

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DA PROTEÍNA DO FARELO DE SOJA

Raquel Ströher

Eng. Químico, UEM, 2007

Orientador: Prof. Dr. Nehemias Curvelo Pereira

Coorientadora: Prof^a Dr^a Gisella Maria Zanin

Dissertação de Mestrado submetida à
Universidade Estadual de Maringá,
como parte dos requisitos necessários
à obtenção do Grau de Mestre em
Engenharia Química, área de
Desenvolvimento de Processos.

Maringá – PR – Brasil

Fevereiro de 2010.

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
(Biblioteca Central - UEM, Maringá – PR., Brasil)

S921h Ströher, Raquel
Hidrólise enzimática da proteína do farelo de soja
/ Raquel Ströher. -- Maringá, 2010.
xv, 59 f. : figs., tabs.

Orientador : Prof. Dr. Nehemias Curvelo Pereira.
Coorientadora : Prof^a Dr^a Gisella Maria Zanin.
Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de
Maringá, Programa de Pós-Graduação em Engenharia
Química, 2010.

1. Farelo de soja - Solubilizar proteína. 2.
Hidrólise enzimática de proteínas - Farelo de soja. 3.
Néctar de frutas - Farelo de soja. I. Pereira,
Nehemias Curvelo, orient. II. Zanin, Gisella Maria,
coorient. III. Universidade Estadual de Maringá.
Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química. IV.
Título.

CDD 21.ed. 660.284425

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

Esta é a versão final da Dissertação de Mestrado apresentada por Raquel Ströher perante a Comissão Julgadora do Curso de Mestrado em Engenharia Química em 24 de fevereiro de 2010.

COMISSÃO JULGADORA



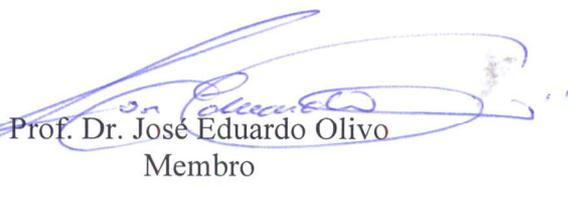
Prof. Dr. Nehemias Curvelo Pereira
Orientador



Prof.ª Dr.ª Gisella Maria Zanin
Coorientadora



Prof.ª Dr.ª Giani Andrea Linde Colauto
Membro



Prof. Dr. José Eduardo Olivo
Membro

*“Nos campos da observação, o acaso favorece
apenas as mentes preparadas”.*

Louis Pasteur

AGRADECIMENTOS

Agradeço, sobretudo, a Deus pela oportunidade de vencer mais uma etapa em minha vida...

Aos professores Nehemias Curvelo Pereira e Gisella Maria Zanin pela orientação ao longo de todo trabalho...

À minha família, Angela, Edmar, Ana Paula e Amanda, sempre me incentivando e me apoiando...

Aos alunos de iniciação científica, Raíssa Aparecida e Ivan, pela colaboração ao longo do trabalho...

A todos os funcionários do Departamento de Engenharia Química da UEM, que, de alguma forma colaboraram para que eu pudesse realizar o meu trabalho...

À Cooperativa Agroindustrial COCAMAR pelo fornecimento do farelo de soja...

À empresa Tovani Benzaquen pela doação da enzima...

À CAPES pelo suporte financeiro...

OBRIGADA!

HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DA PROTEÍNA DO FARELO DE SOJA

AUTOR: RAQUEL STRÖHER

ORIENTADOR: PROF. DR. NEHEMIAS CURVELO PEREIRA

COORIENTADORA: PROF^a. DR^a. GISELLA MARIA ZANIN

Dissertação de Mestrado; Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química; Universidade Estadual de Maringá; Av. Colombo, 5790, BL. E46 - 09; CEP: 87020-900, Maringá - PR, Brasil, defendida em 24 de fevereiro de 2010. 74 p.

RESUMO

Grande interesse é demonstrado pelo farelo de soja, por sua disponibilidade como subproduto da indústria de extração de óleo. Possui uma variedade de aplicações, como o enriquecimento de alimentos e a obtenção de concentrados e isolados de proteína, embora a maior parte do farelo de soja ainda seja destinada às rações animais. Muitos processos têm sido desenvolvidos com o objetivo de obter produtos mais refinados, destinados diretamente ao consumo humano ou à produção de ingredientes protéicos (aditivos alimentares). Neste estudo foi realizada a solubilização da proteína de farelo de soja via hidrólise enzimática para, posteriormente, estudar a viabilidade de incorporar o hidrolisado em néctares de frutas. A solubilização enzimática foi realizada em pH da suspensão próximo de 6,5 sob temperatura de 60°C e agitação de 100 rpm em incubadora. A enzima *Alcalase* foi adicionada a uma concentração de 1% proteína/proteína. Após 3 horas de reação, a atividade catalítica foi finalizada por imersão em banho de gelo. A quantidade total de proteína solubilizada pela enzima foi 28,16 mg/mL, ou seja, considerando que o farelo de soja possui 47% de proteína, a enzima *Alcalase* solubilizou 60% da proteína inicialmente presente. O grau de hidrólise (GH) obtido foi de 28%. Um alto valor já era esperado, uma vez que se a enzima foi capaz de solubilizar a proteína, formando peptídeos menores e mais solúveis, então a quantidade de ligações peptídicas quebradas foi grande, resultando em um alto valor de GH. Em relação à análise microbiológica da reação controle e do hidrolisado protéico, os parâmetros analisados das amostras estavam abaixo dos níveis microbiológicos estipulados pelas legislações vigentes para estes tipos de produtos. Quanto à análise

sensorial, observou-se que para todos os sabores, o produto com 25% teve maior aceitação do que os produtos com 50 e 80% de solubilizado em néctar. E ainda que os produtos com 50% de solubilizado em néctar obtiveram maior aceitação do que os produtos com a concentração de 80%. Ainda observou-se que, para uma mesma concentração de hidrolisado, não houve diferença significativa de aceitação entre os sabores. Um fato observado mesmos nos produtos com baixa concentração de proteína solubilizada foi o forte sabor amargo, resultante da liberação de grupos hidrofóbicos. Fica evidente a necessidade de algum procedimento que remova ou mascare o sabor amargo de hidrolisados protéicos como, por exemplo, tratamento com carvão ativado, o emprego de ciclodextrinas e o uso da cromatografia líquida.

ENZYMATIC HYDROLYSIS OF PROTEIN OF SOY BRAN**AUTHOR: RAQUEL STRÖHER****SUPERVISORS: PROF. DR. NEHEMIAS CURVELO PEREIRA****PROF^a. DR^a. GISELLA MARIA ZANIN**

Master Thesis; Chemical Engineering Graduate Program; State University of Maringá; Av. Colombo, 5790, BL. E46 - 09; CEP: 87020-900 - Maringá - PR, Brazil, presented on 24th February 2010. 74 p.

ABSTRACT

Great interest is shown by soy bran, by its availability as a by-product of oil extraction industry. It has a variety of applications, such as the enrichment of foodstuffs and protein isolates and concentrates, although most soy bran is still intended to feed. Many processes have been developed with the goal of getting more refined products intended for human consumption or directly to the production of ingredients with proteins (additives). This study was performed at the solubilising of soy bran protein by enzymatic hydrolysis to later, to study the feasibility of incorporating the hydrolyzate in fruit nectar. The enzyme was held in solubilising pH of 6,5, near suspension under temperature of 60 °C and agitation 100 rpm in hatchery. The enzyme *Alcalase* was added to a concentration of 1% protein/protein. After 3 hours of catalytic activity, the reaction was completed by ice bath immersion. The total amount of protein solubilized by the enzyme was 28,16 mg/mL, ie, considering that soybean meal has 47% protein, the enzyme *Alcalase* solubilized 60% of the protein initially present. The degree of hydrolysis (DH) obtained was 28%. A high value was expected, since the enzyme was able to solubilize the protein to form peptides smaller, more soluble, then the amount of peptides bonds broken was large, resulting in a high value of DH. In relation to the control of microbiological analysis and own protein hydrolyzates, analyzed samples parameters were within the range prescribed by existing laws for these types of product. The sensory analysis showed that for all the flavors, the product with 25% had greater acceptance of the products with 50 and 80% dissolved in nectar. And even products with 50% soluble in nectar obtained greater acceptance of the products with 80%

concentration. Yet we saw that, for the same concentration of hydrolyzate, there was no significant difference between the acceptance flavors. A fact observed the same in products with low hydrolyzate protein concentration was the strong taste bitter, resulting from the release of hydrophobic groups. It is evident the need for some procedure that remove or masks the bitter taste of hydrolyzed proteins, for example, treatment with activated charcoal, employment of cyclodextrins and use of liquid chromatography.

ÍNDICE GERAL

RESUMO	vi
ABSTRACT	viii
ÍNDICE DE FIGURAS	xii
ÍNDICE DE TABELAS	xiii
NOMENCLATURA	xiv
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DA LITERATURA	4
2.1 SOJA	4
2.1.1 História da soja	4
2.1.2 A soja e a economia	5
2.1.3 Composição da soja	6
<i>2.1.3.1 Lipídeos</i>	8
<i>2.1.3.2 Carboidratos</i>	8
<i>2.1.3.3 Minerais</i>	8
<i>2.1.3.4 Vitaminas</i>	9
<i>2.1.3.5 Fatores antinutricionais</i>	9
<i>2.1.3.6 Proteínas</i>	9
2.1.4 Processamento da soja	11
<i>2.1.4.1 Óleo de soja</i>	12
<i>2.1.4.2 Farelo e farinha de soja</i>	12
<i>2.1.4.3 Extrusão</i>	13
<i>2.1.4.4 Concentrado de proteína de soja</i>	13
<i>2.1.4.5 Isolados de proteína de soja</i>	14
<i>2.1.4.6 Extrato solúvel de soja</i>	14
2.2.5 Usos da soja	15
2.2 FARELO DE SOJA	16
2.3 ENZIMAS	18
2.4 HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DE PROTEÍNAS	21
2.5 NÉCTARES DE FRUTAS	24
2.6 ANÁLISE SENSORIAL	25
3. MATERIAIS E MÉTODOS	27
3.1 MATERIAIS	27

3.1.1 Farelo de soja	27
3.1.2 Enzima	27
3.1.3 Néctares de frutas	28
3.2 MÉTODOS.....	28
3.2.1 Secagem	28
3.2.2 Análise granulométrica do farelo de soja	29
3.2.3 Solubilização enzimática	30
3.2.4 Determinação do teor de proteína.....	31
3.2.5 Determinação do grau de hidrólise da reação.....	31
3.2.6 Análise microbiológica	32
3.2.7 Análise sensorial	34
3.2.8 Análise estatística.....	35
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
4.1 ANÁLISE GRANULOMÉTRICA DO FARELO DE SOJA	36
4.2 DETERMINAÇÃO DO TEOR DE PROTEÍNA	39
4.3 DETERMINAÇÃO DO GRAU DE HIDRÓLISE DA REAÇÃO	40
4.4 ANÁLISE MICROBIOLÓGICA.....	41
4.5 ANÁLISE SENSORIAL	42
4.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA	43
5. CONCLUSÕES E SUGESTÕES	48
5.1 CONCLUSÕES.....	48
5.2 SUGESTÕES	48
6. REFERÊNCIAS	50

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 – Receitas do complexo soja e participação do complexo soja nas receitas cambiais.....	6
Figura 2 – Curva de solubilidade da proteína de soja em função do pH.....	10
Figura 3 - Esquema geral da obtenção de óleo bruto de soja.	12
Figura 4 - Módulo experimental, sistema convectivo..	28
Figura 5 – Modelo de ficha para aplicação do teste com escala hedônica.....	35
Figura 6 – Histograma de distribuição de frequência para o peneiramento.	37
Figura 7 – Curva padrão de albumina bovina.	39
Figura 8 – Curva padrão de isoleucina.	40
Figura 9 – Médias das notas obtidas no teste sensorial do hidrolisado protéico adicionado a néctares de frutas.	43

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 – Exportações do complexo soja, previsão para a safra de 2009/2010.....	6
Tabela 2 – Composição química da soja em grãos (base seca).....	7
Tabela 3 – Valor nutricional em 100g da soja cozida sem sal.....	7
Tabela 4 - Classificação internacional das enzimas.	19
Tabela 5 – Características de algumas enzimas comerciais.	20
Tabela 6 – Modelos de distribuição granulométrica.....	29
Tabela 7 – Diâmetro médio de Sauter para modelos de distribuição.	30
Tabela 8 – Níveis microbiológicos permitidos, conforme Resolução nº14.....	33
Tabela 9 – Níveis microbiológicos permitidos, conforme Resolução RDC nº12.	33
Tabela 10 – Resultados obtidos através do peneiramento.....	36
Tabela 11 – Dados referentes ao modelo de distribuição GGS.....	38
Tabela 12 – Dados referentes ao modelo de distribuição RRB.....	38
Tabela 13 – Dados referentes ao modelo de distribuição Log-Normal.....	38
Tabela 14 – Características microbiológicas da proteína solubilizada do farelo de soja.	41
Tabela 15 – Resultados da análise sensorial.....	42
Tabela 16 – Resultados do teste ANOVA.	44
Tabela 17 – Resultados do teste de Tukey.....	44
Tabela 18 – Comparação das médias duas a duas para os produtos com o mesmo sabor de néctar.....	45
Tabela 19 – Comparação das médias duas a duas para os produtos com a mesma concentração de hidrolisado adicionado ao néctar.	46

NOMENCLATURA

AU: unidades Anson

D: diâmetro de partícula [L]

D': parâmetro do modelo RRB [L]

D#: diâmetro de abertura da peneira [L]

D₅₀: diâmetro médio geométrico [L]

DMS: diferença mínima significativa [-]

GGs: modelo de distribuição granulométrica Gates-Gaudin-Schulman

GH: grau de hidrólise [%]

gl: graus de liberdade [-]

GLR: graus de liberdade dos resíduos [-]

h: número de ligações peptídicas clivadas durante a reação de hidrólise [miliequivalente/M]

h_{total}: número de ligações peptídicas clivadas durante a reação de hidrólise total [miliequivalente/M]

k: parâmetro do modelo GGS [L]

K: número de produtos utilizados [-]

kDa: kiloDalton

m: parâmetro do modelo GGS [-]

mesh: número de aberturas por polegada linear

MQ: quadrado médio [-]

n: parâmetro do modelo RRB [-]

NMP: número mais provável

q: valor crítico para o teste de Tukey [-]

QMR: quadrado médio dos resíduos [-]

R: número de repetições [-]

R²: coeficiente de correlação [-]

RRB: modelo de distribuição granulométrica Rosin-Rammler-Bennet

SQ: soma dos quadrados [-]

TNBS: trinitrobenzenosulfônico

Tyler: série americana padronizada de peneiras

UFC: unidades formadoras de colônias

X: fração cumulativa com diâmetro menos que D [-]

z: função polinomial aproximada à função inversa de probabilidade integral [-]

Letras Gregas

φ : função distribuição de tamanho de partículas [-]

α : coeficiente angular do model de distribuição Log-Normal [-]

β : coeficiente linear do modelo de distribuição Log-Normal [-]

η : eficiência de coleta de partículas [-]

σ : desvio padrão [-]

1. INTRODUÇÃO

A soja pertence à família *Fabaceae* (leguminosa), assim como o feijão, a lentilha e a ervilha. A palavra soja vem do japonês *shoyu* e é originária da China. É considerada um grão rico em proteínas, cultivado como alimento tanto para humanos quanto para animais.

O maior produtor de soja do mundo são os Estados Unidos, seguido do Brasil, Argentina, China, Índia e Paraguai. A produção mundial de soja cresce a cada ano e a estimativa para a próxima safra (2009/2010) é de 241 milhões de toneladas, segundo o Departamento de Agricultura Americano (USDA, 2009). Com a confirmação da área estimada e das condições climáticas favoráveis, a produção da oleaginosa será recorde. Segundo dados da Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB, 2010), na safra anterior (2008/2009) a produção de soja no Brasil totalizou 57,17 milhões de toneladas e a previsão para a próxima safra (2009/2010) é de 66,73 milhões de toneladas do grão. O grande destaque permanece com o Estado de Mato Grosso, que lidera o ranking da produção nacional com um volume estimado em 18,96 milhões de toneladas, em uma área estimada em 6,16 milhões de hectares, seguido do Paraná (13,52 milhões de toneladas) e do Rio Grande do Sul, onde a pesquisa indica uma produção de 9,3 milhões de toneladas. O Brasil ocupa segundo lugar na produção da soja e o primeiro lugar na exportação do grão, estimando-se os valores exportados para a safra 2009/2010 em 26,4 milhões de toneladas do grão e 12,9 milhões de toneladas para o farelo de soja.

A soja é considerada uma fonte de proteína completa, isto é, contém quantidades significativas de todos os aminoácidos essenciais que devem ser providos ao corpo humano por meio de fontes externas, devido à sua inabilidade para sintetizá-los. Ela tem várias vantagens sobre as carnes, tais como: não excita os centros nervosos e não aumenta a pressão sanguínea, além de ser utilizada em dietas e nos tratamentos que retardam o processo de envelhecimento. A soja é um alimento indispensável na alimentação das pessoas desnutridas e anêmicas. Em um quilo de soja, pode-se ingerir a quantidade de proteína suficiente para nutrir um adulto por uma semana (CAMPOS, 2006).

