

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos



Tese

Efeitos da temperatura de secagem e do tempo de armazenamento sobre as propriedades tecnológicas e os metabólitos de grãos de soja

M.Sc., Cristiano Dietrich Ferreira

Pelotas, 2017

Cristiano Dietrich Ferreira

Efeitos da temperatura de secagem e do tempo de armazenamento sobre as propriedades tecnológicas e os metabólitos de grãos de soja

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Maurício de Oliveira
Coorientador: Prof. Dr. Moacir Cardoso Elias
Coorientador: Prof. Dr. Nathan Levien Vanier

Pelotas, 2017

Catalogação na fonte

Gabriela Machado Lopes CRB: 10/1842

F382e Ferreira, Cristiano Dietrich

Efeitos da temperatura de secagem e do tempo de armazenamento sobre as propriedades tecnológicas e os metabólitos de grãos de soja / Cristiano Dietrich Ferreira; Maurício de Oliveira, orientador ; Nathan Levien Vanier, coorientador. — Pelotas, 2017.

98 f. : il.

Tese (Doutorado) — Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, 2017.

1. *Glicine max* (L.) Merrill 2. Estrutura celular 3. Isoflavonas 4. Compostos fenólicos 5. Fungos I. Oliveira, Maurício de, orient. II. Vanier, Nathan Levien, coorient. III. Título.

CDD 635.652

Cristiano Dietrich Ferreira

Efeitos da temperatura de secagem e do tempo de armazenamento sobre as propriedades tecnológicas e os metabólitos de grãos de soja

Tese apresentada, como requisito parcial, para obtenção do grau de Doutor em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas.

Data da defesa: 22/12/2017

Banca examinadora:

Prof. Dr. Maurício de Oliveira (orientador). Doutor em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela Universidade Federal de Pelotas.

Prof. Dr. Jander Luis Fernandes Monks. Doutor em Ciência e Tecnologia Agroindustrial pela Universidade Federal de Pelotas.

Dr. Ricardo Scherer Pohndorf. Doutor em Engenharia e ciência de Alimentos pela Universidade Federal do Rio Grande.

Prof. Dr. Fabrício da Fonseca Barbosa. Doutor em Engenharia Agrícola pela Universidade Federal de Viçosa.

**A minha mãe, Neli,
e aos meus irmãos, Marcos, Vinicius e Lucas**

Agradecimentos

Primeiramente gostaria de agradecer a Deus por ter me dado saúde e inteligência para cumprir minhas atividades. Nos momentos de maior angústia ele nunca me desamparou, em muitas vezes me deu mais do que eu me julgava merecedor.

A minha família por todo apoio durante esses anos de estudo, em especial a minha mãe Neli Dietrich, por todo o incentivo, dedicação e paciência nos momentos difíceis.

A minha namorada Jessica Fernanda Hoffmann, pelo carinho, amizade e companheirismo. É uma pessoa extremamente importante na minha vida.

Aos professores do DCTA pelos conhecimentos transmitidos em sala de aula e fora dela, também por ensinar-me a ter ética e amor pela profissão.

Ao Laboratório de Pós-colheita Industrialização e Qualidade de Grãos por ter possibilitado realizar estágios durante a graduação e me desenvolver como pós-graduando.

Aos professores Moacir Cardoso Elias, Maurício de Oliveira e Nathan Levien Vanier pelo companheirismo, amizade e orientação durante a pós-graduação.

Aos colegas de pós-graduação, pela convivência, pela ajuda e ensinamentos durante este período. Em especial aos colegas e amigos Caroline Lambrecht Dittgen, Cristian Batista, Jaqueline Pozzada, Jorge Tiago Swantz Goebel, Gustavo Lang, Igor Lindemann, Ricardo Tadeu Paraginski e Valmor Ziegler, pelo trabalho em equipe, companheirismo e comprometimento com o serviço, mas principalmente por proporcionarem a possibilidade de aprendizagem.

A Universidade Federal de Pelotas, a Faculdade de Agronomia “Eliseu Maciel”, ao Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial, ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

A todos aqueles que de uma forma ou de outra contribuíram com seu incentivo ou apoio para essa formação e conquista pessoal.

"Confia no SENHOR de todo o teu coração e não te estribes no teu próprio entendimento. Reconhece-o em todos os teus caminhos, e ele endireitará as tuas veredas". (Provérbios 3:5-6)

Resumo

FERREIRA, Cristiano Dietrich. **Efeitos da temperatura de secagem sobre as propriedades tecnológicas e metabólitos de grãos de soja.** 2017, 98f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de alimentos) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2017.

A secagem de grãos de soja com ar aquecido é necessária na pós-colheita quando as condições ambientais não permitem a secagem no campo. Para avaliar a influência da secagem foram utilizados grãos de duas cultivares de soja, BMX Força RR e Nidera 5909 RR, submetidas a diferentes temperaturas de secagem: secagem natural e em estufa a 30, 50, 70, 90 e 110 °C. As melhores condições de secagem com base nas análises de germinação, condutividade elétrica e sólidos lixiviados foram observadas em secagem natural, 30 e 50 °C, para ambas as variedades. Poucas alterações foram encontradas na distribuição de peso molecular das proteínas, porém reduções foram encontradas na solubilidade proteica em 110 °C, em grãos de ambas cultivares. Não foram encontradas diferenças no perfil de ácidos graxos independentemente da temperatura de secagem, no entanto foram observadas elevadas concentrações nos produtos secundários de oxidação (K_{270}) na temperatura de 90 °C, bem como a maior redução dos tocoferóis. A redução da solubilidade proteica e dos tocoferóis indica perda de valor nutricional e potencial bioativo na soja seca com temperatura da massa superior a 54 °C. A elevação na temperatura de secagem promove a redução no teor de compostos fenólicos insolúveis e aumentos nos fenólicos solúveis. Nas maiores temperaturas de secagem e após o armazenamento são verificadas reduções das isoflavonas malonil- e β -glicosídeos, com aumentos nas formas agliconas. A gliciteína foi a isoflavona que apresentou os maiores aumentos para ambas as cultivares, sendo atribuídos principalmente ao metabolismo dos microrganismos associados, favorecidos com o aumento nos danos celulares e a infestação fúngica.

Palavras-chave: *Glicine max* (L.) Merrill, estrutura celular, isoflavonas, compostos fenólicos, fungos

Abstract

FERREIRA, Cristiano Dietrich. **Effects of drying temperature on the technological properties and secondary metabolites of soy bean.** 2017, 98p. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de alimentos) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2017.

Drying soybeans with heated air in the post-harvest period is necessary when weather conditions are not conducive for field drying. To evaluate the influence of heated air-drying temperature on soybeans, two soybean cultivars, BMX Força RR and Nidera 5909 RR, were dried at different temperatures conditions: Field drying, 30, 50, 70, 90, and 110 °C. The best drying temperature conditions for both varieties were field drying, 30 and 50 °C, based on the results from germination, electrical conductivity, and leached solids tests. Minimal changes were found in the molecular weight distribution of the proteins, but decreases were found in the protein solubility at 110 °C, for both cultivars. The fatty acids profile was not different across the drying temperatures studied, but the highest values of specific extinction coefficient (K_{270}) were observed at 90 °C, in addition to a reduction of tocopherol content. The reduction in protein solubility and tocopherols indicates loss of nutritional value and bioactive potential for the soybeans with mass temperature higher than 54 °C. The increase in the drying temperature promotes the reduction in the content of insoluble phenolic compounds and increases in soluble phenolics. At higher drying temperatures and after storage, reductions of malonyl- and β -glycoside isoflavones are observed, with increases in aglycone forms. Glycitein was the isoflavone that presented the highest increases for both cultivars, being attributed mainly to the metabolism of the associated microorganisms, favored with the increase in the cellular damages and the fungal infestation.

Key-words: *Glicine max* (L.) Merrill), drying, temperature, technological properties, secondary metabolites, isoflavones.

Lista de Figuras

Figura 1. Temperatura da massa de grãos de soja submetidos as diferentes temperaturas do ar de secagem.....	46
Figura 2. Curva de redução do teor de água dos grãos de soja submetidos as diferentes temperaturas do ar de secagem.	47
Figura 3. Estrutura celular dos grãos de soja submetidos a diferentes condições de secagem. BMX Força –secagem natural (A) e 110 °C (B) e Nidera 5909 – secagem natural (C) e 110 °C (D). Corte realizado na parte central do grão de soja e fotografado na parte média da “banda”.	48
Figura 4. Germinação dos grãos de soja submetidos às diferentes temperaturas de secagem. Médias de três determinações ± desvio padrão são apresentados. Letras maiúsculas diferentes para as cultivares, e letras minúsculas diferentes para as condições de secagem, indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).	49
Figura 5. Condutividade elétrica (A) e teor de sólidos lixiviados (B) dos grãos de soja submetidos às diferentes temperaturas de secagem. Médias de três determinações ± desvio padrão são apresentados. Letras maiúsculas diferentes para as cultivares, e letras minúsculas diferentes para as condições de secagem, indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).	51
Figura 6. Solubilidade proteica dos grãos de soja submetidos às diferentes temperaturas de secagem. Médias de três determinações ± desvio padrão são apresentados. Letras maiúsculas diferentes para as cultivares, e letras minúsculas diferentes para as condições de secagem, indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).	53
Figura 7. Distribuição de peso molecular em 2% SDS (A) e 2% SDS + 1 % β-mercaptoetanol (B). Nos cromatogramas são identificados pesos moleculares referentes as regiões I (97 Da), II (66 Da), III (não identificada), IV (0,2 Da) e V (não identificado)	54
Figura 8. Produtos primários - K_{232} (A) e secundários - K_{270} (B) de oxidação do óleo de grãos de soja submetidos a diferentes temperaturas de secagem. Médias de três determinações ± desvio padrão são apresentados. Letras maiúsculas diferentes para as cultivares, e letras minúsculas diferentes para as condições de secagem, indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).	59
Figura 9. Germinação dos grãos de soja submetidos a diferentes temperaturas de secagem e armazenamento. Letras minúsculas diferentes para cada condição de secagem diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). * não determinado.	69

Figura 10. Total de isoflavonas dos grãos de soja submetidos a diferentes temperaturas de secagem e armazenamento. A) BMX Força e B) Nidera 5909. 78

Lista de Tabelas

Tabela 1. Características das cultivares BMX Força e Nidera 5909 avaliadas nos grãos de soja submetidos a secagem natural	40
Tabela 2. Perfil de ácidos graxos (%) do óleo de grãos de soja submetidos a diferentes temperaturas de secagem	56
Tabela 3. Teor de tocoferóis (mg 100g ⁻¹) do óleo de grãos de soja submetidos a diferentes temperaturas de secagem	57
Tabela 4. Número de colônias fúngicas (unidades) por 100 grãos de soja submetidos a secagem e armazenamento por 12 meses.	71
Tabela 5. Compostos fenólicos da fração solúvel e insolúvel para cultivar BMX Força submetida a diferentes temperaturas de secagem e armazenamento.	74
Tabela 6. Compostos fenólicos da fração solúvel e insolúvel para cultivar Nidera 5909 submetida a diferentes temperaturas de secagem e armazenamento.	75
Tabela 7. Isoflavonas malonil glicosídeos em grãos de soja submetidos a diferentes temperaturas de secagem e armazenamento.	80
Tabela 8. Isoflavonas β-glicosídeos em grãos de soja submetidos a diferentes temperaturas de secagem e armazenamento.	81
Tabela 9. Isoflavonas agliconas em grãos de soja submetidos a diferentes temperaturas de secagem e armazenamento.	82

Sumário

1. Introdução.....	16
1.1. Hipóteses	18
1.2. Objetivos.....	18
1.2.1. Objetivo geral	18
1.2.2. Objetivos específicos.....	18
2. Revisão bibliográfica.....	19
2.1. A soja – origem e utilização	19
2.2. Processamento e produtos derivados de grãos de soja	20
2.3. Metabólitos especializados.....	22
2.3.1. Compostos polares.....	23
2.3.1.1. Compostos fenólicos	23
2.3.1.1.1. Ácidos fenólicos	25
2.3.1.1.2. Flavonoides.....	25
2.3.1.1.2.1. Isoflavonas.....	26
2.3.2. Compostos apolares.....	28
2.3.2.1. Carotenoides	28
2.4.2.2. Tocoferóis.....	29
2.4. Secagem.....	31
2.5. Armazenamento.....	34
3. Capítulo 1 - Influência da temperatura de secagem na estrutura celular e qualidade da proteína e do óleo de grãos de soja.....	38
3.1. Introdução.....	38
3.2. Matérias e métodos.....	39
3.2.1. Material vegetal	39
3.2.2. Secagem da soja.....	41
3.2.3. Análises do grão	41
3.2.3.1. Estrutura celular.....	41
3.2.3.2. Germinação.....	42

3.2.3.3. Condutividade elétrica.....	42
3.2.3.4. Sólidos lixiviados	42
3.2.4. Análises do óleo e farelo	42
3.2.4.1. Extração do óleo e obtenção do farelo desengordurado de soja.....	42
3.2.4.2. Solubilidade proteica	43
3.2.4.3. Distribuição de peso molecular	43
3.2.4.4. Produtos primários (K_{232}) e secundários (K_{270}) de oxidação do óleo.....	43
3.2.4.5. Perfil de ácidos graxos.....	44
3.2.4.6. Tocoferóis individuais	44
3.2.5. Análise estatística	45
3.3. Resultados e discussões	45
3.3.1. Processo de secagem	45
3.3.2. Estrutura celular dos grãos	48
3.3.3. Germinação, condutividade elétrica e sólidos lixiviados	49
3.3.4. Solubilidade proteica e distribuição de peso molecular (HP-Sec)	52
3.3.5. Perfil de ácidos graxos.....	55
3.3.6. Tocoferóis individuais	57
3.3.7. Produtos primários (K_{232}) e secundários (K_{270}) de oxidação do óleo	58
3.4. Conclusões.....	60
4. Capítulo 2 - Efeitos da temperatura de secagem e do tempo de armazenamento sobre o perfil de compostos fenólicos e interconversão de isoflavonas.....	62
4.1. Introdução.....	62
4.2. Material e métodos	63
4.2.1. Material vegetal	63
4.2.2. Secagem e armazenamento.....	64
4.2.3. Análises	65
4.2.3.1. Teste de germinação	65
4.2.3.2. Incidência fúngica.....	65
4.2.3.3. Extração dos compostos fenólicos e isoflavonas livres.....	65

4.2.3.4. Extração dos compostos fenólicos e isoflavonas ligadas	66
4.2.3.5. Perfil de ácidos fenólicos por LC-ESI-QTOF-MS	66
4.2.3.6. Perfil de isoflavonas por LC-ESI-QTOF-MS	67
4.2.4. Análise estatística	68
4.3. Resultados e discussões	68
4.3.1. Germinação e incidência fúngica em função da temperatura de secagem e do tempo armazenamento	68
4.3.2. Perfil de ácidos fenólicos por HPLC-MS em função da temperatura de secagem e armazenamento	73
4.4. Conclusões	85
5. Considerações finais	86
6. Referências bibliográficas	87

1. Introdução

A soja (*Glycine max* (L.) Merrill) é a principal oleaginosa cultivada no mundo. Segundo dados da FAO (2017) a produção mundial deste grão é de aproximadamente 308 milhões de toneladas, sendo o Brasil responsável por 96 milhões de toneladas, exportando 58% desta produção, principalmente para países asiáticos, como a China.

A elevada produção de grãos muitas vezes esbarra na inaptidão técnica da pós-colheita, como a falta de armazéns ou o manejo inadequado dos processos de pós-colheita. Segundo levantamento de safra realizado pela CONAB (2016) a produção total de grãos no Brasil atingirá no ano de 2016/2017, cerca de 210 milhões de toneladas, porém a capacidade estática de armazenamento atual é de 152 milhões de toneladas, gerando um déficit de 27%. Além da falta de unidades armazenadoras, outras operações da pós-colheita também são deficitárias, como as de secagem, em muitos casos sendo um gargalo dentro das unidades armazenadoras.

Os métodos de secagem de grãos podem variar muito de acordo com a espécie que está sendo manejada. Em condições ambientais favoráveis, a secagem com ar natural é muito utilizada, pois não exige gastos com estrutura para secagem artificial. Porém, em algumas regiões o período de colheita coincide com épocas chuvosas, impossibilitando a secagem a campo, ocasionando a colheita dos grãos com umidade acima da desejada para o armazenamento (16 a 22%), devendo ser realizada a secagem com ar aquecido.

A soja é um alimento de elevada qualidade apresentando ao redor de 20% de lipídeos e 40% de proteínas. Os lipídeos apresentam elevada concentração de ácidos graxos insaturados, sendo amplamente consumido na alimentação humana e aplicado em produtos como biocombustíveis. Por ser um grão com elevado teor lipídico a soja é extremamente suscetível a deterioração durante o armazenamento sendo a umidade dos grãos, a temperatura de armazenamento e os microrganismos associados os principais fatores interferentes.

Os grãos de soja também são ricos em compostos bioativos como tocoferóis, carotenoides e compostos fenólicos que apresentam diversos benefícios a saúde como atividade antioxidante, anti-inflamatória, anticancerígena e ação de fitormônio, como no caso das isoflavonas. Recentemente vem sendo relatado que os compostos bioativos podem ser degradados durante o armazenamento inadequado, pois estes compostos possuem ação antioxidante também nos grãos (ZIEGLER et al. 2016b). A acidez lipídica e a hidrólise das proteínas também são alterações que ocorrem durante o armazenamento (ZIEGLER et al., 2016a).

Portanto a redução da umidade dos grãos é necessária para um armazenamento seguro, estando diretamente relacionada com a taxa respiratória (CHIDANANDA et al., 2014). Para isso surge a importância da secagem de grãos com foco na manutenção da qualidade nutricional e de bioativos em grãos.

Ainda existe uma carência de estudos de secagem com posterior armazenamento por longos períodos. Atualmente quando se fala em secagem de soja, a maioria dos estudos são relacionados aos danos físicos como, rachaduras e quebras, principalmente atribuídos a movimentação dos grãos e as temperaturas elevadas de secagem, influenciando na redução da germinação e vigor. No entanto as alterações nos compostos bioativos, promovidas pelas elevadas temperaturas de secagem e submetidos a um longo período de armazenamento ainda não vêm sendo estudadas.

Dessa forma, o presente trabalho está dividido em dois estudos que avaliam: (1) Influência da temperatura de secagem na estrutura celular e qualidade da proteína e do óleo de grãos de soja; e (2) Efeitos da temperatura de secagem e do tempo de armazenamento sobre o perfil de compostos fenólicos e interconversão de isoflavonas.

1.1. Hipóteses

As cultivares de soja são afetadas de forma diferente em função da temperatura de secagem e da variação na composição química e estrutural;

A temperatura da massa de grãos superior a 40 °C durante a secagem promove perda irreversível na qualidade proteica e metabólitos;

Os grãos de soja submetidos a elevadas temperaturas de secagem são mais suscetíveis a infestação fúngica;

O aumento da temperatura de secagem promove danos a longo prazo nos metabólitos secundários de grãos de soja armazenado.

1.2. Objetivos

1.2.1. Objetivo geral

Avaliar os efeitos da temperatura de secagem e do tempo de armazenamento sobre a qualidade tecnológica e de metabólitos de grãos de soja.

1.2.2. Objetivos específicos

Avaliar a qualidade nutricional dos grãos de soja submetidos a diferentes temperaturas de secagem;

Estudar a contaminação fúngica dos grãos de soja submetidos a diferentes temperaturas de secagem;

Determinar os danos latentes (longo prazo) promovidos pela temperatura de secagem sobre os metabólitos secundários de grãos de soja armazenados por doze meses.

2. Revisão bibliográfica

2.1. A soja – origem e utilização

A soja *Glycine max.* (L.) Merrill pertence à família Fabaceae, a mesma de feijões, ervilha e lentilha. Embora os grãos desta família caracterizem-se pelo elevado teor proteico, a soja com 35-40% de proteínas é considerada uma oleaginosa por excelência possuindo ao redor de 20% de óleo. Devido a estas características a soja era considerada na antiguidade como um grão milagroso (EMBRAPA, 2017)

A soja teve origem na costa leste da Ásia, ao longo do rio Yangtse, na China, cerca de 4000 a 5000 anos atrás. Inicialmente as plantas de soja apresentavam hábito de crescimento rasteiro, sendo os primeiros sinais de domesticação relatados por pesquisadores chineses ao redor de 2000 anos A.C. Inicialmente a soja foi introduzida na Europa, no final do século XV como planta ornamental na Alemanha, Inglaterra e França. Somente na metade do século XX a soja passou a ganhar reconhecimento por suas características (EMBRAPA, 2015).

No Brasil, na década de 60, o cultivo da soja surgiu primeiramente nos estados do sul, principalmente como uma alternativa de verão para a sucessão do trigo, principal cultura na época. Na mesma década com a revolução verde e o elevado investimento no agronegócio a soja passou a ser ponto estratégico da agricultura brasileira. A partir daí passou a ser difundida para as demais regiões do Brasil, principalmente pelos avanços científicos que permitiram o cultivo em baixas latitudes (MANDARINO; ROESSING, 2001).

Atualmente o Brasil ocupa o segundo lugar em produção deste grão, com aproximadamente 96 milhões de toneladas, enquanto que os Estados Unidos apresentaram ao redor de 108 milhões de toneladas (FAO, 2016). Segundo dados da CONAB (2016) a estimativa de área cultivada de soja no Brasil é de mais de 32 milhões de hectares, com produção esperada para a safra 2016/2017 de 102,49 milhões de toneladas.

A exportação de soja brasileira basicamente tem como destino final a China, que absorve 58% da nossa produção. A China importa 68% da produção mundial de soja, processando ao redor 65 milhões de toneladas. A soja apresenta elevado valor econômico devido a sua ampla aplicação, conferido pela sua constituição, majoritariamente proteínas e lipídeos, portanto, constituintes com maior valor comercial (CONAB, 2016).

2.2. Processamento e produtos derivados de grãos de soja

O processo de extração lipídica inicia-se com a secagem dos grãos até aproximadamente 10% de umidade, para facilitar o descascamento. Os grãos não devem ser esmagados, pois acarretará em perda de óleo e proteínas junto ao tegumento (casca). Na sequência os grãos são moídos com a finalidade de reduzir o tamanho de partículas à 1/8 das dimensões originais, facilitando a exposição celular na laminação e o maior rendimento de extração. A soja moída apresenta textura seca e quebradiça, sendo necessário o condicionamento por cozimento em vapor (forma indireta), tornando o material mais plástico (umidade de 11%), desnaturando enzimas lipases e peroxidases, e aumentando a permeabilidade de membranas celulares para facilitar a saída do óleo. A laminação diminui a distância para 0,25 a 0,35mm entre o centro da lâmina, sendo possível a entrada do solvente e a saída do óleo. Com intuito de aumentar a eficiência do processo de extração do óleo, o farelo moído é pré-cozido e submetido à expansão tornando-se mais poroso e favorecendo a extração e dessolventização (MANDARINO; ROESSING, 2001).

A extração pode ser realizada por processo de prensagem, solvente orgânico ou misto. Por prensagem é vantajosa, pois não deixa resíduos químicos no farelo, porém deixa mais resíduos de óleo na torta. A extração comercial de óleo é realizada por solventes orgânicos (hexano) e apresenta elevadas taxas de extração, e pode ser realizada em temperatura geralmente ao redor de 70 °C, porém o resíduo químico do farelo é um ponto negativo deste método. Enquanto que a extração mista é realizada por prensagem seguida de solvente. O óleo recém-extraído é denominado óleo bruto e pode ser utilizado como alimento ou para fabricação de biodiesel, mas necessita ser refinado através dos processos de degomagem, neutralização, clarificação e desodorização (SEBADELHE; ROSA; OLIVEIRA, 2006).

Apesar de ser o componente majoritário na soja, a proteína de soja ganha maior importância após a extração de óleo. O óleo, na maioria das indústrias é extraído por solventes, portanto o farelo obtido apresenta resíduos de solventes e fatores antinutricionais (antitripsinas e as fitohemaglutininas), portanto deve ser realizado o processo de dessolventização/tostagem. Para isso, o vapor de água é adicionado ao farelo (umidade de 16 a 18% entre 100 a 110°C, por 20 a 30 minutos), e na sequência o farelo é tostado ocorrendo à redução para aproximadamente 12% de umidade (MANDARINO; ROESSING, 2001).

O farelo da soja pode ser utilizado de diferentes formas, como farelo (40 a 50% PB), concentrado proteico (>68% PB) ou isolado proteico (>88% PB). A obtenção do concentrado

proteico e isolado proteico são baseados na solubilidade das proteínas. No isolado proteico o farelo é disperso e agitado em água, então o pH é ajustado para valores de 8 a 11, nestes valores de pH as proteínas apresentam maior solubilidade passando da fase sólida para a fase aquosa. O material é centrifugado e coletado o sobrenadante, então o pH reduzido para 4,5. No concentrado proteico por sua vez, as proteínas não são solubilizadas, mas insolubilizadas em pH menores que 4,5 (com solução de ácido clorídrico -HCl) ou com uma solução alcoólica (60%). Na sequência a dispersão é centrifugada, sendo o sobrenadante descartado (ZHENG et al., 2008). Para ambos os processos de obtenção do isolado e concentrado proteico, a secagem geralmente é realizada por liofilização ou *spray dryer*.

Os grãos de soja podem ser consumidos de outras formas, sendo amplamente difundidos na culinária oriental, principalmente na forma de *soymilk*, *tofu*, produtos fermentados (*misso*, *natto*, *shoyu*) e brotos (GARCÍA et al., 1996).

O *soymilk* é obtido pela extração aquosa das proteínas da soja, enquanto que o *tofu* é obtido a partir da coagulação deste extrato aquoso, seguido de molde e prensagem para configurar textura desejável (CAI; CHANG, 1999). A capacidade de utilização dos grãos de soja para este fim está muito associada às características das proteínas, como a solubilidade em água, a viscosidade, a capacidade geleificante, a capacidade emulsificante, a capacidade de absorção de água e de óleo. Para esta finalidade geralmente são utilizados grãos recém-colhidos ou em bom estado de conservação, que geralmente apresentam solubilidade proteica ao redor de 85% (LIU et al., 2003). A solubilidade em água é a propriedade mais importante, pois define o rendimento e a qualidade na produção dos derivados da soja, como *tofu* e *soymilk* (HOU; CHANG, 2004). Estas propriedades tecnológicas de soja são influenciadas pelo genótipo, pelas condições de cultivo e, principalmente, pelo armazenamento inadequado (ACHOURI; BOYE; ZAMANI, 2008).

Os produtos fermentados de soja mais comuns são o *natto*, o *misso* e o mais popularmente utilizado: o *shoyu*. Para fabricação do *shoyu* a soja é cozida e misturada ao trigo torrado/moído. Na sequência estes materiais são misturados e fermentados por fungos *Aspergillus oryzae* ou *Aspergillus sojae*. Para a fase final do processo, essa mistura é fermentada por *Lactobacillus* sp. e leveduras na presença de 17% de cloreto de sódio, por 6 a 8 meses. O consumo de *shoyu* apresenta benefícios, como promoção da secreção do suco gástrico, efeito hipotensivo, atividade antimicrobiana, efeito anticarcinogênico e torna as isoflavonas mais ativas, liberando as formas agliconas das isoflavonas, reduzindo os efeitos da menopausa (KATAOKA, 2005; KOBAYASHI, 2005).

A soja consumida na forma de broto apresenta inúmeras vantagens nutricionais e funcionais, quando comparada a não germinada. Durante o processo de germinação são sintetizadas enzimas capazes de hidrolisar macromoléculas como proteínas e oligossacarídeos, melhorando a disponibilidade de nutrientes e reduzindo fatores antinutricionais. A germinação promove a conversão gradual de isoflavonas glicosiladas para suas correspondentes formas agliconas, que além da atividade antioxidante, também apresentam maior efetividade na regulação estrogênica (HUANG; CAI; XU, 2014).

2.3. Metabólitos especializados

O metabolismo é definido como o conjunto total das transformações das moléculas orgânicas, catalisadas por enzimas, que ocorre nas células vivas, suprindo o organismo de energia, renovando suas moléculas que garantem a continuidade do estado organizado. Essas reações possuem certa direção devido à presença de enzimas específicas, estabelecendo, assim, as rotas metabólicas, visando o aproveitamento de nutrientes para satisfazer as exigências fundamentais da célula. Além do metabolismo primário, responsável pela síntese de celulose, lignina, proteínas, lipídeos, açúcares e outras substâncias importantes para a realização das funções vitais, as plantas também apresentam o metabolismo especializado (metabolismo secundário) (TAIZ; ZEIGER, 2013).

