

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos



Dissertação de Mestrado

**Grãos de soja fermentados, ardidos e queimados: Implicações nas frações
lipídica, proteica e bioativos**

Adriano Hirsch Ramos

Pelotas, 2019

Adriano Hirsch Ramos

**Grãos de soja fermentados, arditos e queimados: Implicações nas frações
lipídica, proteica e bioativos**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Faculdade de Agronomia “Eliseu Maciel” da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos

Orientador: Prof. Dr. Maurício de Oliveira

Coorientador: Prof. Dr. Moacir Cardoso Elias

Coorientador: Pesq. Dr. Cristiano Dietrich Ferreira

Pelotas, 2019

R175g Ramos, Adriano Hirsch

Grãos de soja fermentados, ardidados e queimados:
Implicações nas frações lipídica, proteica e bioativos /
Adriano Hirsch Ramos ; Maurício de Oliveira, orientador. —
Pelotas, 2019.

82 f. : il.

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

1. Soja. 2. Propriedades tecnológicas. 3. Estabilidade
lipídica. 4. Compostos bioativos. 5. Defeitos. I. Oliveira,
Maurício de, orient. II. Título.

CDD : 633.34

Adriano Hirsch Ramos

Grãos de soja fermentados, ardidos e queimados: Implicações nas frações lipídica, proteica e bioativos

Dissertação aprovada, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Faculdade de Agronomia “Eliseu Maciel”.

Data da Defesa: 27/02/2019

Banca Examinadora:

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

Prof. Dr. Cláudio Martin Pereira de Pereira. Doutor em Química pela Universidade Federal de Santa Maria

Prof^a. Dra. Ana Paula do Sacramento Wally. Doutora em Ciência e Tecnologia Agroindustrial pela Universidade Federal de Pelotas

Pesq. Dra. Jéssica Fernanda Hoffmann. Doutora em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela Universidade Federal de Pelotas

**Dedico este trabalho a meus pais, meus avós,
minha namorada e meus amigos**

Agradecimentos

Aos meus pais, pela minha existência e ajuda.

Ao meu avô, Fernando José Nunes Hirsch, que durante sua vida colaborou com sua sabedoria e experiência.

À minha namorada, pelo intenso apoio, paciência e compreensão.

À minha família, pelo incentivo.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, seu corpo docente, direção e administração que oportunizaram a realização do curso de mestrado acadêmico.

As instituições parceiras, em especial à Universidade Federal do Rio Grande, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Universidade Federal de Passo Fundo e ao Instituto Federal Sul-rio-grandense, pelo seu apoio.

A todos os professores por me proporcionarem o conhecimento não apenas racional, mas a manifestação do caráter e afetividade da educação no processo de formação profissional, por tanto que se dedicaram a mim, a fim de fazer-nos aprender.

Aos meus colegas e amigos que direta ou indiretamente fizeram parte da minha pós-graduação.

Aos alunos de iniciação científica que participaram da realização deste trabalho.

Ao Pesq. Dr. Cristiano Dietrich Ferreira pela orientação e apoio.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Maurício de Oliveira, por acreditar no meu potencial e tornar possível este trabalho.

Obrigado.

***“A humildade é o primeiro degrau para a sabedoria”
(São Tomás de Aquino, 1225-1274)***

Resumo

RAMOS, Adriano Hirsch. **Implicações dos defeitos fermentado, ardido e queimado em grãos de soja no rendimento e na qualidade lipídica e proteica**. 2019, 82f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Universidade Federal de Pelotas.

O Brasil é o segundo maior produtor mundial de soja, cujos grãos apresentam elevado valor comercial, seja para extração de óleo, ração animal ou consumo humano. A qualidade do produto para consumo está relacionada com as etapas de pós-colheita a que os grãos são submetidos, dentre elas, secagem, armazenamento, industrialização e processamento, além da integridade dos grãos, em razão da presença de grãos com defeitos. Assim, considerando a importância dos grãos de soja, e estudos prévios realizados, os grãos foram separados por qualidade, de acordo com os conceitos da legislação brasileira, em sadios, fermentados, ardidos e queimados, sendo o trabalho dividido em dois estudos: 1) Impacto dos defeitos fermentado, ardido e queimado sobre propriedades físicas, químicas e compostos bioativos de grãos de soja e propriedades do isolado proteico; 2) Influência dos defeitos fermentado, ardido e queimado sobre as propriedades físicas, químicas e compostos bioativos de óleo de soja. Os resultados indicaram que: 1) a intensificação dos defeitos de grãos de soja promove menores teores de lipídeos, L^* , b^* , solubilidade proteica, pH, peso de mil grãos, rendimento de extração de proteínas e maiores teores de cinzas, a^* , compostos fenólicos e isoflavonas agliconas. Os defeitos ardido e queimado interferiram na qualidade tecnológica e química para aplicação na indústria alimentícia, principalmente pelas alterações no teor de lipídios, nos parâmetros colorimétricos, pH, peso de mil grãos e rendimento de extração de proteína; e 2) conforme a intensificação dos defeitos de grãos de soja os óleos extraídos possuem maiores valores de acidez, coeficientes de extinção específicos (K_{232} e K_{270}) que indicam degradação de lipídeos e formação de aldeídos e cetonas por peroxidação, atividade de lipase, e alteram os perfis de carotenoides, ácidos graxos insaturados e menores rendimentos de extração. O defeito queimado foi o que mais interferiu nas propriedades tecnológicas e químicas do óleo, possuindo o maior teor de acidez, atividade de lipase, coeficientes de extinção específico e menores rendimentos de extração de óleo, luteína e zeaxantina, o que onera os custos de extração e refino. Grãos de soja com defeitos, principalmente o queimado, não são recomendados para uso na extração de óleo, ração animal e consumo humano por possuírem características indesejáveis na indústria alimentícia.

Palavras-chave: Soja, propriedades tecnológicas, estabilidade lipídica, compostos bioativos, defeitos

Abstract

RAMOS, Adriano Hirsch. **Implications of fermented, blazed and burned defects in soybean grains on lipid and protein yield and quality.** 2019, 82f. Dissertation (Master's degree) – Food Science and Technology Post-Graduation Program. Federal University of Pelotas, Pelotas, Brazil, 2019.

Brazil is the world's second largest producer of soybeans, whose grains have high commercial value, either for oil extraction, animal feed or human consumption. The quality of the product for consumption is related to the post-harvest stages to which the grains are submitted, among them, drying, storage, industrialization, and processing, besides the integrity of the grains, due to the presence of grains with defects. Thus, considering the importance of soybean grains, and previous studies, the grains were separated by quality, according to the concepts of Brazilian legislation, in healthy, fermented, burned and burned, being the work divided into two studies: 1) Impact of fermented, burned and burned defects on physical, chemical and bioactive compounds of soybean grains and protein concentrate properties; 2) Influence of fermented, burned and burned defects on the physical, chemical and bioactive properties of soybean oil. The results indicated that: 1) the intensification of soybean grain defects promotes lower levels of lipids, L *, b *, protein solubility, pH, the weight of a thousand grains, the yield of protein extraction and higher ash content, a*, phenolic compounds, and aglucone isoflavones. The burned and burned defects interfered in the technological and chemical quality for application in the food industry, mainly due to changes in lipid content, colorimetric parameters, pH, weight of a thousand grains and yield of protein extraction; and 2) according to the intensification of soybean grain defects the extracted oils have higher acid values, specific extinction coefficients (K_{232} and K_{270}) which indicate lipid degradation and formation of aldehydes and ketones by peroxidation, lipase activity, and alter the profiles of carotenoids, unsaturated fatty acids, and lower extraction yields. The burned defect was the one that most interfered in the technological and chemical properties of the oil, possessing the highest acidity content, lipase activity, specific extinction coefficients and lower oil extraction yields, lutein, and zeaxanthin, which exert the extraction costs and refining. Defective soybeans, mainly burned, are not recommended for use in the extraction of oil, animal feed, and human consumption because they have undesirable characteristics in the food industry.

Key-words: Soybean, technological properties, lipid stability, bioactive compounds, defects

Lista de Figuras

Figura 1 - Evolução da produção e área cultivada de soja no mundo de 1961 a 2018	15
Figura 2 - Maiores países produtores de soja	17
Figura 3 - Maiores importadores de soja.....	18
Figura 4 - Evolução da produção e área cultivada de soja no Brasil de 1976 a 2018	19
Figura 5 - Produção de soja no Brasil.	20
Figura 6 - Estrutura do grão de soja.....	21
Figura 7 - Composição geral de grãos de soja.....	22
Figura 8 - Carotenoides encontrados comumente em grãos de soja. A: Luteína; B: Zeaxantina, C: β -Criptoxantina.....	25
Figura 9 - Produção e consumo doméstico de óleo de soja.....	27
Figura 10 - Grãos de soja classificados em sadios, fermentados, ardidos e queimados.....	33
Figura 11 - Solubilidade proteica em grãos de soja com diferentes defeitos	42
Figura 12 - Potencial hidrogeniônico de diferentes defeitos de grãos de soja	44
Figura 13 - Digestibilidade proteica de diferentes defeitos de grãos de soja	50
Figura 14 - Rendimento de extração de proteínas diferentes defeitos de grãos de soja.....	51
Figura 15 - Atividade da enzima lipase de óleos de diferentes defeitos de soja	62

Lista de Tabelas

Tabela 1 - Limites máximos de tolerância, expressos em percentagem, para a soja do Grupo I	28
Tabela 2 - Delineamento experimental do Capítulo 1	32
Tabela 3 - Composição proximal e atividade de água de diferentes defeitos de grãos de soja.....	38
Tabela 4 – Perfil colorimétrico e peso de mil grãos de diferentes defeitos de grãos de soja.....	41
Tabela 5 - Compostos fenólicos individuais por LC-MS de diferentes defeitos de soja	45
Tabela 6 - Perfil de isoflavonas por LC-MS de diferentes defeitos de grãos de soja	48
Tabela 7 - Perfil de isoflavonas por LC-MS do isolado proteico de diferentes defeitos de grãos de soja.....	52
Tabela 8 - Delineamento experimental do Capítulo 2	56
Tabela 9 - Rendimento de extração, acidez e coeficiente de extinção específico de óleo de diferentes defeitos de soja.....	61
Tabela 10 - Perfil de carotenoides de óleo de diferentes defeitos de soja	63
Tabela 11 - Perfil de ácidos graxos de óleo de diferentes defeitos de grãos de soja	65

Sumário

1. Introdução.....	12
2. Revisão Bibliográfica.....	14
2.1. Histórico da cultura e de consumo	14
2.2. Produção comercial no Brasil.....	16
2.4. Industrialização	26
2.5. Classificação oficial de grãos de soja.....	28
3. Capítulo 1 – Impacto dos defeitos fermentado, ardido e queimado sobre propriedades físicas, químicas e compostos bioativos de grãos de soja e propriedades do isolado proteico.....	30
3.1. Introdução.....	30
3.2. Metodologia	31
3.2.1. Material	31
3.2.2. Delineamento experimental	32
3.2.3. Métodos.....	32
3.2.3.1. Preparo das amostras e separação de defeitos metabólicos	32
3.2.3.2. Composição proximal	33
3.2.3.3. Atividade de água (aw)	34
3.2.3.4. Perfil colorimétrico dos grãos.....	34
3.2.3.5. Proteína solúvel.....	34
3.2.3.6. pH dos grãos	34
3.2.3.7. Perfil de Isoflavonas	35
3.2.3.8. Compostos fenólicos individuais	36
3.2.3.9. Digestibilidade proteica.....	37
3.2.3.10. Extração de proteínas.....	37
3.2.3.11. Perfil de isoflavonas do concentrado proteico	38
3.3. Análise estatística.....	38
3.4. Resultados e discussão	38
3.4.1. Proteína bruta, teor de lipídeos, teor de cinzas e atividade de água	38
3.4.2. Perfil colorimétrico e peso de mil grãos.....	41

3.4.3. Proteína solúvel e potencial hidrogeniônico	42
3.4.4. Compostos fenólicos individuais.....	44
3.4.5. Perfil de isoflavonas.....	47
3.4.6. Digestibilidade proteica dos grãos moídos	49
3.4.7. Isolado proteico	50
3.4.7.1. Rendimento de extração.....	50
3.4.7.2. Perfil de isoflavonas	51
3.5. Conclusão.....	53
4. Capítulo 2 – Influência dos defeitos fermentado, ardido e queimado sobre as propriedades físicas, químicas e compostos bioativos de óleo de soja	54
4.1. Introdução.....	54
4.2. Material e métodos.....	55
4.2.1. Material	55
4.2.2. Delineamento experimental	56
4.2.3. Métodos.....	56
4.2.3.1. Extração de óleo.....	56
4.2.3.2. Acidez lipídica	56
4.2.3.3. Atividade da enzima lipase.....	57
4.2.3.4. Coeficiente de extinção específico	57
4.2.3.5. Perfil de Ácidos Graxos	57
4.2.3.6. Perfil de Carotenoides	58
4.3. Análise estatística.....	59
4.4. Resultados e discussão	59
4.4.1. Rendimento de extração de óleo, acidez e coeficientes de extinção específico	59
4.4.2. Atividade da enzima lipase	61
4.4.3. Perfil de carotenoides	62
4.4.4. Perfil de ácidos graxos	64
4.5. Conclusão	66
5. Considerações finais.....	66
Referências.....	68

1. Introdução

A soja é um grão produzido em diversas regiões do mundo e utilizado em diferentes aplicações. A produção de soja inicialmente era processada para uso em ração animal devido ao seu alto teor proteico e lipídico, e dessa forma era utilizada principalmente em países desenvolvidos, porém seu uso atual também permite a extração de óleo. A soja é considerada a segunda principal fonte utilizada para extração de óleo e na indústria alimentícia, seja na complementação alimentar, como também substituindo alimentos na dieta da população.

Os grãos de soja vêm sendo estudados com relação à suas características físico-químicas, propriedades tecnológicas, compostos antioxidantes, e seus subprodutos, os quais possuem efeitos preventivos a danos celulares, doenças cardiovasculares, envelhecimento acelerado, diabetes e câncer. Além desses compostos antioxidantes citados, a soja possui vários compostos bioativos apolares, presentes predominantemente na fração lipídica, como carotenoides, tocoferóis e tocotrienóis, os quais, são conhecidos por seus efeitos benéficos a saúde dos consumidores.

Normalmente os grãos de soja são colhidos com aproximadamente 22% de umidade, tornando a etapa de secagem imprescindível para a manutenção da qualidade dos grãos durante o armazenamento, sob risco de intensa deterioração. Aspectos importantes na pós-colheita, por exemplo, umidade dos grãos, a integridade inicial dos grãos, a temperatura no ambiente de armazenamento e a umidade relativa do ar podem interferir na qualidade dos grãos. A qualidade é um parâmetro que pode ser avaliada em razão das propriedades intrínsecas e extrínsecas do grão, como características físico-químicas. Estudos que avaliam a qualidade de grãos de soja submetidos a armazenamento e pós-colheita são amplos e assim importantes, pois simulam às diferentes condições climáticas que podem ser encontradas nos sistemas de armazenamento, as quais apresentam entre si amplas variações de temperatura média ao longo do ano. Dentre os fatores mais importantes a serem controlados na pós colheita estão a temperatura do ar, a umidade relativa do ar, a umidade dos grãos e o teor de matérias e impurezas. No entanto, durante o armazenamento a qualidade dos grãos somente pode ser mantida e não melhorada.

De maneira geral, os defeitos em grãos apenas são entendidos como a perda de valor econômico por fim de enquadramento em tipo conforme a legislação ou o elevado desconto em contratos de compra e venda. Os defeitos em grãos de soja

podem ocorrer na lavoura, mediante condições climáticas, de manejo e ataque de pragas, porém os defeitos podem ocorrer também devido às inadequadas ações de pós-colheita empregadas, como altas temperaturas de secagem. Os defeitos de grãos de soja podem ser agrupados em defeitos graves e leves. Os defeitos graves são os queimados, ardidos e mofados, enquanto os defeitos leves são os fermentados, esverdeados, germinados, danificados, imaturos, chochos, amassados e partidos e quebrados. Sabe-se que muitas vezes os grãos degradados estão associados a outros fatores de risco, como micotoxinas e alguns produtos de degradação metabólica, como peróxidos, aldeídos e cetonas. Com isso, esse estudo objetivou avaliar efeitos dos defeitos de soja na qualidade nas frações lipídica e proteica dos grãos e compostos bioativos.

1.1. Objetivos

1.1.1. Objetivo geral

Avaliar efeitos dos defeitos de soja na qualidade nas frações lipídica e proteica dos grãos e compostos bioativos

1.1.2. Objetivos específicos

- 1.1.2.1. Avaliar a interferência dos defeitos fermentados, ardidos e queimados na composição físico-química dos grãos de soja.
- 1.1.2.2. Avaliar os efeitos de defeitos de soja nas propriedades tecnológicas, compostos fenólicos e perfil de isoflavonas
- 1.1.2.3. Avaliar os efeitos dos defeitos de soja no rendimento e perfil de isoflavonas do isolado proteico.
- 1.1.2.4. Avaliar os efeitos de defeitos nas propriedades tecnológicas do óleo
- 1.1.2.5. Avaliar o perfil de carotenoides e o perfil de ácidos graxos do óleo de grãos de soja com defeitos, por cromatografia líquida de alta eficiência com arranjo de diodos (HPLC-DAD) e gasosa acoplada com espectrômetro de massas (GC-MS), respectivamente

2. Revisão Bibliográfica

2.1. Histórico da cultura e de consumo

A soja (*Glycine max* [L.] Merril) é originária da Ásia, mais precisamente no nordeste da China, próxima da região da Manchúria (HYMOWITZ, 1970). A cultura chegou ao ocidente no final do século XV e no início do século XVI, aproximadamente dois milênios após ser domesticada, devido ao fato da agricultura chinesa não ter sido levada a outras partes do mundo (HARLAN, 1992).

Na Europa, a soja foi cultivada pela primeira vez em 1739, no Jardim Botânico de Paris e em 1770, em Kew, na Inglaterra (SEDIYAMA et al., 1985), chegando nas Américas entre o final do século XVII e início do século XVIII, nos Estados Unidos da América, na região da Pensilvânia, e mais tarde introduzida à diversos jardins botânicos no estado de Massachusetts (BONETTI, 1981).

A introdução desta espécie na América, permitiu tornar-se conhecida posteriormente, no século XIX no Canadá, Filipinas, Argentina e Cuba (SEDIYAMA et al., 1985). A maioria das cultivares testadas, principalmente no Canadá necessitava de um período luminoso maior para completar seu ciclo, sendo utilizada como forrageira. No Brasil, o primeiro relato de soja, ocorre em 1882, cultivada no estado da Bahia, porém não foi obtida adaptação climática adequada, em latitude 12° Sul, e portanto, fora posteriormente testada em Campinas, no Instituto Agrônomo de Campinas, latitude 22° Sul, trazida por imigrantes japoneses, no ano de 1908 (SEDIYAMA; TEIXEIRA; BARROS, 2009).

Porém, no Rio Grande do Sul, as condições climáticas favoráveis para seu desenvolvimento ocorreram, de modo que eram semelhantes às do local de origem. A produção de grãos em escala comercial teve início no Rio Grande do Sul, no ano de 1935. Em 1941, a soja cultivada constava nas estatísticas e levantamentos de informações neste estado, com área de aproximadamente 700 hectares. A partir da década de 1950, houve expansão para outras regiões do país, utilizada inicialmente como produto *in natura* para alimentação de suínos (SEDIYAMA; TEIXEIRA; BARROS, 2009). Sua introdução fora atribuída a E. C. Craig, professor da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (SANTOS, 1988). A partir da década de 1960, todas as regiões do estado cultivavam soja, obtendo sucesso devido aos

investimentos em pesquisas na área de solo e melhoramento vegetal, que disseminou conhecimentos técnicos para o restante do país (CONCEIÇÃO, 1986).

A partir da década de 1960, há registros sobre a cultura, relatados em relação à área de produção e produtividade no âmbito mundial, ambos com crescimento acentuado até os dias atuais (Figura 1), e em todas as regiões do Brasil.