O processamento da soja e sua difusão por meio de produtos de consumo cada vez mais práticos acompanham as tendências internacionais, visando atingir segmentos de menor renda (BELIK, 1994). O processo de beneficiamento da soja, incia-se com o esmagamento, no qual basicamente se separa o óleo bruto (aproximadamente 20% do

conteúdo do grão) do farelo, sendo o mais adequado suplemento protéico vegetal disponível para a formulação de rações. O óleo bruto passa por um processo de refino até assumir propriedades ideais ao consumo como óleo comestível (CAMPOS, 2006).

A farinha e o farelo desengordurado de soja são os produtos industrializados mais importantes, sendo usados tanto para enriquecer alimentos melhorando sua composição nutricional, como na obtenção de concentrados e isolados de proteína. Grande interesse é demonstrado pelo farelo de soja, por sua disponibilidade como subproduto da indústria de óleo e por conter, no mínimo, 47% de proteína. Estima-se produzir no Brasil na safra 2009/2010 mais de 25 milhões de toneladas de farelo e, destas, em torno de 51% serão exportadas, (CONAB, 2010).

Os alimentos disponíveis comercialmente considerados fontes de proteínas e utilizados como ingredientes funcionais são obtidos a partir de uma variedade de fontes animais e vegetais. A busca por fontes alternativas de proteínas tem grande importância, devido ao aumento dos custos e limitação das fontes de proteínas animais. Daí a escolha da proteína vegetal: é a mais abundante fonte de proteínas na terra e por ter uma grande variedade como folha de alfafa, sementes de algodão, amendoim e soja, já investigadas para eventual incorporação nos alimentos formulados.

Os métodos tradicionais de processamento utilizados para isolar a proteína da soja e inativar os fatores antinutricionais podem, no entanto, afetar a retenção de componentes bioativos e medicinais naturais que auxiliam no tratamento de doenças. Além disso, são dispendiosos, apresentam perdas de proteína da ordem de 25% e os produtos podem conter impurezas que prejudicam suas qualidades funcionais e nutricionais (STENZEL, 2007).

Novas metodologias que permitiriam a produção de proteína por meio de processos mais econômicos e que preservariam suas propriedades funcionais começaram a ser pesquisadas a partir de meados da década de 90. Entre elas, pode-se citar os tratamentos térmicos aplicados aos farelos e o uso de enzimas, ambos visando, principalmente, a remoção de fatores antinutricionais e o aumento da disponibilidade de certos nutrientes. Portanto, o desenvolvimento de métodos analíticos que possam melhorar a utilização do “complexo soja” faz das pesquisas científicas uma importante ferramenta para as indústrias de nutrição e para a economia do Brasil. O potencial de uso da soja para aplacar a fome no Brasil é considerado bastante animador e o farelo de soja é uma das alternativas por ser subproduto da indústria de extração do óleo e por possuir um alto valor protéico.

O desenvolvimento de um processo enzimático de extração de proteína de farelos de soja comerciais é uma alternativa que pode levar a bons resultados. STENZEL (2007) demonstrou que a adição de proteases melhora a extração de proteína dos farelos tratados termicamente e, ainda, podem conferir-lhes melhores propriedades funcionais. Desta forma, fica evidente que o controle dos parâmetros hidrolíticos nas modificações enzimáticas das proteínas constitui uma etapa importante para se obter produtos com qualidade nutricional elevada, propriedades funcionais desejáveis e características organolépticas agradáveis ao consumidor.

A escolha da matriz farelo de soja foi feita devido à grande importância da soja e seus subprodutos na economia brasileira. Além disso, há um grande interesse gerado por processos que envolvam tecnologia de baixo custo energético, com menor impacto ambiental e que utilize matérias-primas renováveis, adequando-se ao reaproveitamento de subprodutos da agroindústria.

O processo que está sendo proposto visa a extração da proteína de farelo de soja comercial por hidrólise enzimática, resultando em hidrolisados protéicos de alta qualidade, com boas propriedades funcionais e não apresentando custo elevado. Assim, este estudo tem como objetivo a análise e a otimização de produtos incorporados com a proteína de farelo de soja obtida pela solubilização enzimática.

Esse estudo teve como objetivos específicos:

- ✓ Solubilização da proteína de farelo de soja via hidrólise enzimática.
- ✓ Quantificação da proteína de farelo de soja solubilizada enzimaticamente.
- ✓ Determinação do número de ligações peptídicas clivadas durante a reação enzimática, medido pelo grau de hidrólise.
- ✓ Análise microbiológica dos hidrolisados: contagem de leveduras e bolores, verificação de *Salmonella spp* e coliformes fecais e totais.
- ✓ Análise sensorial do hidrolisado protéico de farelo de soja incorporado aos néctares de frutas.
- ✓ Análise estatística dos resultados do teste sensorial para verificar qual ou quais produtos tiveram maior ou menor aceitação.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 SOJA

2.1.1 História da soja

A soja, originária da China Continental, é uma planta que pertence à família das leguminosas denominadas cientificamente de *Glycine Max* (L) e compreende mais de 7000 espécies. Está na cadeia alimentar há 5.000 anos e, desde então, tem sido parte essencial da dieta asiática. Somente no século XIX a soja foi introduzida no Ocidente (EMBRAPA, 2008a).

A soja chegou ao Brasil via Estados Unidos, em 1882 e foram realizados os primeiros estudos de avaliação de cultivares. Nessa época a soja era estudada mais como uma cultura forrageira, do que como planta produtora de grãos para a indústria de farelos e óleos vegetais. Eventualmente também produzindo grãos para consumo de animais em nível da propriedade (EMBRAPA, 2008a).

Em 1900 e 1901, o Instituto Agrônomo de Campinas, SP, promoveu a primeira distribuição de sementes de soja para produtores paulistas e para essa mesma data tem-se registros do primeiro plantio de soja no Rio Grande do Sul (RS), onde a cultura encontrou efetivas condições para se desenvolver e expandir, dadas as semelhanças climáticas do ecossistema de origem dos materiais genéticos (EUA) com as condições climáticas predominantes no RS (EMBRAPA, 2008a; GOLDFLUS, 2001).

Com o estabelecimento do programa oficial de incentivo à triticultura nacional, em meados dos anos 50, a cultura da soja foi igualmente incentivada, por ser, desde o ponto de vista técnico (leguminosa sucedendo gramínia), quanto econômico (melhor aproveitamento das máquinas, implementos, infra-estrutura e mão de obra), a melhor alternativa de verão para suceder o trigo plantado no inverno. Além disso, o fato da colheita coincidir com a entressafra dos estados norte-americanos assegura bom mercado de exportação para o produto brasileiro (GOLDFLUS, 2001).

2.1.2 A soja e a economia

A soja é amplamente cultivada em vários países do mundo. Os principais produtores mundiais são os Estados Unidos (35,5%), o Brasil (18,4%), a Argentina (8,3%) e a China (5,3%). No Brasil, as principais áreas produtoras estão nas regiões Sul, Sudeste e Centro-oeste do País. Os Estados do Paraná, Rio Grande do Sul, Mato Grosso e de Goiás são os principais produtores de soja do Brasil (EMBRAPA, 2008a).

No país, a soja é predominantemente utilizada para o processamento do grão em óleo e proteína. A proteína processada (torta ou farelo) é utilizada como suplemento protéico na ração animal. Esse farelo é torrado/aquecido ao ponto de inativar os fatores antinutricionais naturalmente presentes na soja (DALL'AGNOL, 2007).

A revolução sócio-econômica e tecnológica protagonizada pela soja no Brasil pode ser comparada ao fenômeno ocorrido com a cana-de-açúcar no Brasil Colônia e do café no Brasil Império. A soja responde por uma receita cambial direta para o Brasil de mais de 8 bilhões de dólares anuais e muitas vezes superior a esse valor, se considerados os benefícios que gera ao longo da sua extensa cadeia produtiva (EMBRAPA, 2008a).

A soja liderou a implantação de uma nova civilização no Brasil central, levando o progresso e o desenvolvimento para a região despovoada e desvalorizada, fazendo brotar cidades no Cerrado. O explosivo crescimento da produção de soja no Brasil, de quase 30 vezes no transcorrer de apenas três décadas, determinou uma cadeia de mudanças sem precedentes na história do País (EMBRAPA, 2008a).

Também, ela apoiou ou foi a grande responsável pela aceleração da mecanização das lavouras brasileiras; pela modernização do sistema de transportes; pela expansão da fronteira agrícola; pela profissionalização e incremento do comércio internacional; pela modificação e enriquecimento da dieta alimentar dos brasileiros; pela aceleração da urbanização do País; pela interiorização da população brasileira (excessivamente concentrada no sul, sudeste e litoral); pela tecnificação de outras culturas (destacadamente a do milho); assim como, impulsionou e interiorizou a agroindústria nacional (GOLDFLUS, 2001).

O Brasil é responsável por cerca de 22% do volume total de soja exportado, sendo o segundo maior exportador de soja do mundo. Em média, 68% do total produzido no país é exportado, principalmente para a União Européia, EUA e Japão. Segundo dados da Associação Brasileira das Indústrias de Óleos Vegetais, (ABIOVE,

2009) a estimativa para a próxima safra é de que o volume total de soja e derivados que será exportado ultrapasse 40 milhões de toneladas, conforme demonstrado na Tabela 1 e ilustrado na Figura 1.

Tabela 1 – Exportações do complexo soja, previsão para a safra de 2009/2010.

Safra 2009/2010 (Previsão)	Volume (1000 toneladas)	Valor (US\$/tonelada)	Valor (US\$ milhões)
Soja em grão	28000	400	11200
Farelo de soja	11450	370	4237
Óleo de soja	1400	770	1078
Total	40850	1540	16515

. Fonte: ABIOVE, 2009.

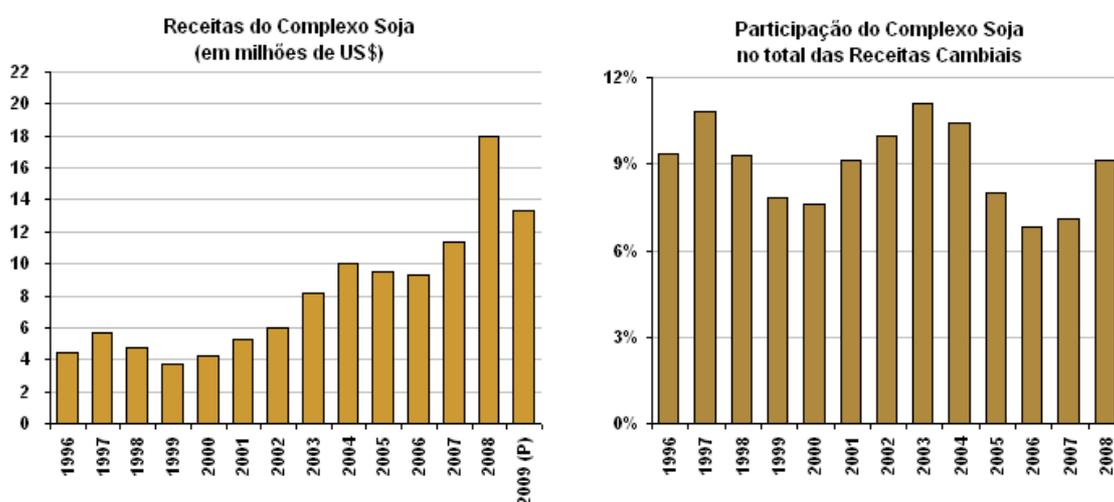


Figura 1 – Receitas do complexo soja e participação do complexo soja nas receitas cambiais. Fonte: ABIOVE, (2009).

2.1.3 Composição da soja

O valor nutricional da soja prende-se ao seu alto teor de proteínas de fácil digestão, rica em aminoácidos essenciais e fonte de óleo de boa qualidade (ARAUJO *et al.*, 1986).

Os grãos da soja consistem de 30% de carboidrato (do qual 15% é fibra), 18% de óleo (85% não saturado), 14% de umidade e 38% de proteína, conforme ilustra a Tabela 2. É a única leguminosa que contém os nove aminoácidos essenciais na proporção correta para a saúde humana. A proteína da soja é, portanto, classificada como uma proteína completa e de alta qualidade. Seus benefícios nutricionais incluem o fato de serem boas fontes de fósforo, potássio, vitaminas B, zinco, ferro e a vitamina antioxidante E, conforme dados da Tabela 3.

Tabela 2 – Composição química da soja em grãos (base seca).

Grão	Componente (%)	Proteína (%)	Lipídeos (%)	Carboidratos (%)	Cinza (%)
Soja integral	-	40,2	21,0	33,9	4,9
Cotilédone	90,3	42,8	22,8	29,4	5,0
Casca	7,3	8,8	1,0	85,9	4,3
Hipocotilédone	2,4	40,8	11,4	43,4	4,4

Fonte: MORAIS e SILVA, (1996).

Tabela 3 – Valor nutricional em 100g da soja cozida sem sal.

Componente	Valor
Energia (kcal)	141
Água (g)	67
Proteína (g)	12,5
Lipídeos (g)	7,5
Saturada (g)	1
Monoinsaturada (g)	1,7
Polinsaturada (g)	4,5
Carboidratos (g)	5,6
Vitamina E (mg)	1
Cálcio (mg)	82
Ferro (mg)	2,6
Magnésio (mg)	84
Potássio (mg)	513

Fonte: PORTO e OLIVEIRA, (2006).

2.1.3.1 Lipídeos

Depois do amendoim, a soja possui o mais alto teor de gordura, que é de ótima qualidade. O óleo presente nos grãos de soja em teores adequados fornece energia, e ácidos graxos essenciais. Do total de lipídios da soja, 86% são ácidos graxos insaturados e, 60% destes são constituídos pelos ácidos graxos essenciais oléico, linoléico e linolênico, essenciais a alimentação humana (APROSOJA, 2008).

2.1.3.2 Carboidratos

A soja possui em torno de 10 a 17% de carboidratos, porém apenas 2% deste valor se encontra sob a forma de amido absorvível pelo organismo humano, razão pela qual o grão é indicado na dieta de pessoas diabéticas e obesas para a manutenção e perda de peso. Os carboidratos insolúveis são celulose e hemicelulose encontrados na casca do grão, os quais constituem as fibras que auxiliam na digestão dos alimentos. Os carboidratos solúveis são frutose e sacarose e, os oligossacarídeos estaquiose e rafinose, que devido a complexidade de suas moléculas, são de difícil digestão, causam sintomas de flatulência. A germinação, no caso da produção de brotos de soja e, a fermentação são processos que mobilizam esses açúcares, reduzindo os problemas de flatulência. A maceração e o cozimento também favorecem a solubilização dos açúcares, (APROSOJA, 2008).

2.1.3.3 Minerais

A soja é rica em minerais, principalmente magnésio, fósforo, ferro e potássio. Entretanto, não é boa fonte de cálcio e zinco, recomendando-se, portanto, que haja suplementação destes dois minerais nos produtos de soja destinados às crianças, que não recebem dieta variada. O alto teor de potássio e a baixa concentração de sódio permitem a recomendação da soja para pacientes com pressão arterial elevada (APROSOJA, 2008).

2.1.3.4 Vitaminas

Quanto ao conteúdo vitamínico, a soja é uma boa fonte de vitaminas do complexo B, com exceção da vitamina B-12. Quando madura, é ótima fonte das vitaminas E e K, mas não contém vitamina D, e quando verde apresenta bons teores de ácido ascórbico e β -caroteno (pró-vitamina A) (APROSOJA, 2008).

2.1.3.5 Fatores antinutricionais

Os fatores antinutricionais, também denominados fatores anticrescimento, são substâncias naturais que causam efeitos negativos no crescimento ou na saúde em humanos e animais. A maior questão sobre os riscos à saúde provocados por antinutrientes é o desconhecimento dos níveis de tolerância, do grau de variação do risco individual e da influência de fatores ambientais sobre a capacidade de detoxificação do organismo humano. Desses compostos, os mais importantes são: os inibidores de proteases (inibidor de tripsina), as lecitinas ou hemaglutininas e os fitatos. Esses compostos estão ativos na soja crua, mas são inativados pelo tratamento térmico (cozimento ou torração), melhorando a qualidade das proteínas da soja, (APROSOJA, 2008).

2.1.3.6 Proteínas

A soja contém grande quantidade de proteínas. No entanto, este conteúdo protéico é usado geralmente na produção de rações para animais, sendo uma porcentagem muito pequena consumida na alimentação tradicional ou como ingredientes protéicos (ARAUJO *et al.*, 1986).

Para BERK (1992), cerca de 90% das proteínas da soja são globulinas, com solubilidade mínima em torno do pH 4,5, como pode ser observado na Figura 2. Apresentam um padrão de centrifugação típico, sendo distribuídas em quatro frações denominadas 2, 7, 11 e 15 “S”. A 2S corresponde a 10-20 % do total e inclui vários inibidores de tripsina, citocromo C e numerosas enzimas. A 7S corresponde a 30-35 % do total, contém quatro hemaglutininas, duas lipoxigenases e uma globulina conhecida como conglicina, que é uma proteína de armazenamento e representa 91 % dessa fração.

A 15S corresponde a 5-10 % do total, é pouco conhecida, mas sabe-se que contém a urease, que converte uréia em amônia.