Os metabólitos especializados não são comuns a todos os organismos, ocorrendo em alguns grupos específicos. Muitas vezes ocorrem apenas em momentos específicos do crescimento e desenvolvimento ou podem ser produzidos em resposta à estresses. Eles apresentam uma vantagem evolutiva, onde o melhoramento e a seleção de espécies que produzam mais ou menos de um determinado metabólito especializado podem ser realizados. Em geral, apresentam baixo peso molecular e se encontram em baixas concentrações, despertando interesse não só pelas atividades biológicas exercidas pelas plantas em resposta aos estímulos do meio ambiente, mas também apresentam importância comercial na área farmacêutica, alimentar, agrônômica, perfumaria e outras (DEWICK, 2009; CHEYNIER, 2012; TAIZ; ZEIGER, 2013).

A síntese dos metabólitos especializados se dá por diferentes vias, principalmente, a via do chiquimato e a do acetato. Pela via do chiquimato são sintetizados os compostos fenólicos, derivados do ácido cinâmico, lignanas, alcaloides, taninos derivados dos aminoácidos aromáticos. Pela via do acetato são derivados os aminoácidos alifáticos e os

alcaloides derivados deles; terpenoides, esteroides, ácidos graxos e triglicerídeos (DEWICK, 2009).

Os grãos da soja apresentam vários compostos derivados do metabolismo especializado, que também são conhecidos como compostos bioativos, sendo divididos em compostos polares (fenólicos solúveis e complexados, flavonoides, isoflavonas, antocianinas) e compostos apolares (carotenoides e tocoferóis). Esses compostos são conhecidos por retardar a velocidade da oxidação, através de um ou mais mecanismos, tais como inibição de radicais livres e complexação com metais (BOUCHENAK; LAMRI-SENHADJI, 2013). As quantidades desses compostos variam de acordo com a coloração do tegumento, cultivar, local de produção e as condições climáticas e de estresses em que a planta for exposta, além das condições de processamento pós-colheita, como aquecimento, temperatura de secagem, tempo de armazenamento, tratamento hidrotérmico, entre outros (HOECK et al., 2000; CORREA et al., 2010; CHO et al., 2013).

2.3.1. Compostos polares

2.3.1.1. Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos são derivados do metabolismo especializado vegetal, sintetizados a partir da via do chiquimato (fenilpropanoides) e do acetato. A síntese desses compostos ocorre nos cloroplastos ou no citoplasma. Os compostos fenólicos em condições naturais, mas principalmente em condições de estresse, apresentam função protetora nas plantas, principalmente contra infecções, ferimentos, radiações ultravioleta (UV), dentre outros (DEGÁSPARI; WASZCZYNSKYJ, 2004). A estrutura básica dos compostos fenólicos consiste em pelo menos um grupo hidroxila ligado a um anel aromático. No entanto, esses compostos apresentam uma diversidade de estruturas, desde as mais simples, como os ácidos fenólicos, até as mais complexas, como os flavonoides (TULIPANI et al., 2008).

Esses compostos apresentam diferentes efeitos biológicos, dentre eles podem ser destacadas a ação antioxidante, antimicrobiana, anti-inflamatória e vasodilatadora. A atividade antioxidante se baseia na capacidade em doar hidrogênios ou elétrons, e também em virtude de seus radicais intermediários estáveis impedirem a oxidação de vários ingredientes dos alimentos, particularmente os lipídios (YAHIA, 2009; CHEYNIER, 2012).

Os compostos fenólicos podem ser encontrados na forma solúvel ou insolúvel. Os compostos fenólicos solúveis encontram-se compartimentalizados dentro dos vacúolos celulares, e estão na forma livre ou conjugada, enquanto que os fenólicos insolúveis, ou

também chamados de complexados, encontram-se ligados a estruturas da parede celular, tais como celulose, hemicelulose, lignina, pectina e proteínas estruturais (CHO et al., 2013).

Os compostos fenólicos solúveis são mais instáveis que os complexados, e são absorvidos mais facilmente no estômago e no intestino delgado e distribuídos por todo o corpo, desempenhando suas funções essenciais à saúde (WONG, 2006). A ingestão de compostos fenólicos que estejam complexados tem grande importância na alimentação, pois sua liberação ocorre de forma parcial no trato gastrointestinal, sendo a maioria destes compostos liberados somente após a fermentação pela microflora presente no cólon, através da ação de enzimas *esterases* e *xilanases*, justificando que o consumo de grãos ajuda a reduzir a incidência de câncer de cólon (ACOSTA-ESTRADA; GUTIÉRREZ-URIBE; SERNASALDIVAR, 2014). Em grãos da soja, os compostos fenólicos solúveis representam mais da metade do total de compostos fenólicos (CHO et al., 2013).

Os compostos fenólicos são muito variáveis em função do genótipo e ambiente. O teor de compostos fenólicos totais em soja com tegumento de coloração escura varia de 3,7 a 6,2 mg equivalente de ácido gálico g^{-1} (mg EAG g^{-1}), enquanto na soja amarela o teor varia de 2,3 a 2,6 mg EAG g^{-1} (XU; CHANG, 2007). Kumar et al. (2010) reportaram variação no teor de compostos fenólicos de 0,8 a 5,9 mg ácido gálico g^{-1} , de acordo com a coloração do tegumento, sendo que em coloração de tegumento preto apresentam até cinco vezes mais compostos fenólicos do que os grãos de tegumento amarelo e verde.

O teor de compostos fenólicos totais varia de acordo com a parte do grão, sendo que aproximadamente 70% estão localizados no tegumento, seguidos de eixo embrionário (20%), e cotilédone (4%) (JENG et al., 2010). O autor relata que essa informação é importante, pois durante o processamento algumas partes são removidas, diminuindo, assim, o teor no produto final. Por outro lado, dentre os compostos fenólicos presentes no tegumento, estão os taninos, que são considerados fatores antinutricionais quando os grãos são consumidos por humanos e animais, devido à interação com proteínas, diminuindo a digestibilidade proteica. O teor de compostos fenólicos é alterado devido às variações na coloração do tegumento, características intrínsecas do genótipo e condições ambientais em que a planta é submetida durante o cultivo (CORREA et al., 2010; JENG et al., 2010; KUMAR et al., 2010; JOHN et al., 2016).

O teor de compostos fenólicos é afetado pelas condições de processamento, onde o farelo desengordurado de soja apresenta em média 242 mg equivalente de ácido gálico (EAG) g^{-1} em base seca (*b.s.*) e a farinha integral 186 mg EAG g^{-1} *b.s.* (BOLANHO, 2010). A diferença no teor de compostos fenólicos nesses produtos pode estar associada ao processo de remoção da gordura, que promove uma maior concentração de compostos fenólicos, e o

extrato hidrossolúvel da soja apresenta entre 194 a 230 mg EAG g⁻¹. A proteína texturizada da soja apresenta entre 215 a 243 mg EAG g⁻¹ e o isolado proteico revela, aproximadamente 136 mg EAG g⁻¹ de compostos fenólicos (BOLANHO, 2010).

2.3.1.1.1. Ácidos fenólicos

Os ácidos fenólicos são amplamente distribuídos nas plantas e chamam a atenção devido às suas propriedades antioxidantes e habilidade de eliminação dos radicais livres, que tem potencial benefício para a saúde humana (DYKES; ROONEY, 2007). Os principais ácidos fenólicos encontrados em grãos da soja são derivados dos ácidos hidroxibenzoicos (ácidos gálico, gentísico e protocatecoico) e hidroxicinâmicos (ácidos cinâmico, ferúlico, *p*-cumárico e sinápico). O ácido gálico, protocatecoico, *p*-cumárico e ferúlico são os principais ácidos fenólicos em grãos da soja, possuem elevada atividade antioxidante e juntos representam entre 28 a 72% do total de compostos fenólicos encontrados em grãos da soja (LEE et al., 2013).

Estes compostos podem sofrer alterações dependendo do processamento utilizado. Em pesquisas com torrefação dos grãos da soja, Lee et al. (2013) evidenciaram um incremento no teor de ácidos fenólicos. Os autores sugerem que esse aumento se deve pela liberação dos compostos das matrizes celulares, isso porque o tratamento térmico rompe as membranas e às paredes celulares. Em farinha da soja desengordurada os principais ácidos fenólicos encontrados foram o ácido clorogênico, cafeico, *p*-cumárico e ferúlico (LEE et al., 2013).

2.3.1.1.2. Flavonoides

Os flavonoides são compostos de baixo peso molecular sintetizados a partir da via dos fenilpropanoides. Os flavonoides têm um esqueleto básico de difenilpropano (C₆-C₃-C₆) com diferente nível de oxidação do anel central piranosídico. Dependendo do padrão de substituição e insaturação são formadas as diferentes classes de flavonoides, que são biologicamente e quimicamente diversos, como as antocianidinas, flavonóis, flavonas, flavanonas e chalconas. É importante salientar que os flavonoides geralmente aparecem na forma glicosilada, ou seja, ligada a um açúcar. Quando não estão ligados a um determinado açúcar denominam-se de aglicona (DEWICK, 2009; DYKES; ROONEY, 2007).

Para as plantas os flavonoides atuam no mecanismo de defesa, tolerância e resistência, com intuito de proteger as estruturas da luz ultravioleta (UV), atuando nas membranas e

parede celular. Além desses efeitos, os flavonoides participam nas interações planta-planta apresentando efeito alelopático, da mesma forma, estão relacionados com a defesa, sendo classificados em dois grupos: compostos "induzidos" e "previamente formados" (TREUTTER, 2006). Os compostos "induzidos" são sintetizados por plantas em resposta a um ferimento, infecção ou situações de estresse. Já os flavonoides "pré-formados" são sintetizados durante o desenvolvimento normal do tecido da planta. Estes compostos pré-formados são muitas vezes armazenados estrategicamente em locais importantes, onde poderão desempenhar um papel de sinalização e defesa para a planta, como, por exemplo, os armazenados em tecidos epidérmicos para proteção contra os raios ultravioleta (UV), sendo estes flavonoides (TREUTTER, 2006).

Para os humanos, a ingestão de flavonoides apresenta múltiplos efeitos biológicos, tais como, a atividade antioxidante, anti-inflamatória e antitumoral, pode reduzir à fragilidade e permeabilidade capilares, inibir a destruição do colágeno e a agregação plaquetária. Diante disso, a ingestão de flavonoides está associada à longevidade e à redução na incidência de doenças cardiovasculares (CHEYNIER, 2012).

Na soja as principais classes de flavonoides presentes são as isoflavonas em grãos com tegumento amarelo e as antocianinas nos grãos com tegumento preto (ZILIC et al., 2013). Os autores encontraram que os grãos com tegumento preto apresentam teor de flavonoides totais, 70 vezes maiores do que em grãos com tegumento amarelo.

Torna-se importante salientar que o perfil de flavonoides evidenciados nas folhas da soja apresenta-se diferente daqueles observados nos grãos. Nas folhas os compostos predominantes são derivados do campferol, enquanto, que nos grãos predominam as isoflavonas. Os derivados da soja também apresentam flavonoides, e a farinha da soja integral apresenta em média 183 mg de catequina em 100 g⁻¹ de grãos, enquanto, que a farinha desengordurada 200 a 220 mg de catequina 100 g⁻¹ de grãos (BOLANHO, 2010).

2.3.1.1.2.1. Isoflavonas

Dentre os vários compostos bioativos presentes nos grãos de soja, as isoflavonas representam em torno de 72% do total de compostos fenólicos. É considerado o grupo mais importante dos compostos fenólicos livres ou solúveis, devido as suas propriedades funcionais e nutricionais. As isoflavonas apresentam potencial antioxidante, ante osteoporose, anticarcinogênico, antibacteriano, entre outros. As isoflavonas (daidzeína, genisteína e gliciteína) apresentam-se dispostas em quatro formas químicas, somando assim 12 isômeros:

agliconas, glicosídeo, acetilglicosídeo e malonilglicosídeo (HOECK, 2000; LEE et al., 2013; ZILIC et al., 2013; KIM et al., 2014).

A distribuição e concentração das isoflavonas variam de acordo com as condições ambientais (umidade e temperatura do ar, safra agrícola, umidade do solo, região geográfica, radiação solar), fatores genéticos (genótipos e conformidade dos grãos) e o tipo de processamento utilizado no preparo dos produtos proteicos. O efeito do ambiente de cultivo no conteúdo de isoflavonas é atribuído principalmente as diferenças de temperatura do ar e do solo, durante a semeadura e ciclo de desenvolvimento (TSUKAMOTO et al., 1995). As condições de processamento dos grãos da soja podem provocar alterações, tanto no teor total como nas formas das isoflavonas presentes nos produtos derivados (BOLANHO, 2010).

O teor de isoflavonas é 5 a 6 vezes maior no hipocótilo da plântula do que nos cotilédones. No entanto 80 a 90% das isoflavonas estão localizados nos cotilédones, já que o hipocótilo representa apenas 2% da massa seca total da plântula, desta forma a gliciteína e seus conjugados ocorrem somente no hipocótilo (KUMAR et al., 2010; SILVA et al., 2012). Em diferentes genótipos da soja, a forma malonilglicosídeo representa entre 55 a 88% do total de isoflavonas, revelando uma ordem de concentração, malonilglicosídeo > glicosídeo > aglicona > acetilglicosídeo, extremamente dependente das condições de cultivo, origem geográfica e das características do genótipo (KUMAR et al., 2010). Os genótipos de soja brasileiros apresentam uma variação no teor de isoflavonas de 4,64 a 188,32 mg 100g⁻¹ de grãos (GENOVESE; HASSIMOTTO; LAJOLO, 2005; SILVA et al., 2012).

Além destes fatores, a coloração do tegumento também influencia o teor de isoflavonas contidos nos grãos. Na soja com tegumento verde as isoflavonas na forma malonilglicosídeo representam 62 a 82 % do total, enquanto que na soja de tegumento marrom, esse valor é menor (KUMAR et al., 2010).

A genisteína e a daidzeína se destacam pelo efeito anticancerígeno, observado em populações com dietas ricas em produtos oriundos da soja. Nestas populações é possível revelar a menor incidência de determinados tipos de câncer (côlon, mama e próstata) quando comparadas à populações que não consomem esses alimentos. Além disso, por apresentarem estrutura química similar aos estrógenos eles possuem ação de fito-hormônio regulando os níveis deste hormônio (WONG et al., 2008; ANDRES et al., 2011; SETCHELL, 2013; KIM et al., 2014).

A capacidade antioxidante das isoflavonas está relacionada ao número de grupos hidroxila presentes na sua estrutura química. Assim, a capacidade antioxidante varia desta maneira, genisteína > daidzeína > genistina > daidzina, ou seja, está associada ao número de

hidroxilas livres. Além disso, a capacidade antioxidante das isoflavonas decresce devido a glicosilação ou a substituição do grupo hidroxila pelo grupo metoxila. As isoflavonas podem inibir a peroxidação lipídica *in vitro* devido ao sequestro de radicais livres, ou por atuar como agentes quelantes de metais (HOECK et al., 2000; CHO et al., 2013;).

Em produtos derivados da soja as isoflavonas são os metabolitos predominantes, sendo que a quantidade e as formas químicas presentes dependem das condições de processamento, sendo a temperatura o principal fator que influencia a composição de isoflavonas em grãos da soja. Os processos como a ebulição, fritura, cozimento em micro-ondas, radiação gama podem alterar o conteúdo de isoflavonas presentes nos produtos derivados da soja (BARBOSA et al., 2006). Durante o processamento dos derivados da soja ocorre uma mudança na estrutura das isoflavonas, onde os compostos glicosilados são transformados em suas formas agliconas, acumulando dessa forma no produto final. A forma malonil é termicamente instável e pode sofrer reações de esterificação ou descarboxilação (BARBOSA et al., 2006; BOLANHO, 2010; LEE et al., 2013).

O farelo desengordurado, o concentrado e isolado proteicos da soja apresentam atividade antioxidante significativa pelo método de co-oxidação do β -caroteno e ácido linoleico, sendo que dentre as formas agliconas, a genisteína apresenta a maior capacidade antioxidante (BOLANHO, 2010). O conteúdo de isoflavonas agliconas apresenta concentrações variadas nos produtos, aproximadamente 200 mg 100g⁻¹ (farelo integral), 191 a 381 mg 100g⁻¹ (farelo desengordurado), 124 mg 100g⁻¹ (isolado proteico) e 114 a 183 mg 100g⁻¹ (proteína texturizada) e 123 a 180 mg 100g⁻¹ (extrato hidrossolúvel) (BARBOSA et al., 2006; GÓES-FAVONI et al., 2004).

2.3.2. Compostos apolares

2.3.2.1. Carotenoides

Os carotenoides são um dos maiores grupos de pigmentos sintetizados por plantas com mais de 700 moléculas caracterizadas (RODRIGUEZ-AMAYA, 2010). São sintetizados e acumulados nos plastídios a partir das rotas do ácido mevalônico e da rota do metileritritol fosfato. Apresentam como estrutura básica uma cadeia de oito unidades isoprênicas. O primeiro carotenoide a ser sintetizado é fitoeno sendo este um precursor dos demais carotenoides. As sucessivas mudanças estruturais, como a ciclização e outras modificações a partir de hidrogenação, dehidrogenação, migração das duplas ligações, encurtamento ou extensão da cadeia, rearranjos, isomerização, introdução de funções oxigênio ou a

combinação destes processos produzem uma elevada quantidade de estruturas de carotenoides encontrados na natureza (DEWICK, 2009; CARVALHO; FRASER; MARTENS, 2013). Os carotenoides atuam como pigmentos acessórios na fotossíntese e, além disso, facilitam a dispersão do pólen e atuam como removedores de radicais livres, protegendo o aparato fotossintético da foto-oxidação (TAIZ; ZEIGER, 2013). A coloração dos carotenoides pode variar do amarelo ao vermelho e em alimentos têm sido utilizados como corante e antioxidante natural (RODRIGUEZ-AMAYA, 2010).

Os carotenoides são considerados benéficos à saúde principalmente por sua atividade de pró-vitamina A. Cerca de 50 carotenoides possuem essa característica, devido à presença do anel β -ionona, mas os principais são o β -caroteno, o α -caroteno e a β -criptoxantina. Os carotenoides licopeno, luteína e zeaxantina não possuem atividade pró-vitamina, mas a ingestão desses compostos diminui o risco de desenvolvimento de doenças degenerativas, como câncer de próstata, doenças cardiovasculares, catarata e a degeneração muscular (KRINSKY; JOHNSON, 2005; RODRIGUEZ-AMAYA, 2010; AMORIM-CARRILHO et al., 2014). Para os humanos, estudos têm demonstrado que os carotenoides atuam como antioxidantes, protegendo as células dos danos oxidativos e, conseqüentemente, reduzindo o risco de desenvolvimento de algumas doenças crônicas (KRINSKY; JOHNSON, 2005; AMORIM-CARRILHO et al., 2014).

Os carotenoides apresentam característica apolar, ou seja, são encontrados quase na sua totalidade no óleo de soja. A luteína é o carotenoide majoritário, independente da coloração do tegumento. Outros carotenoides obtidos em quantidades variáveis em função do genótipo, e da coloração do tegumento dos grãos são, β -caroteno, a criptoxantina e zeaxantina (SLAVIN et al., 2009). A variação no teor de carotenoides é dependente da cultivar e da coloração do tegumento. Em genótipos com tegumento preto são encontrados as maiores quantidades de luteína, β -caroteno, β -criptoxantina e zeaxantina, quando comparados a sojas com tegumento marrom, amarelo e verde (SLAVIN et al., 2009). A luteína é encontrada principalmente nos cotilédones, enquanto, que o β -caroteno principalmente estão localizados no tegumento da semente (FISK; GRAY, 2011).

2.4.2.2. Tocoferóis

A síntese de tocoferóis ocorre somente em organismos fotossintetizantes a partir da via do chiquimato e da via do metileritritol fosfato. A via do metileritritol fosfato (MEP) que origina a cadeia lateral através da síntese do fitildisfosfato (PDP) e a via chiquimato que

produz o ácido homogentísio (HGA), o qual contribui para a formação do anel aromático da estrutura do tocoferol (HUNTER; CAHOON, 2007). O termo vitamina E é utilizado para indicar o grupo de oito moléculas que apresentam estrutura similar, são eles alfa (α), beta (β), gama (γ) e delta (δ) tocoferóis e α , β , γ e δ tocotrienóis (KAMAL-ELDIN; APPELQVIST, 1996).

Os tocoferóis são moléculas lipossolúveis importantes devido a sua capacidade de capturar radicais livres. (RIZVI et al., 2014). Dentre os tocoferóis, o α -tocoferol é o que apresenta maior atividade antioxidante, presente em todas as membranas celulares, porém em grãos de soja são encontrados em baixas concentrações. Atuam na proteção contra a lipoperoxidação evitando a formação de radicais peróxidos a partir dos ácidos graxos poliinsaturados presentes nos fosfolipídios de membrana, convertendo os produtos mais estáveis. Com isso é observada maior função imune, redução na incidência e progressão de doenças degenerativas como, alguns tipos de câncer, catarata, desordens neurológicas, diminuir o risco de câncer, doenças cardiovasculares e neurodegenerativas, como Alzheimer e Parkinson, e ainda melhoram o sistema imunológico (HUNTER; CAHOON, 2007; RISVI et al., 2014).

Os tocoferóis são biomoléculas com excelente valor nutracêutico e são encontrados em concentrações elevadas nos grãos da soja. Embora sejam encontradas em soja as quatro formas de tocoferóis (α , β , γ e δ), as que predominam são γ e δ tocoferóis. A atividade destas moléculas está diretamente associado à variação no número e posição dos substituintes metilas do anel cromanol. O α -tocoferol possui atividade antioxidante máxima, enquanto o β , γ e δ apresentam 50, 10 e 30% da atividade antioxidante, quando comparados ao α -tocoferol, respectivamente (CLEMENTE; CAHOON, 2009; FISK; GRAY, 2011).

O teor de tocoferóis em óleo da soja apresenta variação de acordo com a coloração do tegumento, local de cultivo, genótipo utilizado e processamento (DWIYANTI et al., 2011). O teor de α -tocoferol em grãos de soja cozidos é de aproximadamente 2 mg. 100g^{-1} , correspondendo a 15% da ingestão diária recomendada (IDR). No óleo bruto de soja é encontrado ao redor de $18,2\text{ mg}\cdot 100^{-1}$, enquanto que em produtos como o *tofu* (queijo de soja) não são encontradas essas moléculas (vitamina E), pois o *tofu* é obtido a partir do extrato hidrossolúvel. Embora no óleo bruto de soja sejam encontradas elevadas quantidades de tocoferóis, esse óleo raramente é utilizado nesta forma, necessitando de refino, com isso grande parte destes metabólitos são perdidos (SLAVIN et al., 2009; BOLANHO, 2010).

2.4. Secagem

A secagem de grãos é uma etapa da pós-colheita extremamente importante e dependente das características do produto, para isso o conhecimento da espécie ou genótipo é de fundamental importância. A soja é uma espécie que se destina bem a secagem natural a campo, pois no final do período reprodutivo ela perde as suas folhas, facilitando a circulação de ar entre as plantas e a remoção de água. Quando há possibilidade da secagem de soja à campo, os grãos podem ser mantidos na lavoura até umidade próxima para o armazenamento, que é 13-15%, com isso o máximo de peso é mantido e poucos danos são observados (DARVISHI; KHOSHTAGHAZA; MINAEI, 2013). Em condições de elevada pluviosidade, a soja geralmente é colhida com umidades superiores a ideal para o armazenamento, necessitando de rápida remoção de água para um armazenamento seguro. Quando o tempo de armazenamento não ultrapassar 6 meses é possível secar os grãos de soja até 13% de umidade, porém em períodos mais longos a umidade deve ser reduzida entre 10 e 11% (SOPONRONNARIT; SWASDISEVI; WETCHACAMA, 2001; ZIEGLER et al., 2015b).

Conceitualmente o processo de secagem pode ser entendido como a retirada de água de produtos sólidos, líquidos ou gases. A água pode ser removida quimicamente (dessecantes ou por decomposição da água), liofilização, absorção ou por processos mecânicos (centrifugação, prensagem ou gravidade). No entanto, quando se fala em secagem de grãos, os métodos mais utilizados são os térmicos, cujo princípio é a remoção de água pela evaporação, envolvendo transferência de calor e massa. O calor sensível do ar é reduzido conforme vai sendo utilizado para evaporação da umidade, enquanto que o calor total se mantém inalterado uma vez que o calor sensível é recuperado na forma de calor latente de vaporização da água, agora presente no ar. O processo de secagem é dependente das características dos grãos, do sistema de secagem e temperatura utilizada. A transferência da umidade interna até a superfície do grão, pode se dar na forma de vapor ou líquido, enquanto que da superfície ocorre somente na forma de vapor (EKECHUKWU, 1999).

A secagem comercial de grãos de soja geralmente é realizada com secadores contínuos. Basicamente este secador é composto por uma câmara de secagem com ar aquecido na parte superior do secador por onde os grãos entram. Após os grãos serem aquecidos eles seguem em fluxo descendente passando posteriormente por uma câmara de arrefecimento. Neste secador os grãos saem secos e com temperatura reduzidas. Cabe salientar que os grãos de soja são sensíveis a danos mecânicos promovidos pela movimentação, mas toleram de certa forma temperaturas mais elevadas.

Quanto a temperatura de secagem, os diferentes métodos podem ser enquadrados em alta ou baixa temperatura de operação. A secagem em baixas temperaturas é geralmente realizada em silos secadores (leito fixo), onde a umidade é levada ao equilíbrio através de temperaturas reduzidas e constante ventilação, porém somente é possível quando a pressão de vapor do ar é menor que a pressão de vapor do grão, permitindo a retirada de água de uma maneira mais suave. Os secadores que utilizam temperaturas elevadas apresentam movimentação do ar e grãos, onde o produto flui por gravidade através de colunas aquecidas, utilizados principalmente quando se deseja rápida remoção de água. No entanto quando a secagem aquecida é utilizada fatores como a temperatura ou tempo de exposição acima do indicado podem promover danos aos grãos (EKECHUKWU, 1999).

Os estudos com secagem de grãos na sua grande maioria são realizados com enfoque em modelagem matemática e otimização de método de secagem, baseando o estudo em um modelo específico de secador, principalmente com a finalidade de reduzir tempo, custo de secagem e danos aos grãos (ASOTA, 1997; EKECHUKWU, 1999; ZIEGLER; RICHTER, 2000; PFEIFER; MURATA; BARROZO, 2010; DA SILVA et al., 2012).

A secagem inadequada promove danos visíveis nos grãos como, fissura, trincas e quebras, que possibilitam a ação de microrganismos, principalmente fungos que, durante o armazenamento alteram a qualidade destes. Estes danos geralmente estão associados a elevadas temperaturas de secagem e remoção rápida de água, sendo facilmente observados na superfície, contudo os danos internos são mais difíceis de serem observados (SANGKRAM; NOOMHORM, 2001). Sabe-se que a utilização final do material vegetal (sementes ou grãos) influencia o manejo de secagem. Quando o destino é a propagação como sementes o manejo da secagem é mais controlado, pois necessita-se elevada germinação e vigor. Para isso a temperatura ideal para secagem de sementes é 40 °C, pois é o limite para germinação (OLIVEIRA et al., 1998).

Quando o destino final do material é a utilização para o consumo humano ou processamento, o controle da temperatura é menos rigoroso, podendo ser utilizadas temperaturas do ar superiores a 50 °C, contudo, em temperaturas muito acima a qualidade da proteína e do óleo pode ser comprometida (AHERN; KLIBANOV, 1988).

Cruz et al. (2015) realizaram estudo com secagem de grãos de sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) com temperatura de 45, 65 e 85°C. Com o aumento na temperatura a morfologia dos grânulos de amido manteve-se inalterada, contudo foi possível observar maior interação amido/proteína, redução da solubilidade do amido e alterações nas propriedades de pasta como a redução do pico de viscosidade e viscosidade de quebra.

O conteúdo total de proteínas é pouco afetado quando o processo de secagem é realizado até umidades indicadas, mesmo quando são utilizadas temperaturas de até 300 °C, porém a qualidade geral e das frações são modificadas. O índice de solubilidade proteica das albuminas, globulinas e zeínas são reduzidos em elevadas temperaturas de secagem. Em milho essa redução é verificada quando a temperatura é aumentada de 54 para 130 °C. As albuminas são mais rapidamente desnaturadas, no entanto as glutelinas são pouco afetadas (MALUMBA et al., 2009).

O farelo de soja apresenta grande valor econômico devido ao elevado conteúdo proteico, sendo o índice de solubilidade proteica considerado um fator importante para comercialização. Sangkrame e Noomhorm (2002) relataram a redução de 67,3% no índice de dispersibilidade proteica nos grãos de soja secos em 140 °C, quando comparados à secagem a sombra. A secagem também reduz os fatores antinutricionais como reportado em estudo de Agrahar-Murugkar e Jha (2010). Neste estudo os grãos de soja foram germinados e posteriormente submetidos à secagem. Com isso eles observaram redução de 35% dos inibidores de tripsina, porém como efeitos negativos reportaram a redução de 25% no índice de solubilidade de nitrogênio (proteína solúvel), respectivamente nos grãos secos ao sol e em estufa com circulação de ar a 100°C.