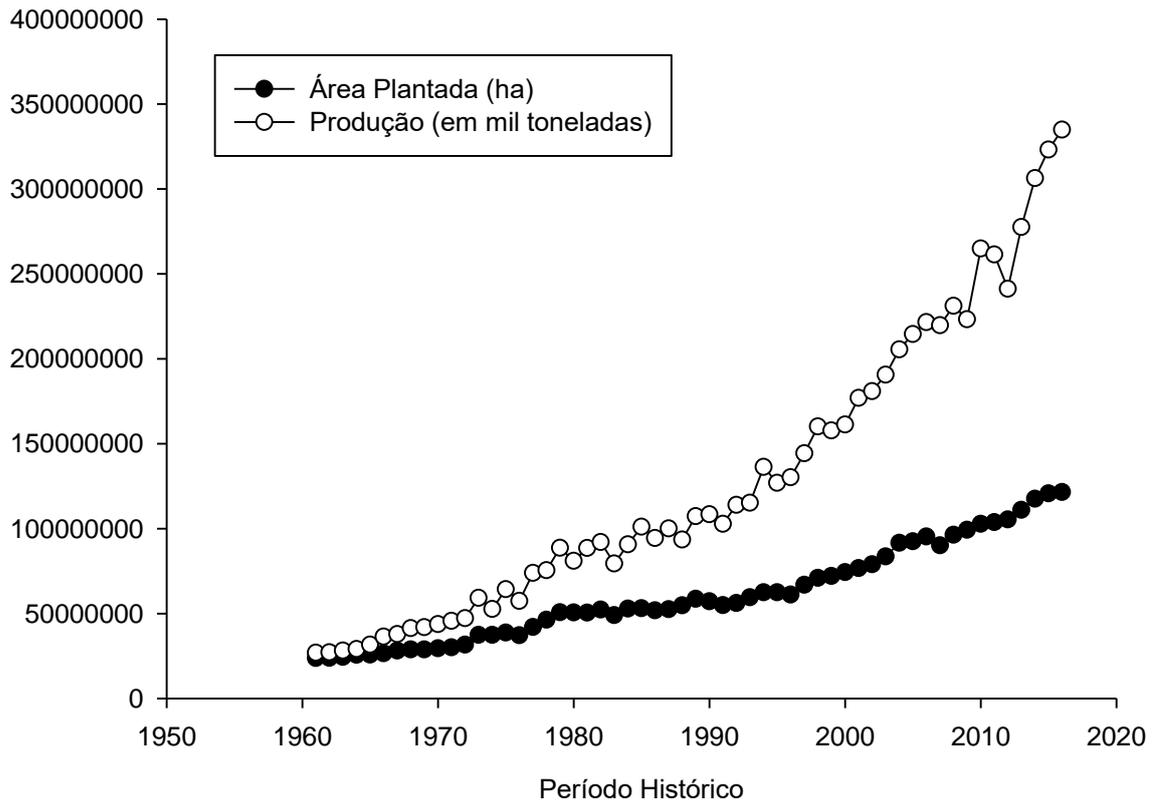


Figura 1 - Evolução da produção e área cultivada de soja no mundo de 1961 a 2018
Fonte: Adaptado de dados da FAO (2016)

Os primeiros relatos de consumo de grãos de soja datam entre 300 a.C. e 250 d.C., na Ásia. No Japão, há relatos do uso do grão fermentado para preparo de sopas e molhos, entre outros. Atualmente, os países asiáticos são os maiores consumidores deste grão, por este motivo, a maioria dos estudos com soja destinada a alimentação humana são oriundos de países asiáticos.

Os grãos de soja possuem alto teor de proteínas e lipídeos, e seu consumo tem sido vinculado a menores incidências de doenças coronárias, aterosclerose, diabetes tipo 2, cânceres carcinogênicos como de mama e próstata e ainda regula sintomas de menopausa, redução do colesterol, hipertensão, o que vêm chamando a atenção de instituições e pesquisadores (ANDERSON; JOHNSTONE; COOK-NEWELL, 1995;

ANTHONY; CLARKSON; WILLIAMS, 1998; JAYACHANDRAN; XU, 2019; KIM; LEE; LEE, 2011; LI et al., 2018; WATANABE; UEHARA, 2019). Ainda, produtos à base de soja também participam na indústria de alimentos na forma de polímeros para aplicação em fibras e embalagens (ABAEE; MOHAMMADIAN; JAFARI, 2017; TIAN et al., 2018).

No Brasil, o destino da produção de grãos de soja é majoritariamente para extração de óleo e ração animal, devido a sua composição química. Recentemente estudos no país vem sendo desenvolvidos, em especial com relação a composição química do grão com aplicação na indústria alimentícia, como em sopas, sucos, suplementos e outros, além de aplicações na saúde humana (DOERGE, 2011; HE; CHEN, 2013; JAYACHANDRAN; XU, 2019).

2.2. Produção comercial no Brasil

A cultura atualmente é produzida em larga escala, no entanto, mesmo não sendo reconhecida mundialmente como alimento básico (como o caso dos cereais arroz, milho e trigo), a soja representa um importante cultivo do Brasil atualmente, como principal fonte lipídica e proteica. O Brasil é o segundo maior produtor de soja (Figura 2) com produção estimada em mais de 120 milhões de toneladas do produto no ano 2017 (ABIOVE, 2018). De acordo com a Companhia Nacional do Abastecimento (CONAB), a área de produção da cultura de soja no ano safra 2017/2018 fora de aproximadamente 35 milhões de hectares, sendo a produção total do país estimada para a safra 2018/2019 será de aproximadamente 120 milhões de toneladas de grãos (CONAB, 2018).

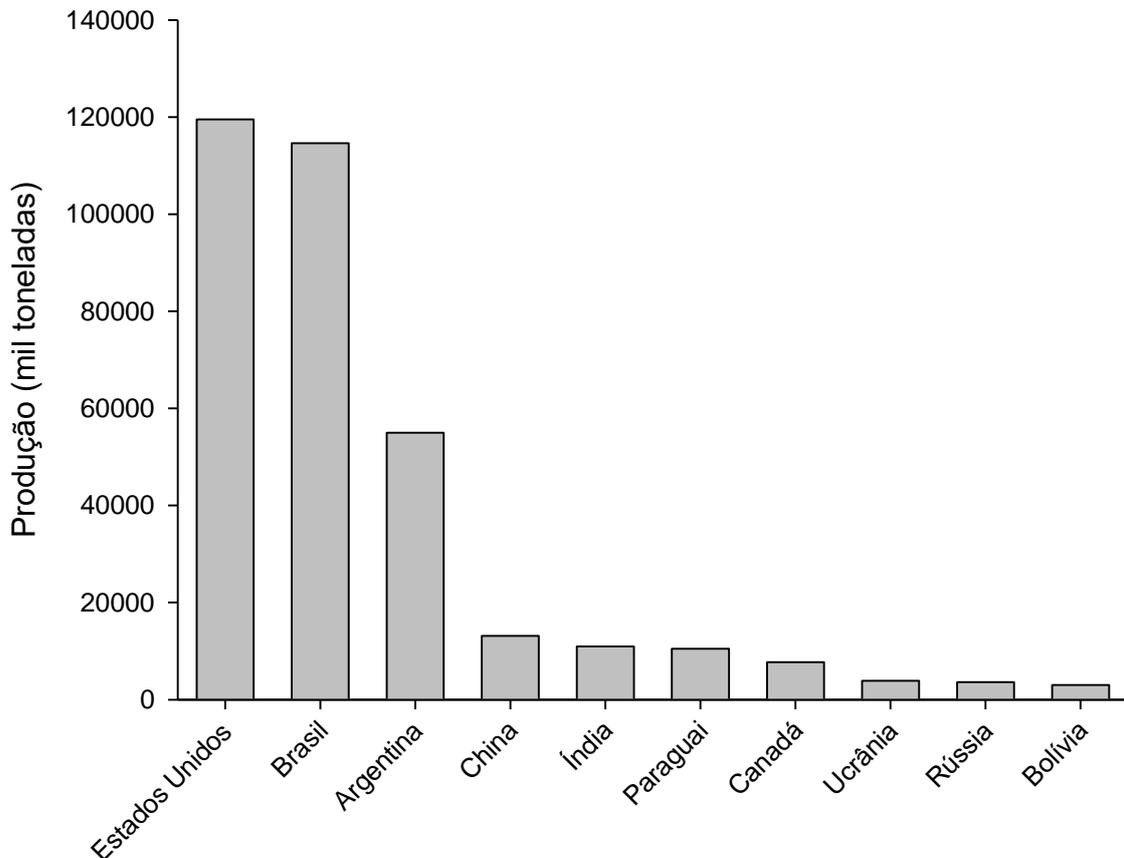


Figura 2 - Maiores países produtores de soja
 Fonte: Adaptado de FAO (2017)

O aumento gradual da área cultivada ao longo do tempo, principalmente após a década de 1970 demonstra a importância que esta cultura tem no âmbito nacional, assim como no Rio Grande do Sul, o qual teve sensível aumento, proporcionalmente ao dado nacional (CONAB, 2018).

Este incremento de produtividade deu-se em razão do mercado de soja, o qual é atribuído principalmente a China (Figura 3) a qual participa com 75% do mercado importador mundial de soja, atual comprador de grande parte da safra brasileira (CONAB, 2018; FAO, 2017a). O mercado de soja no Brasil movimenta aproximadamente 30% dos valores brutos mundiais, ocupando o segundo lugar das *commodities* mais produzidas no país (em toneladas) e a *commodity* com maior movimentação financeira, superior a 30 bilhões de dólares no ano de 2016 (FAO, 2017a). Os fatores citados anteriormente, associados ao desenvolvimento de novas tecnologias de cunho genético, agrônomo, climático e econômico, permitiram e incentivaram o aumento da área plantada de soja no Brasil, principalmente a partir de

1970, com aumentos substanciais com relação à produção e consequente produtividade de grãos (Figura 4).

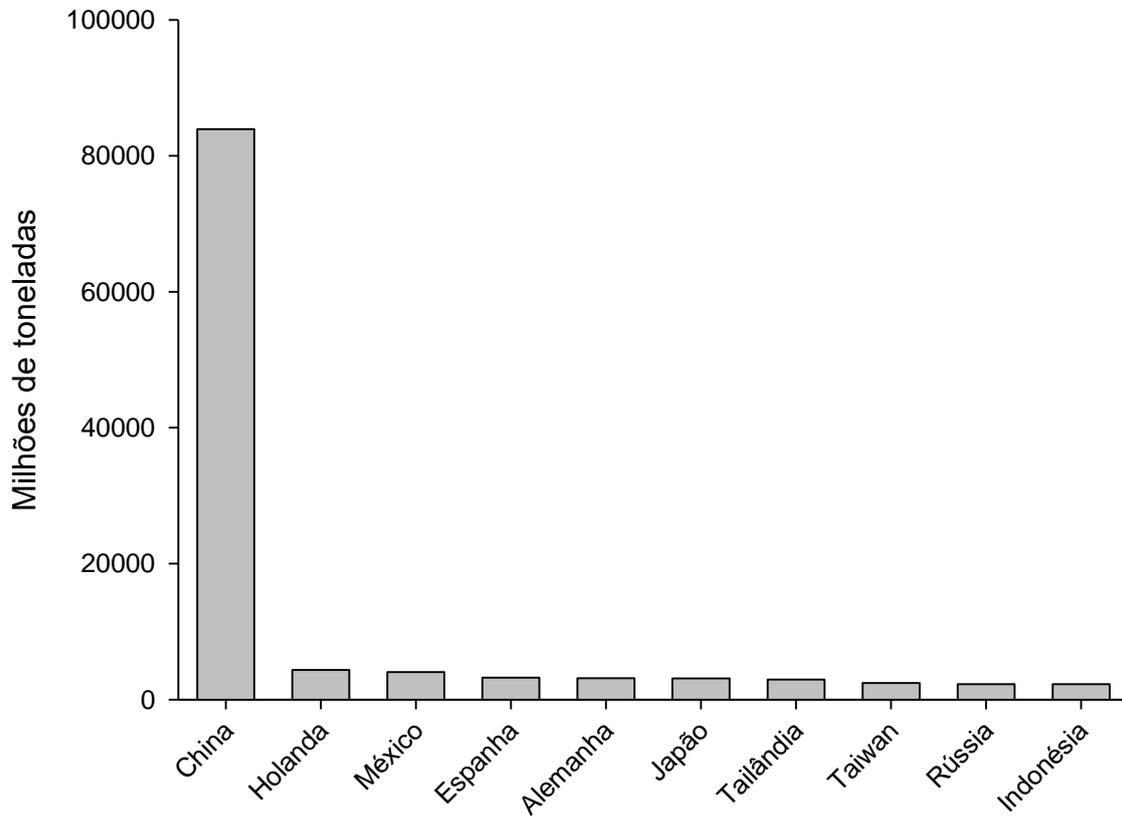


Figura 3 - Maiores importadores de soja
Fonte: Adaptado de FAO (2017)

A importância econômica desta espécie caracteriza-se pelo crescente índice de produção de grãos, ao longo das safras, havendo aumento da área e produção por hectare, resultando em maior produção de soja por ano.

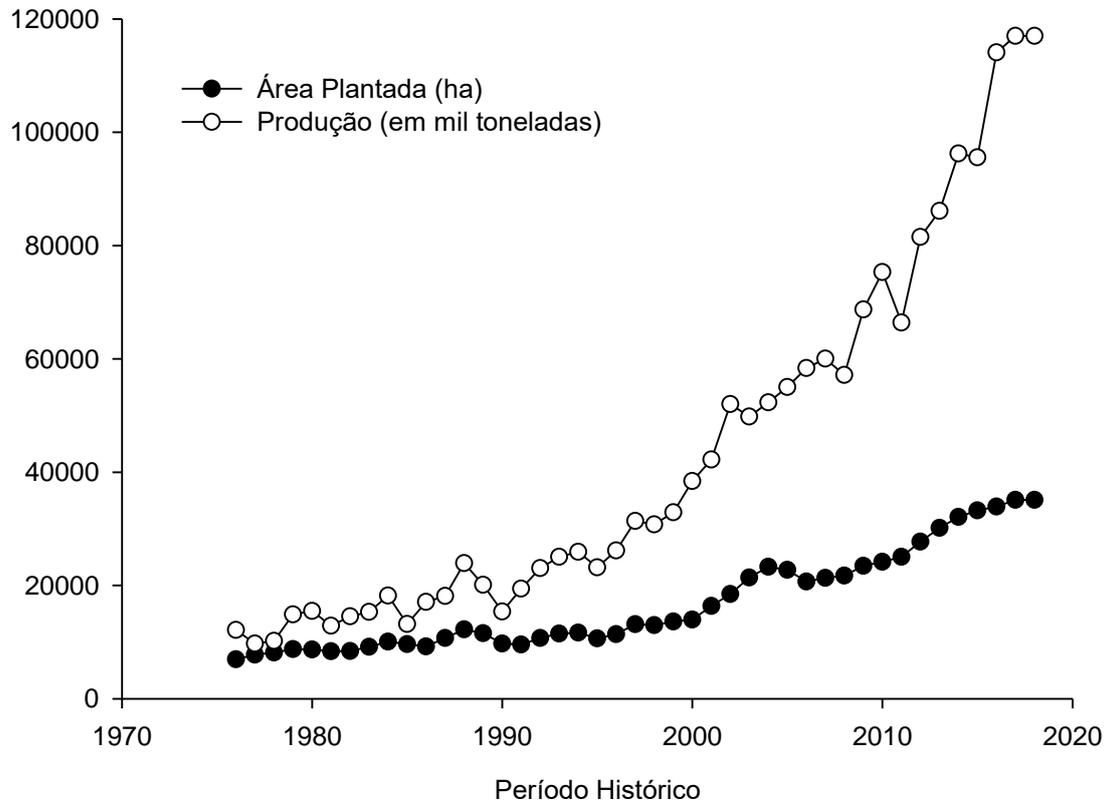


Figura 4 - Evolução da produção e área cultivada de soja no Brasil de 1976 a 2018
 Fonte: Adaptado de FAO (2017)

Atualmente, a soja é produzida em diversos estados brasileiros, e em especial, no Mato Grosso, Paraná e Rio Grande do Sul, representando mais de 60% da produção nacional do grão (Figura 5). Ao longo dos anos, devido ao aumento do preço da saca de soja, muitas sementeiras e produtores de lavouras comerciais optaram por produzir soja, como mais um produto em seu empreendimento, ou em alguns casos, a substituição total ou parcial de um ramo de negócio, como a pecuária, por lavouras de soja, e este fator contribui para cada vez mais aumentarem os índices de produção deste grão no país.

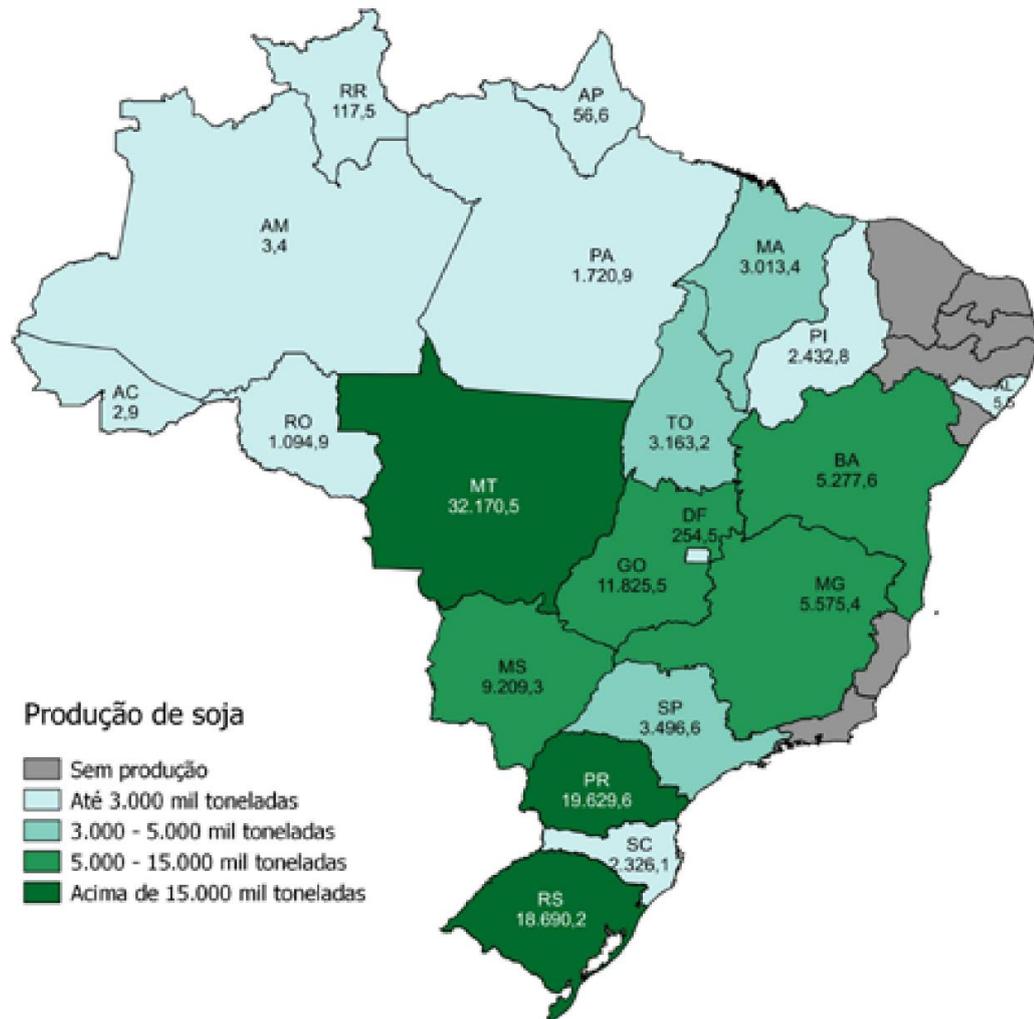


Figura 5 - Produção de soja no Brasil
 Fonte: Adaptado de CONAB (2018)

2.3. Estrutura e composição dos grãos de soja

Os grãos de soja são formados por um embrião protegido pelo tegumento. O embrião é composto de dois cotilédones e um eixo embrionário (epicótilo, hipocótilo e radícula). Devido às características morfológicas dos grãos, o tegumento protege o eixo hipocótilo-radícula, e dessa forma os grãos podem ser danificados por efeitos mecânicos ou biológicos, afetando diretamente o embrião (PESKE; VILLELA; MENEGHELLO, 2012). A soja no estágio de maturidade fisiológica possui forma ovalada e o seu tamanho é dependente da variedade. A estrutura do grão de soja é representada na Figura 6.