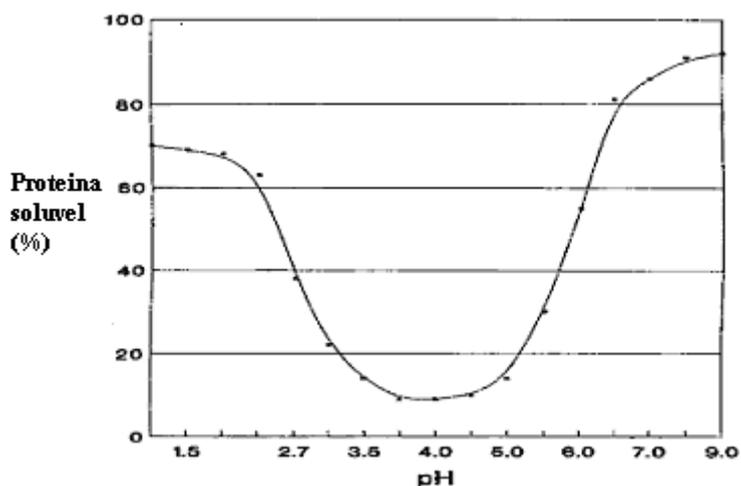


Figura 2 – Curva de solubilidade da proteína de soja em função do pH. Fonte: BERK, (1992).

De acordo com FRIEDMAN e BRANDON (2001), as proteínas de armazenamento da soja consistem de uma mistura de proteínas (α , α' e β -conglucinas, glicinina, e outras globulinas) com massa molecular variando entre 140 a 300 kDa e que diferem em suas propriedades físico-químicas. As sementes ainda contêm proteínas bioativas incluindo α -amilase, citocromo C, lecitina, lipoxigenase, urease, o inibidor Kunitz da tripsina (KTI), e o inibidor Bowman-Birk da quimiotripsina e tripsina.

LIU (1997) caracterizou da seguinte forma a proteína da soja: “A β -conglucina, glicoproteína trimétrica com massa molecular média de 180 kDa que representa 91% da fração 7S, é constituída de três subunidades α' (57-83 kDa), α (57-76 kDa) e β (42-53 kDa), que interagem para formar cerca de 6 isômeros conhecidos. A fração 11S (glicinina), de estrutura hexamérica, tem massa molecular de 360 kDa. As subunidades monoméricas apresentam estrutura A-S-S-B, na qual A representa o polipeptídeo ácido de 33-44 kDa, B polipeptídeo básico de cerca de 20 kDa e S-S corresponde às ligações dissulfeto que os unem, formando a subunidade AB. Sua estrutura quaternária é ainda estabilizada por interações eletrostáticas e hidrofóbicas.

De acordo com CARP *et al.* (1999) a maior diferença entre as unidade 11S e 7S é que esta última não contém ligações dissulfídicas. Estes mesmos autores comentam que a desnaturação térmica das proteínas de soja modifica muito a estrutura da glicinina. Sob aquecimento, as ligações dissulfeto que unem as subunidades ácida e básica da

fração 11S são clivadas e os polipeptídeos separados. Todas as subunidades podem se dissociar e reassociar-se de diferentes maneiras. Segundo estudos de UTSUMI e KINSELLA (1985), macromoléculas solúveis foram formadas por associação da subunidade básica da 11S com a subunidade β da 7S, principalmente via interações eletrostáticas. Também houve associação da subunidade básica por meio de ligações dissulfídicas.

2.1.4 Processamento da soja

O tipo de processamento é de importância extrema quando se usa soja para alimentação animal. O subprocessamento deixa inibidores de tripsina residuais e outros componentes antinutricionais que afetam a capacidade do humano ou animal para digerir ou absorver alimentos (CAMPOS, 2006).

Um processamento adequado é essencial para desnaturar fatores antinutricionais (que interferem com a digestão de proteína e com absorção de nutrientes) e, também, para ampliar a disponibilidade de óleo. E para assegurar um excelente valor nutricional é fundamental que as condições do processamento tenham controles nos equipamentos (CAMPOS, 2006).

Proteína de origem vegetal pode causar problemas de diferentes intensidades em dietas para humanos e animais, principalmente os mais jovens, dependendo da fonte e do humano ou animal em questão. A soja crua contém um grande número de fatores antinutricionais, muitos dos quais são termolábeis, tais como os inibidores de tripsina, lectinas ou hemaglutininas (LIENER *et al.*, 1988). O calor pode desativar estes fatores e melhorar o valor nutricional da soja. O tipo de processamento (extrusão, cozimento, tostagem ou expansão) e as condições aplicadas no processo (a variedade da soja, tamanho de partícula, temperatura, tempo, pressão e umidade) não só influenciam a qualidade do produto final em termos da presença de resíduo dos fatores antinutricionais, e a digestibilidade do nutriente, mas também o grau de palatabilidade, (QIN. *et al.*, 1996; SERRANO e VILLALBI, 1999). Em todo o caso, a eliminação total de fatores antinutricionais não seria apropriada devido ao alto calor necessário, ao aumento do custo de processamento, além dos danos irreversíveis provocados à qualidade da proteína (HERKELMAN *et al.*, 1992).

2.1.4.1 Óleo de soja

O processo de obtenção de óleo de soja constitui-se das seguintes grandes etapas: preparação das sementes na forma de flocos, extração com solvente e a recuperação do solvente. A preparação das sementes consiste em um conjunto de operações apropriadas até que os flocos de sementes sejam formados para um melhor rendimento na operação de extração. Estes flocos são colocados, no extrator, juntos com o solvente, que normalmente é o hexano, a fim de que ocorra a extração do óleo através do solvente; daí resultam duas correntes importantes no processo. Uma corrente é denominada de torta, que é a mistura formada de farelo de soja, hexano, água e óleo residual; e a outra corrente é denominada de miscela, que é a mistura do óleo de soja com hexano. Este solvente precisa ser recuperado para tornar o óleo e o farelo de soja apropriados para o consumo, bem como reutilizá-lo na extração. A recuperação do hexano é efetuada em duas etapas paralelas. Uma é a separação do hexano da torta (farelo), chamada de dessolventização-tostagem; e a outra é a separação do hexano do óleo de soja denominada de destilação da miscela (PARAÍSO, 2001). A Figura 3 mostra o esquema geral desse processo.

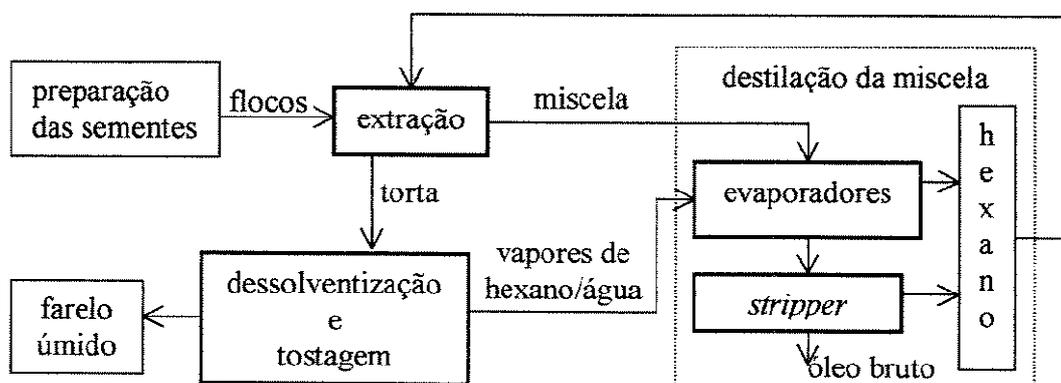


Figura 3 - Esquema geral da obtenção de óleo bruto de soja. Fonte: PARAÍSO, (2001).

2.1.4.2 Farelo e farinha de soja

A produção de farelo de soja é realizada pela limpeza, aquecimento, quebra do grão, remoção da casca por aspiração, laminação, e remoção do óleo, geralmente por

hexano. Podem servir de matéria-prima para muitos outros produtos comerciais, com exceção da farinha integral que é obtida sem a remoção do óleo. A farinha de soja é produzida pela moagem do farelo, antes ou depois da remoção do óleo. Após a moagem, a farinha é submetida a tratamento térmico com umidade controlada, para fornecer produtos com diferentes índices de solubilidade de nitrogênio. Quando a farinha for utilizada para branqueamento de farinha de trigo destinada à fabricação de pães, não deve ocorrer o tratamento térmico, já que as enzimas presentes na soja devem permanecer ativas (STENZEL, 2005).

2.1.4.3 Extrusão

O cozimento por extrusão é um processo de aquecimento a alta temperatura durante um curto intervalo de tempo. Neste processo, a estrutura quaternária se abre devido à umidade e à alta temperatura, a proteína se polimeriza, se reordena, e ligações moleculares são formadas. Ao mesmo tempo, enzimas e os inibidores da tripsina são destruídos. Este processo melhora o valor biológico e modifica as propriedades funcionais do produto e necessita de muito controle, pois o subprocessamento do produto pode causar problemas gastrointestinais e o sobreprocessamento prejudica as propriedades funcionais e nutricionais da proteína. É muito utilizada na indústria de produtos cárneos, principalmente de salsichas e hambúrgueres (MORAIS e SILVA, 1996).

2.1.4.4 Concentrado de proteína de soja

A matéria-prima para a produção de concentrado protéico de soja é uma massa do grão de soja descascado, desengordurado, com uma solubilidade protéica alta (flocos brancos). O aumento de concentração da proteína se dá pela remoção de quase todos os constituintes solúveis, não protéicos. Esses constituintes são primeiramente, carboidratos solúveis, nitrogênio de baixa massa molecular e de minerais. Normalmente, a partir de uma tonelada de flocos de soja desengordurados, obtém-se 750 kg de concentrado protéico de soja (MORAIS e SILVA, 1996).

2.1.4.5 Isolados de proteína de soja

Os isolados de proteína de soja são obtidos a partir dos flocos desengordurados pela remoção da maioria dos componentes não-protéicos. A proteína dos flocos é solubilizada em pH alcalino e separada por centrifugação ou filtração dos resíduos insolúveis. O sobrenadante é acidificado (pH 4,5) para precipitar a proteína resultante pode ser seca no pH de precipitação ou ser neutralizada (pH 6,5-7,0), de onde se obtém o proteinato que é mais solúvel e funcional (MORAIS e SILVA, 1996).

2.1.4.6 Extrato solúvel de soja

O extrato solúvel de soja, popularmente conhecido como “leite de soja”, é um produto obtido a partir da lavagem, maceração e aquecimento de grãos de soja. Os grãos lavados e macerados são moídos e aquecidos para então passarem por um processo de filtração que separa o extrato aquoso (O'TOOLE, 1999). Este extrato aquoso tem sido consumido na China diariamente. No início do século XX, um médico americano missionário na China, Harry Willis Miller, fez uma grande contribuição à expansão do seu uso conduzindo uma pesquisa na qual utilizou este produto na alimentação de crianças e bebês chineses, melhorando a qualidade do processamento, e iniciando uma produção de “leite” de soja em larga escala em muitos países, incluindo China, Estados Unidos, Japão, Filipinas, Hong Kong e Singapura. Nas últimas décadas, tanto devido ao trabalho do Dr. Miller quanto ao progresso na redução do *beany flavor*, determinado por muitos pesquisadores inicialmente das Universidades de Illinois e Cornell, este produto de soja concretizou seu papel de bebida popular (LIU, 1999).

Várias deteriorações ocorrem nas proteínas durante o processamento dos alimentos e a estocagem. Uma alteração deteriorante sob um determinado aspecto pode tornar-se favorável em relação a outro. Um exemplo disso é a desnaturação parcial das proteínas pelo aquecimento, tornando-as mais digeríveis, mas, ao mesmo tempo, afetando suas propriedades funcionais. O desnovelamento da molécula, com formação de ligações intermoleculares entre as cadeias de proteína, torna-a irreversivelmente insolúvel (MORAIS e SILVA, 1996).

Observa-se que a composição em aminoácidos dos concentrados é muito semelhante a do extrato. Isso evidencia que os diferentes tratamentos usados, para a obtenção dos diversos produtos, alteram pouco a concentração dos aminoácidos.

Quando, porém, esse tratamento usa temperaturas acima de 121°C e calor úmido, observa-se que a cistina é rapidamente destruída, assim como o triptofano, se o aquecimento for mantido por mais de 60 minutos. O aquecimento também tem efeito negativo sobre as vitaminas, reduzindo algumas e destruindo total ou parcialmente outras, de acordo com a temperatura e o tempo de aquecimento (STENZEL, 2007).

Um tratamento por longo tempo e alta temperatura aumenta o número dos grupos hidrofóbicos expostos na cadeia protéica, aumentando assim a instabilidade da proteína. Nas moléculas desnaturadas, grupos –SH, dissulfito e cadeias laterais de aminoácidos hidrofóbicos são expostos, mas estas continuam solúveis quando a concentração desses grupos não é muito alta. Porém, quando a concentração de moléculas desnoveladas é alta, ocorre a formação de ligações intermoleculares que tornam a proteína irreversivelmente insolúvel (MORAIS e SILVA, 1996).

Outro método para provocar a insolubilidade da proteína é a neutralização de cargas da molécula pela adição de sais ou agentes acidificantes. A insolubilização da proteína também ocorre durante o congelamento, pois quando a solução protéica é congelada, as moléculas de proteína se concentram na parte ainda não congelada da solução e a proximidade entre elas conduz à formação de ligações entre grupos sulfidrílicos/dissulfito e interações hidrofóbicas, resultando em sua insolubilização.

É importante salientar que a solubilidade das proteínas é uma propriedade funcional desejável de ser alcançada em muitos casos. É também importante observar se essa insolubilidade é reversível ou irreversível, uma vez que a insolubilização irreversível resulta em deterioração de propriedades físicas da proteína (STENZEL, 2007).

2.2.5 Usos da soja

A soja é um grão muito versátil que origina produtos e subprodutos muito usados pela agroindústria, indústria química e de alimentos. Na alimentação humana, a soja entra na composição de vários produtos embutidos, em chocolates, temperos para saladas, entre outros produtos (EMBRAPA, 2008b).

A proteína de soja é a base de ingredientes de padaria, massas, produtos de carne, cereais, misturas preparadas, bebidas, alimentação para bebês e alimentos dietéticos. A soja também é muito usada pela indústria de adesivos e nutrientes,

alimentação animal, adubos, formulador de espumas, fabricação de fibra, revestimento, papel emulsão de água para tintas (EMBRAPA, 2008b)

Os produtos de soja podem ser empregados na industrialização de plásticos, tintas, fibras têxteis, adesivos, sabões, lubrificantes, polimento de metais, glicerina e vários outros. O período em que mais se usou produtos de soja com fins industriais nos Estados Unidos foi 1947. A partir daí, houve uma forte tendência a substituí-los por outros, derivados do petróleo. Tocoferóis e esteróis são empregados na fabricação da vitamina E e de esteróides, respectivamente.

Seu uso mais conhecido, no entanto, é como óleo refinado, obtido a partir do óleo bruto. Nesse processo, também é produzida a lecitina, um agente emulsificante (substância que faz a ligação entre a fase aquosa e oleosa dos produtos), muito usada na fabricação de salsichas, maioneses, achocolatados, entre outros produtos (EMBRAPA, 2008b).

Apesar das características nutritivas e dos efeitos benéficos à saúde humana, a soja não é um alimento de grande aceitabilidade no Brasil. Isto se deve, principalmente, ao seu sabor, que é exótico aos hábitos alimentares dos brasileiros. Sabe-se que os compostos oriundos da ação da enzima lipoxigenase são responsáveis, em parte, pelo sabor característico da soja. Essa enzima é facilmente inativada por meio de tratamento térmico. Portanto, quando são preparados alimentos a base de soja, é necessário que sejam observadas algumas técnicas especiais, dentre elas o choque térmico, para se obter produtos de melhor sabor (APROSOJA, 2009).

Recentemente, a soja vem crescendo também como fonte alternativa de combustível. O biodiesel de soja já vem sendo testado por instituições de pesquisa, como a Embrapa, além de estar sendo testado em diferentes cidades brasileiras, (EMBRAPA, 2008b).

2.2 FARELO DE SOJA

O farelo representa em torno de 70% da semente de soja. Ele forma a parte sólida da semente e sua composição pode variar de acordo com os valores a seguir: 47 a 51% de proteínas, 43 a 47% de carboidratos e 6 a 8% de cinzas (PARAÍSO, 2001).

Os carboidratos são compostos de monossacarídeos, oligossacarídeos e polissacarídeos. O monossacarídeo está presente apenas como traços de glicose; os oligossacarídeos têm composição de aproximadamente 44% e são constituídos por

sacarose, rafinose e estaquiase; e os polissacarídeos têm aproximadamente 56% e são formados por arabinose, arabinogalactose e por ácidos polissacarídeos (PARAÍSO, 2001).

As proteínas formam uma parte importante do farelo e o tornam importante do ponto de vista nutricional e comercial. Entretanto, as proteínas de soja contém compostos conhecidos como inibidores de tripsina, os quais inibem a digestão das proteínas. Normalmente, a redução dos efeitos destes inibidores é feita através de aquecimento durante o processo (PARAÍSO, 2001).

De acordo com KARR-LILIENTHAL *et al.* (2004), o farelo de soja corresponde quase a 62% do material protéico usado na produção de rações animais. Por causa de diferenças nas condições ambientais, variedades genéticas e condições de processamento (umidade, tempo e temperatura de secagem, tostagem), a composição química do farelo difere, afetando seu valor nutricional. Além disso, o processamento incompleto do farelo causado por aquecimento insuficiente pode resultar num produto de qualidade inferior, com altas concentrações de fatores antinutricionais que afetam sua digestibilidade.

