <sub>8</sub>	Leite de soja	0 min. 96°C	6,5	25,0		0,26		0,30		" "
M <sub>8</sub>	"	30 "	50,6	25,4		1,99		2,27		" "
M <sub>10</sub>	"	45 "	59,9	32,0		1,87		2,13		" "
M <sub>11</sub>	"	60 "	52,3	25,3		2,07		2,36		" "
M <sub>12</sub>	"	15 " 121°C	59,5	31,5		1,89		2,16		" "
M <sub>2</sub>	"	60 " 96°C	52,3	25,3		2,07		2,36		" "
M <sub>3</sub>	L.S./Soro de queijo	-	32,7	35,1		0,93		1,06		" "
M <sub>4</sub>	L.S., L.vaca	-	68,2	32,2		2,12		2,42		" "
M <sub>5</sub>	Soro de queijo.	-	-14,5	17,0		0,00		-0,64		morreram 4 ratos
M <sub>6</sub>	L.S., L.Milho	-	39,0	23,4		1,67		1,91		não houve morte
M <sub>7</sub>	L.S., L.Milho 0.2% metionina	-	49,3	25,1		1,96		2,24		" "

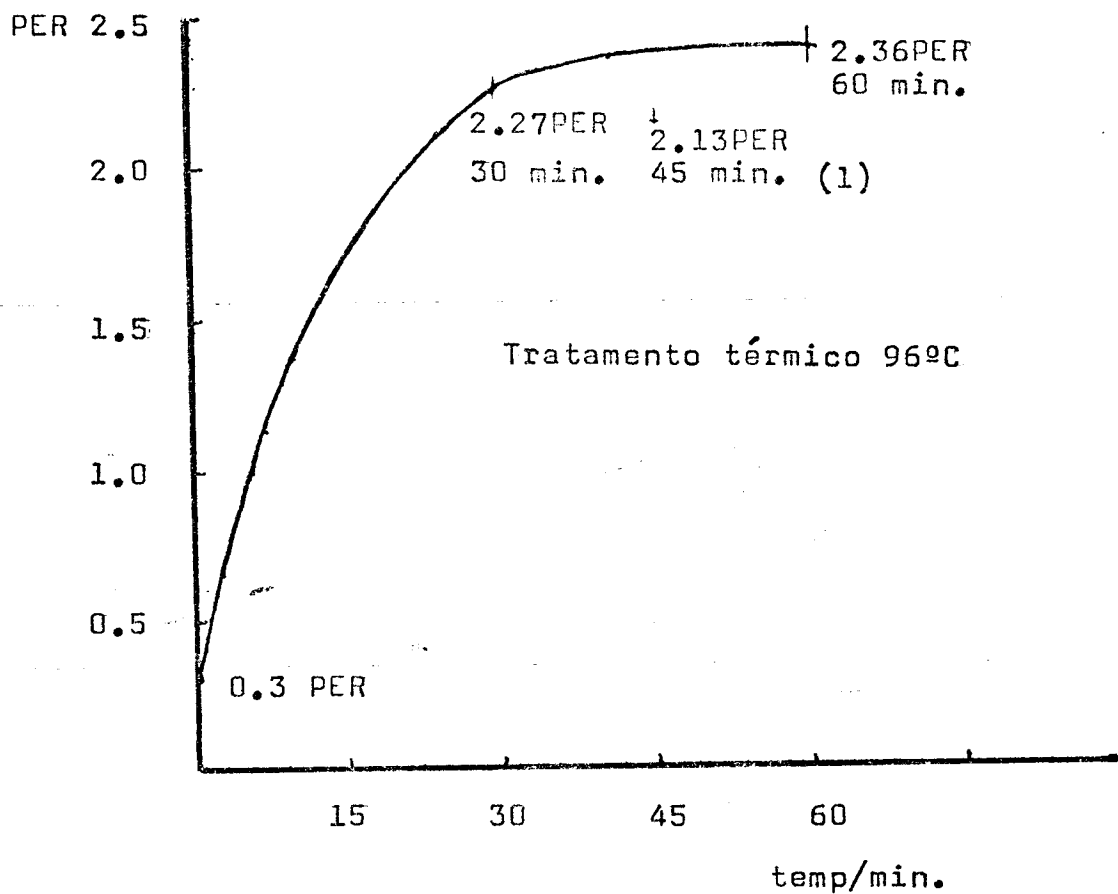
65.

\* As dietas M<sub>2</sub>, M<sub>3</sub>, M<sub>4</sub>, M<sub>6</sub> e M<sub>7</sub> foram preparadas com Leite de Soja (L.S.) tratada 60 min. 96°C. com a composição protéica dada no quadro 6, pag.

L.milho = leite de milho L.V = Leite de vaca

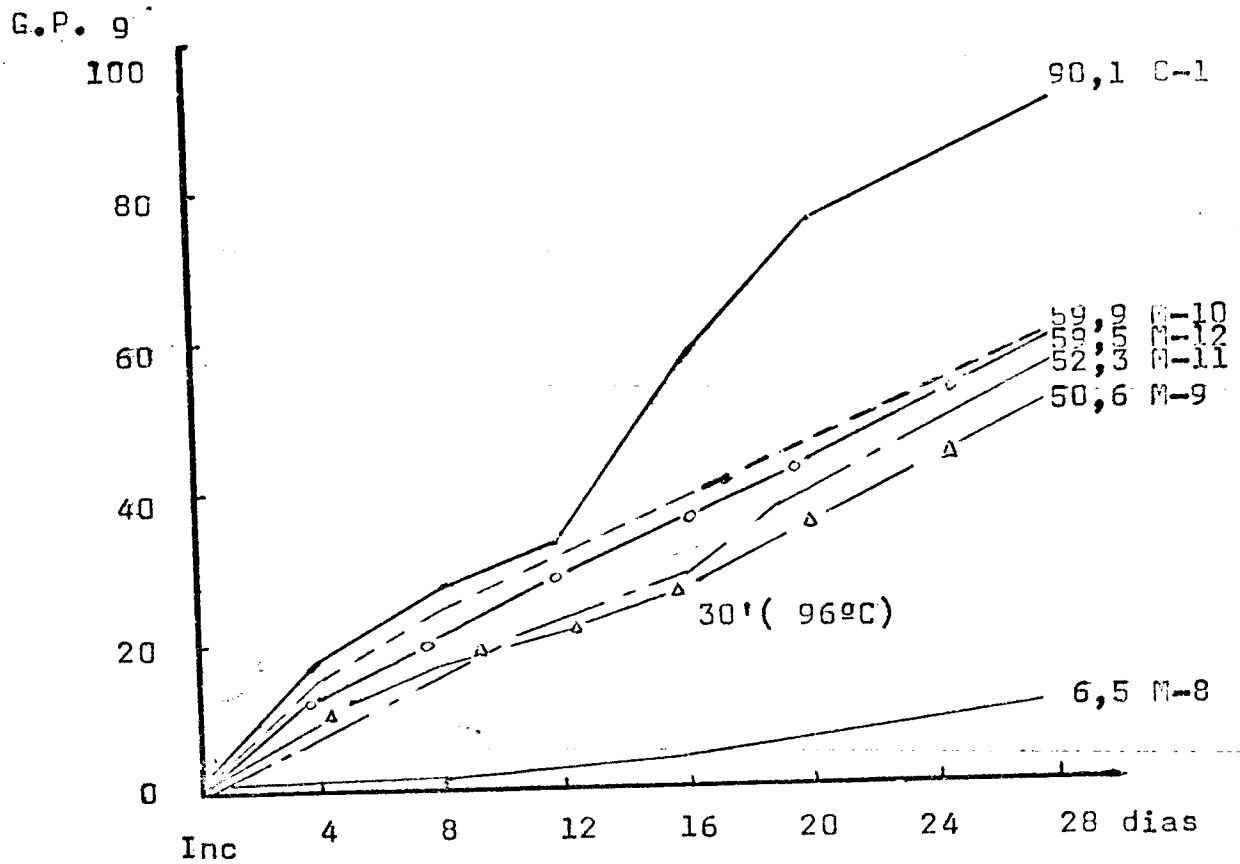
.5. Ensaio biológico. Na página seguinte são apresentados os valores de PER obtidos com ratos da raça "Wistar" alimentados com dietas de leite de soja e outras misturas deste com nutrientes (leite de vaca, milho etc.). Também são representados os dados a partir dos quais o PER foi calculado.

