

PREPARO DE EXTRATO HIDROSSOLÚVEL DE SOJA A PARTIR
DE FARINHA DE SOJA DESENGORDURADA E GORDURA
VEGETAL EMULSIFICADA

32/93

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS

PREPARO DE EXTRATO HIDROSSOLÚVEL DE SOJA A PARTIR

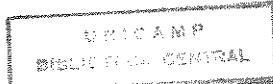
Parecer DE FARINHA DE SOJA DESENGORDURADA E GORDURA
Este exemplar correto
pode a redação VEGETAL EMULSIFICADA
final da tese defendida por Cremilda Rosa
Battisti e aprovada pela Comissão Julgadora
em 28.10.92. — Cremilda Rosa De Battisti

Cremilda Rosa De Battisti

Orientador: Prof. Dr. Emilio (Segundo) Contreras Guzmán

Tese apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos da
Universidade Estadual de Campinas para obtenção do grau de
Doutor em Ciência da Nutrição.

1992



BANCA EXAMINADORA

Contreras

Prof. Dr. Emilio S. Contreras Guzmán
(Orientador)

Admar Costa de Oliveira

Prof. Dr. Admar Costa de Oliveira
(Membro)

Suplente

Prof. Dr. Valdemiro S. garbieri
(Membro)

Dilson Teixeira Coelho

Prof. Dr. Dilson Teixeira Coelho
(Membro)

José Benício Paes Chaves

Prof. Dr. José Benício Paes Chaves
(Membro)

Suplente

Prof. Dr. Débora de Queiroz Tavares
(Membro)

Jaime Amaya Farfan

Prof. Dr. Jaime Amaya Farfan
(Membro)

Campinas, 28 de outubro de 1992

Ao meu Senhor Jesus Cristo

À minha mãe, D. Longina

Ao meu esposo, José

Aos meus filhos, Adriana, André e Andressa

Dedico este trabalho!

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Viçosa e à Universidade Estadual de Campinas pela oportunidade que me concederam de realizar o curso de Doutorado;

Ao Professor Emilio Segundo Contreras Guzmán pela amizade e orientação durante o curso;

Ao Professor Admar Costa de Oliveira pela valiosa colaboração para a conclusão do curso;

Aos amigos e colegas do curso de Doutorado, especialmente Elaise Maria de Mello e Djalva Maria da Nóbrega Santana pela amizade inestimável e incentivo durante o curso;

À ABIA pelo auxílio prestado para serem feitas as cópias deste trabalho;

Aos professores e funcionários da FEA-UNICAMP pela ajuda e incentivo durante todo o curso e execução do trabalho de pesquisa;

Aos meus colegas professores e funcionários do Departamento de Química da Universidade Federal de Viçosa que me ajudaram para a realização desse curso;

Ao Presidente do Conselho de Pesquisa da Universidade Federal de Viçosa Professor Maurilio Alves

Moreira pela colaboração na execução do trabalho de pesquisa;

Aos professores e funcionários do Centro de Ciências Exatas e Tecnológicas e do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal de Viçosa que me auxiliaram em algumas partes da pesquisa;

A todas as pessoas que diretamente ou indiretamente contribuiram para a realização deste trabalho;

Sinceramente, muito obrigada!

RESUMO

No presente trabalho foi desenvolvido e avaliado um produto tipo Extrato Hidrossolúvel de Soja (leite de soja) preparado a partir de farinha de soja desengordurada, água, óleo de milho e emulsificante denominado EHSS-F/G.

Na primeira fase do experimento foram analisadas farinhas de soja desengordurada provenientes de quatro indústrias de óleo. As farinhas foram caracterizadas quanto à sua composição química centesimal sendo submetidas à várias análises químicas (teores de lipídios, proteínas, carboidratos, fibras e cinzas), físicas (granulometria) e funcionais (índice de nitrogênio solúvel, índice de proteína dispersível, teor de n-hexanal, atividade de urease e de lipoxigenases) para verificar sua adequação para futuros processos de produção de EHSS-F/G.

Com a farinha de soja selecionada foram preparados extratos sob condições padronizadas de temperatura, homogeneização, tempo e intensidade de agitação, variando-se a proporção de farinha:água nos valores 1:8; 1:10; 1:12; 1:14; 1:16 e 1:18 para verificar o efeito na extração. Sistemas semelhantes foram adicionados

de óleo de milho em porcentagens de 0, 10, 20, 30, 40 e 50% em relação à quantidade de farinha.

Os extratos homogeneizados dos sistemas água e farinha, e água, farinha e óleo de milho, foram centrifugados, pasteurizados e pesados para se conhecer o rendimento de produto líquido, a concentração de lipídios e proteínas.

Na fase seguinte tentou-se otimizar a extração de proteínas e lipídios pela adição de emulsificantes, utilizando-se quatro tipos diferentes mas com valores do balanço hidrofílico-lipofílico (BHL) próximos, adicionando-se 0,8% em relação à quantidade de farinha. Todos os extratos foram analisados quanto aos teores de lipídios e proteínas.

O desempenho dos emulsificantes foi verificado por meio de três testes de estabilidade da emulsão, e por microscopia para contagem, tamanho e grau de associação dos glóbulos de gordura.

Com os dois emulsificantes de melhor desempenho (lecitina e lisolecitina) foram preparados EHSS-F/G e submetidos à avaliação sensorial, comparando-se com o produto obtido do equipamento "Vaca Mecânica" a partir de grãos de soja integral (EHSS). O teste revelou maior preferência pelos produtos EHSS-F/G, particularmente o emulsificado com lisolecitina.

Os EHSS-F/G foram analisados quanto aos índices de TBA (ácido 2-tiobarbitúrico), índice de urease, fator antitriptico, teor de n-hexanal, composição química

centesimal, análises microbiológicas de rotina e de microorganismos patogênicos, para se verificar se estes parâmetros de qualidade estavam de acordo com as normas padronizadas propostas para produtos tipo "leite de soja".

Determinou-se ainda a composição de aminoácidos dos produtos preparados com água e farinha; água, farinha e óleo de milho e dos produtos emulsificados. Os aminogramas dos EHSS-F/G apresentaram teores maiores de aminoácidos que os extratos sem emulsificante, porém semelhantes aos dos EHSS de grão de soja integral.

Os escores químicos dos EHSS-F/G com lecitina e lisolecitina foram 83,0 e 84,1% da proteína padrão da FAO/WHO, e ligeiramente superiores ao do extrato hidrossolúvel de grão integral (80,0%).

SUMMARY

A product of the type of water-soluble soybean extract (soy milk) EHSS-F/G from defatted soybean meal, water, corn oil and emulsifiers was developed and evaluated.

In the first stage of this study, four kinds of defatted soybean meal from four different soybean oil processing plants were analyzed. These meals were characterized as to chemical composition and submitted to several analyses necessary to evaluate their performance as to future processes to which they would be submitted for the production of water-soluble soybean extract.

From the selected soybean meal, extracts were prepared under standardized conditions of temperature, time of stirring and other parameters, varying the meal:water proportions as following 1:8; 1:10; 1:12; 1:14; 1:16 and 1:18 in order to verify the behavior of the extraction procedure. Similar systems were made adding corn oil at the percentages of 0, 10, 20, 30, 40 and 50% with respect to the amount of meal.

The homogenized extracts of the systems water and meal, and water, meal and corn oil were centrifuged,

pasteurized and weighed so as to determine the yield of liquid product and the concentration of lipids and proteins.

In the next stage, an optimization of the extraction procedure was attempted through the addition of emulsifiers of four different types but with close HLB values (hydrophilic lipophilic balance), added at 0,8% to the meal. All the extracts, were analyzed as to lipid and protein content.

The performance of the emulsifiers was verified through three tests of emulsion stability and by microscopy for the counting and assesment of size and degree of association of the fatty globules.

With the two emulsifiers of best performance (lecithin and isolecithin), EHSS-F/G's were prepared and submitted to sensorial evaluation and compared with an EHSS obtained from the Brazilian micro-processing unit ("Vaca Mecânica") using whole soybeans. The test revealed a higher preference for the EHSS-F/G products, particularly the one emulsified by isolecithin.

The EHSS-F/G's were analyzed using the TBA (2-thio barbituric acid) number, urease index, antitrypsin factor, n-hexanal content, percent chemical composition routine microbiological analyses and for pathogenic micro organisms, to verify if these quality parameters were in accordance with the established standards for "soy milk" type products.

Also determined the aminoacid compositions of the products prepared with water and meal, water, meal and corn oil and of the emulsified products. The aminograms of the EHSS-F/G presented higher aminoacid contents than the extracts without emulsifiers, but similar to that of the EHSS of whole soybeans.

The chemical scores of the EHSS-F/G with lecithin and lisolecithin were 83,0 and 84,1% of the FAO/WHO protein standard and slightly superior to the chemical score of the water soluble extract of whole beans (80,0%).

ÍNDICE GERAL

| | Página |
|--|--------|
| RESUMO | vi |
| SUMMARY | ix |
| ÍNDICE DE FIGURAS | xvii |
| ÍNDICE DE TABELAS | xix |
| ÍNDICE DE QUADROS | xx |
| 1. INTRODUÇÃO | 1 |
| 2. REVISÃO DE LITERATURA | 7 |
| 2.1. A SOJA | 7 |
| 2.2. PROTEÍNAS DA SOJA | 9 |
| 2.2.1. LIPOXIGENASES | 12 |
| 2.2.2. SOLUBILIDADE DAS PROTEÍNAS | 14 |
| 2.3. SABOR E ODOR DA SOJA | 19 |
| 2.4. FATORES ANTI-NUTRICIONAIS DA SOJA | 26 |
| 2.5. A SOJA NA ALIMENTAÇÃO | 30 |

| | |
|---|----|
| 2.6. USO DE EMULSIFICANTES NOS ALIMENTOS | 37 |
| 3. MATERIAIS E MÉTODOS | 43 |
| 3.1. MATÉRIA-PRIMA | 43 |
| 3.2. CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS DE FARINHA | 43 |
| 3.2.1. DETERMINAÇÃO DE UMIDADE | 43 |
| 3.2.2. DETERMINAÇÃO DE PROTEÍNAS | 45 |
| 3.2.3. DETERMINAÇÃO DE CINZAS | 45 |
| 3.2.4. DETERMINAÇÃO DE FIBRAS | 45 |
| 3.2.5. DETERMINAÇÃO DE LIPÍDIOS TOTAIS | 45 |
| 3.2.6. GRANULOMETRIA | 45 |
| 3.2.7. ÍNDICE DE NITROGÊNIO SOLÚVEL (INS) | 46 |
| 3.2.8. ÍNDICE DE PROTEÍNA DISPERSÍVEL (IPD) | 46 |
| 3.2.9. TEOR DE N-HEXANAL PRESENTE NA FARINHA | 46 |
| 3.2.10. MEDIDA DE ATIVIDADE DA UREASE RESIDUAL | 46 |
| 3.2.11. MEDIDA DA ATIVIDADE DE ISOENZIMAS LIPOXIGENASES | 47 |
| 3.3. PREPARAÇÃO DO EHSS DE FARINHA | 47 |
| 3.3.1. PROPORÇÃO ÁGUA:FARINHA | 48 |
| 3.3.2. PROPORÇÃO ÁGUA:FARINHA:ÓLEO | 49 |
| 3.4. EMULSIFICAÇÃO DA MISTURA DE ÓLEO:ÁGUA:FARINHA | 49 |
| 3.4.1. PREPARO DO EMULSIFICANTE | 50 |

| | |
|---|----|
| 3.4.2. PREPARO DAS AMOSTRAS DE EHSS-F/G (EX- TRATO HIDROSSLÚVEL DE SOJA A PARTIR DE FARINHA E GORDURA EMULSIFICADA) | 50 |
| 3.5. TESTES DE ESTABILIDADE DAS EMULSÕES | 52 |
| 3.5.1. ESTABILIDADE DA EMULSÃO DO EHSS-F/G SEM FERVURA | 53 |
| 3.5.2. ESTABILIDADE DA EMULSÃO DO EHSS-F/G APÓS A FERVURA | 53 |
| 3.5.3. ESTABILIDADE DA EMULSÃO DO EHSS-F/G SUBMETIDO À CENTRIFUGAÇÃO À ALTAS FORÇAS CENTRÍFUGAS | 54 |
| 3.6. MICROSCOPIA DOS GLÓBULOS DE GORDURA | 54 |
| 3.7. ANÁLISE SENSORIAL DOS EHSS-F/G | 56 |
| 3.8. AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DOS EHSS-F/G | 57 |
| 3.8.1. DETERMINAÇÃO DO ÍNDICE DE TBA | 58 |
| 3.8.2. MEDIDA DA ATIVIDADE DE UREASE NOS EHSS-F/G | 58 |
| 3.8.3. PRESENÇA DE FATOR ANTITRÍPTICO | 58 |
| 3.8.4. TEOR DE n-HEXANAL | 59 |
| 3.8.5. ANÁLISE MICROBIOLÓGICA | 59 |
| 3.9. DETERMINAÇÃO DE AMINOÁCIDOS | 60 |
| 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO | 61 |
| 4.1. COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DAS AMOSTRAS DE FARI- NHA DE SOJA DESENGORDURADA | 61 |
| 4.1.1. UMIDADE | 62 |
| 4.1.2. LIPÍDIOS | 62 |

| | |
|--|-----|
| 4.1.3. FIBRAS | 63 |
| 4.1.4. PROTEÍNAS | 63 |
| 4.1.5. CINZAS | 64 |
| 4.1.6. CARBOIDRATOS | 64 |
| 4.2. GRANULOMETRIA | 66 |
| 4.3. ÍNDICE DE NITROGÊNIO SOLÚVEL (INS)..... | 66 |
| 4.4. ÍNDICE DE PROTEÍNA DISPERSÍVEL (IPD) | 69 |
| 4.5. TEOR DE <i>n</i> -HEXANAL | 71 |
| 4.6. MEDIDA DA ATIVIDADE DE UREASE NAS FARINHAS. | 74 |
| 4.7. MEDIDA DA ATIVIDADE DE LIPOXIGENASE | 76 |
| 4.8. PREPARO DOS EXTRATOS USANDO FARINHA DE SOJA DESENGORDURADA, ÁGUA E ÓLEO DE MILHO EM DI- FERENTES PERCENTAGENS | 77 |
| 4.9. TEORES DE PROTEÍNAS E LIPÍDIOS NOS EXTRATOS PREPARADOS | 80 |
| 4.10. TESTES DE ESTABILIDADE DA EMULSÃO | 92 |
| 4.10.1. ARMAZENAMENTO À 5°C POR 48 HORAS .. | 92 |
| 4.10.2. FERVURA E ARMAZENAMENTO À 5°C POR 48 HORAS | 96 |
| 4.10.3. ESTABILIDADE APÓS CENTRIFUGAÇÃO ... | 98 |
| 4.11. MICROSCOPIA DOS GLÓBULOS DE GORDURA DOS EX- TRATOS EMULSIFICADOS | 101 |

| | |
|--|-----|
| 4.12. ANÁLISE SENSORIAL DOS PRODUTOS SELECIONADOS NOS TESTES DA ESTABILIDADE DE EMULSÃO | 105 |
| 4.13. AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DOS EHSS- F/G | 107 |
| 4.13.1. ÍNDICE DE TBA DOS EHSS-F/G | 107 |
| 4.13.2. ÍNDICE DE n-HEXANAL DETERMINADO NOS EHSS-F/G | 110 |
| 4.13.3. MEDIDA DA ATIVIDADE DE UREASE NOS EHSS-F/G | 111 |
| 4.13.4. ATIVIDADE DO FATOR ANTITRÍPTICO | 113 |
| 4.14. ANALISES MICROBIOLÓGICAS DOS PRODUTOS | 115 |
| 4.15. COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS PRODUTOS | 119 |
| 4.16. COMPOSIÇÃO DE AMINOÁCIDOS DOS EHSS-F/G | 121 |
| 4.17. CONSIDERAÇÕES GERAIS | 126 |
| 5. CONCLUSÕES | 128 |
| 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 130 |
| APÊNDICE | 156 |
| APÊNDICE A | 157 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| FIGURA 1 - A oxidação do ácido linoléico e linolênico por lipoxigenases | 22 |
| FIGURA 2 - Diagrama de Obtenção da Farinha de Soja Desengordurada | 44 |
| FIGURA 3 - Cromatogramas representativos dos níveis de Hexanal obtidos nas amostras de farinha de soja desengordurada | 73 |
| FIGURA 4 - Peso do extrato líquido (P _{EL}) em função da porcentagem de óleo (PO) e da proporção farinha:água (PAF) no EHSS preparado com farinha de soja desengordurada, água e óleo de milho | 79 |
| FIGURA 5 - Teor de proteína (PR _{OT}) em função da porcentagem de óleo (PO) e da proporção farinha:água (PAF) no EHSS preparado com farinha de soja desengordurada, água e óleo de milho | 82 |

FIGURA 6 - Teor de Lipídios (\hat{LIP}) em função da porcentagem de óleo (PO) e da proporção farinha:água (PAF) no EHSS preparado com farinha de soja desengordurada, água e óleo de milho 86

FIGURA 7 - Curva padrão do TMP para determinação do índice de TBA..... 109

FIGURA 8 - Cromatogramas representativos dos níveis de Hexanal obtidos nos EHSS-F/G preparados com lecitina (1) e lisolecitina (2)..... 112

ÍNDICE DE TABELAS

| | |
|--|-----|
| TABELA 1 - Limites Mínimos de Percepção do Aroma de Aldeídos em óleo Vegetal e Leite (Valores Expressos em ppm)..... | 24 |
| TABELA 2 - Valores de BHL de alguns Emulsificantes..... | 41 |
| TABELA 3 - Tipos comerciais de farinha de soja desengordurada e seus respectivos índices de proteína dispersível (IPD)..... | 70 |
| TABELA 4 - Parâmetros orientativos para identificação, classificação e padronização dos extratos de soja e leite de soja | 118 |

ÍNDICE DE QUADROS

| | |
|--|----|
| QUADRO 1 - Compostos voláteis identificados na farinha de soja desengordurada | 23 |
| QUADRO 2 - Emulsificantes utilizados no preparo do EHSS-F/G e seus respectivos valores de BHL (balanço hidrofílico-lipofílico) | 50 |
| QUADRO 3 - Proporções de água, farinha e emulsificantes utilizados no preparo dos EHSS-F/G com 20% de óleo de milho | 51 |
| QUADRO 4 - Proporções de água, farinha e emulsificantes utilizados no preparo dos EHSS-F/G com 30% de óleo de milho | 52 |
| QUADRO 5 - Composição química centesimal das farinhas de soja desengordurada utilizadas | 61 |
| QUADRO 6 - Classificação das amostras de farinha de soja desengordurada pela da granulometria | 67 |

| | |
|---|----|
| QUADRO 7 - índice de nitrogênio solúvel (INS) determinado nas amostras de farinha de soja desengordurada | 68 |
| QUADRO 8 - índice de proteína dispersível (IPD) determinados nas amostras de farinha de soja desengordurada..... | 70 |
| QUADRO 9 - Teores de n-Hexanal obtidos nas amostras de farinha de soja desengordurada..... | 72 |
| QUADRO 10 - Medida da atividade de urease nas amostras de farinha de soja desengordurada | 75 |
| QUADRO 11 - Médias (Kg) dos pesos líquidos (PEL) e porcentagens em relação ao peso dos EHSS obtidos de farinha de soja desengordurada, água e óleo de milho em proporções variáveis | 78 |
| QUADRO 12 - Teores médios de proteínas (g/100 g) dos EHSS preparados com 0, 10, 20, 30, 40 e 50% de óleo de milho e proporção farinha:água 1:8; 1:10; 1:12; 1:14; 1:16 e 1:18 | 81 |
| QUADRO 13 - Rendimento de extração das proteínas (%) nos EHSS em relação à proteína contida na farinha, considerando os pesos (QUADRO 11) e os teores de proteínas dos extratos processados (QUADRO 12) | 83 |

| | |
|--|----|
| QUADRO 14 - Teores médios de lipídios (g/100 g extrato) dos EHSS preparados com 0, 10, 20, 30, 40 e 50% de óleo de milho e proporção farinha:água 1:8; 1:10; 1:12; 1:14; 1:16 e 1:18 | 84 |
| QUADRO 15 - Porcentagens de recuperação dos lipídios nos EHSS obtidos com diferentes relações de farinha de soja desengordurada, água e óleo de milho..... | 85 |
| QUADRO 16 - Teores médios de proteínas (%) dos EHSS-F/G preparados com 20 e 30% de óleo de milho, proporção farinha:água 1:10; 1:12; 1:14 e emulsificantes | 89 |
| QUADRO 17 - Teores médios de lipídios (%) dos EHSS-F/G preparados com 20 e 30% de óleo de milho, proporção farinha:água 1:10; 1:12; 1:14 e emulsificantes | 90 |
| QUADRO 18 - Aumento dos teores de lipídios e proteínas (%) nos extratos contendo 20% de óleo de milho e emulsificantes em relação ao extrato sem emulsificante | 93 |
| QUADRO 19 - Aumento dos teores de lipídios e proteínas (%) nos extratos contendo 30% de óleo de milho e emulsificantes em relação ao extrato sem emulsificante | 94 |
| QUADRO 20 - Teores médios de lipídios (%) dos EHSS-F/G submetidos ao teste de estabilidade da emulsão após 48 h a 5°C | 95 |

| | |
|--|-----|
| QUADRO 21 - Teores médios (%) de lipídios dos EHSS-F/G submetidos ao teste de estabilidade da emulsão quando fervidos por 5 minutos, resfriados e armazenados à 5°C por 48 horas..... | 97 |
| QUADRO 22 - Teores médios(%) de lipídios dos EHSS-F/G submetidos ao teste de estabilidade da emulsão quando centrifugados à diferentes força centrífuga por 10 minutos | 99 |
| QUADRO 23 - Decréscimo no teor de lipídios (%) dos EHSS-F/G submetidos à centrifugação comparados ao extrato testemunha (sem centrifugação)..... | 100 |
| QUADRO 24 - Diâmetro dos glóbulos de gordura (d), Média do número de glóbulos encontrados em cinco campos selecionados ao acaso (n); Total do número de glóbulos (N) e Diâmetro médio dos glóbulos (d) das amostras emulsificadas..... | 101 |
| QUADRO 25 - Resumo da análise de variância dos dados obtidos no teste de preferência da análise sensorial dos EHSS-F/G contendo lecitina e lisolecitina em comparação com o EHSS da "Vaca Mecânica" | 106 |
| QUADRO 26 - Médias obtidas das notas dos julgadores na análise sensorial dos EHSS-F/G preparados com lecitina e lisolecitina comparados com o EHSS da "Vaca Mecânica" .. | 106 |

| | |
|---|-----|
| QUADRO 27 - Valores utilizados para a construção da curva padrão do índice de TBA dos EHSS-F/G | 108 |
| QUADRO 28 - Índice de Urease dos EHSS-F/G preparados com os emulsificantes, lecitina e lisolecitina antes do tratamento térmico de 85°C/10 minutos e após esse tratamento | 111 |
| QUADRO 29 - Número de microorganismos contados nos EHSS-F/G preparados com lecitina e lisolecitina no 1º dia de fabricação e após 7 dias de estocagem à 5°C..... | 116 |
| QUADRO 30 - Análise microbiológica de microorganismos patogênicos nos EHSS-F/G preparados com lecitina e lisolecitina | 117 |
| QUADRO 31 - Composição Química dos EHSS-F/G preparados com lecitina, lisolecitina, do EHSS obtido no equipamento "Vaca Mecânica" e do leite de vaca | 119 |
| QUADRO 32 - Composição em aminoácidos dos EHSS e EHSS-F/G centrifugados e pasteurizados a 85°C/10 minutos | 122 |
| QUADRO 33 - Composição (%) em aminoácidos essenciais dos EHSS-F/G contendo os emulsificantes lecitina e lisolecitina, do EHSS de soja integral e do leite de vaca | 123 |

QUADRO 34 - Composição em aminoácidos nutricionalmente essenciais dos EHSS e EHSS-F/G centrifugados e pasteurizados a 85°C/10 minutos comparados com a proteína padrão da FAO/WHO 125

I. INTRODUÇÃO

Um dos principais problemas de produção de alimentos no mundo, situa-se na obtenção de proteínas de alto valor biológico. O problema é mais acentuado nos países em desenvolvimento, onde a deficiência protéico-calórica tem sido a causa de graves enfermidades, contribuindo para um elevado índice de mortalidade infantil (BUCHANAN & STEWART 1977; FAO, 1970; YOKOYA, 1970). Para BUCHANAN & STEWART (1977) a deficiência protéico-calórica quase sempre é seguida de carência de vitamina A, ferro, cálcio e iodo.

Segundo CUPERTINO (1976), o consumo diário de proteínas de todas as origens pelo brasileiro oscila entre 44 e 52 gramas, ou seja, metade do padrão de 90 gramas correntes nos países desenvolvidos. BORLAUG (1973) afirma serem as crianças as mais prejudicadas pela carência protéica, podendo mostrar-se posteriormente incapacitadas mentalmente de forma irreversível, inaptas a usarem o potencial intelectual que adquiriram por hereditariedade.

Para EVANS & BANDEMER (1967) as proteínas animais, tidas como proteínas completas, são tão escassas e caras nos países em desenvolvimento, que se encontram fora do alcance da maioria da população.

Em decorrência, o interesse pelas proteínas vegetais vem aumentando, visando a sua introdução na alimentação humana uma vez que maior quantidade de proteína vegetal que animal pode ser obtida em determinada área

geográfica, com menores custos de produção (GOMES & COELHO, 1989).

A soja (*Glycine max*, L. Merril) é uma leguminosa amplamente consumida pelos povos orientais há milênios, os quais criaram diferentes maneiras de prepará-la de modo a modificar suas características sensoriais e obter produtos de melhor palatabilidade em comparação a matéria-prima original (SILVEIRA et alii, 1989).

Embora exista conscientização sobre a qualidade das proteínas e do óleo de soja, e tenha um custo muito menor que as proteínas de origem animal, a soja e seus derivados são pouco consumidos pela população brasileira (TAVARES, 1991).

De acordo com STEIN (1980), com o desenvolvimento da tecnologia, a soja tem sido apontada como uma das melhores fontes na solução do problema da necessidade de proteínas do mundo atual.

Nos países onde o poder aquisitivo é baixo, a soja é considerada pelos nutricionistas como a melhor opção devido a sua riqueza em proteínas de baixo custo e ao fato de poder ser cultivada em grande quantidade (HUHN, 1977).

O Brasil alcançou rapidamente a posição de segundo maior produtor mundial de soja (COSTA, 1981) permanecendo nesta posição até hoje, sendo que a maior parte da produção é exportada na forma de grãos e óleo (TAVARES, 1991).

O extrato protéico obtido do grão de soja, comumente conhecido como leite de soja, é um produto de alto valor nutritivo e de fácil elaboração. Tem alcançado grande destaque na alimentação de crianças e adultos, particularmente os que apresentam intolerância ao leite bovino como consequência de falhas genéticas no metabolismo da lactose ou por reações alérgicas às proteínas do leite animal (VEIGA, 1984).

O leite de soja para consumo humano vem sendo estudado no Brasil há alguns anos. BORGES (1958) relacionou 23 processos de elaboração do leite de soja e descreveu um deles, o qual foi objeto de seus estudos.

Há alguns anos tem-se verificado um crescente desenvolvimento da tecnologia visando a extração do leite de soja, observando-se uma preocupação constante com as suas características sensoriais (VEIGA, 1984). O maior obstáculo a vencer ainda reside no sabor e aroma que são os fatores que mais restringem a aceitação deste produto (HUHN, 1977).

O extrato hidrossolúvel de soja (EHSS), denominação mais correta para "leite de soja", preenche a necessidade de alimento protéico líquido de baixo custo e de preparo simples, no entanto, ainda não é comumente consumido pelos brasileiros de uma maneira geral, sendo atualmente obtido no equipamento chamado de "Vaca Mecânica". Este produto mantém ainda o sabor típico (beany flavor) das leguminosas que deve ser mascarado com doses concentradas de aromatizantes ou por diluição do EHSS até níveis inaceitáveis do ponto de vista nutricional, e tornando o

produto enjoativo quando consumido frequentemente (GUZMÁN, 1986; PUPO et alii, 1975;).

Paralelamente com o problema sensorial existe o problema tecnológico. Já foi demonstrado por diversos autores, que o teor de proteínas no leite de soja depende mais de solubilidade da proteína em água do que seu conteúdo no grão, e que o tratamento térmico empregado durante o processamento reduz sensivelmente esta solubilidade (VEIGA, 1984).

Considerando que a qualidade da proteína no resíduo insolúvel mostrou-se superior a da proteína extraída no leite (HACKLER et alii, 1963) e de acordo com VEIGA (1984) acredita-se que um desenvolvimento na eficiência da extração visando aumentar a solubilidade poderia trazer grande benefício na elaboração de um produto com maior quantidade e melhor qualidade de proteínas.

O grau de extração da fração solúvel do grão de soja na "Vaca Mecânica" é baixo, situando-se em torno de 45% dos sólidos totais do grão. Isto implica em uma quantidade de resíduo insolúvel acima de 50%, constituindo atualmente um dos problemas mais sérios dos usuários deste sistema e de outros sistemas de extração industrial (GUZMÁN, 1986).

Ainda que esse resíduo insolúvel possa ser usado em panificação; em misturas de carne bovina ou em outros alimentos alternativos, o ideal é a obtenção de um produto líquido (leite) para assim evitar complicações nas cozinhas institucionais.

No preparo do EHSS pelo método tradicional, a etapa de maceração dura de 6 a 12 horas (BORGES, 1958; GUTIERREZ, 1974; PICCOLO, 1980), sendo que o ideal seria um método cujo preparo tomasse menos tempo possível.

No presente trabalho, pretendeu-se como objetivo principal desenvolver um produto líquido do tipo do extrato hidrossolúvel de soja (leite de soja), porém preparado a partir da farinha desengordurada, água, óleo e emulsificantes.

A escolha deste método poderia apresentar algumas vantagens em relação ao tradicional (extrato de grão de soja) nos aspectos seguintes:

- 1) Na farinha, as enzimas que causam oxidação de lipídios estão parcialmente desativadas assim como os fatores antinutricionais;
- 2) Por ser desengordurada permite a incorporação de classes e quantidades de óleo dentro de uma ampla faixa, limitada apenas pela estabilidade das emulsões. Provavelmente poder-se-ia se regular a relação entre proteínas e lipídios para atender requerimentos dietoterápicos;
- 3) Eliminar a necessidade de maceração diminuindo o tempo, o uso de equipamentos e a manipulação adicional.

O estudo foi realizado através das etapas seguintes:

- e) Estudar melhores relações de água e óleo para otimizar a extractibilidade das proteínas com o auxílio de emulsificantes;

- b) Avaliar a estabilidade dos extratos emulsificados por diversos testes físicos e relacionar os valores com resultados dos exames microscópicos;
- c) Determinar o número e tipo de microorganismos presentes no extrato pasteurizado recentemente elaborado e após o armazenamento sob refrigeração, conforme a legislação vigente;
- d) Avaliar química e sensorialmente o produto obtido comparando-se o extrato elaborado com o extrato de soja obtido de grão integral;
- e) Verificar a qualidade nutricional dos extratos finais mediante a determinação da composição de aminoácidos e presença de fatores antitripticos;

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. A SOJA

A soja pertence à família das leguminosas e possui características semelhantes às dos alimentos protéicos de alto valor nutritivo, por conter em suas proteínas todos os aminoácidos essenciais (COSTA & MIYA, 1972). Segundo BOOKWALTER (1975), a qualidade nutricional de sua proteína pode ainda ser melhorada pela suplementação com metionina, aminoácido limitante da soja, e, segundo GOMES (1978), esta leguminosa possui considerável teor de minerais, principalmente cálcio e fósforo, e vitaminas, sobretudo do complexo B.