Embora a maior parte do farelo de soja ainda seja destinada a rações animais, muitos processos têm sido desenvolvidos com o objetivo de obter produtos mais refinados, destinados diretamente ao consumo humano ou à produção de ingredientes protéicos (aditivos alimentares) (STENZEL, 2007).

A produção de farelo de soja é realizada pela limpeza, aquecimento, quebra do grão, remoção da casca por aspiração, laminação, e remoção do óleo, geralmente por hexano. Podem servir de matéria-prima para muitos outros produtos comerciais, com exceção da farinha integral que é obtida sem a remoção do óleo (STENZEL, 2007).

A soja, ao ser processada, gera dois produtos principais que são o óleo vegetal e o farelo. As operações para a obtenção desses produtos podem ser agrupadas em cinco estágios principais, segundo PARAÍSO (2001): a preparação das sementes na forma de flocos, que envolve a limpeza, a secagem, a quebra dos grãos de soja, o cozimento, a laminação e a expansão; a extração do óleo com solvente; a destilação da Miscela; a dessolventização/tostagem; e a secagem.

A preparação das sementes é a etapa que visa dispor as sementes na forma de flocos para facilitar a extração do óleo, sendo que esta etapa se inicia com a limpeza de impurezas com o uso de peneiras agitadas. A secagem é utilizada para diminuir a umidade e facilitar a etapa seguinte de quebra dos grãos. A quebra da semente é feita

em trituradores e objetiva aumentar a área superficial do grão e facilitar a laminação. Antes da laminação, é realizado o tratamento térmico com vapor saturado, que auxilia o processo de laminação em cilindros de rolos lisos, aumentando ainda mais a área superficial da semente e facilitando a expansão do sólido. A expansão da massa é realizada pela compressão com vapor em contato direto. Assim, os vacúolos contendo o óleo são rompidos e este fica exposto (PARAISO, 2001).

Todo o material segue para o extrator. No extrator, as lâminas e a massa obtida juntamente com o óleo entram em contato com o hexano, ocorrendo a extração de maior quantidade de óleo, gerando assim, duas correntes: a corrente líquida denominada de Miscela, a qual é formada de óleo e hexano e a corrente sólida denominada de Lex, que é uma torta constituída de farelo de soja, óleo residual, hexano e umidade (PARAISO, 2001).

A corrente líquida passa por um processo de separação do óleo do hexano denominado de destilação da Miscela, que é constituída por um conjunto de operações de evaporação e de *stripping*. O óleo bruto obtido segue para o refino e o hexano retorna ao extrator. Já a corrente sólida (Lex), segue para a operação denominada de dessolventização/tostagem, em que com a presença de vapor direto e indireto produz um farelo úmido com excelente qualidade nutricional para a alimentação animal. O farelo úmido livre de hexano segue para o secador. A mistura de vapor de água e hexano sai no topo do dessolventizador/tostador, sendo utilizada na destilação da Miscela, aproveitando o seu potencial energético (PARAISO, 2001).

A secagem do farelo úmido é uma forma de aumentar o tempo de validade deste produto, já que não é consumido de imediato e contém quantidades expressivas de proteínas e carboidratos. O processo de secagem é obtido com um tratamento térmico do farelo, que é aquecido por contato indireto num secador rotativo até 100 °C. As correntes produzidas neste equipamento são a gasosa – constituída por vapor d'água e pequena quantidade de ar que entra nas zonas de carga e descarga do equipamento, e a sólida – constituída pelo farelo seco (PARAISO, 2001).

2.3 ENZIMAS

As enzimas são catalisadores biológicos de extraordinária eficiência. Elas não apenas têm habilidade de fazer com que as reações ocorram muito mais rapidamente do

que elas ocorreriam, mas elas têm também a habilidade de exercer uma influência quiral dramática na reação. As enzimas fazem isso por que elas também são quirais, e elas possuem um sítio ativo onde as moléculas do reagente são momentaneamente ligadas enquanto a reação ocorre. O sítio ativo é quiral, e apenas um enantiômero de um reagente quiral encaixa-se nele apropriadamente e é capaz de sofrer a reação (SOLOMONS e FRYHLE, 1934).

As enzimas são nomeadas e classificadas de acordo com um sistema internacional estabelecido. Esse sistema divide as enzimas em seis grandes classes, cada uma com subclasses, conforme o tipo de reação catalisada, conforme a Tabela 4. A cada enzima é atribuído um número classificatório de quatro dígitos e um nome sistemático, que identifica a reação que ela catalisa (LEHNINGER, 1934).

Tabela 4 - Classificação internacional das enzimas.

Classe	Tipo de reação catalisada
Oxirredutases	Transferência de elétrons (íons hidretos ou átomos de H)
Transferases	Reações de transferência de grupos
Hidrolases	Reações de hidrólise (transferência de grupos funcionais para a água)
Liasas	Adição de grupos às duplas ligações ou formação de duplas ligações por meio de remoção de grupos
Isomerases	Transferência de grupos dentro da mesma molécula para formar isômeros
Ligases	Formação de ligações do tipo C-C, C-S, C-O e C-N por meio de reações de condensação acopladas à quebra do ATP

Fonte: LEHNINGER, (1985).

As primeiras enzimas proteolíticas utilizadas na indústria alimentícia foram as proteases pancreáticas de origem animal, apesar das enzimas de origem bacteriana e fúngica estarem adquirindo maior importância. Na Tabela 5 encontram-se algumas das proteases comerciais de grau alimentício disponíveis no mercado. Estas soluções são misturas de enzimas e normalmente são vendidas em estado líquido ou *pellets* secos (GUADIX *et al.*, 2000).

Tabela 5 – Características de algumas enzimas comerciais.

Enzima	Origem	Estabilidade	
		pH	Temperatura (°C)
Alcalase 0,6L	<i>B. licheniformis</i>	4<pH<11,5	50<T<60
Neutrase	<i>B. subtilis</i>	6<pH<8	45<T<55
Protease 660L	<i>B. subtilis</i>	7<pH<10	50<T<70
Fungal-Protease	<i>A. oryzae</i>	6<pH<9	45<T<55
P.E.M 25000 S	tripsina suína		30<T<60
	tripsina bovina	6<pH<10	25<T<45
	quimiotrip. bovina		
Corolase PP	tripsina		
	quimiotripsina	7<pH<9	45<T<55
Corolase PS	<i>A. oryzae</i>	5<pH<7	50<T<60
Corolase 7089	<i>B. subtilis</i>	6<pH<8,5	55<T<60
Corolase 7092	<i>A. oryzae</i>	6<pH<9	35<T<45
Corolase 7093	<i>A. oryzae</i>	7<pH<9	40<T<50
Corolase 7107	<i>A. niger</i>	2<pH<3	30<T<50
Bromelina Takamina	vegetal	4<pH<9	20<T<65
Papaína Takamina	vegetal	6<pH<8	20<T<75

Fonte: GUADIX *et al.*, (2000).

As enzimas apresentam ampla utilização na indústria alimentícia, principalmente em processos de maceração de vegetais e frutas para a produção de néctares e purês, no processamento de produtos cárneos (tenderização), na produção de queijos, na extração e clarificação de sucos de frutas e vinho, na desengomagem de fibras naturais e na recuperação de óleos vegetais. São utilizadas também nas indústrias de papel e celulose, têxtil (biopolimento do jeans) e na produção de rações animais. As enzimas, tais como poligalacturonase e pectinase, entre outras, são utilizadas nas indústrias de suco de frutas para diminuir a viscosidade do mesmo, contribuindo para o aumento do seu fluxo nos processos que empregam membrana (MUTLU *et al.*, 1999). No campo da comercialização de enzimas, o Brasil é ainda, basicamente consumidor de produtos importados, apesar de todo o seu potencial (COELHO, 2001).

2.4 HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DE PROTEÍNAS

As proteínas podem ser quebradas em peptídios de diferentes tamanhos moleculares e aminoácidos livres como resultado da clivagem de ligações peptídicas. Esta degradação, chamada hidrólise, pode ser realizada por enzimas, ácidos ou álcalis. As hidrólises ácida ou alcalina tendem a ser um processo difícil de se controlar e resulta em produtos com reduzidas qualidades nutricionais (CLEMENTE, 2000). A hidrólise ácida e alcalina são totalmente inespecíficas, podendo destruir aminoácidos como triptofano, lisina, treonina e causar a racemização da maioria dos aminoácidos, comprometendo o valor nutricional da proteína (ADLER-NISSEN, 1985).

A hidrólise enzimática é desenvolvida sob condições suaves de pH (entre 6 e 8) e temperatura (entre 40 e 60 °C), evitando os extremos usualmente necessários para os tratamentos físicos e químicos, e minimizando reações paralelas. O uso de enzimas permite um bom controle da hidrólise e, assim, das propriedades dos produtos resultantes. A composição global dos hidrolisados enzimáticos em aminoácidos é semelhante à do material inicial, e além disso, os hidrolisados protéicos mostram vantagens tecnológicas, como melhor solubilidade, estabilidade térmica e relativamente alta resistência à precipitação por agentes como íons metálicos e pH. (CLEMENTE, 2000).

Os hidrolisados de proteínas, para fazerem parte de uma dieta alimentar, devem apresentar as seguintes características: serem osmoticamente equilibrados e hipoalergênicos, apresentarem um alto valor nutritivo, comparado com a proteína de partida e possuírem um sabor agradável (GUADIX *et al.*, 2000).

A utilização de proteases específicas apresenta algumas vantagens sobre a hidrólise alcalina ou ácida, como a especificidade, o controle do grau de hidrólise, as condições moderadas de ação, o menor conteúdo de sal no hidrolisado final e, ainda, a formação mínima de subprodutos (MANNHEIM e CHERYAN, 1992; PEARCE, 1995).

Além disto, como as enzimas podem ser empregadas, geralmente, em concentrações muito baixas, sua remoção do sistema da reação é frequentemente desnecessária e mais fácil do que para outros catalisadores, os quais devem ser usados em concentrações maiores (REED, 1975).

Dentre as enzimas utilizadas na hidrólise de proteínas, encontram-se as subtilisinas, que são originárias de várias espécies do gênero *Bacillus sp*, representam a segunda maior família de serino-proteases, atuam numa faixa de pH alcalino ou neutro e

apresentam ponto isoelétrico de aproximadamente 9,4 (RAO *et al.*, 1998; REED, 1975; SGARBIERI, 1996). A ação proteolítica das subtilisinas mostra preferência por ésteres de aminoácidos aromáticos e, em menor extensão, por ésteres da lisina e arginina. A ação das subtilisinas parece ocorrer principalmente nas ligações peptídicas envolvendo os grupos amino e carboxila de resíduos neutros e ácidos (BEYNON e BOND, 1989; PEREA *et al.*, 1993).

Nos estudos de STENZEL (2007), os resultados dos experimentos indicaram que as condições ótimas para a hidrólise enzimática do farelo de soja desengordurado tostado foram: temperatura de 60 °C, 100 rpm de agitação, concentração de enzima de 1% (proteína/proteína) e três horas de hidrólise, para a *Alcalase* e, concentração de enzima de 0,5% (proteína/proteína) e cinco horas de hidrólise, para a enzima *Flavourzyme*. Concluiu-se também que não existe necessidade de se corrigir o pH do meio, nem da realização de um processo de moagem mais severa do farelo, uma vez que as alterações nesses parâmetros não levaram à alterações significativas nos resultados de extração da proteína.

O processo de hidrólise enzimática tem se destacado na melhoria das propriedades funcionais das proteínas, como solubilidade, poder emulsificante, textura, tendo grande aplicabilidade em vários produtos alimentícios (ABERT e KNEIFEL, 1993; DUARTE *et al.*, 1998; CARREIRA *et al.*, 2002; SILVA *et al.*, 2003 a,b,c; VIANA *et al.*, 2004, 2005; CAPOBIANGO *et al.*, 2006). As proteases têm sido utilizadas para a modificação de proteínas, como na hidrólise de soja e outros vegetais, para a solubilização de concentrados de peixes, amaciamento de carnes, hidrólise de caseína, na melhoria da textura de queijos, aumentando assim, significativamente, a qualidade e o valor nutritivo dos produtos (CHEFTEL *et al.*, 1989).

A utilização de hidrolisados protéicos cresceu significativamente na década de 1970 principalmente para pacientes impossibilitados de digerir proteínas e na complementação alimentar de certas patologias. Para isso é necessário o conhecimento do valor nutricional do hidrolisado produzido, que depende do seu teor em pequenos peptídeos contendo determinados aminoácidos que, na forma livre, apresentam problemas com relação à estabilidade e à solubilidade. Segundo GONZÁLEZ-TELLO *et al.* (1994), os hidrolisados protéicos, para uso em dietas especiais, devem apresentar as seguintes características: alto teor de di e tripeptídeos, massa molecular média de 500 Da, para controlar a osmolalidade e não devem conter peptídeos com massa superior a 1000 Da. Assim, segundo FRENHANI e BURINI (1999), os di-tripeptídios são mais

eficientemente absorvidos que os aminoácidos livres, os quais, por sua vez, são melhores que os tetra- ou peptídios superiores. Em quantidades equivalentes de di-tripeptídios e misturas de aminoácidos livres, os di-tripeptídios apresentam velocidade de absorção aproximadamente 10 vezes maior.

Além da melhoria das propriedades funcionais e organolépticas, é possível aumentar o aproveitamento nutricional das proteínas pelo tratamento enzimático. Proteínas para uso em alimentos líquidos e bebidas devem possuir alta solubilidade no sistema. No entanto, essa é uma propriedade funcional às vezes difícil de se obter e, talvez, a que mais melhore a funcionalidade, como resultado de uma hidrólise parcial. O tipo de enzima usada e as condições da hidrólise são influenciadas pelo uso final ou pela necessidade do sistema alimentício. O aumento na solubilidade dos hidrolisados é provavelmente causada pelos menores tamanhos moleculares e correspondente aumento no número de grupos ionizáveis (amino e carboxil) expostos (STENZEL, 2007).

Um dos principais critérios na caracterização de um hidrolisado para utilização dietética é sua distribuição quanto ao tamanho dos peptídeos, pois é sabido que o comprimento da cadeia peptídica influencia a taxa de absorção (GRIMBLE *et al.*, 1986; VIJAYALAKSHIMI *et al.*, 1986). Diversos autores têm demonstrado que fórmulas contendo um elevado teor de oligopeptídeos, especialmente, di- e tripeptídeos, são utilizadas mais efetivamente pelo organismo do que uma mistura equivalente de aminoácidos livres ou a proteína intacta, apresentando assim um maior valor nutritivo (KEOHANE *et al.*, 1985, GRIMBLE *et al.*, 1986; RÉRAT, 1993; BOZA *et al.*, 2000).

Uma desvantagem encontrada no processo de hidrólise enzimática é o desenvolvimento de sabor amargo no decorrer da catálise, o qual parece estar relacionado à liberação de grupamentos hidrofóbicos que se encontravam no interior das moléculas protéicas. Esta característica representa um dos principais obstáculos na aplicação generalizada dos hidrolisados (MINAGAWA *et al.*, 1989; SAHA e HAYASHI, 2001).

Especificamente para a proteína da soja, o sabor amargo é causado por peptídeos hidrofóbicos com peso molecular menor do que 1000 Da, (KUKMAN *et al.*, 1995, 1996). A formação do sabor amargo durante a hidrólise da soja é devido à formação de frações de peptídeos com peso molecular entre 360-2100 no qual a subunidade da 11S da glicinina é geralmente hidrolisada, (KIM *et al.*, 1999).

Entretanto, vários estudos têm sido feitos para prevenir, remover, eliminar ou mascarar o sabor amargo dos peptídeos que limitam a aceitabilidade dos alimentos

protéicos. SAHA e HAYASHI (2001) citaram diversos procedimentos como tratamento com carvão ativado, extração com álcool, precipitação isoelétrica, separação cromatográfica, condensação dos peptídeos de sabor amargo utilizando protease e mascaramento do sabor amargo utilizando glutamato monossódico, polifosfatos e ciclodextrinas. Outro procedimento eficientemente utilizado é a inclusão em lipossomas e em lipoesferas para mascarar o sabor amargo de hidrolisados enzimáticos de caseína, obtidos pela ação da papaína (MORAIS *et al.*, 2004, 2005).

2.5 NÉCTARES DE FRUTAS

O Decreto nº 2314, de 04 de setembro de 1997 (BRASIL, 1997) define suco, polpa e néctar de frutas da seguinte forma:

- ✓ Suco ou sumo é a bebida não fermentada, não concentrada e não diluída, destinada ao consumo, obtida da fruta madura e sã, ou parte do vegetal de origem, por processamento tecnológico adequado, submetida a tratamento que assegure a sua apresentação e conservação até o momento do consumo.
- ✓ Polpa de fruta é o produto não fermentado, não concentrado, obtido de frutas, por processos tecnológicos adequados com teor de sólidos em suspensão mínimo, a ser estabelecido em ato administrativo do Ministério da Agricultura e do Abastecimento.
- ✓ Néctar é a bebida não fermentada, obtida da diluição em água potável da parte comestível do vegetal e açúcares ou de extrato vegetais e açúcares, podendo ser adicionada de ácidos, e destinada ao consumo direto. Não será permitida a associação de açúcares e edulcorantes hipocalóricos e não-calóricos na fabricação de néctar.