O óleo de soja é composto de diversas moléculas sensíveis à temperatura como, os fosfolipídios, tocoferóis, carotenoides e ácidos graxos insaturados. Os ácidos graxos insaturados, como o oleico (C18:1), linoleico (C 18:2) e linolênico (C18:3), são altamente suscetíveis a oxidações enzimáticas e térmicas. A oxidação enzimática ocorre através da ação de enzimas lipoxigenases, que oxidam as duplas ligações da cadeia carbônica. Com a secagem em elevadas temperaturas estas enzimas podem ser destruídas, no entanto, nestas temperaturas se iniciam as reações de oxidação térmica dos ácidos graxos insaturados, com a formação inicial de peróxidos e hidro peróxidos, que sequencialmente são decompostos em produtos secundários de oxidação (cetonas, aldeídos, ésteres e álcoois), que conferem odor e sabor desagradáveis (SANGKRAM; NOOMHORM, 2001). A degradação dos ácidos graxos insaturados é dependente do tempo de secagem, temperatura, método de secagem e suscetibilidade a oxidação de cada ácido graxo (STEWART et al., 2003).

Os fosfolipídios, também chamados de lecitinas, necessitam ser removidos no processo de degomagem. Em temperaturas de secagem elevadas são observadas menores quantidades de fosfolipídios não hidratáveis no óleo bruto, com isso favorecendo o processo de degomagem. As enzimas fosfolipases hidrolisam as ligações éster, originando formação dos fosfolipídios não hidratáveis, por isso com o aumento da temperatura de secagem, menor

é o tempo para ação destas enzimas. Nota-se que a temperatura de inativação da fosfolipase é a mesma da lipoxigenase, indicando que a auto-oxidação dos fosfolipídios é a principal forma de oxidação, semelhantemente a dos ácidos graxos insaturados. A elevação da temperatura dos grãos acima do ponto de inativação enzimática também promove a complexação entre proteínas/ fosfatídios peroxidados e proteínas produtos de oxidação lipídica (TOSI et al., 1999).

A soja é rica em isoflavonas que apresentam diversos benefícios a saúde, sendo encontradas em diferentes formas como, malonil-glicosídeos (70–80%), acetil-glicosídeos (5%), β -glicosídeos (25%) e agliconas (2%). O comportamento destes metabólitos durante o processamento térmico ainda não está totalmente elucidado. Conforme reportado por Lee e Lee (2009) as isoflavonas são interconvertidas, principalmente das suas formas malonil- β -daidzina e malonil- β -genistina para suas formas β -daidzina e β -genistina, quando os grãos de soja são secos em estufa à 100°C durante 120 minutos. Durante o processo de secagem a interconversão das isoflavonas ocorre através de descarboxilação (malonil \rightarrow acetil), desesterificação (acetil \rightarrow β -glicosídeos) e hidrólise (β -glicosídeos \rightarrow agliconas). Uma possível explicação para a menor alteração nas frações β -glicosídicas e agliconas se devem as menores quantidades (-OH) do que nas formas malonil e acetil (NIAMNUY et al., 2012).

2.5. Armazenamento

As etapas de pós-colheita, como processamento, transporte e consumo sejam extremamente importantes para a conservação de alimentos. No entanto a ineficiência técnica nestas etapas podem acarretar em elevadas perdas. Segundo dados da FAO (2017) estima-se que cerca de 30% dos alimentos produzidos no mundo são perdidos desde a produção até o consumo.

Devido a escassez de produtos ou a sazonalidade na produção o armazenamento se faz uma etapa de extrema importância dentro da pós-colheita. O armazenamento não possibilita a melhoria da qualidade dos grãos, somente permite que os grãos sejam armazenados com perdas mínimas na qualidade. No entanto a qualidade pode ser comprometida anteriormente a esta etapa, principalmente pelo manejo incorreto durante o cultivo, colheita, transporte e secagem.

Para que seja obtido um resultado satisfatório durante o armazenamento, os grãos devem ter sua umidade reduzida para 12-14% e temperatura inferior a 16%. Com a redução destes dois parâmetros tem-se a diminuição na taxa metabólica e respiratória dos grãos,

redução na incidência fúngica e desenvolvimento de insetos. Estudos têm sido realizados visando definir as condições ideais de armazenamento e suas influências na qualidade de grãos.

As proteínas são a fração predominante nos grãos de soja, contendo de 35 a 40% (KUMAR et al., 2006). O conteúdo total de proteína é pouco alterado, com redução aproximada de 2% na proteína bruta de grãos de soja armazenados por 12 meses, em condições de 12 e 16% de umidade / 15 e 25 °C. No entanto a solubilidade é reduzida, principalmente em 16% de umidade e 15 e 25 °C, demonstrando a importância da redução da umidade (ZIEGLER et al., 2016a)

A soja é a principal fonte proteica para alimentação humana e animal, sendo estimado que 60% dos alimentos processados contêm soja. A soja recém-colhida apresenta solubilidade proteica ao redor de 90% sendo indicadas para utilização em diversos alimentos como sopas, macarrões, proteínas texturizadas, bebidas e suplementos alimentícios. Existem algumas características, chamadas de propriedades funcionais que podem ser utilizadas para monitorar a qualidade proteica como, solubilidade, propriedade geleificante, emulsificante, formação de espuma, absorção de água e óleo, superfície hidrofóbica, características estruturais e propriedades textuométricas. Segundo Liu et al. (2008) as propriedades funcionais das proteínas de soja são afetadas em condições adversas (88% UR / 30 °C), principalmente após 6 meses de armazenamento, com redução na solubilidade proteica, capacidade emulsificante, dureza de gel e aumento na estabilidade da emulsão e adesividade. Porém quando estas mesmas propriedades foram avaliadas em condições intermediárias (55% UR / 20 °C), refrigerado (4 °C) e ambiente (16 °C média), não foram verificadas alterações significativas. Hou e Chang (2004) estudaram as subunidades proteicas de grãos de soja armazenados em diferentes condições. Eles reportaram redução no rendimento de extração da β -conglucina de 12,59% para 0,19%, respectivamente para o controle (recém-colhido) e armazenados em 84% UR, a 30 °C por 9 meses.

O armazenamento em condições de temperatura e umidade elevadas comprovadamente promovem a redução no rendimento de extração de proteínas. No entanto em condições mais brandas de armazenamento (30% UR / 22 °C) não foram observadas alterações no rendimento do extrato aquoso de soja (*soymilk*), embora tenha sido reportada coloração mais escura. Nestas condições alguns fatores desejáveis foram desenvolvidos, como redução de 88% de *off flavors* no terceiro mês de armazenamento, principalmente o *hexanal*, produto da degradação do ácido linoleico, comprovado pela redução da atividade da lipoxigenase (LOX) (ACHOURI; BOYE; ZAMANI, 2008).

O armazenamento de soja em umidade elevada promove efeitos adversos na qualidade do óleo bruto e no óleo refinado. Os ácidos graxos livres causam acidez ao óleo e são moléculas oriundas da ação da enzima lipase que hidrolisa a ligação éster entre o glicerol e ácido graxo. Frankel, Nash e Snyder (1987) estudaram armazenamento de soja em três umidades, e verificaram maior percentual de ácidos graxos livres nas umidades de 16 e 20%, quando comparada a de 13%, em 30 dias de armazenamento. No mesmo estudo reportaram menor quantidade de fósforo no óleo bruto e refinado, indicando menor quantidade de fosfolipídios, pelo aumento da ação da enzima fosfolipase.

O óleo de soja é rico em compostos benéficos a saúde como os carotenoides e os tocoferóis. Os carotenoides (β - caroteno, luteína e zeaxantina) e os tocoferóis (α , β , γ e δ) também chamados de vitamina E, são um grupo de substâncias apolares que apresentam atividade antioxidante e inibem a oxidação dos ácidos graxos insaturados (JIA; KIM; MIN, 2007; ROSSI; ALAMPRESE; RATTI, 2007). Estas moléculas têm se mostrado mais suscetíveis a degradação pela temperatura do que a umidade durante o armazenamento, com redução ao redor de 50% dos carotenoides em temperatura de 32 °C, independentemente da umidade de armazenamento (12, 15 e 18%), sendo os tocoferóis mais degradados nestas mesmas condições, porém em menor intensidades (ZIEGLER et al., 2016b).

Os compostos fenólicos não são a fração predominante nos grãos, no entanto possuem função importante de sinalização e defesa dos vegetais. Dentre as funções dos compostos fenólicos destaca-se a atividade antioxidante inibindo a formação de radicais livres, combatendo a infestação fúngica e ataque de pragas. Por este motivo a maioria dos estudos relatados na literatura estão focados no comportamento destes metabólitos durante o armazenamento.

Nasar-Abbas et al. (2009) armazenaram feijão fava (*Vicia faba*) com 12 % de umidade em diferentes temperaturas, por 12 meses. Eles reportaram escurecimento dos grãos de fava em temperaturas superiores a 15 °C. Este escurecimento é atribuído principalmente a redução nos compostos fenólicos, que reduziram de 62,4 mg g⁻¹ (recém-colhido) para 55,9 mg g⁻¹ (25,9 °C) e 50,6 mg g⁻¹ (50,6 °C). Segundo os autores a redução dos compostos fenólicos se deve a polimerização dos compostos de menor peso molecular formando grandes complexos insolúveis. A degradação de compostos fenólicos também está associada a oxidações químicas e principalmente enzimáticas. Nas reações enzimáticas os compostos fenólicos servem de substratos para enzimas peroxidases e polifenoloxidasas, que na presença de oxigênio eles são degradados a quinonas e sequencialmente melanoidinas que conferem coloração escura.

Por outro lado, alguns estudos reportam comportamento contrário. Granito, Paolini e Pérez (2008) estudaram o armazenamento de feijão (*Phaseolus vulgaris*) em diferentes condições, e reportaram aumento significativo nos compostos fenólicos até 90 dias de armazenamento quando os grãos foram armazenados em 50°C / 11% UR e 50 °C / 80% UR. O maior aumento ocorreu na umidade de 80% UR, porém ao final de 150 dias foi observado a maior redução. Ziegler et al. (2016b) reportaram aumento no conteúdo de compostos fenólicos solúveis quando os grãos de soja foram armazenados por 12 meses em umidades de 15 e 18% e comparados aos recém-colhidos. O mecanismo para promover o aumento dos compostos fenólicos ainda não está bem elucidado, porém os autores atribuem este comportamento a diferentes fatores. A desaminação de aminoácidos aromáticos (fenilalanina e tirosina) catalisados pela fenilalanina amônio liase e tirosina amônio liase, produzindo derivados do ácido hidroxicinâmico. Também a liberação de compostos fenólicos para a fração solúvel, através da hidrólise de compostos fenólicos insolúveis, pelo metabolismo do próprio grão ou pela síntese de enzimas de microrganismos associados, principalmente fungos de armazenamento.

3. Capítulo 1 - Influência da temperatura de secagem na estrutura celular e qualidade da proteína e do óleo de grãos de soja

3.1. Introdução

A soja (*Glycine max* (L.) Merrill) é a principal oleaginosa cultivada no mundo. Segundo dados da FAO (2017) a produção mundial deste grão está ao redor de 308 milhões de toneladas, sendo o Brasil responsável por 96 milhões de toneladas, exportando 58% de sua produção, principalmente para países asiáticos como a China. Na maioria dos casos, a época de colheita coincide com elevadas taxas pluviométricas, por isso, os grãos de soja são colhidos geralmente com umidade acima da ideal para o armazenamento, sendo a redução na umidade dos grãos necessária, pois está diretamente relacionada com a taxa respiratória dos grãos (SOROUR; UCHINO, 2004; RANI et al., 2013; CHIDANANDA et al., 2014). Alguns estudos vêm demonstrando a importância do controle da umidade dentro do sistema de armazenamento. Yousif (2014) reportaram a redução na qualidade de cocção (aumento no tempo de cocção e dureza) e escurecimento de grãos de soja armazenados durante 12 meses com 13% de umidade quando comparados a 9% de umidade. Liu et al. (2008) observaram redução na solubilidade proteica de grãos de soja após 7 meses de armazenamento em condições adversas (88% de umidade relativa / 30 °C), sendo um parâmetro importante para a aplicação em produtos alimentícios como *tofu* e *soymilk*. Ziegler et al. (2016a) observaram elevados valores de acidez lipídica em grãos de soja armazenados em 16% de umidade, em 15 e 25 °C, atingindo respectivamente valores de 230 e 280 mg KOH 100g⁻¹, em 12 meses de armazenamento.

O processo de secagem tem sido amplamente estudado por diversos autores, principalmente com foco em modelagem matemática e transferência de energia durante o processo de secagem (ZIEGLER; RICHTER, 2000; BARROZO et al., 2006; PFEIFER; MURATA; BARROZO, 2010; TORREZ-IRIGOYEN; GINER, 2014). No entanto estudos com foco na qualidade de grãos tem sido mais restrito aos danos físicos como, rachaduras e quebras, principalmente atribuídos a movimentação dos grãos e as temperaturas elevadas de secagem, influenciando na redução da germinação e vigor (ASOTA, 1997; PFEIFER et al., 2010; DONDEE et al., 2011).

As alterações nas frações lipídica e/ou proteica modificam a qualidade nutricional dos grãos, sendo a suscetibilidade a oxidações variável com o perfil de ácidos graxos e perfil de aminoácidos. Outro fator importante é a presença de compostos bioativos, como os tocoferóis

e carotenoides, que apresentam atividade anticancerígena, antitumoral e antioxidante, influenciando também na conservação do grão (CUCU et al., 2013; ELISIA et al., 2013), porém poucos estudos de secagem são encontrados na literatura com foco na qualidade de grãos. Malumba et al. (2009) estudaram a secagem de milho com temperaturas variando de 54 a 130 °C e reportaram a redução no índice de solubilidade de albuminas, globulinas e zeínas. Sangkram e Noomhorm (2002) relataram redução de 67,3% no índice de dispersibilidade proteica nos grãos de soja secos em 140 °C, quando comparados com a secagem à sombra. Segundo Stewart et al. (2003) os grãos de soja apresentam elevado conteúdo de ácidos graxos insaturados, que podem ser degradados durante o processo de secagem, sendo principalmente influenciados pela temperatura de secagem, tempo de secagem e suscetibilidade individual de cada ácido graxo à oxidação. Com base nestas informações, objetivou-se avaliar a influência da temperatura de secagem, em duas cultivares de grãos de soja, sobre a integridade celular (estrutura celular, germinação, condutividade elétrica e sólidos lixiviados), a fração lipídica (perfil de ácidos graxos, tocoferóis e produtos de oxidação) e fração proteica (solubilidade proteica e distribuição de peso molecular das proteínas).

3.2. Matérias e métodos

3.2.1. Material vegetal

No experimento foram utilizadas duas cultivares de grãos de soja (BMX Força RR e Nidera 5909 RR) com características físicas e químicas distintas (Tabela 1), cultivadas lado a lado no município de Morro Redondo, Rio Grande do Sul, Brasil, latitude 31° 32' 34.184" S, longitude 52° 34' 12.702" W, altitude de 108 metros, sendo adotado o manejo tecnológico comercial utilizado na região. Os grãos foram monitorados na lavoura até atingirem umidade que possibilitasse a trilha mecânica (aproximadamente 20%). As plantas foram colhidas manualmente e debulhadas em trilhadora (modelo BCO 80 MAX URP), com rotor operando a 820 RPM. Em seguida, os grãos foram transportados para o *Laboratório de Pós-Colheita, Industrialização e Qualidade de Grãos* da DCTA-FAEM-UFPel, onde foram submetidos a pré-limpeza do material, a fim de serem retirados matérias estranhas, impurezas, grãos danificados e mal formados. Para efeito comparativo com o controle do processo de secagem, parte das plantas permaneceram por 10 dias (temperatura média de 24°C) a campo até atingirem 13,5% de umidade dos grãos, sendo chamado de secagem natural.

Tabela 1. Características das cultivares BMX Força e Nidera 5909 avaliadas nos grãos de soja submetidos a secagem natural

Cultivar	Hábito de crescimento	Ciclo (Dias)	PMG (g)*	Dimensões (mm)**			Tegumento rompido (%)	Cinzas (%)	Proteína (%)	Lipídios (%)
				<i>L</i>	<i>C</i>	<i>E</i>				
BMX Força RR	Indeterminado	133	145,6	7,1	6,3	5,3	1	5,6	41,1	19,0
Nidera 5909 RR	Indeterminado	101	187,4	7,5	6,7	6,1	20	5,5	37,9	24,1

* Peso de mil grãos; **L = largura, C = comprimento e E = espessura.

3.2.2. Secagem da soja

Antes de iniciar o processo de secagem foi realizada a determinação da umidade destes grãos pelo método de estufa a 130 °C com circulação de ar por 3 horas (ASAE, 2000), sendo obtidas umidades de 20,37% e 19,28% *b.u.*, para as cultivares BMX Força e Nidera 5909, respectivamente. Foram determinadas as condições do ar na entrada da estufa através de psicrômetro analógico (umidade relativa de 60% e temperatura do ar de 28 °C). O processo de secagem foi realizado em Estufa (Nova Ética) com temperaturas do ar de 30, 50, 70, 90 e 110°C. Os grãos (1,2 Kg) foram acondicionados em sacos de ráfia e a secagem foi realizada em triplicata. Os grãos foram retirados a cada 20 minutos para homogeneização, medição da temperatura de massa dos grãos e pesagem. A temperatura de massa foi determinada colocando os grãos em recipiente isolante com termômetro de mercúrio acoplado, sendo a leitura realizada após dois minutos de estabilização (baseado em pré-teste). Para o controle da umidade final da secagem foi realizado o cálculo de remoção de água para umidade de 13%, através da Equação 1. Após a secagem todas as amostras foram mantidas em recipiente com isolamento térmico (16 °C), por sete dias, a fim de alcançar equalização da temperatura e o equilíbrio de umidade entre as amostras.

$$\text{Equação 1: } MF = MI * (100 - UI) / (100 - UF)$$

Eq. 1

Onde MF é a Massa de grãos desejada ao final da secagem (g, equivalente a 13%), MI é a Massa de grãos no início da secagem (g), UI é a Umidade inicial (%), UF é a Umidade final (%).

3.2.3. Análises do grão

3.2.3.1. Estrutura celular

A estrutura celular dos grãos após a secagem foi investigada utilizando microscópio eletrônico de varredura (MEV - Shimadzu, SSX-550). Os grãos foram cortados transversalmente e fixados na mesma posição na superfície de um *stub* metálico. Sequencialmente as amostras foram recobertas com ouro e analisadas em voltagem de aceleração de 15KV e aumento de 500X.

3.2.3.2. Germinação

A germinação foi realizada conforme as Regras para análise de sementes - RAS (BRASIL, 2009). A análise foi realizada em 4 repetições de 100 grãos coletados aleatoriamente. Os 100 grãos foram distribuídos em papel *germitest*, com adição de água destilada na proporção de 3 vezes o peso do papel. O papel *germitest* foi então enrolado e levado à câmara de germinação (EletroLab, modelo EL 222/ 4RS) em temperatura de 25 °C e umidade relativa de 80%. A contagem foi realizada aos 7 dias de germinação, sendo considerados germinados os grãos que apresentaram emissão de radícula e parte aérea. Os resultados foram expressos em percentual de grãos germinados.

3.2.3.3. Condutividade elétrica

A condutividade elétrica foi determinada segundo método o descrito em ISTA (2008). Quatro repetições de 25 grãos foram pesadas, sendo imersos em 75 mL de água deionizada (em béquer de 250 mL de capacidade), e incubados por 24 h a 20 °C. As soluções foram levemente agitadas e a condutividade elétrica foi determinada utilizando um condutivímetro sem filtragem da solução. Os resultados foram expressos em $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ (base seca).

3.2.3.4. Sólidos lixiviados

A determinação dos sólidos lixiviados foi realizado de acordo com Nasar-Abbas et al. (2008a). Os grãos de soja (10 g) foram imersos em 50 mL de água deionizada por 18 h. Após o período de imersão a água foi coletada e levada a estufa para evaporação (105 °C por 24 h). Os resultados foram expressos em $\text{mg}\cdot 100^{-1}$ de grãos de soja (base seca).

3.2.4. Análises do óleo e farelo

3.2.4.1. Extração do óleo e obtenção do farelo desengordurado de soja

Os grãos foram moídos em moinho laboratorial (Perten 3100, Perten Instruments, Huddinge, Sweden), com tamanho de 35 mesh, e em seguida o óleo foi extraído com éter de petróleo de 100 g de farinha, utilizando um aparelho de sohxlet durante 8 h. O solvente foi removido por rota evaporação (Heidolph, Laborota Model 4000, Kelheim, Baviera, Germany) sob vácuo a 35 °C. O óleo foi coletado e armazenado em frascos âmbar a -18 °C.

3.2.4.2. Solubilidade proteica

A solubilidade proteica foi determinada segundo método descrito por Liu, Mcwatters e Phillips (1992), com modificações. Em cada amostra de 2 g foram adicionados 50 mL de água destilada, sendo misturadas com o auxílio de agitador magnético durante 1 h, seguidas de centrifugação a $5300 \times g$ durante 20 min a $24 \text{ }^\circ\text{C}$ (centrifuga *Eppendorf Centrifuge 5430R*). Uma alíquota de 1 mL do sobrenadante foi coletada e a determinação do teor de proteína solúvel foi feita pelo método descrito pela AACC (2000), o mesmo utilizado para avaliação do teor de proteína bruta.

3.2.4.3. Distribuição de peso molecular

A distribuição de peso molecular foi realizada conforme método proposto por Buggenhout; Brijs; Delcour (2013). Para isso, a extração foi realizada utilizando 10 mg de farelo desengordurado e 10 mL de tampão fosfato ($0,05 \text{ mol L}^{-1}$; pH 6,8) contendo: a) 2% SDS (*Sodium dodecyl sulfate*) e b) 2% SDS + 1% β -mercaptoetanol. As amostras foram agitadas vigorosamente, seguidas de 10 minutos em banho ultrassônico. Após as amostras foram centrifugadas (10 min, $10000 \times g$) e filtradas (polietersulfona, 0,45 mm; Millex-HP, Millipore, Carrigtwohill, Ireland). Todas extrações foram realizadas em triplicata. Os extratos foram separados por cromatografia por exclusão de tamanho (SE-HPLC). Os extratos (10 μL) foram injetados em cromatógrafo líquido (Prominence UFLC system, Shimadzu, Japão). A separação por exclusão de tamanho foi realizada na coluna Yarra 3μ SEC-2000 (300 mm x 4.6 mm) (Phenomenex). Foi utilizado tampão fosfato de sódio 50 mmol L^{-1} pH 6,8 com 2% de SDS como fase móvel. O fluxo foi de $0,35 \text{ mL min}^{-1}$ e a temperatura da coluna foi mantida a 30°C . Foram utilizados os padrões de fosforilase-b (PM (peso molecular) = 97 Da (Dalton) / TR = 6,1 min), albumina (PM = 66 Da / TR = 6,7 min), pepsina (PM = 34 Da / TR = 9,6 min), citocromo-c (PM = 12 Da / TR = 8,3 min), blue dextran (PM = 2 Da / TR = 11,7 min) e citidina (PM = 0,2 Da / PM = 12,3 min) para determinar as faixas de exclusão de tamanho no comprimento de onda de 214 nm.

3.2.4.4. Produtos primários (K_{232}) e secundários (K_{270}) de oxidação do óleo

Foram pesados 0,1 g de óleo em balão volumétrico de 10 mL sendo o volume ajustado com isooctano grau HPLC. Após a solução foi filtrada e a absorbância foi determinada em

espectrofotômetro (Jenway, 6705 UV/Vis) a 232 e 270 nm. As leituras de absorbâncias foram utilizadas para determinação do coeficiente de extinção específico (K_{232} e K_{270}) utilizando método proposto por American Oil Chemists' Society (AOCS, 2009).

3.2.4.5. Perfil de ácidos graxos

Foi utilizado um cromatógrafo gasoso (GC-14B, Shimadzu, Kyoto, Japan) com detector de ionização de chamas (FID) e uma coluna com capilar de sílica fundida com 30 m x 0,25 mm x 0,25 μm DB-225 (50% cyanopropyl methyl e 50% methyl phenyl silicone, J&W Scientific, Folsom, CA, USA). O injetor e detector foram ambos mantidos a 250 °C. Como gás carregador foi utilizado o nitrogênio em um fluxo de 1,0 mL.min⁻¹. Os ácidos graxos foram derivatizados de acordo com método proposto por Hartman e Lago (1973). Foram pesados 100 mg de óleo em tubo de vidro, adicionando 0,5 mL de KOH (0,1 mol L⁻¹) em metanol grau HPLC permanecendo em banho (Quimes, Dubnoff, England) a 60 °C por 90 min. Após os tubos foram resfriados a temperatura ambiente e adicionados de 1,5 mL de H₂SO₄ (1 mol L⁻¹) sendo novamente levados ao banho a 60 °C por 90 min. Após resfriamento foram adicionados, 2 mL de *n*-hexano grau HPLC e agitados em vortex por 30 s. A fase hexano foi transferida para *vials* de 1,5 mL, sendo injetados 1,5 μL no interior do cromatógrafo. Inicialmente a coluna estava em temperatura de 100 °C mantida por 0,5 min e depois levado a 150 °C em uma taxa de aquecimento de 8 °C min⁻¹. Após 0,5 min a 150 °C, a temperatura foi aumentada para 180 °C com uma taxa de aquecimento de 1,5 °C min⁻¹. A coluna foi mantida a 180 °C por 5 min e foi aumentada para temperatura final de 220 °C em uma taxa de aquecimento de 2 °C min⁻¹. A temperatura foi mantida por 6 min, com tempo total de análise de 58 min. A identificação dos ácidos graxos foi realizada de acordo com os picos de retenção dos padrões cromatográficos (sendo eles os ácidos graxos mirístico, palmítico, oleico, linoleico, linolênico, todos obtidos da Sigma-Aldrich Co., USA). O software Class-GC10 (Shimadzu, Kyoto, Japan) foi utilizado para aquisição e processamento dos dados.

3.2.4.6. Tocoferóis individuais

Foram pesados 150 mg de óleo em balão volumétrico de 5 mL e o volume aferido com isopropanol grau HPLC. A solução foi homogeneizada e centrifugada por 6 min a 9000 x *g*, sendo o sobrenadante coletado. Os tocoferóis individuais foram determinados por HPLC. A

coluna utilizada foi uma *Octadecyl shim pack* CLC-ODS (5 μm , 4.6 mm x 150 mm) a 25 °C. A fase móvel utilizada consistiu de metanol, isopropanol e acetonitrila grau HPLC, em um sistema isocrático de eluição, por 10 min na proporção de 40: 50: 10, e depois modificado para 65: 30: 5. Após 2 min, a razão da fase móvel retornou para linha de base até o final da corrida - 15 min, operando a 290 nm de excitação e 330 nm de emissão. A identificação dos compostos foi realizada por comparação com os padrões cromatográficos gamma (γ), e delta (δ) tocoferóis (CHEN; BERGMAN, 2005; PESTANA et al., 2008). Os resultados foram expressos em $\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$ de óleo.

3.2.5. Análise estatística

As determinações foram realizadas em triplicata e os desvios padrões foram reportados. Os resultados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e a comparação de médias realizada pelo teste de Tukey a 5% de significância.

3.3. Resultados e discussões

3.3.1. Processo de secagem

Na Figura 1 e na Figura 2 estão apresentadas respectivamente as curvas de temperaturas da massa de grãos e redução do teor de água para as duas cultivares. A temperatura da massa de grãos é um parâmetro utilizado no controle da secagem, pois permite verificar a temperatura que os grãos atingem no momento da secagem. Para as temperaturas do ar utilizadas no processo de secagem (30, 50, 70, 90 e 110 °C), foram observadas temperaturas da massa de grãos de 29, 42, 54, 59 e 70 °C, respectivamente, não diferindo entre as cultivares de soja (Figura 1). As curvas de secagem obtidas para a redução da umidade, em relação a temperatura e ao tempo foram semelhantes para as duas cultivares (Figura 2). Para a cultivar “BMX Força” foram encontrados tempos totais de 860, 280, 200, 160 e 100 min, e para a cultivar “Nidera 5909” foram encontrados tempos totais de 580, 240, 140, 100 e 80 min, para as temperaturas do ar de secagem de 30, 50, 70, 90 e 110 °C, respectivamente. As maiores diferenças entre os tempos de secagem foram observadas na temperatura de 30 °C. Provavelmente menor tempo de secagem encontrado na cultivar “Nidera 5909” em 30 °C tenha ocorrido devido aos grãos apresentarem 20% de danos no tegumento (rompimento) e 24,18% de lipídeos, o que favorece a remoção de água em temperatura mais reduzida.