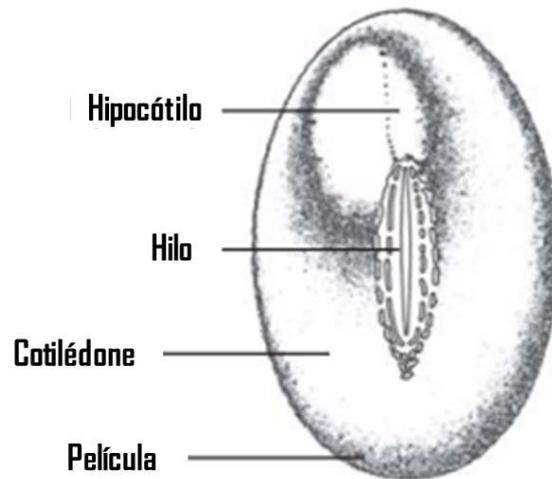


Figura 6 - Estrutura do grão de soja
 Fonte: Adaptado de Peske, Villela e Meneghello (2012)

Os grãos de soja possuem na sua composição química básica, em média 40% de proteína, 20% de lipídeos, 5% de minerais e aproximadamente 35% carboidratos totais (3% de amido). Além disso, é fonte de outros compostos bioativos, como carotenoides, compostos fenólicos e tocoferóis. Esses compostos estão distribuídos em todas as estruturas do grão (WILSON, 1995).

Em razão de sua composição única, este grão destaca-se por possuir o mais alto teor de proteína sobre todos os cereais e algumas leguminosas. Outros grãos como feijão e grão-de-bico possuem teores de proteína entre 20% e 30%, e cereais podem variar entre 8% e 15% (Figura 7). Dentre os grãos utilizados para a extração de óleo com fins comestíveis, a soja está atrás do amendoim (45-50%), canola (40-45%), girassol (35-45%) e cártamo (30-35%) (O'BRIEN, 2013). Em razão deste fato, a soja pode ser considerada uma oleaginosa (WRIGLEY et al., 2016).

A maior parte das proteínas de soja são proteínas de armazenamento. Em razão da característica de solubilidade proteica, as proteínas de grãos de soja estão divididas em albuminas e globulinas. A primeira, é solúvel em água, e a segunda em soluções salinas. As globulinas são as principais proteínas neste grão e dividem-se em glicinina e conglicinina, que possuem diferenças com relação ao perfil de aminoácidos e propriedades funcionais. A qualidade de produtos à base de soja, como tofu e soymilk estão diretamente ligados à proteína de soja (MENG et al., 2016). Estes

alimentos são consumidos principalmente na Ásia, porém vem ganhando espaço no mercado mundial (O'TOOLE, 2016). A proteína de soja está sujeita a processos como desnaturação, glicosilação, fortalecimento das pontes dissulfídicas, entre outros (HOU; CHANG, 2002; ZIEGLER et al., 2018a).

Durante o desenvolvimento dos grãos, o armazenamento de triglicerídeos ocorre em organelas conhecidas com corpos lipídeos ou oleossomos. Principalmente na forma de triglicerídeos. No processamento de grãos, o produto extraído com os solventes apolares, como hexano, é chamado de óleo bruto e os triglicerídeos são os principais componentes deste produto, possuindo ainda fosfolipídios, matéria insaponificável, ácidos graxos livres e traços de metais. Com relação ao perfil de ácidos graxos, o óleo bruto de soja possui em média 11% de Ácido palmítico, 4% de Ácido esteárico, 23% de Ácido oleico, 53% de Ácido linoleico e 8% de Ácido linolênico, perfil este que permite o estado físico natural do óleo bruto (líquido) (WRIGLEY et al., 2016; WRIGLEY; CORKE; WALKER, 2004).

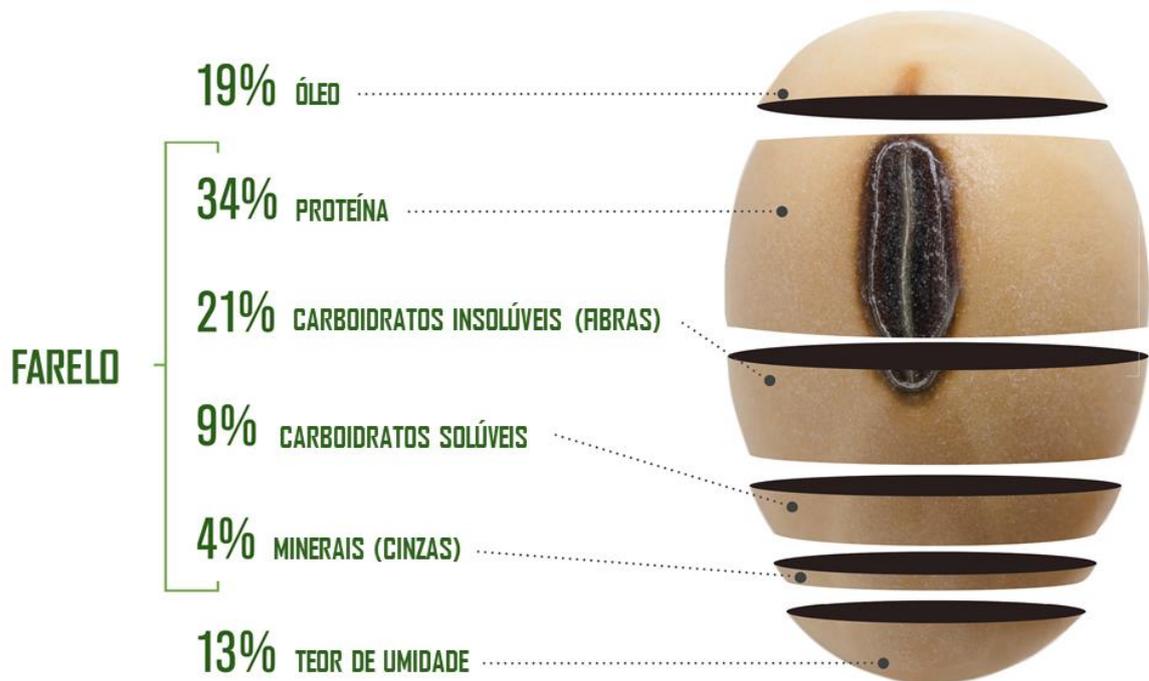


Figura 7 - Composição geral de grãos de soja
 Fonte: Adaptado de United Soybean Board (2016)

A composição química da soja vem sendo aprimorada através de melhoramento genético, e também em aspectos de manejo agrônomo, mas principalmente voltado para cultivares especiais, que apresentam películas pigmentadas, formatos diversos e também quimicamente diferentes, quanto a qualidade e quantidade de proteína, óleo e compostos bioativos. Mundialmente, algumas cultivares de soja são utilizadas na indústria de alimento e ração animal. Quanto a indústria de alimentos, o uso de grãos germinados, tofu, molho, e fermentados, ganharam espaço no mercado de alimentos, bem como o consumo de soja preta (também chamado de edamame ou maodou), já com atenção para melhorias quanto aspectos de produção em lavouras comerciais. Ainda, a soja é excelente fonte de carotenoides (como luteína), tocoferóis (vitamina E) e isoflavonas (daidzeína e genisteína), que possuem propriedades antioxidantes, e estão associados a benefícios à saúde humana, com compostos anticâncer, anti-inflamatória e outras (BUCHANAN; GRUISSEM; JONES, 2015; FERNANDES; COELHO; SALAS-MELLADO, 2019; RODRIGUEZ-AMAYA, 2001; WILSON, 1995; WRIGLEY et al., 2016).

Proteínas são macromoléculas, compostas por peptídeos, e estes são formados a partir de vários aminoácidos, ligados por ligações peptídicas. Proteínas controlam praticamente todos os processos de uma célula, exibindo várias funções. As proteínas são geradas a partir de aminoácidos que se ligam de forma covalente e essas propriedades variam conforme a sequência e combinações desses aminoácidos. Entretanto, algumas proteínas contêm alguns componentes químicos permanentemente associados e são chamadas de proteínas conjugadas, podendo complexar-se com compostos fenólicos ou metais. Na etapa de pós-colheita estas estruturas proteicas em determinadas condições como variações das temperaturas, variações de pH, tempo de armazenamento em condições inadequadas, podem ocasionar a perda da estrutura ou sua desnaturação, essa desnaturação leva a perda das funções nos organismos (NELSON e COX, 2014).

Lipídios são caracterizados por serem moléculas que possuem estruturas diversas e preferencialmente solúveis em solventes apolares, como clorofórmio, hexano e éter. Lipídios incluem uma variedade de compostos que derivam de ácidos graxos, assim como vários metabólitos do metabolismo especializado como carotenoides e outros que estão não estão relacionados com a rota de síntese de ácidos graxos. As principais funções dos lipídios nas plantas são lipídios de

armazenamento e de membrana, entretanto outros lipídios desempenham papel crucial como cofator enzimático, transportador de elétrons, âncoras hidrofóbicas, chaperonas que auxiliam no enovelamento das proteínas, hormônios, transportadores, intracelulares e agentes emulsificantes. Nas plantas os lipídios de armazenamento ocorrem na forma de triacilglicerol, contendo três moléculas de ácidos graxos esterificadas aos três grupos hidroxila do glicerol. Os lipídios de membrana atuam na forma de dupla camada com a função de modular a passagem de moléculas polares e íons, como fosfolipídios e glicolipídios. Normalmente são compostos por grupos polares e caldas apolares, fazendo com que a função de facilitador de passagem de moléculas na célula ocorra. As principais ocorrências de degradação de lipídios ocorrem via β -oxidação dos ácidos graxos para geração de energia química para planta e também através da degradação via oxidação e enzimas. As oxidações de lipídios ocorrem na presença de oxigênio, normalmente com ação de enzimas, como lipases, lipoxigenases, peroxidases e outros. A lipase é uma enzima que atua na hidrólise de lipídios, principalmente, “triacilglicerol” separando o glicerol dos ácidos graxos. Esses ácidos graxos livres favorecem o aumento da acidez e consequente formação de peróxidos, que ocasionam na produção de aldeídos e cetonas. As lipases estão presentes tanto nas plantas quanto em microrganismos associados. (NELSON e COX, 2014)

Os carotenoides presentes em alimentos normalmente são estruturas C40 (tetraterpenoides) construídos a partir de oito unidades de isoprenoides (C5), constituindo pigmentos naturais sintetizados através da ligação de moléculas de geranylgeranyl difosfato (C20), promovendo cor amarelada, avermelhada e alaranjada em diversos frutos e vegetais (NAMITHA e NEGI, 2010). O esqueleto linear e simétrico básico, que pode ser ciclizado em uma ou ambas as extremidades, tem grupos metil laterais separados por seis átomos de carbono no centro e cinco átomos de carbono em outro lugar. A ciclização e outras alterações, como hidrogenação, desidrogenação, migração de dupla ligação, encurtamento ou extensão de cadeia, rearranjo, isomerização, introdução de funções de oxigênio ou combinações desses processos resultam em uma grande porção de estruturas. Uma característica distintiva é um extenso sistema de dupla ligação conjugada, que serve como o cromóforo absorvente de luz responsável (RODRIGUEZ-AMAYA, 2001). Em soja, os principais carotenoides presentes neste grão são luteína, zeaxantina e β -criptoxantina (Figura 8). Estudos vem sendo desenvolvidos a fim de elucidar o conteúdo deste antioxidante (KAN et al.,

2018), o comportamento aos efeitos de eventos pós-colheita, como a germinação (EBERT et al., 2017), bem como sua estabilidade mediante condições de armazenamento e diversos tratamentos nos grãos de soja (BARBA et al., 2017; FERNANDES; COELHO; SALAS-MELLADO, 2019; ZHANG; XIE; CHE, 2018; ZIEGLER et al., 2016a). Entretanto, estudos sobre o conteúdo total e sobre o perfil de carotenoides em razão de efeitos como temperatura em óleos de diversas fontes vegetais, mas principalmente com soja foram desenvolvidos recentemente, porém não consideram a qualidade da matriz, desde a extração até o seu uso (GOULA et al., 2017; MBA; DUMONT; NGADI, 2017; ZEB; MEHMOOD, 2004).

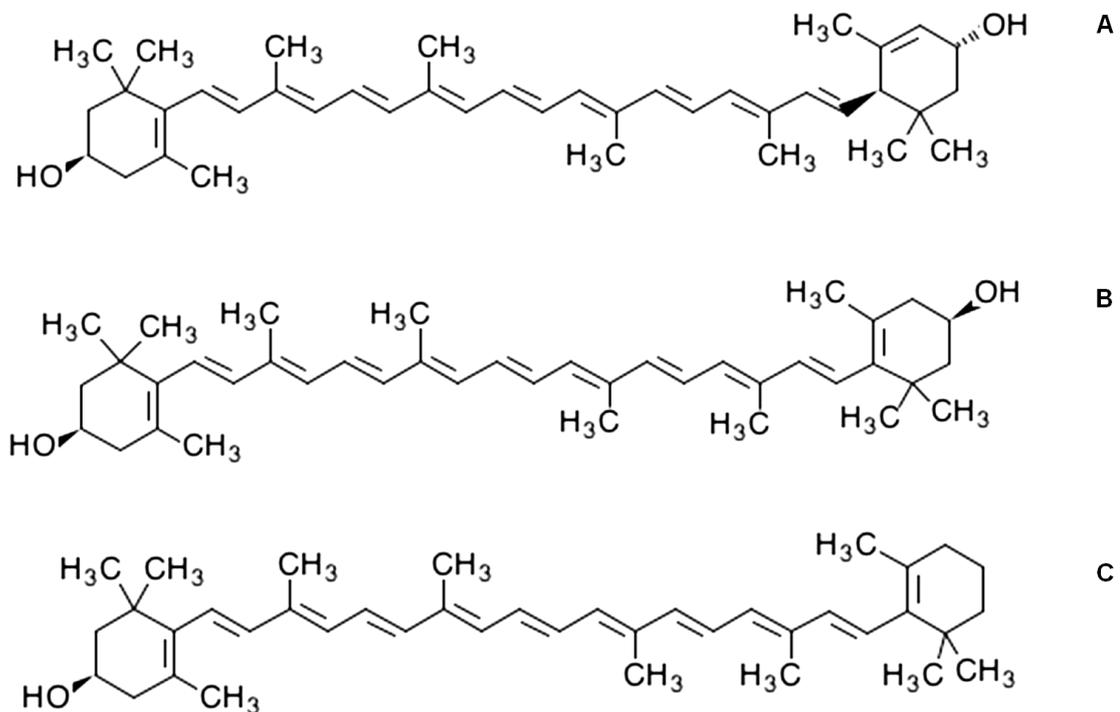


Figura 8 - Carotenoides encontrados comumente em grãos de soja.
Legenda: A: Luteína; B: Zeaxantina, C: β-Criptoxantina

Os compostos fenólicos são uma classe de compostos orgânicos que ocorrem em plantas como metabólitos do metabolismo especializado em várias concentrações, que podem variar conforme o genótipo e ambiente. Assim como os alcaloides, glucosídeos cianogênicos e inibidores de protease, promovem a defesa da planta contra ataques de insetos, herbívoros e patógenos microbiológicos, através do acúmulo desses compostos, ora tóxicos, nos vacúolos. Os fenólicos ainda possuem características químicas de formarem complexos com outros componentes, como proteínas e carboidratos, e ainda em está relacionado ao efeito hormonal, como o

Ácido salicílico, que induz o florescimento em algumas espécies vegetais (BUCHANAN; GRUISSEM; JONES, 2015; XU; DU; XU, 2015). As isoflavonas destacam-se por serem benéficas aos seres humanos por desempenharem atividade antioxidante, anti-inflamatória e previne o câncer (CHAO, 2008; HE; CHEN, 2013; LIU et al., 2012; WATANABE; UEHARA, 2019).

As isoflavonas em soja ocorrem em 4 isoformas distintas, que são os malonil, acetil, β -glicosídeos e agliconas. Ao todo, são conhecidas 12 isoflavonas em grãos de soja (LIMA; IDA, 2014). O conteúdo de isoflavonas varia conforme o genótipo (CHENG; YU; YU, 2008), manejo de campo (CHEN et al., 2013), etapas de pós-colheita (NIAMNUY et al., 2012) e microrganismos associados (DUEÑAS et al., 2012). Ziegler et al. (2018a) verificaram os efeitos da umidade, temperatura e tempo de armazenamento de grãos de soja e constataram que o armazenado dos grãos à 32 °C com umidade elevada (15 e 18%) modifica o perfil destes compostos bioativos. Os autores atribuíram estes resultados à redução da qualidade dos grãos de soja após o armazenamento, que degradou alguns compostos bioativos.

2.4. Industrialização

O cultivo da soja é destinado principalmente para ração animal, em razão de sua fração proteica. O óleo de soja é considerado um produto secundário. Outros produtos derivados a partir da soja, tofu, bebida de soja, soja germinada, molhos e temperos. Além disso, soja pode ser aplicado em produtos em função do teor de proteína desejado, e ainda, em sorvetes, iogurtes, queijo, *burgers* e análogos de carne e margarina (WRIGLEY et al., 2016).

A proteína de soja, em razão de sua composição, principalmente por conter isoflavonas é utilizada amplamente na indústria de alimentos, consumindo principalmente na Ásia (O'TOOLE, 2016). Portanto, a qualidade da composição química básica, mas especificamente desta proteína é fundamental para obter-se o maior rendimento destes produtos. As etapas de pós-colheita são fundamentais para a manutenção destes compostos, pois, em condições com alta temperatura, alta umidade dos grãos, e armazenados por longos períodos, por exemplo, podem ocasionar em alteração na composição destes compostos bioativos presentes nos grãos (ZIEGLER et al., 2018a)

O óleo extraído desta espécie é utilizado na alimentação humana, produção de biodiesel e lubrificantes. O farelo é importante na alimentação humana, animal e fabricação de produtos. Em relação a fração proteica obtida após a extração de óleo, sua qualidade e baixo custo de produção permitem o uso para complementação na dieta humana, principalmente em países em desenvolvimento (WRIGLEY et al., 2016; WRIGLEY; CORKE; WALKER, 2004).

A produção de óleo de soja no país aumentou ao longo dos anos, proporcionalmente ao consumo interno do produto (Figura 9), ao passo de que o saldo do mesmo ou é comercializado ou estocado para uso futuro. São dados que demonstram a importância do produto no mercado interno e externo, de modo que o complexo da soja contribui significativamente para o mercado brasileiro (ABIOVE, 2018).

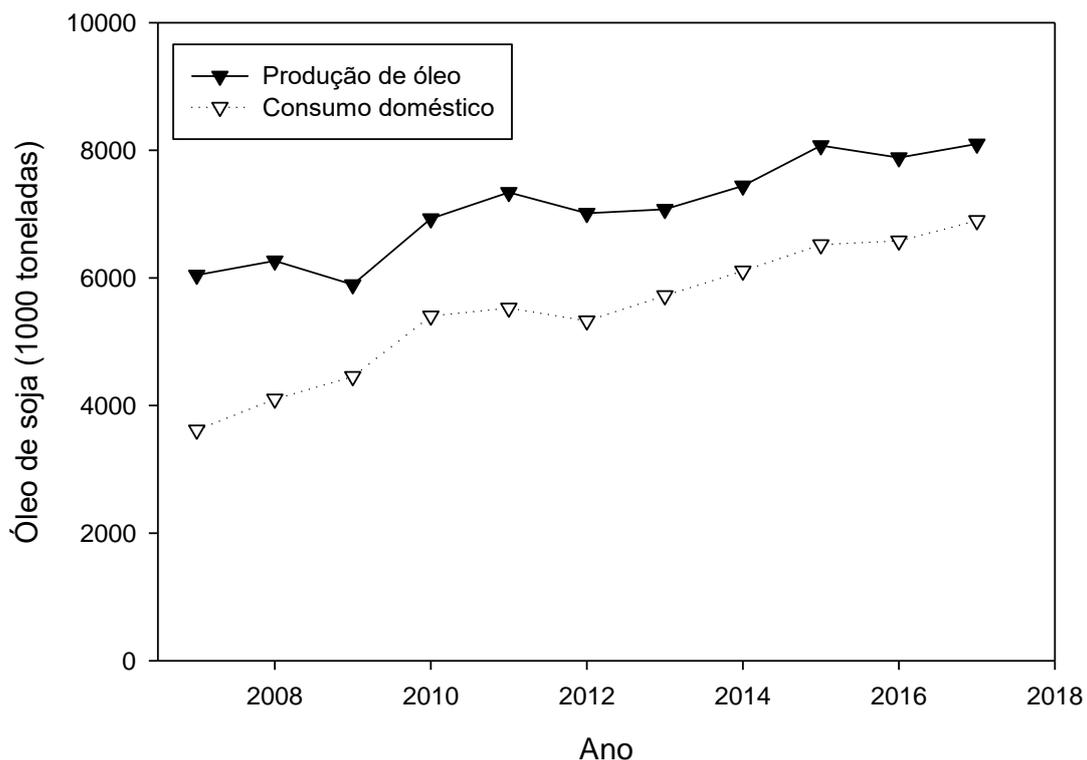


Figura 9 - Produção e consumo doméstico de óleo de soja
Fonte: ABIOVE, 2017

A qualidade de óleos comestíveis possui grande importância quanto ao mercado e saúde humana e, portanto, a necessidade de classificação dos grãos quanto à sua qualidade intrínseca e extrínseca se faz necessária, tanto para o

mercado interno quanto para o mercado externo. O óleo de soja destaca-se pelo balanço de ácidos graxos insaturados, pela presença de tocoferóis e carotenoides.