PIRILLO e SABIO (2009) afirmam que o consumidor brasileiro não sabe diferenciar o que é 100% suco de fruta e o produto que é um néctar. Segundo informações da Associação Brasileira das Indústrias de Refrigerantes e de Bebidas Não-Alcoólicas (ABIR, 2009), a grande maioria das bebidas comercializadas no País é um néctar de frutas sendo que os sabores mais comercializados são uva, pêssego e laranja.

No Brasil faltam empresas que realizem o processo de transformação da fruta *in natura* em polpa ou suco pronto. O país tem várias engarrafadoras de bebidas que colocam sua marca em produtos que em grande parte são néctares de frutas. O mercado brasileiro de sucos e néctares prontos para beber está em franca expansão, acompanhando a tendência mundial de consumo de bebidas saudáveis, convenientes e

saborosas. Dados da ABIR (2009) apontam para o consumo de 700 milhões de litros de sucos e néctares em 2012. O volume é o mesmo estimado para bebidas à base de soja. O total chegará a 1,4 bilhão de litros. Haverá um acréscimo de 600 milhões de litros em relação ao comercializado atualmente.

O mercado de alimentos líquidos é atualmente marcado pelo dinamismo do setor, com grande crescimento de consumo nas principais regiões consumidoras tanto no Brasil quanto no mundo. Além disso, existe grande diversificação de produtos, bem como o acirramento da disputa por participação de mercado, caracterizando uma crescente concorrência no setor, embora com características específicas para as diferentes categorias de bebida (PIRILLO e SABIO, 2009).

2.6 ANÁLISE SENSORIAL

Análise sensorial é a disciplina científica usada para evocar, medir, analisar e interpretar reações às características dos alimentos e materiais partindo da maneira como são percebidas pelos sentidos da visão, olfato, gosto, tato e audição (ABNT, 1993).

MONTEIRO (2005) destaca as aplicações da análise sensorial:

- ✓ Controle da qualidade de alimentos e bebidas produzidos por qualquer tipo de estabelecimento desde pequenos fabricantes até grandes indústrias, passando por restaurantes e demais unidades de alimentação coletiva.
- ✓ Desenvolvimento de novos produtos.
- ✓ Identificação das expectativas e das preferências de consumidores.
- ✓ Acompanhamento da vida de prateleira do produto, para identificação do prazo de validade dentro do qual o produto mantém suas características organolépticas inalteradas.
- ✓ Controle de qualidade de matérias primas e insumos em geral.

Os testes sensoriais se dividem em testes analíticos (diferença e descritivo) e testes afetivos. Os testes analíticos são realizados normalmente com provadores selecionados e treinados, que deverão fazer uma avaliação objetiva sobre os produtos, sem considerar suas opiniões pessoais sobre estes. Já os testes afetivos são aplicados a provadores não treinados e, nesse caso, a opinião pessoal deverá prevalecer nos testes (MONTEIRO, 2005). A principal vantagem da aplicação dos testes de aceitação é a

possibilidade de transformar dados subjetivos em objetivos, e obter informações importantes sobre o grau com que as pessoas gostam ou não de um determinado produto (STONE e SIDEL, 1993).

Um dos tipos de teste afetivo é o teste de escala hedônica que apresenta uma grande aplicabilidade na análise sensorial afetiva para indentificar preferência por um determinado produto, quando comparado com outros similares. Para a realização deste teste serão necessários no mínimo vinte degustadores que não necessitam de nenhum tipo de treinamento, normalmente uma rápida explicação antes do início do teste é suficiente para um bom entendimento. As amostras codificadas (codificação aleatória) são fornecidas ao degustador juntamente com a ficha de avaliação, a caneta, um copo de água pura e se a amostra tiver um sabor intenso, deve ser fornecido um produto de sabor neutro, como pão ou biscoito *cracker* (MONTEIRO, 2005).

Os dados obtidos em um teste de aceitação utilizando escala hedônica podem ser avaliados por vários métodos estatísticos como a análise da distribuição de frequências dos valores obtidos por cada amostra no teste de escala hedônica (análise de histogramas) e a análise de variância (ANOVA), seguida de outros procedimentos estatísticos, dentre os quais o teste de médias de Tukey que permite verificar se há diferença significativa entre as médias (MEILGAARD, CIVILLE, 1987; STONE e SIDEL, 1993).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 MATERIAIS

3.1.1 Farelo de soja

O farelo de soja desengordurado tostado utilizado nos experimentos possui em torno de 47% de proteína e foi cedido pela indústria de extração de óleos da Cocamar, situada em Maringá, Paraná. Após a extração do óleo, o farelo foi submetido à dessolventização com vapor. Neste ponto do processo o farelo foi coletado à temperatura em torno de 60 °C para a solubilização enzimática realizada neste trabalho.

3.1.2 Enzima

A enzima *Alcalase* é fabricada pela Novozymes Latin America Ltda e foi fornecida pela empresa Tovani Benzaquen Representações Ltda, localizada em São Paulo-SP.

Conforme informações contidas na ficha técnica do produto, a *Alcalase* é uma enzima proteolítica produzida por fermentação submersa de uma cepa selecionada do *Bacillus licheniformis*. É uma protease bacteriana altamente eficiente desenvolvida para a hidrólise de todos os tipos de proteínas. O principal componente enzimático, a Subtilisina A, é uma endoproteínase com condições ótimas de temperatura 55 e 70 °C, dependendo do tipo do substrato, e pH entre 6 e 8. Sua atividade declarada é de 2,4 Unidades Anson por g (AU/g), em que uma Unidade Anson equivale a um miliequivalente de tirosina liberada na hidrólise de hemoglobina por minuto.

A *Alcalase* pode ser inativada em 30 minutos na temperatura de 50 °C ou em temperatura mais alta quando o pH for de 4, e em 10 minutos na temperatura de 85 °C ou mais alta, quando o pH for igual a 8. No entanto, a inativação é muito dependente do substrato (concentração do substrato, pH, etc.).

Para a dosagem de proteína da enzima, foi utilizada uma diluição de 1 mL da solução enzimática em 100 mL de água destilada e a concentração de proteína foi determinada pelo Método de Lowry (LOWRY *et al.*, 1951).

3.1.3 Néctares de frutas

Os néctares utilizados foram da marca Purity, envasados pela indústria da Cocamar na unidade de Maringá, Paraná. São bebidas naturais e prontas para o consumo, adquiridas no comércio em embalagens de 1 L.

Os sabores dos néctares de frutas utilizados foram: pêssgo, goiaba e uva. Segundo informações nutricionais contidas nas embalagens desses produtos, a quantidade de proteína presente em uma porção de 200 mL (1 copo) de néctar é de 0 gramas.

3.2 MÉTODOS

3.2.1 Secagem

Após a coleta, o material foi submetido ao processo de secagem em secador convectivo, apresentado na Figura 3.

O módulo experimental consistia de um soprador de ar aquecido conforme o ajuste das resistências elétricas. A temperatura do ar foi ajustada em 50 °C e a velocidade do ar em 0,9 m/s. O material permaneceu sobre a bandeja do secador por um tempo de 3,5 a 4 horas, até que o peso do material se mantivesse constante.

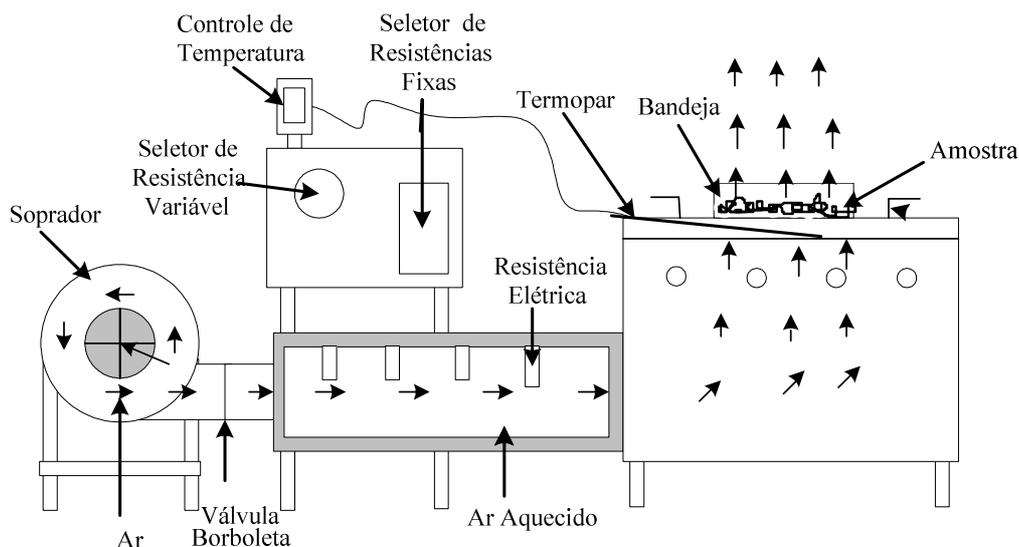


Figura 4 - Módulo experimental, sistema convectivo. Fonte: LUZ, 2006.

3.2.2 Análise granulométrica do farelo de soja

Após a secagem do material, o farelo de soja foi submetido ao processo de peneiramento para a análise de partículas. O conjunto de peneiras utilizadas foi da série Tyler nos seguintes *mesh*: 10, 12, 16 e 28. As peneiras eram colocadas umas sobre as outras e posicionadas sobre uma máquina de ensaio vibrando vertical e horizontalmente. O procedimento era seguido até que a massa das peneiras com o material retido se mantivesse constante.

Os resultados da análise granulométrica obtidos foram ajustados aos modelos de distribuição Rosin-Rammler-Bennet (RRB), Gates-Gaudin-Schulman (GGS) e Log-Normal, apresentados na Tabela 6. A escolha do melhor modelo que representasse a amostra foi feita através do coeficiente de correlação (R^2) que mais se aproximasse da unidade. A partir do modelo escolhido, calculou-se o diâmetro médio de Sauter do material a fim de caracterizá-lo a partir das equações demonstradas na Tabela 7 (FRARE *et al.*, 2000).

Tabela 6 – Modelos de distribuição granulométrica.

Modelo	Parâmetros	Equações
Gates-Gaudin-Schumann (GGS)	K, m	$X = \left(\frac{D}{k}\right)^m$
Rosin-Rammler-Bennet (RRB)	D', n	$X = 1 - e^{-(D/D')^n}$
Log-normal	D ₅₀ , σ	$X = (1 + \operatorname{erf}(z))/2$ $z = \ln(D/D_{50})/(\sqrt{2} \cdot \ln \sigma)$ $\operatorname{erf}(z) = \frac{2}{\sqrt{\pi}} \int_0^z e^{-z^2} \cdot dz$

Fonte: FRARE *et al.*, (2000).

Tabela 7 – Diâmetro médio de Sauter para modelos de distribuição.

Modelo	Diâmetro médio de Sauter
Gates-Gaudin-Schumann (GGS)	$D_{\text{Sauter}} = \frac{(m-1)k}{m}, m > 1$
Rosin-Rammler-Bennet (RRB)	$D_{\text{Sauter}} = \frac{D'}{\Gamma(1-1/n)}, n > 1$
Log-normal	$D_{\text{Sauter}} = D_{50} \cdot \exp\left[-\frac{\ln^2 \sigma}{2}\right]$

Fonte: FRARE *et al.*, (2000).

3.2.3 Solubilização enzimática

A metodologia seguida foi baseada no estudo e nos resultados de STENZEL (2007). Nesse trabalho, foram determinadas as condições ótimas para extração da proteína do farelo de soja desengordurado tostado utilizando a enzima *Alcalase*. Outras conclusões referentes a esse estudo foram que não existe necessidade de se corrigir o pH do meio, nem de uma moagem mais severa do farelo, pois as alterações nesses parâmetros não levaram a alterações significativas nos resultados de solubilização da proteína do farelo de soja.

Os ensaios foram realizados em triplicata. As dispersões foram preparadas em frascos *erlenmeyers* utilizando-se 10 g de farelo de soja em 100 mL de água destilada. A solubilização enzimática foi realizada no pH da suspensão, que era próximo de 6,5. Nessa etapa de preparação, retirava-se uma alíquota da amostra para a quantificação de proteína solúvel presente na solução. Acrescentou-se à dispersão a enzima *Alcalase* na concentração de 1% massa/massa. Os frascos *erlenmeyers* foram levados a uma incubadora que havia sido ajustada a temperatura de 60 °C e 100 rpm de agitação, onde permaneceram por um período de 3 horas. Após finalizada a reação de hidrólise, os recipientes foram imersos em um banho de gelo para a inativação da enzima e assim encerrar a atividade catalítica enzimática. Ao final desse procedimento, o material era filtrado e retirava-se uma alíquota a fim de determinar a quantidade de proteína solubilizada e o grau de hidrólise da reação.

Para cada ensaio era feita uma reação controle, ou seja, nas mesmas condições do experimento, porém sem a adição da enzima. O objetivo desse procedimento foi determinar a quantidade de proteína solubilizada pela enzima e compará-la com a quantidade que foi solubilizada pela água.

3.2.4 Determinação do teor de proteína

A quantidade de proteína solubilizada foi determinada a partir da concentração de proteína em solução, obtida por meio do Método de Lowry (LOWRY *et al.*, 1951) após o processo de hidrólise enzimática do farelo de soja. Este método é bastante utilizado para medidas de teor de proteína e baseia-se na interação das proteínas com os reagentes de fenol e de cobre em condições alcalinas. A reação colorimétrica envolve uma oxidação, catalisada por cobre, de aminoácidos aromáticos por um reagente heteropolifosfato (fosfotungístico-fosfomolibídico), desenvolvendo uma cor azul. O método apresenta sensibilidade para uma faixa de 10 a 200 µg de proteína presente na amostra.

O método consiste em adicionar 5 mL de reagente de cobre (solução de tartarato de sódio e potássio 4% e solução de sulfato de cobre pentahidratado 2% em solução de carbonato de sódio 2% em hidróxido de sódio 0,1 N) em 0,1 mL da amostra e 0,4mL de água destilada. Espera-se 10 minutos e adiciona-se o reagente de fenol (reagente Folin-Ciocalteu diluído 1:3). Após 10 minutos, que é o tempo para o reagente interagir com as proteínas, faz-se a leitura da absorvância a 625 nm e o valor é comparado com a curva padrão de concentração de proteína. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro Shimadzu modelo UV-1601PC.

A curva padrão de proteína foi construída a partir de uma solução de albumina bovina com concentração 2 mg/mL. Foram preparadas novas soluções com concentração de 0,0 até 2,0 mg/mL, diluindo-se a solução inicial. Foram seguidos os procedimentos do Método de Lowry (LOWRY *et al.*, 1951) e a absorvância medida de cada solução foi plotada em função da concentração de proteína em mg/mL.

3.2.5 Determinação do grau de hidrólise da reação

Utilizou-se o método trinitrobenzenosulfônico (TNBS) para a determinação do grau de hidrólise da reação, que é definido como o número de ligações peptídicas

clivadas durante a reação enzimática (ADLER-NISSEN, 1981). Este método se baseia na reação do ácido TNBS e os grupos α -aminos livres formados. A curva padrão para a determinação da razão de aminoácidos livres no sobrenadante da hidrólise foi construída a partir de uma solução de isoleucina em concentração inicial de 1,5 mM. Foram preparadas soluções contendo concentrações diferentes de isoleucina, de 0 a 1,5 mM, e cada uma delas foi submetida à reação TNBS e medidas suas absorvâncias no espectrofotômetro Shimadzu modelo UV-1601PC.

Foram preparados tubos de ensaio previamente envoltos em papel alumínio (pois o aumento da leitura é estimulado pela luz) contendo 2 mL da solução tampão fosfato 0,2125M e adicionava-se 0,25 mL da amostra. Acrescentava-se 2 mL da solução de TNBS 0,1%. Depois de agitados, os tubos eram imersos em banho térmico de água a 50 °C por 1 hora. A reação TNBS foi resfriada a temperatura ambiente durante 30 minutos. As amostras foram retiradas dos tubos e as absorvâncias foram lidas a 340 nm no espectrofotômetro Shimadzu modelo UV-1601PC.

A hidrólise completa do farelo de soja foi realizada colocando-se de 8 a 9 mg do material em tubos de ensaio contendo 2 mL de solução de HCl 6N, que foram mantidos em estufa a 104 °C por 22 horas. Depois, seguiu-se o procedimento descrito anteriormente.

O grau de hidrólise (GH) foi calculado pela Equação 1:

$$GH = \frac{h}{h_{\text{total}}} \times 100\% \quad (1)$$

em que, h é o número de ligações peptídicas clivadas, definido como a concentração em miliequivalente/g dos grupos α -amino protéicos formados durante a hidrólise, e h_{total} é o número de ligações peptídicas clivadas na hidrólise completa do substrato.

3.2.6 Análise microbiológica

A análise microbiológica dos hidrolisados protéicos foi realizada no Laboratório Microbiologia e Microscopia de Alimentos do Departamento de Análises Clínicas da Universidade Estadual de Maringá. As análises realizadas foram coliformes totais e fecais, verificação de *Salmonella spp* e contagem de bolores e leveduras. Para a

realização das análises foram seguidas as recomendações do Bacteriological Analytical Manual (FDA, 1995).