A maior parte da população da Índia, África e América Latina consome dietas inadequadas, tanto em quantidade como em qualidade. Numerosos trabalhos têm mostrado a possibilidade do uso de produtos ricos em proteínas, na preparação de misturas processadas, que poderiam ser usadas como complemento efetivo destas dietas (PANEMANGALORE et alii, 1965; PARPIA, 1971; WEISBERG, 1974).

As leguminosas e, em particular, a soja, oferecem de imediato, uma solução parcial para o problema, principalmente no tocante à melhoria do teor de proteína de dietas pobres. É a mais abundante e econômica fonte de proteína vegetal de alta qualidade (HILDEBRAND & KITO, 1984).

No Ocidente, o consumo de soja iniciou-se em meados de 1930, com a implantação de indústrias norte-americanas, visando o beneficiamento da soja, principalmente a obtenção de óleos que começaram a serem usados e consumidos na forma de margarina, óleo comestível, maionese, etc. Reconhecida pelo seu teor de proteína, foi empregada primeiramente como ração animal. Nos últimos dez anos, contudo, muitos produtos comestíveis tem sido obtidos diretamente da soja e de seus produtos (IADEROZA, 1986; REZENDE, 1986).

Atualmente a soja é matéria-prima principal para a indústria de extração e refinação de óleo vegetal comestível. A farinha de soja desengordurada, um subproduto da extração do óleo, apresenta um alto teor de proteína, rica em aminoácidos essenciais como a lisina, porém relativamente baixa em aminoácidos sulfurados (HOUSTON, 1970), além de possuir fatores anti-nutricionais, geralmente ativos no produto cru (DEOBALD, 1972).

CAMPOS & CANECHIO FILHO (1975) afirmam que, embora a soja seja originária de clima temperado, adapta-se bem à uma ampla faixa de outros climas. Assim, suas variedades aclimáticas desenvolvem-se muito bem nos climas tropical e subtropical.

Segundo GOMES (1978) são cultivadas atualmente no Brasil, dezenas de variedades de soja, das quais doze foram introduzidas diretamente dos Estados Unidos. Após algumas modificações, adaptaram-se bem à ecologia nacional. As outras variedades foram conseguidas

por hibridação ou por simples seleção de plantas, provenientes de sementes importadas.

Conforme Pereira, 1981 e Muller, 1981 citados por TAVARES (1991), países como Estados Unidos, Brasil e Japão são grandes produtores de soja e possuem reconhecidos centros de pesquisa dedicados ao melhoramento genético da cultura. No Brasil esse melhoramento, além do aumento da produtividade, visa a adequação da soja à diversidade climática e melhoria de propriedades sensoriais. Devido aos fatores limitantes de se conseguir proteínas de origem animal, a pesquisa está dirigida para a obtenção de proteínas vegetais, de baixo custo, particularmente da torta das sementes de plantas oleaginosas, como soja, amendoim, algodão, côco, gergelim e girassol (NAHAS, 1978).

2.2. PROTEÍNAS DA SOJA

Segundo SGARBIERI (1977), no Brasil, as principais fontes de proteínas de origem vegetal são: milho, trigo, arroz, soja, amendoim e algodão.

As proteínas presentes nas sementes de leguminosas são de dois tipos: proteínas metabólicas, ligadas principalmente às atividades enzimáticas, e as proteínas de reserva (MILLERD, 1975). As proteínas de reserva não apresentam atividade enzimática e sua função é fornecer nitrogênio e aminoácidos para a germinação e desenvolvimento da nova plântula (BOULTER, 1976). O teor de proteínas de reserva varia com a espécie de leguminosa. De

um modo geral, esse teor situa-se entre 20 e 40% da matéria seca.

A maior parte das proteínas encontradas nas sementes de leguminosas são globulinas, de acordo com a classificação de Osborne, baseada em suas solubilidades (BOULTER, 1976; DERBYSHIRE et alii, 1976; MILLERD, 1975).

O grão de soja possui uma complexa mistura de proteínas, que são usualmente classificadas de acordo com seu coeficiente de sedimentação em 11S (glicinina) e 7S (Beta-conglicinina) e finalmente a fração 2S, que é composta por enzimas, inibidores de tripsina e lectinas (REZENDE, 1986).

A proteína glicinina é uma molécula complexa, tem peso molecular em torno de 360.000 daltons e é constituida de pelo menos 12 polipeptídeos diferentes, sendo 6 de caráter ácido (PM 40.000 daltons) e 6 de caráter básico (PM 20.000 daltons) (MOREIRA et alii, 1979). Os polipeptídeos ácidos estão associados aos básicos de uma maneira específica, através de pontes bissulfídicas, formando complexos intermediários de PM 60.000 daltons (STASWICK et alii, 1981).

A proteína Beta-conglicinina tem peso molecular em torno de 180.000 daltons, e é formada por três polipeptídios denominados α , α' e β de pesos moleculares em torno de 72.000, 68.000 e 57.000 daltons, respectivamente (FONTES, 1983).

O grupo das proteínas metabólicas da soja da fração 2S compreende os inibidores de tripsina, as

hemaglutininas, enzimas e outras proteínas (TAVARES, 1991).

Nas sementes de soja, assim como nas leguminosas de um modo geral, o baixo teor de metionina e cisteína é o resultado de sua pequena concentração nos complexos de reserva 7S e 11S (THANH & SHIBASAKI, 1977).

As proteínas ocorrem em numerosas inclusões subcelulares que constituem o sítio de estocagem para as proteínas, lipídios e outros constituintes. As proteínas, em especial, acham-se estocadas em partículas denominados corpos protéicos que são encontrados nos citoplasma das células dos cotilédones, (MAN et alii, 1975; WOLF, 1978). TOMBS (1967) verificou que 60 a 70% do total de proteínas da soja estão estocadas nos corpos protéicos.

As frações protéicas podem formar polímeros dissulfídricos insolúveis e sofrer reações de associação e dissociação. Apresentam estruturas quaternárias que podem ser modificadas por ácidos, álcalis, uréia, detergentes e calor (SMITH & WOLF, 1961; WOLF, 1970).

Segundo BOOKWALTER (1971), o elevado teor de lisina, distingue a proteína da soja da maioria das proteínas vegetais, portanto melhora as combinações com cereais. De acordo com Coppock, citado por ROLIM (1977), a proteína da soja também apresenta quantidades elevadas de leucina e isoleucina. HACKLER & STILLINGS (1967) e KAKADE (1972), citam que a deficiência em aminoácidos sulfurados, metionina e cisteína (limitantes) são a sua principal desvantagem nutricional.

2.2.1. LIPOXIGENASES

De particular e relevante importância estão as izoenzimas lipoxigenases, as quais contribuem acentuadamente para a instabilidade do óleo armazenado nas sementes de soja. Os compostos resultantes da ação das lipoxigenases estão associados com o desenvolvimento de sabores indesejáveis nos produtos de soja, e consequentemente reduzem a aceitabilidade desses produtos pelo consumidor (GARDNER, 1979).

Nos grãos de soja as lipoxigenases constituem cerca de 1% do total de proteínas. Geralmente são encontradas pelo menos três isoenzimas lipoxigenases (L_1 , L_2 e L_3) na maioria dos cultivares comerciais de soja. Estas isoenzimas podem ser purificadas por precipitação com sulfato de amônio e cromatografia em coluna de DEAE-Sephadex (AXELROD et alii, 1981).

As atividades das isoenzimas lipoxigenases podem ser medidas espectrometricamente por absorção em comprimento de onda específico ou medindo-se o consumo de oxigênio com eletrodo de oxigênio (AXELROD et alii, 1981). Dentre as três lipoxigenases, L_1 é que apresenta maior atividade "in vitro" e maior estabilidade térmica (CHRISTOPHER et alii, 1970, 1972); portanto, é de se esperar que variedades de soja com baixa atividade de L_1 fornecam produtos derivados mais estáveis e, consequentemente, com melhores propriedades sensoriais (BARROS et alii, 1984).

As três isoenzimas lipoxigenases tem pesos moleculares próximos de 100.000 daltons. Utilizando-se o ácido linoléico como substrato, a lipoxigenase-1 tem pH ótimo em torno de 9,5, a lipoxigenase-2 em torno de 6,5 e a lipoxigenase-3 tem uma faixa ótima de pH bastante ampla, que vai de 4,5 a 9,0 (HILDEBRAND e HYMOWITZ, 1981). Os pontos isoelétricos das três isoenzimas também são diferentes entre si, sendo as formas L₁ e L₃ a mais ácida e a menos ácida, respectivamente (CHRISTOPHER et alii, 1972; DIEL et alii, 1978; KITAMURA et alii, 1984). Com relação à especificidade pelo substrato, L₁ é mais reativa com ácido linoléico, ao passo que L₂ e L₃ são mais reativas com metil-linoleato ou trilinoleína (HILDEBRAND & KITO, 1984; TAVARES et alii, 1992).

As isoenzimas L_{3a} e L_{3b} são muito similares em suas propriedades e podem, para certos propósitos, ser consideradas idênticas, sendo denominadas de L₃. (AXEROLD et alii, 1981). Segundo RUSSEL (1977) essas três isoenzimas diferem uma da outra pela preferência de substrato, perfil de migração eletroforética, pH ótimo de atividade, estabilidade ao aquecimento e atividade na presença de íons cálcio.

A semente de soja é a mais rica fonte de lipoxigenases. GERRITSEN et alii (1983) mostraram que uma semente de soja pesando aproximadamente 160mg (base seca) contém no mínimo 0,23mg de isoenzima L₁ e 0,45mg de isoenzima L₂.

A ação da lipoxigenase sobre os substratos, pode proceder-se aeróbica ou anaerobicamente (AXEROLD, 1974; GALLIARD & CHAN, 1980). Em meio anaeróbico, a reação de lipoxigenase com ácido linoléico produz radicais que podem formar dímeros, ácidos oxodienóicos e pentano (VLIEGENTHART et alii, 1979). Em meio aeróbico, ocorre principalmente a formação de 9 a 13 hidroperóxidos de ácido linoléico. As proporções destes hidroperóxidos são influenciadas por vários fatores, incluindo tipo de substrato, isoenzima envolvida, pH, temperatura, disponibilidade de oxigênio, etc (RUSSEL, 1977).

2.2.2. SOLUBILIDADE DAS PROTEÍNAS

Segundo KINSELLA (1979), as propriedades funcionais das proteínas são as propriedades físico-químicas que influem no seu comportamento nos sistemas alimentícios durante a preparação, processamento, armazenamento e consumo. Propriedades funcionais não são importantes somente para determinar a qualidade do produto final, mas também como critério para delinear e otimizar o processamento (ARAUJO, 1984).

HERMANSSON (1979) define propriedades funcionais de proteína como sendo características físico-químicas que dão informações de como as proteínas se comportarão em um sistema alimentar.

Conforme BARTHOLDMAI (1979), a aceitação de uma proteína como ingrediente na indústria de alimentos não

está condicionada apenas às suas qualidades nutricionais. Suas propriedades funcionais desempenham, também, papel decisivo.

Conforme PICCOLO (1980) a utilização de proteínas vegetais na alimentação humana tem aumentado de forma acentuada e numerosas pesquisas têm sido desenvolvidas com o objetivo de estudar os fatores que influenciam o seu desenvolvimento, com atenção especial ao problema da solubilização dessas proteínas.

SMITH et alii (1959) salientam que o conhecimento adequado da solubilidade seria um fator importante na seleção de proteínas vegetais para possíveis aplicações industriais. A aplicação está na dependência das condições utilizadas na extração da proteína.

Estudos desenvolvidos por WILKENS & HACKLER (1969) mostraram que no preparo do leite de soja utilizando grãos integrais e descascados o tratamento dos grãos por embebiamento em água, durante um longo período de tempo e a temperaturas elevadas, pode acarretar a solidificação de proteínas solúveis e insolúveis, contribuindo assim para a redução no rendimento durante a filtração. Temperaturas acima de 70°C durante a Trituração dos grãos de soja, para o preparo do leite, promovem diminuição na recuperação das proteínas.

ANTUNES & SGARBIERI (1977), com o objetivo de verificarem os mesmos efeitos acima mencionados, mostraram que a solubilidade da proteína da soja em água na razão de 1:30, é diminuída quando grãos não embebidos em água e

embebidos e descascados são aquecidos em água fervente por tempos variáveis. Verificaram que a fervura dos grãos, por um período de 5 minutos, era suficiente para tornar as proteínas insolúveis, exceto nos grãos não embebidos. Nestes, uma fervura por um período de 30 minutos ainda não foi suficiente para tornar todas as proteínas insolúveis. Essa diferença na velocidade de desnaturação das proteínas pelo calor é devida ao maior conteúdo de água e menor tamanho dos grãos descascados embebidos, permitindo uma transferência mais rápida de calor.

Segundo WOLF (1972), os corpos de proteínas estão cercados por uma membrana que se admite consistir-se de fosfolipídios. O autor observou que quando a farinha desengordurada é dispersa em água destilada a pH 6,5, ocorre quase que um máximo na solubilidade das proteínas; elevando o pH com adição de álcali, há um leve aumento da solubilidade; porém a adição de ácido até atingir a faixa de pH 4 a 5, que é a região isoelétrica, reduz abruptamente a solubilidade a um mínimo. Em valores de pH bastante baixos as proteínas tornam-se positivamente carregadas e se redissolvem. A alta extratibilidade em água das proteínas de farinhas desengorduradas, indica que as membranas fosfolipídicas que envolvem os corpos de proteínas são facilmente quebradas.

BOURNE et alii (1976) afirmam que a qualidade e quantidade de proteína são dois fatores de relevante importância que devem ser verificados para a extração de leite de soja. Sobre a qualidade da proteína e

aceitabilidade do leite, intensos estudos tem sido desenvolvidos (BORGES, 1958; FERREIRA et alii, 1974; GARRUTI & BARROS 1960). Sobre a quantidade de proteína do leite de soja, BOURNE et alii (1976) afirmam que um dos fatores de influência é a variedade de soja utilizada na extração do leite, mas que o leite rico em proteínas não depende só de grãos com conteúdo alto de proteínas, mas também da solubilidade destas em água.

Segundo DILMER (1969), a solubilidade de proteínas é uma propriedade altamente desejável para alguns produtos de soja. Porém para a obtenção de proteínas altamente solúveis, o tratamento térmico deve ser minimizado nestes produtos.

A solubilidade é uma propriedade importante que condiciona a aplicação das proteínas de soja em alimentos, pois geralmente elas devem estar em solução para exercer suas propriedades. Desse modo a solubilidade é quase sempre usada como um teste de controle de qualidade. As proteínas nativas de soja apresentam um comportamento de solubilidade complexo, dependendo de uma variedade de fatores, entre estes: o tratamento térmico para inativação dos fatores anti-nutricionais; método utilizado para extração de óleo; temperatura de extração; relação sólido:solvente, pH e concentração de sais (DEESLIE & CHERYAN, 1979; WOLF, 1970, 1972, 1978).

O aumento acentuado na solubilidade de isolados protéicos de soja, em valores de pH acima de 10, foi observado por SHEN (1976), confirmando o efeito de

soluções alcalinas em solubilizar proteínas de soja. Estudos de SHEHATA & THANNOUN (1981) confirmaram a baixa solubilidade de proteínas de grãos na região de seu ponto isoelétrico.

Smith et alii (1938) citados por GUTIERREZ (1974) estudando a influência do pH sobre a extração de proteínas da farinha de soja desengordurada verificaram que o rendimento máximo de extração de nitrogênio solúvel (95%) ocorreu em pH 12, usando como solvente uma solução de NaOH, e o segundo maior rendimento (85%) ocorreu em pH 2,0 usando HCl, e o rendimento mínimo em pH próximo de 4,5, indicando que o ponto isoelétrico das proteínas da soja se encontram próximo desse último pH. Wolf e Cowan (1971) citados por HUTTON & CAMPBELL (1977) relataram a curva de retenção de água vs pH das proteínas de soja, seguida pela curva de solubilidade vs pH. Ambas, solubilidade e retenção de água, * foram mínimas no ponto isoelétrico (pH 4,5) e aumentaram assim que o pH se afastou desse valor.

Os efeitos do pH e da temperatura na absorção de água, na maior parte dos resultados obtidos por HUTTON & CAMPBELL (1977), foram paralelos aos verificados quanto à solubilidade. Esses resultados sugerem que a solubilidade e a absorção de água podem estar relacionadas até o ponto de máxima hidratação, no qual a solubilidade continua a aumentar, mas a absorção de água não.

Bull e Breese (1968), citados por NATH & RAO (1981) relataram que a maior capacidade de absorção de água dos produtos da soja pode sugerir que essas proteínas

têm caráter hidrofílico maior que o das proteínas de girassol. Para a absorção de gordura foi observado o oposto. A esse respeito, estruturalmente, as proteínas de girassol são mais polifílicas que as proteínas de soja. Observaram ainda uma relação linear entre o teor de grupos hidrofílicos e a capacidade de retenção de água das proteínas.

2.3. SABOR E ODOR DA SOJA

SESSA (1979) menciona que a formação de aromas e sabores desagradáveis é um problema associado com leguminosas. Com a soja em particular o sabor amargo e do feijão crú, predominam tanto em sua farinha desengordurada como na gordura, os quais permanecem detectáveis em concentrados e isolados protéicos.

Conforme Wang (1986), citado por TAVARES (1991) este sabor típico tem limitado a inclusão de extrato hidrossolúvel e outros derivados da soja no hábito alimentar da população brasileira.

A oxidação de lipídios é fenômeno muito comum em sementes oleaginosas e seus produtos. E sabe-se que esse fenômeno é facilitado ou catalisado por muitos fatores, como luz, oxigênio, calor, umidade, microorganismos, íons metálicos e enzimas. De todos esses fatores, íons metálicos e enzimas, particularmente lipoxigenases (ED. 1.13 11.12), são os catalizadores mais importantes (St. ANGELO et alii, 1979).

Dentre os compostos resultantes da degradação oxidativa dos lipídios, n-hexanal é apontado como um dos mais importantes (GROSH et alii, 1981). Além de ter um limite de detecção sensorial muito baixo (LABUZA, 1971; OLIVER et alii, 1982), este aldeído pode associar-se com resíduos de triptofano, formando produtos de condensação, que são apontados como fortes agentes mutagênicos (ARAI, 1980).

Fatores como danos mecânicos, umidade e condições de armazenamento podem contribuir para o desenvolvimento destes sabores indesejáveis nos derivados protéicos de soja e influenciar sensivelmente a qualidade final destes produtos. Deformações e rupturas das estruturas celulares dos órgãos são os efeitos mais evidentes dos danos mecânicos (REZENDE, 1986).

O grão de soja acumula, em média, 20% de óleo e esta fração é particularmente suscetível à degradação oxidativa, logo após a ruptura das estruturas celulares, liberando enzima e substrato que até então estavam compartmentalizados. Mesmo após a inativação das enzimas por tratamento térmico, o processo de degradação dos ácidos graxos polinsaturados continua, com uma velocidade bem menor, por meio de reações de autoxidação (RACKIS et alii, 1979).

A temperatura e o tempo de armazenamento dos grãos aumentam de maneira significativa na degradação oxidativa dos ácidos graxos polinsaturados (GROSH et alii, 1981), além de influenciarem na atividade das lipoxigenases.

OLIVER et alii (1982) identificaram, na farinha de soja desengordurada, 25 compostos voláteis, como mostra o QUADRO 1, e afirmaram que são esses compostos os responsáveis pelo sabor de "mato" ou "feijão crú" nos produtos protéicos da soja.

As lipoxigenases catalisam a hidroperoxidação de ácidos graxos polinsaturados livres ou esterificados, que contêm grupos cis-1,4, pentadieno, utilizando o oxigênio molecular e produzindo 9 ou 13 - cis-transidroperóxidos, que geralmente se decompõem em ácidos, aldeídos e cetonas de cadeia carbônica curta (LEONI et alii, 1985).

Dos ácidos graxos existente no óleo de soja o linoléico e linolênico são os substratos para as lipoxigenases onde formam hidroperóxidos, pois ambos possuem o grupo 1,4 cis-cis-pentadieno (MAN, 1980; SONNTAG, 1979). A única estrutura hidroperóxida que permite a formação de n-hexanal é a do 13-hidroperóxido do ácido linoléico, (GALLIARD et alii, 1976; RUSSEL, 1977).

Além disso, os hidroperóxidos contribuem para perda do valor nutritivo desses produtos pela destruição de certas vitaminas e proteínas (GARDNER, 1979).

Dentre os compostos formados pela oxidação dos ácidos graxos, os aldeídos são os mais sensíveis à percepção sensorial em alimentos. A TABELA 1 mostra os limites mínimos de percepção para aldeídos em óleo vegetal e leite. Estes compostos de degradação, além de produzirem sabores desagradáveis, podem interagir com proteínas e peptídios, provocando o escurecimento dos produtos e

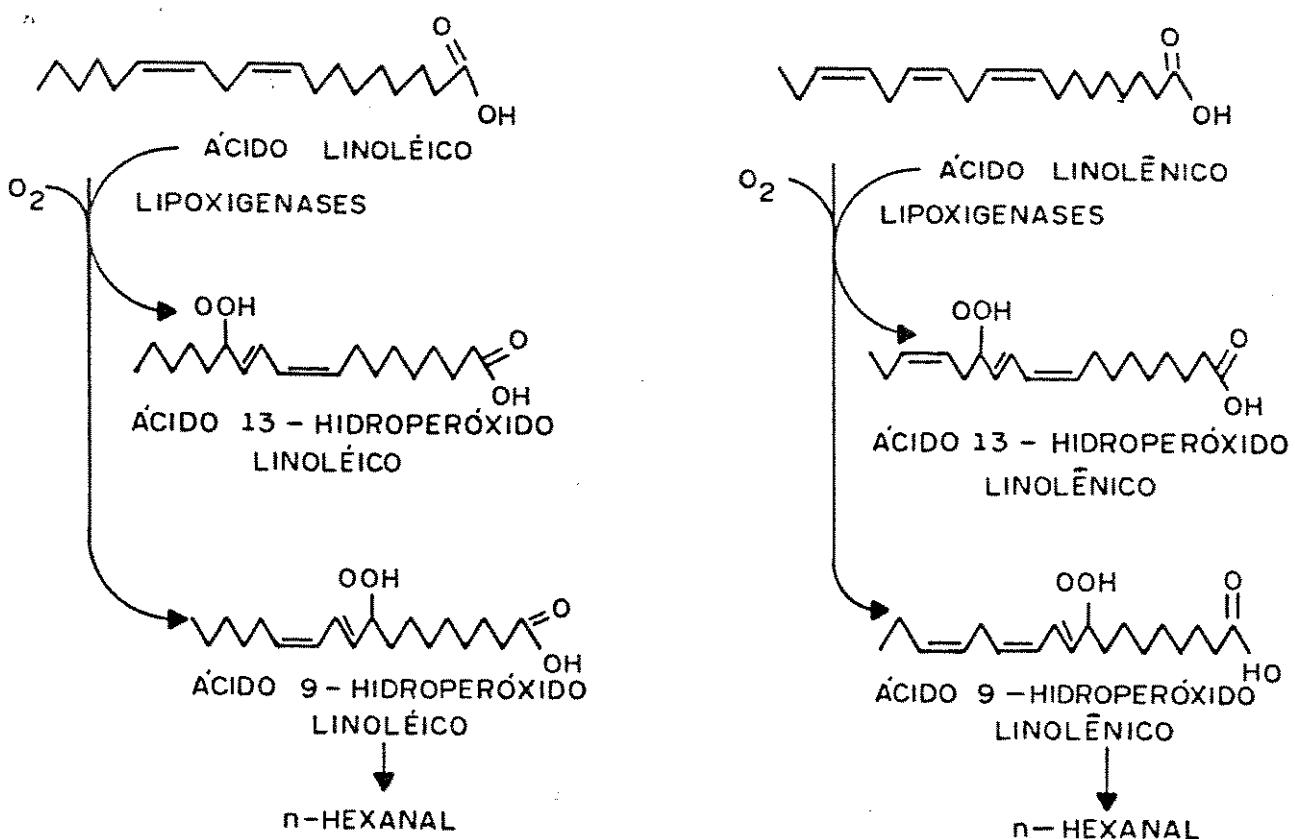


FIGURA 1 - A oxidação do ácido linoléico e linolênico por lipoxigenases segundo GARDNER (1988).

QUADRO 1 - Compostos Voláteis Identificados na Farinha de Soja Desengordurada.

| | | |
|-----------------|-----------------|-----------------------------------|
| 3-metil butanol | n-pentanal | Etil vinil cetona 2-Pentil Furano |
| 1-pentanol | n-hexanal | 2-metil ciclo pentanona |
| 1-hexanol | 2-hexenal | Metil etil ciclopentanona |
| 2-hexanol | 2,4-heptadienal | 3 metil-2-ciclo pentanona |
| 3-hexanol | 2-octenal | 2 heptanona |
| 2-hexen-1-ol | n-heptanal | 2,6-dimetil-3-heptanona |
| 2-hepten-1-ol | | 3-octanona |
| 4-octen-3-ol | | 3-octen-2-onal |
| 2-octen-1-ol | | Amil vinil cetona |

Fonte: OLIVER et alii (1982).

comprometendo o seu valor nutricional (KALBRENER et alii, 1974; RACKIS et alii, 1979; GARDNER, 1979).

PEREIRA (1991) menciona que Araújo, 1980, mostrou que o hexanal se liga na proteína da soja ao aminoácido triptofano, especialmente na forma desnaturada, considerando-se que essa preferência se dá porque a proteína da soja na forma desnaturada torna exposta maior quantidade de regiões hidrofóbicas contendo o aminoácido citado, do que a proteína natural. Essa interação de natureza hidrofóbica aumenta durante os processos de aquecimento e desnaturação.

TABELA 1 - Limites Mínimos de Percepção do Aroma de Aldeídos em óleo Vegetal e Leite (Valores Expressos em ppm).

| Aldeído | Leite | óleo Vegetal |
|----------|-------|--------------|
| Butanal | 0,19 | 0,02 |
| Pentanal | 0,13 | 0,15 |
| Hexanal | 0,05 | 0,15 |
| Heptanal | 0,12 | 0,04 |
| Octanal | 0,07 | 0,46 |
| Nonanal | 0,22 | 0,32 |

Fonte: LABUZA (1971).

REZENDE (1986) menciona que grande parte do n-hexanal é produzido após a ruptura das estruturas celulares dos grãos, ou seja, após a moagem, visto que os níveis desse aldeído, nas farinhas em que a atividade enzimática foi interrompida imediatamente após a moagem, foram praticamente inexpressivos.

Após a extração do óleo, na indústria, as farinhas contém ainda pequenas quantidades de lipídios, que na presença de umidade suficiente podem oxidar-se, alterando o produto. Estudos da interação enzima - conteúdo de umidade, mostram que a velocidade e extensão das reações são muito dependente da umidade, servindo esta como um veículo

para a enzima e o substrato. Desta forma, em produtos de baixa quantidade de água, essas reações não ocorrem, ou ocorrem muito lentamente (SABBAGH, 1985).

Com a Trituração das sementes, a taxa de deterioração é bastante acelerada porque as enzimas e os respectivos substratos são colocados em contato (SABBAGH, 1985).

Também foi observado que em tecidos crus dos cotilédones danificados, a lipoxigenase não atua se a umidade está em torno de 13%. Porém se água for adicionada, a reação se processa rapidamente produzindo um sabor e aroma somente aceitável pelos orientais que já desenvolveram tolerância para o mesmo (NELSON et alii, 1976).

A obtenção de produtos de soja com propriedades sensoriais de maior aceitabilidade constitui um passo importante no sentido de ampliar a demanda de alimentos derivados da soja para uso na alimentação humana. A remoção de odor e sabor indesejável da farinha de soja, pela transformação dos aldeídos nos respectivos ácidos carboxílicos por meio da enzima desidrogenase aldeídica (E.C. 1.2.5) (ARAI, 1980; HILDEBRAND & KITO, 1984), por enquanto não é viável comercialmente, devido aos custos do processo.

A inativação da enzima lipoxigenase vem sendo extensivamente investigada (BORHAN & SNYDER, 1979). O aquecimento é o método principal proposto para o processamento da soja (WOLF, 1975).

WOLF (1975), informa ainda que a alta temperatura é o processo comumente usado para inativação de lipoxigenase, durante o processamento da soja. Moagem com água quente, cozimento por extrusão associado com calor seco, moagem a pH baixo seguida por cozimento, são alguns dos tratamentos geralmente utilizados.

2.4. FATORES ANTI-NUTRICIONAIS DA SOJA

LIENER (1981) classifica os fatores anti-nutricionais da soja em termolábeis e termorresistentes. Os termolábeis são inibidores de proteases, hemaglutininas, bocigênicos, antivitamina. Os termorresistentes são estrogênicos, saponinas, fatores de flatulência, lisinoalanina, alergênicos e fitatos.

A aplicação de tratamento térmico adequado serve para inativar os principais constituintes antinutricionais que existem naturalmente na soja. Além de serem tóxicas, quando ingeridas em quantidade elevadas, essas substâncias podem trazer respostas fisiológicas adversas no organismo diminuindo o potencial nutricional da proteína.

Os mais conhecidos e certamente os mais estudados desses fatores são os inibidores de tripsina e da quimotripsina, enzimas que desempenham papel fundamental na digestão da proteína em geral (IDROGO, 1984).

Os inibidores de tripsina são proteínas que contém de 70 a 75 resíduos de aminoácidos. Essas moléculas

são particularmente ricas em cisteína, que corresponde à cerca de 20% do total de aminoácidos (LARKINS, 1983). Essa composição aminoacídica característica, inviabiliza propostas que visam a eliminação genética destes inibidores em grãos de soja.

Conforme ANTUNES (1974) esses fatores são termolábeis, sendo inativados pelo calor, e, mais rapidamente pelo calor úmido, tendo sido observado que em animais alimentados com farinha de soja crua, ocorre a hipertrofia do pâncreas e baixa absorção de proteínas da dieta.

TAVARES (1991) menciona que são conhecidos vários inibidores de proteases entre os quais I,9S, F₁, F₂, SBTI-A₁, SBTI-B₁, SBTI-B₂ e os inibidores "KUNITZ" e "BOWMAN-BIRK"; estes dois últimos já foram purificados e estudados detalhadamente na soja.

Conforme LIENER (1979) quando a farinha de soja é ingerida sem o devido tratamento térmico, as lectinas podem ligar-se à superfície das células intestinais, diminuindo sensivelmente a absorção de nutrientes e causando descamação excessiva das células epiteliais podendo ulcerar a parede intestinal.

Segundo RACKIS (1974), a soja crua, quando ingerida, inibe o crescimento, diminui a energia metabolizável e a absorção de gordura, causa hipertrofia pancreática e hipersecreção de enzimas pelo pâncreas, reduz a digestibilidade da proteína e a disponibilidade de aminoácidos, vitaminas e minerais. Pesquisas realizadas com soja crua demonstram a ocorrência de problemas pancreáticos

em ratos, camundongos e pintos; entretanto, os cães podem adaptar-se à dieta de farinha de soja crua, não mostrando anormalidades no peso do pâncreas e funções exócrinas. Portanto, de acordo com esse mesmo autor o leite de soja deve passar por um processo de aquecimento para destruir as substâncias antinutricionais presentes na soja.

Vários são os tratamentos propostos para reduzir os efeitos detrimenstais causados pela oxidação dos lipídios. Um deles, muito usado, é o tratamento térmico, que, apesar de ser razoavelmente eficiente, prejudica de maneira sensível as propriedades funcionais das proteínas (AOKI et alii, 1980; KINSELLA, 1979; McWATTER & HOLMES, 1979).