2.5. Classificação oficial de grãos de soja

O Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento via Instrução Normativa N° 11, de 15 de maio de 2007 (BRASIL, 2007a) e N° 37 de 30 de julho de 2007 (BRASIL, 2007b) estabelece o Regulamento Técnico da Soja, definindo seu padrão oficial de classificação, com os requisitos de qualidade intrínseca e extrínseca, a amostragem e marcação de rotulagem. O Capítulo I deste regulamento promove as disposições gerais:

Art. 2º Para efeito deste Regulamento, considera-se:

I - soja: grãos provenientes da espécie *Glycine max* (L) Merrill;

II - identidade: conjunto de parâmetros ou características técnicas que permitem identificar ou caracterizar um produto ou processo quanto aos aspectos botânicos, de aparência, metodologia de preparo, natureza ou forma de processamento, beneficiamento ou industrialização, modo de apresentação, conforme o caso;

III - qualidade: conjunto de parâmetros ou características extrínsecas ou intrínsecas de um produto ou um processo, que permitem determinar as suas especificações quali-quantitativas, mediante aspectos relativos à tolerância de defeitos, medida ou teor de fatores essenciais de composição, características organolépticas, fatores higiênico- sanitários ou tecnológicos;

IV - avariados: grãos ou pedaços de grãos que se apresentam queimados, ardidos, mofados, fermentados, germinados, danificados, imaturos e chochos:

a) queimados: grãos ou pedaços de grãos carbonizados;

b) ardidos: grãos ou pedaços de grãos que se apresentam visivelmente fermentados em sua totalidade e com coloração marrom escura acentuada, afetando o cotilédone;

d) fermentados: grãos ou pedaços de grãos que, em razão do processo de fermentação, tenham sofrido alteração visível na cor do cotilédone que não aquela definida para os ardidos;

A classificação deste produto, mediante a legislação vigente é de grande importância econômica, de acordo com os dados das instituições citadas anteriormente, visando a adequação quanto ao tipo, dentro do Grupo I, ou seja, destinada para consumo *in natura* (Tabela 1).

Tabela 1 - Limites máximos de tolerância, expressos em percentagem, para a soja do Grupo I

Tipo	Avariados	Esverdeados	Partidos, Quebrados	Matérias estranhas
------	-----------	-------------	---------------------	--------------------

	Total de Ardidos e Queimados	Máximo de Queimados	Mofados	Total (1)		e Amassados	e Impurezas
1	1,0	0,3	0,5	4,0	2,0	8,0	1,0
2	2,0	1,0	1,5	6,0	4,0	15,0	1,0

(1) A soma de queimados, ardidos, mofados, fermentados, germinados, danificados, imaturos e chochos

Os defeitos metabólicos são aqueles que ocorrem em razão do metabolismo do próprio grão e/ou em conjunto com outros organismos associados. Os principais defeitos metabólicos em grãos de soja são os queimados, mofados, ardidos e fermentados, sendo sua origem associada ao metabolismo intenso dos grãos, que promovem efeitos visuais e físico-químicos nos grãos de soja. O metabolismo acelerado pode ocorrer na própria lavoura, ou na pós-colheita, como secagem ou armazenamento inadequado. As condições de altas temperaturas e teor de umidade dos grãos favorecem o processo de respiração vegetal, acelerando a degradação dos compostos (PARAGINSKI et al., 2015). Já os defeitos não-metabólicos, ocorrem por processos de origem abiótica, como o clima ou maquinários regulados de forma inadequada como os partidos e quebrados, ou biótico, associado a um ataque de insetos-praga, que danificam os grãos, como os picados.

A produção de óleo e uso de proteínas a partir de soja possui alta demanda no país e mundialmente e, portanto, a qualidade e o teor destes necessariamente deve ser averiguado principalmente quando destinado ao consumidor final, de modo a assegurar as devidas demandas e da alimentação segura. Entretanto, a qualidade da matriz a qual será utilizada, tanto para extração de óleo, quando uso de sua proteína, deverá ser considerada, tendo em vista a vigente classificação nacional para grãos considerados sadios. Os processos e operações de pós colheita com grãos de soja, como armazenamento ou secagem inadequada podem promover aumento no teor de defeitos em razão do processo metabólico que os grãos realizam, favorecidos pela umidade, temperatura e tempo de armazenamento, por exemplo.

3. Capítulo 1 – Impacto dos defeitos fermentado, ardido e queimado sobre propriedades físicas, químicas e compostos bioativos de grãos de soja e propriedades do isolado proteico

3.1. Introdução

A soja é um dos principais produtos agrícolas cultivados no mundo, sendo Estados Unidos e Brasil os maiores produtores (FAO, 2017a). Os grãos são colhidos normalmente uma vez ao ano, o que torna os processos de pós-colheita fundamentais para a manutenção da qualidade destes grãos, em razão do consumo crescente pela população de alimentos que contenham soja (CAO et al., 2018).

Estima-se que 60% dos alimentos processados contenham soja em sua formulação, em razão de sua composição química. A soja possui em média 34% de proteínas e 19% de lipídeos (ZIEGLER et al., 2016b). Em razão do alto teor e qualidade, a proteína de soja é utilizada para ração animal e em diversos alimentos, como molhos, tofu, massas e outros, em razão de suas propriedades funcionais, nutricionais e bioativas (POYSA; WOODROW; YU, 2006).

A qualidade de produtos à base de soja, como tofu e soymilk estão diretamente ligados à proteína de soja (MENG et al., 2016). Estes alimentos são consumidos principalmente na Ásia, porém vem ganhando espaço no mercado mundial (O'TOOLE, 2016). Portanto, a qualidade da composição química básica, mas especificamente desta proteína é fundamental para obtenção de maior rendimento destes produtos. A proteína de soja, quando em condições inadequadas de secagem, armazenamento e processamento, está sujeita a processos como desnaturação, glicosilação e fortalecimento das pontes dissulfídicas (HOU; CHANG, 2002; ZIEGLER et al., 2018a).

Os principais compostos bioativos em grãos de soja são os compostos fenólicos, especialmente as isoflavonas. As isoflavonas possuem ação antioxidante, anti-inflamatória (MIRAHMADI et al., 2018), prevenção de câncer (LEE et al., 2014) e outros. Entretanto, são moléculas que estão sujeitas à modificações químicas em suas isoformas, que alteram sua bioacessibilidade. A forma aglicona são as principais quanto ao aspecto de rapidez de absorção pelos seres humanos, em razão das outras isoformas apresentarem-se na forma conjugada, passando assim pelo sistema gástrico (HSIAO; HSIEH, 2018; LIMA; IDA, 2014).

A concentração dos compostos bioativos de grãos de soja está diretamente ligada à qualidade do grão. O manejo de lavoura, condições ambientais, genótipo e etapas de pós-colheita de grãos podem alterar a concentração dos compostos bioativos em grãos de soja. Ferreira et al. (2019) avaliaram a secagem à 30, 50, 70, 90 e 110 °C e armazenamento por 12 meses de grãos de soja e verificaram diminuições na germinação dos grãos de soja quando foram secos a temperaturas de 90 e 110 °C. Ziegler et al. (2018b) avaliou o efeito do armazenamento de grãos de soja com 12 e 15% de umidade a 11, 18, 25 e 32 °C durante 12 meses e verificaram diminuições no rendimento de extração de proteína, bem como relataram que as propriedades tecnológicas, como capacidade de formação e estabilidade de espuma foram afetadas, diminuindo os valores do tempo de estabilidade de espuma e aumentos na formação de espuma e capacidade emulsificante. Chang et al. (2010) avaliaram o efeito do armazenamento de soja sobre a qualidade tecnológica da proteína para aplicação em tofu e *soymilk* e observaram que ao armazenar grãos de soja em condições inadequadas, com 84% de umidade relativa do ar, a 30 °C por nove meses, e relataram que os grãos se deterioraram a partir do segundo mês de armazenamento. Os estudos anteriores relataram que a degradação dos grãos de soja afeta as propriedades físicas, químicas e os compostos bioativos dos grãos, todavia, estes estudos não consideram o efeito da classificação do grão, em razão dos seus defeitos individualmente, sobre esses resultados encontrados.

Este estudo objetivou avaliar a influência dos defeitos de grãos de sobre a composição química, propriedades tecnológicas, funcionais e de bioativos da farinha do grão integral e proteína concentrada de soja.

3.2. Metodologia

3.2.1. Material

Os grãos foram obtidos de lavouras comerciais no Rio Grande do Sul, e submetidas a condições de armazenamento drásticas, que favoreceram o desenvolvimento de defeitos, de acordo com o estudo de Ziegler et al. (2016b). Os grãos com teor de umidade colheita de 18% foram armazenados a 32 °C até a obtenção dos defeitos metabólicos. A identificação e a separação dos grãos com defeitos metabólicos (fermentados, ardidos e queimados) seguiu os conceitos definidos e caracterização constantes na Instrução Normativa do Ministério da

Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) N° 15/2004, 11/2007 e 37/2007 (BRASIL, 2004, 2007b, 2007a). Os grãos foram classificados conforme a legislação em sadios, fermentados, ardidos e queimados, conforme a figura 10. Os grãos sadios e com defeitos foram agrupados de acordo com a classificação em amostras de aproximadamente de 1 kg para análises posteriores.

3.2.2. Delineamento experimental

O delineamento experimental do Capítulo 1 está apresentado na tabela 2

Tabela 2 - Delineamento experimental do Capítulo 1

Variáveis independentes	Variáveis dependentes
<i>Grãos</i>	Grão
Sadio	Composição proximal
Fermentado	Perfil colorimétrico
Ardido	Atividade de água (aw)
Queimado	Peso de mil grãos
	Proteína solúvel
	pH dos grãos
	Compostos fenólicos individuais
	Perfil de isoflavonas
	Digestibilidade proteica
	Isolado proteico
	Rendimento
	Perfil de isoflavonas

3.2.3. Métodos

3.2.3.1. Preparo das amostras e separação de defeitos metabólicos

As amostras foram separadas e segregadas quanto a grãos sadios e com defeitos metabólicos (fermentados, ardidos e queimados) de acordo com os conceitos e caracterização constantes na Instrução Normativa MAPA N° 15/2004, 11/2007 e 37/2007 (BRASIL, 2004, 2007b, 2007a). Os grãos sendo separados em grãos “sadios”, “fermentados”, “ardidos” e “queimados”, em razão de estes serem os principais defeitos presentes na amostra utilizada, conforme figura 10. Os grãos foram agrupados nesta classificação em amostras de aproximadamente de 1 kg de cada defeito, sendo moídas em

moinho Perten 3100, Perten Instruments, Huddinge, Sweden), para redução de partículas a 35 mesh.



Figura 10 - Grãos de soja classificados em sadios, fermentados, ardidos e queimados

3.2.3.2. Composição proximal

O grau de umidade dos grãos de soja foi determinado em estufa a $105 \pm 3^\circ\text{C}$, com circulação natural de ar por 24 horas, de acordo com o método recomendado pela American Society of Agricultural Engineers (ASAE, 2000). O teor de nitrogênio foi determinado de acordo com o método AACC 46-13 (AACC, 1995), e o conteúdo de

proteína bruta foi obtido utilizando o fator de conversão de nitrogênio para proteína de 6,25. O teor de lipídios foi determinado de acordo com o método 30-20 da American Association of Cereal Chemists (AACC, 1995). O teor de cinzas foi determinado de acordo com AACC método 08-01 (AACC, 1995). Os resultados foram expressos em percentagem.

3.2.3.3. Atividade de água (aw)

A atividade de água foi determinada em medidor Water Activity (marca Novasina, modelo LabTouch-aw, Suíça). Foram realizadas 10 leituras por amostra.

3.2.3.4. Perfil colorimétrico dos grãos

O perfil colorimétrico foi avaliado em colorímetro (Minolta, modelo CR-310, Osaka, Japão), que faz a leitura de cores num sistema tridimensional, avaliando a cor em três eixos, onde o eixo L* avalia a amostra do preto (0) ao branco (100), o eixo a* da cor verde (-) ao vermelho (+) e o eixo b* da cor (-) azul ao amarelo (-).

3.2.3.5. Proteína solúvel

O teor de proteína solúvel foi determinado segundo método descrito por Liu et al. (1992), com modificações. Em cada amostra de 0,5g foram adicionados 25mL de água destilada, sendo as amostras e a água misturadas com o auxílio de agitador magnético durante 1 hora, após foram centrifugadas a 5300g durante 20 min em 24 °C de temperatura em centrífuga *Eppendorf Centrifuge 5430R*. Uma alíquota de 1mL do sobrenadante foi coletada e a determinação do teor de proteína solúvel foi feita pelo método descrito pela AACC (1995), o mesmo utilizado para avaliação do teor de proteína bruta. Os resultados foram expressos em percentagem.

3.2.3.6. pH dos grãos

O pH foi determinado segundo método proposto por Rehman et al. (2002). Um filtrado de 2g de amostra moída (35 mesh) foi imerso em 20mL de água destilada, e o pH foi determinado utilizando-se um eletrodo de vidro pHmetro (Pye Unicam, Inglaterra).

3.2.3.7. Perfil de Isoflavonas

A extração das isoflavonas das farinhas soja foi realizada conforme Lee et al. (2015). Para isso, 200mg de farinha foram misturados com 2mL de metanol 80% (v/v). Os extratos foram sonicados por 30min a uma frequência de 40kHz, em temperatura ambiente. Posteriormente, o extrato foi centrifugado (9000xg por 5min) e o sobrenadante foi coletado. Os sobrenadantes foram filtrados em filtro de seringa de nylon de 0.22 μ m para posterior injeção no sistema de cromatografia líquida acoplada a um espectrômetro de massas.

Cinco microlitros dos extratos foram injetados em cromatógrafo a líquido ultrarrápido (UFLC, Shimadzu, Japão) acoplado a espectrômetro de massas de alta resolução do tipo quadrupolo-tempo de voo (Impact HD, Bruker Daltonics, Bremen, Alemanha). Para a separação cromatográfica foi utilizada a coluna Bidentate C18 (100 x 2,1mm) (MicroSolv Technology Corporation, Leland, NC, EUA) e a pré-coluna Security guard C18 (4 x 2,0 mm) (Phenomenex). As fases móveis foram: água acidificada com 0,1% de Ácido fórmico (eluente A) e metanol (eluente B). Para a separação foi utilizado um gradiente: 0.00 min – 1.00 15% B, 1.00 – 10.00 min 70% B, 10.00 – 12.00 min, 70% B. 12.01 – 15.00 min, 15% B, permanecendo por 6 min nessa condição para estabilização da pressão na coluna analítica. O fluxo foi de 0,2 mL min⁻¹ e a temperatura da coluna foi mantida a 35 °C.

O espectrômetro de massas foi operado no modo positivo com espectros adquiridos ao longo de uma faixa de massa de m/z 50 a 700. Os parâmetros de aquisição foram: voltagem do capilar em 4.5 kV, pressão do gás de nebulização (N₂) de 2 bar, gás de secagem em 9 L min⁻¹, temperatura da fonte de 200°C, colisão de RF de 300 Vpp; transfer 70 μ S e armazenamento pré-pulso de 5 μ S. O equipamento foi calibrado com formiato de sódio 10 mM, cobrindo toda a faixa de aquisição (de m/z 50 até 700). Além disso, experimentos automáticos de fragmentação (EM/EM) foram realizadas ajustando os valores de energia de colisão como se segue: m/z 100, 15 eV; m/z 500, 35 eV; m/z 1000, 50 eV, e usando nitrogênio como gás de colisão.

Para a quantificação das isoflavonas foram preparadas curvas de calibração nas concentrações de 39 a 5000 ng mL⁻¹ utilizando os padrões externos: daidzina, genistina, glicitina, daidzeína, genisteína, gliciteína, acetil genistina, acetil glicitina,

malonil daidzina, malonil genistina e malonil glicitina. Os resultados foram expressos em $\mu\text{mol g}^{-1}$.

3.2.3.8. Compostos fenólicos individuais

Para a análise de compostos fenólicos individuais, foi utilizado a mesma metodologia de extração de isoflavonas, conforme Lee et al. (2015).

A análise por LC-ESIqToF-MS foi realizada em um sistema de proeminência UFLC (Shimadzu, Japan) acoplado a um espectrômetro de massa com fragmentação por quadrupolo e por tempo de voo (Impact HD, Bruker Daltonics, Bremen, Germany). Os compostos fenólicos foram separados no modo negativo, utilizando uma coluna Luna C18 (2,0 x 150mm, 100 Å, tamanho de partícula de 3 μm , Phenomenex, Torrance, CA, USA). As fases móveis foram: Ácido fórmico, pH 2,8 (fase A) e acetonitrila (fase B). O gradiente de eluição foi: 0-2min, 10% de B; 2-10min, 10-75% de B; 10-15min, 75% de B; 15-18min, 75-90% de B; 18-21min, 90% de B; 21-23min, 90-10% de B; 23-30min, 10% de B; com um fluxo de 0,2mL.min⁻¹. O volume de injeção foi de 10 μL . Os parâmetros para a análise de MS foram criados usando o modo negativo com espectros na faixa de massa (m/z) de 50 a 1200. Os parâmetros foram: tensão capilar, 4,0 kV; temperatura do gás de secagem, 180°C; fluxo de gás de secagem, 8L.min⁻¹; pressão do gás de nebulização, 2 bar; colisão, RF, 150 vpp; tempo de transferência de 70 μs , e armazenamento pré-pulso de 5 μs . Além disso, os ensaios automáticos de MS/MS foram realizados ajustando os valores de energia de colisão da seguinte maneira: m/z 100, 15 eV; m/z 500, 35 eV; m/z 1000, 50 eV, utilizando gás nitrogênio como gás de colisão. Os dados de MS foram processados através do software de análise de dados 4.0 (Bruker Daltonics, Bremen, Germany), que forneceu uma lista de possíveis fórmulas elementares usando o editor de fórmula Inteligente.

Para a quantificação de ácidos fenólicos e flavonoides foram preparadas as curvas de calibração com padrões externos na faixa de (78-5000ng.mL⁻¹). O limite de detecção e quantificação foram estimados pela relação sinal/ruído de 3 e 10, respectivamente. Os íons monitorados foram: Ácido hidroxibenzóico (m/z 137,0244), Ácido cafeico (m/z 179,0345), Ácido vanílico (m/z 167,0347), Ácido siríngico (m/z 197,0451), Ácido p-cumárico (m/z 163,0395), Ácido ferúlico (m/z 193,0508), kaempferol (m/z 285,0390), rutina (m/z 609,1465), catequina (m/z 289,0715) e

quercetina (m/z 301,0363). Os resultados foram expressos em $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ para cada composto avaliado.

3.2.3.9. Digestibilidade proteica

A digestibilidade proteica dos grãos moídos foi realizada seguindo a metodologia descrita por Hsu et al. (1977), com adaptações. O princípio do método é baseado na correlação entre velocidade inicial de proteólise e digestibilidade, medida através do pH, utilizando-se uma solução enzimática para digerir a amostra. Foram utilizadas para a hidrólise da solução de proteínas uma solução enzimática contendo as enzimas tripsina e pancreatina. Ajustou-se o pH de 50 mL da suspensão proteica em água destilada (contendo $6,25 \text{ mg de proteína mL}^{-1}$), para pH 8,0 sob agitação, em banho-maria a $37 \text{ }^\circ\text{C}$. Cinco mililitros da solução enzimática foram adicionados à suspensão proteica mantida em banho-maria a $37 \text{ }^\circ\text{C}$. A queda do pH foi medida após a adição da solução enzimática, a partir de 15 segundos e posteriormente a cada minuto até o tempo de 10 minutos, usando-se um potenciômetro. A digestão enzimática foi caracterizada pela queda do pH 10 minutos após adição da solução enzimática e ajuste da equação que descreve a queda do pH versus tempo. A queda do pH após observada no período dos 10 minutos e a equação dos parâmetros foram utilizados para descrever a correlação com a digestibilidade verdadeira in vivo.

$$\text{Digestibilidade proteica (\%)} = 210,46 - 18,103x \quad (2)$$

Onde: X representa a determinação do pH.

