

**Universidade Federal de Pelotas**  
**Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel**  
**Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial**  
**Curso de Mestrado Profissional em Ciência e Tecnologia de Alimentos**



Dissertação

**Desenvolvimento de extrato solúvel de soja com valor nutricional,  
biodisponibilidade de isoflavonas e prospecção de consumo**

**Alice Bierhals Bausch**  
Bel. Química de Alimentos

Pelotas, 2019.

**Alice Bierhals Bausch**

**Desenvolvimento de extrato solúvel de soja com valor nutricional,  
biodisponibilidade de isoflavonas e prospecção de consumo**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado Profissional em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Faculdade de Agronomia “Eliseu Maciel” da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestra em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Comitê de Orientação:

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Márcia Gularte

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Ana Paula do Sacramento Wally

Pelotas, 2019.

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas Catalogação na  
Publicação

B111d Bausch, Alice Bierhals

Desenvolvimento de extrato solúvel de soja com valor nutricional, biodisponibilidade de isoflavonas e prospecção de consumo / Alice Bierhals Bausch ; Marcia Gularte, Ana Paula do Sacramento Wally, orientadoras. — Pelotas, 2019.

61 f.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, 2019.

1. Soja. 2. Tratamento hidrotérmico. 3. Isoflavonas. I. Gularte, Marcia, orient. II. Wally, Ana Paula do Sacramento, orient. III. Título.

CDD : 664

**Alice Bierhals Bausch**

**Desenvolvimento de extrato solúvel de soja com valor nutricional,  
biodisponibilidade de isoflavonas e prospecção de consumo**

Dissertação aprovada como requisito parcial, para a obtenção do grau de Mestra em Ciência e Tecnologia de Alimentos, pelo Curso de Mestrado Profissional em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Faculdade de Agronomia “Eliseu Maciel”, Universidade Federal de Pelotas.

Data da defesa: 31 de maio de 2019.

**Banca Examinadora:**

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Márcia Gularte (Orientadora). Professora Titular da Universidade Federal de Pelotas. Doutora em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ana Paula do Sacramento Wally (Orientadora). Professora de Ensino Básico, Técnico e Tecnológico do Instituto Federal Sul-rio-grandense Campus Pelotas-Visconde da Graça. Doutora em Ciência e Tecnologia de Alimentos

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Vanessa Bauer Pestana. Professora de Ensino Básico, Técnico e Tecnológico do Instituto Federal Sul-rio-grandense Campus Pelotas-Visconde da Graça. Doutora em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Dr<sup>a</sup>. Shanise Lisie Mello El Halal, Pós-doutoranda em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela Universidade Federal de Pelotas.

## **Dedicatória**

Dedico a todos alunos que fazem ciência pensando em um amanhã mais favorável.

Aos meus pais Adir e Elzira, que dignamente me apresentaram à importância da família e ao caminho da honestidade e persistência.

Ao meu marido Matheus pelo apoio incondicional em todos os momentos, principalmente nos de incerteza, muito comuns para quem tenta trilhar novos caminhos.

A minha filha Sofia que é fonte de incentivo.

Sem vocês nenhuma conquista valeria a pena.

## **Agradecimentos**

Apesar da dissertação ser um trabalho individual, inúmeras pessoas com quem me relaciono contribuíram para essa realização.

Em primeiro lugar gostaria de agradecer a Deus, por ter me dado a oportunidade de estudar e crescer como profissional e ser humano, aprendendo com os erros, angústias e possibilitando a conquista de vitórias, seja no âmbito pessoal ou profissional.

Ao meu amado marido, Matheus, por ser tão importante na minha vida. Sempre ao meu lado, me pondo para cima e me fazendo acreditar que posso mais que imagino. Devido a seu companheirismo, amizade, paciência, compreensão, apoio, alegria e amor, este trabalho pode ser concretizado. Obrigado por tudo.

À professora Márcia Gularte, o meu reconhecimento pela oportunidade de realizar este trabalho ao lado de alguém que transpira sabedoria; meu respeito e admiração pela sua serenidade, capacidade de análise do perfil de seus alunos, e pelo seu dom no ensino da Ciência.

Às professoras Márcia Gularte e Ana Paula do Sacramento Wally, obrigado por acreditarem em meu potencial. Sempre disponíveis e dispostas a ajudar, querendo que eu aproveitasse cada segundo dentro do mestrado, vocês não foram somente orientadoras e co-orientadora, mas, em alguns momentos, conselheiras, confidentes e amigas.

Aos colegas de laboratório, pela companhia, por me ajudarem com a rotina de análises e por proporcionarem momentos de confraternização fossem eles através de almoços ou ainda um belo chimarrão regado a conversas e gargalhadas.

Ao Instituto Federal Sul-rio-grandense Câmpus Pelotas – Visconde da Graça, por favorecer a flexibilidade de horários para execução deste trabalho e de igual forma disponibilizar as dependências para efetuar a pesquisa.

À Universidade Federal de Pelotas e ao Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, por me oportunizar aperfeiçoamento gratuito e de excelência.

*“Não fui eu que ordenei a você? Seja forte e corajoso!  
Não se apavore nem desanime, pois, o Senhor, o seu  
Deus, estará com você por onde você andar.” Josué 1:9*

## Resumo

BAUSCH, A. B. **Desenvolvimento de extrato solúvel de soja com valor nutricional, biodisponibilidade de isoflavonas e prospecção de consumo.** Dissertação (Mestrado Profissional – Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS, 2019.

A soja é a principal fonte de isoflavonas, tendo sido associada a efeitos benéficos à saúde humana. A população brasileira não consome soja tão habitualmente quanto em países asiáticos e, nesse contexto, as bebidas à base de soja podem ser uma forma de incluir substâncias com biodisponibilidade na alimentação ocidental, sendo então o desenvolvimento de extrato solúvel de soja com valor nutricional, biodisponibilidade de isoflavonas e prospecção de consumo foi o objetivo do estudo. Amostras de soja oriundas do estado do Rio Grande do Sul foram a base para a produção dos extratos solúveis de soja a qual sofreram tratamento hidrotérmico, para cada ensaio utilizou-se 100g de soja acondicionados em saquinhos perfurados, imersos em água na proporção 1:5(p/v) seguindo a temperatura de 40°C por 4h, 8h e 12h e também 50°C por 4h, 8h e 12h. Após os grãos foram submetidos a produção dos extratos solúveis, drenando a água de imersão, triturando (100g/1L de água), cozimento, filtragem, adição de ingredientes (sal, açúcar e baunilha), os extratos saborizados foram analisados quanto ao perfil sensorial, composição centesimal, características físico-químicas, teor e perfil de isoflavonas biodisponíveis, as determinações foram realizadas de acordo com métodos descritos na AACC, concluindo que é possível desenvolver extrato solúvel de soja sendo que o tratamento de 4 horas a 40°C obteve-se o maior valor nutricional: 7,64% de proteína, 3,64% de carboidratos e 3,57% de lipídeos, biodisponibilidade de isoflavonas daidzeína 289,4 nmol<sup>-1</sup>, genisteína 183,7 nmol<sup>-1</sup> e gliciteína 716,7 nmol<sup>-1</sup>, alcançando maior preferência entre os julgadores. De igual forma conclui-se que o extrato solúvel de soja produzido a partir do tratamento 12 horas a 50°C não pode ser considerado extrato por não conter o mínimo de 3% de proteína conforme legislação vigente.

**Palavras Chaves:** Soja, tratamento hidrotérmico, isoflavonas, sensorial.



## Abstract

BAUSCH, A. B. **Development of soluble soy extract with nutritional value, bioavailability of isoflavones and prospecting of consumption.** Dissertação (Mestrado Profissional – Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS, 2019.

Soy is the main source of isoflavones and has been associated with beneficial effects on human health. The Brazilian population does not consume soy as commonly as in Asian countries and, in this context, soy-based beverages may be a way of including substances with bioavailability in western food, and the development of soluble soy extract with nutritional value, bioavailability of isoflavones and prospecting of consumption was the objective of the study. Soy samples from the state of Rio Grande do Sul were the basis for the production of soluble extracts of soybeans, which were hydrothermal treated. For each test, 100 g of soybeans were used, packed in perforated bags, immersed in water in a ratio of 1: 5 (w / v) following the temperature of 40 ° C for 4h, 8h and 12h and also 50 ° C for 4h, 8h and 12h. After the grains were submitted to the production of the soluble extracts, draining the immersion water, crushing (100g / 1L of water), cooking, filtration, addition of ingredients (salt, sugar and vanilla), flavored extracts were analyzed for the sensorial profile , centesimal composition, physicochemical characteristics, content and bioavailable isoflavone profile, determinations were performed according to the methods described in the AACC, concluding that it is possible to develop soluble soybean extract and that the treatment of 4 hours at 40 ° C, the highest nutritional value: 7.64% protein, 3.64% carbohydrates and 3.57% lipids, bioavailability of isoflavones daidzein 289.4 nmol<sup>-1</sup>, genistein 183.7 nmol<sup>-1</sup> glycitein 716.7 nmol<sup>-1</sup>, reaching higher preference among the judges. It is also concluded that the soluble extract of soybean produced from the 12 hour treatment at 50 ° C can not be considered as an extract because it does not contain a minimum of 3% protein according to the current legislation.

**Key words:** Soybean, hydrothermal treatment, isoflavones, sensorial.

## Lista de figuras

<b>Figura 1:</b>	Estrutura química da isoflavonas.....	22
<b>Figura 2:</b>	Principais etapas para obtenção de extrato hidrossolúvel de soja.....	26
<b>Figura 3:</b>	Maceração de grãos de soja em saquinhos perfurados.....	29
<b>Figura 4:</b>	Fluxograma Experimental do tratamento hidrotérmico dos grãos de soja.....	30
<b>Figura 5:</b>	Fluxograma de produção do extrato solúvel de soja de grãos tratados.....	30
<b>Figura 6:</b>	Teste de preferência aplicado ao extrato solúvel de soja saborizado.....	33
<b>Figura 7:</b>	Determinação de isoflavonas $\text{nmol}^{-1}$ em extrato solúvel de soja saborizado.....	42
<b>Figura 8:</b>	Teste de preferência para atributo de avaliação global em extrato solúvel de soja saborizado.....	46
<b>Figura 9:</b>	Teste de preferência para avaliação do atributo sabor em extrato solúvel de soja saborizado.....	46
<b>Figura 10:</b>	Análise de frequência para teste de ordenação dos extratos solúveis de sojas saborizados.....	48

## Lista de tabelas

<b>Tabela 1:</b>	Composição centesimal (%) dos extratos solúveis de soja saborizados .....	37
<b>Tabela 2:</b>	Caracterização físico química dos extratos solúveis de soja saborizados .....	40
<b>Tabela 3:</b>	Determinação da atividade ureática dos extratos solúveis de soja saborizados.....	41
<b>Tabela 4:</b>	Determinação de isoflavonas $\text{nmol}^{-1}$ dos extratos solúveis de soja saborizados.....	43
<b>Tabela 5:</b>	Avaliação de atributos dos extratos solúveis de soja saborizados .....	47
<b>Tabela 6:</b>	Teste de Friedman na tabela de Newell e MacFarlane, para verificação de diferenças significativas entre os tratamentos dos extratos solúveis de soja saborizados.....	49

## Sumário

1 Introdução.....	13
2 Objetivos.....	16
2.1 Geral.....	16
2.2 Específico.....	16
3 Revisão de Literatura.....	17
3.1 Soja.....	17
3.1.1 Cultura e produção.....	17
3.1.2 Características funcionais.....	19
3.2 Alimentos funcional.....	20
3.3 Isoflavonas.....	22
3.4 Extrato hidrossolúvel de soja.....	24
3.4.1 Processamento do extrato solúvel de soja.....	25
4 Material e método.....	28
4.1 Materiais.....	28
4.1.1 Amostras.....	28
4.1.2 Reagentes.....	28
4.2 Métodos.....	28
4.2.1 Tratamento hidrotérmico.....	28
4.2.2 Produção dos extratos solúveis de soja saborizados.....	30
4.3 Avaliações.....	31
4.3.1 Composição centesimal dos extratos solúveis de soja.....	31
4.3.2 Análise sensorial.....	31
4.3.2.1 Definição do sabor dos extratos solúveis de soja.....	32
4.3.2.2 Teste de preferência.....	32
4.3.2.3 Teste de avaliação de atributos.....	33
4.3.2.4 Teste de ordenação.....	34
4.3.2.5 Teste de aceitação.....	34
4.3.3 Determinação da atividade ureática.....	34
4.3.4 Extração e quantificação de isoflavonas.....	35
4.4 Análise estatística dos resultados.....	36

5 Resultados e discussão.....	37
5.1 Caracterização das amostras.....	37
5.2 Atividade ureática.....	40
5.3 Avaliação do perfil das isoflavonas.....	42
5.4 Análise sensorial.....	45
5.4.1 Avaliação de atributos.....	47
5.4.2 Índice de aceitação.....	49
6 Conclusão.....	50
Referencias.....	51

## 1 Introdução

Existe atualmente uma preocupação crescente por parte dos consumidores com a alimentação e sua relação com saúde e longevidade. Essa preocupação cria um grande mercado para alimentos que possam beneficiar a saúde (EMBRAPA, 2018). Conforme Oetterer (2006) uma alimentação adequada, segundo o conceito antigo dos japoneses, deve ser boa, nutritiva e promover saúde.

A soja possui em sua composição cerca de 20% de óleo, 35% de carboidratos, 5% de cinzas e 40% de proteínas (LIENER, 1994). A importância da soja na nutrição humana era atribuída ao seu elevado teor proteico de bom valor biológico. Entretanto, hoje se sabe que os grãos de soja são também uma fonte rica de fito químicos, os quais conferem importantes efeitos benéficos à saúde humana e animal (SETCHELL; CASSIDY, 1999). Esses efeitos parecem relacionar-se à presença de isoflavonas, denominadas fito estrógenos, devido à capacidade de provocar uma resposta semelhante ao estrogênio em experimentos com animais (GENOVESE et al., 2003).

A soja é fonte de vários componentes de ação funcional, sendo uma Fabaceae de uso milenar, que vem se destacando na prevenção de cânceres hormônio-dependentes, doenças cardiovasculares e na diminuição dos sintomas da menopausa (SALGADO, 2001). Pelos seus benefícios, sua inclusão na dieta diária é recomendável, como uma estratégia alternativa para a prevenção e controle de algumas doenças (HAGEN, 2006).