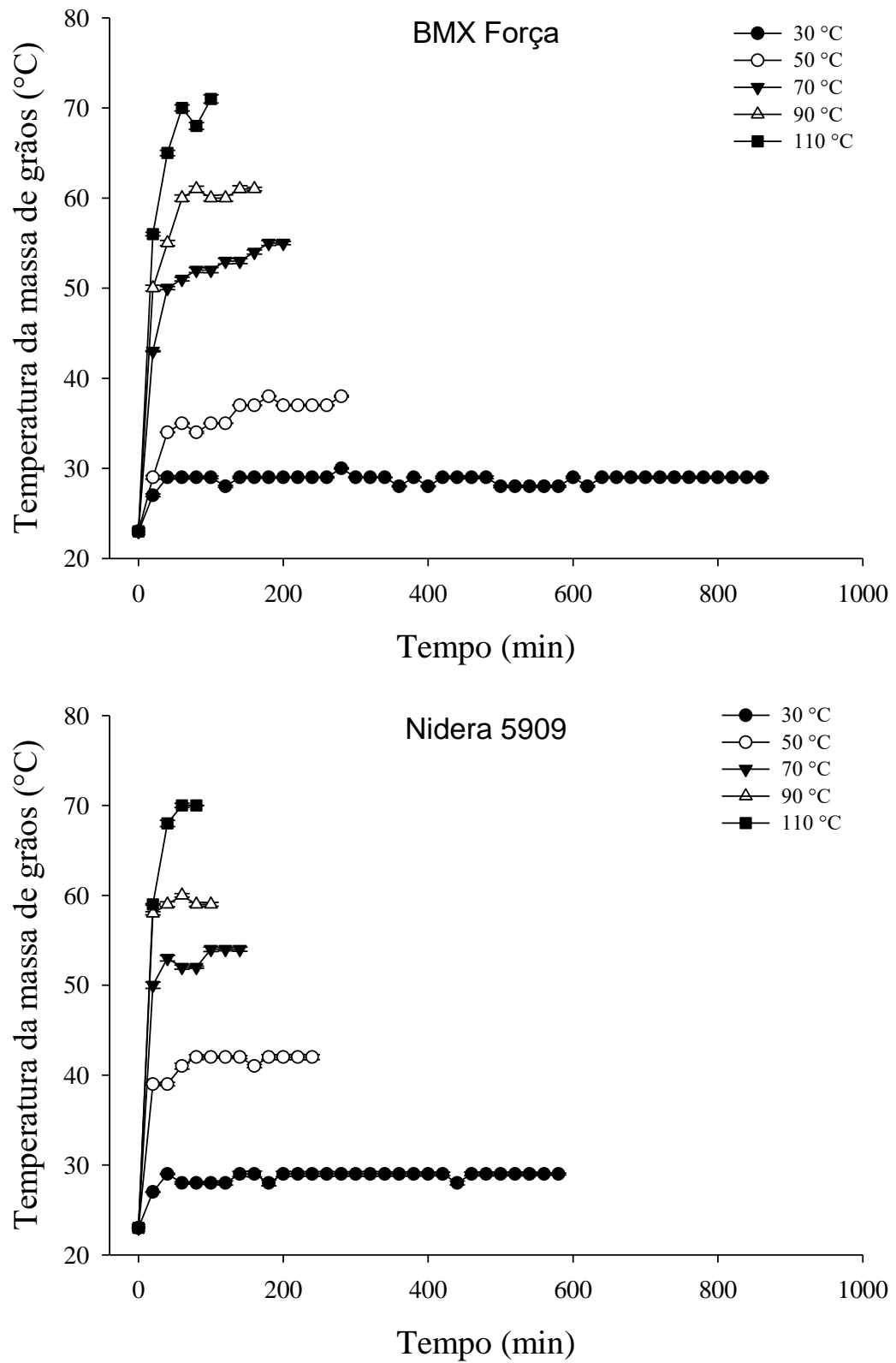


Figura 1. Temperatura da massa de grãos de soja submetidos as diferentes temperaturas do ar de secagem.

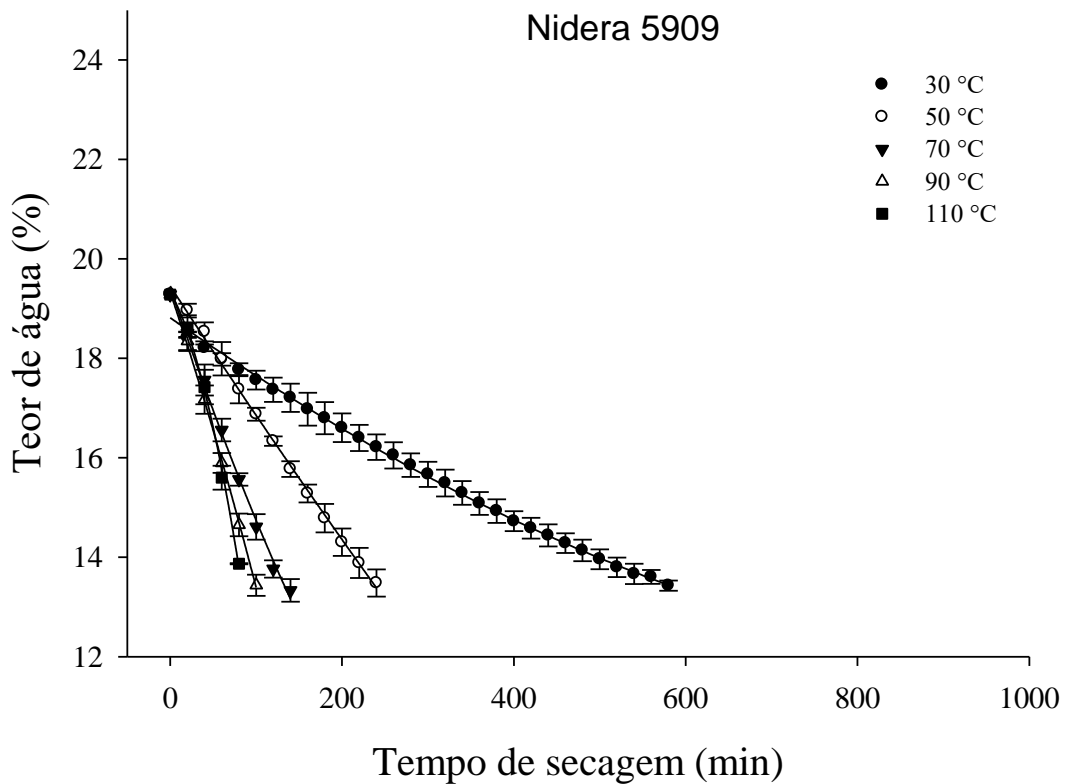
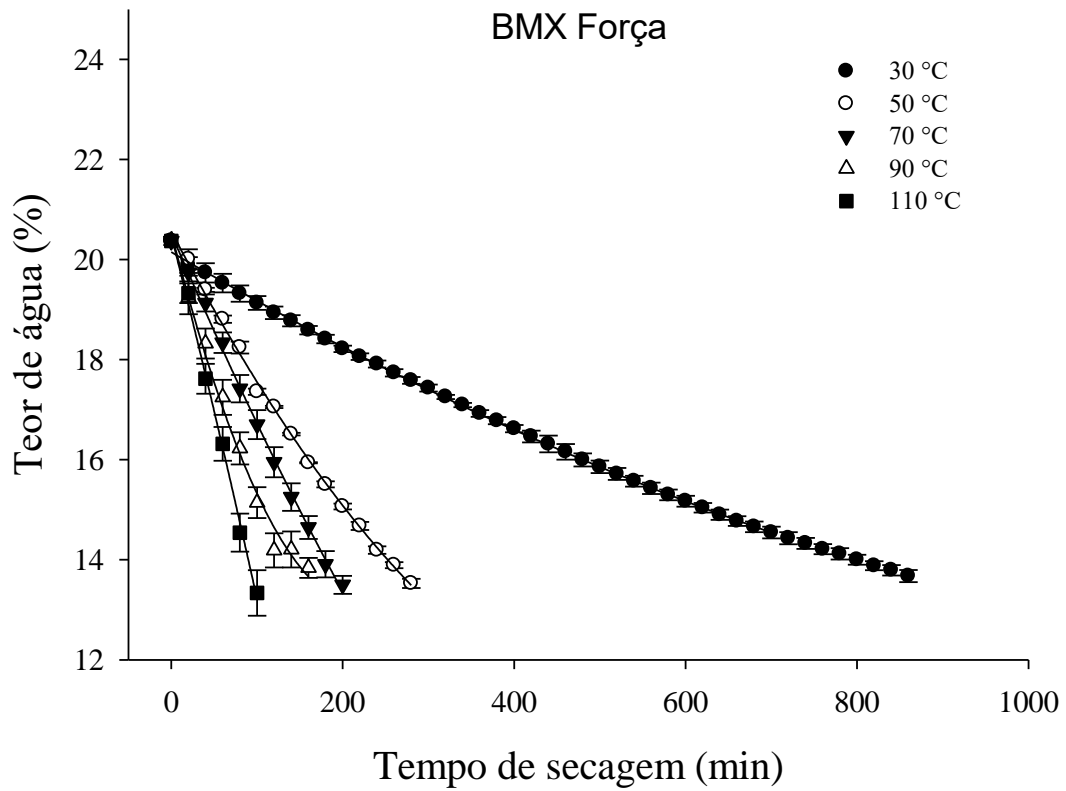


Figura 2. Curva de redução do teor de água dos grãos de soja submetidos as diferentes temperaturas do ar de secagem.

3.3.2. Estrutura celular dos grãos

Na Figura 3 está apresentada a estrutura celular dos grãos de soja submetidos às diferentes temperaturas de secagem. A cultivar “Nidera 5909” submetida a secagem natural apresentou estrutura celular mais organizada, com parede celular mais definida (Figura 3 C), enquanto que a “BMX Força” apresentou células mais desorganizadas (Figura 3 A). As alterações na estrutura celular promovidas pela secagem foram mais evidentes na temperatura de secagem de 110 °C, com o aparecimento de deformações e espaços intercelulares (Figura 3 B e 3 D). Segundo Darvishi, Khoshtaghaza e Minaei (2013) elevadas temperaturas e transferências de massas (água) no interior dos grãos ocasionam trincamentos e quebras, devido a formação de um forte gradiente de umidade do interior para a superfície do grão, ocasionando o surgimento destas fendas.

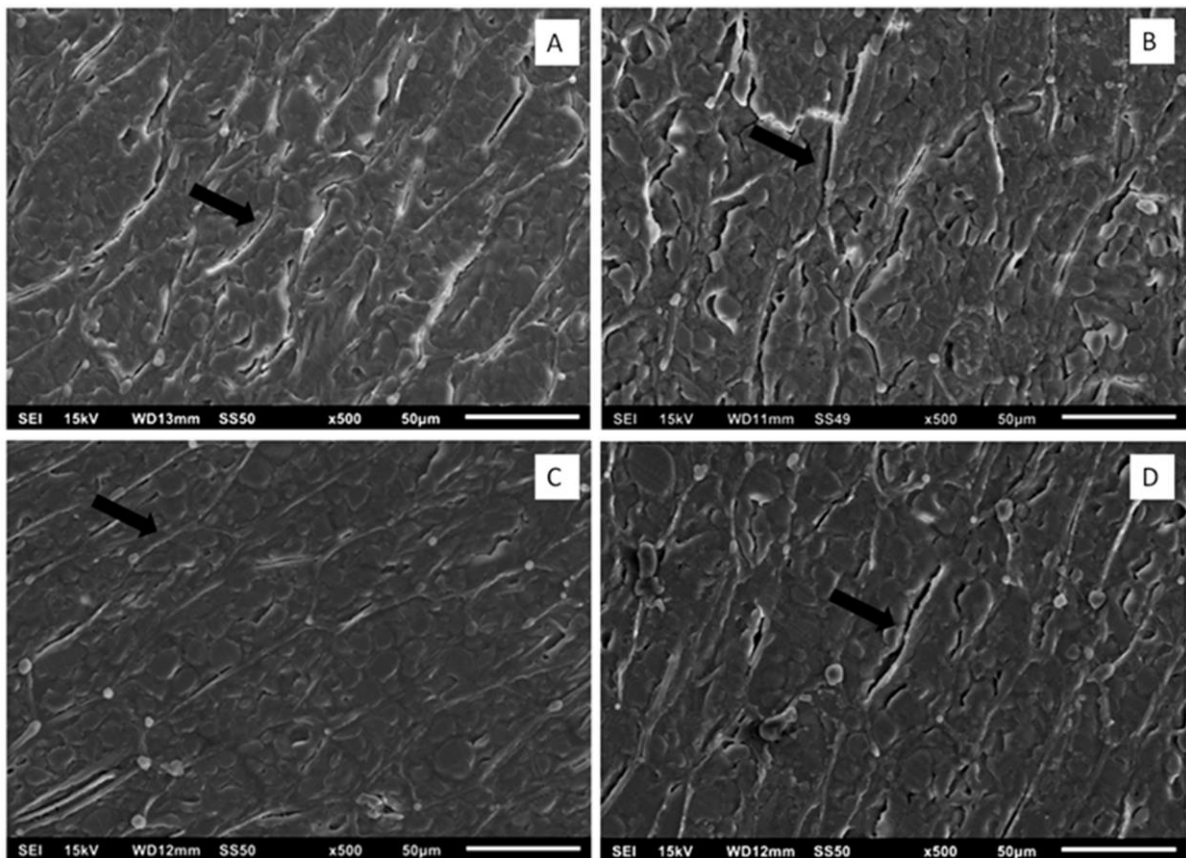


Figura 3. Estrutura celular dos grãos de soja submetidos a diferentes condições de secagem. BMX Força –secagem natural (A) e 110 °C (B) e Nidera 5909 – secagem natural (C) e 110 °C (D). Corte realizado na parte central do grão de soja e fotografado na parte média da “banda”.

3.3.3. Germinação, condutividade elétrica e sólidos lixiviados

Na Figura 4 está apresentada a germinação dos grãos de soja submetidos a diferentes temperaturas de secagem.

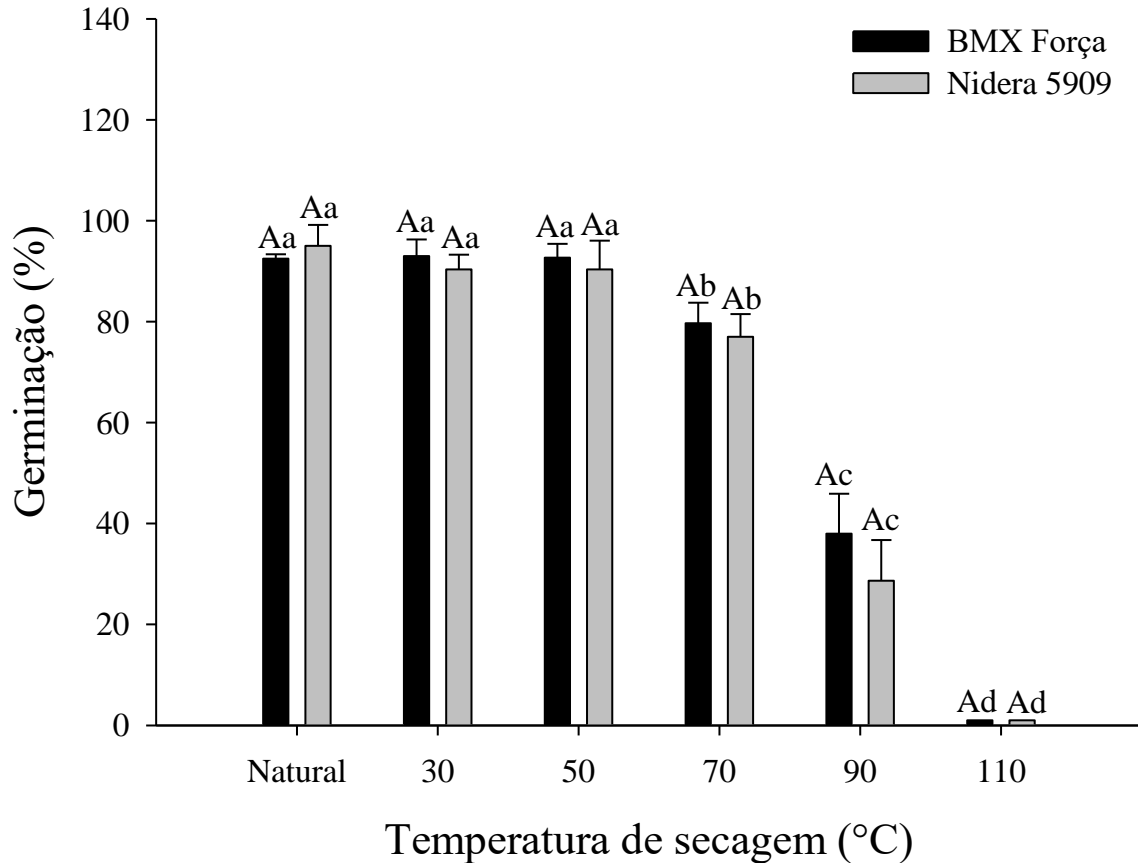


Figura 4. Germinação dos grãos de soja submetidos às diferentes temperaturas de secagem. Médias de três determinações \pm desvio padrão são apresentados. Letras maiúsculas diferentes para as cultivares, e letras minúsculas diferentes para as condições de secagem, indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

O processo de secagem realizado de forma inadequada promove danos à qualidade dos grãos. Alguns desses danos são visíveis, como trincas na superfície do tegumento e fissuras, e outros, como as lesões menores em membranas, promovidas pela temperatura de secagem muitas vezes não são visualizadas, mas afetam a qualidade do grão. Para isso, os testes de germinação, condutividade elétrica e sólidos lixiviados podem ser utilizados como parâmetros para monitorar a qualidade de secagem de grãos, fornecendo uma visão geral do grau de integridade celular (FREITAS; FARONI; SOUSA, 2016).

Na secagem natural, 30 e 50 °C foram observados percentuais de germinação acima de 90%, para ambas as cultivares, sem diferenças ($P > 0,05$) para as mesmas temperaturas de secagem. Foram observadas reduções ($P < 0,05$) na germinação nos grãos secos a 70, 90 e 110 °C, com valores de 79,6%, 38,0% e 0,0% para a cultivar “BMX Força” e 77,0%, 28,6% e 0,0% para a cultivar Nidera 5909, respectivamente. Conforme observado na Figura 1, quando os grãos foram submetidos a temperatura de secagem de 70, 90 e 110 °C, foram observadas temperaturas da massa de grãos de 54, 59 e 70 °C. Segundo Stewart et al. (2003), a temperatura da massa limitante para a secagem de sementes de soja é de 40 °C. A viabilidade das enzimas é fator determinante na germinação, podendo ser afetada com a temperatura de secagem, ou a interação com outros compostos como polifenóis, fibras e minerais. Em elevadas temperaturas da massa de grãos superiores a 50 °C as enzimas reduzem sua atividade biológica, e quando a temperatura se eleva acima da capacidade de desdobramento proteico ocorrem desnaturações irreversíveis, podendo causar a morte total dos grãos (AHIBERN; KLANOV, 1988), como pode ser observado na temperatura de 110 °C (Figura 4).

Na Figura 5 estão apresentados a condutividade elétrica e o teor de sólidos lixiviados dos grãos de soja submetidos a diferentes temperaturas de secagem.

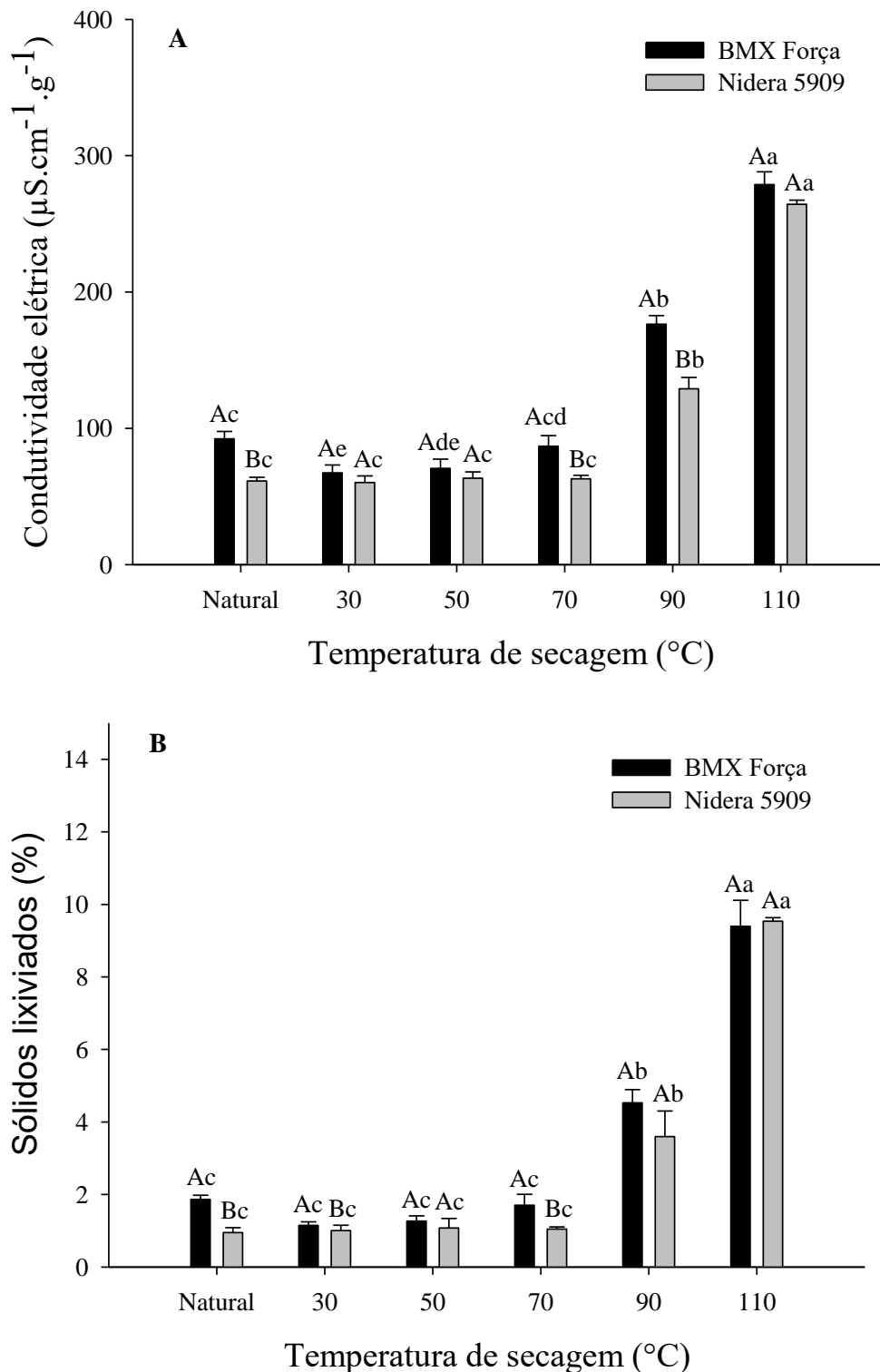


Figura 5. Condutividade elétrica (A) e teor de sólidos lixiviados (B) dos grãos de soja submetidos às diferentes temperaturas de secagem. Médias de três determinações \pm desvio padrão são apresentados. Letras maiúsculas diferentes para as cultivares, e letras minúsculas diferentes para as condições de secagem, indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Foram observados aumentos na condutividade elétrica e sólidos lixiviados somente na temperatura de secagem de 90 e 110 °C. Na temperatura de 110 °C foram observados os maiores valores de condutividade elétrica, com aumento de 3,0 e 4,3 vezes, e sólidos lixiviados, com aumento de 4,0 e 10,0 vezes, respectivamente para as cultivares “BMX Força” e “Nidera 5909”, quando comparado à secagem natural. O aumento na condutividade elétrica e no teor de sólidos lixiviados (Figura 5) e a redução na germinação (Figura 4) são bons indicativos da qualidade dos grãos. Segundo Niamnuy et al. (2011), elevadas temperaturas de secagem promovem uma grande diferença entre a temperatura externa e interna do grão, formando forte gradiente hídrico, devido a elevada transferência de calor e fluxo de massa do interior para superfície do grão. Este comportamento pode ser o responsável pelo aumento de lesões celulares (Figura 3), promovendo a lixiviação de íons (Ca^+ , K^+ , Mg^{++} e Fe^{++}) para a água de hidratação, acarretando em aumento na condutividade elétrica e sólidos lixiviados (HENTGES; WEAVER; NIELSEN, 1991). Segundo Vieira et al. (1999) sementes com até $110 \mu\text{S}.\text{Cm}^{-1}.\text{g}^{-1}$ apresentam boa germinação e desempenho de campo.

3.3.4. Solubilidade proteica e distribuição de peso molecular (HP-Sec)

Segundo Sathe (2002) as proteínas de grãos proteicos são divididas em proteínas metabólicas e estruturais (enzimas e não enzimas). As globulinas (solúveis em soluções salinas) são as proteínas predominantes em grãos de soja, consideradas proteínas de armazenamento, apresentando alta solubilidade em água devido à associação iônica com sal.

As cultivares de soja BMX Força e Nidera 5909 apresentaram teores de proteína bruta de 41,1 e 37,9%, respectivamente (Tabela 1). Os resultados de proteína bruta estão de acordo com os obtidos por Kumar et al. (2006), que reportaram valores médios de 35,4 a 39,4% de proteína bruta, e atribuíram estas diferenças a fatores genéticos e condições climáticas.

Na figura 6 está apresentada a solubilidade proteica dos grãos de soja submetidos a diferentes temperaturas de secagem.

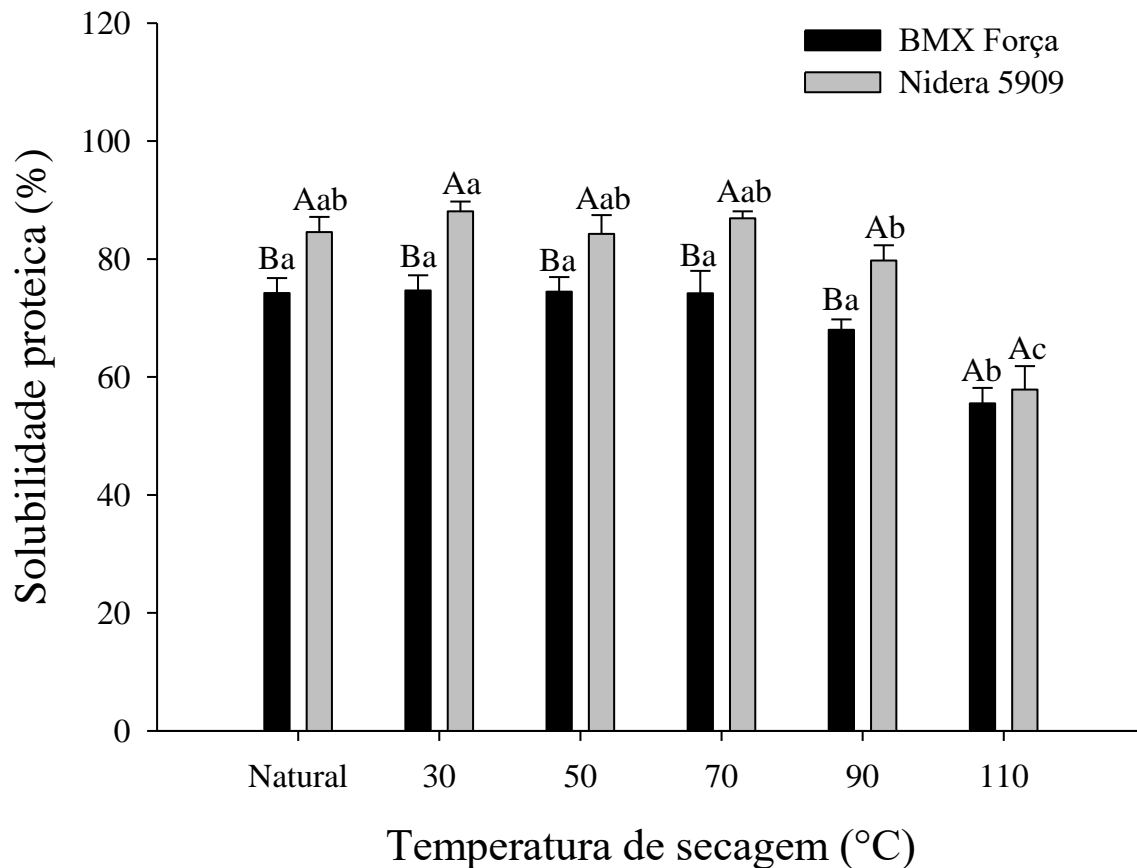


Figura 6. Solubilidade proteica dos grãos de soja submetidos às diferentes temperaturas de secagem. Médias de três determinações \pm desvio padrão são apresentados. Letras maiúsculas diferentes para as cultivares, e letras minúsculas diferentes para as condições de secagem, indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Os maiores valores de solubilidade proteica foram observados na cultivar “Nidera 5909”, quando comparado a cultivar “BMX Força”, em todas as condições de secagem, exceto na temperatura de 110 °C. Na secagem natural foram observadas solubilidades proteicas de 84,5% “Nidera 5909” e 72,2% “BMX Força”, enquanto que na temperatura de 110 °C foram observadas solubilidades proteicas de 57,8% “Nidera 5909” e 55,5% “BMX Força”, representando reduções de 18,7 e 26,7% quando comparados a secagem natural, respectivamente (Figura 6). Ziegler et al. (2016) reportaram solubilidades proteicas semelhantes, com valores próximos a 80% em grãos de soja recém-colhidos. A elevada solubilidade proteica é importante na industrialização de grãos de soja, pois representa a maior facilidade para extração de proteínas, que é importante na elaboração de produtos derivados da soja como o *tofu* e o *soymilk* (LIU et al., 2008).