3.2.3.10. Extração de proteínas

A extração de proteínas foi realizada conforme descrito por Liu et al. (2008), com pequenas modificações. Os grãos moídos e desengordurados foram suspensos em água destilada a uma razão de 1:10 (grão(farinha): água) e o pH foi ajustado para 9,0 com NaOH a $1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$. A solução foi agitada à temperatura ambiente durante 2h e depois centrifugou-se a $500 \times g$ durante 15 min. O sobrenadante foi recolhido e o precipitado foi submetido a extração adicional. As frações do sobrenadante foram reunidas e o pH foi ajustado para 4,5 com $1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ de HCl. Após centrifugação a 3500

× g por 20 min, o sobrenadante foi descartado e o precipitado (fração proteica) foi ressuspensão em água destilada. O pH foi ajustado para 7,0 com NaOH a 1 mol.L⁻¹ e o extrato proteico foi liofilizado. O rendimento de extração de proteína foi calculado expressando o rendimento de proteína liofilizada como percentagem da quantidade de grão moído desengordurado utilizado para extração.

3.2.3.11. Perfil de isoflavonas do concentrado proteico

O perfil de isoflavonas do isolado proteico foi realizado conforme item 3.2.2.6.

3.3. Análise estatística

Para os resultados obtidos foi realizada a Análise de variância (ANOVA), o teste F e posteriormente o teste de Tukey, quando o teste F foi significativo ao nível de 5% utilizando o programa estatístico SAS (SAS INSTITUTE, 2002).

3.4. Resultados e discussão

3.4.1. Proteína bruta, teor de lipídeos, teor de cinzas e atividade de água

A proteína bruta, teor de lipídeos, teor de cinzas e atividade de água dos diferentes defeitos de grãos de soja estão apresentados na tabela 3.

Tabela 3 - Composição proximal e atividade de água de diferentes defeitos de grãos de soja

Classificação dos grãos	Composição proximal			a _w
	Proteínas (%)*	Lipídeos (%)	Cinzas (%)	
Sadio	33,59 ± 0,92 a	24,62 ± 0,22 a	5,07 ± 0,08 c	0,79 ± 0,01 a
Fermentado	32,38 ± 0,54 a	26,20 ± 0,61 a	5,10 ± 0,11 c	0,77 ± 0,01 b
Ardido	34,17 ± 0,53 a	22,15 ± 0,40 b	5,35 ± 0,05 b	0,77 ± 0,01 b
Queimado	33,55 ± 0,60 a	21,85 ± 1,54 b	5,62 ± 0,07 a	0,79 ± 0,01 a

*Valor médio ± desvio padrão (n=3). Letras iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente (p>0,05) entre si pelo teste de Tukey

Os teores de proteína bruta dos grãos de soja com defeitos variaram entre 32,38 e 34,17% respectivamente para o grão ardido e fermentado, porém os

tratamentos não diferiram ($p > 0.05$) entre si. O teor de proteína bruta, expresso em nitrogênio total, está diretamente ligado ao ambiente que a planta está submetida e também a aspectos genéticos (BUCHANAN; GRUISSEM; JONES, 2015; SHI et al., 2016; WILSON, 1995). Zimmer et al. (2014) avaliaram os efeitos de diferentes cultivares de soja cultivadas em ambientes frios com diferentes combinações de inoculantes e verificaram que houve variação de 35,8 a 42,9% de proteína bruta. Paraginski et al. (2014) avaliaram as propriedades de amido e farinha de arroz com diferentes defeitos e não verificaram diferenças no teor de proteína bruta. Ziegler et al. (2016b) verificaram diminuições no teor de proteína bruta após o armazenamento por 12 meses de grãos de soja a 9, 12, 15 e 18% de umidade, em temperaturas de 11, 18, 25 e 32 °C, observando que as condições do grão armazenado a 32 °C 18% de umidade promoveu a maior redução, de 39,0 para 35,4%, e atribuíram a degradação da proteína a pequenos aminoácidos e peptídeos devido à degradação por processos metabólicos.

O teor de lipídeos dos grãos variou entre 21,85 e 26,20% em grãos com defeitos queimado e fermentado, respectivamente. Os maiores valores foram para grãos sadios e fermentados ($p < 0.05$). O teor de lipídeos também varia conforme aspectos genéticos, como a cultivar. Kan et al. (2018) avaliou 7 cultivares de soja cultivadas na Ásia e verificou valores de lipídeos, via extração com solvente, de 14,13 a 22,90%. O método de extração também pode promover alteração quanto ao conteúdo de lipídeos. Manirakiza, Covaci e Schepens (2001) avaliaram diferentes métodos de extração de lipídeos e verificaram que para algumas matrizes, como por exemplo no caso de sólidos, o Soxhlet pode ser empregado de maneira mais eficaz do que matrizes líquidas e os diferentes métodos podem alterar a composição e o teor de lipídeos de uma mesma matriz. A redução do teor de lipídeos pode ocorrer em razão da ação de enzimas lipases, e conseqüente, reações bioquímicas, na formação de compostos voláteis (aldeídos e cetonas). Sleeter (1981) avaliou efeitos do armazenamento de óleo de soja e verificou aumento no teor de compostos voláteis que indicam a degradação de ácidos graxos, como hexanal e heptanal, em função do aumento do tempo de armazenamento do óleo. Ainda, podem haver a formação de produtos de degradação e ainda do próprio metabolismo do grão, a qual a β -oxidação possui participação na quebra de ácidos graxos de cadeia longa para a conversão em energia (BUCHANAN; GRUISSEM; JONES, 2015; WILSON, 1995; WRIGLEY et al., 2016).

O teor de cinzas dos diferentes defeitos de grãos de soja variou entre 5,07 a 5,62% respectivamente para os grãos de soja sadios e queimados. As cinzas correspondem à fração mineral dos grãos. Os grãos queimados apresentaram proporcionalmente o maior teor de cinzas, seguido pelos grãos ardidos. Os grãos sadios e fermentados não diferiram ($p>0.05$) entre si. Kan et al. (2018) observaram valores para teores de cinzas entre 3.94 e 4.62% em diferentes cultivares de soja cultivados na Ásia. Ziegler et al. (2016b) verificaram aumentos proporcionais nos teores de cinzas, ao armazenar grãos de soja com teores de umidade de 9, 12, 15 e 18%, a 11, 18, 25 e 32 °C e armazenados por 12 meses, aumentando de 5,1 para 6,1% na condição de 32 °C após o armazenamento. Os autores atribuíram estas alterações as condições drásticas de armazenamento, após 12 meses a 32 °C, em que o aumento do teor de cinzas estaria associado à diminuição do teor de proteínas e lipídeos após o armazenamento, fazendo com que esta fração aumente, porém também estes grãos, em razão da fermentação avançada podem ter seus compostos degradados, o que também favorecem o aumento da fração de cinzas.

Os grãos de soja com diferentes defeitos diferiram entre si ($p>0.05$) quanto a atividade de água (aW), variando de 0,77 a 0,79 respectivamente para os defeitos fermentados e ardidos, e sadios e queimados. A atividade de água está ligada diretamente à atividade metabólica, sendo que atividades de água acima de 0.80 favorecem reações como a oxidação lipídica e hidrolítica (BERK, 2009). Ochandio et al. (2017) reportaram modelagens de taxa de respiração de grãos de soja em armazenamento hermético e verificaram as maiores taxas de respiração quando os grãos foram armazenados a temperaturas de 35 °C, grau de umidade de 17% e atividade de água variando entre 0,70 a 0,87, indicando que estes grãos estão metabolicamente ativos, degradando compostos como carboidratos e lipídeos para obtenção de moléculas de piruvato (WRIGLEY et al., 2016).

3.4.2. Perfil colorimétrico e peso de mil grãos

O perfil colorimétrico e peso de mil grãos de diferentes defeitos de soja estão apresentados na tabela 4.

Tabela 4 – Perfil colorimétrico e peso de mil grãos de diferentes defeitos de grãos de soja

Classificação dos grãos	Perfil colorimétrico*			Peso de mil grãos (g)
	L^*	a^*	b^*	
Sadio	81,39 ± 1,02 a	-0,62 ± 0,39 d	21,69 ± 0,71 a	212,8 ± 0,3 a
Fermentado	66,08 ± 5,68 b	2,81 ± 0,25 c	20,10 ± 2,01 b	206,0 ± 0,3 b
Ardido	60,38 ± 2,95 c	6,01 ± 0,49 b	18,97 ± 1,73 b	203,9 ± 2,8 b
Queimado	44,34 ± 0,67 d	8,47 ± 0,18 a	17,65 ± 0,56 c	196,4 ± 0,8 c

*Valor médio ± desvio padrão (n=3). Letras iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente ($p > 0,05$) entre si pelo teste de Tukey

Os grãos de soja com diferentes defeitos apresentaram reduções em L^* e b^* , aumentos em a^* ($p < 0,05$), sendo as maiores alterações observadas para os grãos queimados, seguidos dos ardidos, fermentados e sadios (Figura 11). Estas alterações nos parâmetros de cor indicam que os grãos perderam a coloração amarela característica, passando a colorações marrons com a maior intensidade do defeito, provavelmente em razão da carbonização (grãos queimados) e outras reações bioquímicas de escurecimento enzimático (BUCHANAN; GRUISSEM; JONES, 2015). Yousif (2014) armazenou soja por 12 meses com teores de umidade de 9, 11 e 13% e verificou o mesmo comportamento do presente estudo, nos tratamentos armazenados por 12 meses com 13% de umidade. Os autores sugerem que o alto tempo de armazenamento e grau de umidade mais elevado podem ocasionar a perda da qualidade dos grãos, como também a aceitabilidade do produto pelo mercado, devido ao escurecimento.

Foram observadas reduções ($p < 0,05$) no peso de mil grãos, sendo as maiores alterações observadas para os grãos queimados (196,4g), seguidos dos ardidos (203,9g), fermentados (206,0g) e sadios (212,8g). O peso de mil grãos pode indicar o vigor, termo este utilizado quando o produto normalmente é destinado a sementes. O vigor é uma estimativa da qualidade de grãos, principalmente utilizado quando na comercialização de sementes, indicando potencial de desenvolvimento da planta

(PESKE; VILLELA; MENEGHELLO, 2012). Gandhi, Nenwani e Ali (1985) avaliaram as propriedades físico-químicas de dez variedades de soja, e verificaram peso de mil grãos entre 93,5 e 184,0g. A redução do peso de mil grãos conforme a intensificação dos defeitos de soja pode estar associada às perdas de massas dos teores de lipídeos e cinzas (tabela 3). Estes resultados estão de acordo com os dados de composição proximal, os quais houveram reduções no teor de lipídeos dos grãos queimados e consequentemente há a perda de massa (base seca) da soja.

3.4.3. Proteína solúvel e potencial hidrogeniônico

A proteína solúvel em água de diferentes defeitos de grãos de soja está apresentada na Figura 11.

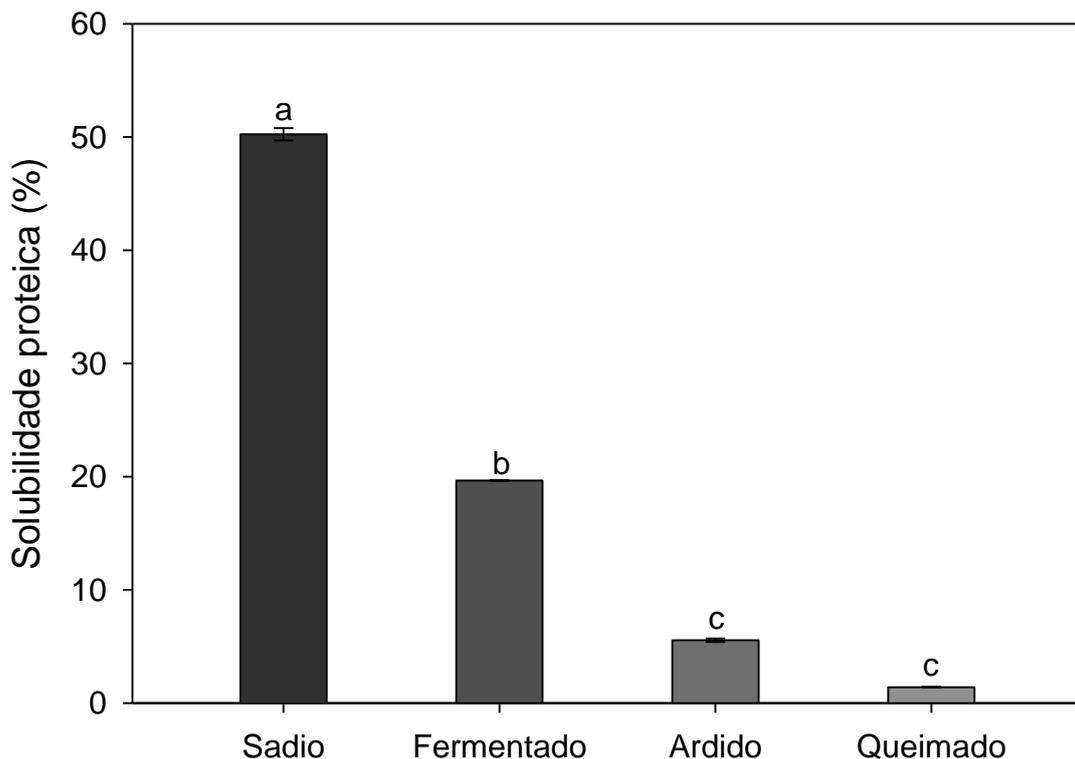


Figura 11 - Solubilidade proteica em grãos de soja com diferentes defeitos

Os grãos de soja sadios apresentaram os maiores valores ($p < 0.05$) de solubilidade proteica, seguido pelos grãos fermentados, ardidos e queimados. Os grãos ardidos e queimados não diferenciaram entre si ($p > 0.05$). Não foram encontrados estudos com solubilidade proteica de grãos de soja ou outro grão com

defeitos metabólicos. Ziegler et al. (2018) avaliaram efeitos do grau de umidade e temperatura de armazenamento de grãos de soja sobre as propriedades do isolado proteico e verificaram reduções da solubilidade proteica principalmente em grãos armazenados a 35 °C com 15% de umidade e atribuíram a redução da solubilidade aos efeitos do metabolismo do próprio grão. Os autores também reportam que as temperaturas baixas são fatores fundamentais para a manutenção da qualidade proteica. Paraginski et al. (2014b) avaliaram as propriedades físico-químicas de grãos de milho armazenados por 12 meses, a 5, 15, 25 e 35 °C e verificaram que após o armazenamento de 12 meses, a 35 °C, a solubilidade proteica dos grãos de milho diminuiu, corroborando para o estudo anterior, o qual a temperatura influencia no teor de proteína solúvel. A solubilidade de uma proteína é muito variável e depende da distribuição e da proporção dos grupos polares (hidrofílicos) e dos apolares (hidrofóbicos) na molécula. As proteínas possuem muitos grupos carregados positiva e negativamente provenientes de cadeias laterais dos aminoácidos, e, portanto, as moléculas provavelmente irão interagir umas com as outras, com pequenos íons de cargas opostas e com água. Assim, ocorrem interações proteína-proteína, proteína-água e proteína-pequenos íons. Se a interação proteína-proteína é grande e a interação proteína-água é pequena, a proteína tenderá a ser insolúvel (ARYEE; AGYEI; UDENIGWE, 2017; HAN; YU; WANG, 2018). A desnaturação diminui a solubilidade das proteínas e pode ser ocasionada pelo aumento da temperatura (YIN; ZHANG; WANG, 2004). A temperatura é um dos fatores que determina o aumento na taxa metabólica dos grãos, e constitui junto com a umidade os principais fatores para formação de grãos fermentados, ardidos e queimados, além disso, durante o desenvolvimento de grãos ardidos e queimados a massa de grãos atinge temperaturas elevadas. A redução na solubilidade proteica afeta a funcionalidade para aplicação à indústria de alimentos, para aplicação em sopas, bebidas e suplementos, por exemplo, afetando parâmetros tecnológicos, como o rendimento de extração, capacidade e estabilidade de formação de espuma e capacidade emulsificante (WRIGLEY et al., 2016)

O potencial hidrogeniônico dos grãos está apresentado na figura 13. Os grãos de soja com diferentes defeitos variaram seu pH entre 6,8 e 5,8 para grãos sadios e queimados, respectivamente. Paraginski et al. (2014b) estudaram propriedades físico-químicas de milho armazenado por 12 meses em diferentes temperaturas (5, 15, 25 e 35 °C), e verificaram que a 35 °C foi a condição a qual ocorreu a maior diminuição do

pH, indicando que nestas condições ocorre a degradação mais rápida dos grãos em razão do seu metabolismo, como o aumento do teor de ácidos graxos livres pela ação de lipases (WRIGLEY et al., 2016). A redução do pH dos grãos ($p < 0.05$) é um bom parâmetro para medir o grau de degradação dos grãos, reduzindo conforme a intensidade dos defeitos em razão da lixiviação de íons do interior das células dos grãos devido à danos de membranas, que podem ocorrer devido a temperatura, enzimas, espécies reativas de oxigênio e outros (BUCHANAN; GRUISSEM; JONES, 2015).

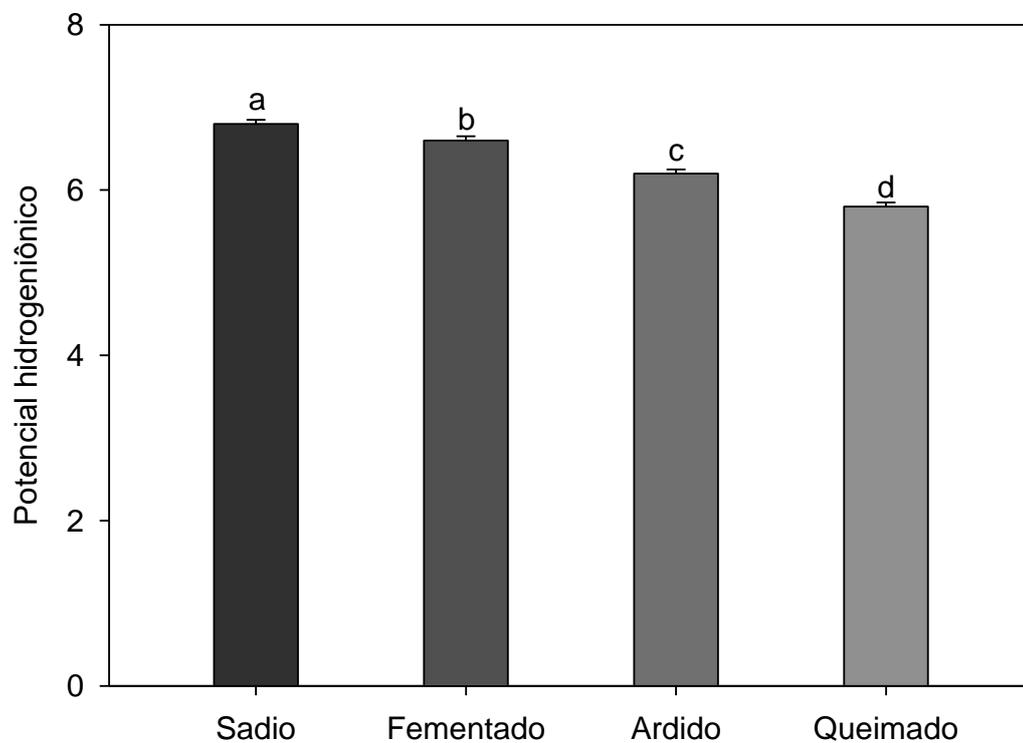


Figura 12 - Potencial hidrogeniônico de diferentes defeitos de grãos de soja

3.4.4. Compostos fenólicos individuais

Os compostos fenólicos individuais de soja com diferentes defeitos estão apresentados na tabela 5.