Embora o calor seja um tratamento básico comum para a maioria dos alimentos, pouco se conhece das reações que as proteínas da soja sofrem quando são tratadas térmicamente. Os estudos demonstram que a diminuição na solubilidade, consiste na maior consequência decorrente da ação de calor sobre as proteínas da soja, segundo SMITH & CIRCLE (1978). MUSTAKAS et alii (1971), por sua vez, afirmam que, embora o calor favoreça a remoção de sabor e odor desagradáveis da soja, pela destruição da lipoxygenase, e no seu valor nutritivo, pela destruição dos fatores antinutricionais presentes na soja crua, este tratamento desnatura a proteína e a insolubiliza. Dessa forma, é necessário um controle de intensidade de tratamento pelo calor em produtos de soja, visando alcançar um equilíbrio entre valor nutricional e solubilidade de proteínas.

Segundo COSTA et alii (1976), no processo de extração do óleo há realização da tostagem do farelo, onde se conjuga tempo-temperatura-umidade com a finalidade estrita de inibir os fatores antinutricionais que ocorrem na soja.

De acordo com LIENER (1972), além de cistina e lisina, outros aminoácidos são parcialmente destruídos por temperatura alta tais como, arginina, triptofano, histidina e serina. Não sendo estes aminoácidos limitantes na soja, sua perda parcial não afetaria grandemente as propriedades nutritivas da proteína. Contudo, é importante observar que um dos principais aspectos da soja é seu alto conteúdo de lisina, qualificando-a como complemento de cereais.

Uma preocupação dos pediatras era a de que problemas fisiológicos observados em ratos devido à inibidores de tripsina pudessem também ser verificados em crianças que se alimentavam com leite de soja. Entretanto, tem sido demonstrado que o tratamento térmico usado no processamento do leite de soja, reduz a atividade do inibidor de tripsina para menos de 30% da atividade inicial. Esta atividade residual não inibe o crescimento nem causa hipertrofia pancreática em ratos (LIENER, 1979).

BACKER & MUSTAKAS (1973) estudaram o efeito da temperatura na destruição dos inibidores de tripsina, lipoxigenase e urease da soja e observaram que a lipoxigenase é mais termolábil que os inibidores da tripsina e urease. Em 15 minutos de cozimento, o primeiro decréscimo da atividade de lipoxigenase foi observado a 65°C, com

inativação total a 82°C; para urease as temperaturas foram de 73°C e 90°C respectivamente. Entretanto, para os inibidores de tripsina, o início da inativação foi observado somente a 82°C, com inativação total a 100°C.

De acordo com LAM-SANCHEZ (1978) se os fatores antinutricionais não forem eliminados, há uma redução de 50% no valor nutritivo do alimento. Outras considerações são abordadas por BADENHOP & HACKLER (1971), sobre a qualidade da proteína de soja que pode ainda ser prejudicada pelas altas temperaturas alcançadas no processo de tostagem da farinha. Essas temperaturas são consideravelmente maiores que as necessárias para destruir o inibidor de tripsina existente.

Diante das colocações feitas, conclui-se que o tratamento térmico durante o processamento de soja é de importância fundamental. Em geral, a influência sobre seu valor nutritivo depende da temperatura, tempo de tratamento e condições de umidade (LIENER, 1972).

2.5. A SOJA NA ALIMENTAÇÃO

BRESSANI & ELIAS (1976), informam que, durante os últimos anos vários laboratórios em todo o mundo tem desenvolvido misturas protéicas vegetais para suplementar a alimentação da criança, como um meio de controlar a má nutrição calórica-protéica em áreas não desenvolvidas.

Dos vegetais, a soja merece maior destaque, conforme HAFNER (1961) e HACKLER & STILLINGS (1967), pois apresenta-se como fonte mais prática e mais barata de proteínas, além do alto conteúdo e boa qualidade das mesmas.

Embora sejam indiscutíveis as vantagens do emprego da soja na alimentação humana, no Brasil bem poucos a usam, talvez por terem os brasileiros herdado hábitos alimentares de culturas européias, africanas e indígenas, apreciadores de carnes, gorduras animais, arroz e feijão, todos de paladar bem diferente daquele da soja (HUHN, 1977).

No Brasil, COSTA & MORI (1978), informam que o Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL) desenvolveu um leite de soja adoçado aromatizado e enriquecido com minerais e vitaminas, com o nome de VITAL, o qual foi bem aceito por crianças na faixa etária de 6 a 14 anos. Entretanto, o uso de leite de soja em nosso país é ainda restrito, sendo usado como medicamento ou em algumas instituições escolares, (FERREIRA et alii, 1974).

BOURNE et alii (1976) preconizaram a adoção do leite de soja como um alimento que poderia constituir um grande contribuidor de proteínas e calorias para os problemas de má nutrição em países em desenvolvimento, onde a oferta de leite de vaca é insuficiente para atender as necessidades da população.

PEREIRA & CAMPOS (1981) abordaram os aspectos de produção de soja no Brasil, bem como a contribuição do ITAL na pesquisa e desenvolvimento de produtos institucionais à base de soja. Dois programas de

suplementação alimentar, um em nível nacional e outro em nível estadual, são descritos e, em ambos, todos os produtos utilizados tem a soja como fonte de proteínas e destinam-se a crianças de 7 a 14 anos de idade. Segundo estes autores, vários produtos tem sido comercializados em programas institucionais e em restaurantes hospitalares e indústrias e concluíram, pelos resultados favoráveis sobre o uso da soja na alimentação humana, quando esta leguminosa é indicada como uma opção alimentar.

Pesquisas vem sendo realizadas com o leite de soja, visando sua introdução não só na alimentação humana, como também na animal, pois segundo TIESENHAUSEN & NEIVA (1978) a utilização do leite de soja no aleitamento artificial de bezerros tem demonstrado respostas satisfatórias em termos de desempenho produtivo, além de apresentar menor valor econômico que o leite de vaca.

O termo leite de soja é geralmente, aplicado para denominar o extrato protéico da soja, similar ao leite de vaca em aparência, contudo, o sabor e odor dos dois produtos são bastante diferentes. Segundo YAU-LAI et alii (1968), o uso do termo leite de soja na descrição do extrato de soja é desaconselhado, visto que isto, frequentemente, confunde aqueles que não são familiarizados com o produto, ao compará-lo com o leite de vaca cujo sabor e textura são mais familiares.

Para HACKLER & STILLINGS (1967), STEINKRAUS (1976) e WEISBERG (1974) nos países tropicais onde o

fornecimento de leite não é adequado, há grande interesse na obtenção de uma bebida à base de soja, especialmente para suprimento de crianças pré-escolares que necessitam de proteínas adequadas na dieta. Deve-se ainda considerar o caso de crianças alérgicas à lactose do leite de vaca.

Conforme GUTIERREZ (1974) o leite de soja pode ser obtido do grão integral ou da farinha de soja, podendo ser comercializado em forma líquida como substituto do leite natural ou então como leite em pó para o qual deve ser concentrado previamente.

Em linhas gerais o método tradicional de preparo utilizado pelos orientais segue os seguintes passos: operações preliminares de seleção, lavagem e secagem dos grãos, maceração, descorticação, desintegração e adição de água, aquecimento e coadura. A maceração é feita por período de 12 a 24 horas. Após este período faz-se a descorticação tida como necessário para melhorar a qualidade do produto de acordo com FERREIRA et alii (1974), GARRUTI & BARROS (1960) e YAU-LAI et alii (1968). Numerosas modificações deste simples processo oriental tradicional tem sido pesquisadas para melhorar as características sensoriais desagradáveis do produto. Algumas dessas modificações consistem de extração com água em ebulição BOURNE (1970, 1971) moagem em meio ácido e maceração em álcali (BADENHOP & HACKLER, 1970). Tais modificações, embora tenham adicionado algum melhoramento no sabor, resultaram em recuperação mais baixa de proteína.

COSTA (1972) cita que, no processamento da soja para fins alimentícios, após a remoção da casca e do óleo, obtém-se ainda, 72% de farelo com cerca de 50% de proteína. Este farelo é empregado como forragem na alimentação de animais quando os grãos não são préviamente descascados e sob a forma de farinha desengordurada de uso alimentício humano, quando os grãos são préviamente descascados.

Conforme Koram (1974) citado por TAVARES (1991) e KELLOR (1974) a farinha de soja desengordurada, contendo no mínimo 50% de proteínas, podendo ser considerada como o mais importante produto industrializado da soja, uma vez que é largamente utilizada no enriquecimento protéico de diversos alimentos, bem como empregada na obtenção de produtos concentrados, isolados protéicos e proteína texturizada. Os concentrados resultam da remoção de carboidratos solúveis e o produto residual contém, aproximadamente, 70% de proteína. Os isolados consistem na principal forma de proteína purificada de soja, sendo que na obtenção destes produtos, as frações de carboidratos solúveis e insolúveis e a grande maioria de compostos de sabor são removidos. Os produtos finais contêm de 90 a 95% de proteína (COSTA & MORI, 1978; GONZALEZ et alii, 1977; SEAL & LUCAS, 1978).

Segundo KELLOR (1974), a farinha de soja desengordurada apresenta algumas vantagens em relação a outros produtos tais como: é fonte de proteínas mais econômica e disponível; seu valor nutricional é superior aos

dos produtos de soja refinados, e suas propriedades funcionais como absorção de umidade e capacidade de emulsionar gorduras, a tornam ingrediente versátil para alimentos.

Se a farinha de soja desengordurada vai ser usada em produtos concentrados ou isolados protéicos, no processo de extração de óleo deve ser usado calor brando de maneira que não desnature drasticamente as moléculas protéicas (SEAL & LUCAS, 1978). Segundo ROHR (1973), as tortas ou farelos são produtos resultantes de extração de óleo, possuindo em geral reduzido teor de óleo e com seu componente protéico ligeiramente acidificado. A diferenciação entre esses produtos, ainda segundo o mesmo autor, baseia-se no tipo de extração: na torta, a extração é realizada por prensas mecânicas e no farelo por solvente com posterior moagem. Uma variação nesses processos, verificada na indústria, consiste na extração da maior quantidade de óleo por prensas e depois por solvente.

A temperatura elevada pode acarretar a insolubilidade de proteínas solúveis, contribuindo assim para uma redução no rendimento durante a extração, segundo WILKENS & HACKLER (1969). Estes autores reportaram ainda que temperaturas acima de 70°C, durante a Trituração dos grãos de soja para o preparo do leite, a partir dos grãos promovem uma diminuição na recuperação de proteínas. Todavia, BOURNE (1971) divulgou o sucesso da técnica de moagem do grão em água em ebulição para obtenção de um leite de soja de sabor suave, boa recuperação de proteínas, desde que a temperatura

da água seja mantida acima de 80°C durante a trituração. Esta simples modificação da técnica tradicional inativa a lipoxigenase, antes que ela produza as características sensoriais indesejáveis e, ao mesmo tempo, traz a proteína em solução, antes que ela se torne insolúvel pelo calor. No entanto, o efeito desta técnica sobre a atividade dos fatores antinutricionais não foi divulgado.

Além da temperatura, um outro fator que afeta a extratibilidade de proteína é a relação sólido-solvente utilizada. Conforme WOLF & SLY (1967), a extração das proteínas de farinha de soja é adequada quando se utiliza uma proporção farinha: solvente de 1:10. BOURNE (1971), relata que, quando o leite de soja é elaborado numa proporção soja: água de 1:10, alcança um conteúdo razoável de proteína próximo a 3%, que equivale a um percentual médio de recuperação de 78,5%. De acordo com o autor, se fosse usada numa proporção soja: água de 1:60 na extração do leite, poderia ser produzido um produto de 0,5% de proteína.

Leites elaborados com as proporções de soja: água de 1:8, 1:10 e 1:15, apresentaram conteúdos de proteína de 3,6%, 3,2% e 2,4% respectivamente (BOURNE et alii, 1976). Para estes autores, além dos fatores já citados, é possível que exista outros ainda desconhecidos que afetam o teor de proteína no leite.

FERREIRA et alii (1974) estudaram um novo processo de elaboração do leite de soja a partir de farinha integral e encontraram que melhor combinação água: farinha era de 1:10 agitando-se a mistura por 5 minutos a frio e em

seguida mantida durante 15 minutos em fervura, sendo imediatamente coada.

DILMER (1969) reporta que a eficiência de uma dieta protéica decresce quando os aminoácidos essenciais estão abaixo do nível ideal. As proteínas do ovo de galinha, de leite de vaca e do leite humano, são consideradas como proteínas padrões, pois possuem quantidades suficientes de aminoácidos requeridos pelo organismo. A proteína da farinha de soja, mostrando-se deficiente em aminoácidos sulfurados, apresenta um aproveitamento pelo organismo de aproximadamente 70% quando comparada à proteína do ovo.

2.6. USO DE EMULSIFICANTES NOS ALIMENTOS

LISSANT (1974) menciona que o uso de emulsificante é recomendado quando se deseja manter a estabilidade da mistura água e óleo, descrevendo a emulsão como sendo um sistema de duas fases de líquidos imiscíveis. Quando água e óleo são misturados sem um emulsificante, a dispersão inicial do óleo é completamente instável, se coalescendo rapidamente até completa separação em uma camada de óleo e outra de água.

Qualquer substância capaz de ajudar a formação de uma mistura estável de duas substâncias anteriormente imiscíveis como no caso de óleo e água, é denominada emulsificante (ARAUJO, 1991).

A grande maioria dos emulsificantes usados pelas indústrias de alimentos são compostos anfóteros razão

pela qual são absorvidos na interfase entre o óleo e a água, reduzindo a tensão superficial e a energia necessária para a formação da emulsão. Isso se deve à orientação das moléculas que possuem propriedades hidrofílicas e hidrofóbicas na interfase. Os grupos hidrofílicos tem o terminal polar que age mutuamente com as moléculas de água e os grupos hidrofóbicos interagem com a fase lipídica (DZIEZAK, 1988; NASH & BRINCKMAN, 1972).

Becher (1965), citado por CRENWELGE (1974) menciona que as proteínas da soja têm grande capacidade emulsificante e que essa capacidade está relacionada com a concentração de proteína no meio o que está de acordo com dados para proteína extraída de carne bovina e para proteína extraída de peixe.

A capacidade de emulsificação denota a quantidade máxima de óleo que pode ser emulsificada por uma dispersão protéica (HERMANSSON, 1979; PUSKI, 1975) e é de grande importância porque possibilita maior retenção de compostos voláteis importantes no aspecto sensorial (VIDAL, 1979). O efeito estabilizante das proteínas de soja nas emulsões, possivelmente resulta da barreira protetora em volta das gotículas de gordura, prevenindo suas coalescências (Wolf e Cowam, 1971), citados por HUTTON & CAMPBELL (1977); (Hansen, 1960), citado por FLINT & JOHNSON, (1981). Esse fenômeno é resultante do aumento da entropia, verificado num sistema quando ocorrem interações livre do sistema, tornando-o mais estável.

De acordo com FLINT & JONHSON (1981), as proteínas de soja favorecem a formação das emulsões óleo em água e as estabilizam depois de formadas.

FRAZEN & KINSELLA (1974) afirmaram que a quantidade de compostos flavorizantes que se ligam às proteínas depende do tipo, quantidade e composição da proteína, bem como da presença de água e lipídios. Esta interação proteína-flavorizante diminui a volatilidade destas substâncias. Quando a substância adsorvida é indesejável, tais interações podem causar danos do ponto de vista sensorial diminuindo sua aceitação para o consumo humano.

Segundo LISSANT (1974), ao se usar emulsificantes em alimentos deve-se considerar que o mesmo deve ser quimicamente estável, inerte e adequadamente baixo em odor, sabor e cor. Deve-se considerar ainda o valor do seu BHL (balanço hidrofílico-lipofílico) que é o que determina o tipo de emulsão que tende a ser formada e está parcialmente relacionado com a sua solubilidade, sendo que este valor mesmo de uma forma aproximada, pode ser usado para reduzir a quantidade de ensaios e erros envolvidos na formulação da emulsão.

WEISS (1980) relata que o método BHL é um instrumento usual na preparação de várias emulsões, e pelo uso desses valores o desempenho de um emulsificante pode muitas vezes ser prevista reduzindo o número de testes de emulsificação. Entretanto, existe o inconveniente de que emulsificantes com o mesmo valor de BHL podem ter

comportamento diferente na sua habilidade de emulsão. Nesses casos, não há outra solução senão testar o desempenho do emulsificante.

O valor de BHL de um emulsificante é expresso pela fórmula:

$$BHL = \frac{H}{S},$$

em que H representa a porcentagem do peso dos grupos hidrofílicos na molécula, significando que quanto maior o valor de BHL mais fortemente hidrofílico é o emulsificante, sendo que geralmente os de valores até 4,0 são altamente lipofílicos e acima de 10,0 altamente hidrofílicos.

Conforme GRIFFIN & LYNCH (1968) um emulsificante que contém a porção lipofílica relativamente forte e a porção hidrofílica fraca é predominantemente solúvel em óleo e consequentemente atua preferencialmente como estabilizante em emulsão do tipo óleo em água, sendo o mesmo válido para o caso inverso.

Na TABELA 2, estão os valores de BHL de alguns emulsificantes.

Conforme LISSANT (1974), os emulsificantes podem ser classificados de acordo com o seu comportamento iônico (aniônico e catiônico), noniônico e anfótero. O tipo iônico, o mais comum, é composto de um grupo lipofílico e um grupo hidrofílico, podendo ser divididos em unidades catiônicas e aniônicas dependendo da natureza do grupo

TABELA 2 - Valores de BHL de alguns Emulsificantes.

| Nome Químico | Valor de BHL |
|--|--------------|
| Glicerol monoleato | 2,8 |
| Propileno glicol monoestearato | 3,4 |
| Glicerol monoestearato | 3,8 |
| Lecitina | 4,2 |
| Sorbitol monoestearato | 4,7 |
| Polióxetileno 20 Sorbitol triestearato | 10,5 |
| Polióxetileno glicol 400 monoleato | 11,4 |

Fonte: WEISS, 1980.

iônico ativo. A porção lipofílica da molécula é considerada usualmente como a porção superficial ativa.

No caso de emulsificantes do tipo lecitina, o grupo lipofílico é normalmente composto pelos ácidos graxos, sendo a lecitina considerada o principal agente ativo de superfície da natureza (SANTOS & ZANETTI, 1981).

Segundo CASTELLAN (1972) a adição de um agente superficial ativo ou qualquer molécula com uma hidrocarbonada longa, aos sistemas separados de água e óleo, baixa pronunciadamente as tensões superficiais. Dessa maneira a energia livre necessária para a formação da emulsão torna-se mais baixa, sendo esses aditivos chamados

de emulsificantes. A tensão interfacial é reduzida pela adsorção dos agentes ativos na interface com a extremidade polar na água, e a cadeia hidrocarbonada no óleo. A emulsão tem uma energia livre grande em comparação com as duas fases separadas.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. MATÉRIA-PRIMA

A identificação e a origem das farinhas de soja usadas neste trabalho são as seguintes: farinha 1 - Mogiana Alimentos SA, Campinas-SP; Farinha 2 - Moinho da Lapa SA, São Paulo-SF; farinha 3 - Gessy Lever Alimentos SA, São Paulo-SP; farinha 4 - Minasa TVP Alimentos e Proteínas SA, Campinas-SP. Segundo informações da indústria o procedimento para obtenção das farinhas foi praticamente o mesmo que é mostrado esquematicamente na Figura 2, sendo semelhante com ao relatado por SMITH & CIRCLE, (1978).

3.2. CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS DE FARINHA

Procedeu-se a caracterização das farinhas retirando-se três amostras de cada farinha (triplicatas) para fazer as determinações seguintes:

3.2.1. DETERMINAÇÃO DE UMIDADE

Determinou-se a umidade em estufa a 105°C, segundo método A.O.A.C. (1970), que corresponde à secagem das farinhas até atingir peso constante.

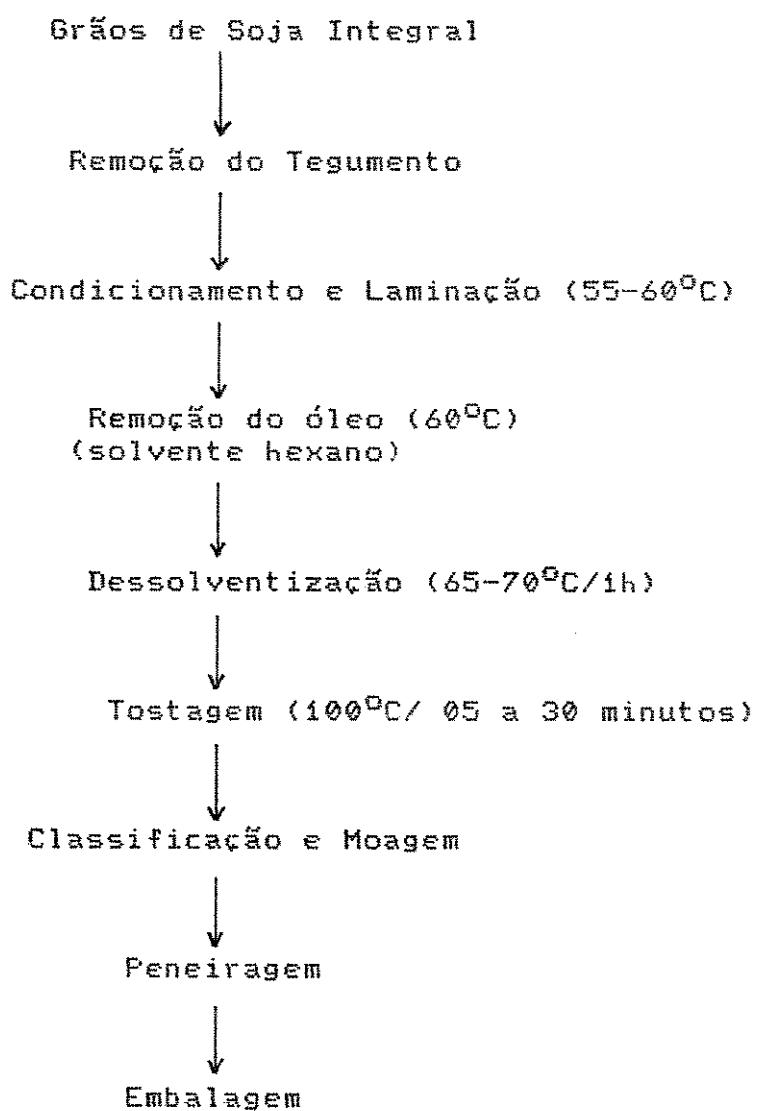


FIGURA 2 - Diagrama de Obtenção da Farinha de Soja Desengordurada.

3.2.2. DETERMINAÇÃO DE PROTEÍNAS

As análise do teor de proteínas foram feitas pelo método semi-micro Kjeldahl, A.O.A.C. (1970) recolhendo a amônia liberada em ácido bórico 4%. O fator de conversão nitrogênio/proteína usado foi 6,25.

3.2.3. DETERMINAÇÃO DE CINZAS

As cinzas foram determinadas segundo o método A.O.A.C. (1970), fundamentando-se na queima da amostra em mufle a 550 - 600°C.

3.2.4. DETERMINAÇÃO DE FIBRAS

Usou-se o método A.O.A.C. (1970).

3.2.5. DETERMINAÇÃO DE LIPÍDIOS TOTAIS

O teor de lipídios totais foi determinado usando-se o método de BLIGH & DYER (1959).

3.2.6. GRANULOMETRIA

As amostras de farinhas foram classificadas em agitador marca GRANUTEST, usando-se as peneiras de abertura (mm) 0,088; 0,105; 0,125; 0,149; 0,177 e 0,210 agitando-se durante 10 minutos.

3.2.7. INDICE DE NITROGÊNIO SOLÚVEL (INS)

Para determinação do INS foi usado o método A.O.C.S. Ba II - 65 revisado em 1969, citado por SMITH & CIRCLE (1978).

3.2.8. INDICE DE PROTEÍNA DISPERSÍVEL (IPD)

O método usado foi o do A.O.C.S. Ba 10 - 65 revisado em 1969, citado por SMITH & CIRCLE (1978), usando-se o fator de conversão 6,25.

3.2.9. TEOR DE N-HEXANAL PRESENTE NA FARINHA

Determinou-se o teor n-hexanal pelo método do "Head-space", segundo CABRAL (1979).

3.2.10. MEDIDA DA ATIVIDADE DA UREASE RESIDUAL (E.C.

3.5.1.3)

Determinou-se a atividade da urease como um índice de inativação da lipoxygenase e fatores antinutricionais, usando-se o método A.O.C.S. Ba 9-58 citado por SMITH & CIRCLE (1978).

3.2.ii. MEDIDA DA ATIVIDADE DE ISOENZIMAS LIPOXIGENASES

As amostras de farinhas foram analisadas para verificar a presença de isoenzimas lipoxigenases, segundo método de HILDEBRAND & HYMOWITZ (1981).

A atividades das isoenzimas L1, L2 e L3 foram determinados espectrofotometricamente segundo método proposto por AXELROD et alii (1981) e adaptado por BARROS et alii (1984).

Todas as determinações foram feitas à temperatura de 25°C, em um espectrofotômetro PERKIN-ELMER modelo 552A. As determinações das concentrações de proteínas foram feitas de acordo com o método proposto por BRADFORD (1976), usando-se como padrão a albumina sérica bovina.

3.3. PREPARAÇÃO DO EHSS DE FARINHA

Os preparos dos EHSS foram realizados usando-se a farinha nº 4 baseando-se nos resultados preliminares das análises de: teor de proteínas, granulometria, INS e IPD, das 4 farinhas de soja e considerando-se as normas para elaboração do EHSS (PENNONE, 1989) para os estudos de otimização das extrações.

Verifica-se nos resultados e discussão, que a farinha nº 4 foi a que apresentou os melhores resultados em relação às demais nas análises acima citadas.

3.3.1. PROPORÇÃO ÁGUA:FARINHA

As amostras de EHSS foram preparadas inicialmente usando-se apenas farinha (500 g) e água, variando-se a proporção de ambas de 1:8; 1:10; 1:12; 1:14; 1:16 e 1:18, respectivamente.

A água e a farinha foram misturadas e aquecidas até a temperatura de 65°C, passando a seguir no homogeneizador Mantin Gaulin (capacidade de 500 L/hora) usando-se a pressão do 1º estágio de 112.500 Kgf/cm² e a do 2º estágio de 35.155 Kgf/cm².

Centrifugaram-se as amostras em centrífuga refrigerada Sorvall RC-5B (Du Pont Instruments) a 15°C, rotor GSA 921 g por 10 minutos.

Procedeu-se o tratamento térmico das mesmas, aquecendo-as à temperatura de 85°C, em banho-maria, durante 10 minutos, e posterior resfriamento para 15°C.

Os extratos obtidos após a centrifugação foram pesados para verificar o grau de extração de sólidos totais, de lipídios e proteínas.

O método usado para analisar o teor de lipídios foi o mesmo descrito em 3.2.5., apenas mudando-se a quantidade de amostra para 8 mL de EHSS.

Para analisar o teor de proteínas do EHSS, usou-se o mesmo método descrito em 3.2.2., tendo sido usado 5,0 mL de amostra.

3.3.2. PROPORÇÃO ÁGUA:FARINHA:ÓLEO

As amostras de EHSS foram preparadas conforme descrito no ítem 3.3.1., acrescentando-se óleo de milho da marca Mazola e variando-se suas quantidades de 0 a 50% em relação à quantidade de farinha. Em seguida determinaram-se os teores de lipídios e proteínas conforme métodos já descritos anteriormente.

O processo de extração foi realizado com 4 repetições. Os dados foram analisados como se fosse em esquema fatorial no delineamento inteiramente casualizado em que os fatores foram: proporção farinha:água em 6 níveis (1:8, 1:10, 1:12, 1:14, 1:16, 1:18), proporção de óleo de milho em 6 níveis (0, 10, 20, 30, 40 e 50% em relação ao peso da farinha). Os dados experimentais foram submetidos à análise de regressão.

3.4. EMULSIFICACÃO DA MISTURA DE ÓLEO:ÁGUA:FARINHA

Considerando-se os resultados dos teores de lipídios e proteínas das misturas de farinha, água e óleo de milho, fixou-se a proporção de farinha e água em 1:10, 1:12, 1:14 e as porcentagens de óleo em 20% e 30% para se preparar as amostras usando-se emulsificantes dispostos no QUADRO 2.

QUADRO 2 - Emulsificantes utilizados no preparo do EHSS-F/G e seus respectivos valores de BHL (balanço hidrofílico-lipofílico)

| Nome Químico | Valor de BHL |
|--|--------------|
| Lecitina Natural | 4,2 |
| Monoestearato de glicerina destilado | 3,8 |
| Monoestearato de glicerina destilado hidratado | 3,8 |
| Lisolecitina | 4,2 |

Fonte: WEISS, 1980.

3.4.1. PREPARO DO EMULSIFICANTE

Pesaram-se 4,0 g do emulsificante. Colocou-se em béquer de 50 mL. Adicionaram-se 40 mL de óleo de milho. Levou-se ao banho-maria a 80°C para dissolver melhor, conforme mencionado por CASTELLAN (1972).

3.4.2. PREPARO DAS AMOSTRAS DE EHSS-F/G (EXTRATO HIDROSSOLÚVEL DE SOJA A PARTIR DE FARINHA E GORDURA EMULSIFICADA)

O processo de extração foi realizado com 4 repetições. Os dados foram analisados como se fossem em

esquema fatorial no delineamento inteiramente casualizado em que os fatores foram: proporção farinha:água em 3 níveis (1:10, 1:12, 1:14); proporção de óleo de milho em 2 níveis (20% e 30% em relação ao peso da farinha) e os emulsificantes em 5 níveis (lecitina, lisolecitina, monoestearato de glicerina destilado, monoestearato de glicerina destilado hidratado e sem emulsificante).

Os dados experimentais foram submetidos à análise de variância, sendo as médias dos tratamentos qualitativos comparadas pelo teste de Newman-Keuls (PERECIN & MALHEIROS, 1989) e as médias dos tratamentos quantitativos pela análise de regressão.

QUADRO 3 - Proporções de água, farinha, e emulsificantes utilizados no preparo dos EHSS-F/G com 20% de óleo de milho.

| Amostra | H ₂ O | Farinha | Proporção | óleo | Emulsificante em óleo |
|---------|------------------|---------|-----------|-------|---------------------------------|
| 1 | 5.000 mL | 500 g | 1:10 | 100 g | 40 mL (4 g de substância ativa) |
| 2 | 6.000 mL | 500 g | 1:12 | 100 g | 40 mL (4 g de substância ativa) |
| 3 | 7.000 mL | 500 g | 1:14 | 100 g | 40 mL (4 g de substância ativa) |

QUADRO 4 - Proporções de água, farinha, e emulsificantes utilizados no preparo dos EHSS-F/G com 30% de óleo de milho.

| Amostra | H ₂ O | Farinha | Proporção | óleo | Emulsificante em óleo |
|---------|------------------|---------|-----------|-------|---------------------------------|
| 1 | 5.000 mL | 500 g | 1:10 | 150 g | 40 mL (4 g de substância ativa) |
| 2 | 6.000 mL | 500 g | 1:12 | 150 g | 40 mL (4 g de substância ativa) |
| 3 | 7.000 mL | 500 g | 1:14 | 150 g | 40 mL (4 g de substância ativa) |

Após a adição de todos os ingredientes, procedeu-se o preparo do EHSS-F/G conforme descrito no item 3.3.1. Em seguida procedeu-se a determinação dos teores de lipídios e de proteínas das amostras dos EHSS-F/G.