Quanto à contagem de bolores e leveduras, os resultados obtidos foram confrontados com os padrões microbiológicos estabelecidos para a Farinha Desengordurada de Soja, Proteína Texturizada de soja, Proteína Concentrada de Soja, Proteína Isolada de Soja e Extrato de Soja da Resolução nº 14 de junho de 1978 da Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos (CNNPA) do Ministério da Saúde (BRASIL, 1978), conforme apresentado na Tabela 8.

Tabela 8 – Níveis microbiológicos permitidos, conforme Resolução nº14.

Exame Microbiológico	Nível microbiológico permitido
Bolores (UFC/mL)	1000
Leveduras (UFC/mL)	1000

Fonte: BRASIL, (1978).

Para o exame de coliformes totais e fecais e de presença de *Salmonella spp*, os resultados obtidos foram confrontados com os padrões microbiológicos estabelecidos pelo Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos contido na Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), Ministério da Saúde (BRASIL, 2001). A Tabela 9 apresenta os valores máximos permitidos pela legislação pertinente.

Tabela 9 – Níveis microbiológicos permitidos, conforme Resolução RDC nº12.

Exame Microbiológico	Nível microbiológico permitido
Coliformes totais (NMP/mL)	100
Coliforme fecais (NMP/mL)	10
<i>Salmonella spp</i> em 25 mL	Ausente

Fonte: BRASIL, (2001).

3.2.7 Análise sensorial

Foi realizada a análise sensorial dos hidrolisado adicionado ao néctar de frutas para avaliar o sabor dos sobrenadantes das reações de hidrólise utilizando o teste de aceitabilidade do tipo Escala Hedônica, descrito por MONTEIRO (2005). Nesse método a escala expressa o grau de gostar ou desgostar da amostra-teste.

O teste foi realizado das 8:30 às 11h do dia 04 de setembro de 2009, na sala 113 do bloco D67 da UEM. Normalmente, a análise sensorial é feita em laboratórios próprios para este tipo de teste. Porém, pela necessidade de um número relativamente grande de provadores, foi escolhido um ambiente que houvesse maior facilidade em encontrarmos possíveis degustadores não treinados.

As amostras foram preparadas misturando-se o hidrolisado protéico de farelo de soja nas proporções de 25, 50 e 80% aos néctares nos sabores goiaba, pêsego e uva, totalizando assim, 9 produtos diferentes.

Esse teste foi realizado por 50 consumidores escolhidos ao acaso. As amostras foram servidas em copos descartáveis com capacidade de 50 mL a uma temperatura de 10°C para que o consumidor pudesse fazer uma avaliação quanto o sabor do produto.

Dos nove produtos preparados cada degustador recebeu 5 amostras diferentes, as quais foram apresentadas simultaneamente e codificadas (codificação aleatória). Recebeu ainda um copo com água, uma caneta e a ficha de avaliação apresentada na Figura 5. Solicitou-se aos provadores que avaliassem as amostras da esquerda para a direita com a opção de repetir a avaliação das amostras já avaliadas, se necessário. O provador marcava os números das amostras na ficha, nos quadros à direita e à esquerda, atribuía notas de acordo com a escala apresentada na própria ficha, que variava de “desgostei muitíssimo” até “gostei muitíssimo”.

Laboratório de análise sensorial		
Nome: _____		Data: / /
<p>Prove as amostras na seqüência apresentada, da esquerda para a direita. Coloque os números nos quadros abaixo a esquerda e atribua um valor de 1 a 9 de acordo com a escala:</p>		
AMOSTRA	VALOR	ESCALA
<input style="width: 100px; height: 20px;" type="text"/>	<input style="width: 100px; height: 20px;" type="text"/>	9 - Gostei MUITÍSSIMO 8 - Gostei Muito 7 - Gostei Moderadamente 6 - Gostei Ligeiramente 5 - Nem Gostei / Nem desgostei 4 - Desgostei Ligeiramente 3 - Desgostei Moderadamente 2 - Desgostei Muito 1 - Desgostei MUITÍSSIMO
<input style="width: 100px; height: 20px;" type="text"/>	<input style="width: 100px; height: 20px;" type="text"/>	
<input style="width: 100px; height: 20px;" type="text"/>	<input style="width: 100px; height: 20px;" type="text"/>	
<input style="width: 100px; height: 20px;" type="text"/>	<input style="width: 100px; height: 20px;" type="text"/>	
Comentários: _____		

Figura 5 – Modelo de ficha para aplicação do teste com escala hedônica. Fonte: MONTEIRO, (2005).

3.2.8 Análise estatística

Uma vez finalizado o teste, as notas obtidas no teste sensorial dos produtos passaram por uma análise de variância. Para a realização dessa análise é possível a realização de cálculos manuais, ou por uma diversidade de softwares estatísticos, porém aqui foram utilizadas planilhas do MS Excel para essa tarefa.

Uma vez obtida a análise de variância fez-se um comparativo das médias dos produtos através do teste de Tukey a 5% de probabilidade para evidenciar qual ou quais produtos tiveram maior ou menor aceitação.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 ANÁLISE GRANULOMÉTRICA DO FARELO DE SOJA

Após o peneiramento do farelo de soja até massa constante, calculou-se os valores da fração em massa retida, da fração em massa acumulada de grossos e finos a partir dos valores de massa de farelo de soja retida em cada peneira e os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 10.

Tabela 10 – Resultados obtidos a partir do peneiramento.

Sistema Tyler	Abertura D# (mm)	Diâmetro médio (mm)	Massa de farelo retida (g)	Fração mássica	Fração mássica <D, X	Fração mássica >D, X	Fração Mássica / Diâmetro Médio
mesh 10	1,68	2,37588	161,21	0,45092	0,54906	0,4509	0,18979
						2	
mesh 12	1,41	1,545	8,90	0,02489	0,52418	0,4758	0,01611
						2	
mesh 16	1,00	1,205	92,96	0,26002	0,26416	0,7358	0,21578
						4	
mesh 28	0,59	0,795	56,46	0,15793	0,10623	0,8937	0,19865
						6	
Fundo	0,00	0,295	37,98	0,10623	0,00000	1,0000	0,36012
						0	
Total			357,51	1,00000			0,98046

A partir do somatório dos valores de fração mássica dividida pelo diâmetro médio, calculou-se o diâmetro de Sauter pela Equação 2:

$$D_{\text{Sauter}} = \frac{1}{\sum \left(\frac{\text{Fração Mássica}}{\text{Diâmetro Médio}} \right)} \quad (2)$$

$$D_{\text{Sauter}} = 1,01993 \text{ mm}$$

Com os valores apresentados na Tabela 10, construiu-se o histograma de distribuição de frequência, mostrado na Figura 6.

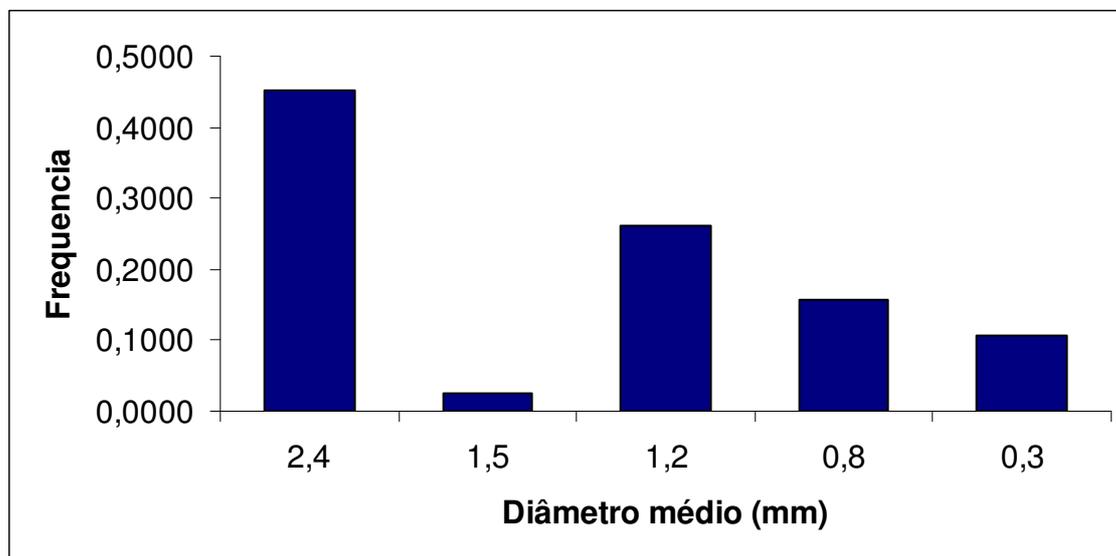


Figura 6 – Histograma de distribuição de frequência para o peneiramento.

Na Figura 6, observa-se que, com o conjunto de peneiras utilizadas, a maior parte das partículas ficou retida na peneira de *mesh* 10, seguido das peneiras de *mesh* 16, 28, fundo e 12. Isso significa que aproximadamente 45% das partículas da amostra analisada tem diâmetro médio de 2,37588 mm.

Um fato observado nessa etapa foi a aglomeração de algumas partículas após a coleta do material ainda úmido e quente. No processo de peneiramento, esses grumos formados ficaram retidos na peneira de *mesh* 10, fazendo com que a fração de partículas retidas nessa peneira fosse maior do que nas outras peneiras do conjunto.

Os dados de distribuição granulométrica da amostra de farelo de soja foram ajustados aos modelos apresentados na Tabela 6. As Tabelas 11 a 13 representam os valores obtidos para cada um dos modelos apresentados.

Tabela 11 – Dados referentes ao modelo de distribuição GGS.

Reta	$\ln X = 1,6521 \ln D - 1,3429$	
Coefficiente de correlação (R^2)	0,9827	
Parâmetros		
	m	1,6521
	k	2,2543
Diâmetro de Sauter (mm)	0,889794219	

Tabela 12 – Dados referentes ao modelo de distribuição RRB.

Reta	$\ln[\ln(1/(1-X))] = 1,975 \ln D - 1,1386$	
Coefficiente de correlação (R^2)	0,9837	
Parâmetros		
	n	1,975
	D'	1,7798
Diâmetro de Sauter (mm)	0,991644325158	

Tabela 13 – Dados referentes ao modelo de distribuição Log-Normal.

Reta	$\ln D = 0,7053 z + 0,3823$	
Coefficiente de correlação (R^2)	0,9782	
Parâmetros		
	α	0,7053
	β	0,3823
	D_{50}	1,465651715
	σ	2,02445393
Diâmetro de Sauter (mm)	1,142908072	

Analisando o valor do coeficiente de correlação (R^2) de cada modelo, observa-se que o valor mais próximo de 1 se refere ao modelo Rosin-Rammler-Bennet. Portanto, o valor que melhor representa o diâmetro de Sauter da amostra de farelo de soja é 0,9916 mm.

4.2 DETERMINAÇÃO DO TEOR DE PROTEÍNA

Para a aplicação do Método de Lowry, foi necessário construir uma curva padrão de albumina bovina partindo de uma solução com concentração inicial de 2 mg/mL, apresentada na Figura 7.

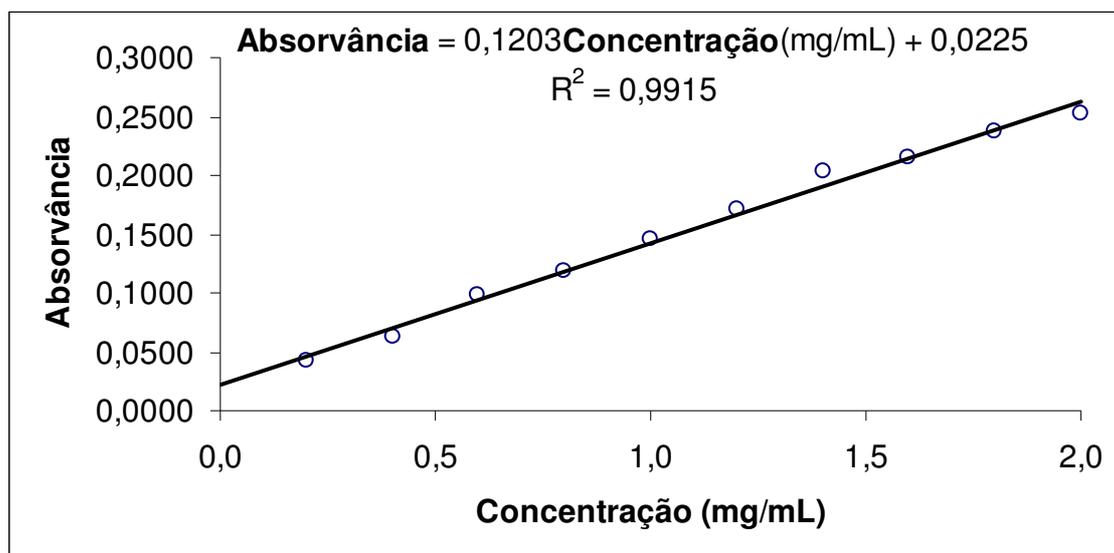


Figura 7 – Curva padrão de albumina bovina.

Após a hidrólise enzimática, determinou-se a quantidade de proteína solubilizada. A reação controle feita nas mesmas condições que a hidrólise enzimática apresentou uma concentração de proteína de 7,06 mg/mL. Já o sobrenadante da reação enzimática apresentou uma concentração protéica de 28,16 mg/mL. Considerando que o farelo de soja possui 47% de proteína, a enzima *Alcalase* solubilizou 60% da proteína presente, enquanto a água solubilizou apenas 15% da proteína inicial.

Em um estudo utilizando as mesmas condições de ensaio do presente trabalho STENZEL (2007) obteve uma concentração de proteína solubilizada do farelo de soja de 23,45 mg/mL, ou seja, 50% da proteína inicialmente presente no material foi solubilizada. Essa diferença de porcentagem de proteína solubilizada pode ter alguma relação com a enzima utilizada, uma vez que não eram do mesmo lote de fabricação. Outro fato relevante a ser mencionado é que apesar do farelo de soja ser fornecido pela mesma indústria em ambos os trabalhos, podem ter ocorrido modificações em alguma etapa do processo de produção do farelo, podendo assim afetar sua composição química e física.

ROSENTHAL *et. al* (1999), realizando hidrólise de farinha de soja integral tratada termicamente, com protease, obtiveram solubilização em torno de 65% do material protéico inicialmente presente. As condições utilizadas nesses ensaios foram temperatura de 50°C, uma hora em pH 5,0 e 15 minutos em pH 8,0. Um fato a ser salientado é que o ponto isoelétrico (pH em que ocorre a precipitação das proteínas) da proteína de soja é em torno de 4,5 então reações que ocorrem em pH maiores tendem a um aumento na quantidade de proteína solubilizada.

4.3 DETERMINAÇÃO DO GRAU DE HIDRÓLISE DA REAÇÃO

Para a determinação do grau de hidrólise pelo Método TNBS, foi construída uma curva padrão de isoleucina a partir de uma solução com concentração inicial de 1,5 mM, conforme apresentado na Figura 8.

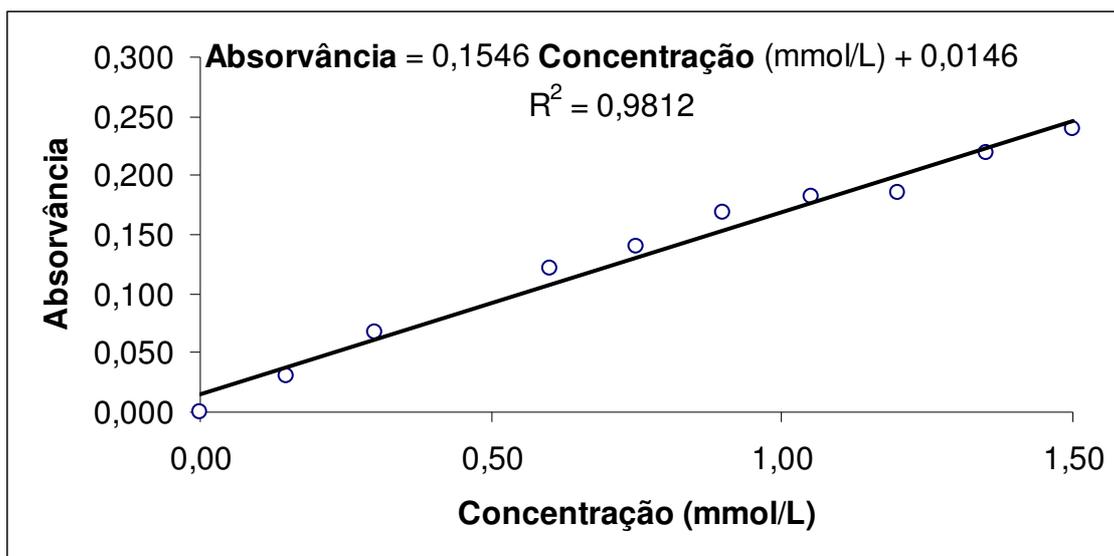


Figura 8 – Curva padrão de isoleucina.

Utilizando a Eq. 1, o grau de hidrólise da reação determinado foi de 28%. Um alto valor já era esperado, uma vez que se a enzima é capaz de solubilizar a proteína, formando peptídeos menores e mais solúveis, então a quantidade de ligações peptídicas quebradas é grande, resultando em um alto valor de GH.