Tabela 5 - Compostos fenólicos individuais por LC-MS de diferentes defeitos de soja

Compostos fenólicos ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	Classificação do grão de soja			
	Sadio	Fermentado	Ardido	Queimado
Catequina	< LOQ*	< LOQ	< LOQ	< LOQ
Ácido Clorogênico	1,16 ± 0,06 a	1,12 ± 0,04 a	< LOQ	< LOQ
(-)-Epicatequina	2,76 ± 0,05 a	2,47 ± 0,03 b	2,18 ± 0,04 c	2,14 ± 0,05 c
Ácido Cafeico	1,97 ± 0,04 a	1,99 ± 0,02 a	2,01 ± 0,04 a	2,09 ± 0,05 a
Ácido Vanílico	< LOQ	< LOQ	20,19 ± 1,73 b	39,56 ± 3,49 a
Ácido Siríngico	11,67 ± 1,13 d	16,25 ± 0,01 c	24,51 ± 0,87 b	54,07 ± 0,61 a
Ácido <i>p</i> -cumárico	4,68 ± 0,11 c	9,34 ± 0,26 b	14,72 ± 0,71 a	8,79 ± 0,38 b
Ácido Ferúlico	1,55 ± 0,13 c	4,45 ± 0,09 b	5,60 ± 0,01 a	5,16 ± 0,20 a
Rutina	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
Ácido Elágico	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
Miricetina	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ
Quercetina	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
Kaempferol	< LOQ	< LOQ	1,99 ± 0,10 a	1,99 ± 0,05 a
Luteolina	1,52 ± 0,03 a	1,56 ± 0,06 a	1,56 ± 0,02 a	1,69 ± 0,07 a
Apigenina	< LOQ	< LOQ	1,70 ± 0,07 a	1,56 ± 0,10 a
Pinocebrina	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
Galangina	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ

*Valor médio ± desvio padrão (n=3). Letras iguais na mesma linha não diferem estatisticamente ($p>0,05$) entre si pelo teste de Tukey. < LOD: abaixo do limite de detecção; < LOQ: abaixo do limite de quantificação

Foram observados maiores teores de Ácido Vanílico, Ácido Siríngico, Ácido Ferúlico, Kaempferol e Apigenina nos grãos queimados. O Ácido *p*-cumárico foi encontrado os maiores teores nos grãos de soja ardidos. Ainda, houveram reduções ($p < 0.05$) do Ácido Clorogênico e Epicatequina em grãos de soja com defeitos, principalmente em grãos com o defeito queimado. Rutina, Ácido Elágico, Quercetina e Pinocebrina não foram detectados em nenhuma das amostras, e catequina, Miricetina e Galangina ficaram abaixo do limite de quantificação para todas as amostras. Xu e Chang (2008), que avaliaram 30 genótipos de soja cultivados na região de Dakota do Norte (Minnesota), relataram a presença de Ácido Gálico, Protocatecólico, Tri-hidroxibenzóico, *p*-hidroxibenzóico, Vanílico, Siríngico, Clorogênico, *p*-cumárico, Siringaldeído, *m*-cumárico, Ferúlico, Sinápico, *o*-cumáricos e Trans-cinâmicos em grãos de soja. Ziegler et al. (2016a) avaliaram as alterações dos compostos bioativos de grãos de soja armazenados por 12 meses, com 12, 15 e 18% de umidade e a 11, 18, 25 e 32 °C, e verificaram aumento do teor de Ácido Vanílico, em grãos armazenados com 12% de umidade a 32 °C, como resultado da deterioração dos grãos, no qual o processo de degradação dos grãos pode ser semelhante ao ocorrido neste estudo para grãos ardidos e queimados. Dueñas et al. (2012) avaliaram os compostos bioativos de soja fermentada com *Rhizopus oryzae* e observaram que a fermentação por 48h a 30 °C, também aumentava o teor de Ácido Vanílico, que é um dos principais ácidos fenólicos presentes em grãos de soja. Os compostos fenólicos são produzidos pelo metabolismo especializado da planta e possuem como principal atividade a defesa contra agentes externos, como fungos. Ainda, fungos que possuem a enzima fenilalanina amônia-liase são capazes de sintetizar compostos fenólicos, como sugerido por Alves et al. (2017) ao avaliar os efeitos dos sistemas orgânico e convencional de cultivo de arroz nas propriedades tecnológicas e compostos fenólicos de arroz recém colhidos e armazenados por 12 meses, Os resultados sugerem que o aumento do Ácido Vanílico em grãos ardidos e queimados podem estar associados à interações com microrganismos. Os aumentos encontrados para outros compostos podem estar relacionados a capacidade de defesa dos grãos, principalmente em razão do grau de degradação dos grãos queimados os quais foram observadas as maiores concentrações de alguns compostos. Os aumentos de Ácido Siríngico e Ácido Vanílico podem estar ligados ao metabolismo acelerado do próprio grão, o qual o rompimento da parede celular e a exposição dos complexos de lignina com provável aumento de temperatura dos grãos

de soja possam ter liberado ao meio estes compostos. (COCURON et al., 2018; SRINIVASULU et al., 2018), assim como o Ácido *p*-cumárico e Ácido Ferúlico que estão presentes (em menores proporções) neste tecido vegetal (RASHEEDA; BHARATHY; NISHAD FATHIMA, 2018; SRINIVASULU et al., 2018). Santos, Santos e Duarte (2016) verificaram em resíduos de queima de biomassa traços destes compostos fenólicos (Siríngico e Vanílico) e verificaram que estes resíduos se tratavam de tecidos vegetais, corroborando para a afirmativa anterior, que ainda podem formar outros compostos a partir destes ácidos fenólicos. Ferreira et al. (2019) avaliaram o perfil de Ácidos fenólicos em grãos de soja submetidos à secagem a 30, 50, 70, 90 e 110 °C e ao armazenamento por 12 meses e observaram um aumento dos teores de Ácidos fenólicos quando os grãos foram submetidos à altas temperaturas e ao armazenamento, devido à oxidação ou catalisados por microrganismos.

Quanto aos compostos que apresentaram diminuições para os grãos com defeitos, a degradação de complexos com proteína ou lipídeos, a ação de enzimas como a Polifenoloxidase (PPO) ou a degradação em outros metabólitos de diversas rotas metabólicas biossintéticas podem justificar este comportamento dos outros compostos fenólicos (BUCHANAN; GRUISSEM; JONES, 2015; DUEÑAS et al., 2012; RASHEEDA; BHARATHY; NISHAD FATHIMA, 2018; SRINIVASULU et al., 2018).

3.4.5. Perfil de isoflavonas

O perfil de isoflavonas de grãos de soja com diferentes defeitos está apresentado na tabela 6.

Tabela 6 - Perfil de isoflavonas por LC-MS de diferentes defeitos de grãos de soja

Isoflavonas ($\mu\text{mol.g}^{-1}$)	Classificação dos grãos*			
	Sadio	Fermentado	Ardido	Queimado
Malonil daidzina	0,76 \pm 0,02 a	0,77 \pm 0,00 a	0,10 \pm 0,01 b	0,01 \pm 0,00 c
Malonil genistina	1,35 \pm 0,03 a	1,32 \pm 0,04 a	0,24 \pm 0,01 b	0,03 \pm 0,00 c
Malonil glycitina	0,02 \pm 0,00 a	0,09 \pm 0,01 a	0,03 \pm 0,00 a	< LOQ
Acetil daidzina	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
Acetil genistina	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
Acetil glicitina	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
Daidzina	0,51 \pm 0,04 a	0,49 \pm 0,01 a	0,03 \pm 0,01 b	< LOQ
Genistina	0,51 \pm 0,01 a	0,44 \pm 0,01 a	0,04 \pm 0,01 b	< LOQ
Glicitina	0,39 \pm 0,00 a	0,18 \pm 0,00 b	0,02 \pm 0,00 c	< LOQ
Daidzeína	0,53 \pm 0,02 b	0,63 \pm 0,00 b	0,85 \pm 0,00 a	0,86 \pm 0,05 a
Genisteína	0,27 \pm 0,01 b	0,35 \pm 0,02 b	0,40 \pm 0,02 a	0,35 \pm 0,02 b
Gliciteína	0,05 \pm 0,00 a	0,09 \pm 0,03 a	0,15 \pm 0,07 a	0,17 \pm 0,07 a
Total	4,39 \pm 0,13 a	4,36 \pm 0,12 a	1,86 \pm 0,13 b	1,42 \pm 0,14 c

*Valor médio \pm desvio padrão (n=3). Letras iguais na mesma linha não diferem estatisticamente (p>0,05) entre si pelo teste de Tukey. < LOD: Não detectado; < LOQ: abaixo do limite de quantificação

As isoflavonas foram quantificadas nas suas formas malonil, acetiladas, glicosiladas e agliconas. Foram observadas diminuições nas isoflavonas de grãos de soja com defeitos, a exceção de Daidzeína e Genisteína que apresentaram menores concentrações em grãos sadios (p<0.05) e a Gliciteína, a qual manteve-se independentemente do defeito. Não foram detectadas as formas acetiladas de isoflavonas em nenhum dos tratamentos. Huang, Cai e Xu (2014) avaliaram a cinética de alteração de nutrientes e capacidade antioxidante de grãos soja e feijão germinados, e verificaram aumentos na fração aglicona (Daidzeína, Gliciteína, e Genisteína) e 7-O- β -glucosídeos (Daidzina, Genistina e Glicitina) após 3 dias de germinação, e atribuíram estes efeitos ao próprio metabolismo do grão como hidrólises de glucosídeos, evidenciando que as reações bioquímicas da respiração e germinação influenciam no conteúdo de isoflavonas dos grãos (PAUCAR-MENACHO et al., 2010). Dueñas et al. (2012) avaliaram a fermentação de grãos de soja com diversos microrganismos e verificaram valores de Daidzeína total entre 204.09 e 546.91 $\mu\text{g.g}^{-1}$, Gliciteína total entre 14.22 e 59.79 $\mu\text{g.g}^{-1}$ e Genisteína total entre 125.97 e 679.88 $\mu\text{g.g}^{-1}$ verificando que as variações nos valores podem estar relacionados com microrganismos associados no ambiente, bem como reações de glicosilação das Agliconas. Estes autores atribuíram as variações encontradas no conteúdo total de isoflavonas a genótipo, ambiente e condições de pós-colheita, como tratamento

térmico ou germinação em grãos de soja, assim como verificado neste estudo, em que cuja umidade para o desenvolvimento dos defeitos estudos permite o início do processo germinativo e do metabolismo acelerado. As isoformas malonil-b-glicosídeos podem ser convertidos em acetil-b-glicosídeos via reação de descarboxilação. Os glicosídeos malonil e acetil-b podem ser transformados em b-glicosídeos via reação de desesterificação. Todas as formas de glicosídeos podem ser hidrolisadas para produzir agliconas (NIAMNUY et al., 2012). Ainda, a ação de enzimas, considerando o metabolismo acelerado, como a β -glucosidase, em temperaturas de 50-60 °C que podem chegar os grãos ardidos e queimados em razão da fermentação, pode aumentar o teor de agliconas (LIMA; IDA, 2014). Hou e Chang (2002) verificaram a interconversão de isoflavonas em razão de condições de armazenamento não recomendadas, avaliando quatro condições: a primeira 84% de umidade relativa do ar, a 30 °C por nove meses, a segunda com 57% de umidade relativa do ar, a 20 °C, a terceira a 4 °C e a quarta, sem controle do ambiente por 18 meses. Houve portanto, reações químicas em razão das condições desse estudo que aumentaram o teor de agliconas, possivelmente, de forma semelhante a esse estudo, no qual acelerou o metabolismo.

3.4.6. Digestibilidade proteica dos grãos moídos

A digestibilidade proteica dos diferentes defeitos de grãos de soja estão apresentadas na figura 13. Não houve diferença significativa ($p>0.05$) entre os tratamentos. Os grãos de soja com diferentes defeitos variaram entre 86,76 a 90,98% de digestibilidade proteica. Nosworthy et al. (2018) avaliaram o efeito do processamento térmico de grãos de lentilha sobre a digestibilidade proteica, e verificaram que independente do tratamento (cozido, assado e extrusado) não houve diferença significativa. Ouazib et al. (2016) não reportaram alterações na digestibilidade proteica de pães feitos com grãos-de-bico germinados ou tostados. Ambos os estudos relataram que a desnaturação proteica, a eliminação ou redução da atividade de tripsina ou a diminuição de Ácido Fítico e taninos através destes processamentos deveriam acontecer a fim de melhorar a digestibilidade proteica do material. Os grãos de soja com diferentes defeitos, apesar de possivelmente terem elevado sua temperatura no processo metabólico (respiração), não foi o suficiente para alterar a digestibilidade proteica. Ainda são necessários estudos a fim de elucidar

os possíveis compostos que estejam envolvidos na digestibilidade proteica de soja e suas interações com relação ao metabolismo do grão.

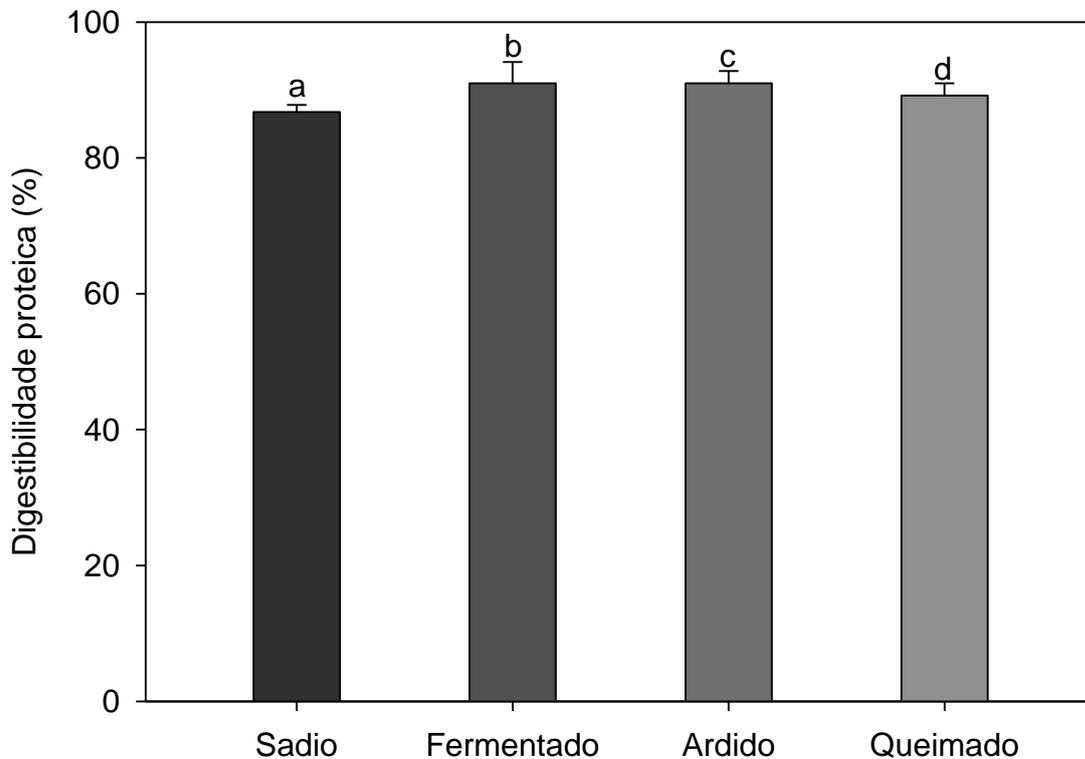


Figura 13 - Digestibilidade proteica de diferentes defeitos de grãos de soja

3.4.7. Isolado proteico

3.4.7.1. Rendimento de extração

O rendimento de extração de proteínas do farelo de soja está apresentado na figura 14.

Houve diminuição do rendimento de extração de proteínas ($p < 0.05$), conforme a intensidade do defeito do grão. O rendimento variou entre 40,2 a 0,6%, para grãos sadios e queimados respectivamente. Este parâmetro está ligado diretamente à qualidade do material, em razão da metodologia para extração de proteínas se basear no ponto isoelétrico. Stanojevic et al. (2011) extraíram proteínas de seis cultivares de soja e verificaram rendimentos entre 40,9 e 53,4%, e atribuíram esta variação a cultivar (genótipo). Ziegler et al. (2018) verificaram diminuições de 39,1 a 30,2% do

rendimento de extração de proteína de soja, ao avaliarem efeitos do armazenamento por 12 meses, a 11, 18, 25 e 32 °C, com grãos com 12, 15 e 18% de umidade. Os autores atribuíram o tempo de armazenamento como principal fator para o decréscimo, atribuindo a agregação de proteínas dos grãos e assim, que diminui o rendimento de extração e também a solubilidade proteica. Além disso, variações do ambiente, local de produção e qualidade da matriz, afetam este parâmetro (POYSA; WOODROW; YU, 2006). Os grãos de soja fermentados, ardidos e queimados não são recomendados para o uso proteico, principalmente na indústria de alimentos, a qual utiliza o isolado proteico para aplicação em diversos produtos, tendo em vista seus menores rendimentos, quando comparado com grãos de soja sadios e assim o aumento dos custos de produção.

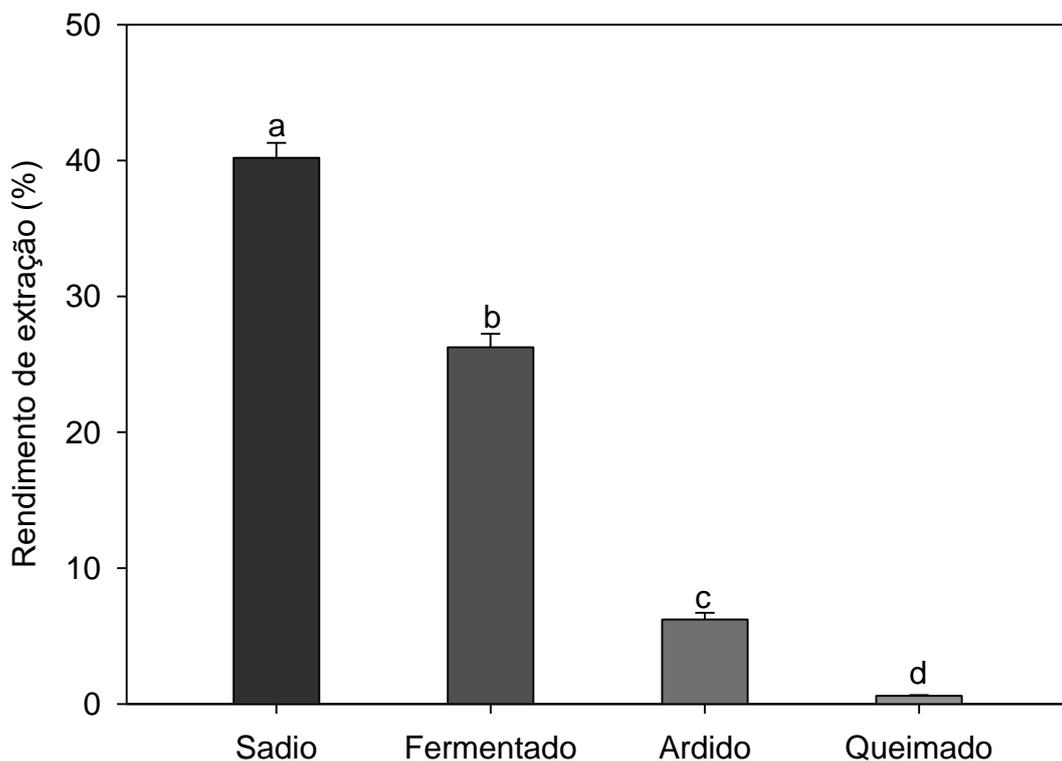


Figura 14 - Rendimento de extração de proteínas diferentes defeitos de grãos de soja

3.4.7.2. Perfil de isoflavonas

O perfil de isoflavonas do isolado proteico de soja está apresentado na tabela

7.