3.5. TESTES DE ESTABILIDADE DAS EMULSÕES

Para estes testes os EHSS-F/G foram preparados com uma relação farinha:água de 1:12 (500g:6L), 20% de óleo de milho e 40 mL de emulsificante em óleo, variando-se apenas o tipo de emulsificante. Os testes 3.5.1. e 3.5.2. são recomendados em PINHEIRO et alii (1978). Todos os três testes foram realizados com quatro repetições, procedendo-se a comparação das médias pelo teste t de Student (GOMES, 1976).

3.5.1. ESTABILIDADE DA EMULSÃO DO EHSS-F/G SEM FERVURA

Retirou-se 1.000 mL do EHSS-F/G sem fervura e colocou-se em uma proveta de 1.000 mL, deixando armazenado em geladeira a 5°C durante 48 horas. Decorrido este tempo, retirou-se os primeiros 100 mL da parte superior da proveta (zona 1) e determinou-se o teor de lipídios. Os 900 mL restantes (zona 2) foram misturados usando-se um bastão de vidro e também analisados quanto ao teor de lipídios.

3.5.2. ESTABILIDADE DA EMULSÃO DO EHSS-F/G APÓS A FERVURA

Tomou-se 1.100 mL de amostra de EHSS-F/G após o seu preparo em um bequer de 2.000 mL e submeteu-se à fervura durante aproximadamente 6 minutos, reduzindo-se o volume do extrato para 1.000 mL. Resfriou-se e cobriu-se o bequer com papel alumínio e armazenou-se na geladeira a 5°C, durante 48 horas. Passado esse tempo, retirou-se os primeiros 100 mL da parte superior do bequer (zona 3) e procedeu-se a determinação do teor de lipídios. Os 900 mL restantes no bequer (zona 4) foram misturados com um bastão de vidro e também analisados quanto o teor de lipídios.

3.5.3. ESTABILIDADE DA EMULSÃO DO EHSS-F/G SUBMETIDO À CENTRIFUGAÇÃO À ALTAS FORÇAS CENTRÍFUGAS

Este teste foi realizado usando-se a mesma centrífuga descrita no item 3.4.1., usando-se o rotor SS-34.

Centrifugaram-se os EHSS-F/G com três tipos de forças centrífugas diferentes: a primeira a 7.796 g/10 minutos, a segunda a 11.220 g/10 minutos e a terceira a 17.540 g/10 minutos, todas em centrífuga refrigerada a 15°C. O sobrenadante foi filtrado em papel de filtração rápida, e determinou-se o teor de lipídios do filtrado, para observar se houve separação dos lipídios nos EHSS emulsificados, verificando-se se a emulsão foi mantida.

3.6. MICROSCOPIA DOS GLÓBULOS DE GORDURA

As amostras de EHSS-F/G foram examinadas por microscopia para se verificar o tamanho e o número dos glóbulos de gordura dispersos na fase aquosa.

Foram seguidas as indicações de Trout, 1950, citado por GIGANTE (1991) com algumas adaptações sugeridas por PINHEIRO (1991).

Adicionou-se 1,0 mL de amostra de leite em 99 mL de tampão fosfato 0,001 M (2,0 mL de tampão fosfato 0,1 M, pH 7,2 em 97 mL de água destilada). Agitou-se suavemente e transferiu-se 30 mL da amostra diluída para um bequer de 50 mL, acrescentou-se 0,5 mL de sulfato de azul do Nilo para a coloração prévia dos glóbulos de gordura na

amostra. Retirou-se uma gotícula da amostra colorida e colocou-se sobre uma lâmina escavada, cobrindo-a com uma laminula.

Procedeu-se a contagem e medição dos glóbulos de gordura usando-se microscópio Carl Zeiss, com objetiva de 40x, optovar 1,25 e ocular com escala micrométrica.

Na lâmina foram escolhidos 5 campos diferentes ao acaso, procedendo-se a medição e a contagem dos glóbulos de diferentes tamanhos, considerando-se para o cálculo final, a média da contagem dos 5 campos onde foram observados os glóbulos.

Utilizou-se essa técnica de gota pendente devido ao fato de se estar analisando glóbulos de gordura, que devem ser coloridos para se destacar dentre os outros componentes da amostra quando analisados ao microscópico, e por ser este tipo de componente destruído se fosse feita a técnica de esfregaço.

O diâmetro médio dos glóbulos de gordura foi calculado usando-se a fórmula:

$$\bar{d} = \frac{n \times d}{N}$$

Em que:

\bar{d} = diâmetro médio dos glóbulos de gordura (μm)

n = número de glóbulos de diferentes diâmetros

d = diâmetro dos glóbulos (μm)

N = número total de glóbulos observados.

3.7. ANÁLISE SENSORIAL DOS EHSS-F/G

Nos testes de estabilidade das emulsões foram selecionados os EHSS-F/G preparados com os emulsificantes lecitina e lisolecitina para serem submetidos à análise sensorial e avaliação da sua qualidade.

Foram testadas as duas formulações de EHSS-F/G, uma preparada com o emulsificante lecitina, outra preparada com o emulsificante lisolecitina comparando-se ao EHSS obtido no equipamento "Vaca Mecânica", usando-se o teste de preferência pela técnica de comparação múltipla, conforme MORAES (1988).

Provaram os produtos 92 julgadores não treinados, mas que já tinham bebido leite de soja.

O teste foi realizado entre 8 e 10 horas da manhã, no laboratório de análise sensorial do Departamento de Tecnologia de Alimentos da UFV em cabines separadas e apropriadas para esta finalidade.

Foram servidos aproximadamente 30 mL de amostra de cada produto aos provadores, na forma natural (sem açúcar e sem aromatizantes) e obtidas as respostas dos provadores usando-se uma ficha (questionário) de perguntas préviamente elaboradas e colocada nas cabines juntamente com as amostras dos produtos antes dos provadores se aproximarem para o teste.

Após terem provado os produtos devidamente codificados comparando-os com o produto obtido do equipamento "Vaca Mecânica" com o código R, os 92 julgadores

expressaram o seu julgamento marcando com X uma das respostas:

Preferência maior que R ___

Preferência igual à R ___

Preferência menor que R ___

De acordo com a resposta acima, eles deveriam graduá-la numa escala de preferência marcando também com X uma das respostas.

Escala de Intensidade de Preferência:

Nenhuma ____

Pequena ____

Moderada ____

Grande ____

Extrema ____

Observações _____

Atribui-se notas de 0 a 4 à escala de preferência positiva (mais que R) e -1 a -4 à preferência negativa (menos que R).

Os dados da análise sensorial foram tabulados e submetidos à análise de variância segundo o delineamento inteiramente casualizado (GOMES, 1976).

3.8. AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DO EHSS-F/G

As determinações seguintes usadas para avaliar a qualidade do EHSS-F/G foram realizadas em triplicatas, seguidas do cálculo do desvio padrão das médias.

3.8.1. DETERMINAÇÃO DO ÍNDICE DE TBA

Avaliou-se a oxidação dos lipídios nas amostras de EHSS-F/G após o processamento usando-se o índice de TBA (ácido tio barbitúrico), conforme descrito por RAMOS (1990).

O número de TBA foi calculado por meio da conversão das leituras de absorbância a 538 nm em espectofotômetro (PERKIN ELMER 522A) em miligrama de malonaldeído por 1000 g da amostra. Determinou-se uma curva padrão obtida por destilação e reação igual às amostras. A solução-padrão estoque foi de 1×10^{-3} M de TMP (1, 1, 3 - tetrametoxipropano), e as soluções do trabalho foram preparadas desde $0,25 \times 10^{-6}$ M a $4,00 \times 10^{-6}$ M. A porcentagem de recuperação do malonaldeído nos padrões destilados foi de 90%, sendo considerado nos cálculos das amostras.

3.8.2. MEDIDA DA ATIVIDADE DE UREASE NOS EHSS-F/G

Utilizou-se a medição da atividade ureásica (item 3.2.10) para verificar se a eliminação dos fatores antinutricionais nas amostras de EHSS-F/G tinha sido completada.

3.8.3. PRESENÇA DE FATOR ANTITRÍPTICO

À determinação da atividade do fator

antitriptico foi realizada segundo KAKADE et alii (1978) onde se usou caseína e leitura espectrofotométrica dos aminoácidos hidrolizados em função da concentração de tripsina usada.

3.8.4. TEOR DE n-HEXANAL

Foi determinado o teor de n-hexanal nas amostras de EHSS-F/G conforme descrito em 3.2.9., a fim de se verificar se houve oxidação dos lipídios nos produtos elaborados.

3.8.5. ANÁLISE MICROBIOLÓGICA

As determinações microbiológicas foram executadas segundo a "American Public Health Association" (APHA), e editado por SPECK (1976).

As amostras foram analisadas quanto à presença e número de:

- Contagem total de bactérias mesófilas
- Coliformes
- Escherichia coli
- Leveduras e fungos
- Bacillus cereus
- Organismos anaeróbicos sulfito redutores (Clostridium)
- Salmonelas
- Estafilococos coagulase Positivo.

3.9. DETERMINAÇÃO DE AMINOÁCIDOS

A composição em aminoácidos dos EHSS e EHSS-F/G foram determinadas por cromatografia de troca iônica segundo MOORE & STEIN (1951) e SPACKAMAN et alii (1958). O teor de triptofano foi determinado conforme método colorimétrico citado por OPIÉNSKA-BLAUTH et alii (1963).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DAS AMOSTRAS DE FARINHA DE SOJA DESENGORDURADA

No QUADRO 5, apresenta-se a composição centesimal das farinhas de soja desengordurada, utilizadas no trabalho.

QUADRO 5 - Composição química centesimal das farinhas de soja desengordurada utilizadas.

| Componentes | Farinha 1 | Farinha 2 | Farinha 3 | Farinha 4 |
|----------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| Umidade | 9,43 | 9,03 | 9,25 | 9,80 |
| Lipídios* | 1,49 | 1,78 | 1,58 | 1,50 |
| Fibra* | 2,09 | 2,37 | 2,23 | 2,35 |
| Cinzas* | 6,14 | 6,44 | 6,35 | 6,48 |
| Carboidratos** | 24,51 | 24,99 | 26,14 | 26,33 |
| Proteínas* | 56,34 | 55,39 | 54,45 | 54,54 |

* - análise feita na matéria seca e média de 4 repetições.

** - diferença para 100%.

4.1.1. UMIDADE

De acordo com dados citados por SMITH & CIRCLE (1978), o teor de umidade em média é de 7,0%. Para SHELEF & MORTON (1976), este teor já seria em torno de 8,0%. Para a Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos (CNNPA, 1978) este teor seria no máximo 9,0%. Nas amostras analisadas os teores encontrados foram acima (QUADRO 5) destes valores, talvez pelo fato de que já estivessem há algum tempo estocadas após terem saído da indústria, podendo ter adquirido umidade durante o período de estocagem.

4.1.2. LIPÍDIOS

De acordo com dados de SMITH & CIRCLE (1978) o teor de lipídios totais para farinha de soja desengordurada é em torno de 0,9%. Para SHELEF & MORTON (1976), este teor pode variar até o limite máximo de 2,2%.

CRUZ (1982), encontrou 1,65% para farinha de soja desengordurada. TEIXEIRAS et alii (1980), encontraram um mínimo de 1,5% e o máximo de 2,0%. Portanto os dados encontrados nesse trabalho estão dentro dos citados pela literatura consultada e dentro dos padrões máximos da CNNPA (1978) que recomenda o máximo de 2,0%, considerando-se que o método aqui utilizado, de BLIGH & DYER (1959), extrai todas as classes de lipídios dando valores ligeiramente maiores que outros métodos.

4.1.3. FIBRAS

Segundo a CNNPA (1978) o teor de fibra máxima para farinha de soja desengordurada é de 4,0%. De acordo com dados de SMITH & CIRCLE (1978) este teor é de 2,6%.

Os resultados encontrados no presente experimento estão devidamente dentro do proposto pela literatura citada, e demonstraram que a soja usada foi adequadamente descascada.

4.1.4. PROTEÍNAS

No experimento conduzido por IDROGO (1984), o teor médio encontrado para proteína, com base na matéria seca e média de duas repetições, foi de 56,7%. Segundo a CNNPA (1978) o mínimo considerado é de 50%. Dados de SMITH & CIRCLE (1978) relatam que este teor é de 59,0%. Entretanto, de acordo com dados de SHELEF & MORTON (1976) este teor é de 54,3%, sendo todos os dados aqui citados com base na matéria seca. No trabalho de ARAÚJO (1984) o teor encontrado foi de 52,0% (base seca).

Os dados encontrados nesse experimento e apresentados no QUADRO 5, são de 56,34, 55,39, 54,45 e 54,54%, sendo teores que estão devidamente de acordo com os autores citados. PICCOLO (1980) em seu trabalho analisou diversas variedades indicadas para fabricação do leite de soja produzido pelas normas tradicionais e concluiu que há diferenças entre os teores de proteína nas diferentes

variedades. Esta pode ser a razão para a diferença encontrada nos teores de proteína nas farinhas aqui analisadas, uma vez que o processamento das mesmas foi semelhante em todas as etapas, e os nomes das variedades de soja utilizadas não foram fornecidos pelas indústrias.

4.1.5. CINZAS

Para SMITH & CIRCLE (1978), este teor é em média de 6,4%. SHELEF & MORTON (1976) cita que este teor médio é de 7,1%. TEIXEIRA et alii (1980) encontraram os teores de 5,3% para a farinha de soja desengordurada e 5,9% para o farelo de soja desengordurado. A CNNFA (1978) considera um teor máximo de 5% de cinzas para farinha de soja desengordurada.

Os valores encontrados nessa pesquisa estão dentro dos limites citados.

4.1.6. CARBOIDRATOS

Os teores de carboidratos das amostras foi obtido por diferença percentual em relação aos demais componentes.

Vários trabalhos onde se usaram farinha de soja determinaram o teor de carboidratos por diferença (IDROGO, 1984; PICCOLO, 1980; STEIN, 1980).

No trabalho de IDROGO (1984) o teor encontrado foi de 26,8%, enquanto que TEIXEIRA et alii

(1980) mencionam um teor máximo de 30,7%.

De acordo com SHELEF & MORTON (1976), o teor de carboidratos é de 36,4%, enquanto que por diferença nos dados citados na tabela de SMITH & CIRCLE (1978) o teor de carboidratos para farinha de soja desengordurada é de 24,1%. Esses dados são para carboidratos totais (solúveis e insolúveis).

Segundo Kawamura, citado por LAM-SANCHEZ (1978), a composição química da soja calculada sobre a matéria seca apresenta-se com 40,3% de proteínas, 21% de lipídios, 4,9% de cinzas e 33,9% de carboidratos. Os constituintes dos carboidratos da soja consistem em 4,0% de celulose, 15% de hemicelulose, 3,8% de estaquiose, 1% de rafinose, 5% de sacarose e 5,1% de outros açúcares.

O trabalho de HUHN (1977) cita que Coppock, 1974 encontrou que a soja integral contém 30% de hidratos de carbono não amiláceos, incluindo os oligossacarídos estaquiose (3,8%), rafinose (1,1%) e sacarose.

BOURNE (1971) e WOLF (1972), informam que a soja não contém amido em sua composição.

De acordo com HYMOWITZ et alii (1972), embora a soja contenha principalmente proteínas e lipídios, contém ainda uma quantidade apreciável de carboidratos como: estaquiose 2,6%; rafinose 0,8% e sacarose 5,9%.

Dados citados por SMITH & CIRCLE (1978) mostram que a farinha de soja desengordurada contém aproximadamente 11,6% de açúcares solúveis totais, embora em uma variedade japonesa tenha sido encontrado 13,6%. Esses

autores citam ainda que Kawamura, 1967, encontrou em 6 variedades de soja americanas os açúcares sacarose, rafinose, verbascose, arabinose e glicose, e em 3 variedades japonesas encontraram os mesmos açúcares, destacando-se nas variedades dos dois países os açúcares sacarose, rafinose e estaquiose em maiores quantidades (4,5 e 5,7; 1,1 e 1,1%, 3,7 e 4,1% respectivamente).

4.2. GRANULOMETRIA

No QUADRO 6 encontram-se classificadas as amostras de farinhas usando-se as peneiras cujos números se encontram relacionados. Pelos dados encontrados observa-se que a farinha 2 é a mais grossa e a farinha 3 a mais fina. Percebe-se também que nas farinhas 1, 3 e 4 o material menor que 0,088 mm perfaz em torno de 60% e o material maior que 0,21 mm perfaz menos que 5% do total. Portanto a amostra 2 não representa a granulação típica.

4.3. ÍNDICE DE NITROGÊNIO SOLÚVEL (INS)

No QUADRO 7 apresenta-se os resultados das análises do índice de nitrogênio solúvel (INS).

Conforme Mustackas e Sohns, 1979, citados por SMITH & CIRCLE (1978) o calor leve inativa praticamente todos os componentes biologicamente ativos mas conserva uma parte substancial da solubilidade de proteínas em água

QUADRO 6 - Classificação das amostras de farinha de soja
desengordurada pela granulometria.

| Granulometria* | | Farinha 1 | | Farinha 2 | | Farinha 3 | | Farinha 4 | |
|------------------|-------|-----------|--------|-----------|--------|-----------|--------|-----------|--------|
| Abertura (mm) | | % | % | % | % | % | % | % | % |
| 0,088 | Fundo | 218,10 | 58,21 | 95,80 | 27,35 | 155,60 | 62,17 | 332,0 | 60,65 |
| 0,088 | 170 | 65,70 | 17,53 | 10,80 | 3,07 | 23,60 | 9,43 | 56,2 | 10,27 |
| 0,105 | 140 | 67,70 | 18,07 | 22,90 | 6,50 | 40,70 | 16,26 | 18,28 | 3,34 |
| 0,125 | 120 | 13,66 | 3,65 | 16,70 | 4,64 | 13,50 | 5,39 | 8,43 | 1,53 |
| 0,149 | 100 | 5,31 | 1,40 | 30,00 | 8,52 | 14,40 | 5,75 | 95,90 | 17,52 |
| 0,177 | 80 | 1,37 | 0,36 | 34,00 | 9,60 | 0,60 | 0,24 | 3,80 | 0,69 |
| 0,210 | 70 | 1,23 | 0,34 | 140,20 | 39,85 | 0,50 | 0,20 | 26,80 | 4,90 |
| Perdas | | 1,60 | 0,44 | 1,80 | 0,51 | 1,40 | 0,56 | 6,00 | 1,10 |
| Total | | 374,67 | 100,00 | 352,20 | 100,00 | 250,30 | 100,00 | 547,40 | 100,00 |

* Média de triplicatas

QUADRO 7 - Índice de nitrogênio solúvel (INS) determinado nas amostras de farinha de soja desengordurada.

| Farinha de soja | INS (%) * | Desvio Padrão |
|-----------------|-----------|---------------|
| 1 | 30,48 | 0,03 |
| 2 | 28,72 | 0,02 |
| 3 | 38,18 | 0,02 |
| 4 | 46,12 | 0,02 |

* Média de triplicatas.

1, 2, 3 e 4 - Farinhas de diferentes indústrias de óleo de soja

IPD (índice de Proteína Dipersível). O calor úmido aplicado na farinha ainda na forma laminada regula decisivamente a solubilidade das proteínas que podem ter INS que variam de 10 a 90. Geralmente as farinhas de cor clara tem IPD entre 85-90 e INS entre 40-60.

De acordo com Mustakas et alii, 1962, citados por SMITH & CIRCLE (1978), no processamento comercial da farinha de soja desengordurada ela é dessolventizada pelo processo normal, tratada pelo calor úmido como o requerido pelo INS, seca e moída, visando a um mínimo de desnaturação de proteínas (máximo INS), sendo recomendado que o solvente seja removido dos flocos à vácuo.

Segundo os mesmos autores, quando os flocos de soja são dessolventizados com vapor à baixa temperatura o solvente é removido rapidamente retendo essencialmente a atividade das enzimas e dos inibidores de tripsina e hemaglutininas bem como alta dispersibilidade de proteína na água. O ideal seria portanto o tratamento térmico leve, que inative principalmente todos os componentes biologicamente ativos mas retenha uma grande parte da dispersibilidade das proteínas.

Pelos resultados da % de INS obtidos neste experimento observa-se que as amostras devem ter tido tratamento térmico moderado que permite considerá-las como farinhas claras. A farinha nº 2 (a mais grossa) apresenta o valor mais baixo de INS e a nº 4 o valor mais alto.

4.4. ÍNDICE DE PROTEÍNA DISPERSÍVEL (IPD)

No QUADRO 8 encontram-se os índices de proteína dispersível (IPD) das 4 amostras de farinha de soja desengordurada.

Na TABELA 3 é mostrada a relação entre intensidade do tratamento térmico da farinha de soja desengordurada e os respectivos valores do índice de proteína dispersível (IPD) (COSTA, 1981) a fim de interpretar os resultados do QUADRO 5.

As quatro farinhas mostraram valores de IPD próximos destacando-se a farinha nº 4.

QUADRO 8 - Índice de proteína dispersível (IPD) determinado nas amostras de farinha de soja desengordurada.

| Farinha de soja | IPD (%) * | Desvio Padrão |
|-----------------|-----------|---------------|
| 1 | 74,28 | 0,02 |
| 2 | 71,62 | 0,02 |
| 3 | 79,53 | 0,01 |
| 4 | 82,35 | 0,02 |

* média de triplicatas.

1, 2, 3 e 4 - Farinhas de diferentes indústrias de óleo de soja

TABELA 3 - Tipos comerciais de farinha de soja desengordurada e seus respectivos índices de proteína dispersível (IPD).

| Tipo de Farinha | Índice de Proteína Dispersível (IPD) (%) |
|----------------------|--|
| Sem aquecimento | 90 - 95 |
| Aquecimento ligeiro | 70 - 80 |
| Aquecimento moderado | 35 - 45 |
| Tostada | 8 - 20 |

Fonte: COSTA, 1981.

O fato de o método envolver homogeneização elimina a influência da granulometria de modo que a farinha nº 2 efetivamente é a pior.

Conforme PENNONE (1989), a matéria prima destinada à fabricação de leite de soja deverá ter seu IPD superior a 80%, neste caso somente a farinha nº 4 atende à essa norma, com o IPD de 82,35%.

O método para determinação do INS é de agitação mais lenta e o de determinação do IPD é de agitação mais rápida, sendo que o de agitação lenta resulta em valores mais baixos em relação ao de agitação rápida. Embora os dois deem resultados diferentes para o mesmo material, existem algumas controvérsias sobre qual deles é o melhor. Todavia eles são amplamente usados na indústria e em algumas especificações de produtos (SMITH & CIRCLE, 1978). Observa-se que nas quatro farinhas se verifica esses resultados, entretanto a farinha nº 4 foi também a que apresentou o maior INS (46,12%).

4.5. TEOR DE n-HEXANAL

No QUADRO 9, encontram-se os teores de n-hexanal encontrados nas quatro amostras de farinhas analisadas.

QUADRO 9 - Teores de n-hexanal obtidos nas amostras de farinha de soja desengordurada.

| Farinha de soja | Teor de n-Hexanal (mg/kg)* | Desvio Padrão |
|-----------------|-------------------------------|---------------|
| 1 | 32,38 | 0,02 |
| 2 | 28,00 | 0,02 |
| 3 | 25,50 | 0,01 |
| 4 | 25,30 | 0,02 |

* media de triplicatas.

1, 2, 3 e 4 - Farinhas de diferentes indústrias de óleo de soja.

VISENTAINER (1986) analisando farinhas de soja integrais e desengorduradas a fim de verificar o teor de n-hexanal, atividade de lipoxigenase e outros ítems, encontrou teores de n-hexanal considerado bastante elevados para a farinha de soja desengordurada dessolventizada, variando de 18,7 à 27,1 mg/Kg. Segundo esse autor, os teores elevados de n-hexanal para as farinhas de soja desengordurada e dessolventizada são justificados pelo fato de que durante o processo de extração do óleo, as isoenzimas lipoxigenases, embora com atividade reduzida, estão em íntimo contato com o substrato dissolvido em hexano. Essa enzimas têm sua atividade acentuada em meio contendo hidrocarboneto. Esse mesmo autor obteve os teores mínimos de

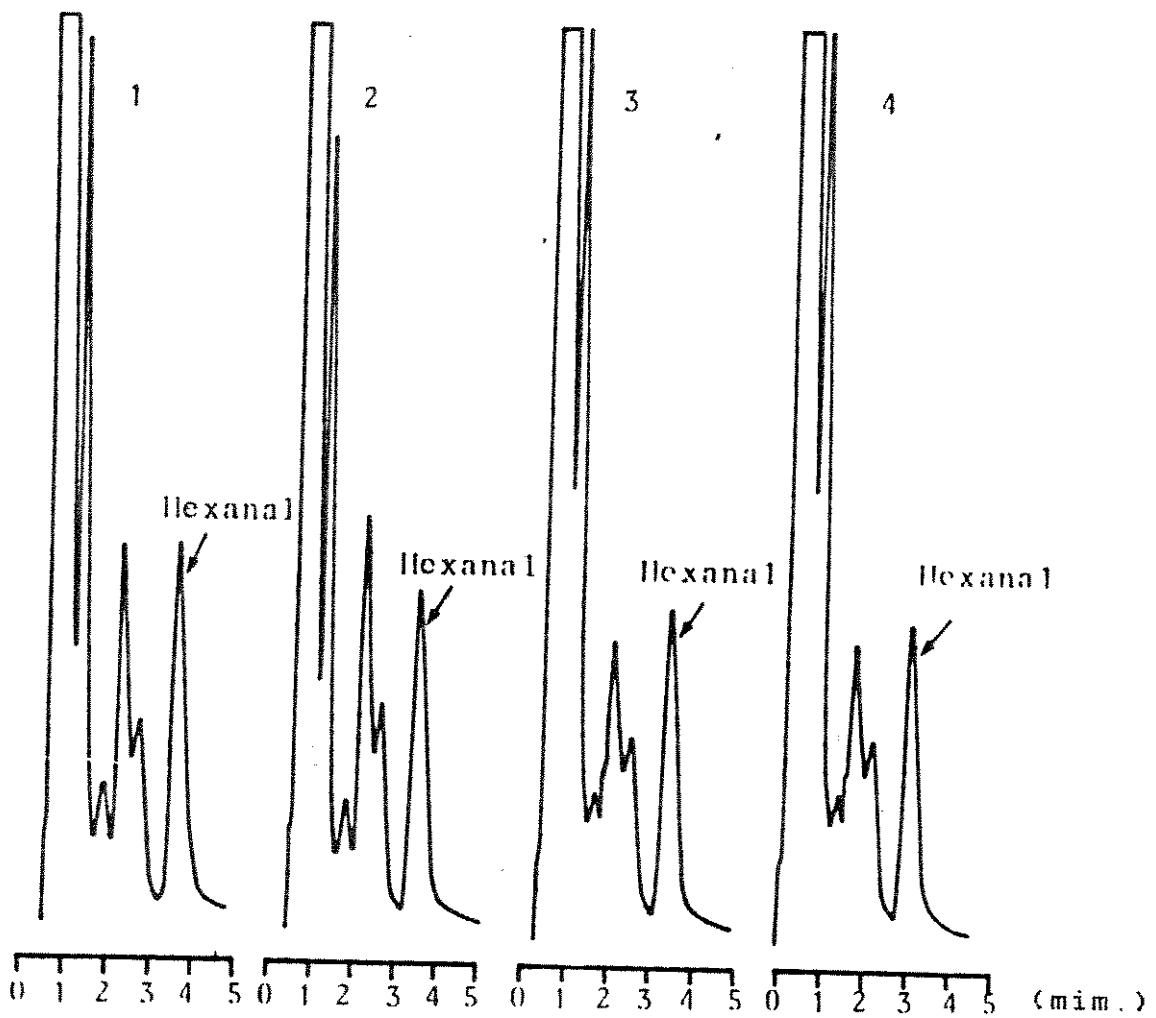


FIGURA 3 - Cromatogramas representativos dos níveis de Hexanal obtidos nas amostras de farinha de soja desengordurada.

n-hexanal nas farinhas de soja torrada integral (1,7 e 4,4 mg/Kg) e na farinha de soja cozida integral (0,4 e 2,3 mg/Kg) sendo que na preparação dos grãos integrais para a produção das farinhas, estes foram submetidos a tratamento térmico no qual as isoenzimas lipoxigenases foram completamente inativadas antes da moagem dos grãos. Já nas farinhas de soja integral (usadas como controle), nas quais os grãos não sofreram nenhum tratamento térmico e nem sofreram nenhuma extração de óleo, os valores de n-hexanal verificados foram 4,0 e 8,2 mg/Kg.

Percebe-se pelos resultados do QUADRO 9 e na FIGURA 3, a qual mostra os picos do n-hexanal, nas 4 amostras de farinha, cujo tempo de retenção é aproximadamente igual a 3 minutos, que os teores de n-hexanal encontrados nas quatro farinhas são relativamente altos e talvez possam ter sido produzidos durante a moagem dos grãos, quando a enzima está em contato com o substrato, (REZENDE, 1986), só sendo desativada posteriormente com o tratamento térmico da dessolventização.

4.6. MEDIDA DA ATIVIDADE DE UREASE NAS FARINHAS

O QUADRO 10 apresenta a medida do índice de atividade ureásica.

Conforme VISENTAINER (1986), a determinação da atividade da urease (E.C. 3.5.1.3.) é uma medida de eficiência do tratamento térmico, pois sua inativação é

correlacionada com a inativação de lipoxigenase, inibidores de tripsina e hemaglutininas. Segundo Caskey-Knapp citado por CROSTON et alii (1955) os valores do índice de urease para que os produtos de soja sejam aceitáveis para alimentação são de 0,02 a 0,25. Valores acima de 0,25 indicam presença de fatores antinutricionais, e menores que 0,02 significam que o produto foi submetido a um superaquecimento e, consequentemente, ocorreu prejuízo nas propriedades funcionais e químicas de suas proteínas.

QUADRO 10 - Medida da atividade de urease nas amostras de farinha de soja desengordurada

| Farinha de Soja | Índice de Urease * | Desvio Padrão |
|-----------------|--------------------|---------------|
| 1 | 2,15 | 0,01 |
| 2 | 2,03 | 0,02 |
| 3 | 2,25 | 0,01 |
| 4 | 2,38 | 0,02 |

* valor expresso de variação de unidade de pH (média de triplicatas).

1, 2, 3 e 4 - Farinhas de diferentes indústrias de óleo de soja.

VISENTAINER (1986), encontrou para vários tipos de farinha de soja, o valor de 2,36 para o índice de urease na farinha de soja desengordurada e dessolventizada, enquanto que para a farinha de soja desengordurada tostada o índice de urease foi de 0,08, e concluiu que a farinha que apresentou índice de urease 2,38 não era adequada ao consumo humano sem antes sofrer um tratamento térmico no mínimo 80°C por 10 minutos.

Observa-se que as quatro marcas de farinhas de soja desengordurada apresentaram índices de urease relativamente elevados sendo a nº 4 a que teve os maiores índices de urease (QUADRO 10), de INS e IPD, o que significa que ela sofreu um tratamento térmico menor. Os valores de urease elevados poderão refletir-se em problemas com o sabor e odor no preparo dos extratos. Além do que alertam para um tratamento térmico (pasteurização) do líquido mais demorado para eliminar os fatores antinutricionais.

Mesmo que os valores altos de atividade de urease apresente inconvenientes, o fato de coexistir com valores altos de INS e IPD, permitirá a extração da proteína em maiores quantidades.

4.7. MEDIDA DA ATIVIDADE DE LIPOXIGENASE

Segundo CHRISTOPHER et alii (1972) a isoenzima Li é 36 vezes mais resistente ao calor do que a isoenzima L2, sendo que a Li perde sua atividade à temperaturas aproximadas de 65°C por 1 hora.