Na Figura 7 está apresentada a distribuição de peso molecular das proteínas dos grãos de soja submetidos a diferentes temperaturas de secagem.

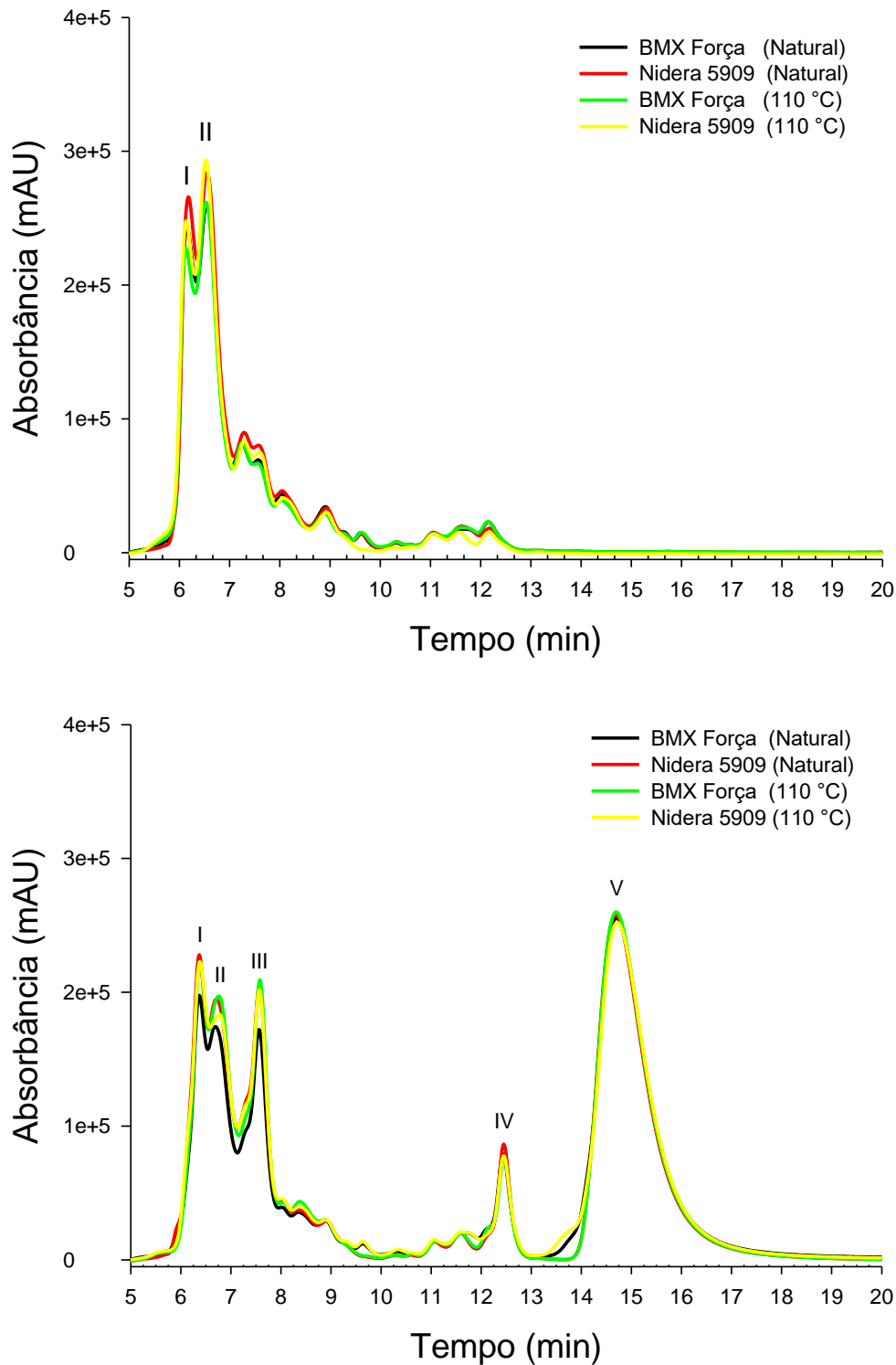


Figura 7. Distribuição de peso molecular em 2% SDS (A) e 2% SDS + 1 % β -mercaptoetanol (B). Nos cromatogramas são identificados pesos moleculares referentes as regiões I (97 Da), II (66 Da), III (não identificada), IV (0,2 Da) e V (não identificado)

A distribuição de peso molecular (SE-HPLC) permite inferir sobre a estrutura proteica (tipos de ligações e agregação entre as frações). O tampão SDS é um detergente aniônico que promove a separação das frações proteicas por cargas, enquanto que o β -Mercaptoetanol é responsável pelo rompimento das ligações dissulfídicas, devido ao seu forte poder redutor (Buggenhout et al., 2013). A extração com 2% SDS promoveu a separação das proteínas nas regiões I (97 Da) e II (66 Da), referente a subunidades proteicas maiores (Figura 7 A), e quando foi utilizado o 2% SDS + 1% β -Mercaptoetanol ocorreu o rompimento das ligações dissulfídicas e o aparecimento das regiões III, IV e V, referentes a fragmentos proteicos menores (Figura 7 B).

As regiões III e V não coincidiram com os padrões utilizados neste experimento. Foram observadas as mínimas alterações na distribuição de peso molecular das proteínas em função das temperaturas de secagem e cultivares, com isso não se identifica a contribuição das ligações iônicas e dissulfídicas na redução da solubilidade proteica observada na temperatura de 110 °C, em ambas as cultivares (Figura 6). Dessa forma, a complexação com outros constituintes provavelmente explique esse comportamento. Segundo Beck-garcía et al. (2013), em temperaturas elevadas, a interação de proteínas/ácidos graxos livres/açúcares promovem a redução da solubilidade e o aumento da hidrofobicidade das proteínas. Segundo Ozdal, Capanoglu e Altay (2013) as interações proteína/polifenóis alteram as propriedades físico-químicas das proteínas (solubilidade, estabilidade térmica e digestibilidade). A oxidação de polifenóis e a associação com grupos amina é favorecida em altas temperaturas, ocorrendo a formação de ligações cruzadas com proteínas, que em reações secundárias formam ligações covalentes (C-N ou C-S).

3.3.5. Perfil de ácidos graxos

Os grãos de soja submetidos a secagem natural apresentaram conteúdo de lipídeos de 19,0% “BMX Força” e 24,1% “Nidera 5909”, sendo o segundo componente em proporção no grão. Kumar et al. (2006) reportaram resultados semelhantes de lipídeos, com variação de 15,4 a 22,0% em grãos de soja de diferentes variedades e locais de cultivo. Não foram observadas alterações significativas ($P > 0,05$) no teor lipídico em função da temperatura de secagem (dados não apresentados).

Na Tabela 2 está apresentado o perfil de ácidos graxos dos grãos de soja submetidos as diferentes temperaturas de secagem.

Tabela 2. Perfil de ácidos graxos (%) do óleo de grãos de soja submetidos a diferentes temperaturas de secagem

Temperatura de secagem (°C)	C 16:0	C 18:1	C 18:2	C 18:3
BMX Força RR				
Natural	11,0±0,2Aa*	26,4±0,7Ba	54,5±0,9Aa	7,8±0,0Aa
30	11,1±0,3Aa	26,3±0,0Ba	54,3±0,2Aa	7,3±0,0Aa
50	11,1±0,2Aa	26,9±1,2Ba	54,2±1,3Aa	7,7±0,1Aa
70	11,1±0,1Aa	26,2±0,4Ba	54,7±0,4Aa	7,8±0,1Aa
90	11,2±0,1Aa	27,3±0,3Ba	54,0±0,2Aa	7,3±0,1Aa
110	12,1±0,2Aa	26,3±1,0Ba	53,8±0,5Aa	7,5±0,3Aa
Nidera 5909 RR				
Natural	10,8±2,5Aa	31,9±0,0Aa	51,2±0,1Ba	6,8±0,1Ba
30	10,5±0,2Aa	31,6±0,0Aa	51,4±0,2Ba	6,2±0,0Ba
50	10,6±0,4Aa	31,2±0,4Aa	51,8±0,0Ba	6,0±0,0Ba
70	11,0±0,4Aa	31,9±1,1Aa	51,4±2,0Ba	6,0±0,5Ba
90	10,8±0,3Aa	31,2±0,0Aa	51,6±0,5Ba	6,2±0,1Ba
110	10,2±0,1Aa	31,3±0,7Aa	52,1±0,6Ba	6,2±0,7Ba

* Para cada ácido graxo, média de três determinações ± desvio padrão, seguido de diferentes letras minúsculas para temperatura de secagem e letras maiúsculas entre cultivares diferem entre si pelo teste Tukey ($P < 0,05$). C 16:0 = ácido palmítico; C 18:1 = ácido oleico; C 18:2 = ácido linoleico; C18:3 = ácido linolênico

As duas cultivares apresentaram perfis de ácidos graxos bem semelhantes, com valores ao redor de 11,0% de C16:0, 26,4% de C18:1, 54,5% de C18:2 e 7,8% de C18:3 para a cultivar BMX Força e 10,8% de C16:0, 31,9% de C18:1, 51,2% de C18:2 e 6,8% de C18:3 para a cultivar Nidera 5909 (avaliados na secagem natural). Resultados semelhantes aos de Yang, Chu e Liu (2005) que reportaram perfil de ácidos graxos predominantes com 10,5% de C16:0, 24,4% de C18:1, 53,1% de C18:2 e 7,5% de C18:3. Durante a secagem não foram observadas alterações no perfil de ácidos graxos para as duas cultivares, independentemente da temperatura de secagem (Tabela 2). Da mesma forma, Stewart et al. (2003) não encontraram alterações no perfil de ácidos graxos em grãos de soja secos com convecção forçada de ar, utilizando temperaturas de secagem de 40, 60 e 100 °C.

3.3.6. Tocoferóis individuais

Na Tabela 3 estão apresentados os tocoferóis individuais do óleo de grãos de soja submetidos a diferentes temperaturas de secagem.

Tabela 3. Teor de tocoferóis (mg 100g⁻¹) do óleo de grãos de soja submetidos a diferentes temperaturas de secagem

Temperatura de secagem (°C)	BMX Força	Nidera 5909
δ – Tocoferol		
Natural	18,5±0,7Aa*	19,4±0,1Aa
30	18,4±0,1Aa	13,2±1,2Bb
50	15,6±1,4ABCa	10,7±0,5BCDb
70	15,3±1,6BCa	8,3±1,1CDb
90	13,3±1,1Ca	7,7±0,7Db
110	17,6±0,0Ba	11,8±0,8CBb
γ – Tocoferol		
Natural	116,4±7,3Aa	73,7±4,9Ab
30	74,2±4,1Ba	62,8±4,8ABb
50	71,0±5,1Ba	34,3±3,8Cb
70	65,8±7,2Ba	28,5±8,3Cb
90	43,7±2,8Ca	22,6±3,6Cb
110	76,5±0,6Ba	53,9±4,0Bb

* Para cada tocoferol, média de três determinações \pm desvio padrão, seguido de diferentes letras maiúsculas na mesma coluna e letras minúsculas na mesma linha diferem entre si pelo teste Tukey ($P < 0,05$).

Na secagem natural foi verificado para o δ – tocoferol valores de 18,5 mg 100 g⁻¹ de óleo “BMX Força” e 19,4 mg 100 g⁻¹ de óleo “Nidera 5909”, enquanto que para o γ – Tocoferol foram verificados valores de 116,4 mg 100 g⁻¹ de óleo “BMX Força” e 73,7 mg 100 g⁻¹ de óleo “Nidera 5909”. Os resultados foram semelhantes aos encontrados por Yang et al. (2005), que reportaram 18,0 mg 100 g⁻¹ de óleo (δ – tocoferol) e 49,4 mg 100 g⁻¹ de óleo (γ – tocoferol) em óleo de soja. Durante o processo de secagem foram observadas reduções

graduais no conteúdo de γ e δ – tocoferóis até a temperatura de secagem de 90 °C, com reduções de 41,3% “BMX Força” e 40,0% “Nidera 5909” para o δ – tocoferol, e reduções de 62.3% “BMX Força” e 69.3% “Nidera 5909”, para o γ – tocoferol, quando comparados a secagem natural. Os Tocoferóis pertencem a um grupo de substâncias lipofílicas, também conhecidas como vitamina E, que são encontrados na maioria dos óleos vegetais, principalmente na forma α , γ e δ – Tocoferóis e apresentam excelente atividade antioxidante, sendo que em grãos de soja as últimas duas são as predominantes (ZIEGLER et al., 2016). Segundo Silva et al. (2010) o γ – tocoferol é o principal protetor dos ácidos graxos insaturados em sementes oleaginosas, justificando o seu elevado conteúdo, bem como as maiores reduções.

A redução dos tocoferóis pode ser explicada pela sua capacidade antioxidante, pois eles atenuam a fase de propagação da oxidação lipídica, capturando radicais livres pela doação hidrogênios para o radical lipídico (ZHANG et al., 2012; ZIEGLER et al., 2016). Na temperatura de secagem de 110 °C foram observadas menores reduções do que na temperatura de 90 °C, sendo que seus valores podem ser iguados estatisticamente ($P > 0,05$) com a secagem a 30 °C, para δ – tocoferol. A maior velocidade de remoção de água na temperatura de 110 °C provavelmente tenha sido a responsável por este comportamento, devido ao menor tempo de exposição dos tocoferóis a alta temperatura.

3.3.7. Produtos primários (K_{232}) e secundários (K_{270}) de oxidação do óleo

Na Figura 8 estão apresentados os produtos primários (K_{232}) e secundários (K_{270}) de oxidação do óleo de grãos de soja submetidos a diferentes temperaturas de secagem.

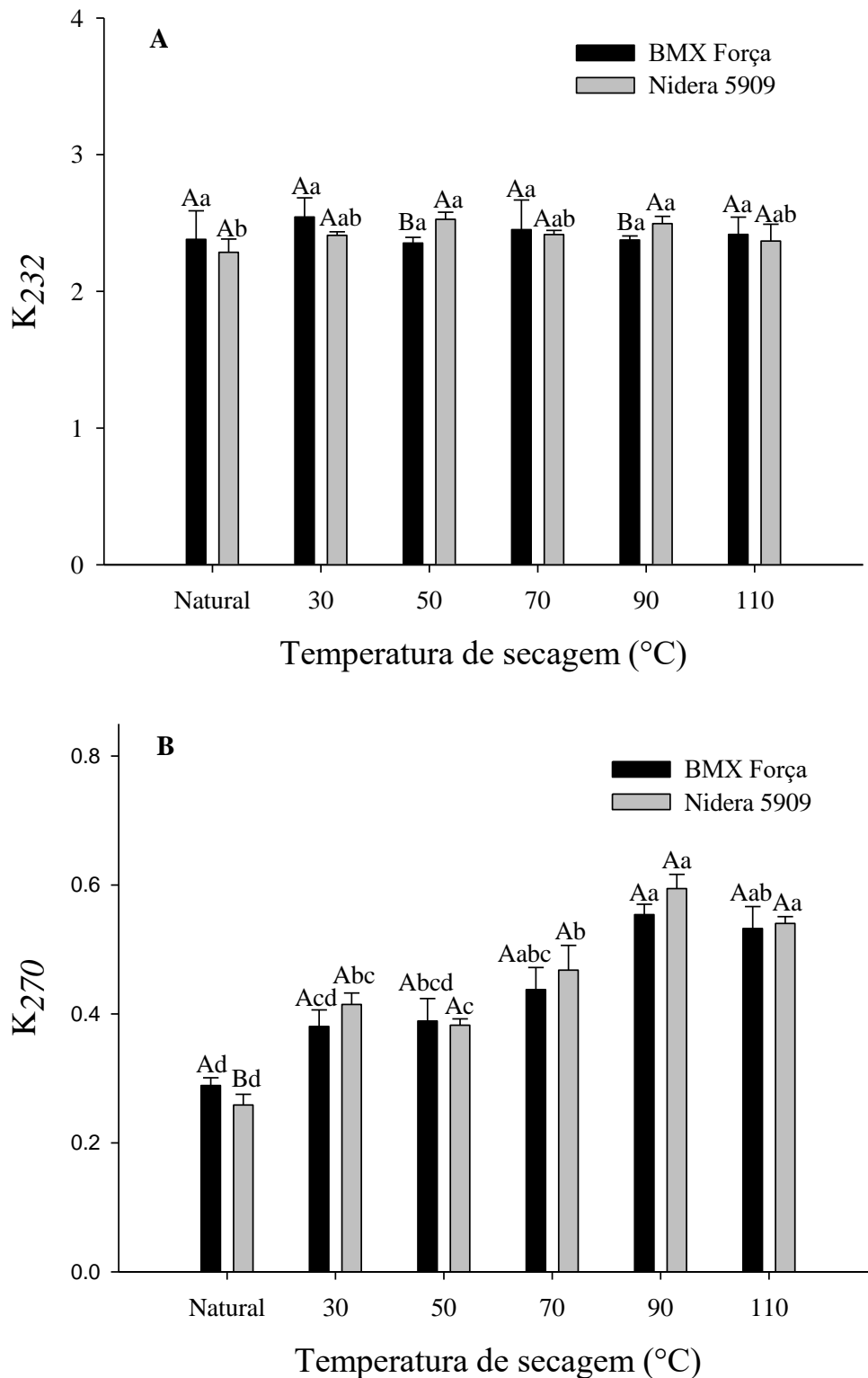


Figura 8. Produtos primários - K₂₃₂ (A) e secundários - K₂₇₀ (B) de oxidação do óleo de grãos de soja submetidos a diferentes temperaturas de secagem. Médias de três determinações \pm desvio padrão são apresentados. Letras maiúsculas diferentes para as cultivares, e letras minúsculas diferentes para as condições de secagem, indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

A oxidação lipídica inicia com a formação de produtos primários de oxidação K_{232} (peróxidos, hidroperóxidos e dienos conjugados), os quais são bastante instáveis e, por isso, são decompostos em produtos secundários de oxidação K_{270} (acetonas, aldeídos, éster e alcoóis) que são responsáveis pelas alterações de odor e sabor dos óleos vegetais (SMITH; KING; MIN, 2007; RODRIGUES et al., 2012). A oxidação lipídica é uma das principais formas de degradação lipídica quando grãos oleaginosos são submetidos a processos térmicos, pois a energia fornecida promove a ativação das reações oxidativas, podendo prosseguir em efeito cascata.

O K_{232} foi minimamente alterado durante o processo de secagem (Figura 8 A). Para os produtos secundários de oxidação (K_{270}) foram observados aumentos principalmente nas temperaturas de secagem de 90 e 110 °C, para ambas as cultivares (Figura 8 B), quando comparado a secagem natural. Segundo Elisia et al. (2013) a suscetibilidade a oxidação de óleos vegetais está associado ao perfil de ácidos graxos e a presença de compostos com atividade antioxidante, como os tocoferóis. Com o aumento da temperatura de secagem até 90°C, houve aumento da oxidação lipídica, verificados pelo K_{270} , porém na temperatura de 110 °C não foi observada a mesma tendência de aumento nos valores de K_{270} . Duas hipóteses podem justificar este comportamento: A primeira, é o tempo de exposição a secagem, que foi semelhante entre as duas cultivares nas temperaturas de 90 e 110 °C. A segunda, pode estar relacionada a volatilização dos compostos oriundos da reação, que apresentam baixo peso molecular (aldeídos, cetonas, ésteres e alcoóis). Os produtos primários de oxidação provavelmente não foram alterados, pois são formados e convertidos nos produtos secundários de oxidação.

3.4. Conclusões

A secagem natural, 30 °C e 50 °C, para ambas as variedades apresentou mínimas alterações na germinação, condutividade elétrica e sólidos lixiviados. A cultivar Nidera 5909 apresentou maior solubilidade proteica do que a BMX Força. A redução solubilidade proteica reduz o valor nutricional das proteínas da soja secas em 110 °C para ambas as cultivares, com mínimas alterações na distribuição de peso molecular proteico. O teor lipídico e o perfil de ácidos graxos não são alterados em função da temperatura de secagem, porém aumento do K_{270} e redução no conteúdo de tocoferóis, principalmente na temperatura de 90 °C indicam maior suscetibilidade a alterações durante o armazenamento. A secagem em temperaturas baixas é mais comumente utilizada quando o destino é a semente, no entanto as temperaturas

elevadas utilizadas na secagem de grãos modificam frações específicas (proteína e óleo), que podem ser muito reativas durante o armazenamento.

4. Capítulo 2 - Efeitos da temperatura de secagem e do tempo de armazenamento sobre o perfil de compostos fenólicos e interconversão de isoflavonas

4.1. Introdução

A soja (*Glycine max* (L) Merrill) é rica em compostos bioativos como, carotenoides, tocoferóis e compostos fenólicos (ZIEGLER et al., 2016). Os compostos fenólicos são o grupo de moléculas antioxidantes predominantes em soja, podendo ser encontrados nas formas livres (912,9 µg/g), solúveis conjugados (1818,1 µg/g) e insolúveis (1285,6 µg/g), destacando-se o ácido gálico, protocatecoico, vanílico, siríngico, epicatequina, p-coumárico, ferúlico, rutina, isoquercetina, quercitrina e quercetina (WANG et al., 2016). No grupo dos compostos fenólicos destacam-se as isoflavonas, que apresentam capacidade antiantioxidante, antiosteoporose, anticarcinogênica, bactericida e antimutagênica, além de reduzir os efeitos da menopausa, principalmente pela ação análoga de fitoestrogênio (WANG et al., 2013). As isoflavonas são encontradas nas formas agliconas (genisteína, gliciteína e daidzeína) e suas respectivas formas glicosiladas (malonilglicosídeos, β-glicosídeos e acetilglicosídeos), totalizando 12 isômeros (CHO et al., 2013).

A composição química dos grãos de soja é afetada em função do genótipo, adubação, altitude e temperatura (ZANNATTA et al., 2017), ou em função das etapas de pós-colheita como, secagem, armazenamento e processamento (LEE; LEE, 2009; ZIEGLER et al., 2018). A secagem com aquecimento ar é amplamente utilizada para redução da umidade e manutenção da qualidade dos grãos durante o armazenamento. No entanto, a secagem em elevadas temperaturas promove danos físicos a soja, com o surgimento de 40 e 60% de rachaduras em temperaturas do ar de secagem de 110 e 140 °C (SOPONRONNARIT et al., 2001). Os danos superficiais, associado a umidade dos grãos, a temperatura e os microrganismos são os principais responsáveis pela deterioração dos grãos durante o armazenamento (FLEURAT-LESSARD, 2017).

As isoflavonas são moléculas resistentes a degradação térmica, no entanto, são facilmente convertidas a outras isoformas por processos térmicos, pois segundo Lee e Lee (2009) a secagem em estufa a 100 °C promove a redução de malonilglicosídeos, e aumento das formas β-glicosídeos e agliconas, enquanto que a torrefação e expansão, reduzem derivados malonilglicosídeos, e aumentam as formas acetilglicosídeos e β-glicosídeos. Segundo Niamnuy et al. (2011) as isoflavonas totais em soja são reduzidas em temperaturas

de secagem elevadas de 130 e 150 °C, no entanto nestas condições são encontrados maiores teores de isoflavonas agliconas, quando comparados a 50 e 70°C.

O armazenamento de soja em condições drásticas (84% UR/ 30 °C por 9 meses) eleva a umidade dos grãos até 18%, com isso favorece a ação das enzimas β -glicosidases que atuam na conversão entre as isoflavonas, com redução de 99% para 3% das malonil- β -glicosídeos e β -glicosídeos, e aumento de 1% para 97% das isoflavonas agliconas (HOU et al., 2002). A conversão das isoflavonas malonil-glicosídeos, acetilglicosídeos e β -glicosídeos em suas formas agliconas é acelerada por hidrólise térmica, ácida, alcalina e enzimática (NIAMNUY et al., 2012). A absorção das isoflavonas nas formas β -glicosídeos é baixa devido ao seu elevado peso molecular e hidrofobicidade, no entanto a microbiota presente no intestino é capaz de hidrolisar as isoflavonas β -glicosídeos em agliconas, porém a taxa de conversão é reduzida. Visando o aumento na concentração de isflavonas agliconas alguns estudos vêm sendo realizadas com β -glicosidases de diferentes organismos (YEOM et al., 2012).

A secagem é uma etapa necessária a manutenção da qualidade de grãos, no entanto não foram encontrados estudos avaliando os efeitos de elevadas temperaturas de secagem em grãos de soja seguidos de armazenamento por longos períodos sobre o perfil de ácidos fenólicos e isoflavonas. Com isso, objetivou-se avaliar os efeitos de diferentes temperaturas de secagem, em dois genótipos de soja, seguido do armazenamento por 12 meses, sobre o perfil de ácidos fenólicos e isoflavonas.

4.2. Material e métodos

4.2.1. Material vegetal

No experimento foram utilizadas duas cultivares de grãos de soja (BMX Força RR e Nidera 5909 RR) com características físicas e químicas distintas (Tabela 1), cultivadas lado a lado no município de Morro Redondo, Rio Grande do Sul, Brasil, latitude 31° 32' 34.184" S, longitude 52° 34' 12.702" W, altitude de 108 metros, sendo adotado o manejo tecnológico comercial utilizado na região. Os grãos foram monitorados na lavoura até atingirem umidade que possibilitasse a trilha mecânica (aproximadamente 20%). As plantas foram colhidas manualmente e debulhadas em trilhadora (modelo BCO 80 MAX URP), com rotor operando a 820 RPM. Em seguida, os grãos foram transportados para o *Laboratório de Pós-Colheita, Industrialização e Qualidade de Grãos* da DCTA-FAEM-UFPel, onde foram submetidos a pré-limpeza do material, a fim de serem retirados matérias estranhas, impurezas, grãos

danificados e mal formados. Para efeito comparativo com o controle do processo de secagem, parte das plantas permaneceram por 10 dias (temperatura média – 24°C) a campo até atingirem 13,5% de umidade dos grãos, sendo chamado de secagem natural.

4.2.2. Secagem e armazenamento

Antes de iniciar o processo de secagem foi realizada a determinação da umidade destes grãos pelo método de estufa a 130 °C com circulação de ar por 3 horas (ASAE, 2000), sendo obtidas umidades de 20,37% e 19,28% *b.u.*, para as cultivares BMX Força e Nidera 5909, respectivamente. Foram determinadas as condições do ar na entrada da estufa através de psicrômetro analógico (umidade relativa de 60% e temperatura do ar de 28 °C). O processo de secagem foi realizado em Estufa (Nova Ética) e temperaturas do ar de 30, 50, 70, 90 e 110°C. Os grãos (1,2 kg) foram acondicionados em sacos de rãfia e a secagem foi realizada em triplicata. Os grãos foram retirados a cada 20 minutos para homogeneização, medição da temperatura de massa dos grãos e pesagem. A temperatura de massa foi determinada colocando os grãos em recipiente isolante com termômetro de mercúrio acoplado, sendo a leitura realizada após dois minutos de estabilização (baseado em pré-teste). Para o controle da umidade final da secagem foi realizado o cálculo de remoção de água para umidade de 13%, através da Equação 1. Após a secagem todas as amostras foram mantidas em recipiente com isolamento térmico (16 °C), por sete dias, a fim de alcançar equalização da temperatura e homogeneidade de umidade entre as amostras.

$$\text{Equação 1: } MF = MI * (100 - UI) / (100 - UF) \quad \text{Eq. 1}$$

Onde MF é a Massa de grãos desejada ao final da secagem (g, equivalente a 13%), MI é a Massa de grãos no início da secagem (g), UI é a Umidade inicial (%), UF é a Umidade final (%).

Os grãos de soja secos foram armazenados em sacos de polietileno de 0,2 mm de espessura, com capacidade de armazenamento de 0,9 kg em temperatura de 25 °C, por 12 meses. As amostras foram avaliadas no início e após 12 meses de armazenamento, com exceção do teste de germinação que foi realizado aos 0, 4, 8 e 12 meses.

4.2.3. Análises

4.2.3.1. Teste de germinação

O teste de germinação foi realizado conforme as Regras para análise de sementes - RAS (BRASIL, 2009). A análise foi realizada em 4 repetições de 100 grãos coletados aleatoriamente. Os 100 grãos foram distribuídos em papel *germitest*, com adição de água destilada na proporção de 3 vezes o peso do papel. O papel *germitest* foi então enrolado e levado à câmara de germinação (EletroLab, modelo EL 222/ 4RS) em temperatura de 25 °C e umidade relativa de 80%. A contagem foi realizada aos 7 dias de germinação, sendo considerados germinados os grãos que apresentaram emissão de radícula e parte aérea. Os resultados foram expressos em percentual de grãos germinados.