As isoflavonas são compostos fenólicos de distribuição bastante restrita no reino vegetal. Apresentam-se em concentrações relativamente maiores nas leguminosas e, em particular, na soja, sendo que as principais isoflavonas encontradas na soja e seus derivados são a daidzeína, a genisteína e a gliciteína, as quais se apresentam com várias formas de conjugados glicosídicos, dependendo da extensão e do tipo de processamento utilizados durante a fabricação dos produtos à base de soja. O teor de isoflavonas nos alimentos é afetado por diversos fatores, que incluem condições ambientais e genéticas, além do processamento, os quais determinam a concentração e o

perfil das isoflavonas nos produtos e nos alimentos que os contêm como ingredientes (GENOVESE; LAJOLO, 2001).

Inúmeros estudos epidemiológicos têm demonstrado redução na incidência de câncer de mama, próstata e cólon em populações asiáticas, nas quais o consumo per capita de soja é cerca de 20 a 50 vezes maior que nas populações ocidentais. Em estudos realizados com humanos, a ingestão diária de 25g de proteína isolada de soja reduziu os níveis plasmáticos de colesterol total e LDL-colesterol, sendo este efeito proporcional a quantidade de isoflavonas presentes nos alimentos (CROUSE et al, 1999). Estudos mais recentes têm associado o consumo da soja à proteção contra os danos causados pela obesidade; redução do risco de doenças cardiovasculares e aterosclerose, além da interferência na produção e/ou sensibilidade à insulina (BHATHENA; VESLASQUEZ, 2002; SITES et al., 2007; VESLASQUEZ; BHATHENA, 2007).

Pelo exposto, os benefícios da soja à saúde humana são claramente um ponto importante para a promoção deste alimento junto ao consumidor. Apesar do grande potencial do extrato de soja, este produto apresenta baixa aceitação no Brasil, provavelmente devido ao sabor e aroma desagradáveis ao paladar dos consumidores. Entretanto, a indústria tem utilizado novas tecnologias para a obtenção do extrato de soja, o que melhorou a sua qualidade sensorial. Novos produtos comerciais à base de extrato hidrossolúvel de soja ou isolado proteico de soja em combinação com sucos de frutas e/ou ingredientes aromatizantes têm obtido êxito no mercado, indicando que os consumidores estariam mudando sua atitude em relação a estes produtos (BEHRENS; SILVA, 2004).

Diante disso, o trabalho visa inovar os processos de industrialização de grãos de soja, dinamizando os métodos que adequam a soja para alimentação humana. A proposta consiste em utilizar tratamentos hidrotérmicos, não somente para favorecer a concentração de isoflavonas biodisponíveis em produtos de soja, mas promover a inativação das enzimas lipoxigenase e a destruição de fatores antinutricionais aliados ao processo. Com isso, a indústria do ramo ganha tempo e redução de gastos energéticos nos processos

industriais térmicos, além de poder ofertar ao mercado, derivados da soja ricos em compostos bioativos, alegação que está em alta no mercado alimentício.



## **2 Objetivos**

### **2.1 Geral**

Desenvolver extrato solúvel de soja saborizado com alto valor nutricional, biodisponibilidade de isoflavonas e avaliar potencial de consumo.

### **2.2 Específicos**

Obter extrato solúvel de soja saborizado rico em isoflavonas bioativas (agliconas) com aceitabilidade para consumo.

Avaliar efeitos do tratamento hidrotérmico no aumento da biodisponibilidade das isoflavonas e destruição de fatores antinutricionais em extrato solúvel de soja saborizado.

Avaliar a aceitação sensorial e identificar o potencial de consumo no extrato solúvel de soja saborizado.

### **3 Revisão de literatura**

#### **3.1 Soja**

##### **3.1.1. Cultura e Produção**

Cultivada há milênios pelos orientais, a soja (*Glycine max (L.) Merril*) é hoje reconhecida como uma das principais fontes de proteína e óleo vegetal no mundo – e o Brasil é um dos seus principais produtores. É esperado que a produção de soja no Brasil cresça 2,6% ao ano, o maior crescimento dos principais produtores, pois dispõe de mais território, quando comparado com a Argentina (2,1% por ano) e os Estados Unidos (1,0% por ano). Conseqüentemente, projeta-se que o Brasil deverá ultrapassar os Estados Unidos como o produtor de soja. As exportações de soja em 2026 serão dominadas pelo Brasil e Estados Unidos que, juntos, respondem por quase 80% das exportações mundiais (FAO, 2017).

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária aprovou a alegação: “O consumo diário de no mínimo 25g de proteína de soja pode ajudar a reduzir o colesterol. Seu consumo deve estar associado a uma dieta equilibrada e hábitos de vida saudáveis”.

A partir de então, diversos produtos foram desenvolvidos com o objetivo de fornecer alimentos com propriedades ditas funcionais. Produtos proteicos de soja têm sido utilizados para esses fins, constituindo-se como ingredientes de produtos derivados de carne, pães, bebidas, sopas e outros alimentos devido às propriedades físico-químicas da proteína de soja, que conferem textura e gelificação aos alimentos (GENOVESE; LAJOLO, 2001). A adição apropriada destes derivados de soja (isolado proteico, extrato ou concentrado de soja) resulta em produtos alimentícios menos calóricos, com proteína de boa qualidade nutricional.

A matéria-prima da soja é empregada como forrageira na alimentação e no adubo verde. O óleo extraído do seu grão é utilizado na alimentação humana, produção de biodiesel e lubrificantes. O farelo é importante na alimentação humana e animal e na fabricação de produtos (BEZERRA et al., 2015).

Segundo Hirakuri; Lazzaroto (2014) a estruturação do mercado internacional e a consolidação da soja como importante fonte de proteína especialmente para atender demanda dos setores ligados à produção de produtos de origem animal, fizeram com que a produção da oleaginosa apresentasse um crescimento expressivo. O Brasil possui significativa participação na oferta e na demanda de produtos do complexo da soja, devido ao progresso contínuo dessa cadeia produtiva.

A cultura da soja é responsável por provocar importantes mudanças na base da produção brasileira, a adaptação às condições climáticas, os ganhos genéticos em produtividade, o crédito agrícola, a evolução tecnológica e a consolidação da soja na região do Cerrado, alavancou a produção de soja no Brasil (BEZERRA et al, 2015).

A cadeia produtiva da soja gerou uma receita com valor superior a 26 bilhões de dólares, colocando o país na segunda posição, entre os maiores na produção mundial de soja, com 116,996 milhões de toneladas. Os 35,100 milhões de hectares da soja cultivados no Brasil abrangem terras de 16 estados, incluindo o Distrito Federal. O maior produtor é o estado do Mato Grosso com 31,887 milhões de toneladas, e o estado do Rio Grande do Sul é terceiro produtor brasileiro de soja com 16,968 milhões de toneladas (EMBRAPA, 2018).

A produção de soja em larga escala teve início, no Brasil, no estado do Rio Grande do Sul e, a partir de 1950, essa leguminosa se expandiu para o Sudeste, o Norte, o Nordeste e o Centro-Oeste. O progresso da soja cultura no país ocorreu devido à boa aclimação das cultivares, introduzidas às condições do sul do Brasil, consideradas semelhantes àsquelas de origem (TECNOLOGIAS DE PRODUÇÃO DE SOJA, 2011).

Segundo Bezerra et al. (2015), os fatores que contribuíram para a expansão da soja no cerrado na década de 1970 foram: aquecimento do mercado internacional; estabelecimento de parques industriais de processamento de soja; programas que incentivaram a compra de máquinas agrícolas e insumos; desenvolvimento de pesquisas e políticas governamentais de fomento à produção; topografia plana dos solos do cerrado; e regime pluviométrico favorável. Isso coincidiu com períodos de entressafra da

produção nos Estados Unidos e com o desenvolvimento de tecnologias para a produção em baixas latitudes e baixo valor das terras.

O estímulo aos ganhos de produtividade na cultura ocorreu devido ao desenvolvimento da pesquisa fitotécnica no melhoramento genético da soja – cujo objetivo foi o aumento da produtividade – como resposta à resistência a pragas e doenças, adubação, densidade e época de semeadura (BEZERRA et al., 2015).

No âmbito interno, a produção de soja tem avançado continuamente devido ao índice crescente de produtividade. Na região Sul do país, o avanço da soja ocorre pela incorporação de áreas de outros cultivos e pastagens, além da inserção da cultura em sistemas de produção da qual ela não fazia parte. Na região Centro-Oeste, a soja tem tido avanço mais significativo, sobretudo nas extensas áreas de pastagens degradadas, tanto pela incorporação dessas terras para a produção exclusiva de grãos (HIRAKURI; LAZZAROTO, 2014).

### **3.1.2 Características Nutricionais**

A soja é um alimento quase completo, que contém quantidade considerável de proteínas, lipídios, carboidratos, minerais e vitaminas, além de substâncias com funções estruturais, hormonais, atrativas e quimiopreventivas, dentre as quais se destacam as fibras, os carotenoides e os flavonoides (CARRÃO-PANNIZZI; MANDARINO, 1998).

A soja é uma leguminosa de característica peculiar, uma vez que, ao contrário dos feijões, que não apresentam gordura, aproximadamente 40% das calorias da soja provêm deste macronutriente (WU; RODGERS; MARSHALL, 2004). O óleo de soja contém ótimo perfil de ácidos graxos, sendo constituído por aproximadamente 85% de ácidos graxos poli-insaturados, podendo destacar ácido linoleico e o ácido  $\alpha$ -linolênico (MESSINA; LANE 2007).

Possui 35% de carboidratos, sendo representados pelo amido e fibras (insolúvel - celulose e hemicelulose) e solúvel (pectinas e oligossacarídeos como a estaquiose, rafinose e verbascose) (KARR-LILIENTAHAL, et al 2005). As fibras insolúveis da soja não são digeridas no trato gastrintestinal humano e atuam normalizando a mobilidade intestinal, o que reduz o risco de constipação e diverticulite. As fibras solúveis atuam diferentemente das insolúveis,

contribuindo para o controle da insulina de pacientes com diabetes tipo II e sobre a redução dos níveis sanguíneos de LDL-colesterol (CHANG, 2001).

A proteína de soja é considerada uma fonte completa, uma vez que contém praticamente todos os aminoácidos essenciais e é nutricionalmente equivalente à proteína animal (FRIEDMAN; BRANDON, 2001).

Diversos estudos têm comprovado a eficiência da proteína de soja na alimentação de crianças até um ano de idade, em homens jovens e saudáveis, na fase pré dialítica da insuficiência renal crônica, na doença de Crohn sem atividade, na desnutrição por pancreatite crônica e quando substitui total ou parcialmente a proteína animal em nutrição parenteral (MORAIS, 2007). Além disso, a ingestão da proteína da soja juntamente com os fito químicos presentes parece estar associada a melhoras dos sintomas da menopausa e redução do risco de doenças coronarianas, câncer, entre outros (MESSINA, 2004).

Apesar da alegação de alimento saudável, a soja e seus derivados encontram ainda certa resistência ao consumo humano em decorrência do sabor e odor desagradável, os quais são atribuídos à ação das enzimas lipoxigenase formando hidroperóxidos dos ácidos graxos poli-insaturados (AMARAL, 2006). Trabalhos têm sido conduzidos no melhoramento genético da soja, para reduzir a ação das lipoxigenase, e medidas tecnológicas foram propostas como o processamento térmico dos grãos para inativar as lipoxigenase (BENEVIDES et al., 2000), podendo assim aumentar a aceitabilidade da soja e de seus produtos.

### **3.2 Alimento funcional**

Alimentos funcionais contêm substâncias capazes de modular as respostas metabólicas do indivíduo, resultando em maior proteção e estímulo à saúde. Promovem o bem-estar dos indivíduos, prevenindo o aparecimento precoce de doenças degenerativas e permitindo o aumento da longevidade com qualidade de vida. Portanto, são alimentos que contêm uma ou mais substâncias capazes de atuar no metabolismo ou na fisiologia do ser humano, promovendo benefícios à saúde (PACHECO; SGARBIERI, 1999).

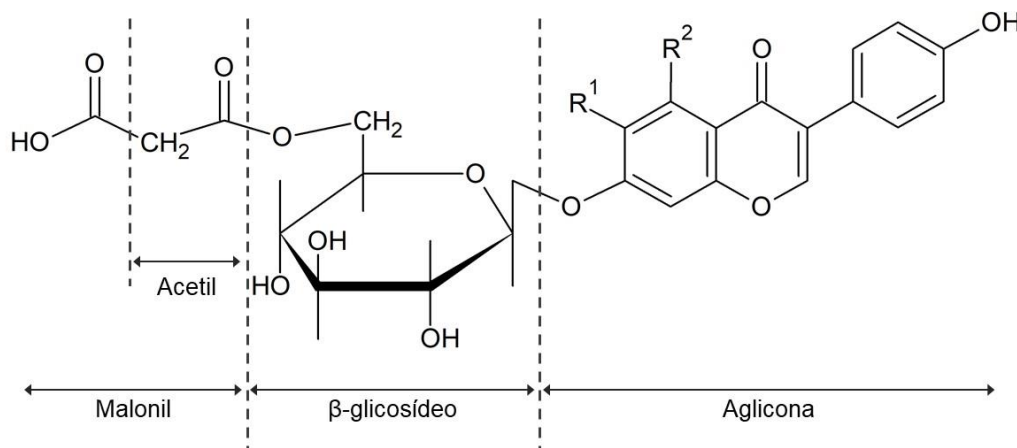
A soja e seus derivados proteicos contêm uma grande variedade de compostos fitoquímicos, os quais parecem exercer efeito anticarcinogênico. Além disso, estão também associados a efeitos anti-inflamatórios e antioxidantes, protegendo o organismo contra os danos causados pelos radicais livres. Nesse sentido, diversos compostos bioativos parecem ter um papel importante na manutenção da homeostase do organismo. São eles: inibidores de protease, saponinas, lecitinas, peptídeos bioativos e isoflavonas. Os inibidores de protease são proteínas não glicosiladas, conhecidas popularmente como inibidores de tripsina e que apresentam atividade anticarcinogênica e anti-inflamatória (LAJOLO; GENOVESE, 2002). As saponinas da soja são triterpenos contendo um grupo metílico ligado ao carbono 28 e uma molécula de ácido glicurônico ligada ao carbono 3 e, além do efeito hipocolesterolêmico associado, parecem também contribuir para a inibição do desenvolvimento de tumores, tanto *in vitro* quanto *in vivo*. Já as lecitinas presentes na soja possuem atividade benéfica sobre a microflora e mucosa intestinais, podendo reduzir o risco de atrofia do órgão durante a nutrição parenteral (LAJOLO; GENOVESE, 2007).