Tabela 7 - Perfil de isoflavonas por LC-MS do isolado proteico de diferentes defeitos de grãos de soja

Isoflavonas ($\mu\text{mol.g}^{-1}$)	Classificação dos grãos*			
	Sadio	Fermentado	Ardido	Queimado
Malonil daidzina	1,19 \pm 0,03 a	0,59 \pm 0,03 b	0,12 \pm 0,01 c	0,04 \pm 0,00 c
Malonil genistina	3,40 \pm 0,05 a	2,25 \pm 0,09 b	0,86 \pm 0,04 c	0,05 \pm 0,05 d
Malonil glycitina	0,17 \pm 0,01 a	0,11 \pm 0,00 b	0,06 \pm 0,00 c	< LOQ
Acetil daidzina	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
Acetil genistina	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
Acetil glicitina	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
Daidzina	0,28 \pm 0,01 a	0,03 \pm 0,00 b	< LOQ	< LOQ
Genistina	0,81 \pm 0,01 a	0,20 \pm 0,02 b	0,03 \pm 0,00 c	< LOQ
Glicitina	0,13 \pm 0,01 a	0,03 \pm 0,00 b	< LOQ	< LOQ
Daidzeína	2,60 \pm 0,06 d	2,91 \pm 0,01 c	6,12 \pm 0,01 a	3,20 \pm 0,03 b
Genisteína	1,69 \pm 0,03 bc	1,91 \pm 0,06 b	3,32 \pm 0,03 a	1,42 \pm 0,09 c
Gliciteína	0,38 \pm 0,01 d	0,63 \pm 0,03 c	1,93 \pm 0,01 a	0,86 \pm 0,03 b
Total	11,04 \pm 0,33 b	8,66 \pm 0,43 c	12,44 \pm 0,33 a	5,57 \pm 0,15 d

*Valor médio \pm desvio padrão (n=3). Letras iguais na mesma linha não diferem estatisticamente ($p>0,05$) entre si pelo teste de Tukey. < LOD: abaixo do limite de detecção; < LOQ: abaixo do limite de quantificação

As isoflavonas foram quantificadas nas suas formas glicosiladas, agliconas, malonil e acetiladas.

As isoflavonas malonil e betaglicosídicas apresentaram diminuições da sua concentração conforme a intensidade dos defeitos dos concentrados proteicos, e a Genisteína na forma malonil como composto majoritário, variando de 3,40 a 0,05 $\mu\text{mol.g}^{-1}$ para grãos sadios e queimados, respectivamente. Ainda, as isoformas Daidzeína e Genisteína foram os compostos os quais aumentaram sua concentração conforme a intensificação dos defeitos. Ziegler et al. (2018b) verificaram o mesmo comportamento, nas formas agliconas, β -glicosiladas e malonil em proteína de soja armazenada por 12 meses, a 11, 18, 25 e 32 °C, com 12, 15 e 18% de umidade, a exceção das formas acetiladas as quais neste presente estudo não foram detectadas. Os glicosídeos malonil e acetil-b podem ser transformados em b-glicosídeos via reação de desesterificação. Todas as formas de glicosídeos podem ser hidrolisadas para produzir agliconas (NIAMNUY et al., 2012). Ainda, a ação de enzimas, considerando o metabolismo acelerado, como a β -glucosidase pode aumentar o teor de agliconas (LIMA; IDA, 2014). Poysa; Woodrow e Yu (2006) avaliaram a composição das subunidades de proteína de soja para aplicação em tofu e verificaram que o perfil das subunidades 7S e 11S interferem em propriedades texturométricas, como firmeza,

e sugerem a seleção de material com a composição adequada para os fins desejados (produto final), e neste caso, a seleção de proteína de soja com maiores valores de 11S do grupo I e IIb a fim de utilizar-se de menos material (grão) para produção de tofu mais firme. O comportamento do isolado proteico de diferentes defeitos de grãos de soja está de acordo com os resultados encontrados na farinha de soja, e, portanto, a proteína obtida a partir de grãos com defeitos possuem características interessantes para aplicação indústria alimentícia, tendo em vista os maiores valores para as agliconas, que são mais facilmente absorvidas pelo organismo humano (HSIAO; HSIEH, 2018; LIMA; IDA, 2014).

3.5. Conclusão

Os grãos de soja com defeitos metabólicos fermentados, ardidos e queimados apresentam menor conteúdo de lipídeos, solubilidade proteica, L^* , b^* , pH e rendimento de extração de proteínas, por isso sua utilização não é recomendada para indústria alimentícia.

A intensificação da gravidade dos defeitos aumenta a concentrações de compostos fenólicos livres dos grãos, com exceção do Ácido Clorogênico, Epicatequina e Catequina.

Entretanto, o perfil de isoflavonas apresenta maiores teores de agliconas para os grãos ardidos, os quais são benéficos para a saúde humana. Ainda são necessários estudos que avaliem o perfil metabólico de grãos de soja a fim de elucidar os efeitos de cada defeito sobre o perfil de metabólitos.

4. Capítulo 2 – Influência dos defeitos fermentado, ardido e queimado sobre as propriedades físicas, químicas e compostos bioativos de óleo de soja

4.1. Introdução

Os óleos são produtos que podem ser extraídos de vários frutos, nozes e principalmente grãos. Sua utilização se dá principalmente na indústria de alimentos, farmacêutica e de cosméticos. O óleo de soja é um dos principais óleos comercializados no mundo em razão da composição química dos grãos de soja, por possuírem aproximadamente 19% de lipídeos e também em razão dos compostos bioativos deste óleo (SLAVIN et al., 2009).

A extração destes óleos em indústrias requer que os grãos sejam submetidos a tratamentos físicos e químicos. No primeiro, há emprego de temperatura e prensagem, já no segundo, o uso de solventes apolares é utilizado em grande escala, ainda que atualmente, processos de extração considerados limpos, estejam sendo estudados (DELFAN-HOSSEINI et al., 2017).

O óleo de soja possui benefícios à saúde em razão do conteúdo de tocoferóis, carotenoides e do perfil de ácidos graxos. Os carotenoides são os compostos que são relacionados a pigmentos, possuindo capacidade antioxidante (DIJKSTRA, 2015). Todavia, a biodisponibilidade destes compostos depende da qualidade deste óleo. Além do processo de extração de óleo, este ainda deve passar por processos de refino, para que então possa ser consumido. Em razão das etapas de refino, há a possibilidade da perda de parte destes compostos, e, portanto, a qualidade inicial da matriz é importante para a manutenção dos bioativos presentes no óleo (DURMAZ; GÖKMEN, 2018). Nur Sulihatimarsyila et al. (2019) estudaram diferentes processos de refino, incluindo degomagem, branqueamento e acidificação em óleo bruto de palma (azeite de dendê), com várias doses de água à 90 °C (0,5, 1,0, 2,0, 3,0, 4,0, 5,0, e 6,0 v/v%) na água de degomagem com concentrações de ácidos diversas (0,1 a 1,0%) na etapa de degomagem; com uso de terra de branqueamento em diversas proporções (0,1 a 1,0%) e acidificação utilizando Ácido cítrico e Ácido fosfórico em várias concentrações (0,1 a 1,0%) e verificaram que, mesmo nas melhores condições, utilizado água quente na degomagem a concentração de 5,0%, durante 20 minutos, foi altamente eficiente para a retirada de fosfolipídeos, porém observaram redução no teor de carotenoides e tocoferóis de aproximadamente 20%.

As oleaginosas como a soja necessitam manter sua qualidade desde a colheita até a obtenção do óleo comestível, e, portanto, as etapas de pós-colheita são essenciais para atingir este objetivo. Ziegler et al. (2016a) avaliaram o efeito da temperatura, umidade e tempo de armazenamento de grãos de soja e verificaram que grãos armazenados com temperaturas acima de 25 °C e graus de umidades de 15 e 18% apresentaram decréscimos no teor de carotenoides. Paraginski et al. (2014a) avaliaram as propriedades físico-químicas de grãos de arroz com defeitos, classificados de acordo com a legislação vigente do Brasil, mas não verificaram diferenças significativas para o teor de óleo de arroz. Entretanto, os compostos bioativos dos óleos obtidos a partir de grãos de soja com defeitos não estão elucidados na literatura.

Este estudo objetivou avaliar a interferência dos diferentes defeitos de grãos de soja sobre as propriedades tecnológicas, físico-químicas e compostos bioativos do óleo de soja.

4.2. Material e métodos

4.2.1. Material

Os grãos foram obtidos de lavouras comerciais no Rio Grande do Sul, e submetidas a condições de armazenamento drásticas, que favoreceram o desenvolvimento de defeitos, de acordo com o estudo de Ziegler et al. (2016b). A identificação e a separação dos grãos com defeitos metabólicos (fermentados, ardidos e queimados) seguiu os conceitos e caracterização constantes nas Instruções Normativas MAPA N° 15/2004, 11/2007 e 37/2007 (BRASIL, 2004, 2007b, 2007a). Os grãos foram classificados conforme a legislação em sadios, fermentados, ardidos e queimados, conforme a figura 11. Os grãos foram agrupados nesta classificação em amostras de aproximadamente de 1 kg para análises posteriores.

4.2.2. Delineamento experimental

O delineamento experimental do Capítulo 2 está apresentado na tabela 8.

Tabela 8 - Delineamento experimental do Capítulo 2

Variáveis independentes	Variáveis dependentes
Sadio	Rendimento de extração de óleo
Fermentado	Perfil colorimétrico
Ardido	Acidez lipídica
Queimado	Atividade da enzima lipase
	Coefficiente de extinção específico
	Perfil de ácidos graxos
	Perfil de carotenoides

4.2.3. Métodos

4.2.3.1. Extração de óleo

Os grãos de soja já classificados, em sadios, fermentados, ardidos e queimados, foram moídos em moinho Perten (Perten 3100, Perten Instruments, Huddinge, Suécia), equipado com uma peneira de 35-mesh para obter a farinha com partículas de tamanho uniforme. Para a extração de óleo de soja, 150g de cada defeito, passaram por lavagem em solvente apolar, éter de petróleo, através de extração via aparelho Soxhlet, através de consecutivas lavagens por 8 horas. O solvente foi removido utilizando um evaporador rotativo (Heidolph, Laborota Model 4000, Kelheim, Bavaria, Alemanha) sob vácuo a 35 °C. O óleo foi coletado e armazenado em recipientes âmbar a -18 °C.

4.2.3.2. Acidez lipídica

Foram pesadas 2 g de óleo em frasco erlenmeyer de 125 mL. Foram adicionados 25 mL de solução de éter etílico-álcool etílico (2:1) neutra, juntamente com duas gotas da solução indicadora de fenolftaleína. Após, foi titulado com solução de hidróxido de sódio 0,01 M até o aparecimento da coloração rósea, a qual foi mantida por pelo menos 30 segundos. Os resultados foram expressos em mg de NaOH necessários para neutralizar 1 g de ácido graxo livre.

4.2.3.3. Atividade da enzima lipase

A atividade da enzima lipase foi realizado conforme Kaur, Ramamurthy e Kothari (1993), no óleo e nos grãos moídos de soja.

4.2.3.4. Coeficiente de extinção específico

Foi pesado aproximadamente 0,25 g de óleo em um balão volumétrico de 25 mL. Após, foi dissolvido e completado seu volume com ciclohexano e homogeneizado. Após, foi transferido para uma cubeta e medido a absorvância a 270 nm e a 232 nm, usando o mesmo solvente como referência, em espectrofotômetro previamente calibrado.

4.2.3.5. Perfil de Ácidos Graxos

A derivatização dos ácidos graxos foi realizada de acordo com método proposto por Hartman e Lago (1973) com pequenas modificações. As amostras de óleo (100 mg) foram pesadas em tubos de ensaio com tampa, onde foram adicionados 0,5 mL de KOH 0,1 N (em metanol), em seguida as amostras foram deixadas em banho-maria por 1,5 h. Após esfriar, foram adicionados 1,5 mL de H₂SO₄ 1 M e as amostras levadas novamente ao banho-maria por 1,5 h. Após esfriar, foram adicionados 2 mL de hexano P.A e as amostras agitadas em vórtex por 30 segundos. A fase de hexano foi acondicionada em vial e uma alíquota de 1,5 µL foi injetada em cromatógrafo gasoso (GC-14B, Shimadzu, Kyoto, Japan) com detector de ionização de chama (FID) e uma coluna capilar de sílica (30m x 0,25mm x 0,25µm DB-225). O injetor e o detector foram mantidos a 250 °C. O gás de arraste foi o nitrogênio na vazão de 1,0 mL min⁻¹. A temperatura inicial da coluna foi mantida em 100 °C por 0,5 min, sendo aumentada para 150 °C a uma taxa de 8 °C min⁻¹. Após 0,5 min a 150 °C a temperatura foi aumentada para 180 °C a uma taxa de 1,5 °C min⁻¹. A coluna foi mantida a 180 °C durante 5 min, e posteriormente aumentada para 220 °C a uma taxa de 2 °C min⁻¹ e mantida nessa temperatura durante 6 min, totalizando um tempo de análise de 58 min. A identificação dos ácidos graxos foi realizada de acordo com os tempos de retenção dos padrões conhecidos (Ácido Mirístico - C14:0, Palmítico – C16:0, Oleico - C18:1, Linoleico – C18:2, Linolênico – C18:3, ambos obtidos pela Sigma-Aldrich Co., USA).

O Software Class-CG10 foi utilizado para adquirir e processar os dados. Os resultados foram obtidos pela integralização das áreas dos picos e expressos em percentual (%) para cada ácido graxo.

4.2.3.6. Perfil de Carotenoides

O perfil de carotenoides de óleo de soja foi determinado de acordo com Mercadante e Rodriguez-Amaya (1998). A extração de pigmentos foi realizada com a saponificação em solução de KOH (35% em metanol) durante a noite. O extrato foi lavado com hexano P.A. e despejado em funil de separação contendo uma solução éter etílico:éter de petróleo (1:1). As amostras foram lavadas com água destilada para a retirada de todo o sabão, sendo posteriormente coletado o extrato contendo os pigmentos. O extrato foi evaporado em evaporador rotativo (Fisatom, Modelo 801, Brasil) ($T < 25\text{ }^{\circ}\text{C}$) e armazenado em congelador ($-18\text{ }^{\circ}\text{C}$) para quantificação por cromatografia líquida de alta resolução (HPLC). Todas estas análises foram feitas em triplicata.

Para análise por HPLC, as amostras armazenadas em um freezer foram diluídas com éter terc-butílico (MTBE-JT Baker, número CAS 1634-04-4, pureza 99,96%), sonificado (Unique, Modelo USC 1400) por 1 minuto e filtrado (Millex LCR 0,45 μm , 13 mm) para injeção no HPLC (Agilent 1100 Series, Santa Clara, Califórnia, EUA), um detector e com um sistema quaternário. A coluna utilizada foi uma coluna de fase inversa polimérica C30 (250 \times 4,6 mm ID, 3 μm , YMC, modelo CT99SO3-2546WT). O gradiente da fase móvel (água: metanol: MTBE) (JT Baker, CAS número 04.04.1634, 99,96% de pureza) começou em 5:90:5, alcançando 0:95:5 aos 12 minutos, 0:89:11 aos 25 minutos, 0:75:25 aos 40 minutos e finalmente às 00:50:50 aos 60 minutos. A temperatura da coluna foi de $33\text{ }^{\circ}\text{C}$ e uma taxa de fluxo de 1 mL min^{-1} (espectros foram obtidos em um comprimento de onda fixo de 450 nm para carotenoides). Os compostos foram identificados comparando o tempo de retenção da amostra com os tempos de retenções obtidos para os controles. Para quantificação, uma curva padrão foi construída para carotenoides nas seguintes faixas: Luteína 1 a $65\text{ }\mu\text{g / mL}$ ($> 95\%$, Sigma-Aldrich); Zeaxantina 1 a $40\text{ }\mu\text{g mL}^{-1}$ ($> 95\%$, Sigma-Aldrich); β -criptoxantina 4 a $100\text{ }\mu\text{g mL}^{-1}$ ($> 97\%$, Sigma-Aldrich); α -caroteno 2 a $25\text{ }\mu\text{g mL}^{-1}$ ($> 95\%$, SigmaAldrich); β -caroteno 5 a $50\text{ }\mu\text{g mL}^{-1}$ ($> 97\%$, Sigma-Aldrich) e Licopeno 2 a $100\text{ }\mu\text{g mL}^{-1}$ ($\geq 85\%$ Sigma-Aldrich).

4.3. Análise estatística

Para os resultados obtidos foram realizados Análise de variância (ANOVA), Teste F e posteriormente o Teste de Tukey, quando o teste F foi significativo ao nível de 5% utilizando o programa estatístico SAS (SAS INSTITUTE, 2002).

4.4. Resultados e discussão

4.4.1. Rendimento de extração de óleo, acidez e coeficientes de extinção específico

O rendimento de extração de óleo, acidez e os coeficientes de extinção específicos (K_{232} e K_{270}) estão apresentados na tabela 9.

Os grãos de soja com diferentes defeitos apresentaram rendimentos de extração de óleo que variaram entre 25,20 a 21,85% de óleo, para os grãos sadios e queimados, respectivamente. Estes resultados estão de acordo com Kan et al. (2018) que encontraram teores de 14,13 a 22,19% de rendimento de extração de óleo de sete cultivares de soja. Os grãos de soja classificados como sadios e fermentados apresentaram rendimentos de extração superiores ($p < 0.05$) aos grãos ardidos e queimados. Paraginski et al. (2014a) avaliaram as propriedades físico-químicas de amido e farinha de arroz com defeitos e não verificaram modificações nos teores de lipídeos dos grãos de arroz. Ziegler et al. (2016b) verificaram diminuições no teor de lipídeos após o armazenamento por 12 meses de grãos de soja a 9, 12, 15 e 18% de umidade do grão, a temperaturas de 11, 18, 25 e 32 °C, observando que as condições do grão armazenado a 32 °C 18% de umidade promoveu a maior redução, de 24,9 para 19,7%, no qual o processo metabólico dos grãos pode ter sido semelhante aos grãos ardidos e queimados. A diminuição do rendimento de extração pode estar correlacionada à degradação lipídica, como hidrólises ou oxidações na matriz de extração, como a ação de enzimas lipases e lipoxigenases, afetando os triacilgliceróis e conseqüente perfil de ácidos graxos e propriedades tecnológicas (BUCHANAN; GRUISSEM; JONES, 2015; WRIGLEY; BATEY; MISKELLY, 2017).

A acidez de óleo de soja extraído a partir de diferentes defeitos, apresentaram valores de 3,60 a 84,56 mg de KOH.g⁻¹, óleo de grãos sadios e queimados, respectivamente. Zhang, Xie e Che (2018) encontraram valores de 4,51 mg de KOH

g de óleo⁻¹ em óleo de soja, estando de acordo com os dados obtidos a partir de grãos sadios. Anwar et al. (2016) verificaram em três genótipos de soja, valores para acidez de óleo de 0,39 a 0,67 (% de Ácido Oleico), os quais os autores atribuíram ao efeito das cultivares. O aumento da acidez em óleos pode ser atribuído a hidrólises de triacilgliceróis por enzimas lipases, que são favorecidas em temperaturas elevadas, seja por enzimas presentes nos grãos quanto pela microflora (BUCHANAN; GRUISSEM; JONES, 2015; WRIGLEY; BATEY; MISKELLY, 2017). Os grãos de soja queimados apresentaram acidez de óleo superior a todos os outros tratamentos, seguido pelo ardido, fermentado e sadio ($p < 0.05$). Estes resultados sugerem uma evolução dos defeitos perante o grau de degradação que estes estão submetidos, ou seja, aparentemente os grãos sadios e fermentados, podem originar grãos ardidos e queimados e estes estão mais degradados devido aumento brusco de acidez que podem atingir. Os óleos extraídos de defeitos de grãos de soja não são recomendados para uso da indústria de óleos, em razão do alto custo de refino para diminuição da acidez, tendo em vista os limites estabelecidos pelo *Codex Alimentarius* de 0,6 mg KOH.g⁻¹ (FAO, 2017b). Ainda, os limites de acidez para uso do óleo bruto para ração animal, de acordo com portaria do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, nº 7, de 09 de setembro de 1988, que o limite máximo de acidez é de 50 mg de KOH.g⁻¹ e portanto, óleo de grãos de soja queimados também não estariam adequados para este uso.

Os coeficientes de extinção específicos, que medem o grau de degradação primária e secundária, variaram entre 1,77 a 2,04 para o coeficiente K_{232} de grãos sadios e queimados, e 0,37 a 1,03, para o coeficiente K_{270} , em grãos sadios e ardidos, respectivamente. O coeficiente K_{232} indica a presença de produtos de oxidação primária (peróxidos, hidroperóxidos e dienos conjugados), enquanto K_{270} indica a presença de produtos de oxidação secundária (aldeídos e cetonas). Assim como a acidez dos óleos, a degradação ocorre quanto mais intenso for o defeito, dos quais os defeitos ardido e queimado apresentaram valores superiores ($p < 0.05$), para K_{232} e K_{270} com relação aos grãos sadios e fermentados. Entretanto, para K_{270} , os grãos ardidos apresentam valores superiores aos demais, seguido pelo queimado, fermentado e sadio. Os valores obtidos estão relacionados a uma evolução de degradação, consequente formação de peróxidos, e após, cetonas e aldeídos, aumenta conforme a intensificação dos defeitos. Todavia, para o valor obtido para o grão queimado do coeficiente K_{270} , foi menor do que o ardido, o que pode ser explicado devido à

oxidação e volatilização dos compostos que acabaram sendo gerados a partir deste metabolismo e, portanto, diminuíram sua concentração (MATTHÄUS, 1996).