FIGURA 12: Curva de valores de PER em função do leite de soja que sofreram diferentes tempos de tratamento a 96°C.



(1) A causa do ponto estar fora da reta é explicada na discussão dos resultados, pag. 76

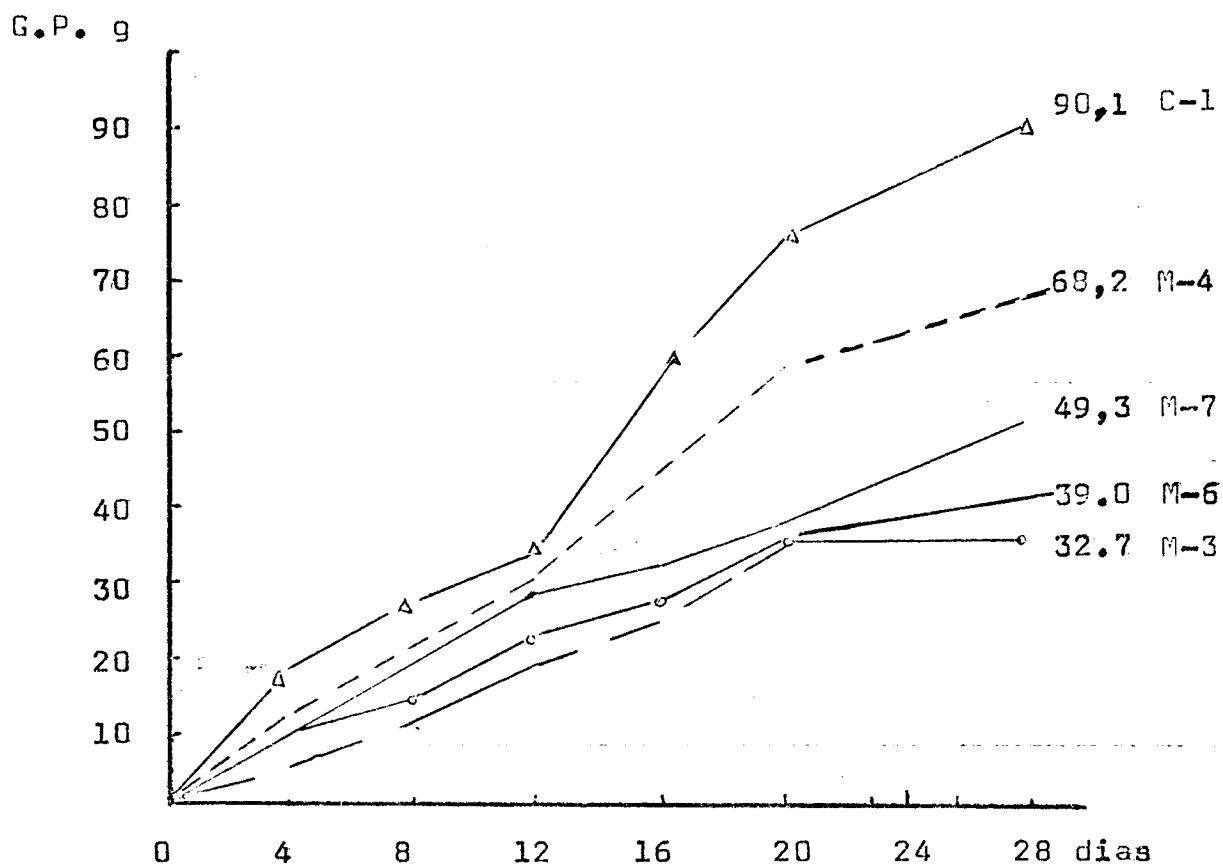
FIGURA 13: Curvas de ganho de peso médio total dos ratos e tempo de Ingestão das dietas de leite de soja -- com diferentes tratamentos térmicos.



	Tempo/min.	Temp. trat.	Componentes da dieta
M-12	15	121°C	L.S. 10% Prot
M-11	60	96°C	L.S. "
M-10	45	96°C	L.S. "
M-9	30	96°C	L.S. "
M-8	0	-	L.S. "

G.P. = Ganho de peso

FIGURA 14: Curvas de ganho de peso médio dos ratos e tempo de ingestão das dietas de leite de soja com outros nutrientes.