Por outro lado, os peptídeos bioativos da soja podem atuar como imunomoduladores e como agentes antioxidantes, estando associados à redução da pressão arterial, decorrente da inibição da atividade da enzima conversora de angiotensina (KITTS; WEILLER, 2003).

Dentre todas as substâncias presentes na soja, as isoflavonas merecem destaque. São compostos provenientes do metabolismo secundário de plantas, com estrutura básica fenólica muito semelhante à do estrógeno  $17\beta$ -estradiol. Sua origem química está no ciclo dos ácidos orgânicos, sendo formadas durante todo o período de enchimento do grão (desde 35 dias após o florescimento) (CARRÃO, 1988). Possui três isoflavonas, que se apresentam em 4 formas químicas, somando assim 12 isômeros: as agliconas daidzeína, genisteína e gliciteína; os  $\beta$ -glicosídeos daidzina, genistina e glicitina; os derivados glicosilados acetilados 6"-O- acetildaidzina, 6"-O-acetilgenistina, 6"-O-acetilglicitina e os derivados malonilados 6"-O-malonildaidzina, 6"-O-malonilgenistina, 6"-O-malonilglicitina (WANG, et al 1998).

### 3.3 Isoflavonas

Isoflavonas de soja são compostos bioativos que podem beneficiar a saúde humana e pode ser afetado durante o processamento. Isoflavonas são divididos em quatro-grupos: B-glicosídeos (daidzina, genistina e glicitina), acetilglucosídeos, malonilglucosídeos e agliconas (daidzeína, genisteína e gliciteína) conforme figura 1. As isoflavonas da soja têm sido amplamente estudadas, em especial agliconas, devido à sua capacidade de diminuir a ocorrência de câncer de mama entre outras doenças. Dessa forma há um interesse crescente em preparar produtos à base de soja com maior quantidade de agliconas e o tratamento hidrotérmico tem sido utilizado para favorecer a b-glucosidade endógena, que apresentam atividade de conversão de isoflavonas b-glicosídicas em agliconas. Portanto, a formação de agliconas nas isoflavonas são possivelmente estimuladas durante a maceração (LIMA, 2014).



**Figura 1:** Estrutura química das isoflavonas.

Fonte: o autor, 2019.

Nos alimentos, as isoflavonas presentes estão ligadas a açúcares, como B-glicosídeos. Nestas formas, não são absorvidas pelo organismo humano, devido ao elevado peso molecular e por serem bastante hidrofílicas (LIU; HU, 2002). Somente as isoflavonas livres são capazes de atravessar a membrana plasmática do epitélio intestinal (ESTEVES; MONTEIRO, 2001).

Após a ingestão, as isoflavonas conjugadas são hidrolisadas pelas glicosidases intestinais, liberando as agliconas daidzeína, genisteína e, em menor proporção, a gliciteína (PASCUAL-TERESA, 2006). Após a conversão em agliconas, cerca de 1/3 é absorvido como isoflavona livre, sendo o restante fermentado por bactérias do lúmen intestinal, transformado em metabólito específico e, posteriormente, absorvido. A daidzeína pode ser convertida em dihidrodaidzeína e O-desmetilangolensina, enquanto a genisteína é convertida no composto p-etilfenol (SETCHELL et al., 2002). O metabolismo das isoflavonas parece variar bastante entre os indivíduos e é influenciado por outros componentes dietéticos. A elevada ingestão de carboidratos, por exemplo, promove aumento dos processos fermentativos, favorecendo a ação da microflora intestinal e, conseqüentemente, a conversão da daidzeína em equol (LARKIN; PRICE; ASTHEIMER, 2008).

Conforme dito anteriormente, existe variabilidade considerável na eficiência digestiva das isoflavonas. Somente as formas agliconas e seus produtos metabólicos são absorvidos pelo epitélio intestinal, possivelmente por difusão passiva não iônica (SETCHELL et al, 2002), via micelas. A hidrólise e a absorção inicial parecem ocorrer rapidamente no duodeno e jejuno proximal durante a primeira hora do processo digestivo (SETCHELL et al, 2001; ROWLAND et al., 2003). Após a etapa absorptiva, as agliconas e/ou metabólitos são transportados pelo sistema porta-hepático até o fígado, onde são eficientemente conjugados com ácido glicurônico (95%) e, em menor proporção, com grupamento sulfato. Esta conjugação permite que as isoflavonas permaneçam na circulação por um longo período de tempo, uma vez que são transportadas via circulação sistêmica até os tecidos, de onde podem eventualmente ser excretadas pelos rins ou absorvidas e novamente conjugadas (LARKIN; PRICE; ASTHEIMER, 2008).

Diversos fatores, porém, podem influenciar a absorção de componentes do alimento, incluindo hábito alimentar, matriz alimentar, fermentação e tempo de trânsito intestinal. Em estudos de biodisponibilidade, a matéria-prima utilizada e sua distribuição de isoflavonas são fatores importantes para a determinação da farmacocinética deste fitoestrógeno e de seus potenciais efeitos fisiológicos (LARKIN; PRICE; ASTHEIMER, 2008).



Segundo Vergne, (2009) realizaram estudos com grupos de pessoas com dietas ocidentais e orientais, onde concluíram que os asiáticos absorvem as isoflavonas de forma mais eficiente do que os caucasianos. Isso pode ser justificado pelo não consumo habitual de soja pelos ocidentais, diminuindo assim as enzimas digestivas das isoflavonas, sendo demonstrado pela enzima beta-glicosidase que transforma as isoflavonas, e é um exemplo que coloniza o intestino pela alimentação de soja e seus subprodutos. O uso de medicamentos também pode afetar a microflora intestinal, como antibióticos, contribuiria na redução da biodisponibilidade de isoflavonas.

De acordo com Izumi et al. (2000), teste com isoflavonas agliconas (IFA) e isoflavonas glicosiladas (IFG) revelaram que as agliconas apresentam maior absorção em humanos se comparadas com a sua forma conjugada. As IFG necessitam de tempo maior para atingir sua concentração plasmática máxima, ao contrário do que acontece com as IFA, no entanto ainda existe bastante controvérsia sobre esse tema. Além disso, a genisteína parece ser absorvida mais eficientemente que a daidzeína, se mantendo em alta concentração plasmática. Avaliando a farmacocinética das IFG em homens japoneses depois do consumo de 60g de extrato de soja, Watanabe et al. (1998) registraram que a concentração plasmática de genisteína (1/2 vida 8,4h) foi maior do que a da daidzeína (1/2 vida 5,8h), sendo a excreção urinária da daidzeína maior que a da genisteína. No entanto, os indivíduos parecem absorver as isoflavonas de maneiras diversas. Isso pode ser devido a diferenças na microbiota intestinal. A produção de metabólitos a partir das isoflavonas pode afetar a sua bioatividade (WATANABE et al., 1998).

### **3.4 Extrato Hidrossolúvel de Soja**

Segundo a Associação Brasileira das Indústrias de Refrigerantes e de Bebidas não Alcoólicas - ABIR (2018), o consumo de bebidas à base de soja diminuiu gradualmente nos últimos anos, indo de 1,96 litro/habitante/ano em 2012 para 0,67 litro/habitante/ano em 2016, este fato pode ser explicado pois no setor de alimentos à base de soja, a linha de bebidas diminuiu a oferta passando de 380.000 litros no ano de 2012 para 137.127 litros no ano de 2016.

O extrato de soja, também conhecido como “leite” de soja, é um dos produtos obtidos a partir do grão de soja mais difundido comercialmente.

Inicialmente, o seu consumo no ocidente se restringia principalmente a pessoas com intolerância à lactose, vegetarianos e indivíduos com restrições alimentares (ROSENTHAL et al.,2002).

A expansão de consumo deste extrato tem sido impulsionada pelo novo enfoque da soja relacionada com a redução do risco de algumas doenças e pelo interesse da indústria em desenvolver alimentos com propriedade ditas funcionais. Seguindo as bebidas de soja, outras bebidas similares oriundas de fontes vegetais disputam hoje a preferência do consumidor, como por exemplo: produtos a base de arroz, aveia, coco, girassol entre outros (ABIR,2018).

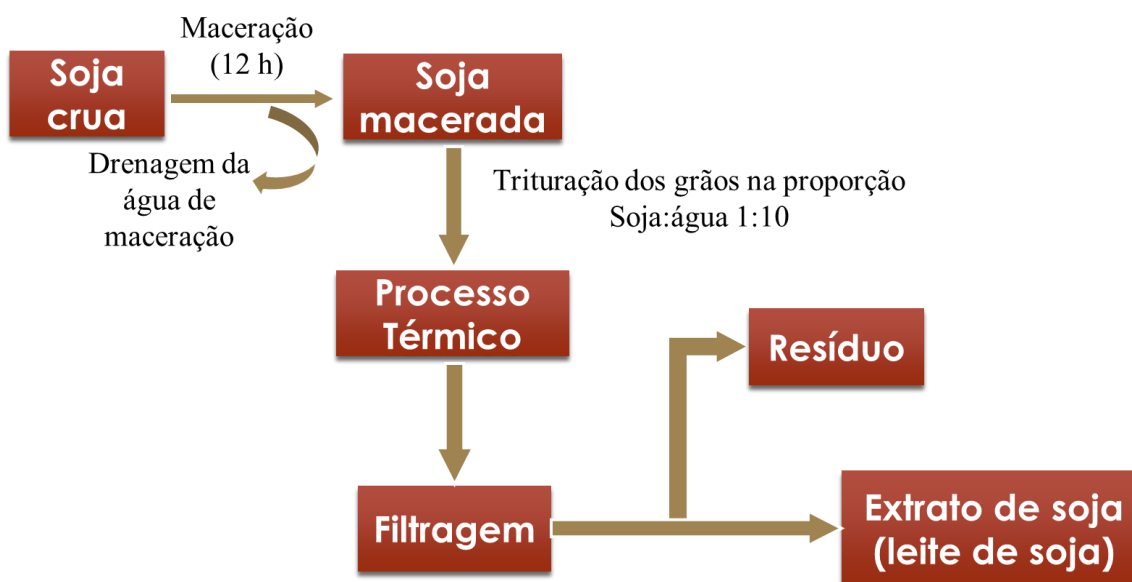
Além disso, o extrato de soja (líquido ou em pó) possui ampla aplicabilidade na indústria alimentícia, podendo ser consumido na forma de bebida ou utilizado como ingrediente em produtos lácteos, tais como iogurtes, formulados infantis, sorvetes e cremes, pois apresenta baixo custo e alto teor proteico.

Segundo a legislação de 1978: “O extrato de soja é o produto obtido a partir da emulsão aquosa resultante da hidratação dos grãos de soja, convenientemente limpos, seguido de processamento tecnológico adequado, adicionado ou não de ingredientes opcionais permitidos, podendo ser submetido à desidratação total ou parcial”.

No Ocidente, o sabor, que lembra o de feijão cru, é sem dúvida o principal inconveniente do extrato de soja tradicional. Este off-flavor característico do grão de soja provém de algumas cetonas e aldeídos, particularmente hexanais e heptanais, produzidos por reações de oxidação do óleo de soja. Algumas técnicas têm sido utilizadas para minimizar este flavor: inativação da lipoxigenase por tratamento térmico; o desengorduramento da farinha de soja para a produção de isolados e concentrados proteicos de soja; remoção de componentes voláteis por evaporação, após serem formados no extrato aquoso de soja; a adição de açúcares e ingredientes aromatizantes; utilização de variedades de soja livres de lipoxigenase (FAO, 2017).

### **3.4.1 Processamento do Extrato Solúvel de Soja**

O método convencional como esquema apresentado na figura 2, para obtenção do extrato de soja (leite de soja) consiste nos seguintes passos:



**Figura 2:** Principais etapas para obtenção de extrato hidrossolúvel de soja.  
Fonte: CIABOTTI, 2004 (Adaptado).

O extrato de soja (leite de soja) é um produto obtido de uma quantidade adequada de grãos de soja e água, em uma proporção soja: água (p/v) geralmente 1:10. As etapas rotineiras para a obtenção de extrato de soja são: pesagem dos grãos, maceração (12 horas), trituração, processamento térmico (em torno de 98°C/5'), filtração e correção do volume final (SMITH; CIRCLE, 1978; LIM et al, 1990; JAKSON et al, 2002)

Nelson (1976) propôs um processo de branqueamento dos grãos de soja crus para obtenção de extrato de soja (leite de soja), para inativar a enzima lipoxigenase, baseando-se na suposição de que os compostos responsáveis pelo sabor indesejável estão ausentes no grão intacto, mas a quebra ou danificação desses tecidos resulta em seu desenvolvimento instantâneo. Foi proposta a inativação das enzimas lipoxigenase por branqueamento dos grãos de soja macerados imersos em água fervente por 10 minutos ou de grãos inteiros secos diretamente na água fervente por 20 minutos, causando hidratação simultânea e inativação das enzimas.

A hidratação do grão (maceração) é um etapa primordial, pois as proteínas do grão contêm numerosas cadeias peptídicas polares ao longo da

sua superfície, tornando-as hidrofílicas (WOLF; COWAN, 1975), e a hidratação amacia a estrutura celular, reduzindo os custos de energia para moagem e aumentando a extração das proteínas e emulsificação das gorduras (WANG et al, 1979).

O tempo médio de maceração da soja é de até 12 horas, quando atinge 134,42% do peso inicial do grão, ocorrendo a sua estabilização. A partir deste tempo são lixiviadas grandes quantidades de sólidos para a água de maceração (BAYRAN et al.,2003).

Após a maceração dos grãos, segue a etapa de trituração da soja com água, que é fundamental para a extração das proteínas e demais nutrientes. É muito importante nesta etapa verificar a proporção soja: água (peso inicial da soja crua/volume de água) que será utilizada no processo, pois influi diretamente no teor de proteína do extrato de soja. Verifica-se na literatura proporções soja: água variando de 1:6 a 1:15, sendo a mais utilizada 1:10 (BOURNE et al, 1976).