4.2.3.2. Incidência fúngica

A incidência fúngica foi realizada pelo método de *Blotter test*. Para evitar a contaminação de outros fungos, os papéis filtro foram autoclavados em estufa a 500 °C por 5 h e as caixas foram desinfetadas com hipoclorito de sódio (0,07%) seguidos de álcool (70%). Foram dispostas 2 folhas de papel filtro dentro das caixas e adicionados água a 2,5 vezes o peso do papel. Foram distribuídas 25 sementes uniformemente em cima do papel. Em seguida, as caixas foram levadas a incubadora à 25 ± 2 °C, 80% UR (umidade relativa), com fotoperíodo de 12 h de luz / 12 h de escuro. Após 24 h as caixas foram colocadas a 20 °C por 24 h, para evitar a germinação das sementes. Após este período foram levadas novamente a incubadora. Após sete dias de incubação, as sementes foram examinadas em lupa e microscópio afim de identificar as estruturas de reprodução, sendo os fungos identificados a nível de gênero. Os resultados foram expressos em percentual de incidência fúngica.

4.2.3.3. Extração dos compostos fenólicos e isoflavonas livres

Os grãos de soja foram moídos em moinho (Perten 3100, Perten Instruments, Huddinge, Sweden) equipado com uma peneira de 35 mesh para obter uma farinha com tamanho de partícula uniforme. Após a farinha de soja foi desgordurada com éter de petróleo por 8 h. A extração de compostos fenólicos livres foi realizada de acordo com o método descrito por Dueñas et al. (2012), com algumas modificações. A farinha de soja

desengordurada (2,0 g) foi extraída duas vezes com 80% de metanol numa proporção de 1: 20 (p / v). Para cada extração, a mistura foi mantida em um agitador mecânico (Certomat Biotech International) durante 1 h a 150 rpm à 20 °C. Após centrifugação (Eppendorf 5430-R) a 7600 rpm durante 15 min, os sobrenadantes obtidos de cada extração foram combinados e concentrados até à secura usando um evaporador rotativo (Heidolph, Laborota Model 4000, Kelheim, Baviera, Alemanha) à 35 °C. O extrato seco foi redissolvido em 25 mL de metanol 80%.

4.2.3.4. Extração dos compostos fenólicos e isoflavonas ligadas

Os compostos fenólicos ligados foram extraídos por hidrólise alcalina conforme descrito por Žilić et al. (2013), com algumas modificações. O resíduo sólido da extração dos compostos fenólicos livres foi seco por 12 horas em estufa com circulação de ar à 35 °C. Deste resíduo foi pesado 1 g em tubo Falcon de 50 mL e adicionados 20 mL de NaOH 4 mol L⁻¹ sob agitação por 4 h à 35 °C. Após o pH foi ajustado para 2,0 com HCl 6 mol L⁻¹, sendo posteriormente extraídos com 4 vezes de 20 mL acetato de etila P.a. A fração acetato de etila foi rotaevaporado e o resíduo foi redissolvido em 10 mL de metanol 80% (V/V).

4.2.3.5. Perfil de ácidos fenólicos por LC-ESI-QTOF-MS

Foram utilizados os extratos livres e ligados para análise por LC-ESI-QTOF-MS (*liquid chromatography and electrospray ionization quadrupole time-of-flight mass spectrometry*). As amostras foram filtradas através de um filtro de membrana de nylon de 0,45 µm (Merck Millipore Corporation, Darmstadt, Hesse, Alemanha). A análise LC-ESI-QTOF-MS foi realizada em um sistema UFLC Prominence (Shimadzu, Japão) acoplado a um espectrômetro de massa quadrupolo de tempo de voo (Impact HD, Bruker Daltonics, Bremen, Alemanha). Os compostos fenólicos foram separados usando uma coluna Luna C18 (2,0 x 150 mm, 100 Å, tamanho de partícula 3 µm) da Phenomenex (Phenomenex Inc., Torrance, CA, EUA). As fases móveis foram 0,1% de ácido fórmico aquoso (pH 2,8, solvente A) e acetonitrila (solvente B). O gradiente de eluição foi: 0-2 min, 10% B; 2-10 min, 10-75% B; 10-15 min, 75% B; 15-18 min 75-90% B; 18-21 min, 90% B, 21-23 min, 90-10% B, 23-30 min, 10% B a uma taxa de fluxo de 9 de 0,2 mL min⁻¹. O volume de injeção foi de 10 µL. Os parâmetros para a análise de MS foram definidos usando o modo de ionização negativo com

os espectros adquiridos em uma faixa de massa de 50 a 1200 m/z . Os parâmetros foram: tensão capilar, +4,0 kV; temperatura do gás de secagem, 180 ° C; fluxo de gás de secagem, 8,0 L min^{-1} ; pressão de gás nebulizadora, 2 bar; colisão RF, 150 Vpp; tempo de transferência 70 μs e armazenamento pré-pulso, 5 μs . Além disso, realizaram-se experimentos MS/MS automáticos ajustando os valores de energia de colisão da seguinte forma: m/z 100, 15 eV; m/z 500, 35 eV; m/z 1000, 50 eV com nitrogênio como gás de colisão.

Os dados do espectro de massas (MS) foram processados através do software Data Analysis 4.0 (Bruker Daltonics, Bremen, Alemanha), que forneceu uma lista de possíveis fórmulas elementares usando o editor Smart Formula. Para a quantificação de ácidos fenólicos e flavonóides, foram preparadas curvas de calibração externas com padrões. Os íons monitorados foram: [MH] m/z 179.0350 (ácido cafeico, TR (tempo de retenção) = 8,47 min, intervalo de concentração: 39 - 5000 ng mL^{-1} , equação: $Y = 325,52x + 13117$, $R^2 = 0,9984$), m/z 163.0401 (ácido *p*-coumarico, TR = 9,32 minutos, intervalo de concentração: 39 - 5000 ng mL^{-1} , equação: $Y = 185,96x + 7616$, $R^2 = 0,9993$), m/z 193.0506 (ácido ferúlico, TR = 9,60 min, intervalo de concentração : 78 - 5000 ng mL^{-1} , equação: $Y = 77,21x + 4033$, $R^2 = 0,9996$), m/z 301,0354 (quercetina, TR = 16,85 min, intervalo de concentração: 58 - 2500 ng mL^{-1} , equação $Y = 370,37x + 1689$, $R^2 = 0,9947$) e m/z 289.0718 (catequina, TR = 7,79 min, intervalo de concentração: 39 - 2500 ng mL^{-1} , equação: $Y = 54,33x + 325$, $R^2 = 0,9989$).

4.2.3.6. Perfil de isoflavonas por LC-ESI-QTOF-MS

A análise LC-ESI-QTOF-MS dos extratos de isoflavonas foi realizada com um HPLC (sistema UFLC, Shimadzu, Japão) acoplado ao espectrômetro de massa do tempo de voo (Impact HD, Bruker Daltonik, Bremen, Alemanha). Uma coluna de fase reversa (coluna analítica Shim-pack XR ODS, 2,0 mm x 75 mm, tamanho de partícula de 2,2 μm , Shimadzu, Japão) foi utilizada para a análise. A fase móvel foi um gradiente preparado a partir de 0,1% ácido fórmico em água (componente A) e metanol (componente B). O programa de gradiente para a HPLC foi o seguinte: 0-1 min, 15-15% B; 1-10 min 70% B; 10-12 min 70% B; 12-15 min 15% B, e o caudal foi de 0,25 mL min^{-1} . O volume de injeção foi de 10 μL e a temperatura da coluna foi de 35 °C. Os espectros de massa na faixa de m/z 50-1200 foram obtidos por utilização de ionização por *electrospray* no modo íon positivo. As condições de espectrometria de massa foram otimizadas da seguinte forma: temperatura do gás 200 °C, vazão de gás de secagem 9,0 L min^{-1} , pressão do gás nebulizador 2,0 bar e potenciais

capilares 4500 V. O eixo de massa foi calibrado usando formiate de sódio 10 mM como solução de calibração interna. Para a quantificação foi realizada uma curva de calibração ($\mu\text{mol mL}^{-1}$) externa com cada padrão de isoflavona. Os resultados foram expressos em mmol de cada isoflavona por 100g^{-1} (peso seco).

4.2.4. Análise estatística

As determinações analíticas foram realizadas em triplicata, sendo as médias e desvios padrão apresentados, exceto para a incidência fúngica. Os resultados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e a comparação de médias foi realizada pelo teste de Tukey a 5% de significância.

4.3. Resultados e discussões

4.3.1. Germinação e incidência fúngica em função da temperatura de secagem e do tempo armazenamento

Na Figura 9 e Tabela 5 estão apresentados os resultados da germinação e a incidência fúngica das cultivares BMX Força e Nidera 5909 submetidas a secagem e armazenamento por 12 meses.

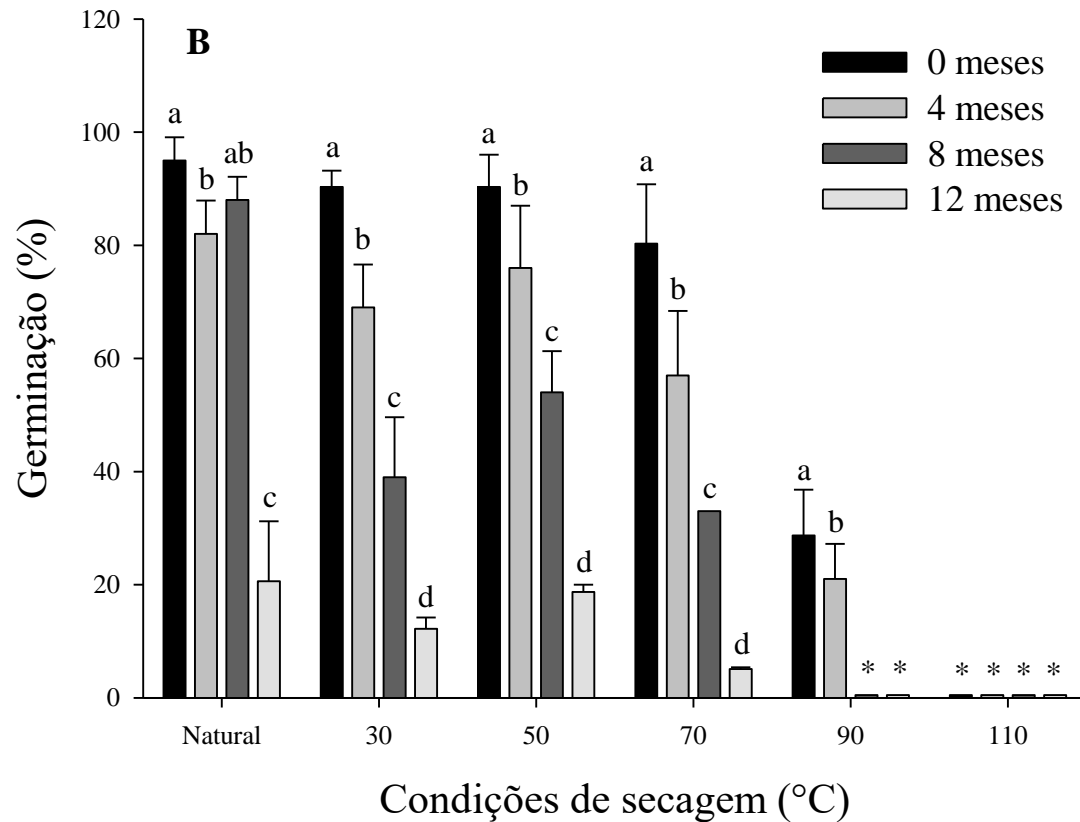
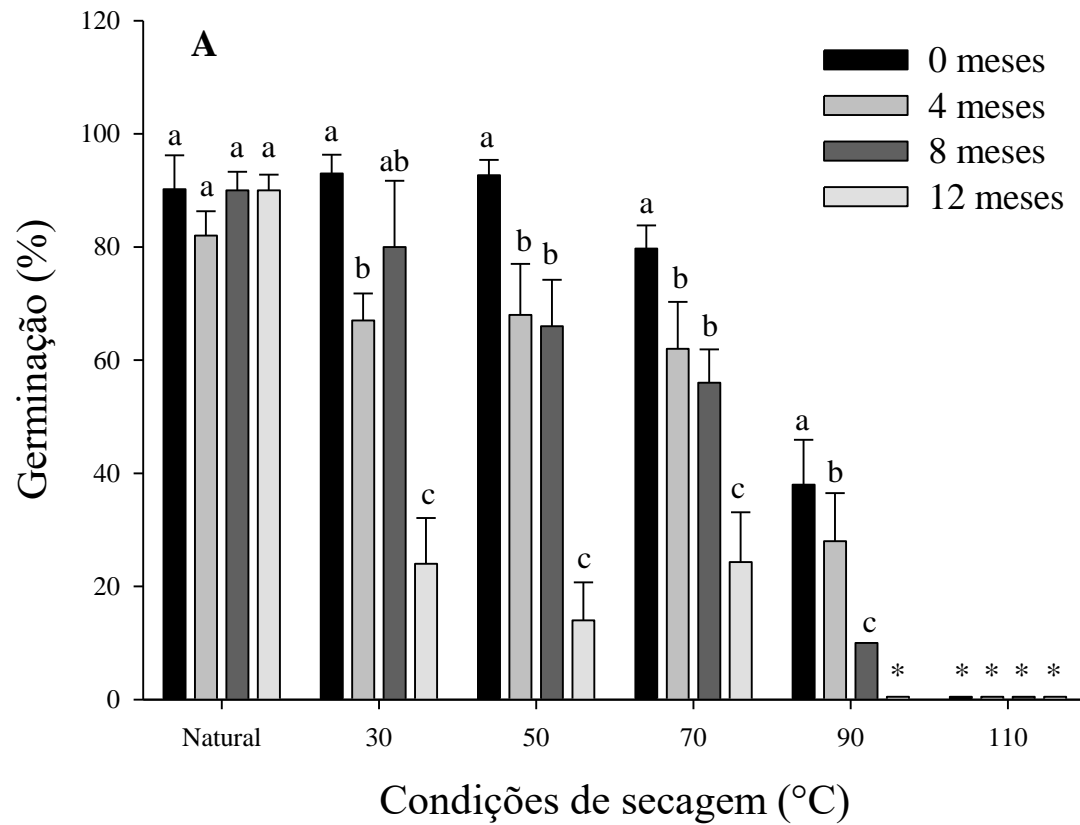


Figura 9. Germinação dos grãos de soja submetidos a diferentes temperaturas de secagem e armazenamento. Letras minúsculas diferentes para cada condição de secagem diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). * não determinado.

No início do armazenamento, não foram observadas alterações da germinação nas secagens natural, 30, 50 e 70 °C, para ambas as cultivares (Figura 9). No entanto, foram observadas reduções ($P < 0,05$) de 57% e 100% na germinação para cultivar BMX Força em 90 e 110 °C, respectivamente (Figura 9A). Para cultivar Nidera 5909 foram observadas reduções ($P < 0,05$) de 69% e 100% em 90 e 110 °C, respectivamente (Figura 9B). Durante o armazenamento não foram observadas alterações na germinação da cultivar BMX Força na secagem natural. Nos demais tratamentos foram observados reduções ($P < 0,05$) aos 4, 8 e 12 meses, quando comparados ao início do armazenamento. Ao final do armazenamento foram observadas germinações abaixo de 30% em todas as temperaturas de secagem utilizadas (30, 50, 70, 90 e 110 °C). No entanto, as maiores reduções ($P < 0,05$) na germinação foram observadas aos 12 meses de armazenamento, nas temperaturas mais elevadas de secagem, sendo encontrados 0% de germinação nas temperaturas de 90 e 110 °C. A redução na germinação (Figura 9) conforme o aumento na temperatura de secagem está de acordo com os resultados encontrados por Hartmann-Filho et al. (2016) que realizou secagem em grãos de soja em diferentes temperaturas, seguido de armazenamento por 180 dias em recipiente não hermético. Eles reportaram germinações de 100%, 97%, 88%, 28% e 1% nas temperaturas de secagem de 40, 50, 60, 70 e 80 °C, respectivamente, sendo esta redução intensificada linearmente ao longo do armazenamento. A germinação é um parâmetro de qualidade que pode ser utilizado para avaliar a atividade enzimática e a integridade das membranas dos grãos.

A redução na germinação com processo de secagem (Figura 9) está associada a temperatura que os grãos atingem durante a secagem, pois em ambas as cultivares, a temperatura da massa grãos foi de 29, 42, 54, 59, e 70 °C, respectivamente nas temperaturas de 30, 50, 70, 90, e 110 °C (Figura 1 e 2). Segundo Stewart et al. (2003) a temperatura máxima para secagem de soja é 40 °C quando se deseja manter a germinação e vigor de sementes, no entanto em elevadas temperaturas ocorre a danificação das proteínas e do óleo. Com o aumento na temperatura de secagem acima de 50 °C as enzimas reduzem sua atividade biológica, as proteínas são desdobradas ou desnaturadas irreversivelmente, causando danos as células. Os danos nas enzimas podem ser os principais responsáveis pela redução da germinação ao longo do armazenamento (AHERN; KLIBANOV, 1988).

Tabela 4. Número de colônias fúngicas (unidades) por 100 grãos de soja submetidos a secagem e armazenamento por 12 meses.

Condições de secagem (°C)	<i>BMX Força</i>					<i>Nidera 5909</i>				
	AS**	RP**	PE**	AL**	Total	AS**	RP**	PE**	AL**	Total
<i>Inicial</i>										
Natural	0,0*	25,0	0,0	43,0	68,0*	11,0	31,0	3,0	37,0	82,0
30	22,0	22,0	8,0	10,0	62,0	3,0	26,0	39,0	24,0	92,0
50	9,0	28,0	15,0	11,0	63,0	8,0	28,0	41,0	29,0	106,0
70	22,0	33,0	4,0	2,0	61,0	64,0	1,0	50,0	6,0	121,0
90	17,0	21,0	4,0	1,0	43,0	49,0	15,0	87,0	1,0	152,0
110	14,0	7,0	0,0	0,0	21,0	46,0	37,0	70,0	0,0	153,0
<i>12 meses</i>										
Natural	1,0	10,0	5,0	0,0	16,0	0,0	68,0	68,0	0,0	136,0
30	32,0	14,0	48,0	0,0	94,0	6,0	85,0	85,0	0,0	176,0
50	35,0	12,0	63,0	0,0	110,0	22,0	84,0	84,0	0,0	190,0
70	33,0	29,0	51,0	0,0	113,0	25,0	100,0	100,0	0,0	225,0
90	35,0	49,0	71,0	0,0	155,0	40,0	100,0	100,0	0,0	240,0
110	33,0	35,0	39,0	0,0	107,0	32,0	100,0	100,0	0,0	232,0

* Mais de um fungo pode incidir sobre o mesmo grão; ** AS- *Aspergillus* sp., RP - *Rhizopus* sp., PE - *Penicillium* sp., AL - *Alternaria* sp.

Os fungos dos gêneros *Rhizopus* sp., *Penicillium* sp., and *Aspergillus* sp. foram identificados em ambas as cultivares, temperaturas de secagem e armazenamento. No entanto os fungos do gênero *Alternaria* sp. foram identificados somente no início do armazenamento, excluindo-se a temperatura de 110 °C (Tabela 4). Após a secagem, no início do armazenamento, foi observado o total de fungos variando de 68 (Secagem natural) a 21 (110 °C) para cultivar BMX Força e de 82 (Secagem natural) a 153 (110 °C) para a cultivar Nidera 5909. Conforme os aumentos na temperatura de secagem foram observados reduções nos fungos do gênero *Alternaria* sp. não sendo encontrados contaminações nos grãos de soja secos em 110 °C, para ambas as cultivares. Após o armazenamento não foi identificado a presença do gênero *Alternaria* sp. em nenhuma das condições de secagem, para ambas as cultivares.

A maior incidência dos fungos do gênero *Alternaria* sp. nos grãos submetidos a secagem no campo se devem a maior permanência dos grãos nas condições ambientais até a obtenção da umidade de armazenamento, no entanto este gênero de fungo é mais suscetível a degradação durante o processo de secagem e armazenamento (Tabela 4). Esses resultados estão de acordo com Bhattacharya e Raha (2000) que relatam que os fungos de campo são reduzidos gradualmente durante o armazenamento, pois são incapazes de sobreviver em umidade de equilíbrio inferiores a 90%, sendo substituídos principalmente por fungos de armazenamento como *Aspergillus* sp.

Mínimas alterações na incidência dos fungos *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., e *Rhizopus* sp., foram observadas para cultivar BMX Força. No entanto para cultivar Nidera 5909 foram observados aumentos de 11%, 31% e 3% (Secagem natural) para 46%, 37% e 70% (110 °C), respectivamente para os gêneros *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp. e *Rhizopus* sp. Os grãos de soja da cultivar Nidera 5909 foram mais suscetíveis as temperaturas de secagem, apresentando maior redução na germinação inicial e ao longo do armazenamento (Figura 9B). Este comportamento indica maior danificação celular e menor resistência a infestação patógenos, conseqüentemente facilitando a germinação dos esporos dos fungos *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp. e *Rhizopus* sp. presentes nos grãos.

Após o armazenamento foram observados aumentos no total de fungos em todas as temperaturas de secagem utilizadas quando comparadas ao início do armazenamento. Na cultivar BMX Força a maior infestação fúngica foi observada na temperatura de 90 °C (155), enquanto que na cultivar Nidera 5909 as maiores infestações fúngica foram observadas nas temperaturas de 70 °C (225), 90 °C (140) e 110 °C (232) aos 12 meses de armazenamento. Após o armazenamento a cultivar BMX Força apresentou maior contaminação pelos fungos

do gênero *Aspergillus* sp., enquanto que a cultivar Nidera 5909 apresentou maiores contaminações pelos gêneros *Penicillium* sp. e *Rhizopus* sp. em todas as temperaturas de secagem utilizadas. Na cultivar Nidera 5909 após o armazenamento foram observadas 100% de contaminação dos grãos pelos fungos dos gêneros *Penicillium* sp. e *Rhizopus* sp. nas temperaturas de secagem de 70, 90 e 110 °C.

De maneira geral a cultivar Nidera 5909 apresentou maior infestação fúngica em todos os tratamentos, quando comparado a cultivar BMX Força. A maior incidência dos fungos dos gêneros *Rhizopus* sp., *Penicillium* sp. e *Aspergillus* sp. nos grãos de soja submetidos as maiores temperaturas de secagem, seguido de armazenamento, provavelmente se deva a maior danificação superficial dos grãos (Figura 1), o qual influencia diretamente na germinação dos grãos (Figura 9). As oleaginosas apresentam elevada atividade de água e estão associadas a uma grande quantidade microrganismos deteriorativos, sendo os fungos os principais responsáveis pela rápida perda de germinação e vigor em sementes durante o armazenamento (NAGARAJA; KRISHNAPPA, 2009). No entanto outros fatores também influenciam na qualidade, como a redução no conteúdo lipídico, aumento nos ácidos graxos livres e produtos de oxidação e produção de micotoxinas (SAXENA et al., 2015).

4.3.2. Perfil de ácidos fenólicos por HPLC-MS em função da temperatura de secagem e armazenamento

O perfil de compostos fenólicos solúveis e insolúveis para cultivar BMX Força e Nidera 5909 são apresentados nas tabelas 5 e 6. Na fração solúvel foram observados os compostos fenólicos *p*-cumárico, ferúlico, gálico, hidroxibenzoico e siríngico, enquanto que na fração insolúvel foram observados os fenólicos *p*-cumárico, ferúlico, gálico, hidroxibenzoico, siríngico, cafeico, epicatequina e vanílico, para ambas as cultivares, temperaturas de secagem e tempo de armazenamento. Estes resultados são similares aos de Xu e Chang (2008) que avaliaram 30 genótipos de soja cultivados na região Norte de Dakota - Minnesota - EUA e reportaram a predominância do ácido gálico, protocatecoico, trihidroxibenzoico, *p*-hidroxibenzoico, vanílico, siríngico, clorogênico, *p*-cumárico+serilgaldeído, *m*-cumárico + ferúlico, sinápico, *o*-cumárico e trans-cinâmico. Eles também reportaram que a concentração destes compostos varia em função da variedade, local e ano de cultivo.

Tabela 5. Compostos fenólicos da fração solúvel e insolúvel para cultivar BMX Força submetida a diferentes temperaturas de secagem e armazenamento.

Compostos (mg/100g)	Fenólicos solúveis				Fenólicos insolúveis			
	Secagem natural		110 °C		Secagem natural		110 °C	
	0 meses	12 meses	0 meses	12 meses	0 meses	12 meses	0 meses	12 meses
Cafeico	Nd**	Nd	Nd	Nd	0,06 ± 0,00 ^a	0,05 ± 0,00 ^a	0,05 ± 0,00 ^a	0,05 ± 0,00 ^a
<i>p</i> -Cumárico	0,04 ± 0,00 ^{b*}	0,07 ± 0,01 ^a	0,04 ± 0,00 ^b	0,20 ± 0,01 ^a	0,42 ± 0,03 ^a	0,44 ± 0,01 ^a	0,34 ± 0,02 ^b	0,40 ± 0,01 ^a
Epicatequina	Nd	Nd	ND	ND	0,18 ± 0,02 ^b	0,26 ± 0,01 ^a	0,24 ± 0,02 ^b	0,30 ± 0,01 ^a
Ferúlico	0,21 ± 0,02 ^a	0,21 ± 0,03 ^a	0,17 ± 0,03 ^a	0,18 ± 0,02 ^a	0,29 ± 0,01 ^a	0,30 ± 0,02 ^a	0,31 ± 0,03 ^b	0,36 ± 0,01 ^a
Gálico	0,05 ± 0,00 ^a	0,04 ± 0,00 ^a	0,05 ± 0,00 ^a	0,04 ± 0,00 ^a	0,05 ± 0,01 ^a	0,04 ± 0,00 ^a	0,04 ± 0,01 ^a	0,04 ± 0,00 ^a
<i>p</i> -Hidroxibenzoico	0,01 ± 0,00 ^b	0,06 ± 0,01 ^a	0,00 ± 0,00 ^b	0,06 ± 0,01 ^a	0,36 ± 0,01 ^a	0,33 ± 0,01 ^b	0,35 ± 0,02 ^a	0,37 ± 0,01 ^a
Siríngico	0,14 ± 0,00 ^b	0,36 ± 0,05 ^a	0,15 ± 0,00 ^b	0,65 ± 0,01 ^a	0,58 ± 0,07 ^b	0,68 ± 0,02 ^a	0,57 ± 0,09 ^b	0,82 ± 0,06 ^a
Vanílico	Nd	Nd	Nd	Nd	0,95 ± 0,06 ^a	0,29 ± 0,00 ^b	0,68 ± 0,03 ^a	0,30 ± 0,01 ^b
Total	0,45	1,10	0,41	1,13	2,89	2,39	2,58	2,64

* Para cada tratamento, médias aritméticas de três repetições ± desvio padrão, seguidos de diferentes letras minúsculas para o tempo de armazenamento diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). **Nd - Não determinado.

Tabela 6. Compostos fenólicos da fração solúvel e insolúvel para cultivar *Nidera 5909* submetida a diferentes temperaturas de secagem e armazenamento.

Compostos (mg/100g)	Fenólicos solúveis				Fenólicos insolúveis			
	Secagem natural		110 °C		Secagem natural		110 °C	
	0 meses	12 meses	0 meses	12 meses	0 meses	12 meses	0 meses	12 meses
Cafeico	Nd**	Nd	Nd	ND	0,05 ± 0,00 ^a	0,05 ± 0,00 ^a	0,05 ± 0,00 ^a	0,06 ± 0,00 ^a
<i>p</i> -Cumárico	0,13 ± 0,01 ^{b*}	0,75 ± 0,01 ^a	0,12 ± 0,00 ^b	1,03 ± 0,01 ^a	1,04 ± 0,10 ^a	1,07 ± 0,00 ^a	1,27 ± 0,08 ^a	1,23 ± 0,03 ^a
Epicatequina	ND	Nd	Nd	Nd	0,25 ± 0,04 ^a	0,25 ± 0,01 ^a	0,39 ± 0,06 ^a	0,22 ± 0,00 ^b
Ferúlico	0,12 ± 0,03 ^a	0,16 ± 0,00 ^a	0,07 ± 0,02 ^b	0,11 ± 0,01 ^a	0,26 ± 0,03 ^a	0,28 ± 0,02 ^a	0,27 ± 0,05 ^b	0,35 ± 0,01 ^a
Gálico	0,05 ± 0,00 ^a	0,04 ± 0,00 ^a	0,04 ± 0,00 ^a	0,05 ± 0,00 ^a	0,04 ± 0,00 ^a	0,04 ± 0,00 ^a	0,05 ± 0,00 ^a	0,04 ± 0,00 ^a
<i>p</i> -Hidroxibenzoico	0,01 ± 0,00 ^b	0,15 ± 0,01 ^a	0,00 ± 0,00 ^b	0,17 ± 0,01 ^a	0,45 ± 0,04 ^b	0,34 ± 0,01 ^a	0,52 ± 0,06 ^a	0,41 ± 0,01 ^b
siríngico	0,09 ± 0,02 ^b	0,71 ± 0,03 ^a	0,01 ± 0,00 ^b	0,98 ± 0,01 ^a	0,90 ± 0,05 ^a	0,82 ± 0,04 ^a	1,48 ± 0,23 ^a	1,34 ± 0,00 ^a
vanílico	Nd	Nd	Nd	Nd	0,70 ± 0,07 ^a	0,33 ± 0,05 ^b	0,99 ± 0,06 ^a	0,37 ± 0,03 ^b
Total	0,4	1,81	0,24	2,34	3,69	3,18	5,02	4,02

* Para cada tratamento, médias aritméticas de três repetições ± desvio padrão, seguidos de diferentes letras minúsculas para o tempo de armazenamento diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). **Nd - Não determinado.