C-1 Cascina  
M-3 L.S. e Soro de queijo  
M-4 L.S. e L. vaca  
M-6 L.S. e leite de milho  
M-7 L.S. e leite de milho + 0,2% metionina

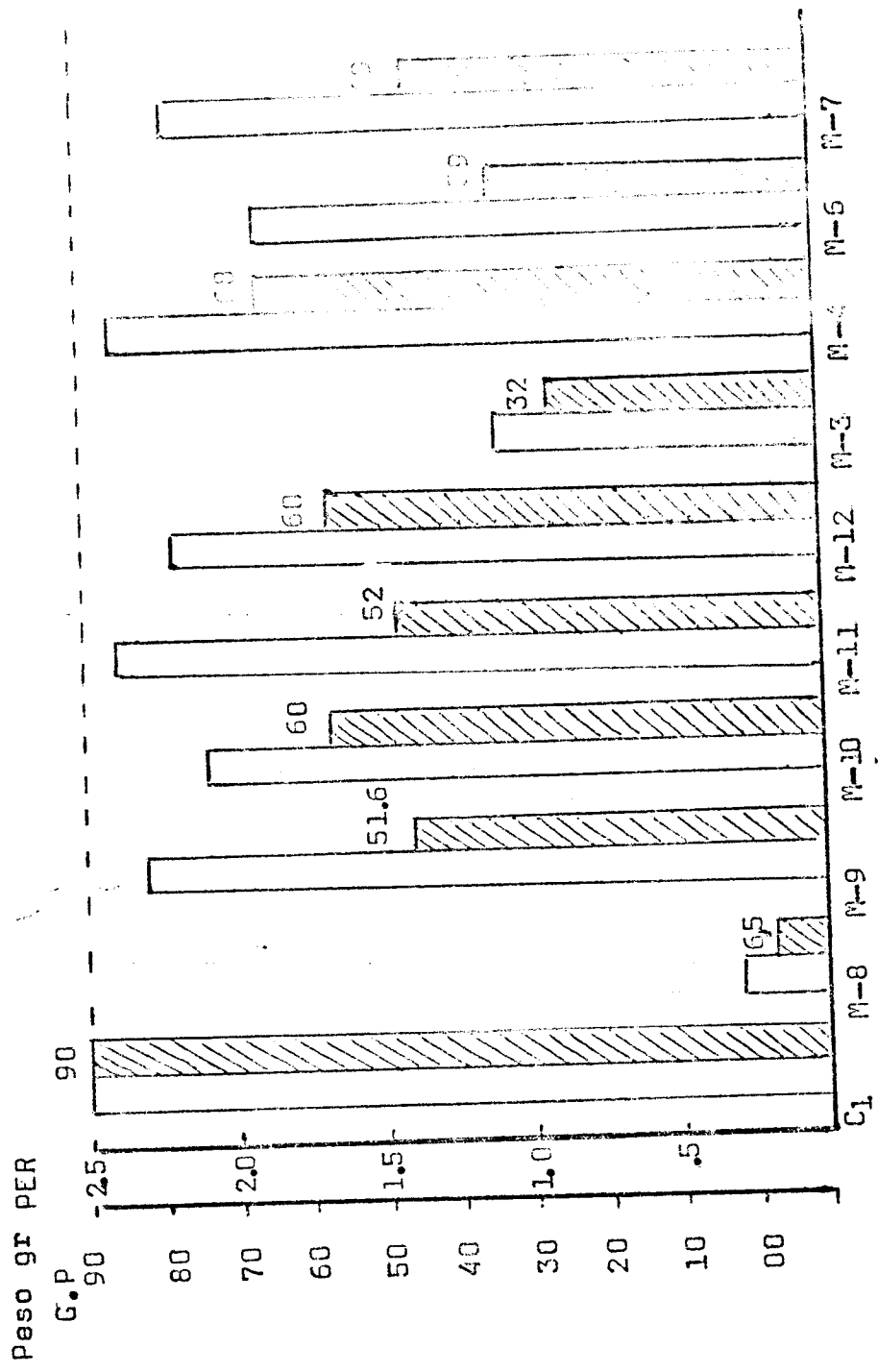


QUADRO 12: Dados do fator antitripsina residual  
determinados em percentagem versus o  
PER obtido nos ensaios biológicos.

PER versus Fator Antitripsina residual  
F.A.R.

Tempo/min.	Fator %	PER
0 96°C	100	0.30
30 96°C	40	2.27
45 96°C	33	2.13
60 96°C	31	2.36
15 (121°C)	17	2.16

GRÁFICO 1: Comparação do ganho de peso médio total por rato, e os valores do PER de cada mistura.



Nota: A figura mostra que para PER quanto maior C1, M-4, M-7, os ratos cresceram mais. Os PER são do mesmo nível mas os ganhos absolutos são menores.

## V. DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

### .1. Análises químicas e físicas

As análises químicas e físicas do leite de soja produzido - no laboratório e na planta pilôto, deram resultados similares aos encontrados na literatura.

O leite de soja em pó apresentou teores de até 58% de proteínas totais, representados no quadro 8. Estes valores foram obtidos, pela determinação do N<sub>2</sub> total e multiplicado pelo fator 6,25. As proporções a serem usadas nas dietas para os ensaios biológicos foram calculados com os valores do Quadro 8.

Os teores de gordura são os apresentados no mesmo quadro - juntamente com os das proteínas. Estas percentagens de gordura foram de 30 a 32, dados similares a aqueles obtidos por outros pesquisadores.

A cinza, umidade e fibra crua deram valores também dentro dos níveis informados na literatura, e os carboidratos foram - calculados por diferença.

### .2. Efeito da temperatura da água de maceração na absorção desta, pelos grãos de soja.

Segundo se representa na figura 10 e quadro 9, o tempo necessário para os grãos de soja, variedade Santa-Rosa, atingir o dobro de seu peso original (sêco) varia muito com a temperatura da água. Assim a 25°C o tempo é de 8 a 10 horas, enquanto que quando a água usada está a 60°C o tempo diminui para 50-60 min. A água usada foi potável (pH: 7,3) nas duas experiências. Usou-se água a 25°C devido ao fato de ser a mais comum e simples forma de se conseguir a produção do leite de soja, método tradicional recomen

dado por vários pesquisadores,

.3. Efeito da moagem dos grãos com água quente entre 80° e 96°C no sabor do leite de soja.

A inativação da lipoxidase é feita no momento em que esta entra em atividade, atacando os ácidos graxos de cadeia longa e insaturados, ao serem liberados das células pela trituração. Os efeitos da inativação são altamente proveitosos ao impedir a formação dos compostos voláteis, que são a causa do sabor desagradável do leite de soja. Isto foi constatado quando grãos de soja aquecidos em água fervendo antes da moagem ou moídos com água quente entre 80 e 100°C, não produziram leite com mau sabor, com parados com o leite produzido por moagem a frio, abaixo de 80°C. Esta experiência foi realizada a nível de laboratório usando-se um liquidificador doméstico.