O tratamento térmico adequado no processamento da soja melhora a sua qualidade nutritiva, eliminando ou reduzindo os fatores antinutricionais, como os inibidores de tripsina, hemaglutininas, ocorrendo uma desnaturação das proteínas, aumentando, assim, a sua digestibilidade e a utilização mais completa de todos os aminoácidos (LIENER,1994)

O extrato de soja assim obtido possui melhor qualidade sensorial, sendo bastante utilizado em iogurtes, doce de “leite de soja” e também em bebidas prontas para o consumo. Nutricionalmente, o extrato de soja apresenta 17,7% de lipídios, 33% de proteínas, 41,4% de carboidratos e 2,4% de cinzas (BOWLES; DEMIATE, 2006). O processamento além de produzir extrato de soja de melhor qualidade e de sabor mais ameno, promove também o aumento da digestibilidade de sua proteína, bem como inativa os inibidores de proteases e outros fatores antinutricionais, embora possa ocorrer atividade residual significativa de inibidores de proteases em produtos da soja, após tratamento térmico (BAYRAM; KAYA; ONER, 2004).

## **4 MATERIAL E MÉTODOS**

### **4.1 Materiais**

#### **4.1.1 Amostras**

Para a realização do experimento, foram utilizados grãos de soja (*Glycynemax L. Merril*) colhidos na safra de 2015/2016, provenientes da cidade de Primavera do Leste, Mato Grosso, Brasil, obtidos através de doação de produtor, os grãos foram recebidos e selecionados para retirada de sujidades grosseiras, após armazenados em galões de plástico sob refrigeração. Os extratos solúveis de soja foram produzidos no ano de 2017 no Instituto Federal Sul Rio Grandense Campus Pelotas – Visconde da Graça, Pelotas, Rio Grande do Sul, no Laboratório da Coordenação Agroindustrial.

Para a produção dos extratos solúveis de soja fez-se ainda utilização de açúcar, sal e essência de baunilha, todos eles adquiridos no comércio local.

#### **4.1.2 Reagentes**

Todos os reagentes utilizados foram de grau analítico ou grau cromatográfico (HPLC), quando necessário.

Para identificação e quantificação das isoflavonas foram construídas curvas de calibração externa para daidzeína (Sigma Aldrich, na pureza de 98%), gliciteína (Sigma Aldrich, na pureza de 98%) e genisteína (Sigma Aldrich, na pureza de 98%), daidzina (Sigma Aldrich, na pureza de 98%), glicitina (Sigma Aldrich, na pureza de 98%) e genistina (Sigma Aldrich, na pureza de 98%).

### **4.2 Métodos**

#### **4.2.1 Tratamento Hidrotérmico**

Os grãos inteiros de soja, selecionados e limpos, antes da produção de seus extratos de soja, foram submetidos a um tratamento hidrotérmico para avaliar os efeitos do tempo e temperatura de maceração sobre o perfil de isoflavonas no grão encharcado. Para cada ensaio, utilizou-se 100g de soja

acondicionado em saquinhos de filó, os quais foram imersos em água destilada na proporção de 1:5 (p/v) respectivamente, e mantido em banho-maria termostaticamente (Figura 3) com controle de tempo e temperatura as quais estão especificadas no fluxograma (Figura 4). Os ensaios foram realizados em sistema coberto para não ocorrer a evaporação da água no ambiente e a temperatura foi continuamente verificada.

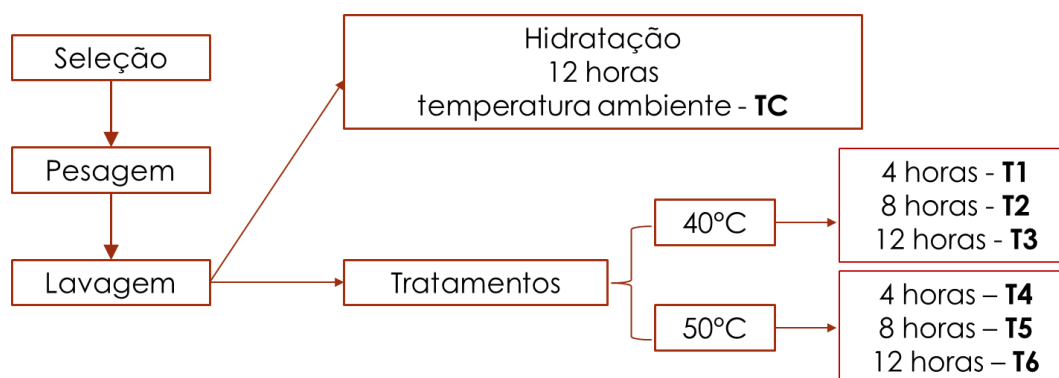


**Figura 3:** Maceração de grãos de soja em saquinhos perfurados.

FONTE: Arquivo pessoal.

As temperaturas de 40 e 50°C estudadas, compreendem respectivamente faixa térmica inferior e superior à temperatura crítica de desnaturação das proteínas de soja. Com isso, é possível verificar o efeito das temperaturas sobre as características nutricionais e funcionais das proteínas.

Os grãos de soja tratados hidrotérmicamente foram drenados e imediatamente arrefecidos para diminuição da temperatura e consequentemente o término da reação. O excesso de solução foi removido, com posterior armazenamento da soja sob refrigeração até a produção dos extratos e análises.

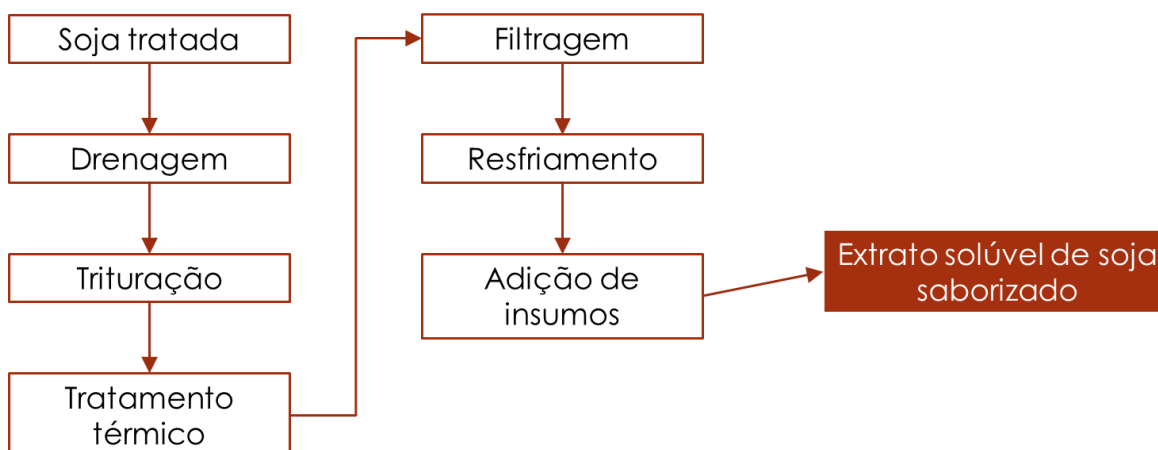


**Figura 4:** Fluxograma experimental do tratamento hidrotérmico dos grãos de soja.

Conforme figura 4 a etapa inicialmente realizada foi a seleção que consiste na retirada de sujidades e grãos imperfeitos; seguindo-se a pesagem: realizada em balança analítica, para padronização e quantificação dos grãos de soja; conseqüentemente os grãos foram submetidos a lavagem em água corrente a fim de remover pó e sujidades mais grosseiras; em sequência fez-se a maceração, o tratamento controle (TC) foi realizada a maceração da soja a temperatura ambiente por 12 horas, e para os demais tratamentos de maceração ( T1, T2, T3, T4, T5 e T6) utilizou-se de tempos e temperaturas de 4, 8 e 12 horas à 40 e 50°C.

#### 4.2.2 Produção dos extratos solúveis de soja saborizado

Após as etapas de tratamento, os grãos foram identificados e seguiu-se o processo conforme figura 5.



**Figura 5:** Fluxograma de produção do extrato solúvel de soja saborizado.

As etapas da produção de extrato solúvel de soja saborizado a partir de grãos tratados compreendem primeiramente na drenagem para eliminar a água de maceração, os grãos então foram triturados em liquidificador industrial sendo que a cada 100g de soja utilizou-se 1L de água; conseqüentemente ocorreu o tratamento térmico por 10 minutos a 100°C, após filtragem para separação das frações solúvel (extrato) e insolúvel (okara); em sequencia fez-se o resfriamento até 2°C, posteriormente procedeu-se a adição de 1,61g de açúcar, 0,083g de sal e baunilha na concentração de 7% (p/v).

### **4.3 Avaliações**

#### **4.3.1 Composição centesimal e caracterização físico-química dos extratos solúveis de soja saborizado**

Nos extratos solúveis de soja foram realizadas as análises da composição centesimal (umidade, proteínas, lipídeos, cinzas e carboidratos), conforme metodologia descrita em AACC (1995). O teor de carboidratos foi avaliado por diferença, conforme método AOAC – Association of Official Analytical Chemists (2000).

As bebidas à base de soja tiveram seu conteúdo proteico determinado através do método de micro-Kjeldahl ( $N \times 6,25$ ).

Foram determinados nos extratos de soja, sólidos solúveis totais, por leitura em refratômetro digital Atago, modelo PAL - 1, com compensação de temperatura automático à 25°C e expresso em °Brix, pH por leitura em pHmetro Quimis, modelo Q400AS, com compensação de temperatura automático à 25°C, conforme método AOAC (2000).

#### **4.3.2 Análise sensorial**

Os testes sensoriais foram realizados no Laboratório de Análise Sensorial do Instituto Federal Sul-rio-grandense Campus Pelotas Visconde da Graça e no Laboratório de Análise Sensorial do Curso de Bacharelado em Química de Alimentos (UFPel), onde ambos possuem instalações que incluem cabines individuais, controle de iluminação e temperatura ambiente.

Julgadores, não treinados, de ambos os sexos, na faixa etária de 20 a 50 anos, foram recrutados conforme disponibilidade, interesse e frequência de



consumo de produtos à base de soja. Antes da realização dos testes os participantes foram advertidos sobre a presença de possíveis reações alérgicas devido a ingestão do produto, sendo possível a sua desistência em participar da análise. Adicionalmente, todos os consumidores que concordaram em participar do teste assinaram um termo de consentimento.

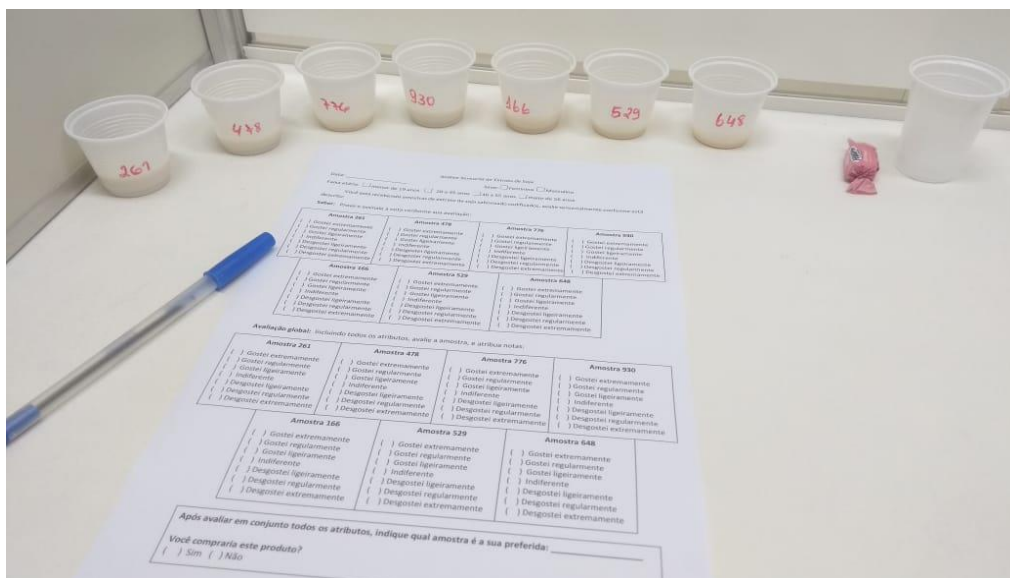
Em todos os testes aplicados, cada julgador recebeu aproximadamente 30 mL de extrato solúvel de soja saborizado refrigerado, sendo servido em copo descartável codificado com números de três dígitos aleatórios. Os julgadores foram instruídos a enxaguar a boca com água entre as provas das amostras, para evitar a possível interferência de sabor residual das bebidas.

#### **4.3.2.1 Definição do sabor dos extratos solúvel de soja**

A determinação do sabor dos extratos foi estabelecida em trabalhos preliminares, segundo Wally et.al. (2016), onde se avaliou os sabores mais consumidos pela população e aplicado o teste de aceitação. Para tal fez-se uso do tratamento convencional, ou seja, os grãos de soja ficaram imersos por 12 horas a temperatura ambiente, e após adição dos seguintes sabores chocolate, baunilha, morango e pêssego.

#### **4.3.2.2 Teste de Preferência**

O perfil sensorial de cada amostra de extrato solúvel de soja saborizado foi determinado utilizando teste de preferência através da avaliação global e sabor. Para levantamento inicial foram utilizadas 7 amostras (todos os tratamentos, incluindo amostra controle) apresentadas simultaneamente, e realizada teste afetivo de preferência dos julgadores através da escala hedônica estruturada com respostas já estabelecidas tendo como base os atributos gostam e desgostam (Figura 6). Contando com 30 julgadores conforme disponibilidade. Dessa forma, as respostas são associadas a valores numéricos para serem analisados estatisticamente.



**Figura 6:** Teste de preferência aplicado ao extrato solúvel de soja saborizado.  
Fonte: Arquivo Pessoal.

#### 4.3.2.3 Teste de Avaliação de Atributos

Na avaliação de atributos (cor, aparência, sabor, textura e residual de soja) do extrato solúvel de soja saborizado, fez-se a utilização de escalas que determinam a grandeza (intensidade de sensação) e a direção das diferenças entre as amostras, e através de escalas é possível saber o quanto as amostras diferem entre si e qual a amostra que apresenta maior intensidade do atributo sensorial que está sendo medido (GULARTE, 2009).