HRČKOVÁ *et al.* (2002), determinaram o grau de hidrólise utilizando o reagente de ninhidrina, que reage com os grupamentos amino livres presentes no sobrenadante da reação. Empregando uma dispersão com 5 % de farinha

desengordurada de soja a 40 ° C e pH 8,0, o grau de hidrólise encontrado após 8 horas de reação foi 35,1%. Nesse mesmo trabalho, foram utilizados também hidrolisados pelas enzimas *Flavourzyme*, GH 39,5% e *Novozym*, GH 33,3%.

MOLINA-ORTIZ e AÑON (2001) prepararam dispersões de isolados de proteína de soja (30 mg/mL) em pH 8,0, utilizando as enzimas *cucurbita* e *pomiferin* (ambas do tipo serina). O grau de hidrólise foi determinado pelo método TNBS após 2 horas de reação: 12 e 22%, respectivamente. E, depois de 6 horas de reação, observaram um aumento no GH em ambos os casos, 20 e 45%, respectivamente.

4.4 ANÁLISE MICROBIOLÓGICA

Na Tabela 14, encontram-se os resultados obtidos para a análise microbiológica dos hidrolisados protéicos e os níveis microbiológicos permitidos estabelecidos pela Resolução nº 14 (BRASIL, 1978) e pela Resolução RDC nº 12 (BRASIL, 2001).

Tabela 14 – Características microbiológicas da proteína solubilizada do farelo de soja.

Exame Microbiológico	Reação Controle	Solubilizado Protéico	Nível Microbiológico Permitido
Bolores (UFC/mL)	10	10	1000
Leveduras (UFC/mL)	<10	<100	1000
Coliformes totais (NMP/mL)	<0,3	0,4	100
Coliformes fecais (NMP/mL)	<0,3	<0,3	10
<i>Salmonella spp</i> (em 25mL)	Ausente	Ausente	Ausente

Observando a Tabela 14, verifica-se a presença de contaminantes. Esse fato pode ter relação com o processo industrial que é feito em ambiente aberto ou ainda com a manipulação do farelo ao longo do processo. Porém, os valores dos resultados apresentados nas análises encontram-se abaixo do nível microbiológico estipulado nas legislações vigentes Resolução nº14 (BRASIL, 1978) e Resolução RDC nº 12 (BRASIL, 2001).

Analisando a contagem de bolores e leveduras da reação controle e do solubilizado protéico, concluiu-se que a adição da enzima no meio reacional não interferiu relevantemente nos parâmetros microbiológicos analisados. Isso se deve as condições de temperatura e agitação utilizadas nos ensaios, que limitaram o crescimento de microorganismos.

4.5 ANÁLISE SENSORIAL

Na Tabela 15 são apresentados os resultados referentes ao teste de aceitabilidade dos solubilizados protéicos do farelo de soja adicionados aos néctares de frutas.

Tabela 15 – Resultados da análise sensorial.

Grupo	Número de Provedores	Soma das Notas	Média das Notas	Variância
Goiaba 25%	25	179	7,16	2,72
Pêssego 25%	27	170	6,30	3,45
Uva 25%	30	209	6,97	2,38
Goiaba 50%	29	152	5,24	3,55
Pêssego 50%	28	130	4,64	3,35
Uva 50%	27	124	4,59	5,20
Goiaba 80%	28	71	2,54	2,93
Pêssego 80%	29	76	2,62	2,67
Uva 80%	27	62	2,30	1,45

No gráfico mostrado na Figura 9, são apresentadas as médias das notas referentes ao teste de análise sensorial dos hidrolisados adicionados aos néctares de frutas.

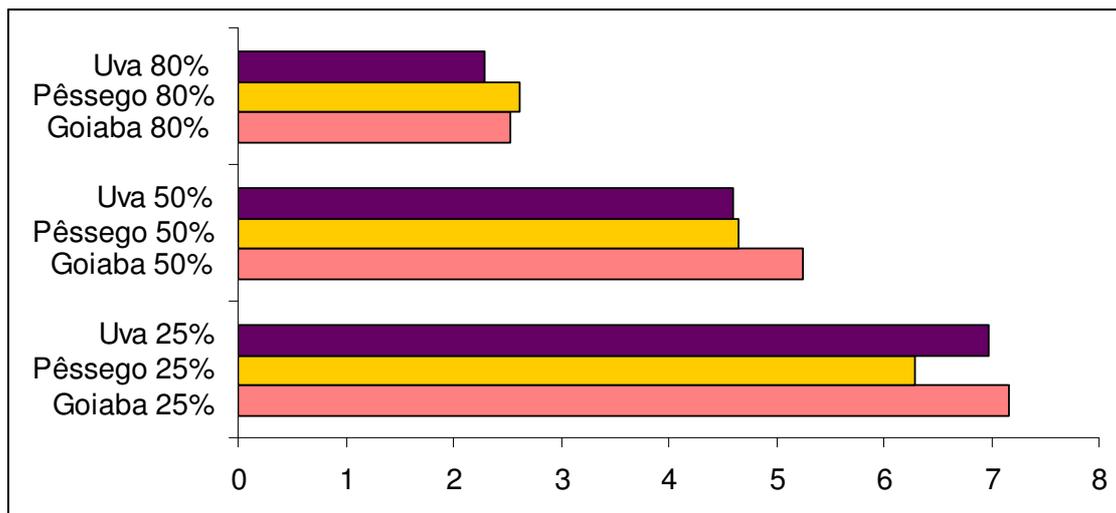


Figura 9 – Médias das notas obtidas no teste sensorial do hidrolisado protéico adicionado a néctares de frutas.

Pode-se observar que a menor média se refere ao produto denominado uva 80% e a maior, ao produto goiaba 25%.

A baixa aceitação de muitos produtos à base de soja é relacionada tanto à imagem ligada à alimentação animal quanto aos aspectos sensoriais relacionados. KLEIN *et al.* (1995) observaram que produtos incorporados com maior quantidades de farinhas de soja têm um sabor adstringente com um amargor característico, sabores e texturas desconhecidas para paladares ocidentais (por exemplo, sabor típico do feijão presentes em bebidas de soja e a textura esponjosa do tofu).

4.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Foi realizada a análise de variância dos dados com o MS Excel, cujos resultados são apresentados nas Tabelas 16.

Tabela 16 – Resultados do teste ANOVA.

Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F	Valor-P	F crítico
Entre						
grupos	795,6488	8	99,4561	32,58261	1,89E-34	1,97695
Dentro dos						
grupos	735,6352	241	3,052428			
Total	1531,284	249				

Observando os valores mostrados na Tabela 16, nota-se que $F > F$ crítico, o que indica que existe diferença significativa entre a aceitação das amostras, ou seja, uma ou mais amostras diferem das demais. Para a identificação dessas amostras, foi aplicado o teste de Tukey, cujos valores são apresentados na Tabela 17.

Tabela 17 – Resultados do teste de Tukey.

Graus de liberdade (GLR)	241
Produtos utilizados (K)	9
Valor crítico (q)	4,47
Quadrado médio dos resíduos (QMR)	3,052428351
Número de repetições (R)	50
Diferença mínima significativa (DMS)	1,104447967

Segundo MONTEIRO (2005), a aplicação do teste de Tukey fornece o valor de DMS, que indica que médias com diferenças menores que este valor não apresentam diferença significativa, ou seja, não é possível evidenciar aceitação maior ou menor de um produto em relação ao outro. Já, quando a diferença entre duas médias é maior ou igual ao DMS pode-se afirmar que os produtos têm diferentes aceitações. Como a escala de notas é crescente, conclui-se que o produto que apresenta a maior média tem maior aceitação que o de menor média.

Sendo assim, calculou-se a diferença das médias dos produtos dois a dois comparando-as com o valor da diferença média significativa (DMS) fornecida pelo teste de Tukey. Estes resultados são mostrados na Tabela 18.

Tabela 18 – Comparação das médias duas a duas para os produtos com o mesmo sabor de néctar.

Produtos	Diferença das médias duas a duas
Goiaba 25% e Goiaba 50%	1,91862069
Goiaba 25% e Goiaba 80%	4,624285714
Goiaba 50% e Goiaba 80%	2,705665025
Pêssego 25% e Pêssego 50%	1,653439153
Pêssego 25% e Pêssego 80%	3,675606641
Pêssego 50% e Pêssego 80%	2,022167488
Uva 25% e Uva 50%	2,374074074
Uva 25% e Uva 80%	4,67037037
Uva 50% e Uva 80%	2,296296296

Comparando os produtos com o mesmo sabor de néctar, para o sabor goiaba, nota-se que:

- ✓ comparando o produto goiaba 25% e o produto goiaba 50%, a diferença entre as médias foi 1,91862069, que é maior que o valor da DMS (1,104447967). Portanto, houve diferença de aceitação e o produto goiaba 25% teve maior aceitação do que o produto goiaba 50% por ter a maior média entre os dois.
- ✓ comparando os produtos goiaba 25% e goiaba 80%, a diferença entre as médias foi 4,624285714, que é maior que o valor da DMS (1,104447967). Sendo assim, houve diferença de aceitação e o produto goiaba 25% teve maior aceitação do que o produto goiaba 80% por ter a maior média entre os dois.
- ✓ comparando o produto goiaba 50% e o produto goiaba 80%, a diferença entre as médias foi 2,705665025, que é maior que o valor da DMS (1,104447967). Logo, houve diferença de aceitação e o produto goiaba 50% teve maior aceitação do que o produto goiaba 80% por ter a maior média entre os dois.

Esse resultado foi semelhante para os sabores pêssego e uva. Então, pode-se afirmar que, para produtos com o mesmo sabor de néctar, o produto com menor concentração de hidrolisado adicionado possuiu maior aceitação.

Na Tabela 19 são mostrados os resultados para a comparação dos produtos com a mesma concentração de hidrolisado adicionado aos néctares.

Tabela 19 – Comparação das médias duas a duas para os produtos com a mesma concentração de hidrolisado adicionado aos néctares.

Produtos	Diferença das médias duas a duas
Goiaba 25% e Uva 25%	0,193333333
Goiaba 25% e Pêssego 25%	0,863703704
Uva 25% e Pêssego 25%	0,67037037
Goiaba 50% e Uva 50%	0,648786718
Goiaba 50% e Pêssego 50%	0,598522167
Uva 50% e Pêssego 50%	0,05026455
Goiaba 80% e Uva 80%	0,239417989
Goiaba 80% e Pêssego 80%	0,084975369
Uva 80% e Pêssego 80%	0,324393359

Comparando os produtos com a mesma concentração de hidrolisado adicionado, para os produtos com 50% de hidrolisado adicionado ao néctar, observa-se que:

- ✓ comparando o produto goiaba 50% e o produto uva 50%, a diferença entre as médias foi 0,648786718, que é menor que o valor da DMS (1,104447967). Portanto, não houve diferença de aceitação entre esses produtos.
- ✓ comparando o produto goiaba 50% e o produto pêssego 50%, a diferença entre as médias foi 0,598522167, que é menor que o valor da DMS (1,104447967). Logo, não houve diferença de aceitação entre esses produtos.
- ✓ comparando os produtos uva 50% e pêssego 50%, a diferença entre as médias foi 0,05026455, que é menor que o valor da DMS (1,104447967). Sendo assim, não houve diferença de aceitação entre esses produtos.

Esse resultado foi semelhante para os produtos com 25 e 80% de hidrolisado adicionado aos néctares. Portanto, conclui-se que, para produtos com a mesma

concentração de hidrolisado adicionado ao néctar, não houve diferença significativa de aceitação, ou seja, o sabor do néctar não interferiu na aceitação dos produtos.

Um fato observado foi que os produtos com maior concentração de hidrolisado protéico apresentavam uma coloração característica às bebidas a base de soja. Antes mesmo da degustação, o provador associava o produto do teste com a soja e não se mostrava muito receptivo. Isso se verifica devido ao fato de a soja e seus derivados não fazerem parte da cultura de consumo e ainda serem pouco apreciados pela população.

Outro fato a salientar é que mesmos nos produtos com baixa concentração de proteína solubilizada foi o forte sabor amargo, resultante da liberação de grupos hidrofóbicos. Fica evidente a necessidade de algum procedimento que reduza ou mascare o sabor amargo de hidrolisados protéicos como, por exemplo, o tratamento com carvão ativado, a adição de ciclodextrinas e a precipitação isoelétrica.

5. CONCLUSÕES E SUGESTÕES

5.1 CONCLUSÕES

A enzima *Alcalase* se mostrou uma alternativa eficiente na hidrólise do farelo de soja resultando em um hidrolisado com concentração protéica de 28,16 mg/mL. Isso significa que essa enzima solubilizou aproximadamente 60% da proteína inicialmente presente no farelo de soja. A reação controle feita nas mesmas condições que a hidrólise enzimática, porém sem a adição da enzima, resultou em um hidrolisado com uma concentração de proteína de 7,06 mg/mL, o que significa que a água solubilizou apenas 15% da proteína do farelo.

O grau de hidrólise determinado foi 28%, o que confirma a grande quantidade de ligações peptídicas quebradas.

Os resultados da análise microbiológica para verificação de coliformes totais e fecais, bolores e leveduras e presença de *Salmonella spp* estão de acordo com a legislação pertinente a este tipo de produto (BRASIL, 1978; BRASIL, 2001).

A análise quanto ao sabor do sobrenadante da reação de hidrólise adicionado aos néctares de frutas permitiu concluir que, para um mesmo sabor de néctar, o produto com menor concentração de hidrolisado possui maior aceitação

Outro fato analisado foi que não houve diferença significativa de aceitação entre os produtos com a mesma concentração de hidrolisado, ou seja, o sabor do néctar não interferiu na aceitabilidade dos produtos.

A análise sensorial confirma a necessidade de aprimorar o processo de hidrólise enzimática do farelo de soja para a produção de um hidrolisado com características mais agradáveis ao paladar do consumidor.

5.2 SUGESTÕES

Portanto, como prosseguimento do trabalho, poderia ser empregado um procedimento para caracterização do perfil peptídico do hidrolisado protéico de farelo de soja. Desta forma, seria possível identificar os aminoácidos que conferem o sabor amargo nesse produto.

Posteriormente, poderia ser realizado algum procedimento para eliminar ou mascarar esse sabor indesejado ao paladar do consumidor.

6. REFERÊNCIAS

ABERT, T., KNEIFEL, W., 1993, “Physicochemical and Functional Properties of Casein Hydrolysates Obtained by Treatment with Different Enzymes”, In: *IDF (Inter. Dairy Fed.) Sem. Prot. Fat glob modif.*, pp. 97-105.

ABIOVE, Associação Brasileira das Indústrias de Óleos Vegetais. Disponível em <http://www.abiove.com.br/exporta_br.html>. Acesso em: 12 de outubro de 2009.

ABIR, Associação Brasileira das Indústrias de Refrigerantes e de Bebidas Não-Alcoólicas. Disponível em: <http://www.abir.org.br/article.php3?id_article=4005>. Acesso em: 12 de janeiro de 2010.

ABNT, Associação Brasileira de Normas Técnicas, NBR 12994. Métodos de Análise Sensorial de Alimentos e Bebidas. Classificação. São Paulo: ABNT, 1993.

ADLER-NISSEN, J., 1981, “Procesamiento enzimático de las proteínas alimenticias”, *Alimentos*, v. 6, pp. 29-33.

APROSOJA, Associação dos Produtores de Soja do Estado de Mato Grosso. Disponível em <<http://www.aprosoja.com.br/novosite/soja.php?tipo=1>>. Acesso em: 10 de agosto de 2008.

ARAÚJO, M.F., GOMES, J.C., SANT’ANNA, R., SILVA, D.J., 1986, “Caracterização Química de um Isolado Protéico de Soja Produzido no Brasil”, *Rev. Ceres*, v 33, n. 188, pp. 320-329.

BELIK, W., 1994, “Agroindústria e reestruturação industrial no Brasil: elementos para uma avaliação”, *Cadernos de Ciência e Tecnologia*, Brasília, v. 11, n. 1-3, pp. 58-75.

BERK, Z., 1992, *Technology of Production of Edible Flours and Protein Products from Soybean*, Technion, Israel Institute of Technology, Haifa, Israel.

BEYNON, R.J., BOND, J.S., 1989, *Proteolytic Enzymes: a Practical Approach*, New York: Oxford University Press, 278 p.

BOZA, J.J., MOËNNOZ, D., VUICHOUD, J., JARRET, A.R., GAUDARDE-WECK, D.O., 2000, “Ballèvre Protein Hydrolysate vs Free Amino Acid-Based Diets on the Nutritional Recovery of Starved Rat”, *Eur. J. Nutr.*, v. 39, pp. 237-243.

BRASIL, 1978, “Resolução nº 14 de junho 1978: Estabelece o Padrão de Identidade e Qualidade para Farinha Desengordurada de Soja, Proteína Texturizada de Soja, Proteína Concentrada de Soja, Proteína Isolada de Soja e Extrato de Soja”, *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, 28 jun., 1978. Disponível em: <<http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=15426&word=>>. Acesso em 25 de outubro de 2009.

BRASIL, 1997, “Decreto nº 2314, de 04 de setembro de 1997: Regulamenta a Lei nº 8919, de 14 de julho de 1994, que Dispõe sobre a Padronização, a Classificação, o Registro, a Inspeção, a Produção e a Fiscalização de Bebidas”, *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, 05 set., 1997. Disponível em: <<http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=619&word=>>. Acesso em: 25 de fevereiro de 2010.