No caso do leite ser feito sem inativação da enzima lipoxidase (antes ou durante a moagem) vai ter sempre o "beany flavor", devido à rapidez com que esta enzima atua nos ácidos graxos insaturados, não importando a rapidez de aquecimento do leite, para inativa-la, segundo foi constatado com o leite produzido, nessas condições.

Um outro resultado importante obtido a partir do tipo de moagem escolhido, foi a insolubilização, em água, que sofreram as proteínas, no caso dos grãos serem submersos em água fervente antes de serem moídos (geralmente 3 min.) com o objetivo de inativar a lipoxidase. Constatou-se que quando os grãos foram tratados termicamente, como citou-se antes, o leite obtido apresentou o problema notável da separação da fase líquida e sólida (proteínas insolúveis), tão logo deixado em repouso.

No caso da moagem à quente, entre 80 e 100°C, verificou-se a solubilização das proteínas, obtendo-se um leite homogêneo e que não apresentava sedimentação nenhuma quando colocado em repouso, - mesmo por vários dias.

As experiências citadas e os resultados obtidos no presente trabalho, são similares aos apresentados por outros pesquisadores, (13).

.4. Atividade residual do inibidor de tripsina em função do tratamento térmico do leite de soja.

De acordo com o quadro 10 e a Figura 11 a atividade da anti tripsina é drasticamente reduzida no começo do tratamento térmico, tanto a 96°C como a 121°C, pois para o primeiro caso a atividade da antitripsina já foi reduzida até 50% do seu teor inicial (100%) só em 20 min. e até 40% (residual) em 30 min. Para o segundo valor de temperatura 121°C, o teor residual do fator antitripsina, já é de 17% só em 15 min.

Um fato a ser mais estudado é porque, tanto a 96°C como a 121°C, não se conseguiu reduzir o fator antitripsina a níveis mais baixos, ainda que o tempo de cozimento a 96 e 121°C tenha sido prolongado até 90 e 45 min. respectivamente. O fato real pelo qual isto ocorreu é desconhecido. Talvez seja devido a que o método de Kakade et al (47) tenha sido elaborado para determinações onde se empregue farinha de soja e, no presente trabalho, foi utilizado leite de soja em pó; ou talvez o tratamento térmico não tenha sido aplicado adequadamente, apesar das várias tentativas práticas para consegui-lo, através da agitação constante do leite buscando conseguir uma distribuição uniforme do calor, controlando constantemen-

te a temperaturas de leite e da água de aquecimento etc. Outros pesquisadores (5) conseguiram com temperatura de 90°C e 121°C, tempos de até 5% e 3% de fator antitripsina residual, em tempos de, apenas 30 min. e 15 min. respectivamente. O anterior significa - que é possível destruir 95% ou 97% do inibidor de tripsina inicialmente presente nos grãos de soja.

.5. Crescimento dos ratos "Whistar" alimentados com leite de soja que teve diferentes tratamentos térmicos (avaliação do PER).

No quadro 11 são representados os dados de ganho de peso total médio por rato (média de grupo com seis ratos cada grupo) desde o início até o final do ensaio biológico. Também são representados os dados correspondentes de ingestão de proteína (quantidade - média consumida por rato), e o PER encontrado para cada grupo testado e para cada uma das dietas preparadas com leite de soja e o tratamento térmico a que elas foram submetidas. (Ver figura 11).

Existe certa correlação entre os valores de PER encontrados e os tempos de tratamento térmico a que o leite foi submetido. Apresentando assim o leite de soja cru o mais baixo valor do PER como era esperado. Foram obtidos valores aceitáveis, do PER para o leite que foi tratado 30 min. a 96°C (PER 2,27 já corrigido para ca seina padrão 2,5).

Com o leite tratado 45 min. a 96°C o PER foi de 2,13, basicamente do mesmo nível que o anterior. A dieta foi alterada no 12º dia do teste, pois a apresentação de fungos produzidos pela umidade nas dietas das caixinhas de onde os ratos se alimentaram 2 ou 3 dias, é a possível explicação do abaixamento do PER para esta dieta.

Para o leite tratado 60 min. a 96°C o PER foi melhor 2,55 encontrando-se para o leite tratado 17 min. a 121°C um PER de 2,16. Os resultados obtidos no presente trabalho estão, como se esperava, dentro dos limites que a literatura consultada estabeleça (31,64, 76).

Os resultados mostram que o tempo e temperatura ótimos de tratamento térmico para o leite de soja são de 60 min. e 96°C, respectivamente, segundo a figura 12. Após 60 min. de tratamento o valor PER não aumenta, e se faz assintótico, ainda que seja considerado o ponto com PER 2,13 (45min. 96°C). É óbvio considerar que a determinação de 4 pontos, como os da figura 12 antes citada, não podem servir de critério estatístico para o traçado da curva, mas o presente trabalho somente visa estabelecer concordância, com as experiências que outros pesquisadores têm feitas.

Todos os valores de PER encontrados foram corrigidos para o padrão de caseína 2,5.

O leite de soja nestas condições, mostra ter sido pelo menos 90% tão eficiente como a caseína, no aproveitamento das proteínas (PER 2,27 leite tratado 30 min. 96°C) e até melhor de 90% (95% no caso do leite, tratado 60 min. a 93°C PER 2,36).

É importante notar que não obstante o bom PER, do leite de soja, o ganho do peso total médio dos animais é menor do que aqueles que foram alimentados com caseína, devido na mesma proporção ao fato de que também ingeriram menos proteínas. Assim o grupo da caseína em média, alimentou-se com 41 g. de proteína ao longo da experiência (28 dias) e cresceu 90,1 g. enquanto os outros só consumiram 25 g e cresceram 50.6 g.

A menor ingestão de proteína pode dever-se ao fato de que o leite não foi alimento bem aceito pelos animais.

.6. Crescimento dos ratos "Whistar" alimentados com misturas de leite de soja e outros nutrientes (leite de vaca, soro de queijo, milho e milho + 0,2% de metionina).

No quadro 11 são representados os dados de PER encontrados para misturas de leite de soja (cozido 60 min. a 96°C) com outros nutrientes, segundo a composição descrita no quadro 6.

O melhor PER 2,42, foi obtido com a mistura de 70% de proteína de leite de soja e 30% de proteínas de leite de vaca, o qual pode-se considerar do mesmo nível que o padrão caseína 2,5. Uma outra mistura com bom PER 2,24 é a de L.S. (60%) com leite de milho (40%) e mais 0,2% de metionina, esta mistura apresenta diferença com a mistura de L.S. e leite de milho sem adição de metionina, - (PER 1,91) o qual demonstrou de fato o benefício que resulta a adição ao leite deste aminoácido limitante da soja. Salienta também que a mistura de milho e leite de soja, é pobre no citado aminoácido.