Para avaliação dos atributos foram utilizadas as seguintes amostras de extrato solúvel de soja saborizado: T1 (4h – 40°C), T2 (8h – 40°C), T4 (4h – 50°C) e T5 (8h – 50°C). Contando com 24 julgadores conforme disponibilidade, os atributos avaliados foram: cor ( clara e escura), aparência de caldo ( mais líquida e menos líquida), aparência brilhosa ( brilho e opaca), sabor (mais doce e menos doce), sabor soja (mais soja e menos soja), textura ( do mais arenoso ao menos arenoso) e residual de soja ( mais soja e menos soja).

#### **4.3.2.4 Teste de Ordenação**

Teste de ordenação consiste na apresentação simultânea de várias amostras aos julgadores, que devem arranjá-las em ordem (crescente, da menos preferida para a mais preferida) de acordo com a preferência. É uma análise amplamente utilizada devido à sua simplicidade, facilidade de interpretação e aplicação (GULARTE,2009).

Para o teste foram utilizadas as seguintes amostras: TC (12h – temperatura ambiente), T1 (4h-40°C) e T2 (8h – 40°C).

#### **4.3.2.5 Teste de aceitação**

A análise de aceitação caracteriza-se por uma atitude positiva, medida através do consumo de um alimento, avalia o grau com o qual os consumidores gostam ou desgostam de determinado produto, contribuindo para a medida da iniciativa de comprar ou não. A aceitabilidade foi avaliada com a participação de 120 provadores, sendo utilizado escala hedônica, com termos balanceados de categorias de gosto e desgosto (GULARTE, 2009).

Para o teste foram utilizadas as seguintes amostras: TC (12h – temperatura ambiente), T1 (4h-40°C) e T2 (8h – 40°C).

#### **4.3.3 Determinação da atividade ureática**

Para determinação da atividade ureática, que mede a eficiência do tratamento térmico na destruição de fatores antinutricionais, foram pesados duas porções de exatamente 0,2g de amostra (grãos de soja tratados hidrotérmicamente) e transferidas quantitativamente para dois tubos de ensaio (A e B). Foi adicionado volumetricamente 10mL de solução tampão de fosfato pH 7,00 ao tubo A. Sendo agitado levemente, sem inverter, tampa-se e coloca-se em banho-maria termostatizado a 30°C. Agitando-se levemente a cada 5 minutos, até completar 30 minutos. Após transcorrido esse tempo, foi retirado o tubo do banho e mede-se o pH do líquido sobrenadante em potenciômetro previamente calibrado. Esta será a prova em branco.

Ao tubo B, adiciona-se volumetricamente 10mL de solução tamponada de ureia pH 7 e procede-se da mesma forma como foi feito no tubo A, anotando

o pH da solução sobrenadante resultante. A diferença de pH entre as duas soluções é o índice de atividade ureática (BRASIL, 1991).

A atividade ureática é calculada da seguinte forma:

Atividade ureática = pH da amostra B – pH da amostra A

#### 4.3.4 Extração e quantificação de isoflavonas

A extração das isoflavonas dos extratos de soja foi realizada conforme Lee et al. (2015). Para isso, 50 mg de amostra liofilizada foram misturados com 1mL de metanol 80% (v/v). Os extratos foram sonicados por 30 min a uma frequência de 40 kHz, em temperatura ambiente. Posteriormente, o extrato foi centrifugado (9000 x g por 5 min) e o sobrenadante foi coletado. Para a análise, os extratos foram diluídos 10 vezes (100µl do extrato em 900µl de metanol) e filtrados em filtro de seringa de nylon de 0,22 µm para posterior injeção no sistema LC-MS.

Cinco microlitros dos extratos foram injetados em cromatógrafo a líquido (UFLC, Shimadzu, Japão) acoplado a espectrômetro de massas de alta resolução do tipo quadrupolo-tempo de voo (Maxis Impact, Bruker Daltonics, Bremen, Alemanha). Para a separação cromatográfica foi utilizada a coluna Bidentate C18 (100 x 2.1mm) (MicroSolv Technology Corporation, Leland, NC, EUA) e a pré-coluna Security guard C18 4x2.0 mm (Phenomenex). As fases móveis foram: água acidificada com 0,1% de ácido fórmico (eluente A) e metanol (eluente B). Para separação foi utilizado um gradiente: 0,00 – 1,00 min 15% B, 1,00 – 10,00 min, 70% B, 10,00 – 12,00 min, 70% B, 12,01 – 15,00 min, 15% B, permanecendo por 6 min nessa condição para estabilização da pressão na coluna analítica. O fluxo foi de 0,2 mL min<sup>-1</sup> e a temperatura da coluna foi mantida a 35°C.

O espectrômetro de massas foi operado no modo positivo com espectros adquiridos ao longo de uma faixa de massa de *m/z* 50 a 700. Os parâmetros de aquisição foram: voltagem do capilar em 4,5 kV, pressão do gás de nebulização (N<sub>2</sub>) de 2 bar, gás de secagem em 9 L min<sup>-1</sup>, temperatura da fonte de 200°C, colisão de RF de 300 Vpp ; transfer 70 µS e armazenamento pré-pulso de 5 µS. O equipamento foi calibrado com formiato de sódio 10 mM, cobrindo toda a faixa de aquisição (de *m/z* 50 até 700). Além disso,

experimentos automáticos de fragmentação (EM/EM) foram realizadas ajustando os valores de energia de colisão como se segue:  $m/z$  100, 15 eV;  $m/z$  500, 35 eV;  $m/z$  1000, 50 eV, e usando nitrogênio como gás de colisão.

Para a quantificação das isoflavonas foram preparadas curvas de calibração nas concentrações de 39 a 5000 ng mL<sup>-1</sup> utilizando os padrões externos: daidzina, genistina, glicitina, daidzeína, genisteína, gliciteína, acetil genistina, acetil glicitina, malonil daidzina, malonil genistina e malonil glicitina. Os resultados foram expressos em nmol/g.

#### **4.4 Análise Estatística dos Resultados**

Os dados obtidos das análises físico químicas foram expressos na forma de média  $\pm$  desvio padrão. Para análise estatística dos resultados utilizou-se o programa Statistica 7.0. A comparação das médias obtidas para cada tratamento foi realizada por análise de variância (ANOVA) e pelo teste de significância Tukey ( $p < 0,05$ ).

Os resultados da aceitação global foram avaliados através de histogramas de frequências, análise de variância (ANOVA) e testes de médias Tukey ( $p \leq 0,05$ ). O teste de ordenação preferencial foi avaliado através do teste de Friedman, utilizando a tabela de Newell e MacFarlane.

## 5 Resultados e Discussão

### 5.1 Caracterização das amostras

A Tabela 1 apresenta os resultados de proteínas, carboidratos, lipídeos, cinzas e umidade dos extratos solúveis de soja saborizados.

**Tabela 1:** Composição centesimal (%) dos extratos solúveis de soja saborizados.

	Proteínas	Carboidratos	Lipídeos	Cinzas	Umidade
TC	10,74 ± 0,31 a	3,24 ± 0,05 b	1,00 ± 0,00 e	0,57 ± 0,23 a	82,20 ± 8,32 b
T1	7,64 ± 1,57 b A	3,64 ± 0,12 a A	3,57 ± 0,00 a A	0,59 ± 0,15 a A	88,31 ± 0,04 ab B
T2	8,80 ± 1,65 ab A	3,02 ± 0,06 c A	2,47 ± 0,05 b A	0,68 ± 0,11 a A	89,93 ± 0,02 ab B
T3	3,12 ± 0,42 cd A	0,50 ± 0,01 f A	0,35 ± 0,00 g B	0,60 ± 0,11 a A	88,62 ± 0,04 ab B
T4	4,51 ± 1,43 c A	2,59 ± 0,05 d B	2,17 ± 0,03 d B	0,55 ± 0,09 a A	90,48 ± 0,02 ab A
T5	3,69 ± 0,66 cd B	1,83 ± 0,01 e B	2,30 ± 0,00 c B	0,49 ± 0,33 a A	92,21 ± 0,09 a A
T6	1,12 ± 0,46 d B	0,53 ± 0,01 f A	0,88 ± 0,02 f A	0,30 ± 0,21 a A	90,48 ± 0,01 ab A

\*Médias seguidas de letras minúsculas diferem na coluna pelo teste Tukey e letras maiúsculas diferem entre os tratamentos térmicos no mesmo tempo pelo teste “t” ( $p \leq 0,05$ ). TC – 12 horas a temperatura ambiente, T1 – 4 horas a 40°C, T2 – 8 horas a 40°C, T3 – 12 horas a 40°C, T4 – 4 horas a 50°C, T5 – 8 horas a 50°C, T6 – 12 horas a 50°C.

O teor proteico dos extratos tiveram diferenças significativas com emprego dos tratamentos. Os tratamentos TC e T2 apresentaram teor proteico significativamente ( $p \leq 0,05$ ) superior aos demais tratamentos e que a medida que aumentou o tempo e temperatura de tratamento, a tendência foi de diminuir o teor proteico dos extratos. Observou-se ainda que o tratamento T6 teve concentração proteica inferior a 3%, o que é exigido pela legislação (ANVISA, 1978) para ser considerado Extrato Solúvel de Soja.

Na tentativa de elucidar as variações proteicas sobre os extratos tratados hidrotérmicamente, trabalhos como os de Lima, et. al. (2014) apontam que temperaturas de imersão acima de 40°C aumentam a permeabilidade do tegumento, difusão da água e transferência de massa, podendo fundamentar em conjunto com o tempo de maceração a redução do percentual de proteína, o que pode explicar os resultados encontrados para o teor proteico deste estudo.

Processos usando altas temperaturas e tempos de maceração reduzidos podem ser aplicados na preparação de vários produtos de base de soja, como leite de soja e tofu. Temperaturas de maceração dentro do intervalo de 40°C e 60°C, pode diminuir a atividade da lipoxigenase e melhorar a digestibilidade das proteínas de soja. Contudo, altas temperaturas de maceração aumentam a taxa de transferência de difusão, resultando em uma perda significativa de sólidos, como proteínas (LIMA, 2014).

Rodrigues et al. (2003) afirmaram que a intensidade do tratamento térmico usado na inativação enzimática de farinha de soja pode ter influenciado a solubilidade das proteínas pela desnaturação irreversível das mesmas.

Quanto ao teor de carboidratos dos extratos (Tabela 1), os resultados indicam que a medida que aumentou o tempo e temperatura de tratamento, os valores de carboidratos diminuíram, o que pode ter sido influenciado diretamente pelo tempo de maceração e temperatura, permitindo componentes hidrossolúveis, como os carboidratos, de migrarem para a água de maceração.

Já os teores de lipídeos tiveram um significativo aumento nos extratos tratados hidrotérmicamente em comparação ao extrato não tratado, o que pode ser devido aos lipídios não lixiviarem durante a maceração e porque se concentraram, tendo em vista a perda dos componentes hidrossolúveis para a água de maceração.

Os teores de cinzas não apresentaram grandes e significativas variações com emprego dos tratamentos hidrotérmicos.

Em relação à umidade dos extratos, pode-se observar que houve diferença apenas no tratamento TC e T5 em comparação com as demais e que em média, as bebidas tiveram 88% de umidade.

Comparando os resultados obtidos no presente estudo, com Caus et al. (2008), que obteve 1,19g/100g de cinzas, 88,48g/100g de umidade, 1,76g/100g de proteínas e 1,95g/100g de lipídios, notou-se que os percentuais de cinza são inferiores, já para umidade obteve-se resultados semelhantes, somente o tratamento T6 obteve valor próximo ao obtido para proteína e em relação aos

lipídeos se conseguiu valores diferenciados. Essas diferenças podem ter ocorrido pelos diferentes métodos de extração, pela solubilidade desses compostos ou pelas diferentes variedades de soja.

Conforme BRASIL (1978) extrato solúvel de soja deve possuir as seguintes características químicas, umidade máximo de 93%, proteína mínimo de 3%, lipídeos mínimo de 1%, carboidratos máximo de 2,8%, cinzas máximo de 0,6% observando os valores obtidos, considera-se todos os tratamentos atingiram o máximo de 93% de umidade, o tratamento 12 horas à 50°C não pode ser considerado extrato solúvel de soja pois não atinge o mínimo de 3% de proteína. Os tratamentos TC, T1 e T2 apresentam valores de carboidratos acima do máximo permitido.

Rosenthal et al. (2003) avaliaram a composição centesimal de extrato hidrossolúvel de soja produzido a partir de cultivar próprio para alimentação humana (BR-16) e obtiveram resultados próximos aos encontrados nesse estudo, o extrato hidrossolúvel de soja apresentou 2,86 % de proteína, 1,53 % de lipídios e carboidratos, e 93,81 % de umidade. Entretanto, as possíveis variações da composição química entre diferentes extratos solúveis de soja podem ocorrer em função da variação de tecnologia empregada no processamento, da quantidade de água utilizada na extração e da variedade da soja (TASHIMA; CARDELLO, 2003).

Na Tabela 2 encontram-se os resultados de sólidos solúveis totais (SST), pH e acidez dos extratos solúveis de soja saborizados.



**Tabela 2:** Caracterização físico-química dos extratos solúveis de soja saborizados

Tratamentos	Análises		
	SST	pH	% Acidez
<b>TC</b>	13,0 ± 0,0 a	6,4 ± 0,11 b	0,68 ± 0,00 b
<b>T1</b>	11,3 ± 0,10b A	7,5 ± 0,15 a B	0,65 ± 0,00 b B
<b>T2</b>	11,0 ± 0,10 b A	6,5 ± 0,15 b A	0,62 ± 0,00 b A
<b>T3</b>	7,6 ± 0,10 d A	5,5 ± 0,05 c A	0,49 ± 0,00 c A
<b>T4</b>	9,4 ± 0,30 c B	7,8 ± 0,20 a A	0,97 ± 0,00 a A
<b>T5</b>	9,0 ± 0,20 c B	6,2 ± 0,05 b A	0,50 ± 0,00 c B
<b>T6</b>	6,8 ± 0,15 e B	5,6 ± 0,05 c A	0,38 ± 0,00 d B

\*Médias seguidas de letras minúsculas diferem na coluna pelo teste Tukey e letras maiúsculas diferem entre os tratamentos térmicos no mesmo tempo pelo teste "t" ( $p \leq 0,05$ ). TC – 12 horas a temperatura ambiente, T1 – 4 horas a 40°C, T2 – 8 horas a 40°C, T3 – 12 horas a 40°C, T4 – 4 horas a 50°C, T5 – 8 horas a 50°C, T6 – 12 horas a 50°C

Em relação aos valores de Sólidos Solúveis Totais (SST) dos extratos solúveis de soja (Tabela 2) pode-se observar que todos os tratamentos apresentaram valores estatisticamente inferiores ao tratamento TC e que à medida que aumentou o tempo e temperatura de hidratação, o teor de SST diminuiu. Colaborando as interpretações apontadas sobre os teores de proteínas e carboidratos (Tabela 1), é possível que os extratos solúveis de soja saborizados tratados hidrotermicamente por mais tempo e em maiores temperaturas, tenham perdido sólidos para a água de maceração.