A análise de lipoxigenase das quatro farinhas de soja deram resultados negativos portanto não existia mais atividade de lipoxigenase L1, L2 e L3 nestas farinhas.

Devido ao tratamento térmico pelo qual elas passaram durante a etapa de dessolventização (65 - 70°C/1 h) (FIGURA 2), supõe-se que essas enzimas foram inativadas, portanto o teor de n-Hexanal encontrado nas farinhas, foi produzido antes das lipoxigenases serem inativadas.

O acúmulo de n-hexanal (conforme já mencionado anteriormente) se inicia desde a moagem dos grãos até o processo de dessolventização da farinha quando ela é então submetida ao tratamento térmico.

4.8. PREPARO DOS EXTRATOS USANDO FARINHA DE SOJA DESENGORDURADA, ÁGUA E ÓLEO DE MILHO EM DIFERENTES PERCENTAGENS

Os quadros das análise de variância dos dados desses resultados experimentais encontram-se no APÊNDICE A.

No QUADRO 11 apresentam-se os pesos dos extratos líquidos obtidos após o preparo.

Verificou-se nos resultados que à medida que se adicionou os percentuais de óleo de milho houve uma ligeira tendência de aumento do peso do extrato líquido (PEL) principalmente nas proporções mais baixas de água, até o valor de aproximadamente 30% de óleo, ocorrendo a partir daí uma tendência de estabilização no aumento do peso do extrato líquido (QUADRO 11 e FIGURA 4).

QUADRO ii - Médias (Kg) dos pesos líquidos (PEL) e porcentagens em relação ao peso dos EHSS obtidos de farinha de soja desengordurada, água e óleo de milho em proporções variáveis.

| Proporção Farinha:água (PAF) | Porcentagens de óleo de Milho (PO) | | | | | | | | | | | |
|------------------------------------|------------------------------------|----|------|----|------|----|------|----|------|----|------|----|
| | 0% | | 10% | | 20% | | 30% | | 40% | | 50% | |
| | kg | % | kg | % | kg | % | kg | % | kg | % | kg | % |
| 1:8 (500g:4L) | 2,79 | 62 | 2,80 | 62 | 2,80 | 62 | 2,83 | 63 | 2,79 | 62 | 2,78 | 62 |
| 1:10(500g:5L) | 3,74 | 68 | 3,85 | 70 | 3,85 | 70 | 3,96 | 72 | 3,85 | 70 | 3,74 | 68 |
| 1:12(500g:6L) | 4,81 | 74 | 4,94 | 76 | 5,00 | 77 | 5,07 | 78 | 5,08 | 78 | 5,09 | 78 |
| 1:14(500g:7L) | 5,62 | 75 | 5,77 | 77 | 5,77 | 77 | 5,85 | 78 | 5,85 | 78 | 5,87 | 78 |
| 1:16(500g:8L) | 6,71 | 79 | 6,71 | 79 | 6,71 | 79 | 6,88 | 81 | 6,88 | 81 | 6,89 | 81 |
| 1:18(500g:9L) | 7,69 | 81 | 7,69 | 81 | 7,70 | 81 | 7,79 | 82 | 7,79 | 82 | 7,80 | 82 |

$$\hat{P}_{EL} = 1,91712 - 0,0000949409PO^2 - 0,00476201PAF^2 - 0,00762324PO + 0,615386PAF$$

$$R^2 = 97,75\%$$

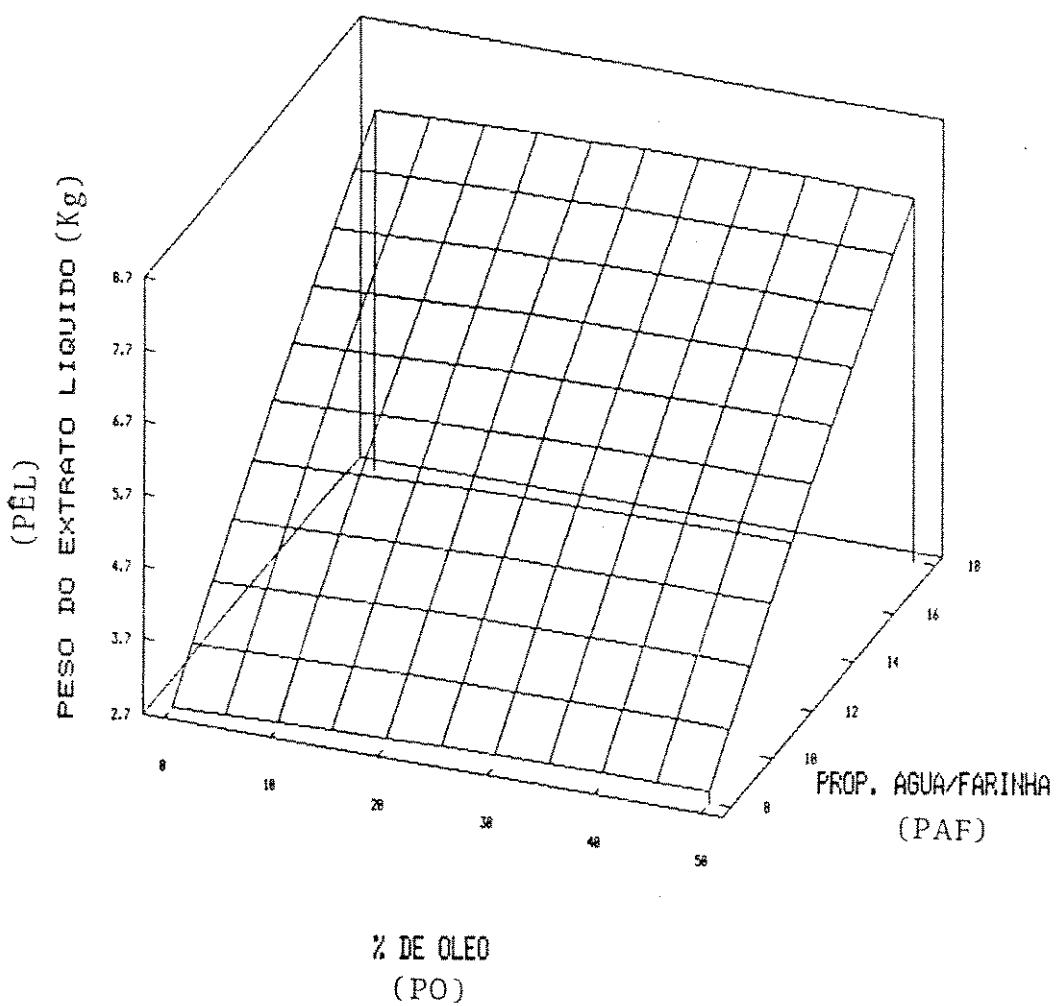


FIGURA 4 - Peso do extrato líquido (\hat{P}_{EL}) em função da porcentagem de óleo (PO) e da proporção farinha:água (PAF) no EHSS preparado com farinha de soja desengordurada, água e óleo de milho.
(Significativo a 1% pelo teste F).

Notar-se também que mesmo a combinação que apresentou a menor quantidade de extrato (62%), teve um grau de extração da fração solúvel maior que o obtido no equipamento "Vaca Mecânica" o qual geralmente não excede 50% (GUZMÁN, 1986).

4.9. TEORES DE PROTEINAS E LIPÍDIOS NOS EXTRATOS PREPARADOS

Nas diferentes preparações de EHSS com farinha, água, e óleo de milho ambos em diferentes proporções obtiveram-se os teores de proteínas e lipídios apresentados nos QUADRO 12 e QUADRO 14 respectivamente.

Verifica-se que o rendimento de extração das proteínas teve um aumento quase linear com o aumento do teor de água até a proporção 1:16 havendo a partir daí uma estabilização nos valores, indicando que a partir deste valor não tem utilidade a extração com mais água (FIGURA 5).

Provavelmente isso se deve à que a solubilidade e capacidade de hidratação das proteínas contidas em 500 g de farinha atingiram os valores máximos. A água adicionada foi suficiente para que toda a proteína solúvel da farinha fosse completamente hidratada e solubilizada.

QUADRO 12 - Teores médios de proteínas (g/100 g) dos EHSS
preparados com 0, 10, 20, 30, 40 e 50% de óleo
de milho e proporção farinha:água 1:8; 1:10;
1:12; 1:14; 1:16 e 1:18.

| Proporção farinha:água (PAF) | Percentagens de óleo de Milho (PO) | | | | | |
|------------------------------------|------------------------------------|------|------|------|------|------|
| | 0 | 10 | 20 | 30 | 40 | 50 |
| 1:8 (500g:4L) | 2,88 | 2,94 | 3,16 | 3,22 | 3,26 | 3,27 |
| 1:10(500g:5L) | 2,72 | 2,85 | 2,98 | 3,06 | 3,07 | 3,09 |
| 1:12(500g:6L) | 2,53 | 2,62 | 2,69 | 2,71 | 2,75 | 2,78 |
| 1:14(500g:7L) | 2,23 | 2,38 | 2,45 | 2,62 | 2,63 | 2,65 |
| 1:16(500g:8L) | 2,04 | 2,26 | 2,32 | 2,46 | 2,47 | 2,48 |
| 1:18(500g:9L) | 1,78 | 1,96 | 2,03 | 2,17 | 2,18 | 2,19 |

$$PR\hat{o}T = 3,79038 + 0,00764048PO - 0,105631PAF$$

$$R^2 = 97,29\%$$

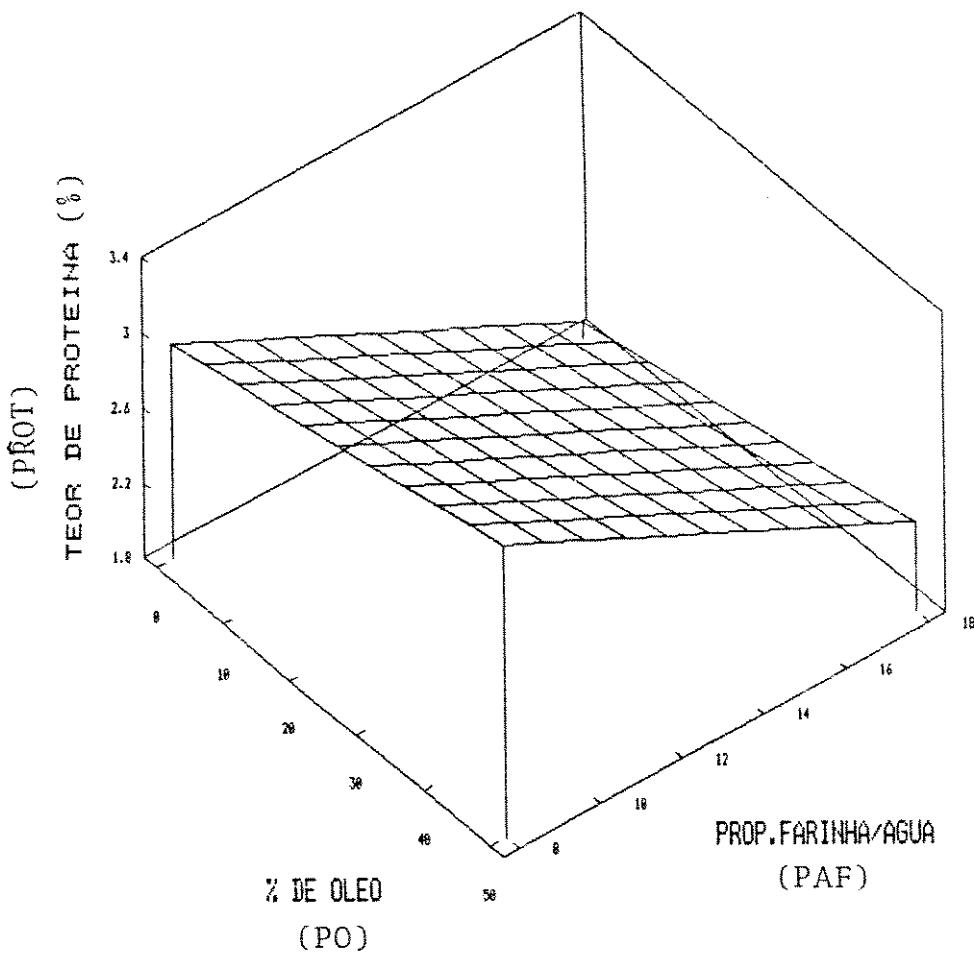


FIGURA 5 - Teor de proteína (PR_OT) em função da porcentagem de óleo (PO) e da proporção farinha: água (PAF) no EHSS preparado com farinha de soja desengordurada, água e óleo de milho.
 (...) Significativo a 1% pelo teste F).

Verifica-se também que a inclusão de óleo aumentou a extração de proteínas em relação à amostra sem óleo. No caso da relação 1:8, os aumentos ficaram em torno de 5, 7, 12, 12 e 12% quando foram adicionados 10, 20, 30, 40 e 50% de óleo de milho, respectivamente (QUADRO 13).

O ponto de saturação do óleo parece estar entre 30 e 40% (150 e 200g de óleo/500g de farinha) o que indica que nesse ponto toda a proteína solúvel está comprometida em micelas, não sobrando proteínas para incorporar mais óleo, mesmo que ele exista em excesso (QUADRO 12).

QUADRO 13 - Rendimento de extração das proteínas (%) nos EHSS em relação à proteína contida na farinha, considerando os pesos (QUADRO 8) e os teores de proteínas dos extratos processados (QUADRO 9).

| Proporção farinha:água (PAF) | Percentagens de óleo de Milho (PO) | | | | | |
|------------------------------------|------------------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | 0 | 10 | 20 | 30 | 40 | 50 |
| 1:8 (500g:4L) | 29,46 | 30,08 | 32,33 | 33,41 | 33,35 | 33,45 |
| 1:10(500g:5L) | 37,30 | 40,23 | 42,07 | 44,43 | 43,34 | 42,37 |
| 1:12(500g:6L) | 44,62 | 47,46 | 49,32 | 50,38 | 51,12 | 51,68 |
| 1:14(500g:7L) | 45,95 | 49,05 | 50,49 | 53,99 | 54,20 | 54,61 |
| 1:16(500g:8L) | 50,19 | 55,60 | 57,08 | 62,06 | 62,31 | 62,56 |
| 1:18(500g:9L) | 50,19 | 55,27 | 57,24 | 61,99 | 62,27 | 62,55 |

Farinha → teor de proteína = 54,54%

QUADRO 14 - Teores médios de lipídios (g/100 g extrato) dos EHSS preparados com 0, 10, 20, 30, 40 e 50% de óleo de milho e proporção farinha:água 1:8; 1:10; 1:12; 1:14; 1:16 e 1:18.

| Proporção Farinha:água (PAF) | Porcentagens de óleo de Milho (PO) | | | | | |
|------------------------------------|------------------------------------|------|------|------|------|------|
| | 0 | 10 | 20 | 30 | 40 | 50 |
| 1:8 | 0,17 | 1,32 | 2,53 | 3,22 | 3,56 | 3,80 |
| 1:10 | 0,11 | 1,00 | 1,96 | 2,61 | 2,88 | 3,65 |
| 1:12 | 0,08 | 0,80 | 1,48 | 2,12 | 2,37 | 2,83 |
| 1:14 | 0,06 | 0,67 | 1,32 | 1,85 | 2,08 | 2,47 |
| 1:16 | 0,04 | 0,58 | 1,13 | 1,56 | 1,82 | 2,10 |
| 1:18 | 0,04 | 5,50 | 1,10 | 1,38 | 1,50 | 1,86 |

QUADRO 15 - Porcentagens de recuperação dos lipídios nos EHSS obtidos com diferentes relações de farinha de soja desengordurada, água e óleo de milho.

| Proporção farinha: água | Porcentagens de óleo de Milho | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-------------------------------|-------------------------------|-----|------|------|------|------|-------|------|------|-------|-------|------|-------|-------|------|-------|-------|------|
| | 4 | | | 10 | | | 20 | | | 30 | | | 40 | | | 50 | | |
| | I | R | b% | I | R | b% | I | R | b% | I | R | b% | I | R | b% | I | R | b% |
| 1:8 | 7,5 | 4,7 | 62,6 | 57,5 | 34,8 | 64,0 | 107,5 | 74,5 | 65,6 | 157,5 | 91,1 | 57,8 | 207,5 | 99,3 | 47,8 | 257,5 | 106,0 | 41,1 |
| 1:10 | 7,5 | 4,1 | 54,6 | 57,5 | 38,5 | 66,9 | 107,5 | 73,5 | 68,4 | 157,5 | 103,3 | 65,6 | 207,5 | 116,8 | 53,4 | 257,5 | 136,5 | 53,6 |
| 1:12 | 7,5 | 3,8 | 51,3 | 57,5 | 39,5 | 68,7 | 107,5 | 74,0 | 68,9 | 157,5 | 107,4 | 68,2 | 207,5 | 120,1 | 57,9 | 257,5 | 143,5 | 55,7 |
| 1:14 | 7,5 | 3,3 | 44,9 | 57,5 | 38,6 | 67,2 | 107,5 | 76,1 | 70,8 | 157,5 | 108,2 | 68,7 | 207,5 | 121,7 | 58,6 | 257,5 | 144,4 | 56,1 |
| 1:16 | 7,5 | 2,6 | 35,7 | 57,5 | 38,9 | 67,6 | 107,5 | 75,8 | 70,5 | 157,5 | 107,3 | 68,1 | 207,5 | 125,2 | 60,3 | 257,5 | 144,4 | 56,1 |
| 1:18 | 7,5 | 3,0 | 41,0 | 57,5 | 38,4 | 66,8 | 107,5 | 74,6 | 69,4 | 157,5 | 107,5 | 68,2 | 207,5 | 116,8 | 56,3 | 257,5 | 144,8 | 56,2 |

I = Lipídios disponíveis (em g) no sistema (óleo de milho + lipídios da farinha).

R = Lipídios recuperados no volume total líquido de EHSS (em g).

$$b = \text{Recuperação} : \frac{\text{Lipídios recuperados}}{\text{Lipídios disponíveis}} \times 100$$

$$\hat{LIP} = 2,05537 - 0,000657968PO^2 + 0,00951678PAF^2 + 0,137852PO - 0,281981PAF - 0,003956604PAF \cdot PO$$

$$R^2 = 97,29\%$$

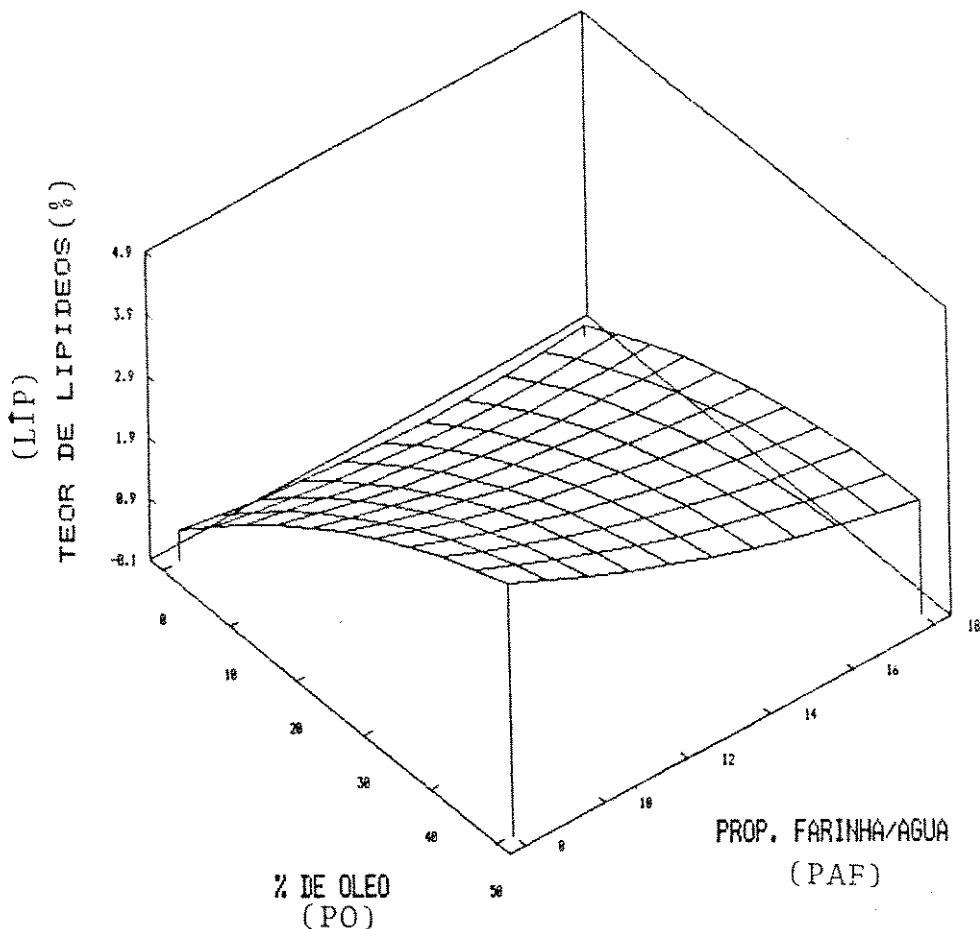


FIGURA 6 - Teor de lipídios (\hat{LIP}), em função da porcentagem de óleo (PO) e da proporção farinha: água (PAF) no EHSS preparado com farinha de soja desengordurada, água e óleo de milho.
 (Significativo a 1% pelo teste F).

Com relação ao teor de lipídios do QUADRO 15
Podem ser tiradas as seguintes conclusões:

- a) Para uma relação fixa farinha:água, o teor de lipídios incorporado em micelas estáveis atingiu um máximo com 20% de óleo de milho (FIGURA 6);
- b) Para uma quantidade fixa de óleo de milho e de farinha de soja, o teor de lipídios incorporado no volume total extraído aumentou com o aumento da proporção de água atingindo o máximo nas amostras com 1:12 e 1:14 atingindo valores máximos entre 55,0 e 68,7% de recuperação, decrescendo os valores nas amostras mais diluídas (1:16 e 1:18). Entretanto a concentração dos lipídios (g/100 g de EHSS) diminuiu com o aumento da proporção de água;
- c) Nas amostras "0" ocorre que com o aumento da proporção de água decresce os valores de recuperação e a concentração dos lipídios (QUADRO 14).

Os resultados do QUADRO 12 de uma maneira geral, ocorrem talvez devido à propriedade emulsificante das proteínas da soja, que com o aumento da proporção de água são quase completamente hidratadas na sua totalidade na farinha contida nas amostras, favorecendo a emulsão com os teores de óleo de milho adicionados até o ponto de saturação das mesmas.

Pelos resultados do QUADRO 12, QUADRO 14 e QUADRO 15 selecionaram-se as proporções farinha:água:1:10 (500g:5L), 1:12 (500g:6L), e 1:14 (500g:7L) com adição de 20% e 30% de óleo para preparação dos extratos com adição de emulsificantes (EHSS-F/G), por apresentarem os teores de lipídios e proteínas próximos dos parâmetros requeridos pelas normas desses produtos (1,0-2,0%, PENNONE, 1989).

Verifica-se pelos resultados obtidos que tanto o teor de proteínas quanto de lipídios foram maiores nas amostras em que se usou emulsificantes em relação ao controle, (QUADROS 16 e 17).

Observa-se no QUADRO 16 que para a mesma proporção de farinha:água e a mesma porcentagem de óleo, o teor de proteína nos EHSS-F/G com lecitina e lisolecitina foram maiores. Quando se variou a proporção de farinha:água, mantendo-se a mesma porcentagem de óleo (20% ou 30%) ambos os emulsificantes tiveram comportamentos semelhantes diminuindo o teor de proteína com o aumento do teor de água nos extratos, não sendo significativa a diferença ocorrida (letras minúsculas índice 0). Quando a porcentagem de óleo foi 30%, houve um ligeiro aumento no teor de proteínas em relação à 20% de óleo para ambos os emulsificantes sendo essa diferença significativa, como mostra as letras minúsculas com índice 1 nas linhas para cada emulsificante (QUADRO 16).

QUADRO 16 - Teores médios de proteínas (%) dos EHSS-F/G*
 Preparados com 20 e 30% de óleo de milho,
 proporção farinha:água 1:10; 1:12; 1:14 e
 emulsificantes.

| EMULSIFICANTE | 20% de óleo | | | 30% de óleo | | |
|--|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|
| | Proporção farinha:água | | | Proporção farinha:água | | |
| | 1:10 | 1:12 | 1:14 | 1:10 | 1:12 | 1:14 |
| Lecitina | 3,64 Aa ₀ a ₁ | 3,20 Ab ₀ a ₁ | 2,81 Ac ₀ a ₁ | 3,70 Aa ₀ b ₁ | 3,34 Ab ₀ b ₁ | 2,97 Ac ₀ b ₁ |
| Monoestearato de glicerina destilado | 3,43 Ba ₀ a ₁ | 3,10 Bb ₀ a ₁ | 2,64 Bc ₀ a ₁ | 3,54 Ba ₀ b ₁ | 3,17 Bb ₀ b ₁ | 2,68 Bc ₀ b ₁ |
| Monoestearato de glicerina destilado hidratado | 3,50 Ca ₀ a ₁ | 3,10 Bb ₀ a ₁ | 2,60 Cc ₀ a ₁ | 3,69 Aa ₀ b ₁ | 3,18 Bb ₀ b ₁ | 2,76 Cc ₀ b ₁ |
| Lisolecitina | 3,80 Da ₀ a ₁ | 3,30 Db ₀ a ₁ | 2,86 Dc ₀ a ₁ | 3,93 Ca ₀ b ₁ | 3,62Cb ₀ b ₁ | 3,11 Dc ₀ b ₁ |
| Sem emulsificante | 2,98 Ea ₀ a ₁ | 2,80 Db ₀ a ₁ | 2,50 Ec ₀ a ₁ | 3,06 Da ₀ b ₁ | 2,91 Db ₀ b ₁ | 2,68 Ec ₀ b ₁ |

* EHSS-F/G - Extrato Hidrossolúvel de soja obtido de Farinha e Gordura Vegetal Emulsificada.

- As médias seguidas da mesma letra maiúscula, nas colunas, não diferem, a 1% de probabilidade pelo teste de Newman-Keuls.
- As médias seguidas da mesma letra minúsculas, índice 0, dentro do mesmo emulsificante e porcentagem de óleo, entre as proporções farinha:água, não diferem, a 1% de probabilidade, pelo teste F (QUADRO 7A)
- As médias seguidas de mesma letra minúscula, índice 1, dentro do mesmo emulsificante e proporção farinha:água, entre as porcentagens de óleo, não diferem a 1% de probabilidade, pelo teste F (QUADRO 8A).

QUADRO 17 - Teores médios de lipídios (%) dos EHSS-F/G*
 Preparados com 20 e 30% de óleo de milho,
 Proporção farinha:água 1:10; 1:12; 1:14 e
 emulsificantes.

| EMULSIFICANTE | 20% de óleo | | | 30% de óleo | | |
|---|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|
| | Proporção farinha:água | | | Proporção farinha:água | | |
| | 1:10 | 1:12 | 1:14 | 1:10 | 1:12 | 1:14 |
| Lecitina | 3,22 Aa ₀ a ₁ | 2,21 Ab ₀ a ₁ | 1,49 Ac ₀ a ₁ | 3,90 Aa ₀ b ₁ | 3,23 Ab ₀ b ₁ | 2,15 Ac ₀ b ₁ |
| Monoestearato de glicerina destilado | 2,69 Ba ₀ a ₁ | 2,14 Bb ₀ a ₁ | 1,46 Bc ₀ a ₁ | 3,85 Ba ₀ b ₁ | 3,13 Bb ₀ b ₁ | 2,13 Bc ₀ b ₁ |
| Monocestearato de glicerina destilado hidratado | 2,56 Ca ₀ a ₁ | 2,17 Cb ₀ a ₁ | 1,48 Ac ₀ a ₁ | 2,74 Ca ₀ b ₁ | 2,36 Cb ₀ b ₁ | 2,10 Ac ₀ b ₁ |
| Lisolecitina | 3,26 Da ₀ a ₁ | 2,35 Db ₀ a ₁ | 1,51 Dc ₀ a ₁ | 3,92 Aa ₀ b ₁ | 3,29 Db ₀ b ₁ | 2,19 Dc ₀ b ₁ |
| Sem emulsificante | 1,96 Ea ₀ a ₁ | 1,48 Eb ₀ a ₁ | 1,32 Ec ₀ a ₁ | 2,61 Da ₀ b ₁ | 2,12 Eb ₀ b ₁ | 1,85 Dc ₀ b ₁ |

* EHSS-F/G - Extrato Hidrossolúvel de soja obtido de Farinha e Gordura Vegetal Emulsificada.

- As médias seguidas da mesma letra maiúscula, nas colunas, não diferem, a 1% de probabilidade pelo teste de Newman-Keuls.
- As médias seguidas da mesma letra minúsculas, índice o, dentro do mesmo emulsificante e porcentagem de óleo, entre as proporções farinha:água, não diferem, a 1% de probabilidade, pelo teste F (QUADRO 10A).
- As médias seguidas de mesma letra minúscula, índice i, dentro do mesmo emulsificante e proporção farinha:água, entre as porcentagens de óleo, não diferem a 1% de probabilidade, pelo teste F (QUADRO 11A).

No QUADRO 18 nota-se que nas amostras com 20% de óleo e relação 1:10 (500g:5L água) os emulsificantes aumentaram o teor de proteínas entre 15,0 e 27% com relação ao controle sem emulsificante, sendo lecitina e lisolecitina ligeiramente mais eficientes que os demais. Na relação 1:12 o aumento do teor de proteínas foi algo menor, variando desde 10,7 a 17,8% sendo os fosfolipídios mais uma vez os emulsificante mais eficiente. Na relação 1:14 o aumento variou entre 4,0 e 14,4%. Quando o teor de óleo foi aumentado para 30%, o teor de proteínas se comportou quase que semelhante ao lote de 20%, indicando que mesmo usando emulsificantes, não haveria vantagens em usar porcentagem de óleo maior que 20% o que já se verificou no QUADRO 16. Em geral, mesmo que lecitina e lisolecitina tenham dado extractibilidades maiores, não houve um efeito muito específico dos emulsificantes quanto à extractibilidade das proteínas.

Quanto aos teores de lipídios nota-se que a variação nos teores está relacionada bem mais com o tipo de emulsificante usado do que com a proporção farinha:água:óleo.

No QUADRO 19 observa-se que para a mesma proporção farinha:água e a mesma porcentagem de óleo (20% ou 30%), ocorreu resultado semelhante ao do teor de proteína, isto é, lecitina e lisolecitina tiveram melhores resultados, o mesmo ocorrendo quando se variou as proporções farinha:água tanto nas porcentagens 20 ou 30% de óleo, os teores de lipídios diminuíram com o aumento do teor de água. Entre-

tanto quanto se observa o teor de lipídio para o mesmo emulsificante, variando-se a porcentagem de óleo de 20 para 30% houve aumento desses teores, sendo significativo como mostra as letras minúsculas, índice 1, nas linhas (QUADRO 17).

Nota-se nos dados dos QUADROS 18 e 19 que todos os extratos contendo emulsificantes mostram teores de lipídios mais elevados que o extrato sem emulsificante. O aumento variou entre 30,6 a 66,3% nas amostras com 20% de óleo e relação 1:10, entre 44,59 e 58,78% para a relação 1:12 e entre 10,6 e 14,40% na relação 1:14 (QUADRO 18).

Observa-se que os EHSS-F/G contendo lecitina e lisolecitina tiveram maior elevação nos teores de lipídios do que os extratos com os outros emulfisicantes. A lisolecitina é o emulsificante mais polar dos 4 testados, visto além da carga (+) da amônia quaternária (colina), tem um grupo OH a mais e um resíduo hidrofóbico (ácido graxo) a menos que a lecitina.