Com o leite de soja misturado com soro de queijo (na proporção de 80 e 20% respectivamente) o PER foi só de 1,06 e para o soro só (sem leite de soja) 4 ratos morreram (PER=0,84).

Deve-se observar que a dieta preparada com leite de soja tratada termicamente a 96°C durante 60 min., obteve um PER de 2,36, - comparável com o PER da dieta de L.S., e leite de vaca de 2,42 o que demonstra a eficiência com que suplementou-se o leite de soja e 30% de leite de vaca usados neste ensaio biológico. Considera-se suplementado o leite de soja, pelo fato de não apresentar queda de seu PER, o que satisfaz um dos objetivos visados no presente traba



lho, para a obtenção de novas misturas com proteína vegetal. Deve-se observar também que o ganho de peso médio dos ratos foi menor, que aquele dos alimentados com caseína. Para a mistura com L.V. o crescimento foi de 68 g e 90 g para a caseína, (68/90 gr  $\approx$  75%) o que está representado no gráfico de barras.

O crescimento que os ratos alimentados com a dieta de L.S. e milho com 0.2% de metionina experimentaram, foi de 39g; igual a 43% (39g/90g) do que os ratos alimentados com caseína. No caso do L.S. foi 52,3 g que correspondem a 58% (52g/90g) do crescimento com caseína.

Da mesma forma que para os leites de soja com diferentes tratamentos térmicos, poderia-se dizer que a causa da menor ingestão de proteína é pouca preferência dos ratos pelas dietas que foram preparadas.

.7. Correlação do fator antitripsina residual no leite de soja (após tratamento térmico) e o valor PER.

No Quadro 11 são representados 3 colunas de dados, o tempo e a temperatura de tratamento térmico do leite de soja, a percentagem residual do fator antitripsina determinado no laboratório e o valor correspondente de PER.

Encontraram-se para as dietas de leite de soja valores de PER dentro a mesma faixa (2,27, 2,13, 2,36 e 2,16) não se considerando significativas as diferenças entre eles exceto no caso do leite cru com PER 0,30. A partir dos valores do PER não foi possível obter correlação nenhuma entre este e a atividade residual do fator antitripsina, o que é confirmado por Kakade e Simons (46) conforme quadro 12. O comentário que pode ser feito a respei

to, é que não é só o fator antitripsina o único fator antinutricional que afeta o PER, podendo-se ter outros fatores desconhecidos - que afetam o quociente de eficiência protéica (PER). Além disso - poderia-se considerar também o efeito que o calor tem no aminoácido lisina, o qual pode ser destruído pelo calor, quando este é aplicado inadequadamente (86).

O aumento dos valores do PER quando as dietas dos ensaios biológicos são preparadas com leite de soja, adicionado com outros aminoácidos como lisina e treonina, além da metionina deve ser também considerado (14) (16) (48) (7). Principalmente o efeito positivo - dos aminoácidos lisina e treonina, quando o leite sofre super aquecimento. A digestibilidade das proteínas varia também em função do aquecimento, a que o leite de soja seja submetido (86) fatores que não foram estudados no presente trabalho.

.8. Comparação dos valores de PER e ganho de peso dos ratos alimentados com as dietas do leite de soja e leite de soja e outros nutrientes.

No gráfico de barras nº 1 pag.71 são comparados os valores do PER e o ganho de peso médio de cada grupo alimentado com as dietas de leite de soja e outros nutrientes (leite de vaca, soro de queijo, milho, etc.).

Já foi mencionado antes na parte correspondente a crescimento dos ratos "Whistar", como eles ainda que tiveram quase o mesmo quociente de eficiência protéica, não tiveram o mesmo ganho de peso, devido a menor ingestão de proteínas. Só falta assinalar que no gráfico apresentado foi considerado o PER da caseína 2,5, como o equivalente a 100% de ganho de peso, e com relação a este foram

considerados os ganhos de peso dos outros grupos de ratos. Pelo que o mencionado gráfico de barras apresenta, os valores de PER, obtidos com as dietas C<sub>1</sub>, M-9, M-10, M11, M12, M-4 e M-7, são semelhantes, o que não acontece com o ganho de peso dos ratos, onde se obtêm valores bastante diferentes. A razão a que isto é atribuído, é a possível falta de aceitação das dietas, mas o fato real é desconhecido.

## VI. CONCLUSÕES

A partir das experiências realizadas em laboratório e planta - piloto, concluiu-se que a temperatura e o tempo são variáveis decisivas no processamento do leite de soja, pois são diretamente responsáveis pelo odor, sabor, textura e valor nutricional do produto obtido.

Assim, a temperatura e o tempo são variáveis importantes na maceração e moagem dos grãos de soja, pois exercem influência no odor, sabor e solubilidade das proteínas extraídas dos mesmos e presentes no leite de soja. Também no tratamento térmico (cozimento) - aplicado ao leite de soja, é a temperatura e o tempo que determinam seu valor nutricional. O mesmo pode-se dizer da temperatura de entrada do ar no spray-dryer.

Por outro lado, foi possível obter algumas conclusões ao se considerar os efeitos biológicos resultantes da alimentação de ratos com misturas de leite de soja e outros nutrientes, a saber: leite de vaca, soro de queijo, milho e metionina.

Concluiu-se que, por facilidade e economia, ao se trabalhar com quantidades pequenas de soja, a maceração de 6-12 horas, para que os grãos atinjam o dobro de seu peso inicial seco, em água potável a temperatura ambiente, na relação 3:1 (água:grãos), é recomendável. No caso da moagem dos grãos de soja, faça-la com água a temperatura entre 80-96°C, na relação 9:1 (água:grãos), e conservar o produto obtido pelo menos 3 a 5 min. acima de 80°C é suficiente para que se consiga um leite com pouco odor indesejável (beany-flavor) e sem insolubilizar as proteínas, naturalmente solúveis em água; fato que acontece de forma notável se os grãos sofrem o tratamento de inativação da enzima lipoxidase, durante 3 mi

nutos a 95°C (com água fervendo) antes de serem usados.

Concluiu-se que com o tratamento térmico a 95°C, durante 60 min., aumenta-se notavelmente o valor nutricional do leite de soja, PER 2,36, se comparado com o PER 0,30 do leite cru. A autoclavagem do leite, durante 15 min. a 121°C, provoca um aumento no valor nutricional deste, até o PER 2,16.