Para os resultados de pH percebe-se que o tratamento T4 apresentou valor significativamente superior aos demais tratamentos e que, com exceção dos tratamentos T3 e T6, todos os demais tratamentos mantiveram o pH próximo ao tratamento controle. Possivelmente nos tratamentos mais longos tenha ocorrido algum processo de fermentação, resultando em diminuição do pH do meio.

## 5.2 Atividade Ureática

Na tabela 3 são apresentados os valores médios de atividade ureática dos extratos solúveis de soja saborizados.

**Tabela 3:** Determinação da atividade ureática nos extratos solúveis de soja saborizados

<b>Tratamento</b>	<b>Atividade Ureática</b>
<b>TC</b>	0,13 ± 0,04 c
<b>T1</b>	0,29 ± 0,04 a A
<b>T2</b>	0,29 ± 0,09 a A
<b>T3</b>	0,27 ± 0,12 b A
<b>T4</b>	0,18 ± 0,03 cd B
<b>T5</b>	0,11 ± 0,05 d B
<b>T6</b>	0,13 ± 0,04 cd B

\*Médias seguidas de letras minúsculas diferem na coluna pelo teste Tukey e letras maiúsculas diferem entre os tratamentos térmicos no mesmo tempo pelo teste “t” ( $p \leq 0,05$ ). TC – 12 horas a temperatura ambiente, T1 – 4 horas a 40°C, T2 – 8 horas a 40°C, T3 – 12 horas a 40°C, T4 – 4 horas a 50°C, T5 – 8 horas a 50°C, T6 – 12 horas a 50°C.

Na avaliação da atividade ureática dos extratos (Tabela 3), os valores indicam que obteve médias iguais para os tratamentos T2 e T3, e para TC, T1, T4 e T6.

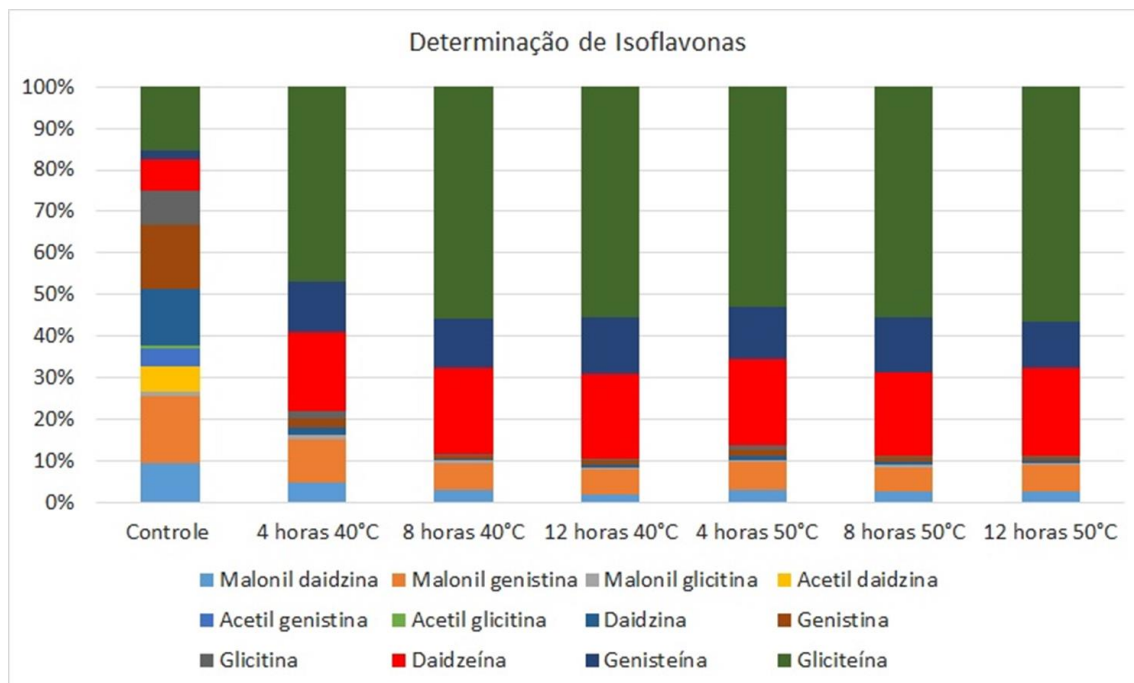
De acordo com os resultados obtidos para a atividade ureática dos extratos solúveis de soja, os valores que variaram de 0,11 a 0,51, é possível afirmar que os tratamentos utilizando temperaturas de 40 e 50°C em todos os tempos estudados inativaram a enzima uréase, indicando que os grãos de soja passaram por um adequado processamento térmico, objetivando a destruição dos fatores antinutricionais.

A análise de atividade ureática é um bom indicativo de um adequado ou inadequado processamento térmico. A técnica de atividade urética se baseia no princípio de que o tratamento térmico, quando feito adequadamente, desnatura a enzima uréase presente no grão de soja e, quando desnaturada, servem de indicativo de que os inibidores de tripsina também foram desativados.

A legislação brasileira (Portaria nº7, de 09 de novembro de 1988) estabelece valores de atividade ureática entre 0,05 e 0,30 para utilização do farelo de soja.

### 5.3 Avaliação do perfil de Isoflavonas

De acordo com os resultados da Tabela 4 e Figura 6 é possível observar que no extrato de soja controle, ou seja, aquele que não sofreu tratamento hidrotérmico, teve a seguinte ordem decrescente no seu perfil de isoflavonas: malonil genistina (766,5 nMol<sup>-1</sup>), genistina (734,1 nMol<sup>-1</sup>), gliciteína (711,1 nMol<sup>-1</sup>), daidzina (632,5 nMol<sup>-1</sup>), malonil daidzina (432,6 nMol<sup>-1</sup>), glicitina (379,3 nMol<sup>-1</sup>), Daidzeína (361,0 nMol<sup>-1</sup>), acetil genistina (282,7 nMol<sup>-1</sup>), acetil genistina (209,0 nMol<sup>-1</sup>), genisteína (102,1 nMol<sup>-1</sup>), malonil glicitina (49,4 nMol<sup>-1</sup>) e acetil glicitina (22,9 nMol<sup>-1</sup>).



**Figura 7:** Determinação de isoflavonas nmol<sup>-1</sup> em extratos solúveis de soja saborizados.

**Tabela 4:** Determinação de isoflavonas  $\text{nmol}^{-1}$  em extratos solúveis de soja saborizados

Tratamentos	Malonil daidzina	Malonil genistina	Malonil glicitina
TC	432,5 ± 17,3 a	766,5 ± 39,5 a	49,4 ± 2,2 a
T1	70,1 ± 1,7 cd A	158,5 ± 8,3 d A	19,0 ± 1,0 c A
T2	78,9 ± 11,1 cd A	183,2 ± 22,35 d A	19,4 ± 1,8 c A
T3	108,4 ± 14,2 c B	336,2 ± 47,1 c B	22,2 ± 2,4 c A
T4	56,3 ± 4,0 d B	138,5 ± 15,6 d A	13,3 ± 0,7 de B
T5	47,2 ± 3,2 d A	112,90 ± 10,3 d A	9,0 ± 0,1 e B
T6	236,2 ± 19,4 b A	567,96 ± 45,8 b A	32,3 ± 3,3 b A

Tratamentos	Acetil daidzina	Acetil genistina	Acetil glicitina
TC	282,0 ± 16,7 a	209,0 ± 18,3 a	22,9 ± 2,6 b
T1	102,0 ± 0,0 b A	102,0 ± 0,0 b A	102,0 ± 0,0 a A
T2	102,0 ± 0,0 b A	102,0 ± 0,0 b A	102,0 ± 0,0 a A
T3	102,0 ± 0,0 b A	102,0 ± 0,0 b A	102,0 ± 0,0 a A
T4	102,0 ± 0,0 b A	102,0 ± 0,0 b A	102,0 ± 0,0 a A
T5	102,0 ± 0,0 b A	102,0 ± 0,0 b A	102,0 ± 0,0 a A
T6	102,0 ± 0,0 b A	102,0 ± 0,0 b A	102,0 ± 0,0 a A

Tratamentos	Daidzina	Genistina	Glicitina
TC	632,5 ± 41,0 a	734,0 ± 37,8 a	379,3 ± 17,6 a
T1	26,9 ± 2,3 b A	31,2 ± 3,7 b A	30,3 ± 2,8 b A
T2	13,5 ± 1,0 b A	20,0 ± 4,1 b A	11,2 ± 3,4 b A
T3	30,4 ± 5,2 b A	55,7 ± 3,3 b B	23,8 ± 2,8 b A
T4	22,5 ± 0,0 b A	29,1 ± 3,0 b A	18,8 ± 0,2 b B
T5	13,9 ± 1,3 b A	19,7 ± 5,3 b A	10,7 ± 0,9 b A
T6	51,4 ± 5,0 b A	78,0 ± 5,9 b A	36,5 ± 10,0 b A

Tratamentos	Daidzeína	Genisteína	Gliciteína
TC	360,9 ± 7,0 c	102,1 ± 1,4 b	711,0 ± 23,9 c
T1	289,4 ± 20,5 c B	183,6 ± 20,4 b A	716,6 ± 31,9 c B
T2	573,1 ± 79,5 c A	338,4 ± 47,3 b A	1560,4 ± 204,5 c A
T3	1150,7 ± 174,4 b A	746,3 ± 131,4 a A	3103,6 ± 491,4 b B
T4	419,8 ± 70,4 c A	260,4 ± 33,7 b A	1075,6 ± 40,8 c A
T5	382,2 ± 43,8 c A	250,8 ± 39,0 b A	1054,7 ± 36,9 c A
T6	1867,9 ± 167,0 a A	1006,6 ± 117,3 a A	5021,6 ± 386,0 a A

\*Médias seguidas de letras minúsculas diferem na coluna pelo teste Tukey e letras maiúsculas diferem entre os tratamentos térmicos no mesmo tempo pelo teste "t" ( $p \leq 0,05$ ). TC

– 12 horas a temperatura ambiente, T1 – 4 horas a 40°C, T2 – 8 horas a 40°C, T3 – 12 horas a 40°C, T4 – 4 horas a 50°C, T5 – 8 horas a 50°C, T6 – 12 horas a 50°C.

Após os tratamentos observou-se que o perfil das isoflavonas mudou ao longo dos tratamentos. O grupo das acetil isoflavonas foram as que mais diminuíram com o efeito dos tratamentos, seguido das isoflavonas glicosiladas (daidzina, glicitina e genistina) e por último, das malonil glicosiladas, as quais foram convertidas à sua forma aglicona, o que era esperado com os tratamentos. O tratamento que obteve as maiores conversões das isoflavonas glicosiladas (não biodisponíveis) em agliconas (biodisponíveis) foi o T6, seguindo dos tratamentos T3, T2, T4, T5, T1 e por último, o tratamento TC (Figura 7).

Os resultados encontrados neste estudo são de extrema importância pois utilizar tratamentos hidrotermicos em produtos de soja permite que enzimas indesejáveis e compostos antinutricionais sejam eliminados (Atividade Ureática) e componentes benéficos à saúde, como as isoflavonas sejam mais concentrados e melhor disponíveis, amentando o valor nutricional destes produtos.

O teor e o perfil das isoflavonas no extrato de soja podem variar de acordo com o processamento. Durante a primeira etapa para a obtenção do extrato de soja, por exemplo, os grãos são colocados em maceração em água fria e, decorrente desse processo, ocorre diminuição do teor de isoflavonas (4-10%) devido a lixiviação destes compostos. Já a sua distribuição não é alterada durante o processo, a não ser que ocorra o prolongamento do tempo de maceração (12h) e o aumento da temperatura. Desse modo, as concentrações de agliconas tendem a aumentar devido à maior atividade da enzima B-glicosidade, a qual é responsável por reações de hidrólise dos conjugados glicosídicos das isoflavonas para formar as agliconas correspondentes. A etapa de tratamento térmico resulta em variações do perfil de isoflavonas: ocorre diminuição dos malonilglicosídeos devido a sua instabilidade térmica, aumento das agliconas e dos glicosídeos de daidzina e genistina, enquanto a filtração não altera a distribuição de isoflavonas, entretanto, reduz o seu teor. O extrato de soja apresenta um menor percentual de agliconas e de derivados acetilados, mas alta concentração de conjugados glicosilados e malonilados, se

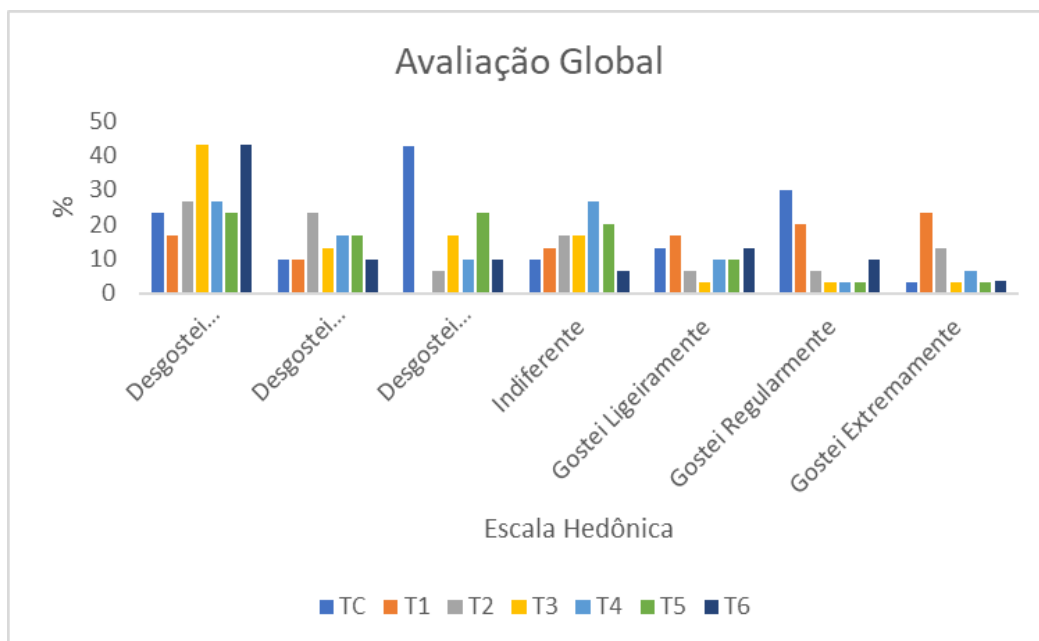
comparado ao Okara (resíduo insolúvel da soja) devido à baixa solubilidade das agliconas em meio aquoso (WANG; MURPHY, 1996).