No final do armazenamento foram observados aumentos no total de ácidos fenólicos na fração solúvel, com aumentos de 0,65 mg/100g (Secagem natural) e 0,72 mg/100 (110 °C) para a cultivar BMX Força, e 1,41 mg/100g (Secagem natural) e 2,10 mg/100 (110 °C) para cultivar Nidera 5909. Na fração insolúvel foram observadas reduções de 0,50 mg/100g (Secagem natural) e aumento de 0,06 mg/100 (110 °C) para a cultivar BMX Força, e 0,51 mg/100g (Secagem natural) e 1,00 mg/100 (110 °C) para cultivar Nidera 5909. Não foram encontrados estudos que avaliassem o perfil de ácidos fenólicos de grãos de soja submetidos a elevadas temperaturas de secagem, seguido de armazenamento por longo período. No entanto Ziegler et al. (2016) reportaram aumento no conteúdo de fenólicos totais e redução no ácido vanílico em soja armazenada por 12 meses com 15 e 18% de umidade e temperaturas acima de 25°C.

Após o armazenamento foram verificados aumentos ($P < 0,05$) no ácido *p*-cumárico variando de 0,07 mg/100g (Secagem natural) para 0,20 mg/100g (110°C) e no ácido siríngico variando de 0,36 mg/100g (Secagem natural) para 0,65 mg/100g (110 °C), na fração solúvel da cultivar BMX Força (Tabela 5). Comportamento semelhante foi observado para a cultivar Nidera 5909 após o armazenamento, com aumento ($P < 0,05$) no *p*-hidroxibenzoico variando de 0,15 mg/100g (Secagem natural) para 0,17 mg/100g (110 °C), no ácido *p*-cumárico variando de 0,75 mg/100g (Secagem natural) para 1,03 mg/100g (110 °C) e no ácido siríngico variando de 0,71 mg/100g (Secagem natural) para 0,98 (110 °C) (Tabela 6).

Na fração insolúvel foram observadas as principais alterações nos ácidos siríngico e vanílico. No início do armazenamento foi observado redução ($P < 0,05$) do ácido vanílico variando de 0,95 mg/100g (Secagem natural) para 0,68 mg/100g (110 °C), na cultivar BMX Força. Para cultivar Nidera 5909 foi observado aumento ($P < 0,05$) no ácido siríngico variando de 0,90 mg/100g (Secagem natural) para 1,48 mg/100g (110 °C) e aumento ($P < 0,05$) no ácido vanílico variando de 0,70 mg/100g (Secagem natural) para 0,99 mg/100g (110 °C).

Após o armazenamento foi observado aumento ($P < 0,05$) no ácido siríngico variando de 0,68 mg/100g (Secagem natural) para 0,82 mg/100g (110 °C) e redução ($P < 0,05$) no ácido vanílico variando de 0,29 mg/100g (Secagem natural) para 0,30 mg/100g (110 °C), na cultivar BMX Força, quando comparados ao início do armazenamento. Na cultivar Nidera 5909 foram observadas reduções ($P < 0,05$) no ácido vanílico variando de 0,33 mg/100g (Secagem natural) e 0,37 mg/100g (110 °C).

Os ácidos fenólicos foram encontrados em maior concentração na fração insolúvel dos grãos de soja (Tabelas 5 e 6), pois participam da formação da lignina, presente na parede

celular dos grãos. A conversão dos ácidos fenólicos durante a secagem e armazenamento, ocorre por via oxidativa ou pode ser catalisada por microrganismos. Segundo Waggover (2017) o aumento da oxidação das matérias orgânicas promove o aumento dos fenóis mais oxidados da lignina (ácido sirínico e ácido vanílico) quando comparado aos aldeídos menos oxidados (vanilina e siringaldeído). A predominância dos fungos do gênero *Rhizopus* sp. e *Penicillium* sp. nos grãos de soja secos em elevadas temperaturas (Tabela 4) podem explicar o aumento no conteúdo de compostos fenólicos na fração solúvel após o armazenamento (Tabelas 5 e 6). Segundo McCue e Shetty (2003) as enzimas α - e β -glicosidases produzidas por fungos do gênero *Rhizopus* sp. promovem o aumento no teor de fenólicos livres, através da clivagem dos carboidratos associados a materiais lignocelulósicos. Segundo Colberg (1988) a degradação dos ácidos sirínico e vanílico pode ser realizada por microrganismos, principalmente os anaeróbios, através da clivagem da ligação éter entre as subunidades fenólicas e o subsequente rompimento do anel aromático por bactérias ou fungos

4.3.3. Perfil de isoflavonas em função da secagem e armazenamento

Na Figura 2 está apresentado o teor total de isoflavonas dos grãos de soja submetidos a diferentes temperaturas de secagem e armazenamento.

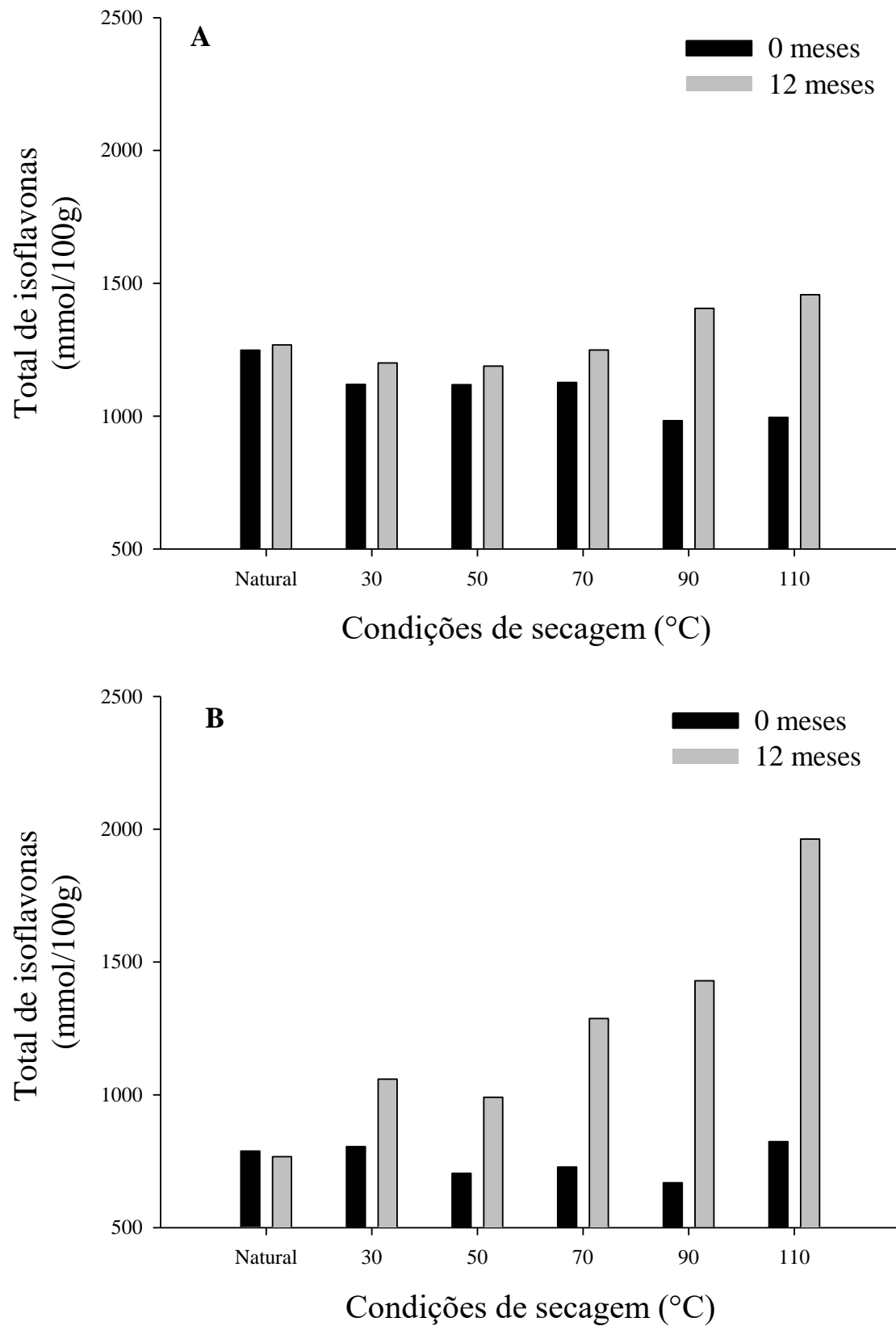


Figura 10. Total de isoflavonas dos grãos de soja submetidos a diferentes temperaturas de secagem e armazenamento. A) BMX Força e B) Nidera 5909.

Não foram identificadas isoflavonas na fração insolúvel dos grãos de soja (dados não apresentados). No início do armazenamento o aumento da temperatura de secagem (110 °C) provocou redução de 22% no teor de isoflavonas totais para a cultivar BMX Força, enquanto que para a cultivar Nidera 5909 houve um aumento de 4% no teor total (Figura 10).

Após o armazenamento foram observados aumentos ($P < 0,05$) de 14,9% (BMX Força) e 155,0% (Nidera 5909) no total de isoflavonas na temperatura de 110 °C quando comparados a secagem natural. Não foram encontrados estudos com secagem e armazenamento de soja avaliando o perfil de isoflavonas. No entanto, foram observados 0% de germinação para ambas as cultivares secas na temperatura de 110 °C (Figura 9). Nestas condições os grãos apresentam atividade metabólica comprometida, supondo que o aumento no total de isoflavonas são oriundos da síntese de metabólitos e enzimas por microrganismos associados, como fungos (Tabela 4)

Nas tabelas 7, 8 e 9 estão apresentados o perfil de isoflavonas dos grãos de soja submetidos a diferentes temperaturas de secagem e armazenamento.

Tabela 7. Isoflavonas malonil glicosídeos em grãos de soja submetidos a diferentes temperaturas de secagem e armazenamento.

Condições de Secagem (°C)	BMX Força			Nidera 5909		
	Genistina	Glicitina	Daidzina	Genistina	Glicitina	Daidzina
<i>Inicial</i>						
Natural	449,6±22,6 ^{Aa*}	23,4±1,1 ^{Aa}	241,8±9,5 ^{Ac}	339,9±29,6 ^{Aa}	37,9±0,4 ^{Aa}	140,5±11,8 ^{Abc}
30	439,0±7,3 ^{Aab}	25,2±1,5 ^{Aa}	272,7±2,6 ^{Aa}	286,6±10,7 ^{Ab}	30,5±0,9 ^{Abc}	155,5±2,8 ^{Aa}
50	421,4±9,5 ^{Abc}	24,6±0,4 ^{Aa}	263,8±4,5 ^{Aab}	245,3±2,3 ^{Ac}	31,2±0,4 ^{Ab}	132,9±1,5 ^{Ac}
70	410,8±2,3 ^{Ac}	25,2±0,9 ^{Aa}	261,3±2,1 ^{Ab}	248,1±1,8 ^{Ac}	29,1±0,9 ^{Ac}	145,9±1,7 ^{Aab}
90	330,8±4,1 ^{Ad}	20,5±0,3 ^{Ab}	214,7±1,8 ^{Ad}	188,4±5,0 ^{Ad}	23,6±1,2 ^{Ad}	105,2±2,5 ^{Ad}
110	325,6±13,5 ^{Ad}	18,1±1,9 ^{Ab}	216,4±4,7 ^{Ad}	66,5±1,2 ^{Ae}	21,2±0,7 ^{Ae}	26,0±1,2 ^{Ae}
<i>12 meses</i>						
Natural	384,8±3,4 ^{Ba}	19,6±0,3 ^{Ba}	206,6±1,6 ^{Ba}	141,5±8,6 ^{Ba}	14,6±1,0 ^{Bb}	44,4±3,2 ^{Ba}
30	228,3±5,0 ^{Bb}	12,2±0,2 ^{Bd}	131,7±0,6 ^{Bb}	92,8±3,7 ^{Bb}	16,8±1,0 ^{Ba}	31,7±2,7 ^{Bb}
50	231,0±7,6 ^{Bb}	12,7±0,2 ^{Bcd}	129,0±7,4 ^{Bb}	90,0±6,1 ^{Bb}	15,0±0,8 ^{Bb}	31,1±2,0 ^{Bb}
70	214,1±20,9 ^{Bb}	13,5±0,6 ^{Bc}	121,9±13,6 ^{Bb}	85,8±3,1 ^{Bb}	12,0±0,2 ^{Bc}	32,2±1,1 ^{Bb}
90	173,3±3,2 ^{Bc}	15,1±0,5 ^{Bb}	102,0±1,6 ^{Bc}	61,0±2,7 ^{Bc}	10,0±0,4 ^{Bd}	25,0±0,9 ^{Bc}
110	165,5±4,1 ^{Bc}	13,0±0,5 ^{Bcd}	95,3±2,8 ^{Bc}	50,5±2,0 ^{Bc}	8,7±0,3 ^{Bd}	17,8±0,5 ^{Bd}

* Médias aritméticas de três repetições ± desvio padrão, seguidos de diferentes letras maiúsculas para o tempo de armazenamento e diferentes letras minúsculas para as temperaturas de secagem diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$)

Tabela 8. Isoflavonas β -glicosídeos em grãos de soja submetidos a diferentes temperaturas de secagem e armazenamento.

Condições de secagem (°C)	BMX Força			Nidera 5909		
	Genistina	Glicitina	Daidzina	Genistina	Glicitina	Daidzina
<i>Inicial</i>						
Natural	151,5±14,4 ^{Ba}	80,5±26,7 ^{Aa}	237,7±5,3 ^{Ba}	85,1±13,2 ^{Ba}	35,4±0,7 ^{Ac}	80,5±2,8 ^{Ba}
30	95,0±0,8 ^{Bc}	37,8±2,9 ^{Bb}	187,9±5,1 ^{Bb}	70,5±1,1 ^{Bb}	91,3±3,6 ^{Bb}	85,6±3,7 ^{Ba}
50	99,1±2,7 ^{Bbc}	48,5±3,4 ^{Ab}	199,3±5,5 ^{Bb}	56,3±2,0 ^{Bc}	88,4±2,8 ^{Bb}	67,8±2,9 ^{Bb}
70	112,3±3,1 ^{Bb}	47,1±6,1 ^{Ab}	196,0±17,4 ^{Bb}	53,0±1,2 ^{Bc}	95,5±0,7 ^{Bb}	61,0±1,7 ^{Bc}
90	94,7±2,2 ^{Bc}	38,0±1,3 ^{Bb}	178,7±6,0 ^{Bb}	48,2±1,8 ^{Bc}	87,1±2,8 ^{Ab}	67,5±1,0 ^{Bb}
110	93,1±6,2 ^{Bc}	45,2±1,7 ^{Ab}	155,6±12,3 ^{Bc}	54,9±1,9 ^{Bc}	65,9±12,3 ^{Aa}	64,1±2,5 ^{Abc}
<i>12 meses</i>						
Natural	195,2±5,9 ^{Aab}	64,0±4,3 ^{Ba}	325,1±6,4 ^{Aa}	120,5±5,9 ^{Aa}	189,2±2,6 ^{Aa}	123,6±3,6 ^{Aa}
30	201,8±4,5 ^{Aa}	51,8±9,9 ^{Aab}	308,1±2,0 ^{Ab}	102,0±1,9 ^{Ab}	150,1±5,5 ^{Ab}	102,8±2,5 ^{Ab}
50	211,4±12,2 ^{Aa}	43,1±0,4 ^{Ab}	301,7±2,6 ^{Ab}	105,4±2,8 ^{Ab}	114,0±2,3 ^{Ac}	86,3±1,0 ^{Ac}
70	191,0±26,1 ^{Aabc}	47,6±2,5 ^{Aab}	307,3±15,2 ^{Ab}	98,3±5,7 ^{Ab}	118,2±3,1 ^{Ac}	87,5±2,6 ^{Ac}
90	166,6±4,4 ^{Ac}	46,9±18,8 ^{Aab}	267,9±3,9 ^{Ac}	84,9±2,2 ^{Ac}	86,0±2,9 ^{Ad}	77,5±1,8 ^{Ad}
110	170,3±3,6 ^{Abc}	35,6±0,2 ^{Bb}	269,9±5,3 ^{Ac}	69,9±0,7 ^{Ad}	38,0±1,6 ^{Be}	66,1±2,2 ^{Ae}

* Médias aritméticas de três repetições \pm desvio padrão, seguidos de diferentes letras maiúsculas para o tempo de armazenamento e diferentes letras minúsculas para as temperaturas de secagem diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$)

Tabela 9. Isoflavonas agliconas em grãos de soja submetidos a diferentes temperaturas de secagem e armazenamento.

Condições de secagem (°C)	BMX Força			Nidera 5909		
	Genisteína	Gliciteína	Daidzeína	Genisteína	Gliciteína	Daidzeína
<i>Inicial</i>						
Natural	1,1±0,2 ^{Bcd}	59,1±2,1 ^{Bd}	3,9±0,4 ^{Bd}	1,3±0,9 ^{Bb}	64,2±1,6 ^{Bd}	3,4±0,4 ^{Bb}
30	0,8±0,3 ^{Bcd}	58,3±1,3 ^{Bd}	2,9±0,2 ^{Bd}	3,3±0,2 ^{Bb}	72,4±2,7 ^{Bc}	9,7±1,3 ^{Bb}
50	0,4±0,2 ^{Bd}	57,6±1,9 ^{Bd}	3,9±0,2 ^{Bd}	3,7±0,3 ^{Bb}	72,8±0,8 ^{Bc}	6,6±0,2 ^{Bb}
70	2,9±0,1 ^{Bc}	64,7±1,4 ^{Bc}	6,6±0,2 ^{Bc}	5,5±0,4 ^{Bb}	79,7±2,9 ^{Bc}	10,7±0,4 ^{Bb}
90	12,1±1,1 ^{Bb}	75,9±2,0 ^{Bb}	17,5±1,0 ^{Bb}	6,2±0,3 ^{Bb}	80,4±6,8 ^{Bb}	9,9±0,8 ^{Bb}
110	15,1±2,1 ^{Ba}	101,0±2,8 ^{Ba}	25,2±2,7 ^{Ba}	181,4±8,0 ^{Ba}	133,1±2,0 ^{Ba}	210,4±7,9 ^{Ba}
<i>12 meses</i>						
Natural	3,6±0,4 ^{Ae}	60,3±2,0 ^{Ae}	8,9±0,8 ^{Ae}	67,0±0,2 ^{Ad}	133,1±3,3 ^{Ae}	84,4±3,3 ^{Af}
30	64,1±1,9 ^{Ad}	106,5±2,6 ^{Ad}	95,9±3,6 ^{Ad}	146,4±3,2 ^{Ac}	219,4±3,6 ^{Ad}	158,3±4,4 ^{Ae}
50	70,0±1,4 ^{Ac}	92,3±1,3 ^{Ad}	97,1±2,3 ^{Ad}	134,7±3,7 ^{Ac}	201,0±3,0 ^{Ad}	177,1±3,4 ^{Ad}
70	93,5±2,2 ^{Ab}	134,2±3,6 ^{Ac}	125,7±1,2 ^{Ac}	180,4±8,7 ^{Ab}	462,5±11,6 ^{Ac}	214,7±2,6 ^{Ac}
90	157,2±1,8 ^{Aa}	259,4±6,2 ^{Ab}	217,5±3,2 ^{Ab}	209,5±3,6 ^{Aa}	638,2±4,4 ^{Ab}	205,3±4,7 ^{Ab}
110	154,3±5,2 ^{Aa}	322,6±19,8 ^{Aa}	230,5±2,6 ^{Aa}	201,8±11,6 ^{Aa}	1234,3±22,5 ^{Aa}	228,0±4,2 ^{Aa}

* Médias aritméticas de três repetições ± desvio padrão, seguidos de diferentes letras maiúsculas para o tempo de armazenamento e diferentes letras minúsculas para as temperaturas de secagem diferirem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Para a cultivar BMX Força foram identificadas 57,2% (malonilglicosídeos), 37,6% (β -glicosídeos) e 5,1% (agliconas), enquanto que na cultivar Nidera 5909 foram observados 65,7% (malonilglicosídeos), 25,5% (β -glicosídeos) e 8,7% (Agliconas) (Tabelas 7, 8 e 9). Estes resultados estão de acordo com Xu e Chang (2008) ao avaliarem o perfil de isoflavonas em 30 genótipos de soja da região norte de Dakota-Minnesota. Eles reportaram maiores concentrações das isoflavonas malonilglicosídeos e β -glicosídeos, respectivamente com 75 e 20%, enquanto que as acetilglicosídeos e agliconas são encontradas em menores concentrações. Cerca de 80-90% das isoflavonas são encontradas no cotilédone da soja, sendo afetadas por fatores genéticos e ambientais, como por exemplo as elevadas temperaturas no período de enchimento de grãos que reduzem o conteúdo de isoflavonas (TSUKAMOTO et al., 1995).

No início do armazenamento foram observadas reduções ($P < 0,05$) de 27,6% (malonilgenistina), 22,6% (malonilglicitina) e 10,5% (malonildaizina) para cultivar BMX Força seca em 110 °C, quando comparado a secagem no campo. No entanto, para cultivar Nidera 5909 foram observadas reduções ($P < 0,05$) de 80,4% (malonilgenistina), 44,1% (malonilglicitina), e 81,5% (malonildaizina) quando a soja foi secada em 110°C, quando comparado a secagem no campo.

Após o armazenamento foram observadas reduções ($P < 0,05$) de 57,0% (malonil- β -genistina) 33,7% (malonilglicitina) e 53,8% (malonildaizina) para cultivar BMX Força secado em 110°C, quando comparado a secagem no campo. Na cultivar Nidera 5909 foram observadas reduções ($P < 0,05$) de 64,3% (malonilgenistina), 37,8% (malonilglicitina) e 59,9% (malonildaizina) na soja secada em 110°C, quando comparado a secagem no campo.

No início do armazenamento foram observadas reduções ($P < 0,05$) de 38,5% (β -genistina), 43,9% (β -glicitina) e 34,5% (β -daizina) para cultivar BMX Força seca a 110°C, quando comparado a secagem no campo. No entanto, foram observadas reduções ($P < 0,05$) de 35,5% (β -genistina) e 20,4% (β -daizina) e aumento ($P < 0,05$) de 86,2% (β -glicitina), para cultivar Nidera 5909 seca a 110°C, quando comparado a secagem no campo. Após o armazenamento foram observadas reduções ($P < 0,05$) de 12,8% (β -genistina), 44,4% (β -glicitina) e 17,0% (β -daizina) para cultivar BMX Força seca a 110°C quando comparado a secagem no campo. Na cultivar Nidera 5909 foram observadas reduções ($P < 0,05$) de 41,8% (β -genistina), 79,9% (β -glicitina) e 46,5% (β -daizina) na soja seca a 110°C, quando comparado a secagem no campo.

No início do armazenamento foram observados aumentos ($P < 0,05$) em todas as isoflavonas agliconas, conforme o aumento na temperatura de secagem (Tabela 9). Na

cultivar BMX Força esses valores variarem de 1,1, 59,1 e 3,9 mmol/100g (Secagem no campo) para 15,1, 101,0 e 25,5 mmol/100g (110 °C), respectivamente para genisteína, gliciteína e daidzeína. Na cultivar Nidera 5909 esses valores variaram de 1,3, 64,2 e 3,4 mmol/100g (Secagem no campo) para 181,4, 133,1 e 210,4 mmol/100g (110 °C), respectivamente para genisteína, gliciteína e daidzeína. Após o armazenamento foram observados aumentos ($P < 0.05$) em todas as isoflavonas agliconas, com os maiores valores verificados na temperatura de 110 °C. Na cultivar BMX Força esses valores variaram de 3,6, 60,3 e 8,9 mmol/100g (Secagem no campo) para 154,3, 322,6 e 230,5 mmol/100g (110 °C), respectivamente para genisteína, gliciteína e daidzeína. Na cultivar Nidera 5909 esses valores variaram de 67,0, 133,1 e 84,4 mmol/100g (Secagem no campo) para 201,8, 1234,3 e 228,0 mmol/100g (110 °C), respectivamente para genisteína, gliciteína e daidzeína.

No início do armazenamento foram identificadas predominantemente a genisteína e suas formas glicosiladas (malonil- e β -glicosídeos) (Tabelas 7, 8 e 9). Estes resultados estão de acordo com Niamnuy et al. (2012), que reportaram que a genisteína e suas formas glicosiladas são as isoflavonas predominantes em grãos de soja. Em ambas as cultivares foram observadas as maiores reduções nas isoflavonas malonilgenistina (valores absolutos), quando submetidos a elevadas temperaturas de secagem. Estes resultados estão de acordo com Lee e Lee (2009) que reportaram que a malonil- β -genistina é degradada mais rapidamente que a malonildaidzina, e conseqüentemente a genistina é formada mais rapidamente que a daidzina durante secagem em estufa. De acordo com Niamnuy et al. (2012) a taxa de conversão e degradação das isoflavonas aumenta conforme a elevação na temperatura de secagem. Eles também reportaram maior taxa de conversão das isoflavonas ocorre da malonil- β -glicosídeos para β -glicosídeos, seguido de malonilglicosídeos para agliconas e malonil- β -glicosídeos para acetilglicosídeos. A inter-conversão das entre isoformas de isoflavonas é acelerada por hidrólise térmica, ácida, alcalina e enzimática, podendo ocorrer conversão das formas malonilglicosídeos para acetilglicosídeos por descarboxilação, das formas malonilglicosídeos e acetilglicosídeos para β -glicosídeos por desesterificação e malonil-, acetil- e β -glicosídeos para agliconas por hidrólise (Niamnuy et al., 2011).

Os danos causados pelo processo de secagem podem ser observados ao longo do armazenamento, e influenciam diretamente no perfil de isoflavonas. Nas maiores temperaturas de secagem (90 e 110 °C) foram identificadas reduções importantes na germinação logo após a secagem (Figura 9), no entanto ao longo do armazenamento as reduções na germinação também foram observadas na maioria dos tratamentos, indicando maior nível de danificação celular, com isso favorecendo a instalação dos fungos (Tabela 4).

Os fungos são os principais agentes deteriorativos de grãos, sendo que na busca por nutrientes eles sintetizam enzimas, α - e β -glicosidases, com isso favorecendo a liberação das isoflavonas agliconas. Estes resultados estão de acordo com Hou & Chang (2002) estudando o armazenamento de grãos de soja em 84% RH / 30°C por 9 meses. Eles reportaram reduções nas isoflavonas malonil, acetil e β -glicosídeos, e aumento nas isoflavonas agliconas em 9 meses de armazenamento. O mesmo comportamento foi observado por Ziegler et al. (2018) avaliando concentrado proteico de soja armazenada em 12 e 15% de umidade em diferentes temperaturas por 12 meses. Eles reportaram aumentos de 151%, 133% e 1721%, respectivamente para daidzeína, genisteína e gliciteína nas condições de 15% de umidade e 32 °C de armazenamento. As enzimas α - e β -glicosidases produzidas por fungos do gênero *Rhizopus* sp. promovem o aumento no teor de fenólicos livres, através da clivagem dos carboidratos associados a materiais lignocelulósicos (MCCUE; SHETTY, 2003). Nas temperaturas mais elevadas, principalmente na temperatura de 110 °C os grãos de soja estão com sua atividade enzimática comprometida, baseada na redução da germinação (Figura 9), com isso apresentam pouca resistência a ação fúngica, o que explica as elevadas conversões de isoflavonas glicosiladas para agliconas. Embora as isoflavonas agliconas sejam mais reativas quando comparadas a suas formas glicosiladas, portando melhor aproveitadas pelo organismo humano, ainda não existem dados precisos quanto a aplicação e purificação de isoflavonas extraídas de grãos com elevada infestação fúngica e a sua aplicação em produtos.