Concluiu-se que a secagem do leite, do spray-dryer, deve ser feita com a temperatura de entrada do ar a 200-220°C, velocidade do disco de aspersão de 24.000 rpm. e o leite alimentado com 16% de sólidos, obtendo-se assim um produto de aceitáveis características de odor, sabor, cor, textura, granulometria e valor nutricional PER 2,36.

Concluiu-se, das experiências de tratamento térmico do leite de soja e seu fator residual de antitripsina, que a destruição deste, é função do tempo e temperatura do tratamento, conforme a figura 11. Não foi possível destruir mais de 70% do fator antitripsina (30% residual) empregando temperaturas de 96°C, ainda que o tratamento fosse prolongado até 90 min., onde a curva de destruição se fez assintótica. Para o caso de autoclavagem a 121°C se obteve até 16% do fator residual antitripsina em 30 min. Após este tempo a curva se fez assintótica, isto é, o fato do tempo de tratamento ser prolongado não implica que a destruição seja maior. Concluindo-se assim que um tratamento de, apenas, 15 minutos a 121°C é suficiente para destruir substancialmente o fator (17% FAR).

Não foi possível obter correlação nenhuma entre o Fator residual antitripsina e os valores do PER obtidos nos ensaios biológicos.

glicos, porém, os dados não foram considerados estatisticamente.

Foi possível a produção do leite de milho pela ação da enzima  $\alpha$ -amilase sobre milho moído e misturado, em partes iguais, com água. Essa mistura foi aquecida a 60°C durante 30 minutos sob agitação constante, sendo posteriormente aquecida até 96°C por 20 minutos para inativar a enzima  $\alpha$ -amilase. Esperava-se melhorar a digestibilidade do milho pelos animais, através do desdobramento do amido em dextrina pela ação da enzima, e da eliminação, do leite, da fibra crua da pele dos grãos de milho pela filtragem. A secagem deste leite no spray-dryer é possível seguindo-se as condições de trabalho praticadas na secagem do leite de soja.

O leite de soja cozido tem PER 2,36 e a mistura de 70% de proteínas deste com 30% de proteínas de leite de vaca passa a ter PER 2,42, o que está mais próximo ao padrão caseína PER 2,5; concluindo-se daí que ambas as dietas possuem boas qualidades nutricionais. Praticamente o mesmo pode ser afirmado em relação ao leite de soja cozido apenas 30 min. a 96°C PER 2,27 e à mistura de 60% de proteínas de leite de soja (cozida 60 min. a 96°C, PER 2,36) com 40% de proteínas de leite de milho e mais 0,2% de metionina, com PER 2,24; porém, já não podemos fazer semelhante afirmação para a mesma mistura sem metionina, PER 1,91.

Por causa dos baixos valores do PER obtidos, os leites cozidos (45 min. a 96°C PER 2,13) e (15 min. a 121°C, PER 2,16) foram deixados de lado. Pelo mesmo motivo, o leite de soja cru PER 0,30, o soro de queijo PER 0,84 e mistura de 20% de proteínas deste com 80% de proteína de leite de soja PER 1,06 podem ser considerados como possuindo baixo valor nutricional.

1. ADOLPH, W.H. & KAO, H.C. The biological availability of soybean carbohydrate. *J.Nutr.*, 2, 395-406, 1934.
2. ANDRÉ, E. & HOU, K.W. Lipoxidase. Its discovery in the residue from the preparation of soymilk. *Oleagineux*, 19, 187-193, 1964.
3. ALBRECHT, W. & MUSTAKAS, G.C. Rate studies on atmospheric steaming and immersion cooking of soybeans. *Cereal Chem.* 43, 400-407, 1966.
4. ASPINWALL, G.O. & BEGBIE, R. Polysaccharide components of soybeans. *Cereal Sci. Today*, 12, 223-228, 1967.
5. BADENHOP, A.F. & HACKLER, L.R. Effects of soaking soybeans in sodium hydroxide solution as pretreatment for soy milk production. *Cereal Sci. Today*, 15(3), 84-88, 1970.
6. BADENHOP, A.F. & WILKENS, W.F. The formation of 1-0-1-octen-3-01 in soybeans during soaking. *J.Am. Oil Chem. Soc.* 46: 179-182, 1969.
7. BADENHOP, A.F. & HACKLER, L.R. Methionine supplementation of soymilk to correct cystine loss resulting from an alkaline soaking procedure. *Journal of Food Science*, 38, 471, 1973.
8. BICKOFT, E.M.; LIVINGSTON, A.L. & HENDRICKSON, A.P. Relative potencies of several estrogen-like compounds found in forages. *J. Agr. Food Chem.* 10, 410-412, 1962.

9. BIRK, Y. & HALBOGAN, M. Urease activity in three varieties of soybeans and in soybean plant. *Qualitas Plant Mater. Vegetabilis* 12, 199-200, 1965.
10. BLAIN, J.A. & SHEARER, G. Inhibition of soy lipoxidase. *J. Sci. Food Agric.*, 16, 373, 1965.
11. BLAIN, J.A. & STYLES, E.C. A liperoxidase factor in soya extracts. *Nature*, 184, 1141, 1959.
12. BORCHERS, R.; ANDERSON, C.W. & SANDSTEDT, R.M. Trypsin - inhibitor. III. Determination and heat destruction of the trypsin inhibitor of soybeans. *Arch. Biochem.* 12, 367-374, 1947.
13. BOURNE, C. MALCOM Recent Advances in soybean milk processing Technology. *PAG Bulletin*. Nº 10, p.14-21, 1970.
14. BRESSANI, R. & ELIAS, L.G. All-vegetable protein mixtures for human feeding. *J. Food Sci.* 31, 626-631, 1966.
15. BRESSANI, R. & MARENCO, E. The enrichment of lime-treated corn flour with proteins, lysine and tryptophan and vitamins. *J. Agr. Food Chem.* 11, 517-522, 1963.
16. BRESSANI, R. & ELIAS, L.G. Studies on the use of opaque-2 corn in vegetable protein-rich foods. *J. Agr. Food Chem.* 17(3): 659-662, 1969.
17. BRESSANI, R. . Correspondência pessoal, 1974.