De acordo com o exposto, o perfil de isoflavonas depende da temperatura usada durante o processo de produção de bebidas de soja. Alguns estudos identificam a conversão completa dos malonil-B-glicosídeos e acetil-b-glicosídeos. De forma semelhante a 80°C do extrato de soja por 3h foi suficiente para a conversão de isoformas de malonil-b-glicosídeos para b-glicosídeos (GENOVESE; HASSIMOTTO; LAJOLO, 2005).

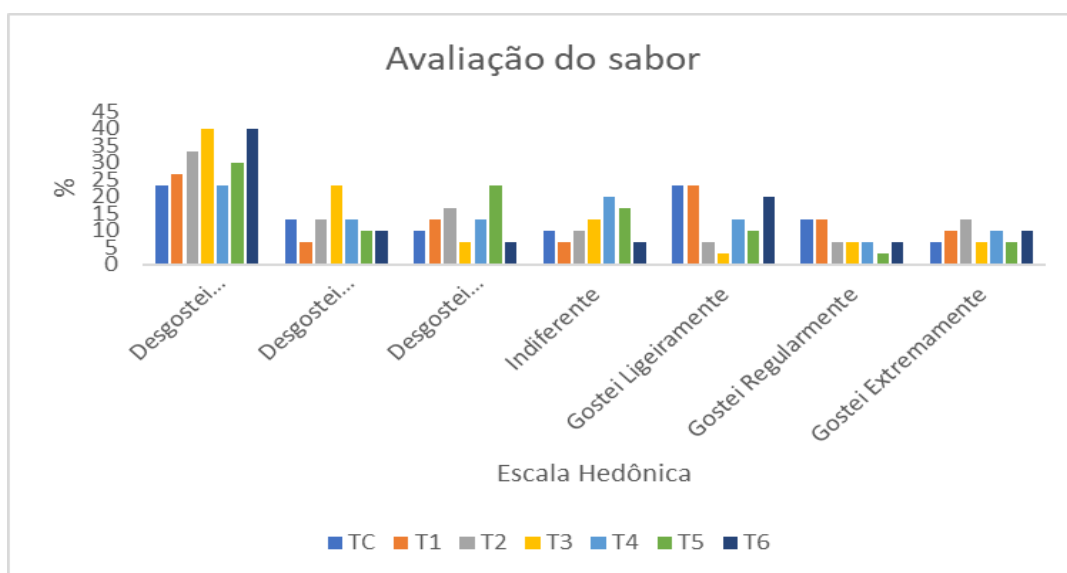
#### **5.4 Análise Sensorial**

A determinação do sabor dos extratos solúveis de soja foi estabelecida em trabalhos anteriores, segundo Wally et al. (2016), ficando definido a adição de sabor baunilha.

Para avaliação da qualidade sensorial, testes sensoriais foram realizados e a apresentação dos seus resultados obedecem a ordem de execução. Primeiramente foi realizado o teste de preferência para avaliação global (Figura 7) e avaliação do atributo sabor (Figura 8) de todos os tratamentos. Aqueles tratamentos com menor escore seriam eliminados nessa primeira análise sensorial.



**Figura 8:** Teste de preferência atributo avaliação global em extrato solúvel de soja saborizado. TC – 12 horas a temperatura ambiente, T1 – 4 horas a 40°C, T2 – 8 horas a 40°C, T3 – 12 horas a 40°C, T4 – 4 horas a 50°C, T5 – 8 horas a 50°C, T6 – 12 horas a 50°C.



**Figura 9:** Teste de preferência avaliação do atributo sabor em extrato solúvel de soja saborizado. TC – 12 horas a temperatura ambiente, T1 – 4 horas a 40°C, T2 – 8 horas a 40°C, T3 – 12 horas a 40°C, T4 – 4 horas a 50°C, T5 – 8 horas a 50°C, T6 – 12 horas a 50°C.

Na análise sensorial sobre “Avaliação Global” e “Sabor” foram identificadas diferenças significativas nos tratamentos por T3 e T6, os quais obtiveram menores resultados, possivelmente pelo tempo de exposição da soja em água, o que promoveu sedimentação de sólidos nas bebidas. Quanto ao atributo sabor, não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos.

Diante dos resultados obtidos nessa primeira avaliação sensorial, foram excluídos os tratamentos T3 e T6 dos demais testes sensoriais realizados durante o experimento. Cabe ressaltar ainda que o tratamento T6, mesmo que obtivesse valores superiores aos demais, seria eliminado, pois de acordo com os resultados da composição centesimal (Tabela 1) dos extratos, este tratamento não pôde ser caracterizado como extrato solúvel de soja, o descaracterizando do objetivo do estudo.

#### 5.4.1 Avaliação de atributos

Com objetivo de avaliar demais atributos nos extratos solúveis de soja saborizados, tratados ou não hidrotermicamente, a análise de atributos de cor, aparência, odor, sabor e textura foi realizada e os resultados obtidos encontram-se na Tabela 5.

**Tabela 5:** Avaliação de atributos dos extratos solúveis de soja saborizados.

Atributo	Tratamento			
	T1	T2	T4	T5
<b>Cor</b>	61 b	46 c	59 b	74 a
<b>Aparência caldo</b>	89 a	64 c	41 b	36 b
<b>Aparência brilhosa</b>	81 a	77 a	40 b	42 b
<b>Odor</b>	58 b	74 a	49 b	53 b
<b>Sabor doce</b>	42 a	59 b	70 b	69 b
<b>Sabor soja</b>	64 a	69 a	56 a	51 a
<b>Textura - arenoso</b>	71 b	67 b	39 a	41 a
<b>Residual - soja</b>	68 a	60 a	53 a	59 a

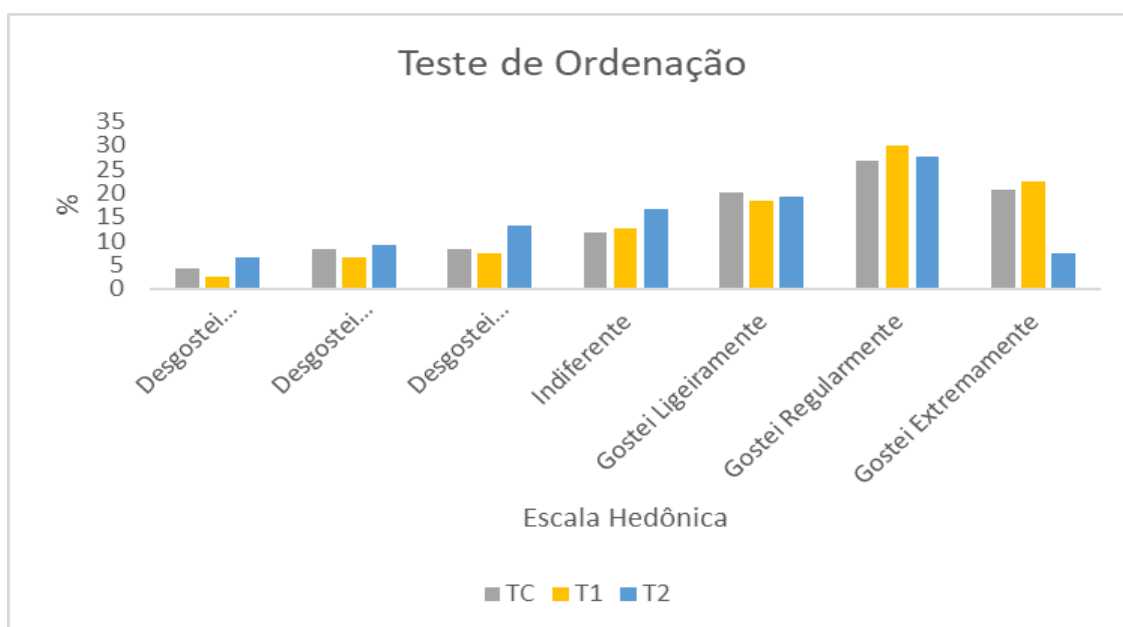
\*Médias na linha seguidas por letras iguais não diferem entre si. T1 – 4 horas a 40°C, T2 – 8 horas a 40°C, T4 – 4 horas a 50°C e T5 – 8 horas a 50°C.

Verifica-se que com relação ao atributo cor os tratamentos T1 e T4 apresentam médias iguais, diferenciando dos demais. Relacionando os



atributos aparência de caldo, aparência brilhosa, odor e sabor doce os tratamentos T4 e T5 não apresentaram diferenças significativas entre elas. Quanto a textura, observa-se diferença entre os tratamentos, podendo ser justificado pela temperatura do tratamento. Observa-se que o sabor de soja e o residual de soja não houve diferenças significativas entre os tratamentos.

Em sequência da análise foi efetuado o teste de ordenação para o tratamento TC, T1 e T2, conforme figura 10. Observa-se que o atributo gostei extremamente é apontado para o tratamento T1, indicando aceitação do produto.



**Figura 10:** Análise de frequência para teste de ordenação dos extratos solúveis de soja saborizados. TC – 12 horas a temperatura ambiente, T1 – 4 horas a 40°C e T2 – 8 horas a 40°C.

### 5.4.2 Índice de aceitação

A Tabela 6 contém os resultados para índice de aceitação conforme teste de Friedman na tabela de Newell e MacFarlane, para verificação de diferenças entre os tratamentos.

**Tabela 6:** Teste de Friedman na tabela de Newell e MacFarlane, para verificação de diferenças significativas entre os tratamentos de extrato solúvel de soja saborizado

Tratamento	Maior preferência*
Somatório TC = 35 (TC-T1)	13
Somatório T1 = 48 (TC-T2)	2
Somatório T2 = 37 (T2-T1)	11

\*Comparação com o valor crítico tabelado (34).

Conforme tabela 6 acima observa-se que não há diferença significativa entre as amostras, ou seja, não há uma mais preferida, todas possuem o mesmo nível de significância.

O índice de aceitação (IA) para ser admitido no mercado consumidor deve ser de no mínimo 70% (Gularte, 2009), portanto a amostra do tratamento de T1 obteve 73% de IA, comparada com o tratamento TC, para a indústria é economicamente viável usar T1 (4horas a 40°C).

## 6 Conclusão

Diante dos resultados pode-se concluir que é possível desenvolver extrato solúvel de soja a partir do tratamento de 4 horas a 40°C, onde obteve-se o maior valor nutricional: 7,64% de proteína, 3,64% de carboidratos e 3,57% de lipídeos, biodisponibilidade de isoflavonas daidzeína 289,4 nmol<sup>-1</sup>, genisteína 183,7 nmol<sup>-1</sup> e gliciteína 716,7 nmol<sup>-1</sup>, alcançando maior preferência entre os julgadores.

O índice de aceitação para o extrato solúvel de soja produzido oriundo do tratamento 4 horas a 40°C, obteve 73%, indicando assim que o produto pode ser ofertado aos consumidores e para a indústria é economicamente viável pois utiliza tempo e temperatura reduzido, não necessitando de alto consumo energético.

De igual forma conclui-se que o extrato solúvel de soja produzido a partir do tratamento 12 horas a 50°C não pode ser considerado extrato por não conter o mínimo de 3% de proteína conforme legislação vigente

## Referências

AACC. **American Association of Cereal Chemistry**: 17th.; Washington, DC; v. 2, 1995.

ABIR. Associação Brasileira das Indústrias de Refrigerantes e de Bebidas não Alcoólicas. Disponível em: <<https://abir.org.br/o-setor/dados/bebidas-a-base-de-soja>>. Acesso em 27 ago. 2018.

AMARAL, V.G.M. A importância da soja como alimento funcional para qualidade de vida e saúde. 2006. **Dissertação** (Mestrado em Gestão da Qualidade Total) – Programa de Pós-graduação da Faculdade de Engenharia Mecânica, Universidade Estadual de Campinas, São Paulo.

ANFAR – Associação Nacional dos Fabricantes de Rações. **Matérias-primas para a alimentação animal**. São Paulo, 1998.

AOAC. Official Methods of Analysis, 16th. **Association of Official Analytical Chemists**: Washington, DC; method 960.52. 2000.

BAYRAM, M.; KAYA, A.; ONER, M.D. Changes in properties of soaking water during production of soy-bulgur. **Journal of Food Engineering**, v.61, n.2, p.221-230, 2004.

BEHRENS, J.H.; DA SILVA, M.A.A.P. Atitude do consumidor em relação à soja e produtos derivados. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.24, p. 431-439, 2004.

BELLAVER, C. & SNIZEK JUNIOR, P.N. Processamento da soja e suas implicações na alimentação de suínos e aves. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SOJA, 1999, Londrina, PR. **Anais...** Londrina:Embrapa Soja, 1999.

BENEVIDES CMJ, LOPES MV, SANTOS AJ, BASTOS BM, BEANES RC, MACEDO F. Obtenção de bolinhos à base de soja. **Hig. aliment.** v.14, 2000.

BEZERRA, A. R. G. et al. Importância econômica. In: SEDIYAMA, T.; SILVA, F.; BORÉM, A. (Org.). **Soja: do plantio à colheita**. Viçosa: Editora UFV, 2015.

BHATHEMA, S.J.; VESLAQUEZ, M.T. Beneficial role of dietary phytoestrogens in obesity and diabetes. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 76, p. 1191-1201, 2002.

BOURNE. E.G.; CLEMENTE, M.G.; BANZON, J.; Survey of suitability of thirty cultivars of soybean for manufacture. **Journal of Food Science, Chicago**, v.41, n. 5, p.1204-1208, 1976.