4.4. Conclusões

O aumento na temperatura de secagem promove a redução da germinação e aumento na incidência fungica ao longo do armazenamento, em ambas cultivares de soja. Após o armazenamento ocorreu o aumento no total de ácidos fenólicos solúveis, influenciados pelo aumento nos ácidos *p*-cumárico e *p*-hidroxibenzoico e redução no total de ácidos fenólicos insolúveis influenciados principalmente pela redução do ácido vanílico. Conforme o aumento na temperatura de secagem e armazenamento as formas malonilglicosídeos e β -glicosídeos foram convertidas a suas formas agliconas. Ao final do armazenamento a gliciteína foi a isoflavona predominante em ambas as cultivares. A maior concentração de isoflavonas agliconas em grãos de soja é desejada, pois apresentam maiores efeitos benéficos a saúde quando comparados a suas formas glicosiladas, no entanto ainda são necessários mais estudos

para identificar a melhor forma de processamento para evitar a degradação destas isoflavonas e a contaminação microbiológica.

5. Considerações finais

Os experimentos tiveram por finalidade avaliar as influências da temperatura de secagem, armazenamento e genótipo na qualidade de grãos de soja.

No capítulo 1 foi avaliado o efeito da temperatura de secagem de 30, 50, 70, 90 e 110°C, utilizando a secagem no campo como controle sobre a estrutura celular, proteínas e óleo. A secagem em temperaturas acima de 50 °C não são indicadas do ponto de vista físico dos grãos, promovendo deformação celular, aumento na condutividade elétrica e sólidos lixiviados. A proteína bruta e a distribuição de peso molecular de suas frações foram pouco alteradas, porém em 110°C ambas cultivares apresentaram redução na solubilidade proteica. O perfil de ácidos graxos não foi alterado independentemente da temperatura de secagem, no entanto em temperaturas de 90 e 110°C ocorre o desenvolvimento de produtos secundários de oxidação, sendo mais intenso na temperatura de 90°C, na mesma temperatura onde são mais reduzidos os tocoferóis.

No capítulo 2 foi avaliado o efeito a longo prazo da temperatura de secagem sobre o perfil de compostos fenólicos e isoflavonas. O aumento na temperatura de secagem promoveu redução da germinação e aumento na incidência fungica durante o armazenamento. Após o armazenamento foram observados aumentos no total de ácidos fenólicos na fração solúvel em ambas as cultivares, sendo influenciado pelo aumento no ácido *p*-cumárico e *p*-hidroxibenzoico e redução no total de ácidos fenólicos insolúveis influenciados principalmente pela redução do ácido vanílico. Conforme o aumento na temperatura de secagem e ao longo do armazenamento as isoflavonas malonilglicosídeos e β -glicosídeos foram convertidas a suas formas agliconas. Ao final do armazenamento a gliciteína foi a isoflavona predominante em ambas as cultivares.

6. Referências bibliográficas

- ACHOURI, A.; BOYE, J. I.; ZAMANI, Y. Soybean variety and storage effects on soymilk flavour and quality. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 43, n. 1, p. 82–90, 2008.
- ACOSTA-ESTRADA, B. A.; GUTIÉRREZ-URIBE, J. A.; SERNA-SALDIVAR, S. O. Bound phenolics in foods, a review. **Food Chemistry**, v. 152, p. 46-55, 2014.
- AGRAHAR-MURUGKAR, D.; JHA, K. Effect of drying on nutritional and functional quality and electrophoretic pattern of soyflour from sprouted soybean (*Glycine max*). **Journal of Food Science and Technology**, v. 47, n. 5, p. 482–487, 2010.
- AHERN, T. J.; KLIBANOV, A. M. Analysis of processes causing thermal inactivation of enzymes. **Methods of Biochemical Analysis**, v. 33, p. 91–127, 1988.
- AMORIM-CARRILHO, K. T. et al. Review of methods for analysis of carotenoids. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 56, p. 49–73, 2014.
- ANDRES, S.; ABRAHAM, K.; APPEL, K.E.; LAMPEN, A. Risks and benefits of dietary isoflavones for cancer. **Critical Reviews in Toxicology**, v. 41, p. 463-506, 2011.
- AOCS - American Oil Chemists' Society. **Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists Society**, 5th ed. AOCS Press, Champaign, IL, USA, 2009.
- ASAE - American Society of Agricultural Engineers. Moisture measurement-unground grain and seeds. **In: Standards. St. Joseph: ASAE**, 563, 2000.
- ASOTA, C. N. Mechanical seed quality of soybeans related to drying parameters. **Journal of Food Engineering**, v. 31, p. 387-394, 1997.
- BARBOSA, A. C. L. et al. Teores de isoflavonas e capacidade antioxidante da soja e produtos derivados. **Ciência e Tecnologia de alimentos**, v. 26, n. 4, p. 921-1026, 2006.
- BARROZO, M. A. S.; HENRIQUE, H. M.; SARTORI, D. J. M.; FREIRE, J. T. The use of the orthogonal collocation method on the study of the drying kinetics of soybean seeds. **Journal of Stored Products Research**, v. 42, p. 348–356, 2006.

BECK-GARCÍA, E.; BECK-GARCÍA, K.; SCHLOSSER, A.; SCHAMEL, W. W. Analysis of interactions between proteins and fatty acids or cholesterol using a fatty acid / cholesterol pull-down assay. **Analytical Biochemistry**, v. 436, p. 75–77, 2013.

BOLANHO, B.C. **Compostos bioativos e potencial antioxidante em derivados de soja**. 2010. 86 f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2010.

BOUCHENAK, M.; LAMRI-SENHADJI, M. Nutritional quality of legumes, and their role in cardiometabolic risk prevention: a review. **Journal of Medicinal Food**, v. 16, n. 3, p. 185-198, 2013.

BRASIL. Regras para análise de sementes. **Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento**. Secretaria de Defesa Agropecuária, Brasília: SNDA/DNDV/CLAV, 399, 2009.

BUGGENHOUT, J.; BRIJS, K.; DELCOUR, J. A. Impact of processing conditions on the extractability and molecular weight distribution of proteins in parboiled brown rice. **Journal of Cereal Science**, v. 58, p. 8–14, 2013.

CAI, T.; CHANG, K. C. Processing effect on soybean storage proteins and their relationship with tofu quality. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 47, n. 2, p. 720–7, 1999.

CARVALHO, E.; FRASER, P. D.; MARTENS, S. Carotenoids and tocopherols in yellow and red raspberries. **Food chemistry**, v. 139, n. 1-4, p. 744–752, 2013.

CHEN, M. H.; BERGMAN, C. J. A rapid procedure for analyzing rice bran tocopherol, tocotrienol, and γ -orizanol contents. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 18, n. 4, p. 139–151, 2005.

CHEYNIER, V. Phenolic compounds: from plants to foods. **Phytochemistry Reviews**, v. 11, n. 2, p. 153-177, 2012.

CHIDANANDA, K. P.; CHELLADURAI, V.; JAYAS, D. S.; ALAGUSUNDARAM, K.; WHITE, N. D. G.; FIELDS, P. G. Respiration of pulses stored under different storage conditions. **Journal of Stored Products Research**, v. 59, p. 42–47, 2014.

CHO, K. M. et al. Soluble phenolics and antioxidant properties of soybean (*Glycine max* L.) cultivars with varying seed coat colours. **Journal of Functional Foods**, v. 5, n. 3, p. 1065–1076, 2013.

CLEMENTE, T. E.; CAHOON, E. B. Soybean oil: genetic approaches for modification of functionality and total content. **Plant Physiology**, v. 151, p. 1030-1040, 2009.

CONAB, 2016. **Evolução da Capacidade Estática dos Armazéns**. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/conteudos.php?a=1077&t=2>. Acesso em: 17 nov 2016.

COLBERG, P. Anaerobic microbial degradation of cellulose, lignin, oligolignols, and monoaromatic lignin derivatives. **In Biology of anaerobic microorganisms**. Ed. A. J. Zehnder: Wiley, pp.333- 372, 1988.

CORREA, C. R. et al. Composition and stability of phytochemicals in five varieties of black soybeans (*Glycine max*). **Food Chemistry**, v. 123, p. 1176–1184, 2010.

CRUZ, D. B. D. A. et al. Structural and technological characteristics of starch isolated from sorghum as a function of drying temperature and storage time. **Carbohydrate Polymers**, v. 133, p. 46–51, 2015.

CUCU, T.; DEVREESE, B.; KERKAERT, B.; MESTDAGH, F.; SUCIC, M.; PERRE, I. VAN De; MEULENAER, B. De. A comparative study of lipid and hypochlorous acid induced oxidation of soybean proteins. **LWT - Food Science and Technology**, v. 50, p. 451–458, 2013.

DA SILVA, F. R. G. B. et al. Experimental and numerical analysis of soybean meal drying in fluidized bed. **Powder Technology**, v. 229, p. 61–70, 2012.

DARVISHI, H.; KHOSHTAGHAZA, M. H.; MINAEI, S. Effects of fluidized bed drying on the quality of soybean kernels. **Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences**, v. 14, p. 134–139, 2015.

DEGÁSPARI, C. H.; WASZCZYNSKYJ, N. Propriedades antioxidantes de compostos fenólicos. **Visão Acadêmica**, v. 5, p. 33–40, 2004.

DEWICK, P. M. Medicinal natural products: A biosynthetic approach. **3ª Ed. John Wiley & Sons**, 2009.

DONDEE, S.; MEESO, N.; SOPONRONNARIT, S.; SIRIAMORNPNUN, S. Reducing cracking and breakage of soybean grains under combined near-infrared radiation and fluidized-bed drying. **Journal of Food Engineering**, v. 104, n. 1, p. 6–13, 2011.

DUEÑAS, M.; HERNÁNDEZ, T.; LAMPARSKI, G.; ESTRELLA, I.; MUÑOZ, R. Bioactive phenolic compounds of soybean (*Glycine max* cv. Merrill): modifications by different microbiological fermentations. **Polish Journal of Food and Nutrition Sciences**, v. 62, p. 241–250, 2012.

DWIYANTI, M.S.; YAMADA, T.; SATO, M.; ABE, J.; KITAMURA, K. Genetic variation of γ -tocopherol methyltransferase gene contributes to elevated α -tocopherol content in soybean seeds. **BMC Plant Biology**, v. 11, n. 152, p. 1-17, 2011.

DYKES, L.; ROONEY, L.W. Phenolic compounds in cereal grains and their health benefits. **Cereals Foods World**, v. 52, n.3, p. 105-111, 2007.

EKECHUKWU, O. V. Review of solar-energy drying systems I: an overview of drying principles and theory. **Energy Conversion and Management**, v. 40, n. 6, p. 593–613, abr. 1999.

ELISIA, I.; YOUNG, J. W.; YUAN, Y. V.; KITTS, D. D. Association between tocopherol isoform composition and lipid oxidation in selected multiple edible oils. **Food Research International**, v. 52, n. 2, p. 508–514, 2013.

EMBRAPA. Agência Embrapa de informação tecnológica. Disponível em: <<http://www.agencia.cnptia.embrapa.br>> Acesso em: 16 dez 2017.

EMBRAPA. Cultivo de soja. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/soja/cultivos/soja1/historia>> Acesso em: 16 dez 2017.

FAO - Food and agricultural commodities production. **Country rank in the world, by commodity**, 2016. Disponível em: <<http://faostat3.fao.org/browse/Q/QC/E>. Acesso em: 27 jun 2016.

FISK, I. D.; GRAY, D. A. Soybean (*Glycine max*) oil bodies and their associated phytochemicals. **Journal of Food Science**, v. 76, n. 9, p. C1349-C1354, 2011.

FLEURAT-LESSARD, F. Integrated management of the risks of stored grain spoilage by seedborne fungi and contamination by storage mould mycotoxins - An update. **Journal of Stored Products Research**, v. 71, p. 22–40, 2017.

FRANKEL, E. N.; NASH, A. M.; SNYDER, J. M. A methodology study to evaluate quality of soybeans stored at different moisture levels. **Journal of the American Oil Chemist's Society**, v. 64, n. 7, p. 987–992, 1987.

FREITAS, R. S.; FARONI, L. R. A.; SOUSA, A. H. Hermetic storage for control of common bean weevil, *Acanthoscelides obtectus* (Say). **Journal of Stored Products Research**, v. 66, p. 1–5, 2016.

GARCÍA, M. C.; TORRE, M.; MARINA, M. L.; LABORDA, F.; RODRIGUEZ, A. R. Composition and characterization of soyabean and related products. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 37, n. 4, p. 361–391, 1997.

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, n. 3, p. 205–211, 2005.

GRANITO, M.; PAOLINI, M.; PÉREZ, S. Polyphenols and antioxidant capacity of *Phaseolus vulgaris* stored under extreme conditions and processed. **LWT - Food Science and Technology**, v. 41, p. 994–999, 2008.

HARTMAN, L.; LAGO, R. C. A. Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids. **Laboratory Practice**, v. 22, p. 475–476, 1973.

HARTMANN-FILHO, C. P.; GONELI, A. L. D.; MASETTO, T. E.; MARTINS, E. A. S.; OBA, G. C. The effect of drying temperatures and storage of seeds on the growth of soybean seedlings. **Journal of Seed Science**, v. 38, n. 4, p. 287–295, 2016.

HENTGES, D. L.; WEAVER, C. M.; NIELSEN, S. S. Changes of selected physical and chemical components the development of the Hard-to-Cook bean defect. **Journal of Food Science**, v. 56, n. 2, p. 436–442, 1991.

HOECK, J.A.; FEHR, W.R.; MURPHY, P.A.; WELKE, G.A. Influence of genotype and environment on isoflavone contents of soybean. **Crop science**, v. 40, p. 48-51, 2000.

HOU, H. J.; CHANG, K. C. Interconversions of isoflavones in soybeans as affected by storage. **Journal of Food Science**, v. 67, n. 6, p. 2083-2089, 2002.

HUANG, X.; CAI, W.; XU, B. Kinetic changes of nutrients and antioxidant capacities of germinated soybean (*Glycine max* l.) and mung bean (*Vigna radiata* l.) with germination time. **Food Chemistry**, v. 143, p. 268–276, 2014.

- HUNTER, S. C.; CAHOON, E. B. Enhancing vitamin E oil seeds: unraveling tocopherol and tocotrienol biosynthesis. **Lipids**, v. 42, p. 97-108, 2007.
- JENG, T. L.; SHIH, Y. J.; WU, M. T.; SUNG, J. M. Comparisons of flavonoids and anti-oxidative activities in seed coat, embryonic axis and cotyledon of black soybeans. **Food Chemistry**, v. 123, p. 1112–1116, 2010.
- JIA, M.; KIM, H. J.; MIN, D. B. Effects of soybean oil and oxidized soybean oil on the stability of β -carotene. **Food Chemistry**, v. 103, n. 3, p. 695–700, 2007.
- JOHN, K. M. M.; JUNG, E. S.; LEE, S.; KIM, J. S.; LEE, C. H. Primary and secondary metabolites variation of soybean contaminated with *Aspergillus sojae*. **Food Research International**. v. 54, p. 487–494, 2013.
- KAMAL-ELDIN, A.; APPELQVIST, L. The chemistry and antioxidant properties of tocopherols and tocotrienols. **Lipids**, v. 31, p. 671-701, 1996.
- KATAOKA, S. Functional effects of Japanese style fermented soy sauce (*shoyu*) and its components. **Journal of bioscience and bioengineering**, v. 100, n. 3, p. 227–234, 2005.
- KIM, M.; LEE, J.; HAN, J. Deglycosylation of isoflavone C-glycosides by newly isolated human intestinal bacteria. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 95, n. 9, p. 1925-1931, 2015.
- KOBAYASHI, M. Immunological functions of soy sauce: hypoallergenicity and antiallergic activity of soy sauce. **Journal of bioscience and bioengineering**, v. 100, n. 2, p. 144–151, 2005.
- KRINSKY, N. I.; JOHNSON, E. J. Carotenoid actions and their relation to health and disease. **Molecular aspects of medicine**, v. 26, n. 6, p. 459–516, 2005.
- KUMAR, V.; RANI, A.; SOLANKI, S.; HUSSAIN, S. M. Influence of growing environment on the biochemical composition and physical characteristics of soybean seed. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 19, p. 188–195, 2006.
- LEE, J. H. et al. Changes in phenolic compounds (isoflavones and phenolic acids) and antioxidant properties in high-protein soybean (*Glycine max* L., cv. Saedanbaek) for different

roasting conditions. **Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry**, v. 56, p. 605–612, 2013.

LEE, S.; LEE, J. Effects of oven-drying, roasting, and explosive puffing process on isoflavone distributions in soybeans. **Food Chemistry**, v. 112, n. 2, p. 316–320, 2009.

LIU, C.; WANG, X.; MA, H.; ZHANG, Z.; GAO, W.; XIAO, L. Functional properties of protein isolates from soybeans stored under various conditions. **Food Chemistry**, v. 111, p. 29–37, 2008.

LIU, K.; MCWATTERS, K. H.; PHILLIPS, R. D. Protein Insolubilization and Thermal destabilization during storage as related to Hard-To-Cook defect in cowpeast. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 40, p. 2403–2407, 1992.

MALUMBA, P.; JANAS, S.; MASIMANGO, T.; SINDIC, M.; DEROANNE, C.; BÉRA, F. Influence of drying temperature on the wet-milling performance and the proteins solubility indexes of corn kernels. **Journal of Food Engineering**, v. 95, p. 393–399, 2009.

MANDARINO, J. M. G.; ROESSING, A. C. Tecnologia para produção do óleo de soja: descrição das etapas, equipamentos, produtos e subprodutos. **Londrina: Embrapa Soja**, 2001.

MCCUE, P.; SHETTY, K. Role of carbohydrate-cleaving enzymes in phenolic antioxidant mobilization from whole soybean fermented with *Rhizopus oligosporus*. **Food Biotechnology**, v. 17, n. 1, p. 27–37, 2007.

NAGARAJA, O.; KRISHNAPPA, M. Seed borne mycoflora of niger (*Guizotia abyssinica* Cass.) and its effect on germination. **Indian Phytopathology**, v. 62, n. 4, p. 513-517, 2009.

NASAR-ABBAS, S. M.; PLUMMER, J. A.; SIDDIQUE, K. H. M.; WHITE, P.; HARRIS, D.; DODS, K. Cooking quality of faba bean after storage at high temperature and the role of lignins and other phenolics in bean hardening. **LWT - Food Science and Technology**, v. 41, p. 1260–1267, 2008.

NIAMNUY, C. et al. Evaluation of bioactive compounds and bioactivities of soybean dried by different methods and conditions. **Food chemistry**, v. 129, p. 899–906, 2011.

NIAMNUY, C. et al. Kinetic modelling of drying and conversion/degradation of isoflavones during infrared drying of soybean. **Food Chemistry**, v. 133, n. 3, p. 946–952, 2012.

NIAMNUY, C.; NACHAISIN, M.; LAOHAVANICH, J.; DEVAHASTIN, S. Evaluation of bioactive compounds and bioactivities of soybean dried by different methods and conditions. **Food Chemistry**, v. 129, p. 899–906, 2011.

OLIVEIRA, L.; HAGHIGHI, K. Conjugative heat and mass transfer in convective drying of multiparticle systems. Part II: soybean drying. **Drying Technology**, v. 16, n. 3, p. 463–483, 1998.

OZDAL, T.; CAPANOGLU, E.; ALTAY, F. A review on protein–phenolic interactions and associated changes. **Food Research International**, v. 51, p. 954–970, 2013.

PFEIFER, A. A.; MURATA, V. V.; BARROZO, M. A. S. Modelling of soybean seed drying in concurrent sliding bed dryers: Effect of the number of stages on the seed quality and drying performance. **Biosystems Engineering**, v. 107, p. 341–348, 2010.

RANI, P. R.; CHELLADURAI, V.; JAYAS, D. S.; WHITE, N. D. G.; KAVITHA-ABIRAMI, C. V. Storage studies on pinto beans under different moisture contents and temperature regimes. **Journal of Stored Products Research**, v. 52, p. 78–85, 2013.

RIZVI, S.; RAZA, S.T.; AHMED, F.; AHMAD, A.; ABBAS, S.; MAHDI, F. The role of vitamin E in human health and some diseases. **Sultan Qaboos University Medical Journal**, v. 14, n.2, p. e157–e165, 2014.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Quantitative analysis, in vitro assessment of bioavailability and antioxidant activity of food carotenoids—A review. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 23, n. 7, p. 726–740, 2010.

ROSSI, M.; ALAMPRESE, C.; RATTI, S. Tocopherols and tocotrienols as free radical-scavengers in refined vegetable oils and their stability during deep-fat frying. **Food Chemistry**, v. 102, n. 3, p. 812–817, 2007.

SANGKRAM, U.; NOOMHORM, A. The effect of drying and storage of soybean on the quality of bean, oil, and lecithin production. **Drying Technology**, v. 20, n. 10, p. 2041–2054, 2002.

SAXENA, N.; RANI, S. K. S.; DEEPIKA, M. Biodeterioration of soybean (*Glycine max* L.) seeds during storage by fungi. **International Journal of Current Microbiology and Applied Science**, v. 4, n. 6, p. 1118–1126, 2015.

SEBADELHE, C. S.; ROSA, A. C.; OLIVEIRA, M. F. Produção de biodiesel a partir de matéria-prima do sector oleícola **Resumo. XIII Congresso Ibérico E VIII Congresso Ibero-Americano de Energia Solar**, p. 1–8, 2006.

SETCHELL, K.D. Soy isoflavones—benefits and risks from nature’s selective estrogen receptor modulators (SERMs). **Journal of the American College Nutrition**, v. 20, p. 345S-362S, 2001.

SILVA, C.E.; CARRÃO-PANIZZI, M.C.; MANDARINO, J.M.G.; LEITE, R.S.; MÔNACO, A.P.A. Teores de isoflavonas em grãos inteiros e nos componentes dos grãos de diferentes cultivares de soja (*Glycine max* (L.) Merrill). **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 15, n.2, p.150-156, 2012.

SILVA, L.; PINTO, J.; CARROLA, J.; PAIVA-MARTINS, F. Oxidative stability of olive oil after food processing and comparison with other vegetable oils. **Food Chemistry**, v. 121, p. 1177–1187, 2010.

SLAVIN, M.; CHENG, Z; LUTHER, M.; KENWORTHY, W.; YU, L.L. Antioxidant properties and phenolic, isoflavone, tocopherol and carotenoid composition of Maryland-grown soybean lines with altered fatty acid profiles. **Food chemistry**, v. 114, p. 20–27, 2009.

SOPONRONNARIT, S.; SWASDISEVI, T.; WETCHACAMA, S. Fluidised bed drying of soybeans. **Journal of Stored Products Research**, v. 37, p. 133–151, 2001.

SOROUR, H.; UCHINO, T. The effect of storage condition on the respiration of soybean. **Journal of the Japanese Society of Agricultural Machinery**, v. 66, n. 1, p. 66–74, 2004.

STEWART, O. J.; RAGHAVAN, G. S. V.; ORSAT, V.; GOLDEN, K. D. The effect of drying on unsaturated fatty acids and trypsin inhibitor activity in soybean. **Process Biochemistry**, v. 39, p. 483–489, 2003.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 5ª Ed. Porto Alegre: Artmed, 2013.
TORREZ IRIGOYEN, R. M.; GINER, S. A. Drying-toasting kinetics of presoaked soybean in fluidised bed. Experimental study and mathematical modelling with analytical solutions. **Journal of Food Engineering**, v. 128, p. 31–39, 2014.

TOSI, E. A. et al. Soybean drying in fluidized bed. Effect on the hydratable and nonhydratable phosphatide concentration in crude and degummed crude oil. **Journal of the American Oil Chemists’ Society**, v. 76, n. 12, p. 1467–1470, 1999.

TREUTTER, D. Significance of flavonoids in plant resistance: review. **Environmental Chemistry Letters**, v. 4, p. 147-157, 2006.

TSUKAMOTO, C.; SHIMADA, S.; IGITA, K.; KUDOU, S.; KOKUBUN, M.; OKUBO, K.; KITAMURA, K. Factors affecting isoflavone content in soybean seeds: Changes in isoflavones, saponins, and composition of fatty acids at different temperatures during seed development. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 43, n. 5, p. 1184–1192, 1995.

TULIPANI, S. et al. Antioxidants, phenolic compounds, and nutritional quality of different strawberry genotypes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, n. 3, p. 696–704, 2008.

VIEIRA, R. D.; PAIVA, J. A.; PERECIN, A.; PERECIN, D. Electrical conductivity and field performance of soybean seeds. **Seed technology**, v. 21, n. 1, p. 15–24, 1999.

WANG, Q. et al. Soy isoflavone: The multipurpose phytochemical (Review). **Biomedical Reports**, v. 1, p. 697–701, 2013.

WANG, Y. K. et al. Antioxidant property and their free, soluble conjugate and insoluble-bound phenolic contents in selected beans. **Journal of Functional Foods**, v. 24, p. 359–372, 2016.

WONG, D. W. S. Feruloyl esterase: A key enzyme in biomass degradation. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 133, n. 2, p. 87-112, 2006.

WONG, M. C. Y.; EMERY, P. W.; PREEDY, V. R.; WISEMAN, H. Health benefits of isoflavones in functional foods? Proteomic and metabonomic advances. **Inflammopharmacology**, v. 16, n. 5, p. 235–239, 2008.

XU, B.; CHANG, S. K. C. Characterization of phenolic substances and antioxidant properties of food soybeans grown in the North Dakota-Minnesota region. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, n. 19, p. 9102–9113, 2008

XU, B.; CHANG, S. K. C. Comparative study on phenolic profiles and antioxidant activities of legumes as affected by extraction solvents. **Journal of Food Science**, v. 72, n. 2, p.159-166, 2007.

YAHIA, E. M. The contribution of fruit and vegetable consumption to human health. **In: Phytochemicals: Chemistry, nutritional and stability**. Wiley-Blackwell, 2009.

YANG, T. S.; CHU, Y. H.; LIU, T. T. Effects of storage conditions on oxidative stability of soybean oil. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 85, n. 9, p. 1587–1595, 2005.

YEOM, S. J.; KIM, B. N.; KIM, Y. S.; OH, D. K. Hydrolysis of isoflavone glycosides by a thermostable β -glucosidase from *Pyrococcus furiosus*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, p. 1535–1541, 2012.

YOUSIF, A. M. Soybean grain storage adversely affects grain testa color, texture and cooking quality. **Journal of Food Quality**, v. 37, p. 18–28, 2014.

ZANNATA, T. S.; MANICA-BERTO, R.; FERREIRA, C. D.; CARDOZO, M. C.; ROMBALDI, C. V.; ZAMBIAZI, R. C.; DIAS, A. R. G. Phosphate fertilizer and growing environment changes the phytochemicals, oil quality, and nutritional composition of Roundup Ready GM and conventional soybean. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 65, n. 13, p. 2661–2669, 2017.

ZHANG, X.; GAO, B.; SHI, H.; SLAVIN, M.; HUANG, H.; WHENT, M.; YU, L. Chemical composition of 13 commercial soybean samples and their antioxidant and anti-inflammatory properties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, p. 10027–10034, 2012.

ZIEGLER, T.; RICHTER, I. G. Analysing deep-bed drying based on enthalpy–water content diagrams for air and grain. **Computers and Electronics in Agriculture**, v. 26, n. 2, p. 105–122, 2000.

ZIEGLER, V.; FERREIRA, C. D.; HOFFMANN, J. F.; OLIVEIRA, M.; ELIAS, M. C. Effects of moisture and temperature during grain storage on the functional properties and isoflavone profile of soy protein concentrate. **Food Chemistry**, v. 242, p. 37–44, 2018.

ZIEGLER, V.; VANIER, N. L.; FERREIRA, C. D.; PARAGINSKI, R. T.; MONKS, J. L. F.; ELIAS, M. C. Changes in the bioactive compounds content of soybean as a function of grain moisture content and temperature during long-term storage. **Journal of Food Science**, v. 81, n. 3, p. 762–768, 2016.

ZIEGLER, V.; MARINI, L. J.; FERREIRA, C. D.; BERTINETTI, I. A.; SILVA, W. S. V.; GOEBEL, J. T.; OLIVEIRA, M.; ELIAS, M. C. Effects of temperature and moisture during semi-hermetic storage on the quality evaluation parameters of soybean grain and oil. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 37, n. 1, p. 131, 2016a.

ŽILIĆ, S. et al. Comparisons of phenolic compounds, isoflavones, antioxidant capacity and oxidative enzymes in yellow and black soybeans seed coat and dehulled bean. **European Food Research and Technology**, v. 237, n. 3, p. 409–418, 2013.

ZILIC, S.; MOGOL, B. A.; AKILLIOGLU, G.; SERPEN, A.; DELIC, N.; GÖKMEN, V. Effects of extrusion, infrared and microwave processing on Maillard reaction products and phenolic compounds in soybean. **Journal of Science of Food and Agriculture**, v. 94, p. 45–51, 2014.

WAGGONER, D. C.; WOZNIAK, A. S.; CORY, R. M.; HATCHER, P. G. The role of reactive oxygen species in the degradation of lignin derived dissolved organic matter. **Geochimica et Cosmochimica**, v. 208, p. 171-18, 2017.