4.10. TESTES DE ESTABILIDADE DA EMULSÃO

4.10.1. ARMAZENAMENTO À 5°C POR 48 HORAS

No QUADRO 20 estão os teores de lipídios dos EHSS-F/G após terem sido submetidos ao teste de estabilidade da emulsão quando estocados à 5°C por 48 horas.

QUADRO 18 - Aumento dos teores de lipídios e proteínas (%) nos extratos contendo 20% de óleo de milho e emulsificantes em relação ao extrato sem emulsificante.

| EMULSIFICANTE | 20% de óleo | | | | | | | |
|--|------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|---|---|
| | Proporção farinha:água | | | | | | | |
| | 1:10 | | 1:12 | | 1:14 | | | |
| | L | P | L | P | L | P | L | P |
| Lecitina | 64,30 | 22,14 | 49,30 | 14,28 | 12,87 | 12,40 | | |
| Monoestearato de glicerina destilado | 37,20 | 15,10 | 44,59 | 10,71 | 10,60 | 5,60 | | |
| Monoestearato de glicerina destilado hidratado | 30,60 | 17,44 | 46,62 | 10,71 | 12,12 | 4,00 | | |
| Lisolecitina | 66,30 | 27,51 | 58,78 | 17,85 | 14,40 | 14,40 | | |

Amostra 1:10 - 500g de farinha:5 litros de água

Amostra 1:12 - 500g de farinha:6 litros de água

Amostra 1:14 - 500g de farinha:7 litros de água

P = Proteína

L = Lipídios

QUADRO 19 - Aumento dos teores de lipídios e proteínas (%) nos extratos contendo 30% de óleo de milho e emulsificantes em relação ao extrato sem emulsificante.

| EMULSIFICANTE | 30% de óleo | | | | | |
|--|------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | Proporção farinha:água | | | | | |
| | 1:10 | | 1:12 | | 1:14 | |
| | L | P | L | P | L | P |
| Lecitina | 49,42 | 20,91 | 52,35 | 14,77 | 16,21 | 10,82 |
| Monoestearato de glicerina destilado | 47,50 | 15,68 | 47,64 | 8,93 | 15,13 | 6,00 |
| Monoestearato de glicerina destilado hidratado | 4,98 | 20,58 | 11,32 | 9,27 | 13,51 | 2,98 |
| Lisolecitina | 50,19 | 28,43 | 55,18 | 24,39 | 18,37 | 16,04 |

Amostra 1:10 - 500g de farinha:5 litros de água

Amostra 1:12 - 500g de farinha:6 litros de água

Amostra 1:14 - 500g de farinha:7 litros de água

P = Proteína

L = Lipídios

QUADRO 20 - Teores médios de lipídios (%) dos EHSS-F/G submetidos ao teste de estabilidade da emulsão após 48 horas a 5°C.

| Emulsificante | Teor de lipídios (%) | |
|--------------------------|---|----------------------------------|
| | Zona 1 (Nos 100 ml da fase superior) | Zona 2 (Nos 900 ml restantes) |
| Lecitina | 2,23 | 2,20 |
| Lisolecitina | 2,41 | 2,33 |
| MEG* destilado | 2,44 | 1,82 |
| MEG* destilado hidratado | 2,54 | 1,81 |
| Sem Emulsificante | 1,91 | 1,10 |

* MEG - Monoestearato de glicerina

A diferença no teor de lipídios das zonas 1 e 2 da proveta após a sedimentação por 48 horas a 5°C no extrato contendo lecitina foi 1,35%; com monoestearato de glicerina destilado 25,40%; monoestearato de glicerina destilado hidratado 28,70%; com lisolecitina 3,30% e no extrato sem emulsificante 42,40%.

A comparação das médias dos teores de lipídios das zonas 1 e 2 para cada produto emulsificado do QUADRO 20, pelo Teste t de Student, revelou

que a diferença é significativa para todos os produtos ($P<0,01$) entre si.

Conforme LISSANT (1974) uma emulsão estável mostra que não há coalescência (separação do creme) durante o período de estocagem sob refrigeração.

PINHEIRO et alii (1978) afirmam que a diferença máxima quanto ao teor de lipídios entre as zonas 1 e 2 do teste de estabilidade deve ser de até 10%, para que a homogeneização possa ser considerada eficiente, assegurando que a dispersão dos glóbulos de gordura nos produtos é homogênea e está estabilizada. Este resultado é considerado conclusivo em produtos emulsificados da indústria de alimentos (PINHEIRO, 1991).

Observa-se que os EHSS-F/6 preparados com MEG destilado, MEG destilado hidratado e sem emulsificante apresentaram diferenças nos teores de lipídios das zonas 1 e 2 bem acima do valor (10%) considerado o máximo aceitável, enquanto que com lecitina e lisolecitina apresentaram valores inferiores a 5%, mostrando que esses dois últimos foram mais eficientes em manter estável a emulsão nos produtos.

4.10.2. FERVURA E ARMAZENAMENTO À 5°C POR 48 HORAS

Os resultados deste teste aparecem no QUADRO 21.

Com relação ao teste da fervura, por

observação visual notou-se que em todos os produtos houve formação de nata de expressura bem fina e mínima e de aparência seca, demonstrando que as proteínas que se desnaturaram e formaram a nata, não arrastaram junto consigo quantidades expressivas de lipídios pois, se assim os fosse a nata seria bem mais espessa e de aparência mais viscosa e o teor de lipídios da fase superior (zona 3 do QUADRO 2i) seria bem maior.

QUADRO 2i - Teores médios (%) de lipídios dos EHSS-F/G submetidos ao teste de estabilidade da emulsão quando fervidos por 5 minutos, resfriados e armazenados a 5°C por 48 horas.

| Emulsificante | Teor de lipídios (%) | |
|----------------------------|--|--|
| | Zona 3 (nos 100 ml da fase superior) | Zona 4 (nos 900 ml da fase restante) |
| Lecitina | 2,22 | 2,21 |
| Lisolecitina | 2,40 | 2,36 |
| MEG* detilado | 2,16 | 2,13 |
| MEG* detilado hidratado | 2,25 | 2,12 |
| Sem emulsificante | 1,63 | 1,41 |

* MEG - Monoestearato de glicerina.

A comparação das médias dos teores de lipídios das zonas 3 e 4 em cada produto emulsificado do QUADRO 21, pelo Teste t de Student, revelou que há diferença significativa para todos os produtos ($P<0,01$) entre si.

A diferença no teor de lipídios das zonas 3 e 4 (QUADRO 21) no extrato contendo lecitina foi 0,46%; com monoestearato de glicerina destilado 1,39%; com monoestearato de glicerina destilado hidratado 5,78%; com lisolecitina 1,67% e no extrato sem emulsificante 13,50%.

Verifica-se nos dados que embora os produtos tenham mostrado diferenças significativas entre si nas zonas 3 e 4 após a fervura, a emulsão permaneceu relativamente estável não havendo separação elevada dos lipídios em nenhum deles, obtendo-se em todos os extratos valores abaixo de 10%. Esse resultado talvez seja pelo fato de que a temperatura (100°C) usada na fervura dos extratos, provocou mudanças na configuração das proteínas (desnaturação) ativando a sua propriedade emulsificante e estabilidade de emulsões.

4.10.3. ESTABILIDADE APÓS CENTRIFUGAÇÃO

No QUADRO 22 encontram-se os teores de lipídios dos EHSS-F/G submetidos ao teste de estabilidade da emulsão quanto à centrifugação.

QUADRO 22 - Teores médios (%) de lipídios dos EHSS-F/G submetidos ao teste de estabilidade da emulsão quando centrifugados à diferentes força centrífuga por 10 minutos.

| Tratamento | Emulsificante | | | | | Sem Emulsificante |
|------------|---------------|-----------|-----------|--------------|------|----------------------|
| | Lecitina | MEG* | MEG* | Lisolecitina | | |
| | destilado | destilado | hidratado | | | |
| 5 | 0,83 | 0,61 | 0,72 | 0,87 | 0,41 | |
| 6 | 0,75 | 0,51 | 0,61 | 0,83 | 0,36 | |
| 7 | 0,51 | 0,46 | 0,50 | 0,66 | 0,30 | |

* MEG - Monoestearato de glicerina

5 - Centrifugação à 7.796 g/10 minutos.

6 - Centrifugação à 11.220 g/10 minutos.

7 - Centrifugação à 17.540 g/10 minutos.

A comparação das médias dos teores de lipídios dos tratamentos 5, 6 e 7 em cada produto emulsificado do QUADRO 22, pelo teste t de Student revelou que há diferença significativa para todos os tratamentos dos produtos entre si ($P<0,01$).

QUADRO 23 - Decréscimo no teor de lipídios (%) dos EHSS-F/G submetidos à centrifugação comparados ao extrato testemunha (sem centrifugação).

| Tratamento | Emulsificante | | | | | Sem Emulsificante |
|------------|---------------|-----------|-----------|--------------|-------|----------------------|
| | Lecitina | MEG* | MEG* | Lisolecitina | | |
| | destilado | destilado | hidratado | | | |
| 5 | 62,44 | 71,50 | 66,83 | 62,98 | 72,30 | |
| 6 | 66,07 | 76,17 | 71,89 | 64,68 | 75,68 | |
| 7 | 76,92 | 78,51 | 76,96 | 71,92 | 79,73 | |

* MEG - Monoestearato de glicerina

5 - Centrifugação à 7.796 g/10 minutos.

6 - Centrifugação à 11.220 g/10 minutos.

7 - Centrifugação à 17.540 g/10 minutos.

A diminuição do teor de lipídios com a centrifugação foi proporcional à força centrifuga em todos os produtos. O decréscimo em porcentagem ocorreu relativamente na mesma ordem, sendo pouco mais acentuado no produto sem emulsificante, indicando que nenhum dos emulsificantes formaram micelas suficientemente estáveis, para resistir à centrifugação forte. Entretanto isso pode ser considerado normal, haja visto que a força centrifuga usada foi bastante elevada por um tempo relativamente longo.

4.11. MICROSCOPIA DOS GLÓBULOS DE GORDURA DOS EXTRATOS
EMULSIFICADOS

QUADRO 24 - Diâmetro dos glóbulos de gordura (d), Média do número de glóbulos encontrados em cinco campos selecionados ao acaso (n); Total do número de glóbulos (N) e Diâmetro médio dos glóbulos (\bar{d}) das amostras emulsificadas.

| Emulsificante | d (μm) | n | N | \bar{d} (μm) |
|--|--------|-----|-----|----------------|
| Lecitina | 0,09 | 103 | | |
| | 0,10 | 55 | | |
| | 0,12 | 20 | | |
| | 0,13 | 36 | | |
| | 0,16 | 33 | | |
| | 0,17 | 2 | 273 | 0,12 |
| | 0,18 | 5 | | |
| | 0,19 | 4 | | |
| | 0,21 | 6 | | |
| | 0,23 | 4 | | |
| | 0,26 | 1 | | |
| | 0,29 | 1 | | |
| | 0,31 | 1 | | |
| | 0,32 | 1 | | |
| | 0,35 | 1 | | |
| Monoestearato de glicerina destilado | 0,10 | 81 | | |
| | 0,13 | 8 | | |
| | 0,14 | 2 | | |
| | 0,15 | 5 | | |
| | 0,17 | 1 | 106 | 0,12 |
| | 0,18 | 3 | | |
| | 0,19 | 2 | | |
| | 0,23 | 1 | | |
| | 0,26 | 1 | | |
| | 0,27 | 1 | | |
| | 0,39 | 1 | | |

Continua...

QUADRO 24, cont.

| Emulsificante | d (μm) | n | N | \bar{d} (μm) |
|--|--------|----|-----|----------------|
| Monoestearato de glicerina destilado hidratado | 0,08 | 84 | | |
| | 0,10 | 37 | | |
| | 0,13 | 4 | | |
| | 0,16 | 5 | | |
| | 0,17 | 10 | | |
| | 0,19 | 1 | 159 | 0,11 |
| | 0,21 | 11 | | |
| | 0,23 | 2 | | |
| | 0,25 | 1 | | |
| | 0,26 | 1 | | |
| | 0,29 | 1 | | |
| | 0,34 | 3 | | |
| Lisolecitina | 0,08 | 24 | | |
| | 0,09 | 9 | | |
| | 0,10 | 72 | | |
| | 0,12 | 21 | | |
| | 0,13 | 23 | | |
| | 0,17 | 16 | | |
| | 0,18 | 14 | | |
| | 0,19 | 2 | 194 | 0,13 |
| | 0,21 | 2 | | |
| | 0,22 | 5 | | |
| | 0,23 | 1 | | |
| | 0,25 | 1 | | |
| Sem emulsificante | 0,29 | 1 | | |
| | 0,31 | 2 | | |
| | 0,34 | 1 | | |
| | 0,09 | 20 | | |
| | 0,10 | 8 | | |
| | 0,12 | 2 | | |
| | 0,13 | 12 | | |
| | 0,16 | 4 | | |
| | 0,17 | 4 | | |
| | 0,19 | 5 | | |
| | 0,21 | 1 | 55 | 0,13 |
| | 0,23 | 3 | | |

Conforme GIGANTE (1991) a função básica da homogeneização é normalmente romper os glóbulos de gordura de maior tamanho em glóbulos de tamanho menor de forma que retarde a separação do creme.

LISSANT (1974) relata que ao se formular um produto emulsificado de baixa viscosidade deve-se escolher um emulsificante que desencourage a floculação e aglomeração e que produza uma emulsão estável. O produto emulsificado deve ter partículas de pequeno tamanho à fim de se evitar a formação de nata ou creme.

De acordo com Veisseyre, 1980, citado por GIGANTE (1991) os glóbulos de gordura do leite de vaca encontram-se formando uma emulsão de pequenos glóbulos esféricos cujo diâmetro varia de 2,0 a 10 μm . Menciona ainda que outros autores relatam que esses glóbulos variam de 0,1 a 15 μm de diâmetro (Walstra e Jenness, 1987); de 0,5 a 10 μm (Dilanjan, 1984) citados por GIGANTE, (1991).

Nos resultados de GIGANTE (1991) que trabalhou com leite de vaca, os diâmetros médios dos glóbulos de gordura encontrados foram de 5,05 a 9,35 μm sendo considerados de tamanho pequeno.

Os resultados apresentados no QUADRO 24, comparados com os dados da literatura, demonstraram que os glóbulos nos extratos são de tamanho pequeno, significando que a homogeneização foi eficiente.

O diâmetro médio dos glóbulos, sendo muito semelhante em todas as amostras, indica que existe um fator

comum com mais influência do que o próprio agente emulsificante, que foi a homogeneização processada nas mesmas condições em todos os produtos. A eficiência dos emulsificantes se nota melhor quando se considera o número total de glóbulos (N) de diâmetro entre 0,08 e 0,34 μm . Nas amostras contendo emulsificante, o total variou entre 106 a 273 glóbulos de gordura e na amostra sem emulsificante o valor foi apenas 55 glóbulos.

Verifica-se ainda, que a porcentagem de glóbulos menores (0,08-0,12 μm) nas amostras contendo emulsificantes (exceto para lisolecitina) somaram entre 64 e 85% do total enquanto que a amostra sem emulsificante apresenta 54%.

Comparando-se as amostras emulsificadas nota-se que as com os emulsificantes lecitina e lisolecitina, contém um maior número de glóbulos de gordura do que as outras. Verifica-se que a maior quantidade de glóbulos coincide com teores altos de lipídios destas amostras no QUADRO 17. O desempenho menos eficiente dos outros emulsificantes, está de acordo com a capacidade estabilizante, observada nos dados do QUADRO 20, em que as amostras contendo os emulsificantes MEG destilado e MEG destilado hidratado mostraram pouca estabilidade havendo grande separação do creme entre as zonas 1 e 2, e obtendo-se teores mínimos de lipídios nos tratamentos 5, 6 e 7 (QUADRO 22).

4.12. ANÁLISE SENSORIAL DOS PRODUTOS SELECIONADOS NOS TESTES DA ESTABILIDADE DA EMULSÃO

Os EHSS-F/G preparados com os emulsificantes MEG destilado, MEG destilado hidratado e sem emulsificante foram descartados na avaliação sensorial principalmente porque os emulsificantes MEG destilado e MEG destilado hidratado, apesar de promoverem um aumento na extração de proteína e no teor de lipídios nos EHSS-F/G em relação ao extrato sem emulsificante, não tiveram a mesma eficiência em manter a estabilidade dos extratos emulsificados, nos testes realizados no item 4.10. Portanto os extratos avaliados a seguir se referem aos preparados com lecitina e lisolecitina, conforme mencionado no item 3.7.

Pelos resultados da análise estatística (QUADRO 25) verifica-se que os dois EHSS-F/G são diferentes entre si sensorialmente, embora sua composições químicas sejam muito próximas. Verifica-se também que houve maior preferência pelo EHSS-F/G preparado com lisolecitina, tendo ocorrido diferença entre as médias obtidas das notas dos julgadores, pelo teste de F . a 1% de probabilidade.

No espaço reservado para "observações", a maioria dos provadores declararam que o sabor de "leite de soja" era bem menos acentuado nos extratos emulsificados do que no do sistema "Vaca Mecânica".

QUADRO 25 - Resumo da análise de variância dos dados obtidos do teste de preferência da análise sensorial dos EHSS-F/G contendo lecitina e lisolecitina em comparação com o EHSS da "Vaca Mecânica".

| F.V. | G.L. | Q.M. | F |
|---------|------|---------|---------|
| Amostra | 1 | 33,0653 | 19,17** |
| Resíduo | 182 | 1,7246 | |
| Total | 183 | | |

** Significativo a 1% de probabilidade.

QUADRO 26 - Médias obtidas das notas dos julgadores na análise sensorial dos EHSS-F/G preparados com lecitina e lisolecitina comparados com o EHSS da "Vaca Mecânica".

| Emulsificante | Média* |
|---------------|--------|
| Lecitina | 0,65 A |
| Lisolecitina | 1,50 B |

* As médias seguidas da mesma letra maiúscula, na coluna, não diferem entre si pelo teste de F a 1% de probabilidade.

Esses resultados demonstram que se pode preparar EHSS com outra matéria prima da soja além do grão integral que nesse caso é a farinha de soja desengordurada obtendo-se produtos com boas qualidades sensoriais e aceitas pelo consumidor comum, abrindo novas frentes de pesquisa para "leite de soja" com essa matéria prima.

4.13. AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DOS EHSS-F/G

4.13.1. INDICE DE TBA DOS EHSS-F/G

A média do índice de TBA determinado, em triplicatas nos EHSS-F/G contendo lecitina foi 0,519 mg de malonaldeído/Kg de amostra e com lisolecitina foi 0,686 mg de malonaldeído/Kg de amostra com valores de desvio padrão das médias 0,002 e 0,001 respectivamente.

A comparação das médias dos índices de TBA dos EHSS-F/G contendo lecitina e lisolecitina pelo Teste t de Student, revelou que não houve diferença significativa entre os produtos ($P>0,01$).

Conforme ASAKAWA & MATSUSHITA (1980), KAKUDA et alii (1981) e DUGAN (1982), o teste do ácido 2-tiobarbitúrico (TBA) é o mais utilizado como avaliação da oxidação de lipídios em alimentos. Essa

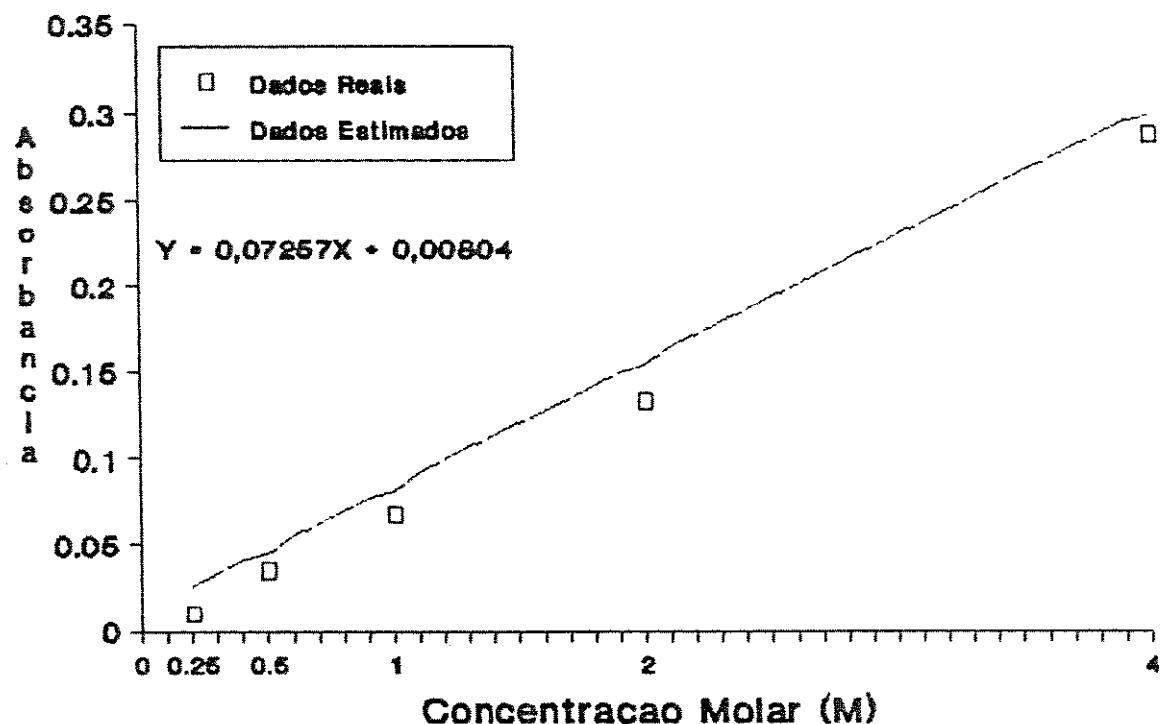
oxidação é dada pelo número de TBA (mg de malonaldeído por kg de amostra). O método se baseia na comparação da absorbância do produto colorido TBA - malanaldeído com padrões preparados com 1,1,3,3,-tetrametoxipropano (TMP).

Para a determinação do número de TBA, construiu-se a curva padrão com os valores, dispostos no QUADRO 27.

QUADRO 27 - Valores utilizados para a construção da curva padrão do Índice de TBA dos EHSS-F/G.

| Concentração Molar (M) de TMP | Absorbância (538 nm) |
|-------------------------------|----------------------|
| $0,25 \times 10^{-6}$ | 0,010 |
| $0,50 \times 10^{-6}$ | 0,035 |
| $1,00 \times 10^{-6}$ | 0,068 |
| $2,00 \times 10^{-6}$ | 0,133 |
| $4,00 \times 10^{-6}$ | 0,287 |

FIGURA 7 - Curva padrão do TMP para determinação do Índice de TBA.



PEREIRA (1991) em sua pesquisa envolvendo isoenzimas lipoxigenases atuando sobre os substratos específicos em diferentes pH's considerou que os valores até 1,21 mg de TBA/kg de amostra podiam ser considerados baixos, indicando que a oxidação havia sido irrelevante.

Como valores determinados nos EHSS-F/G foram de 0,519 para o produto contendo lecitina e 0,686 para o com lisolecitina, são considerados baixos de acordo com o acima exposto. Esse índice de TBA encontrado certamente indica a oxidação ocorrida na farinha de soja desengordurada durante o seu processamento na indústria de óleo, antes da inativação das isoenzimas lipoxigenases.

Antes do preparo dos EHSS-F/G determinou-se que a atividade das isoenzimas lipoxigenases na farinha era

zero, portanto esse índice de TBA não corresponderia à oxidação durante o preparo dos produtos mas à oxidação anterior.

4.13.2. INDICE DE N-HEXANAL DETERMINADO NOS EHSS-F/G

A média do teor de n-hexanal determinado em triplicatas, nos EHSS-F/G preparados com lecitina foi 1,023 mg/Kg de amostra e com lisolecitina 1,039 mg/Kg com valores de desvio padrão 0,001 para ambas as médias.

A comparação das médias dos teores de n-hexanal dos EHSS-F/G contendo lecitina e lisolecitina pelo teste t de Student, revelou que não há diferença significativa entre os produtos ($P>0,01$).

Conforme LABUZA (1971) o teor mínimo de hexanal para percepção do seu aroma no leite de soja é de 0,05 mg/Kg. Entretanto esses teores são considerados baixos com relação ao sabor dos produtos, conforme RAMOS (1990), que em seus estudos conduzidos com leite de soja obtido do grão de diferentes variedades, verificou que os teores entre 0,31 a 1,70 mg/Kg de n-hexanal podiam ser considerados baixos e normais quando se trata de leite de soja.

Observa-se que os valores remanescentes nos EHSS-F/G podem ser devido ao grande teor de n-hexanal encontrado na farinha de soja desengordurada (QUADRO 9) utilizada na preparação desses extratos. Considerando a diluição 1:12 feita na farinha para o preparo dos produtos pode-se supor que no preparo e processamento dos mesmos não

houve acréscimo de mais n-hexanal, pelas mesmas justificativas mostradas quanto ao Indice de TBA.

A FIGURA 8 representa os cromatogramas da análise de n-hexanal efetuada nos extratos citados.

4.13.3. MEDIDA DA ATIVIDADE DE UREASE NOS EHSS-F/G

No QUADRO 28 encontram-se os valores do Indice de Urease medido nos EHSS-F/G preparados com lecitina e lisolecitina.

QUADRO 28 - Indice de Urease dos EHSS-F/G preparados com os emulsificantes, lecitina e lisolecitina antes do tratamento térmico de 85°C/10 minutos e após esse tratamento:

| Emulsificantes | Indice de Urease | |
|----------------|------------------|-------------|
| | Antes | Após |
| Lecitina | 2,1 ± 0,01 | 0,13 ± 0,01 |
| Lisolecitina | 2,0 ± 0,01 | 0,10 ± 0,01 |

* Valor expresso em variação unidades de pH (média e desvio padrão de triplicatas).

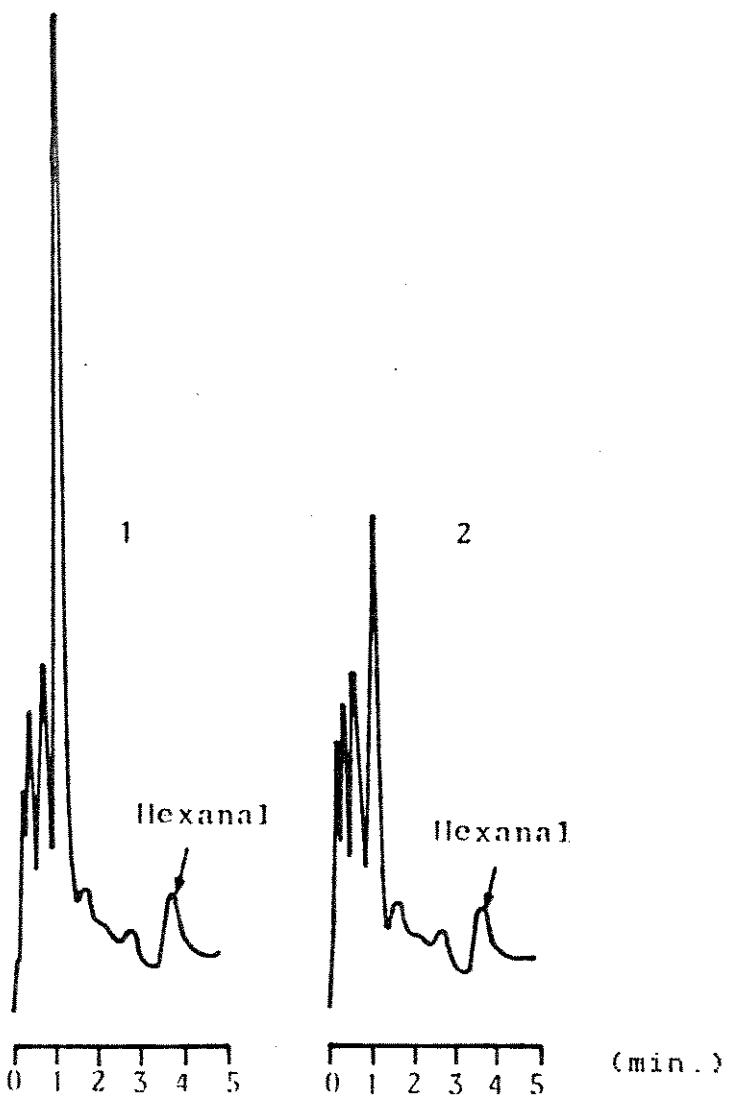


FIGURA 8 - Cromatogramas representativos dos níveis de Hexanal obtidos nos EHSS-F/G preparados com lecitina (1) e lisolecitina (2).

Verifica-se nos resultados apresentados que antes de ser submetido ao tratamento térmico da pasteurização (85°C/ 10 minutos) os produtos tinham a atividade de urease bastante acentuada, o que já era esperado devido aos resultados apresentados quanto à medida de atividade de urease na farinha desengordurada conforme descrito em 4.6.

Após o tratamento térmico esse índice diminuiu expressivamente demonstrando que a temperatura usada inativou quase que totalmente a urease presente tornando os produtos aceitáveis para consumo humano, conforme Caskey-Knapp, citado por CROSTON et alii (1955) que menciona os níveis entre 0,02 a 0,25 como o índice de urease máximo aceitável para que o produto possa ser usado na alimentação. Segundo VISENTAINER (1986) a determinação desse índice pode ser usada como medida da eficiência do tratamento térmico, pois a inativação da urease está correlacionada com a inativação de lipoxigenases, inibidores de tripsina e hemaglutininas.

4.13.4. ATIVIDADE DO FATOR ANTITRÍPTICO

São conhecidos vários inibidores de proteases, dentre eles, os inibidores "KUNITZ" e "BOWMAN-BIRK" os quais foram purificados e estudados detalhadamente na soja cujos PM variam de 8.000 a 24.000 (Liener & Kakade, 1969 e Sgarbieri & Whitaker, 1982, citados por TAVARES, 1991).

ANTUNES (1974) relata que a medida da atividade de urease, usada como índice do tratamento térmico adequado para destruir os fatores antitripticos, é considerada eficiente quando o tempo de tratamento térmico é suficientemente longo, pois assim procedendo, as médias de inativação de ambos são semelhantes. Entretanto, quando se usa altas temperaturas por tempo curto, as médias de inativação são diferentes, inativando quase completamente a urease, mas permanecendo ativa considerável quantidade do fator antitriptico. Afirma ainda que não é válido relacionar a inativação térmica da urease com o fator antitriptico em produtos como isolado protéico, leite de soja, etc, pois o fator antitriptico é mais resistente que a urease à temperatura alta quando em solução. Portanto torna-se necessário a determinação da atividade do fator antitriptico nos EHSS-F/G por se tratar de um produto líquido inativado a 85°C por 10 minutos, com posterior resfriamento rápido para 15°C.

Pelos resultados apresentados no QUADRO 28 observa-se que, embora os EHSS-F/G tenham baixa atividade ureásica com índices dentro dos estabelecidos para o consumo humano, esses extratos ainda conservam uma atividade residual de inibidores de tripsina, apresentando uma taxa de inativação média, determinações feitas em triplicate, de aproximadamente 77,1% no extrato com lecitina e 75,1% no extrato contendo lisolecitina com os valores de desvio padrão das médias 0,01 e 0,02 respectivamente.

ANTUNES (1974) encontrou uma taxa de

inativação de 13% quando o extrato de proteínas de soja foi tratado com água fervente por 120 minutos; 50% quanto usou autoclave a 121°C por 15 minutos e 100% em autoclave à 121°C por 30 minutos.