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

BRASIL, Método NE 20 Atividade Ureática. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 17 nov, 1991, seção 1, p.35.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Legislação. Resolução CNNPA nº 14, de 28 de junho de 1978. Aprova o regulamento técnico que estabelece os padrões de identidade e qualidade para a farinha desengordurada de soja, proteína texturizada de soja, proteína concentrada de soja, proteína isolada de soja e extrato de soja. Diário Oficial da União, Brasília, 26 de junho de 1978.

,,,

BUTOLO, J.E.; **Qualidade de Ingredientes na Alimentação Animal**. Colégio Brasileiro de Nutrição Animal, Campinas, SP. 430p, 2002.

CARRÃO, PANIZZI, M. C. Valor nutritivo da soja e potencial de utilização na dieta brasileira. Londrina: EMBRAPA -CNPSO, p.13, 1988.

CARRÃO-PANNIZZI, M.C.; MANDARINO, J.M.G. **Soja: potencial de uso na dieta brasileira**. Londrina: Embrapa – CNPSo, 1998.

CAUS, Samile; CZAIKOSKI, Karina; GOMES, Graziela Veiga de Lara; CÓRDOVA, Katielle Rosalva Volcik; BEZERRA, José Raniere Mazile Vidal; RIGO, Maurício. Obtenção de bebidas a base de extrato hidrossolúvel de soja com polpa de frutas. **Revista Ciências Exatas e Naturais**, v. 10, n. 1, jan./jun. 2008.

CHANG, Y.K. Alimentos funcionais e aplicação tecnológica: padaria da saúde e centro de pesquisas em tecnologia de extrusão. In SIMPOSIO BRASILEIRO SOBRE OS BENEFÍCIOS DA SOJA PARA SAÚDE HUMANA, 1., 2001, Londrina. **Anais**. Embrapa Soja, p. 41-45, 2001.

CIABOTTI, Sueli. Estudos tecnológico e sensorial de extratos de soja e respectivos tofus obtidos dos cultivares de soja convencional e livre de lipoxigenase, 2004. 122p. **Dissertação** (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras – MG.

CROUSE, J.R.; MORGAN, T.; TERRY, J.G.; ELLIS, J.; VITOLINS, M.; BURKE, G.L. A randomized trial comparing the effect of casein with that of soy protein containing varying amounts of isoflavones on plasma concentration of lipids and lipoproteins. **Archive International Medecine**, v.159, n. 17, p. 2070-2076, 1999.

EMBRAPA. Soja em números (Safrá 2017/2018). Londrina: Embrapa Soja, 2018. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/soja/cultivos/soja1/dados-economicos>>. Acesso em: 29 de ago. de 2018.

EMBRAPA. **Soja na alimentação**. Disponível: <<https://www.embrapa.br/soja/alimentacao>>. Acesso em 26 de jun. 2018a.

ESTEVEES, E.A.; MONTEIRO, J.B.B. Efeitos benéficos das isoflavonas de soja em doenças crônicas. **Revista Brasileira de Nutrição**, v. 14, n.1, p. 43-52, 2001.

FAO. Perspectivas Agrícolas OCDE-FAO, 10/07/2017. Disponível em: <[www.fao.org](http://www.fao.org)>. Acesso em: 27 ago. 2018.

FRIEDMAN, M.; BRANDON, D.L. Review: nutritional and health benefits of soy proteins. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, v.49, p. 1069-1086, 2001.

GENOVESE, M.I.; HASSIMOTTO, N.M.A.; LAJOLO, F.M. Isoflavone Profile and Antioxidant Activity of Brazilian Soybean Varieties. **Food Science and Technology International**, v.11, p.205-211, 2005.

GENOVESE, M.I.; LAJOLO, F.M. Determinação de isoflavonas em derivados de soja. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.21, n° 1, p 8693. 2001.

GENOVESE, M. I.; PINTO, M.S.; BARBOSA, A. C.L.;LAJOLO, F.M. Avaliação do teor de isoflavonas de “suplementos nutricionais à base de soja”. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.39, p. 159-157, 2003.

GULARTE, **M.A.**; **Manual de análise sensorial**. Pelotas: Ed. Universidade Federal de Pelotas, 2009.

HAGEM M.E.K. Efeitos da dieta à base de proteína isolada de soja na doença coronariana isquêmica. **Tese** (Doutorado em Ciências Biológicas: Fisiologia) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Fisiologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rio Grande do Sul, 2006.

HIRAKURI, M. H.; LAZZAROTO, J. J. **O agronegócio da soja nos contextos mundial e brasileiro**. Londrina: Embrapa soja, 2014.

IZUMI, T.; PISKULA, M.K.; OSAWA, S.; OBATA, A.; TOBE, K.; SAITO, M.; KATAOKA, S.; KUBOTA, Y.; KIKUCHI, M. Soy isoflavone aglycones are absorbed faster and in higher amounts than their glucosides in humans. **Journal of Nutrition**, v. 130, n. 7, p. 1695-1699, 2000.

JACKSON, C.J.C.; DINI, J.P.; RUPASINGHE, H.P.V.; FAULKNER, H.; POYSA, V.; BUZZELL, D.; DEGRANDIS, S. Effects of processing on the content and composition of isoflavones during manufacturing of soy beverage and tofu. **Process Biochemistry**, Oxford, v. 37, n.10, p. 1117-1123, 2002.

KARR-LILIENTHAL, L.K.; KADZERE, C.T. GRIESHOP, C.M.; FAHEY Jr.; G.C. Chemical and Nutritional properties of soybean carbohydrates as related to nonruminants: A review. **Livestock Production Science**, v. 97, p. 1-12, 2005.

LAJOLO, F.M.; GENOVESE, M.I. Nutritional significance of lectins and enzyme inhibitors from legumes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n.22, p. 6592-6598, 2002.

LAJOLO, F.M.; GENOVESE, M.I. Soja como alimento funcional: compostos bioativos e legislação. In: **Série de Publicações ILSI Brasil**. Alimentos funcionais e/ou de saúde. São Paulo: ILSI Brasil, 2007, p. 11-24.

LARKIN, T.; PRICE, W.E.; ASTHEIMER, L. The key importance of soy isoflavone bioavailability to understanding health benefits. **Critical reviews in food Science and nutrition**, p. 538-551, 2008.

LEE, M.J.; CHUNG, I.M.; KIM, H.; JUNG, M.Y. High resolution LC-ESI-TOF-mass spectrometry method for fast separation, identification, and quantification of 12 isoflavones in soybeans and soybean products. **Food Chemistry**, v. 176, p. 254-262, 2015.

LIENER, I.E. Implications of antinutritional components in soybean foods. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v 34, n 1, p. 31-67, 1994.



LIM, B.T.; DeMAN, M.J.; DeMAN, L.; BUZZEL, R.I. Yield and quality of tofu as affected by soybean and soymilk characteristics. Calcium sulfate coagulant. **Journal of Food Science**, Chicago, v.55, n.4, p. 1088-1092, July/Aug. 1990.

LIMA, F.S.; IDA, E.I. Optimisation of soybean hydrothermal treatment for the conversion of B-glucoside isoflavones to aglycones. **LWT – Food Science and Technology**, v. 56, p. 232 – 239, 2014.

LIU, Y.;HU, M. Absorption and metabolism of flavonoids in the Caco-1 cell culture model and a perused rat intestinal model. **Drug metabolism and disposition**, v. 30, p. 370 – 377, 2002.

LOWRY O.H. Protein measurement with the folin phenol reagent. **Journal of Biological Chemistry**, v. 193, n.1, p. 265-275, 1951.

MATSUURA, M.; OBATA, A.; HUKUSHIMA, D. Objectionable flavor of soy milk developed during the soaking of soybeans and its control. **Journal of Food Science**. v. 54, n. 3, p. 602-605, 1989.

MESSINA, M. La soja: valor nutricional y rol en la prevención y tratamiento de enfermedades crónicas. In: **Série de informações especiais** ILSI Argentina, 2004, p.30-40.

MESSINA, M.; LANE, B. Soy protein, soybean isoflavones and coronary heart disease risk: where do we stand? **Future Lipidology**, v. 2, n.1, p. 55-74, 2007.

MORAIS, A.M.C. A soja na nutrição enteral. In: Série de Publicações ILSI Brasil. **Alimentos com propriedades funcionais e/ou saúde**. São Paulo: ILSI Brasil, 2007, p.25-36.

NELSON, A.I.; STEINBERG, M.P.; WEI, S.L. Illinois process for preparation of soymilk. **Journal of Food Science**, Chicago, v.41, n.1, p. 57-61, 1976.

Oetterer, Marília. **Fundamentos de ciência e tecnologia de alimentos** / Barueri, SP: Manole, 2006.

PASCUAL-TERESA, S. Absorption of isoflavonas in humans: effects of food matrix and processing. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v.17, p. 257-264,2006.

PINTO, M. S.; LAJOLO, F. M.; GENOVESE, M. I. Effect of storage temperature and water activity on the content and profile of isoflavones, antioxidant activity, and in vitro protein digestibility of soy protein isolates and deffated soy flours. **Journal Agricultural Food Chemistry**. v.53, p. 6340-6346, 2005.

RODRIGUES, R. S.; GOZZO, Â. M.; MORETTI, R. H. Comportamento reológico de extrato de grãos, farinha integral e isolados proteicos de soja. **Boletim do CEPPA**, v. 21, n. 2, p. 367–378, 2003.

ROSENTHAL, A. et al. Effect of enzymatic treatment and filtration on sensory characteristics and physical stability of soymilk. **Food Control**, v. 14, n. 3, p. 187-192, 2003

ROSENTHAL, A.; DELIZA, R.; CABRAL, L. C.; FARIAS, C.A.A.; DOMINGUES, A.M. Effect of enzymatic treatment and filtration on sensory characteristics and physical stability of soymilk. **Food Control Journal**, v. 14, p. 187-192, 2002.

ROWLAND, I.; FAUGHNAN, M.; HOEY, L.; WAHALA, K.; WILLIAMSON, G.; CASSIDY, A. Bioavailability of phytoestrogens. **British Journal of Nutrition**, v. 89, p. 45-58, 2003.

SGARBIERI, V.C.; PACHECO, M.T.B. Revisão: Alimentos Funcionais fisiológicos. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 21, n.12, p. 7-19,1999.

SETCHELL, K.; BROWN, N.M.; DESAI, P.; ZIMMER-NECHIMAS, L.; BRASHEAR, W.; KIRSCHNER, A.; CASSIDY, A.; HEUBI, J. Bioavailability of purê isoflavones in healthy humans and analysis of comercial soy isoflavone supplements. **Journal of Nutrition**, v. 131, p. 1362-1375, 2001.

SETCHELL, K.D.R.; BROWN, N.M.; NECHEMIAS, L.Z.; BRASHEAR, W.T.; WOLFE, B. E.; KIRSCHNER, A.S.; HEUBI, J.E. Evidence for lack of absorption of soy isoflavone glycosides in humans, supporting the crucial role of intestinal metabolism for bioavailability. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.76, p. 447-453, 2002.

SETCHELL, K.D.R.; CASSIDY, A. Dietary isoflavones: biological effects and relevance to human health. **Journal of Nutrition**, v. 129, p. 758-767, 1999.

SITES, C.K.; COOPER, B.C.; TOTH, M.J.; GASTALDELLI, A.; ARABSHAHI, A.; BARNES, S. Effect of a daily supplement of soy protein on body composition and insulin secretion in postmenopausal women. **Fertility and Sterility**, v. 88, n. 6, p. 1609 – 1617, 2007.

SMITH, A.K.; CIRCLE, S.J. Soybean: chemistry and tecnologia. Westport, Connecticut: **The Avi Publishing Company**, v.1, p. 470, 1978.

TASHIMA, E. H.; CARDELLO, H. M. A. B. Perfil sensorial de extrato hidrossolúvel de soja (*Glicine max L. Merril*) comercial adoçado com sacarose e com sucralose. **Boletim do CEPPA**, v. 21, n. 2, p. 409-428, 2003.

TECNOLOGIAS DE PRODUÇÃO DE SOJA. Região Central do Brasil 2011. Londrina, PR: Embrapa Soja/Embrapa Cerrados/Embrapa Agropecuária Oeste, 2011. 255 p.

VELASQUEZ, M.T.; BHATHENA, S.J. Role of soy protein in obesity. **International Journal of Medical Science**, v 4, p. 72-82, 2007.

VERGNE, S. et al. Influence of ethnic origin (Asian v. Caucasian) and background diet on the bioavailability of dietary isoflavones. **The British Journal of Nutrition**, v. 102, nº 11, p. 1642-1653, dezembro 2009.

WALLY, A. P. do S.; BARROS, L. M.; CUNHA, J. S. da; OLIVEIRA, A. T. D. de; BORBA, S. L.; BALDEZ, L. de S. Extrato solúvel de soja desenvolvido a partir de grãos tratados hidrotérmicamente. **XXV Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Gramado, Rio Grande do Sul. 2016

WANG, C.; MA, Q.; PAGADALA, S.; SHERRARD, M.S.; KRISHNAN, P.G. Changes of isoflavones during processing of soy protein isolates. **Journal American Oil Chemist Society**, v. 75, p. 337-341, 1998.

WANG, H.J.; MURPHY, P.A. Mass balance study of isoflavones during soybean processing. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.44, p. 2377-2383, 1996.

WANG, H.L.; SWAIN, E.W.; HESSELTINE, C.W.; HEAT, H.D. Hydration of whole soybean affects solids losses and cooking quality. **Journal of Food Science**, Chicago, v.44, n.5, p. 1510-1513, 1979.

WATANABE, S.; YAMAGUCHI, M.; SOUBE, T.; TAKAHASHI, T.; MIURA, T.; ARAI, Y.; MAZUR, W.; WAHALA, K.; ADLERCREUTZ, H. Pharmacokinetics of soybean isoflavones in plasma, urine and feces of men after ingestion of 60g baked soybean powder (kinako). **Journal of Nutrition**, v. 128, p. 1710-1715, 1998.

WOLF, W.J.; COWAN, J.C. Soybeans as a food source. Cleveland: CRC press, 1975.

WU, Z.; RODGERS, R.P.; MARSHALL, A.G. Characterization of vegetable oils: detailed compositional fingerprints derived from electrospray ionization Fourier

transform ion cyclotron resonance mass spectrometry. **Journal of Agricultural and food Chemistry.** v.52, p. 5322-5328, 2004.