BRASIL, 2001, “Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001: Aprova o Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos”, *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, 10 jan., 2001. Disponível em: <<http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=144&word=>>. Acesso em: 25 de outubro de 2009.

CAMPOS, S., 2006, “A Qualidade da Soja Processada e a Importância de Eliminar os Fatores Anti-Nutricionais”, *Medicina Avançada*. Disponível em: <<http://www.drashirleydecampos.com.br/>>. Acesso em: 10 de agosto de 2008.

CAPOBIANGO, M., BIZZOTTO, C.S., BIASUTTI, E.A.R., SILVESTRE, M.P.C., 2006, “Action of Pepsin on Emulsifying Properties of Globin”, *Inter. J. Food Prop.*, v. 9, n. 2, pp. 357-364.

CARP, D.J, BARTHOLOMAI, G.B, PILOSO, A.M.R., 1999, “Electrophoretic Studies for Determining Soy Proteins-Xanthan Gum Interactions in Foams”, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 12, pp. 309-316.

CARREIRA, R.L., JUNQUEIRA, R.G., MOTTA, S., SILVESTRE, M.P.C., 2002, “Emprego da Cromatografia Líquida de Alta Eficiência Hidrofílica na Determinação dos Aminoácidos de Hidrolisados de Caseína”, *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, Campinas, v. 22, n.3, pp. 229-232.

CHEFTEL, J.C., CUQ, J.L., LORIENTE, D., 1989, *Proteínas Alimentarias-Bioquímica Propriedades Funcionales-Valor Nutricional-Modificaciones Químicas*, Acirbia, Zaragoza, 345 p.

CLEMENTE, A., 2000, “Enzymatic Protein Hydrolysates in Human Nutrition”, *Trends in Food Science & Technology*, v 11, pp 254-262.

COELHO, M.A.Z., LEITE, S.G.F., ROSA, M.F., FURTADO, A.L., 2001, “Aproveitamento de Resíduos Agroindustriais: Produção de Enzimas a partir da Casca de Coco Verde”, *B. CEPPAI*, Curitiba, v. 19, n. 1, pp. 33-42.

CONAB, Companhia Nacional de Abastecimento. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/conabweb/download/safra/4graos_07.01.10.pdf>. Acesso em: 10 de janeiro de 2010.

DALL’AGNOL, A., ROESSING, A.C., LAZZAROTTO, J.J., HIRAKURI, M.H., OLIVEIRA, A., 2007, “O Complexo Agroindustrial da Soja Brasileira”, Londrina: Embrapa Soja. 12 p. (Embrapa Soja. Circular Técnica 43). Disponível em: <http://www.aprosoja.com.br/novosite/downloads/EMBRAPA_Complexo_Industrial_da_Soja_%202007.pdf>. Acesso em: 08 de agosto de 2008.

DUARTE, A.J., CARREIRA, R.L., JUNQUEIRA, R.G., COELHO, J.V., SILVESTRE, M.P.C., 1998, “Propriedades Emulsionantes e Solubilidade da Caseína Bovina e de seus Hidrolisados Trípticos: 2. Efeito da Adição de NaCl”, *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, v. 18, n. 3, pp. 302-308.

EMBRAPA, 2008a, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Disponível em: <<http://www.cnpso.embrapa.br/producaosoja/SojanoBrasil.htm>>. Acesso em: 08 de agosto de 2008.

EMBRAPA, 2008b, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Disponível em: <http://www.cnpso.embrapa.br/index.php?op_page=25&cod_pai=29>. Acesso em: 10 de agosto de 2008.

FDA, 1995, *Bacteriological Analytical Manual*, 8ª Edição.

FRARE, L.M., GIMENES, M.L., PEREIRA, N.C., MENDES, E.S., 2000, “Linearização do Modelo Log-normal para Distribuição de Tamanho de Partículas”, *Acta Scientiarum*, v. 22, n. 5, pp. 1235-1239.

FRENHANI, P.B., BURINI, R.B., 1999, “Mecanismos de Absorção de Aminoácidos e Oligopeptídios”, *Arq. Gastroenterol.*, v. 36, n. 4, pp. 227-237.

FRIEDMAN, M., BRANDON, D.L., 2001, “Nutritional and Health Benefits of Soy Proteins”, *J. Agric. Food Chem.*, v. 49, n. 3, pp. 1069-1086.

GOLDFLUS, F., 2001, “Ingredientes Derivados do Processamento da Soja Aplicados na Nutrição Animal”, *In: Simpósio sobre o Manejo e Nutrição de Aves e Suínos e Tecnologia de Produção de Rações*, Campinas, SP. Anais Campinas: CBNA, pp. 97-188.

GONZÁLEZ-TELLO, P., CAMACHO, F., JURADO, E., PÁEZ, M.P., GUADIX, E.M., “Enzymatic Hydrolysis of Whey Proteins: II. Molecular-Weight Range”, *Biothecnology and Bioengineering*, New York, v. 44, n. 4, pp. 529-532.

GRIMBLE, G.K., KEOHANE, P.P., HIGGINS, B.E., KAMINSKI, M.V., SILK, D.B.A., 1986, “Effect of Peptide Chain Length on Amino Acids and Nitrogen Adsorption from Two Lactoalbumin Hydrolysates in the Normal Human Jejunum”, *Clin. Sci.*, v. 71, pp. 65-69.

GUADIX, A., GUADIX, E.M., PÁEZ-DUEÑAS, M.P., GONZÁLEZ-TELLO, P.Y, CAMACHO, F., 2000, “Procesos Tecnológicos y Métodos de Control en la Hidrólisis de Proteínas”, *Ars Pharmaceutica*, v. 41, pp. 79-89.

HERKELMAN, K.L., CROMWELL, G.L., PFEIFFER, T.W., KNABE, D.A., 1992, “Apparent Digestibility of Amino Acids in Raw and Heated Conventional and Low Trypsin Inhibitor Soybeans for Pigs”, *Journal of Animal Science*, Champaign, v. 70, pp. 818-826.

HRČKOVÁ, M., RUSŇÁKOVÁ, M., ZEMANOVIČ, J., 2002, “Enzymatic Hydrolysis of Defatted Soy Flour by Three Different Proteases and their Effect on the Functional Properties of Resulting Protein Hydrolysates”, *Czech J. Food Sci.*, v. 20, pp 7–14.

KARR-LILIENTHAL, L.K., GRIESHOP, C.M., MERCHEN, N.R., MAHAN, D.C., FAHEY JR, G.C., 2004, “Chemical Composition and Protein Quality Comparisons of Soybeans and Soybean Meals from Five Leading Soybean-Producing Countries”, *J. Agric. Food Chem.*, v. 52, n. 20, pp. 6193-6199.

KEOHANE, P.P., GRIMBLE, G.K., BROWN, B., SPILLER, R.C., 1985 “Influence of Protein Composition an Hydrolysis Method on Intestinal Adsorption of Protein in Man”, *Gut.*, v. 26, pp. 907-913.

KIM, M.R., CHOI, S.Y., KIM, C.S., KIM, C.W., UTSUMI S., LEE, C.H., 1999, “Amino Acid Sequence Analysis of Bitter Peptides from a Soybean Proglycinin Subunit Synthesized in *Escherichia coli*”, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, ;63:2069–74.

KLEIN, B.P., PERRY, A.K., ADAIR, N., 1995, “Incorporating Soy Protein into Baked Products for Use in Clinical Studies”, *J. Nutr.*, v. 125, pp. 6665-6745.

KUKMAN, I.L., ZELENIK, M., ABRAM, V., 1995, “Isolation of Low-Molecular-Mass Hydrophobic Bitter Peptides in Soybean Protein Hydrolyzates by Reverse-Phase High-Performance Liquid Chromatography”, *J Chromatogr. A*, v. 704, pp. 113–120.

KUKMAN, I.L., ZELENIK, M., ABRAM, V., 1996, “Bitterness Intensity of Soybean Protein Hydrolyzates — Chemical and Organoleptic Characterization”, *Z Lebensm-Unters Forsch*, v. 6, pp. 203-272.

LEHNINGER, A.L., 1985, *Princípios de Bioquímica*. São Paulo: Savier, 3 ed., 2002.

LIENER, I.E., GOODALE, R.L., DESHMUKH, A., SATTERBERG, T.L., WARD, G., DIPIETRO, C.M., BANKEY, P.E., BORNER, J.W., 1988, “Effect of a Trypsin Inhibitor from Soybeans (Bowman-Birk) on the Secretory Activity of the Human Pancreas”, *Gastroenterology*, Philadelphia, v.94, n.2, pp. 419-427.

LIU, K., 1999, *Soybeans*, Gaithersburg: Aspen Publishers, 532 p.

LOWRY, O.H, ROSENBROUGH, N.J, RANDALL, R.J., 1951 “Protein Measurement with the Folin Phenol Reagent”, *J. Biol. Chem.*, v.193, n. 1, pp. 265-275.

LUZ, G.R., 2006, *Modelagem Matemática e Análise do Secador Rotativo de Farelo de Soja*, Dissertação de M.Sc., Universidade Estadual de Maringá, Maringá, PR, Brasil, 11 p.

MANNHEIM, A., CHERYAN, M., 1992, “Enzyme-Modified Proteins from Corn Gluten Meal: Preparation and Functional Properties”, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, v. 69, pp. 1163-1169.

MEILGAARD, M.C., CIVILLE, G. V., CARR, B.T., 1991, *Sensory evaluation techniques*. 2 ed. Boca Raton, Florida: CRC Press, 281 p.

MINAGAWA, E., KAMINOGAWA, S., TSUKASAKI, F., YAMAUCHI, K., 1989, “Debittering Mechanism in Bitter Peptides of Enzymatic Hydrolysates form Milk Casein by Aminopeptidase T”, *J. Food Sci.*, v. 54, pp. 1225-1229.

MOLINA-ORTIZ, S.E., AÑÓN, M.C., 2001, “Enzymatic Hydrolysis of Soy Protein Isolates”, *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, v. 66, pp. 489-499.

MONTEIRO, A.R.G., 2005, *Introdução à Análise Sensorial de Alimentos*, Maringá, EDUEM, Editora da Universidade Estadual de Maringá, 47 p.

MORAIS, A.A.C., SILVA, A.L., 1996, *Soja: Suas Aplicações*. Rio de Janeiro, MEDSI, Editora Médica e Científica, 259 p.

MORAIS, H.A., BARBOSA, C.M.S., DELVIVO, F.M., MANSUR, H.S., OLIVEIRA, M.C., SILVESTRE, M.P.C., 2004, “Comparative Study of Microencapsulation of Casein Hydrolysates in Lipospheres and Liposomes”, *Journal of Food Biochemistry*, v. 28, pp. 21-42.

MORAIS, H.A., DE MARCO, L.M., OLIVEIRA, M.C., SILVESTRE, M.P.C., 2005, “Casein Hydrolysates using Papain: Peptide Profile and Encapsulation in Liposomes”, *Acta Alim.*, v. 34, n. 1, pp. 59-69.

MUTLU, M., SARIOGLU, K., DEMIR, N., MERAL, T.E., ACAR, J., 1999, “The Use of Commercial Pectinase in Fruit Juice Industry. Part I: Viscosimetric Determination of Enzyme Activity”, *Journal of Food Engineering*, Abingdod, Oxon, v.41, p. 147150.

NOVOZYMES A/S, 2002, “Ficha técnica: Alcalase 2.4L”.

O'TOOLE, D.K., 1999, “Characteristics and Use of Okara, the Soybean Residue from Soy Milk Production-A Review”, *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, v. 47, pp. 363-371.

PARAÍSO, P.R., 2001, *Modelagem e análise do processo de obtenção do óleo de soja*. Tese de DSc., FEQ/UNICAMP, Campinas, SP, Brasil, 200p.

PEARCE, R.J., 1995, “Food Functionality Success or Failure for Dairy Based Ingredients”, *Aust. J. Dairy Technol.*, v. 50, n. 1, pp. 15-23.

PEREA, A., UGALDE, U., RODRIGUEZT, I., SERRAT, J. L., 1993, “Preparation and Characterization of Whey Protein Hydrolysates: Applications in

Industrial Whey Bioconversion Processes”, *Enz. Microb. Technol.*, v. 15, n. 5, pp. 418-423.

PENZ JR., A.M., BRUGALLI, I., 2001, “Soja e seus Derivados na Alimentação de Aves”, *In: Simpósio sobre Ingredientes na Alimentação Animal*, Campinas, SP. Anais Campinas: CBNA, pp.85-108.

PIRILLO, C.P., SABIO, R.P., 2009, “100% Suco: Nem Tudo é Suco nas Bebidas de Frutas”, *Hortifruti Brasil*, Julho de 2009, p.6-13

PORTO, A., OLIVEIRA, L., 2006, *Tabela da Composição de Alimentos*, Lisboa, Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge, p. 72.

QIN G., ELST E.R., BOSCH M.W., van der POEL A.F.B., 1996, “Thermal processing of Whole Soya Beans: Studies on the Inactivation of Antinutritional Factors and Effects on Ileal Digestibility in Piglets”, *Animal Feed Science and Technology*, v. 57, pp. 313-324.

RAO, M.B., TANKSALE, A.M.; GHATGE, M.S., DESHPANDE, V.V., 1998, “Molecular and Biotechnological Aspects of Microbial Proteases”, *Microb. Mol. Biol. Rev.*, v. 62, n. 3, pp. 597-635.

REED, G., 1975, *Enzymes in Food Processing*. 2nd ed. London: Academic Press, p. 573.

RERAT, A.A., 1993, “Nutritional Supply of Proteins and Absorption of their Hydrolysis Products: Consequences on Metabolism”, *Prot. Nutr. Soc.*, v. 52, pp. 335-344.

ROSENTHAL, A., PYLE, D.L., NIRANJAN, K., GILMOUR, S., TRINCA, L., “Combined Effect of Operational Variables and Enzyme Activity on Aqueous Enzymatic Extraction of Oil and Protein from Soybean”, *Enzyme and Microbial Technology*, v 28, pp 499-509, 2001.

SAHA B.C., HAYASHI K., 2001, "Research Review Paper Debittering of Protein Hydrolysates", *Biotech. Adv.*, v. 19, pp. 355-370.

SERRANO, X., VILLALBI, E., 1999, "The Extrusion Cooking Process in Piglet Feeding: Nutritional Implications", Bellaterra: Universidad Autónoma de Barcelona, pp. 188-197.

SGARBIERI, V.C., 1996, *Proteínas em Alimentos Proteicos: Propriedades, Degradações, Modificações*. São Paulo: Varela, 517 p.

SILVA, J.G., MORAIS, H.A., SILVESTRE, M.P.C., 2003a, "Comparative Study of the Functional Properties of Bovine Globin Isolates and Sodium Caseinate", *Food Res. Inter.*, v. 36, n. 1, pp. 73-80.

SILVA, J.G., MORAIS, H.A., SILVESTRE, M.P.C., 2003b, "Evaluating the Incorporation of Globin Bovine and Sodium Caseinate on the Raw Better Quality and on the Stability of Ham Pâté", *Meat Sci.*, v. 63, n. 2, pp. 177-184.

SILVA, J.G., SILVESTRE, M.P.C., 2003c, "Functional Properties of Bovine Plasma Intended for use as a Functional Ingredient in Human Food", *Food Sci. Technol.*, v. 37, n. 6, pp. 709-718.

SOLOMONS, T.W.G., FRYHLE, C.B., 1934, *Química Orgânica 1*; tradução Robson Mendes Matos, revisão técnica Délio Soares Raslan - Rio de Janeiro: LTC, 2005, 715p.

STENZEL, M., 2005, *Solubilização Enzimática de Proteína do Farelo de Soja*. Monografia para Exame de Qualificação, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, PR, Brasil.

STENZEL, M., 2007, *Solubilização Enzimática de Proteína do Farelo de Soja e Caracterização Funcional dos Hidrolisados Formados*. Tese de D.Sc., Universidade Estadual de Maringá, Maringá, PR, Brasil, 136 p.

STONE, H., SIDEL, J., 1993, *Sensory Evaluation Practices*. New York: Academic Press, 338 p.

USDA, United States Department of Agriculture. Disponível em: <<http://www.usda.gov/oce/commodity/wasde/latest.pdf>>. Acesso em: 27 de novembro de 2009.

UTSUMI, S.; KINSELLA, J.E., 1985, “Structure-function relationships in food Proteins: Subunit Interactions in Heat-Induced Gelation of 7S, 11S, and Soy Isolate Proteins”, *J. Agric. Food Chem.*, v. 33, pp. 297-303.

VIANA, F.R., DELVIVO, F.M., BIZZOTTO, C.S., SILVA, V.D.M, SILVESTRE, M.P.C., 2005, “Quality of Ham Pâté Incorporated of Bovine Globin and Plasma as Fat Replacers”, *Meat Sci.*, v. 70, n. 1, pp. 153-160.

VIANA, F.R., BIZZOTTO, C.S., DIAS, D.R., SILVESTRE, M.P.C., 2004, “Effect of Different Parameters on the Quality of Meat Emulsions”, *Food Technol. Biochem.*, v. 42, n. 1, pp. 5-10.

VIJAYALAKSHIMI, M.A., LEMIEUX, L., AMIOR, J., 1986, “High Performance Size Exclusion Liquid Chromatography of Small Molecular Weight Peptides from Protein Hydrolysates using Methanol as a Móbile Phase Additive”, *J. Liq. Chromatogr.*, v. 9, pp. 3559-3576.