MARTINEZ (1975) em estudos conduzidos com leite de soja verificou que o tratamento térmico a 96°C por 20 minutos inativou 60% do fator antitriptico, e a 121°C por 15 minutos inativou 83% aproximadamente. Esse autor afirma que tanto a 96°C quanto a 121°C por tempo prolongado até 90 e 45 minutos, não conseguiu reduzir o fator antitriptico a níveis mais baixos, embora outros pesquisadores tenham conseguido com essas temperaturas níveis de até 95 e 97% de inativação, em tempos de 30 e 15 minutos respectivamente.

ANTUNES (1978) em estudos conduzidos com feijão, verificou que o tratamento térmico por água fervente (97°C) por 10 minutos inativou 86,74% do fator antitriptico e em autoclave (121°C) por 7 1/2 minutos inativou 100%.

4.14. ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS DOS PRODUTOS

No QUADRO 29 encontram-se os resultados da análise microbiológica de rotina nos EHSS-F/G preparados com lecitina e lisolecitina, logo após a sua preparação e após 7 dias de estocagem à temperatura de 5°C.

Verifica-se nos resultados apresentados que os produtos têm os parâmetros abaixo do mínimo recomendado pelos padrões sugeridos por PENNONE (1989) conforme pode-se observar na TABELA 4.

De acordo com PENNONE (1989), nas análises microbiológicas de rotina desses produtos deve-se pesquisar principalmente a contagem total de mesófilos, coliformes totais, fungos e leveduras e coliformes fecais. Outros microorganismos como Staphylococcus aureus, Bacillus cereus, Clostridium perfringens e Salmonelas, são preferencialmente pesquisados em produtos pasteurizados e conservados sob refrigeração por muitos dias e nos produtos esterilizados, embalados hermeticamente e com preparação asséptica, conservados à temperatura de 37°C por 7 dias.

Os resultados da análise microbiológica desses outros microorganismos citados estão no QUADRO 30.

QUADRO 29 - Número de microorganismos contados nos EHSS-F/G preparados com lecitina e lisolecitina no 1º dia de fabricação e após 7 dias de estocagem a 5°C.

| Microorganismos | EHSS-F/G Lecitina | | EHSS-F/G Lisolecitina | |
|-----------------------------|----------------------|---------------------|--------------------------|----------------------|
| | 1º dia | 7º dia | 1º dia | 7º dia |
| Contagem total mesófilos | 7×10^2 /ml | 8×10^2 /ml | 6×10^2 /ml | 10×10^2 /ml |
| Coliformes totais | ausente | ausente | ausente | ausente |
| Fungos e leveduras | ausente | 1×10^2 /ml | ausente | 2×10^2 /ml |
| Coliformes fecais | ausente | ausente | ausente | ausente |

n = 3 repetições.

QUADRO 30 - Análise microbiológica de microorganismos patogênicos nos EHSS-F/G preparados com Lecitina e Lisolecitina.

| Microorganismos | EHSS-F/G Lecitina | EHSS-F/G Lisolecitina |
|--------------------------------|----------------------|--------------------------|
| <i>Staphylococcus aureus</i> | ausente | ausente |
| <i>Bacillus cereus</i> | ausente | ausente |
| <i>Clostridium perfringens</i> | ausente | ausente |
| <i>Salmonelas</i> | ausente | ausente |

n = 3 repetições.

TABELA 4 - Parâmetros orientativos para identificação, classificação e padronização dos extratos de soja e leite de soja.

| | Extrato de Soja | | Leite de Soja | | |
|---|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|
| | Líquido | Em pó | Em pó | Bebida | Suco |
| Umidade | máximo: 93,0% | mínimo: 3,0% | mínimo: 3,0% | máximo: 95,0% | máximo: 97,0% |
| Proteínas | mínimo: 3,0% | mínimo: 41,5% | mínimo: 37,0% | mínimo: 2,5% | mínimo: 0,8% |
| Oleo | mínimo: 1,0% | mínimo: 13,8% | mínimo: 10,0% | mínimo: 0,7% | mínimo: 0,2% |
| Carboidratos | máximo: 2,8% | máximo: 34,6% | mínimo: 25,0% | mínimo: 2,0% | mínimo: 2,6% |
| Cinzas | máximo: 4,6% | máximo: 7,0% | máximo: 5,0% | máximo: 0,8% | máximo: 0,6% |
| Inativação do Fator Anti-Triptico | mínimo: 80,0% máximo: 26,6UTI | mínimo: 80,0% máximo: 23,6UTI | mínimo: 80,0% máximo: 23,6UTI | mínimo: 80,0% máximo: 23,6UTI | mínimo: 80,0% máximo: 23,6UTI |
| Contagem Total Mesófilos | máx. 5×10^4 /ml | máx. 5×10^4 /ml | máx. 10^4 /g | máx. 10^4 /ml | máx. 10^4 /ml |
| Coliformes Totais | ausência em 1 ml | ausência em 1 g | máx. 10^3 /g | máx. 10/ml | máx. 10/ml |
| Fungos e Leveduras | máx. 1×10^3 /ml | máx. 1×10^3 /g | máx. 10^2 /g | máx. 10^2 /ml | máx. 10^2 /ml |
| Salmonelas | ausência em 50 ml | ausência em 50 g | ausência em 250 g | ausência em 250 g | ausência em 250 g |
| Coliformes Fecais | ausência em 1 ml | ausência em 1 g |
| Bacillus cereus | máx. 1×10^3 /ml | máx. 1×10^3 /g | máx. 10^2 /g | máx. 10^2 /ml | máx. 10^2 /ml |
| Microorganismos Anaeróbicos Sulfite Redutores | máx. 10/ml | máx. 10/g | máx. 1/g | máx. 1/ml | máx. 1/ml |
| Stafilococcus Coagulase Sulfito Redutor | ausência em 1 ml | ausência em 1 g |

Fonte: Normas e padrões proposto pela Associação de Produtores de Leite de Soja do Brasil (PENHÔNE, 1989).

4.15. COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS PRODUTOS

No QUADRO 3i encontram-se as composições químicas dos EHSS-F/G submetidos ao teste de preferência bem como a composição do produto obtido da "Vaca Mecânica" e do leite de vaca.

Os teores de carboidratos foram obtidos pelas diferenças entre 100% e a soma dos demais componentes.

QUADRO 3i - Composição química dos EHSS-F/G preparados com lecitina, lisolecitina, do EHSS obtido no equipamento "Vaca Mecânica" e do leite de vaca.

| Compostos | EHSS-F/G Lecitina | EHSS-F/G Lisolecitina | EHSS-F/G ¹ "Vaca Mecânica" | Leite ² de Vaca |
|----------------|----------------------|--------------------------|--|-------------------------------|
| Sólidos Totais | 8,29 | 8,20 | 6,95 | 11,9 |
| Proteínas | 3,20 | 3,30 | 2,66 | 3,4 |
| Lipídios | 2,21 | 2,35 | 1,95 | 3,0 |
| Carboidratos | 2,46 | 2,14 | 1,93 | 4,8 |
| Cinzas | 0,42 | 0,41 | 0,41 | 0,7 |
| Umidade | 91,71 | 91,80 | 93,05 | 86,1 |

1. Fonte: GUZMÁN (1986).

2. Fonte: PINHEIRO et alii (1978).

Verifica-se nos resultados apresentados nos QUADROS 29, 30 e 31 que a composição dos EHSS-F/G está de acordo com os estabelecido pelos parâmetros orientativos das normas para leite de soja, conforme se pode observar na TABELA 4. Nota-se que nos EHSS-F/G a concentração dos sólidos totais, proteínas, lipídios e outros componentes são maiores que os respectivos, do extrato do equipamento "Vaca Mecânica", se bem que neste equipamento seja também possível obter produtos mais concentrados.

Quando se utiliza o EHSS como alimento de transição como substituto ou complemento na alimentação infantil, espera-se que este tenha a sua composição centesimal aproximadamente igual ao do leite de vaca, principalmente o teor de proteínas e lipídios por ser este o mais utilizado pelos povos de um modo geral, sendo em nosso meio a única opção que felizmente atende a um grande número de indivíduos (SOLOMON et alii, 1981). Entretanto, existe um número considerável de crianças alérgicas ao leite de vaca, ou seja, aquelas que têm intolerância à lactose. Assim o EHSS é considerado de uso bastante versátil na alimentação infantil, podendo substituir o leite de vaca em vários tipos de preparações, valendo ainda mencionar seu custo baixo, que é de aproximadamente 1/3 do leite de vaca antes da pasteurização (SILVEIRA et alii, 1989).

Observa-se no QUADRO 31 que os teores de proteínas dos EHSS-F/G são aproximadamente iguais aos do leite de vaca e os teores de lipídios pouco inferiores, e de acordo com as normas da TABELA 4.

4.16. COMPOSIÇÃO DE AMINOÁCIDOS DOS EHSS-F/G

No QUADRO 32 aparecem os teores de aminoácidos encontrados nos EHSS-F/G preparados com os emulsificantes lecitina e lisolecitina, nos extratos obtidos só com água e farinha e nos extratos preparados com água:farinha e óleo de milho sem emulsificante.

Observa-se no QUADRO 31, que o teor de proteínas do EHSS-F/G é aproximadamente igual ao do leite de vaca (3,0-3,5%). A composição em aminoácidos essenciais dessas proteínas (QUADRO 33) mostra que ambas são deficientes em cistina, porém maior teor de metionina no leite de vaca suplementa sua deficiência de cistina.

Percebe-se que os demais aminoácidos essenciais dos dois produtos (EHSS-F/G e leite de vaca) apresentam uma distribuição relativamente próxima, porém quase todos os aminoácidos em valores absolutos, são mais concentrados no leite de vaca.

No QUADRO 32 observa-se que os EHSS-F/G têm a composição em aminoácidos essenciais aproximadamente igual ao EHSS de grão de soja integral, demonstrando que a proposta para o produto emulsificado a partir de farinha de soja desengordurada é válida e de grande significado nutricional, podendo perfeitamente substituir o extrato obtido tradicionalmente do grão de soja integral.

QUADRO 32 - Composição em aminoácidos dos EHSS e EHSS-F/G
centrifugados e pasteurizados a 85°C/10 minutos.

| Aminoácidos | Porcentagem de Aminoácidos (g/100g de Proteína) | | | |
|---------------|--|-------|-------|-------|
| | 1* | 2* | 3* | 4* |
| Lisina | 6,50 | 6,59 | 6,78 | 6,83 |
| Histidina | 2,49 | 2,53 | 2,67 | 2,70 |
| Amônia | 2,33 | 2,62 | 2,75 | 2,97 |
| Arginina | 6,36 | 6,76 | 6,92 | 6,95 |
| Ac. Aspártico | 15,38 | 15,45 | 15,60 | 15,62 |
| Treonina | 3,67 | 3,68 | 3,72 | 3,73 |
| Serina | 6,12 | 6,18 | 6,30 | 6,33 |
| Ac. Glutâmico | 25,32 | 28,48 | 30,63 | 32,65 |
| Prolina | 3,44 | 3,48 | 4,01 | 4,23 |
| Glicina | 4,36 | 4,45 | 4,63 | 4,65 |
| Alanina | 4,19 | 4,21 | 4,38 | 4,41 |
| Cistina | 1,17 | 1,27 | 1,42 | 1,44 |
| Valina | 4,65 | 4,67 | 4,69 | 4,71 |
| Metionina | 1,30 | 1,34 | 1,50 | 1,52 |
| Isoleucina | 4,07 | 4,13 | 4,18 | 4,22 |
| Leucina | 8,01 | 8,08 | 8,13 | 8,15 |
| Tirosina | 4,10 | 4,15 | 4,36 | 4,39 |
| Fenilalanina | 5,29 | 5,36 | 5,51 | 5,54 |
| Triptofano | 1,12 | 1,14 | 1,18 | 1,22 |

1* EHSS contendo farinha e água na proporção 500g:6L

2* EHSS contendo farinha, água e óleo de milho na proporção de 500g:6L:100g

3* EHSS-F/G contendo farinha, água, óleo de milho e emulsificante lecitina na proporção de 500g:6L:100g:4g (substância ativa)

4* EHSS-F/G contendo farinha, água, óleo de milho e emulsificante lisolecitina na proporção 500g:6L:100g:4g (substância ativa)

QUADRO 33 - Composição (%) em aminoácidos essenciais dos EHSS-F/G contendo os emulsificantes lecitina e lisolecitina, do EHSS de soja integral e do leite de vaca.

| Aminoácidos Essenciais | EHSS-F/G Lecitina | EHSS-F/G Lisolecitina | EHSS* de soja integral | Leite* de Vaca |
|---------------------------|----------------------|--------------------------|------------------------------|-------------------|
| Lisina | 6,78 | 6,83 | 6,2 | 8,7 |
| Treonina | 3,72 | 3,73 | 3,8 | 4,7 |
| Cistina | 1,42 | 1,44 | 1,7 | 1,9 |
| Valina | 4,69 | 4,71 | 4,9 | 7,0 |
| Metionina | 1,50 | 1,52 | 1,4 | 3,2 |
| Isoleucina | 4,18 | 4,22 | 5,1 | 7,5 |
| Leucina | 8,13 | 8,15 | 8,3 | 11,0 |
| Fenilalanina | 5,51 | 5,54 | 5,3 | - |
| Triptofano | 1,18 | 1,22 | 1,3 | 1,5 |

* Fonte: SMITH & CIRCLE, 1978.

Conforme o padrão da FAO/WHO (1973), a proteína ideal deve apresentar uma soma de aminoácidos essenciais no mínimo igual a 36%, sendo mencionado que para o grão de soja o valor encontrado foi 39,4%.

Verifica-se no QUADRO 33 que essa soma para o produto 1, foi 35,78%; para o produto 2, 36,26%; para o

produto 3, 37,11% e para o produto 4, 37,36%, superando os 3 últimos produtos, o valor mínimo do padrão da FAO/WHO (1973).

Com relação aos aminoácidos que estão com seus valores inferiores ao padrão da FAO, como é o caso de metionina e cistina, estes são aminoácidos considerados limitantes na soja, e admite-se que tenham sofrido uma destruição parcial durante a hidrólise ácida. A asparagina e glutamina sofrem desamidação completa sendo avaliados aproximadamente pelo teor de amônia (PEREIRA, 1984).

Os aminoácidos limitantes da soja são por ordem de importância metionina + cistina, treonina e valina (FAO, 1970). Observa-se no QUADRO 33 que os resultados demonstram isso.

Com relação ao escore químico, observa-se que para o produto 1 o escore é de 70,13%; para o produto 2, 74,13%; para o produto 3, 82,95% e para o produto 4, 84,10%. Para o grão de soja o escore encontrado foi 73,6% e para o extrato hidrossolúvel do grão integral 80,0% (FAO, 1970).

Pelos resultados dos QUADROS 32 e 34, observa-se que os EHSS-F/G com os emulsificantes lecitina e lisolecitina apresentam resultados satisfatórios em relação aos padrões da FAO/WHO (1973).

Observa-se que os EHSS-F/G elaborados nesta pesquisa constituem alimento líquido opcional para a criança na fase de lactação e pré-escolar desde que se faça as devidas adequações nos formulados lácteos, podendo até ser usados como substitutos do leite de vaca (QUADRO 33).

QUADRO 34 - Composição em aminoácidos nutricionalmente essenciais dos EHSS e EHSS-F/G centrifugados e pasteurizados a 85°C/10 minutos comparados com a proteína padrão da FAO/WHO (1973).

| Aminoácidos | mg de aa /g de Nitrogênio | | | | |
|-------------------------|---------------------------|-------|-------|-------|-----|
| | 1* | 2* | 3* | 4* | FAO |
| Lisina | 406,2 | 411,8 | 423,7 | 426,8 | 340 |
| Isoleucina | 254,3 | 258,1 | 261,2 | 263,7 | 250 |
| Leucina | 500,6 | 505,0 | 508,1 | 509,3 | 440 |
| Metionina + Cistina | 154,3 | 163,1 | 182,5 | 185,0 | 220 |
| Fenilalanina + Tirosina | 586,8 | 594,3 | 616,8 | 620,6 | 380 |
| Treonina | 229,3 | 230,0 | 232,5 | 233,1 | 250 |
| Valina | 290,6 | 291,8 | 293,1 | 294,3 | 310 |
| Triptofano | 70,0 | 71,2 | 73,7 | 76,8 | 60 |

1* EHSS contendo farinha e água na proporção 500g:6L.

2* EHSS contendo farinha, água e óleo de milho na proporção de 500g:6L:100g.

3* EHSS-F/G contendo farinha, água, óleo de milho e emulsificante lecitina na proporção de 500g:6L:100g:4g (substância ativa).

4* EHSS-F/G contendo farinha, água, óleo de milho e emulsificante lisolecitina na proporção 500g:6L:100g:4g (substância ativa).

À medida que a criança aumenta a idade, diminuem proporcionalmente as necessidades diárias de proteínas e consequentemente de aminoácidos essenciais, podendo utilizar os produtos aqui propostos para suprir as suas necessidades mínimas, tornando-se necessário calcular a quantidade de ingestão diária mínima desses produtos em relação à idade da criança e a combinação com outros alimentos nutritivos, para que a sua alimentação tenha um elevado valor nutritivo em calorias e proteínas.

4.17. CONSIDERAÇÕES GERAIS

Esta pesquisa demonstrou que é possível preparar um extrato hidrossolúvel tipo "leite de soja" a partir da farinha de soja. Este processo é o convencional com grão de soja, dão produtos semelhantes em vários aspectos, porém é inegável que a opção por farinha simplificaria as etapas do processo convencional quanto à maceração e ao volume de resíduos. Além disso, a combinação de farinha de soja com óleo vegetal abre um leque de opções que não podem ser obtidas quando se utiliza o grão integral.

Os aspectos econômicos não foram abordados porque era preciso demonstrar primeiro sua viabilidade tecnológica. Quanto a este último aspecto é previsível que os equipamentos básicos do sistema "Vaca Mecânica" sejam utilizáveis no processo com farinhas, que precisa de um homogeneizador, centrífuga para trabalho em baixa velocidade (ou um sistema de filtração a vácuo), sistemas de

aquecimento, dosadores, balanças, embaladora, tubulações e bombas para produtos alimentares.

Mesmo não tendo sido feitos estudos econômicos, pode ser antecipado que o custo maior do processo com farinha em relação ao grão poderia ser compensado com o maior rendimento de extração. Já o custo do óleo de milho (ou outra gordura estável) só poderia ser compensado com um aumento da extractibilidade das proteínas, o que de fato ficou configurado em alguns testes ocasionais, que precisam de pesquisas mais detalhadas. O aumento do custo seria o ônus que se pagaria para se ter um produto líquido com menor sabor de soja que poderia aumentar a aceitação do produto em níveis superiores ao atual.

5. CONCLUSÕES

A farinha de soja desengordurada, demonstrou ser matéria-prima de qualidade nutricional e tecnológica adequada para o preparo de um extrato hidrossolúvel (EHSS-F/G) tipo "leite de soja". O processamento é rápido e simples e produz menos resíduo insolúvel do que o produto obtido pelo método convencional com grão integral.

Foi demonstrado que o EHSS-F/G preparado a partir de farinha de soja desengordurada, água, óleo de milho e emulsificante produz um extrato de sabor mais agradável e teve maior preferência num teste comparativo com o produto preparado a partir de grãos de soja integral.

A proporção farinha:água:óleo de milho 1:12:0,2 mostrou ser adequada para obtenção de um extrato com teores de proteína e lipídios dentro dos requeridos pelo projeto de identificação, classificação e padronização do leite de soja. Verificou-se que a adição de emulsificante, aumentou o grau de extractibilidade das proteínas e o teor de lipídios no produto final.

Os testes de estabilidade da emulsão demonstraram que, embora os valores de BHL (balanço hidrofílico-lipofílico) dos emulsificantes usados fossem aproximadamente iguais, a estabilidade da emulsão dos EHSS-F/G foi maior com lecitina e lisolecitina.

Verificou-se que o tratamento térmico de 85°C seguido de resfriamento para 15°C, foi suficiente para

inativar a urease e a maior parte da atividade dos fatores antitriptico indesejáveis nos extratos, além de possibilitar a obtenção de um produto com as contagens microbiológicas abaixo do mínimo requerido pelas normas propostas para eles.

Verificou-se que a qualidade nutricional da proteína dos EHSS-F/G não foi afetada pelas condições de processamento, apresentando teores de aminoácidos semelhantes aos do grão de soja e muito próximo dos estabelecidos pela FAO/WHO. Os escores químicos das proteínas dos EHSS-F/G preparados com lecitina e lisolecitina apresentaram um valor de 82,95 e 84,10% respectivamente, superando ligeiramente o valor encontrado para as proteínas do EHSS obtido de grãos de soja integral.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. ANTUNES, P.L. Algumas propriedades físico-químicas e nutricionais das proteínas da soja. Campinas, UNICAMP, S.P., 1974. 85 p. (Tese M.S.).
2. ANTUNES, P.L. Composição e propriedades nutricionais das proteínas do feijão Rosinba G2 (*Phaseolus vulgaris, L.*). Campinas, UNICAMP, 1978. S.P. 166 p. (Tese D.S.).
3. ANTUNES, P.L. & SGARBIERI, V.C. Processing effects on the nutritive value of soybean seeds and products. Arch. Latinoamer. Nutr., 27(1): 33-47, 1977.
4. ASSOCIATION OFFICIAL OF ANALYTICAL CHEMISTS - A.O.A.C. Official methods of analyses of the Association Official Analytical Chemists. 11 ed. Washington, D.C., 1970. 1015 p.
5. AOKI, H.; TANEYAMA, O.; INAMI, M. Emulsifying properties of soy protein: characteristics of 7S and 11S protein. J. Food Sci., 45: 534-537, 1980.
6. ARAI, S. Deterioration of food protein by binding unwanted compounds such as flavors, lipids and

- pigments. In: WHITAKER, J.R. & FUJIMAKI, M. eds. Chemical deterioration of proteins. Washington, D.C., American Chemical Society, 1980. p. 195-209. (Symposium Series, 123).
7. ARAÚJO, J.M.A. Emulsificantes para Alimentos. Viçosa, MG, UFV, Impr. Univ., 1991. 23 p.
8. ARAUJO, M.F. Caracterização funcional de isolados e de um concentrado proteico de soja produzidos no Brasil. Viçosa, MG, UFV, 1984. 60 p. (tese M.S.).
9. ASAKAWA, T. & MATSUSHITA, S. Thio barbituric acid test for detecting lipid peroxides. Lipids, 14: 401-6, 1980.
10. AXEROLD, B. Lipoxygenases. Washington, D.C., American Chemical Society, 1974, Separata de Advances in chemistry. s.n.t. p.324-8 (Food related enzymes, 136).
11. AXEROLD, B.; CHEESBROUGHT, T.M.; LAAKSO, S. Lipoxygenase from soybeans. Meth. Enzymol., 71: 441-51, 1981.
12. BADENHOP, A.F. & HACKLER, L.R. Protein of dry roasted soybeans; amino acid composition and protein efficiency ratio. J. Food Sci., 36(1): 1-4, 1971.

13. BADENHOP, A.F. & HACKLER, L.R. Effects of soaking soybeans in sodium hidroxide solution as pretreatment for soymilk production. Cereal Sci. Today, 15(3): 84-8, 1970.
14. BACKER, E.C. & MUSTAKAS, G.C. Heat inactivation of trypisin inhibitos, lipoxygenase and urease in soybeans: Effect of acid and base additives. J. Amer. Oil Chem. Soc., 50(5): 137-41, 1973.
15. BARROS, E.G.; MOREIRA, M.A.; FONTES, E. P.B. Atividades de lipoxygenases L1 e L3 em cultivares comerciais de soja. Ara. Biol. Technol., 22: 381-5, 1984.
16. BARTHOLOMAI, G.B. Isolados proteicos de origem vegetal-propriedades funcionais de um isolado proteico de feijão branco (Phaseolus vulgaris). Industr. Alim., 4(19/20): 40-6, 1979.
17. BLIG, E.G. & DYER, W.J. Examination of lipids from fresh herring. J. Biochem. Phys., 8(37): 911-17, 1959.
18. BOOKWALTER, G.N. Full-fat soy flour extrusion cooked; properties and food uses. J. Food Sci., 36(1): 5-9, 1971.

19. BOOKWALTER, G.N. Fortification of dry soybean-based foods with DL-methionine. J. Food Sci., 40(2): 266-79, 1975.
20. Borges, J.M. Contribuição ao estudo do leite de soja. São Paulo, s.ed., 1958. 202 p. (Tese Provimento de Cadeira).
21. BORHAN, M. & SNYDER, H.E. Lipoxygenase destruction in whole soybeans by combinations of heating and soaking in ethanol. J. Food Sci., 44: 586-90, 1979.
22. BORLAUG, N. Uma revolução para combater a fome no mundo Ruralidade, 3(13): 18-23, 1973.
23. BOULTER, D. Acids and synthesis in Plants. In: BOGARAD, L. & WEIL, H., ed. Protein deposition in developing cereal and legume seeds. N. York, Plenum Press, 1976. p.261-78.
24. BOURNE, M.C. Production, acceptability, and nutrition aspects of soy beverage in the Philippines. Los Banos, University of the Philippines, 1971. 11 p. (Mimeoografado).
25. BOURNE, M.C. Recent advances in soybeans milk processing technology. Pag. B., (10): 14-20, 1970.

26. BOURNE, M.C.; CLEMENTE, M.G.; BANZON, J. Survey of suitability of thirty cultivars of soybeans for soymilk manufacture. J. Food Sci., 41: 1204-8, 1976.
27. BRADFORD, M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein - dye binding. Anal Biochem., 72: 248-54, 1976.
28. BRESSANI, R. & ELIAS, L.G. All vegetable protein mixtures for human feeding. J. Food Sci., 31(4): 626-30, 1976.
29. BUCHANAN, B.F. & STEWART, G.F. Identifying solutions to malnutrition in Latin America. Food Technol., 31(9): 60-70, 1977.
30. CABRAL, A.C.D. Determinação de n-hexanal em alimentos com alto teor de matéria graxa por cromatografia gasosa. Colêct. ITAL., 10: 73-97, 1979.
31. CAMPOS, T. & CANECHIO, V.F. Principais culturas. Campinas, Instituto Campineiro de Ensino Agricola, 1975. v. 2, 405 p.
32. CASTELLAN, G.W. Físico-química. Rio de Janeiro, Ao Livro Técnico, 1972. v. 1.

33. COMISSÃO NACIONAL DE NORMAS E PADRÕES PARA ALIMENTOS-CNNPA. Resolução Número 14/78, 1978.
34. COSTA, S.I. Alimentos derivados da soja. In: MIYASAKA, S. & MEDINA, J.C., eds. A soja no Brasil. s.l., 1981. p. 857-65.
35. COSTA, S.I.; QUAST, D.O.; MORETTI, V.A. CANTO, W.L.; COBRE, R.V. O emprego da soja na alimentação humana. B. Inst. Tecnol. Alim., (45):i-24, 1976.
36. COSTA, S.I. Considerações sobre a utilização de farinha de soja no enriquecimento proteico de alguns alimentos. B. ITAL, (32): 23-38, 1972.
37. COSTA, S.I. & MORI, E.E. Principais formas de aproveitamento da soja na alimentação humana. B. Inst. Tecnol. Alim., (56):27-49, 1978.
38. COSTA, S.I. & MIYA, E. Composição química e qualidade organoléptica das principais variedades de soja cultivadas no Brasil. Divulg. Pesa., (1): 1-3, 1972.
39. GRENWELGE, D.D. A comparison of the emulsification capacities of some protein concentrates. J. Food Sci., 39(1): 175-7, 1974.

40. CHRISTOPHER, J.; PISTORIUS, E.; AXEROLD, B. Isolation of isozymes of soybean lipoxygenase. Biochem. Biophys. Acta., 188: 12-9, 1970.
41. CHRISTOPHER, J.; PISTORIUS, E.; AXEROLD, B. Isolation of a third isoenzyme of soybean lipoxygenase. Biochem. Biophys. Acta., 284: 54-62, 1972.
42. CROSTON, C.B.; SMITH, A.K.; COWAN, J.C. Measurement of urease activity in soybean oil meal. J. Amer. Oil Chem. Soc., 32: 279-82, 1955.
43. CRUZ, M.J.S. Caracterização físico-química e avaliação sensorial de farinha mista de arroz e soja pré-cozida por extrusão. Viçosa, MG, UFV, 1982. 45 p. (Tese M.S.).
44. CUPERTINO, F. População e saúde pública no Brasil: povo sobre o doente. Rio de Janeiro, Civilização Brasileira, 1976. 110 p. (Realidade brasileira).
45. DEESLIE, W.D. & CHERYAN, M., Enzyme-modified proteins; a new generation of functional food ingredients. III. Res., 21(3): 10-1, 1979.
46. DEOBALD, H.J. Rice flours. In: Houston, D.F., ed., Rice chemistry and technology. St. Paul, American Association of Cereal Chemistry, 1972. p. 264-71.

47. DERBYSHIRE, E.; WRIGHT, D.J.; BOULTER, D. Legumin and vivilin, storage proteins of legume seeds. Phytochemistry, 15: 3-24, 1976.
48. DIEL, E. & STAN, H.J. Purification and characterization of two isoensymes of lipoxygenases from soybeans. Planta, 142: 321-28, 1978.
49. DILMER, R.J. Oilseed proteins. Chem. Engng. Progr., 65(9): 20-6, 1969.
50. BUGAN, Jr. L. Lipids. In: FENNEMA, O.R., ed. Introducción a la Ciencia de los alimentos. Barcelona, Editorial Reverté, 1982. p. 161-238.
51. DZIEZAK, J. Emulsifiers: The interfacial key to emulsion stability. Food Technol., 42, 171-86, 1988.
52. EVANS, R.J. & BANDEMER, S.L. Nutritive value of legume seed proteins. J. Amer. Food. Chem., 15(3): 439-43, 1967.
53. FAO. Aminoacid content of foods and biological data on proteins. Rome, 1970. 285 p. (FAO nutritional studies, 24)
54. FAO. Necesidades de energía y de proteínas. Ginebra, 1973. s.p. (Informe, 52: Informes técnicos, 522).

55. FERREIRA, E., BORGES J.M.; MENDES, A.C.C. Novo processo de elaboração do leite de soja. R. Ceres., 21(117): 422-5, 1974.
56. FLINT, F.O. & JOHNSON, R.F.P. A study of film formation by soy protein isolate. J. Food Sci., 46(5): 1351-61, 1981.
57. FONTES, E.P.B. Analise eletroforética da proteína de reserva de cultivares de soja e caracterização de mutantes. Viçosa, MG, UFV, 1983. 60 p. (Tese M.S.).
58. FRAZEN, K.L. & KINSELLA, J.E. Parameters affecting the binding of volatile flavor compounds in model food systems. I. Proteins. J. Agric. Chem., 22: 675-8, 1974.
59. GALLIARD, T. & CHAN, H.W.S. Lipoxygenases. In: STUMPF P.K., ed. The biochemistry of plants a comprehensive treatise. New York, Academic Press, 1980. p. 131-57.
60. GALLIARD, T.; PHILIPS, D.R.; REYNOLDS, J. The formation of cis-3-nonenal, trans-2-nonenal and hexanal from linoleic acid hydroperoxide isomers by a hydroperoxide cleavage system in cucumber (Cucumis sativus) fruits. Biol. Biophys. Acta., 441, 181-92, 1976.