18. CARPENTER, K.J. The combination of available lysine in animal-protein foods. *Biochem. J.* 77, 604, 1960.
19. CASKEY, C.D., JR; & KNAPP, F.C. Method for detecting inadequately heated soybean oilmeal. *Ind. Eng. Chem. Anal. Ed.* 16, 640-641, 1944.
20. CATSIMPOLAS, N., & MEYER, E.W. Isolation of soybean he magglutinin and demonstration of multiple forms by isoelectric focusing. *Arch. Biochem. Biophys.*, 132, -279-285, 1969.
21. CIRCLE, S.J. Proteins and other nitrogenous constituents. In *Soybean and Soybean Products*. John Wiley & Sons, N.Y. K.S. Markley (editor), I, 1950.
22. DANIELS, A.L. & NICHOLS, M.B. The nutritive value of the soybean. *J. Biol. Chem.* 32, 91-102, 1917.
23. DAUBERT, B.F. Other constituents of the soybean. In *soybeans and soybean Products*, I, K.S. Markley (editor) John Wiley & Sons, N.Y., 1950.
24. DE, S.S. Soybean in India. *Soybean Digest* 8(9), 45-46, 1948.
25. DIMLER, R.J. Soybeans and Corn join forces in food. *Soybean Digest*, 27, 50-53, 1967.

26. FARKAS, D.F. & SCHULZ, S.M. Studies on the kinetics of lipoxidase inactivation using thermal and ionizing energy. *J. Food Science*, 27, 202, 1958.
27. FAO. Food Composition tables for International Use. Food Agr. Organ. U.N., Nutr. Studies 3, 1949.
28. GUSS, P.L. & RICHARDSON, I. The oxydation-reduction enzymes of wheat. III Isoenzymes of lipoxidase in wheat -- fractions and soybeans. *Cereal Chem.*, 44, 607-610, 1967.
29. GUTHNECK, B.T.; BENNETT, B.A. Utilization of aminoacids - from foods by the rat. II. Lysine. *J. Nutr.* 49, 289-294, 1953.
30. GYÖRGY, P. & PRENA, C. Protein rich foods in calorie-protein malnutrition. Problems of evaluation. *Am. J. Clin. Nutr.* 14, 7-12, 1964.
31. HACKLER, L.R.; VAN BUREN, K.H.; EL-RAWI, I. & HAND, D.B. - Effect of heat treatment on nutritive value of soymilk protein fed to weanling rats. *J. Food Sci.* 30, 723-728, 1965.
32. HACKLER, L.R.; HAND, D.B.; STEINKRAUS, K.A. & VAN BUREN, J.B. A comparison of the nutritional value of protein from several soybean fraction. *J. Nutrition* 80, 205-210, 1963.
33. HACKLER, L.R. & STILLINGS, B.R. Aminoacid composition of heat-processed soymilk and its correlation with nutritive value. *Cereal Chem.* 44, 70-77, 1967.

34. HACKLER, L.B. & STILLER, R.B. Correlation of amino acid indexes with nutritional quality of several soybean fractions. Cereal Chem. 44, 300-304, 1967.
35. HAND, D.B.; STETIKRAUS, K.H.; VAN BUREN, J.P.; HACKLER, L. R.; EL RAMI, T. AND PALLENCEN, H.R. Pilot Plant studies on soy milk. Food Technol. 18, 139. 1964.
36. HARKINS, R.W. & SARETT, H.P. Methods of comparing protein quality of soybean infant formulas in rat. J. Nutr. 91, 213-218, 1967.
37. HARRIS, P.L. & QUAIFFE, M.L. Vitamin E content of foods. - J. Nutr. 40, 367-381, 1950
38. HAWK, P.B. AND OSER, B.L. "Practical Physiological Chemistry", 13th. ed. p.897. Blakiston, Co. N.Y. 1954.
39. HAYWARD, J.W. Improved feed ingredient processing. Feed-stuffs, 31. 18, 1959.
40. HAYWARD, J.W. & HAFNER, F.H. The supplementary effect of cystine and methionine upon the protein of raw and cooked soybeans as determined with chicks and rats. - Poultry Sci., 20. 139, 1941.
41. HAYWARD, J.W. & STEENBOCK, H. The effect of heat as used in the extraction of soybean oil upon the nutritive value of the protein of soybean oil meal. J. Nutr. 11, 219, 1936.

42. HANFORD, J.M.; STEINBERG, H.; ANDERSON, J. The effect of cystine and casein supplements upon the nutritive value of the proteins of soybean flour. *J. Nutr.* 13, 275, 1956 B.
43. HINGOJOSA GUTIERREZ, R. Contribuição ao estudo da extração e concentração do leite de soja. Tese para obtenção do título "Mestre em Ciências" F.T.A. UNICAMP., 1974.
44. HOWE, E. Summary of progress on the use of purified amino acids in foods. In Meeting the Protein Needs of Infants and Children. Nat. Acad. Sci. Nat. Res. Council Publ. 943, 10, 1961.
45. HUNTER, R.S. *J. Opt. Soc. Am.* 48, 985, 1958.
46. KAKADE, M.L. & SIMONS, N.R. Biochemical and Nutritional assessment of different varieties of soybeans. *J. Agr. Food Chem.* 20, 87-90, 1972.
47. KAKADE, M.L.; SIMONS, N. & LIENER, I.E. An evaluation of natural vs synthetic substrates for measuring the anti tryptic activity of soybean sample. *Cereal Chem.*, 46, 518-526, 1969.
48. KLOSE, A.A.; BARBARA HILL & FEVOLD, H.L. Food value of soybean protein as related to processing. *Food Techn.* 2, 201-206, (1948).
49. KOPEIKOWSKII, V.M. & KASHEVATSKAYA. Oxidizing process occurring in soybeans during drying in dense layers. *Mastob-Zhir. Prom.* 32, 15-16, 1966.

50. HEARSHBATH, F.H. The effect of heat treatment on bread making. *J. Sci. Food Agr.* 3, 54-59, 1952.
51. LIENER, I.E. Effect of heat in plant proteins. Processed plant proteins foodstuffs. Altshull (Editor) Academic Press, N.Y., 1958.
52. LIENER, I.E. & KAKADE, M.L. Protease Inhibitors. In Toxic constituents in plant foodstuffs, I.E. Liener (Editor) Academic Press. N.Y., 1969.
53. LIENER, I.E. & ROSE, J.E. Soyin a toxic protein from the soybean. *Proc. Soc. Expts. Biol. Med.* 83, 539-544, - 1953.
54. LIENER, I.E. & HILL, E.G. The effect of heat treatment on the nutritive value and hemagglutinating activity of soybean oil meal. *J. Nutr.* 49, 609-620, 1953.
55. LO, WINSTON YAU-LAI; STEINKRAUS, K.H., HAND, D.B.; WILKENS, W.F. AND HACKLER, L.R. Yields of extracted solids in - soymilk as affected by temperature of water of various - pre-treatments of beans. *Food Technol.* 22, 1322 oct., 1968.
56. LO, WINSTON YAU-LAI & STEINKRAUS, K.H. Concentration of soymilk. *Food Technology.* 22, 1028, aug., 1968.
57. LO, WINSTON YAU-LAI; STEINKRAUS, K.H. & HAND, D.B. Soaking soybeans before extraction as it affects chemical composition and yield of soymilk. *Food Technol.* 22, 1188, - sept., 1968.