61. GARDNER, H.W. Lipid hidroperoxide reactivity with proteins and aminoacids: J. Agric. Food Chem., 27-220, 1979.
62. GARDNER, H.W. Lipoxygenase pathway in cereals. Adv. Cer. Sci. Technol., 2: 161-215, 1988.
63. GARRUTI, R. S. & BARROS, L.V.S.Q. Influência da variedade no sabor e aroma do leite de soja. Bragantia, 19(64): 107-9, 1960.
64. GERRISTSEN, M.V.; BOS, L.H.; VELDINK, G.A.; VLIEGENTAHRT, J.F.G. Localization of lipoxygenase 1 e 2 in germinating soybean by an indirect immunofluorescence technique. Plant Physiol., 73: 262-7, 1983.
65. GIGANTE, M.L. Contribuição ao estudo do uso de gordura vegetal na fabricação de queijo Minas Frescal. Campinas, UNICAMP, S.P., 1991. 161 p. (Tese M.S.).
66. GOMES, F.P. Curso de estatística experimental. 6 ed., Piracicaba, Livraria Nobel, 1976. 430 p.
67. GOMES, J.C. & COELHO, D.T. Leite de soja na alimentação humana (Descrição e preparo do extrato solúvel de soja). Vicoso, MG, UFV, Impr. Univ., 1989. 25 p. (Boletim de extensão, 33).

68. GOMES, P. A soja 3. ed. São Paulo, Nobel, 1978.
152 p.
69. GONZALEZ, R.J.; ANDRICH, O.D.; SANCHES, H.D.;
AEBERHARD, C.A.; DEL RIO, M.D. Influencia de
distintas variables sobre la extractabilidad de las
proteinas de soja. R. ITAL., 2(1): iii-25, 1977.
70. GRIFFIN, W.C. & LYNCH, M.S. Surface active agents. In:
HANDBOOK of food additives. Cleveland, Ohio, Chemical
Rubber, 1968.
71. GROSH, W.; SCHIEBERKE, D.; LASKAWY, G. Model
experiments about the formation of volatile carbonyl
compounds from fatty acid hydroperoxides. 3. ed.
s.n.t. 1981.
72. GUTIERREZ, R.H. Contribuição ao estudo da extração e
concentração do leite de soja. Campinas, UNICAMP,
1974. 47 p. (Tese M.S.).
73. GUZMÁN, E.S.C. Comunicação Pessoal. Campinas, SP,
UNICAMP, 1986.
74. HACKLER, L.R.; HAND, D.B.; STEINKRAUS, K.H.; VAN BUREN,
J.F. A comparison of the nutritional value of protein
from several soybean fractions. J. Nutr., 80: 205-10,
1963.

75. HACKLER, L.R. & STILLINGS, B.R. Amino acids composition of heat processed soymilk and its correlation with nutritive value Cereal Chem., 44(1) :69-77, 1967.
76. HAFNER, F.H. Multi-purpose food; valuable aid to improved nutrition. Soyb. Dig., 21(8): 20-1, 1961.
77. HERMANSSON, A.M. Methods of studying functional characteristics of vegetable proteins. J. Amer. Oil Chem. Soc., 56(3): 272-8, 1979.
78. HILDEBRAND, D.F. & HYROWITZ, T. Two soybean genotypes lacking lipoxygenase-1. J. Amer. Oil Chem. Soc., 49: 33-5, 1981.
79. HILDEBRAND, D.F. & KITO, M. Role of lipoxygenases in soybean seed protein quality. J. Agric. Food Chem., 52: 815-9, 1984.
80. HOUSTON, G.O. Nutritional properties of rice. Washington, National Research Council, National Academy of Science, 1970. s.p.
81. HUHN, S. Efeito do ión cúprico no sabor do "leite de soja". Vicensa, MG, UFV, 1977. 42 p. (Tese M.S.).

82. HUTTON, C.W. & CAMPBELL, A.M. Functional properties of a soy concentrate and a soy isolate in simple systems. J. Food Sci., 42(2): 454-6, 1977.
83. HYMOWITZ, T.; COLLINS F.I.; PANCZNER, J.; WALKER, W.H. Relationship between the content of oil, Protein and sugar in Soybean. Agron. J., 64: 613-6, 1972.
84. IABEROZA, M. Atividade da fosfolipase D e lipoxygenase em soja, caracterização bioquímica e comportamento durante o armazenamento. São Paulo, USP, 1986. 61 p. (Tese M.S.).
85. IDROGO, I.H.A. Farinha desengordurada de soja e carne de frango processadas por extrusão. Viçosa, MG, UFV, 1984. 57 p. (Tese M.S.).
86. KALBRENER, J.E.; WERNER, K.; ELDIDGE, A.G. Flavors derived from linoleic and linoleic acid hydroperoxides. Cereal Chem., 51: 406, 1974.
87. KAKADE, M.L. Biochemical and nutritional assessment of different varieties of soybeans. J. Agric. Food Chem., 20(1): 81-90, 1972.
88. KAKADE, M.L.; RACKIS, J.J.; McGHEE, J.E.; PUSKI, G. Determination of trypsin inhibitor activity of soy

products: a collaborative analysis of an improved procedure. Cereal Chem., 51: 376-9, 1978.

89. KAKUDA, Y.; STANLEY, D.W.; VAN DE VOORT, F.R. Determination of TBA number by high performance liquid chromatography. J Amer. Oil Chem. Soc., 58: 773-5, 1981.

90. KELLOR, R.L. Defatted Soy Flour and Grits. J Amer. Oil Chem. Soc., 51(1): 77-80, 1974.

91. KINGELLA, J.E. Functional properties of soy proteins. J. Am. Oil Chem. Soc., 56(3): 242-50, 1979.

92. KITAMURA, K.; DAUIES, C.S.; KAIZUMA, N.; NIELSEN, N.C., Genetic analysis of a null-allele for Lipoxygenase-3 in soybean seed. Crop. Sci., 23: 924-7, 1984.

93. LABUZA, T.P. Kinetic of lipid oxidation in foods. CRC Crit. Rev. Food Technol., 2: 355-405, 1971.

94. LAM-SANCHEZ, A. Production and nutritive value of soybeans. Arch. Latinoamer. de Nutr., 28(2): 155-68, 1978.

95. LARKINS, B.A. Genetic engineering of seed storage proteins. In: KOSUGE, T., et alii eds. Genetic engineering of plants, s.l., Plenum, 1983. p. 93-117.

96. LEONI, O.; IORI, R.; FAIMERI, S. Purification and properties of lipoxygenase in Germinating sunflower Seeds. J. Food Sci., 50: 88-92, 1985.
97. LIENER, I.E. Nutritional value of food protein products. In: SMITH, A.K. & CIRCLE, S.J. Soybean chemistry and technology. Westport, Conn, AVI, 1972. v. 1, cap. 7, p. 203-77.
98. LIENER, I.E. Significance for humans of biologically active factors in soybeans and other food legumes. J. Amer. Oil Chem., 56: 121-9, 1979.
99. LIENER, I.E. Factors affecting the nutritional quality of soya products. J. Amer. Oil Chem., 58: 406-15, 1981.
100. LISSANT, K.J. Making and breaking emulsion In: Emulsions and emulsion technology. New York, Basel, 1974. p. 72-iii.
101. MAN, J.M.; STANLEY, D.W.; RASPER, V. Composition of Ontario soybeans and soymilk. Can. Inst. Food Sci. Technol. J., 8(1): 1-8, 1975.
102. MAN, J.M. Principles of food chemistry. In DeMAN, J. M. Lipids. 3. ed., Westport, Conn., AVI, 1980. p. 61-9.

103. MARTINEZ, J.L.L. Estudo do processamento e avaliação nutricional de misturas contendo leite de soja, milho, leite de vaca e soro de queijo. Campinas, UNICAMP, S.P., 1975. 98 p. (Tese M.S.).
104. MCWATTERS, K.H. & HOMES, M.R. Influence of pH and salt concentration on nitrogen solubility and emulsification properties of soy flour. J. Food Sci., 44(3): 770-3, 1979.
105. MILLERD, A. Biochemistry of legume seed proteins. Palo Alto. Ann. Rev. Plant. Physiol., 26: 53-72, 1975.
106. MORAES, M.A.C. Métodos para avaliação sensorial de alimentos. 6. ed., Campinas, UNICAMP, 1988. 93 p.
107. MOREIRA, M.A.; HERMODSON, M.A.; LARKINS, B.A.; NIELSEN, N.C. Partial Characterization of the acidic and basic Polypeptides of glycinin. Arch. Biochem. Biophys., 210(2): 633-42, 1979.
108. MOORE, S. & STEIN, W.H. Chromatography of aminoacids on sulfonated polystyrene resins. J. Biol. Chem., 192(1): 663-81, 1951.
109. MUSTAKAS, G.C.; ALBHRECHT, W.J.; BOOKWALTER, G.N.; SOHNS, V.E.; GRIFFIN, E.L. New process for low-cost,

- high-protein beverage base. Food Technol., 25(5): 80-6, 1971.
110. NAHAS, E. Tempo de farelo de soja. Piracicaba, ESALQ, 1978. 54 p. (Tese M.S.).
111. NASH, N.H. & BRINCKMAN, L.M. Food emulsifiers - science and art. Symposium: Fats and Oils in Food Industry. J. Amer. Oil. Chem., 42: 457-61, 1972.
112. NATH, J.P. & RAO, M.S.N. Functional properties of guar proteins. J. Food Sci., 46(4): 1255-9, 1981.
113. NELSON, A.I.; STEIMBERG, M.P.; WEI, L.S., Illinois process for preparation of soymilk. J. Food. Sci., 41(1): 57-61, 1976.
114. OLIVER, A.; HSIEH, L.; HUANG, S.; CHANG, S.S. Isolation and identification of objectionable volatile flavor compounds in defatted soybean flour. J. Food. Sci., 47: 16-8, 1982.
115. OPIĘNSKA-BLAUTH, J.; CHAREZIŃSKI, M.; BEBÉC, H. A new, rapid method of determining tryptophan. Anal. Biochem., 6: 69-76, 1963.
116. PANEMANGALORE, M.; GUTTIKAR, M.N.; RAO, M.N.; RAJALAKSHMI, D.; SWAMINATHAN, M. Studies on processed

- protein foods based on blends of groundnut, Bengal gram, soybean and sesame flour and fortified with minerals and vitamins. III Supplementary value to a poor Indian kaffir corn diet. J Nutr Diet, 2: 28-33, 1965.
117. PARPIA, H.A.B. Increased production and utilization of legumes for supplementing human diets. In: SCRIMSMAN, N.S. & ALISCHUL, A.M., eds. Amino acid fortification of protein foods, Massachusetts, s.ed., 1971. p. 103-25.
118. PENNONE, A.J.J. Projeto de identificação classificação e padronização do leite de soja. São Paulo, Associação Brasileira Pró-leite de Soja e seus Derivados, SP. 1989. 20 p.
119. PERECIN, D. & MALHEIROS, E.B. Procedimentos para comparações múltiplas. Lavras, ESAL, 1989. 67 p.
120. PEREIRA, L. & CAMPOS, S.D.S. Produtos a base de soja em programas institucionais. B. SERCIA, 15(2): 147-74, 1981.
121. PEREIRA, M. Evolução de compostos carbonilicos em isolinhas de soja sem lipoxygenases. Viçosa, MG, UFV, 1991. 70 p. (Tese M.S.).

122. PEREIRA, A.S. Caracterização físico-química e funcional das proteínas de sementes de moranga (*Cucurbita maxima Duchesnei*). Viçosa, MG, UFV, 1984. 73 p. (Tese M.S.).
123. PICCOLO, M. F. Seleção de variedades comerciais de soja (*Glycine Max (L.) Merrill*) para o preparo do leite vegetal. Lavras, ESAL, MG, 1980. 99 p. (Tese M.S.).
124. PINHEIRO, A.J.R. Comunicado Pessoal. Departamento de Tecnologia de Alimentos. U.F.V. Viçosa, MG. 1991.
125. PINHEIRO, A.J.R.; MOSQUIM, M.C.A.; PINHEIRO, M.I.C. Processamento de leite de consumo. Viçosa, MG, UFV, CCPL, DETAL, 1978. 183 p.
126. PUPO, L.M.; CHAIB, M.A.; GARRUTI, R.S.; PEREIRA, L., Estudo sensorial do leite de soja. R. Bras. Technol., 6(3): 111-6, 1975.
127. PUSKI, G. Modification of functional properties of soy proteins by proteolytic enzyme treatment. Cereal Chem., 52(4): 655-64, 1975.
128. RACKIS, J.J. Biological and physiological factors in soybeans. J. Amer. Oil Chem. Soc., 29: 161-74, 1974.

129. RACKIS, J.J.; SESSA, D.J.; HONIG, D.H. Flavor problems of vegetable food proteins. J Amer Oil Chem. Soc., 56: 262-71, 1979.
130. RAMOS, V. Comportamento de linhagens de soja com genes para ausência de lipoxygenases na produção de compostos de sabor desagradável. Viçosa, MG, UFV, 1990. 54 p. (Tese M.S.).
131. REZENDE, S.T. Efeitos da eliminação genética das lipoxygenases L1 e L3 e de características físicas no teor de n-hexanal em grãos de soja. Viçosa, MG, UFV, 1986. 41 p. (Tese M.S.).
132. ROHR, R. Óleo e gorduras vegetais; seus produtos protéicos. Campinas, UNICAMP, 1973. 184 p.
133. ROLIM, H.M.V. Avaliação nutricional de proteína de soja texturizada por extrusão. Viçosa, MG, UFV, 1977. 55 p. (Tese M.S.).
134. RUSSEL, L.F. The role of lipoxygenase in soy milk off-flavors. s.l., Guelph University, 1977. 20 p. (mimeografado).
135. SABBAGH, M. Umidade relativa de equilíbrio e oxidação de lipídios em farinha de castanha do pará, macadâmia e soja. Piracicaba, ESALQ, 1985. 101 p. (Tese M.S.).

136. SANTOS, L.K. & ZANETTI, E.L.S. Obtenção, purificação e usos de lecitina de soja. In: MIYASAKA, S. ed. A Soja no Brasil. s.l., 1981. p. 963.
137. SEAL, R. & LUCAS, T. Functional vegetable proteins. Int. Flav. Food Add., 2(3): iii-4, 1978.
138. SESSA, D.J. Flavor considerations of soy protein products. Food Prod. Develop., (2): 62-4, 1977.
139. SGARBIERI, V.C. Alimentação e nutrição: fator de saúde e desenvolvimento. Campinas, S.P., UNICAMP, 1977. 387 p.
140. SHEHATA, A.A.Y. & THANNOUN, H.M. Extractability of nitrogenous constituents from Iraque mung bean as affected by pH, salt type and other factors. J. Agric. Food Chem., 22(1): 53-7, 1981.
141. SHELEF, L.A. & MORTON, L.R. Soybean protein foods. Use and acceptance in institutional feeding. Food Technol., (4): 44-50, 1976.
142. SHEN, J.L. Solubility profile intrinsic viscosity and optical rotation studies of acid precipitated soy protein and of commercial soy isolated. J. Agric. Food Chem., 24(4): 784-8, 1976.

143. SILVEIRA, I.L.; FLÁVIO, E.F.; OLIVEIRA, S.A.M. Soia, o alimento e a nutrição. Viçosa, MG, UFV, 1989. 58 p.
144. SMITH, A.K. & CIRCLE, S.J. Soybeans, chemistry and technology. Westport, AVI, Publishing Company , v.1. 1978. v.1, 407 p.
145. SMITH, A.K. & WOLF, W.J. Food uses and properties of soybean protein. I Food uses. Food Technol., 15(5): 4-10, 1961.
146. SMITH, C.R. Comparison of solubility characteristics of selected seed proteins. J Agric Food Chem., 2(2): 133-6, 1959.
147. SOLOMON, J.B.; DOREA, J.G.; GARRONE Jr., D. O extrato hidrossolúvel de soja integral na alimentação infantil. In: MIYASAKA, S. & MEDINA, J.C., eds. A Soia no Brasil. s.l., 1981. p. 890-2.
148. SONNTAG, N.O.V. Structure and composition of fats and oil. In: SWERN, D. Bailey's industrial oil and fat products. 4 ed. New York, Wiley Interscience, 1979. v.1., p. 1-98.
149. SPACKMAN, D.H.; STEIN, W.H.; MOORE, S. Automatic recording apparatus for use in the chromatography of aminoacids. Anal. Chem., 30(7): 1190-206, 1958.

150. SPECK, L.M. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. Washington, D.C., Intersociety Agency Committee on Microbiological Methods for Food, 1976. s.p.
151. St. ANGELO, A.J.; HUCK, J.C.; ORY, R.L. Role of lipoxygenase and lipid oxidation in quality of oil seeds. J. Agric. Food Chem., 27: 229, 1979.
152. STASWICK, P.E.; HERMODSON, M.A.; NIELSEN, N.C. Identification of the acid and basic subunit complexes of glycinin. J. Biol. Chem., 256(16): 7525, 1981.
153. STEIN, M.A.C.F. Caracterização comparativa de alguns fatores nutricionais e antinutricionais em farinha de soja e tempeh. Piracicaba, ESALQ, 1980. 62 p. (Tese M.S.).
154. STEINKRAUS, K.H. Soybean milk processing and technology. Appl. Nutr., 4(2): 49-62, 1976.
155. TAVARES, J.T.Q. Avaliação da redução de atividade das isoenzimas lipoxygenases na geracão F₄ de linhagens de soja IAC-B com germoplasma -11, -12 e -13. Campinas, UNICAMP, 1991. 103 p. (Tese M.S.).

156. TAVARES, J.T.Q.; TAVARES, D.Q.; MIRANDA, M.A.C.
Atividade das lipoxigenases de soja em retrocruzamento de I_{AC}8 com -L1, -L2 e -L3. Acta Biol. Technol., 35(1): 15-21, 1992.
157. TEIXEIRAS, N.R.O.; ALMEIDA, V.A.; OKARA, M. Adsorção de Umidade pelo Farelo de Soja Desengordurado em Diferentes Condições Ambientais. Col. ITAL., 11: 15-35, 1980.
158. THANH, V.H. & SHIBASAKI, K. Beta conglycinin from soybean protein. Isolation and immunological and physiological properties of the monomer forms. Biochem. Biophys. Acta, 490: 370-84, 1977.
159. TIESENHAUSEN, I.M.E.V. von & NEIVA, R.S. Leite de soja na alimentação de bezerros. Gado Hol., 41(78): 44, 1978.
160. TOMBS, M.P. Protein bodies of the soybean. Pl. Physiol., 42(6): 797-813, 1967.
161. VEIGA, G.V. Efeito de complexantes e enzimas proteolíticas sobre o teor protéico do leite de soja (*Glycine max* (L.) Merrill) extraído da variedade UEFY-1. Lavras, MG, ESAL, 1984. 86 p. (Tese M.S.).

162. VIDAL, J.C. Ultrafiltração de soro láctico e aproveitamento de seus componentes. ABIA/SAPRO, 45: 10-8, 1979.
163. VISENTAINER, J.V. Efeito da atividade de lipoxygenase no teor de n-hexanal em farinhas de soja (Glycine max). Viçosa, MG, UFV, 1986. 51 p. (Tese M.S.).
164. VLIEGENTHART, J.F.G.; VELDINK, G.A.; BOLDING, J. Recent progress in the study on the mechanism of action of soybean lipoxygenase. J. Agric. Food Chem., 27: 623-6, 1979.
165. WEISBERG, S.M. Nutritional experience with infant formulas containing soy. J. Amer. Oil Chem. Soc., 51(1): 204-7, 1974.
166. WEISS, T.J. Food oils and their uses. Westport, Conn., AVI, 1980. 224p.
167. WILKENS, W.F. & HACKLER, L.R. Effect of processing conditions on the composition of soymilks. Cereal Chem., 46(4): 391-7, 1969.
168. WOLF, W.J. Lipoygenases and flavor of soybean protein products. J. Agric. Food Chem., 23: 136-41, 1975.

169. WOLF, W.J. Purification and properties of the proteins. In: SMITH, A.K. & CIRCLE, S.J., eds. Soybeans; chemistry and technology. Westport, AVI, 1978. v. 1, cap. 4, p. 93-143.
170. WOLF, W.J. Soybean proteins; their functional, chemical and physical properties. J Agric Food Chem., 18(6): 969-75, 1970.
171. WOLF, W.J. What is soy protein? Food Technol., 26(5): 44-54, 1972.
172. WOLF, W.J. & SLY, D.A. Cryoprecipitation of soybean 11S protein. Cereal Chem., 44(6): 653-68, 1967.
173. YAU-LAI, LO. W.; STEINKRAUS, K.H.; HAND, D.B.; HACKLER, L.R.; WILKENS, W.F. Soaking soybeans before extraction as it affects chemical composition and yield of soymilk. Food Technol., 22(9): 138-40, 1968.
174. YOKOYA, F. Recentes contribuições de tecnologia de alimentos na nutrição humana. E ITAL., (23): 49-83, 1970.

APÊNDICE

APÊNDICE A

QUADRO 1A - Análise de variância da regressão dos dados referentes ao peso do extrato líquido (PEL) como variável dependente, e porcentagem de óleo (PO) e proporção farinha:água (PAF) como variável independente.

| Causas de Variação | GL | S.Q. | Q.M. |
|---------------------|------|--------------|--------------|
| Regressão | 2 | 406,714800 | 203,357400** |
| Desvio da Regressão | 33 | 0,869570 | 0,026350 |
| Tratamento | (35) | (407,584370) | -- |
| Resíduo | 108 | 0,477000 | 0,004416 |

** - Significativo a 1% de probabilidade pelo teste F.

QUADRO 2A - Análise de variância da regressão dos dados referentes ao teor de proteína (PROT) como variável dependente e porcentagem de óleo (PO) e proporção farinha:água (PAF) como variável independente.

| Causas de Variação | GL | S.Q. | Q.M. |
|---------------------|------|-------------|-------------|
| Regressão | 2 | 21,197096 | 10,598548** |
| Desvio da Regressão | 33 | 0,554531 | 0,016804 |
| Tratamento | (35) | (21,751627) | - |
| Resíduo | 108 | 0,048100 | 0,000445 |

** - Significativo a 1% de probabilidade pelo teste F.

QUADRO 3A - Análise de variância da regressão dos dados referentes ao teor de lipídios (LIP) como variável dependente, e porcentagem de óleo (PO) e proporção farinha:água (PAF) como variável independente.

| Causas de Variação | GL | S.Q. | Q.M. |
|---------------------|------|--------------|-------------|
| Regressão | 5 | 164,450400 | 32,890080** |
| Desvio da Regressão | 30 | 2,018280 | 0,067276 |
| Tratamento | (35) | (166,468680) | - |
| Resíduo | 108 | 0,047275 | 0,000438 |

** - Significativo a 1% de probabilidade pelo teste F.

QUADRO 4A - Análise de variância dos dados de teores de proteínas do EHSS-F/G provenientes das combinações entre emulsificantes (EMUL), proporções água:farinha (PAF) e porcentagem de óleo (PO).

| Causas de Variação | GL | S.Q. | Q.M. |
|--------------------|----|-----------|------------|
| EMUL | 4 | 5,024803 | 1,256201** |
| PAF | 2 | 11,763875 | 5,881938** |
| PO | 1 | 0,578241 | 0,578241** |
| EMUL X PAF | 8 | 0,628267 | 0,078533** |
| EMUL X PO | 4 | 0,082363 | 0,020591** |
| PAF X PO | 2 | 0,010302 | 0,005151** |
| EMUL X PO X PAF | 8 | 0,065907 | 0,008238** |
| Resíduo | 90 | 0,024075 | 0,000268** |

** - Significativo a 1% de probabilidade pelo teste F.

QUADRO SA - Análise de variância dos dados de teores de lipídios do EHSS-F/G provenientes das combinações entre emulsificantes (EMUL), proporções água:farinha (PAF) e porcentagem de óleo (PO).

| Causas de Variação | GL | S.Q. | Q.M. |
|--------------------|----|------------------------|-------------|
| EMUL | 4 | 13,748747 | 3,437187** |
| PAF | 2 | 28,074155 ¹ | 14,037077** |
| PO | 1 | 13,180441 | 13,180441** |
| EMUL X PAF | 8 | 6,249503 | 0,781188** |
| EMUL X PO | 4 | 1,604913 | 0,401228** |
| PAF X PO | 2 | 0,214982 | 0,107491** |
| EMUL X PO X PAF | 8 | 1,047577 | 0,130947** |
| Resíduo | 90 | 0,017675 | 0,000196** |

** - Significativo a 1% de probabilidade pelo teste F.

QUADRO 6A - Análise de variância do desdobramento da interação emulsificante x porcentagem de óleo (20 e 30%) x proporção de farinha:água (1:10, 1:12, 1:14), considerando os emulsificantes dentro da porcentagem de óleo e proporção de farinha:água, referentes aos dados de teores de proteínas.

| Causas de Variação | GL | Quadrados Médios | | | | | |
|--------------------|----|------------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| | | 20% | | | 30% | | |
| | | 1:10 | 1:12 | 1:14 | 1:10 | 1:12 | 1:14 |
| Emulsificante | 4 | 0,380400** | 0,146000** | 0,089895** | 0,420920** | 0,271720** | 0,147400** |
| Erro | 90 | 0,000268 | 0,000268 | 0,000268 | 0,000268 | 0,000268 | 0,000268 |

** - Significativo a 1% de probabilidade pelo teste F.

QUADRO 7A - Análise de variância da regressão do desdobramento de interação emulsificante x porcentagem de óleo x proporção farinha:água, considerando as proporções farinha:água (1:10, 1:12, 1:14) dentro de porcentagem de óleo (20 e 30%) e emulsificantes, referentes aos dados de teores de proteína como variável dependente e proporção farinha:água como variável independente.

| Causas de Variação | GL | Quadrados Médios | | | | | | | | | |
|---------------------|----|------------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| | | 20% | | | | | 30% | | | | |
| | | E1 | E2 | E3 | E4 | E5 | E1 | E2 | E3 | E4 | E5 |
| Regressão | 1 | 1,377000** | 1,256115** | 1,619998** | 1,767198** | 0,460800** | 1,465799** | 1,479200** | 1,729798** | 1,344802** | 0,288800** |
| Desvio da Regressão | 1 | 0,001666 | 0,011703 | 0,006666 | 0,002399 | 0,009599 | 0,000065 | 0,009598 | 0,005398 | 0,026666 | 0,004266 |
| Erro | 94 | 0,000268 | 0,000268 | 0,000268 | 0,000268 | 0,000268 | 0,000268 | 0,000268 | 0,000268 | 0,000268 | 0,000268 |

** - Significativo a 1% de probabilidade pelo teste F.

E1 - Lecitina

E2 - Monoestearato de glicerina destilado

E3 - Monoestearato de glicerina destilado hidratado

E4 - Lisolectina

E5 - Sem emulsificante.

QUADRO 8A - Análise de variância

do desdobramento da interação emulsificante x porcentagem de óleo (20 e 30%) x proporção farinha:água (1:10, 1:12, 1:14), considerando as porcentagens de óleo dentro de emulsificante e proporção farinha:água referentes aos dados de teores de proteína.

| Causas de Variância | G | 1:10 | | | | | 1:12 | | | | | 1:14 | | | | |
|---------------------|---|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|------------|-----------|-----------|-----------|-------------|-----------|-------------|-----------|-----------|
| | | E1 | E2 | E3 | E4 | E5 | E1 | E2 | E3 | E4 | E5 | E1 | E2 | E3 | E4 | E5 |
| Porcentagem de óleo | 1 | 0,0072*** | 0,0242*** | 0,0722*** | 0,0338*** | 0,0128*** | 0,0372*** | 0,00978*** | 0,0128*** | 0,0212*** | 0,0248*** | 0,013613*** | 0,0512*** | 0,003613*** | 0,0512*** | 0,0648*** |
| Entre | % | 0,000288 | 0,000288 | 0,000288 | 0,000288 | 0,000288 | 0,000268 | 0,000268 | 0,000268 | 0,000268 | 0,000268 | 0,000268 | 0,000268 | 0,000268 | 0,000268 | 0,000268 |
| S | | | | | | | | | | | | | | | | |

** - Significativo a 1% de probabilidade pelo teste F.

- E1 - Lecitina
- E2 - Monosteárate de glicerina destilado
- E3 - Monoesterato de glicerina destilado hidratado
- E4 - Lisolecitina
- E5 - Sem emulsificante.

QUADRO 9A - Análise de variância do desdobramento da interação emulsificante x porcentagem de óleo (20 e 30%) x proporção de farinha:água (1:10, 1:12, 1:14), considerando os emulsificantes dentro da porcentagem de óleo e proporção de farinha:água, referentes aos dados de teores de lipídios.

| Causas de Variação | GL | Quadrados Médios | | | | | |
|--------------------|----|------------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| | | 20% | | | 30% | | |
| | | 1:10 | 1:12 | 1:14 | 1:10 | 1:12 | 1:14 |
| Emulsificante | 4 | 1,487280** | 0,465995** | 0,031880** | 2,632730** | 1,004520** | 0,040280** |
| Erro | 90 | 0,000196 | 0,000196 | 0,000196 | 0,000196 | 0,000196 | 0,000196 |

** - Significativo a 1% de probabilidade pelo teste F.

QUADRO 10A - Análise de variância da regressão do desdobramento de interação emulsificante x porcentagem de óleo x proporção farinha:água, considerando as proporções farinha:água (1:10, 1:12, 1:14) dentro de porcentagem de óleo (20 e 30%) e emulsificantes, referentes aos dados de teores de lipídios como variável dependente e proporção farinha:água como variável independente.

| Causas de Variação | GL | Quadrados Médios | | | | | | | | | |
|---------------------|----|------------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| | | 20 | | | | | 30 | | | | |
| | | E1 | E2 | E3 | E4 | E5 | E1 | E2 | E3 | E4 | E5 |
| Regressão | 1 | 5,985844** | 2,121802** | 2,332799** | 6,124996** | 0,231200** | 6,516052** | 5,248800** | 0,231198** | 5,951248** | 0,336199** |
| Desvio da Regressão | 1 | 0,058014 | 0,403266 | 0,059999 | 0,001666 | 0,032266 | 0,138016 | 0,021598 | 0,021600 | 0,150417 | 0,019266 |
| Erro | 96 | 0,000196 | 0,000196 | 0,000196 | 0,000196 | 0,000196 | 0,000196 | 0,000196 | 0,000196 | 0,000196 | 0,000196 |

** - Significativo a 1% de probabilidade pelo teste F.

E1 - Lecitina

E2 - Monoestearato de glicerina destilado

E3 - Monoestearato de glicerina destilado hidratado

E4 - Lisolecitina

E5 - Sem emulsificante.

QUADRO 11A - Análise de variância

do desdobramento da interação emulsificante x porcentagem de óleo (20 e 30%) x proporção farinha:água (1:10, 1:12, 1:14), considerando as porcentagens de óleo dentro de óleo dentro de emulsificante e proporção farinha:água referentes aos dados de teores de lipídios.

| Quadradinhos Médios | | | | | | | | | | |
|-----------------------------|------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| Causas de Q Variância | 1:10 | | | | | 1:12 | | | | |
| | E1 | E2 | E3 | E4 | E5 | E1 | E2 | E3 | E4 | E5 |
| Porcentagens de óleo | | | | | | | | | | |
| de óleo | 1 | 2,691199** | 0,422800** | 0,853850** | 0,768800** | 2,091013** | 1,960200** | 0,972200** | 1,729800** | 1,216800** |
| Erro | 94 | 0,000196 | 0,000196 | 0,000196 | 0,000196 | 0,000196 | 0,000196 | 0,000196 | 0,000196 | 0,000196 |

** - Significativo a 1% de probabilidade pelo teste F.

E1 - Lecitina

E2 - Monoestearato de glicerina destilado

E3 - Monoestearato de glicerina destilado hidratado

E4 - Lisolecitina

E5 - Sem emulsificante.