58. LUDWIG, E.C. & ROBERTS, H. The effect of soybean meal on the growth and development of rats as determined by a chemical method. *J. Nutr.* 11, 37-47, 1927.
59. BERTZ, E.T. & VERON, G.A. *Science*, 142, 1741, 1965.
60. MITCHELL, H.H. & HAMILTON, I.S. The importance of commercial processing on the protein value of food products. *J. Nutr.* 29, 13, 1945.
61. NAKAMURA, M. VI. Distribution of phosphorylase, phosphate and  $\alpha$ -amylase in plants. *J. Agr. Chem. Soc. (Japan)* 24, 302-309, 1951.
62. NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES, 1968. Recommended Dietary Allowances. Natl. Res. Council Publ. 1694.
63. OFELT, C.W. & SMITH, A.K. Effect of soy flour on amylograms. *Cereal Chem.* 32, 48-52, 1955A.
64. OLIVEIRA, J.F. DUTRA DE & SCATENA, L. Nutritional value of protein from a soybean milk powder. *J. Food Sci.* - 32, 592-594, 1967.
65. OSBORNE & MENDEL. The use of soybean as Food. *J. Biol. Chem.* 32, 369-387, 1917.
66. PARK, Y.K. & PAPINI, RENATO S. Produção de xarope de glicose do amilo da mandioca pelo método enzima-enzima. *Revista Brasileira de Tecnologia*, 1, 13-16, 1970.

67. PROTEIN PERMEABILITY. Food Technology, 10(1) Feb., 1960. Vol. 10, Rept. Ser. 37. FAO, 1965.
68. PERL, B. & DEAMANT, Y. The lipase of the soya bean. Purification and properties of the enzyme. Israel J.Chem. no 3a, 193-195, 1963.
69. RACKIS, J.J. Physiological properties of soybean. Trypsin inhibitors and their relationship to pancreatic hypertrophy and growth inhibition of rats. Federation Proc. 24, 1488-1493, 1965.
70. RACKIS, J.J. World Soy protein conference. J. Am. Oil. Chem. Soc. 51, 161A-174A, Jan., 1974.
71. RACKIS, J.J. & SASAME, H.A. Chromatography of soybean proteins. J. Am. Chem Soc. 81, 6265-6270, 1959.
72. RACKIS, J.J. Soybean trypsin inhibitors. Arch. Biochem. Biophys. 98, 471-478, 1962.
73. RACKIS, J.J. Soybean trypsin inhibitors: their inactivation during meal processing. Food Technol. 20, 1482-1484, 1966.
74. RACKIS, J.J. Feeding studies on soybeans. Cereal. Chem. 40, 531-538, 1963.
75. SHURPALEKAR, S.R. & KORULA, S. Studies on the preparation chemical composition, and nutritive value of a spray-dried soya. J.Sci. Food Agr. 16, 90-94, 1965.

76. S. M. ALKHAIR, M.S. Thesis, Iowa State University, 1967. Chemical composition, and physical and chemical properties of soybean meal. M.S. Thesis, Iowa State University, Ames, Iowa. U.S. Sci. Food. Agr. 12, 451, 1977.
77. SIDDIQUI, A.R. & TAPPEL, A.L. Comparison of some lipoxidases and their mechanisms of action. J. Am. Oil Chemists Soc. 34, 529. 1957.
78. SMITH, A.K. & BECKEL, A.C. Soybean or vegetable milk. Chem. Eng. News 24, (1) 54-56, 1946.
79. SMITH, A.K. & WOLF, W.J. Food uses and properties of soy beans. Food Technol. 15, 4-6, 1961.
80. SMITH, A.K. & CIRCLE, S.J. Soybeans Chemistry and Technology. AVI Publishing, Co. 1972.
81. SMITH, A.K. & LANDS, W.E. The self-catalyzed destruction of lipoxygenase. Biochem. Biophys. Res. Commun. 41, 846-851, 1970.
82. SMITH, A.K. & BETTER, P.A. Urease activity in soybean meal products. J. Am. Oil Chemist's Soc. 33, 360-363, 1956.
83. STEINER, R.F. & FRATALI, V. Purification and properties of soybean protein inhibitors of proteolytic enzymes. J. Agr. Food Chem. 17, 513-518, 1969.



84. SHIMIZU, J.T. & SHIMIZU, S.T. "Soy Protein. In "Biological Chemistry", Academic Press, N.Y., 1949.
85. SUARINATHAN, N. Availability of plant proteins. In Review of Nutritional Biochemistry. 3 (1967) A.A. Albanese - (Editor) Academic Press, New York.
86. VAN BUREN, J.P.; STEINKRAUS, K.H.; HACKLER, L.R.; EL RAMI, I. & HANCOCK, D.C. Indices of protein quality in dried - soymilks. J. Agr. Food Chem. 12, 524, 1964.
87. VOGUEI, R. & TRAUTSCHOLD, I. Natural Proteinase Inhibitors Academic Press. N.Y., 1968.
88. WALZ, E. Isoflavone and sponinglucosides in soja hispida. Ann. Chem. 489, 118-155, 1931.
89. WATT, B.K. & MERRILL, A.L. Composition of Foods, Raw Processed and Prepared. USDA Handbook 8, 1968.
90. WEYER, E.H. Chemistry, pharmacology, and clinical application of proteinase inhibitors. Ann. N.Y., Acad. Sci. - 146, 361-787, 1968.
91. WESTERMAN, B.D. & OLIVER, B. Improving the nutritive value of flour. VI. A comparison of the use of soya flour - and wheat germ. J. Nutr. 54, 255-236, 1954.
92. WILCOX, R.A. & CARLSON, C.W. Evidence for a water-soluble growth promoting factor(s) in soybean oil meal. Poultry Sci. 40, 94-102, 1961A.

93. MILKINS, W.F. & HATHORN, L.T. Effect of processing methods on Oxidative off-flavors of soybean milk. Food Technol. 21, 11, p. 20. 1967.
94. YASUMOTO, K. & YAMAGUCHI, A. Effect of phenolic antioxidants on lipoxygenase reaction. Agr. Biol. Chem., - (Tokyo) 34, 1162-1168, 1970.
95. ZUCKER, T.F. & ZUCKER, L.L. Nutritive value of cotton, pecan and soy seeds. Ind. Eng. Chem., End. Ed. 35, 868-872, 1943.