Tabela 9 - Rendimento de extração, acidez e coeficiente de extinção específico de óleo de diferentes defeitos de soja

Classificação do grão	Rendimento (%)	Acidez (mg KOH g ⁻¹)	Coeficiente de extinção específico	
			K ₂₃₂	K ₂₇₀
Sadio	25,20 ± 0,22 a*	3,60 ± 0,26 d	1,77 ± 0,03 b	0,37 ± 0,05 d
Fermentado	24,62 ± 0,61 a	38,50 ± 0,44 c	1,85 ± 0,02 b	0,53 ± 0,04 c
Ardido	22,15 ± 0,40 b	52,2 ± 1,53 b	2,04 ± 0,12 a	1,03 ± 0,01 a
Queimado	21,85 ± 1,57 b	84,56 ± 0,63 a	1,94 ± 0,12 a	0,75 ± 0,08 b

*Valor médio ± desvio padrão (n=3). Letras iguais na mesma linha não diferem estatisticamente (p>0,05) entre si pelo teste de Tukey

4.4.2. Atividade da enzima lipase

A atividade enzima lipase em óleos de diferentes defeitos de grãos de soja está apresentada na figura 16. A atividade de lipase variou entre 2,3 a 52,7% de lipólise, em óleo de soja sadio e queimado, respectivamente. A partir dos grãos sadios até os queimados, houveram aumentos do grau de lipólise dos óleos ou atividade de enzimas lipases em todos os tratamentos (p<0,05). O óleo de soja queimado apresentou o maior atividade da enzima lipase, que corroborado pelos dados da tabela 7, evidencia o grau de degradação deste material, tendo em vista a ação da enzima lipase sobre os triacilgliceróis, no qual hidrolisam este composto e liberam ácidos graxos livres para o meio, permitindo o aumento de acidez e dos coeficientes de extinção específico dos óleos (BUCHANAN; GRUISSEM; JONES, 2015; DIJKSTRA, 2015; JIA; KIM; MIN, 2007). Os resultados indicam uma alta taxa metabólica de grãos com defeitos provocado por umidade e temperatura, favorecem a ação desta enzima. Nos grãos queimados, a acidez foi a maior, assim como a atividade de lipase (p<0.05) entre todos os tratamentos, o que explica o resultado também dos coeficientes de extinção específicos. A deterioração do grão por lipase é afetada por processos de pós-colheita, como a temperatura de armazenamento ou secagem dos grãos. A rancidez oxidativa realizada pela enzima lipoxigenase aumenta na presença de oxigênio, e podem aumentar em razão do manejo de pós-colheita. Ziegler et al. (2018b) que verificaram que tratamentos térmicos a baixos teores de umidade (TTBU) em grãos

de aveia em casca a 110 °C durante 15, 30, 45 e 60 minutos reduzem a atividade da lipase, porém a enzima não foi totalmente inativada. Os autores atribuíram que a condição de baixa umidade não favorece a transmissão de calor, por exemplo.

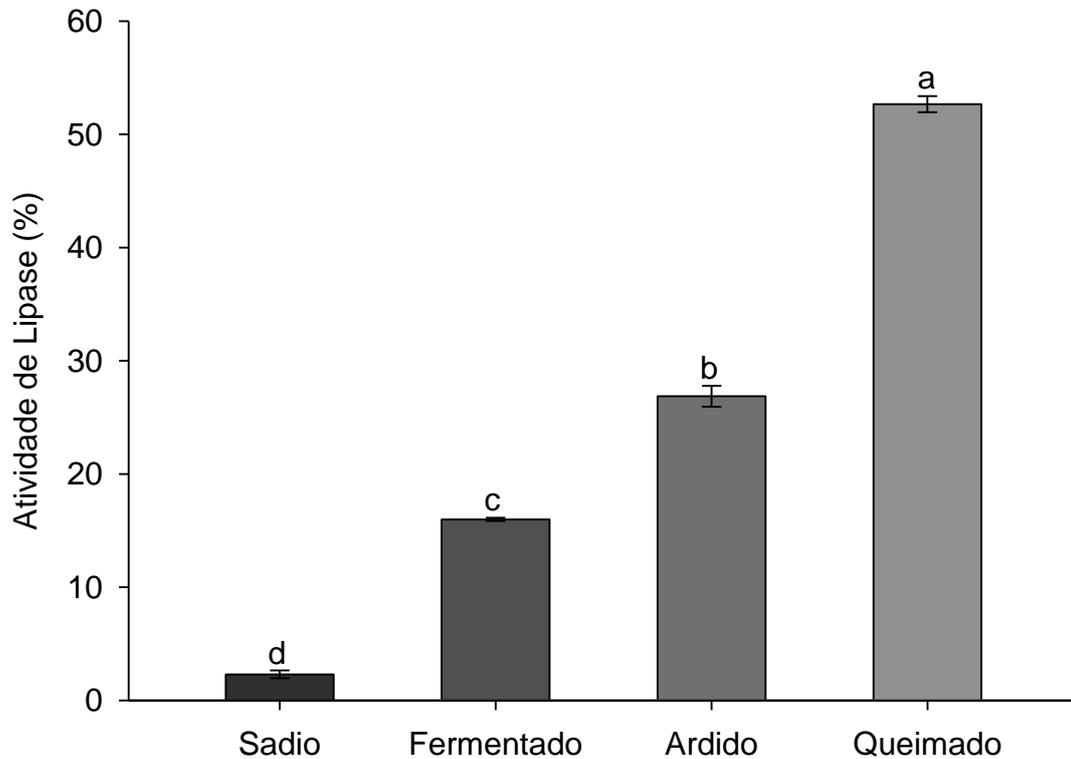


Figura 15 - Atividade da enzima lipase de óleos de diferentes defeitos de soja

4.4.3. Perfil de carotenoides

O perfil de carotenoides de óleo de soja está representado na tabela 10. Os carotenoides são compostos de interesse pois são lipossolúveis trazendo também benefícios à saúde. O carotenoide Luteína variou entre 17,99 e 27,70 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ para grãos sadios e ardidos, respectivamente, apresentando reduções conforme a intensificação de defeitos. A Zeaxantina apresentou diminuições nos grãos ardidos, apresentando valores de 0,18 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ em grãos sadios, 0,37 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ em grãos fermentados e 0,34 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ em grãos ardidos, e sendo totalmente degradadas nos grãos queimados. Foram encontrados aumentos de 0,70 a 1,24 ($p < 0,05$) respectivamente para a β -criptoxantina em grãos fermentados e queimados, respectivamente. Slavin et al. (2009) avaliou o teor de carotenoides individuais de óleo de soja de cinco cultivares e verificaram que o carotenoide Luteína foi o predominante, além da β -criptoxantina e Zeaxantina,

porém os autores observaram que o teor dos carotenoides totais e individuais variou conforme a cultivar. A presença dos ácidos graxos insaturados pode contribuir para a manutenção dos carotenoides Zeaxantina e β -criptoxantina, protegendo estes carotenoides radicais livres e oxigênio (MBA; DUMONT; NGADI, 2017). A degradação de carotenoides pode ser observada devido a condições ambientais, como a luz (NAMITHA; NEGI, 2010), porém as condições de pós-colheita também podem afetar este bioativo, como altas temperaturas e tempo de armazenamento (DESMARCHELIER; BOREL, 2017; MBA; DUMONT; NGADI, 2017; ZIEGLER et al., 2016a). Shi e Chen (1997) avaliaram o efeito de diferentes condições de armazenamento de luteína extraída de algas, dissolvidas em Ácido Ascórbico e KOH, e expondo à luz e a temperaturas de -30, -12, 8, 25 e 50 °C e observaram que a iluminação e temperaturas de 25 e 50 °C promoveram degradação do carotenoide luteína. O efeito da temperatura pode ter sido semelhante nos grãos de soja com defeitos, que através da fermentação aceleram o metabolismo e aumentam a temperatura da massa, e assim por reduzirem sua concentração no grão queimado. Não foram encontrados estudos com óleo bruto de soja e os efeitos dos defeitos metabólicos sobre estes compostos bioativos, porém pode ser observado que a qualidade da matriz, bem como o método de extração do óleo podem alterar a composição destes bioativos, que são benéficos à saúde humana.

Tabela 10 - Perfil de carotenoides de óleo de diferentes defeitos de soja

Tratamento*	Luteína ($\mu\text{g.g}^{-1}$)	Zeaxantina ($\mu\text{g.g}^{-1}$)	β -Criptoxantina ($\mu\text{g.g}^{-1}$)
Sadio	17.99 \pm 0,13 c	0.18 \pm 0,01 b	< LOQ
Fermentado	26.58 \pm 0,89 a	0.37 \pm 0,03 a	0.70 \pm 0,00 c
Ardido	27.70 \pm 0,89 a	0.34 \pm 0,03 a	1.00 \pm 0,05 b
Queimado	22.80 \pm 0,47 b	< LOQ	1.24 \pm 0,10 a

*Valor médio \pm desvio padrão (n=3). Letras iguais na mesma linha não diferem estatisticamente ($p>0,05$) entre si pelo teste de Tukey. < LOD: abaixo do limite de detecção; < LOQ: abaixo do limite de quantificação

4.4.4. Perfil de ácidos graxos

O perfil dos ácidos graxos está apresentado na tabela 11. Foram detectados os ácidos graxos saturados: Palmítico (C16:0), Esteárico (C18:0), Behênicos (C22:0) e Lignocérico (24:0), e os ácidos graxos insaturados majoritários foram: Linoleico (C18:2n6), Oléico (C18:1n9c) e Elaidico (C18:1n9t). Observa-se que os ácidos graxos insaturados foram majoritários. Os ácidos graxos polinsaturados presentes no óleo de soja bruto fazem com que estes óleos estejam suscetíveis a oxidações e conseqüentemente formação de compostos de odor ruim (*off-flavors*).

Galão et al., (2014) observaram que 20 cultivares de soja cultivados em 2 locais experimentais no estado do Paraná, apresentam perfis de ácidos graxos diferentes, sugerindo o efeito do genótipo e ambiente nesta composição. Anwar et al. (2016) verificou diferentes perfis de ácidos graxos ao avaliar óleos extraídos de três cultivares de soja, observando, assim como o autor anterior, o Ácido linoleico como composto majoritário. Ivanov, Levic e Sredanovic (2011) reportaram diferentes perfis de ácidos graxos em diferentes produtos à base de soja, no grão integral, óleo, torta e grits, verificando as maiores concentrações de Ácido linoleico no óleo de soja. Os autores sugerem que o ambiente, o genótipo, e o método de extração e produto interferem na composição de ácidos graxos de óleo de soja. A hidrólise de triacilgliceróis por ação de lipases (figura 16) pode favorecer as maiores concentrações de ácidos graxos nos grãos com defeitos, devido à clivagem em diacilglicerois poderia facilitar a extração destes compostos (LI et al., 2015). O óleo de soja a partir de grãos queimados apresenta maiores teores de ácidos graxos saturados, que pode ter sido efeito do metabolismo dos grãos ou situação de estresse, reduzindo compostos de cadeia longa e insaturados (BUCHANAN; GRUISSEM; JONES, 2015; UPCHURCH, 2008).

Tabela 11 - Perfil de ácidos graxos de óleo de diferentes defeitos de grãos de soja

Ácido graxo (mg.ml ⁻¹)	Classificação de grãos*			
	Sadio	Fermentado	Ardido	Queimado
C14:0	< LOQ*	< LOQ	< LOQ	< LOQ
C16:0	5,94 ± 0,62 a	4,83 ± 0,10 a	7,04 ± 0,13 a	6,84 ± 1,20 a
C16:1	0,17 ± 0,02 c	0,21 ± 0,04 bc	0,38 ± 0,06 a	0,37 ± 0,01 ab
C17:0	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ
C17:1	0,52 ± 0,02 b	0,59 ± 0,01 b	1,09 ± 0,03 a	1,12 ± 0,04 a
C18:0	6,25 ± 0,37 ab	5,08 ± 0,17 b	7,24 ± 0,03a	7,33 ± 0,76 a
C18:1N9C	28,92 ± 0,13 a	26,66 ± 0,39 ab	27,31 ± 1,22 ab	23,18 ± 2,13 b
C18:1N9T	11,45 ± 1,12 a	12,46 ± 0,39 a	13,78 ± 1,22 a	16,18 ± 2,50a
C18:2N6	180,47 ± 6,17 a	152,02 ± 1,78 a	185,75 ± 1,83 a	170,59 ± 23,94 a
C18:3N3	< LOD	< LOD	< LOD	2,00 ± 0,04 a
C20:0	< LOQ	< LOQ	0,27 ± 0,00 a	0,27 ± 0,04 a
C20:1	0,48 ± 0,03 a	0,50 ± 0,06 a	0,55 ± 0,16 a	0,84 ± 0,09 a
C20:2	0,40 ± 0,01 c	0,53 ± 0,08 c	1,61 ± 0,04 b	2,94 ± 0,17 a
C20:3N3	0,23 ± 0,02a	0,31 ± 0,04 a	0,45 ± 0,18 a	0,41 ± 0,03 a
C20:3N6	0,82 ± 0,04 c	0,98 ± 0,09 c	3,64 ± 0,32 b	7,75 ± 0,99 a
C20:5N3	2,04 ± 0,05 c	2,93 ± 0,56 c	15,34 ± 1,18 b	30,81 ± 2,41 a
C21:0	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ
C22:0	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ
C23:0	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ
C24:0	0,17 ± 0,02 a	0,18 ± 0,03 a	0,30 ± 0,01 a	0,28 ± 0,06 a

*Valor médio ± desvio padrão (n=3). Letras iguais na mesma linha não diferem estatisticamente (p>0,05) entre si pelo teste de Tukey. < LOD: abaixo do limite de detecção; < LOQ: abaixo do limite de quantificação

4.5. Conclusão

Os óleos extraídos a partir de grãos de soja ardidos e queimados apresentam menor rendimento de extração de óleo e maior coeficiente K_{232} , indicando na formação de produtos de formação primária, como peróxidos.

Os defeitos de grãos de soja apresentam maior acidez atividade da enzima lipase, que aumentam com a intensificação de defeitos, do fermentado ao queimado, além de maior K_{270} , indicando a formação de produtos de degradação secundária, como aldeídos e cetonas.

Os compostos bioativos presentes no óleo de soja apresentam perfis distintos com aumento de β -criptoxantina à medida que os defeitos são intensificados e diminuição dos carotenoides Luteína e Zeaxantina.

O óleo extraído a partir de grãos ardidos e queimados apresenta maior concentração de C16:1, C17:1, C18:3N3, C20:0, C20:3N6, C20:3N6, C20:5N6, que o obtido a partir e grãos fermentados e sadios e o extraído a partir de grãos queimados apresenta menor teor de C18:1N9.

5. Considerações finais

A qualidade do grão de soja utilizados para uso do grão integral, farelo, proteína ou óleo é fundamental para obtenção de um produto de qualidade

A classificação dos grãos de soja utilizados para a extração de óleo, uso de proteína concentrada ou até mesmo utilização de grãos inteiros deverá ser considerada pela indústria, pois os defeitos de soja alteram as propriedades físico-químicas, funcionais e os compostos bioativos.

Os grãos de soja queimados foram o que mais interferiram nas propriedades do grão inteiro, com diminuição no teor de lipídeos, L^* , b^* , pH, proteína solúvel, rendimento de proteínas e algumas diminuições no perfil de isoflavonas e compostos fenólicos. Quanto ao óleo, os grãos de soja queimados diminuíram o conteúdo total de óleo e aumentou a acidez, a atividade da enzima lipase, os coeficientes de extinção específico K_{232} e K_{270} , e ainda teve seu perfil de ácidos graxos e carotenoides alterados.

A utilização de grãos de soja com defeitos para extração e uso de óleo onera o processo de extração e refino, tendo em vista as propriedades tecnológicas e compostos bioativos analisados.

Assim, grãos com defeitos, principalmente o defeito queimado, não são recomendados para uso na extração de óleo, ração animal e consumo humano.

Referências

ABAE, A.; MOHAMMADIAN, M.; JAFARI, S. M. Whey and soy protein-based hydrogels and nano-hydrogels as bioactive delivery systems. **Trends in Food Science and Technology**, v. 70, n. June, p. 69–81, 2017.

ABIOVE. **Brasil - Complexo Soja**. São Paulo: ABIOVE, p. 1-3, 2018.

AGUILAR-GARCIA, C. et al. Correlation of tocopherol, tocotrienol, γ -oryzanol and total polyphenol content in rice bran with different antioxidant capacity assays. **Food Chemistry**, v. 102, n. 4, p. 1228–1232, 2007.

AHSAN, H. et al. Pharmacological potential of tocotrienols: A review. **Nutrition and Metabolism**, v. 11, n. 1, p. 1–22, 2014.

ALIZADEH, L. et al. Effects of tocopherol, rosemary essential oil and *Ferulago angulata* extract on oxidative stability of mayonnaise during its shelf life: A comparative study. **Food Chemistry**, 2019.

ALVES, G. H. et al. Effects of Organic and Conventional Cropping Systems on Technological Properties and Phenolic Compounds of Freshly Harvested and Stored Rice. **Journal of Food Science**, v. 82, n. 10, p. 2276–2285, 2017.

ANDERSON, J. W.; JOHNSTONE, B. M.; COOK-NEWELL, M. E. Meta-Analysis of the Effects of Soy Protein Intake on Serum Lipids. **New England Journal of Medicine**, v. 333, n. 5, p. 276–282, 1995.

ANTHONY, M. S.; CLARKSON, T. B.; WILLIAMS, J. K. Effects of soy isoflavones on atherosclerosis: Potential mechanisms. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 68, n. 6 SUPPL., p. 1390–1393, 1998.

ANWAR, F. et al. Variations of quality characteristics among oils of different soybean varieties. **Journal of King Saud University - Science**, v. 28, n. 4, p. 332–338, 2016.
AZZI, A. Many tocopherols, one vitamin E. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 61, p. 92–103, 2018.

ARYEE, A. N. A.; AGYEI, D.; UDENIGWE, C. C. Impact of processing on the chemistry and functionality of food proteins. In: ARYEE, A. N. A.; AGYEI, D.; UDENIGWE, C. C. (Eds.). . **Proteins in Food Processing: Second Edition**. 2. ed. Delaware, USA: Elsevier Ltd., 2017. p. 27–45.

BARBA, F. J. et al. Bioaccessibility of bioactive compounds from fruits and vegetables after thermal and nonthermal processing. **Trends in Food Science and Technology**, v. 67, p. 195–206, 2017.

BERK, Z. Physical Properties of Food Materials. In: BERK, Z. B. T.-F. P. E. AND T. (Ed.). . **Food Science and Technology**. 1. ed. San Diego: Academic Press, 2009. p. 7–25.

BONETTI, L. P. Distribuição de soja no mundo. In: MIYASAKA, S.; MEDINA, J. C. (Eds.). . **A soja no Brasil**. Campinas, SP: Instituto de Tecnologia de Alimentos, 1981. p. 1–16.

BRASIL. **Instrução Normativa N° 15, de 9 de Junho de 2004** Brasília, Brasil Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, , 2004.

BRASIL. **Instrução Normativa 11/2007**. Brasília, Brasil: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2007a.

BRASIL. **Instrução Normativa 37/2007**. Brasília, Brasil: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2007b.

BUCHANAN, B. B.; GRUISSEM, W.; JONES, R. L. **Biochemistry & Molecular Biology of Plants**. 2. ed. Chichester, UK: Wiley Blackwell, 2015. v. 53

CAO, Z.-H. et al. Bioactivity of soy-based fermented foods: A review. v. 37, n. November 2017, p. 223–238, 2018.

CHAO, W. X. Health effects of soy protein and isoflavones in humans. **Journal of Nutrition**, v. 138, n. 6, p. 4–9, 2008.

CHEN, K. I. et al. Enrichment of two isoflavone aglycones in black soymilk by using spent coffee grounds as an immobiliser for β -glucosidase. **Food Chemistry**, v. 139, n. 1–4, p. 79–85, 2013.

CHEN, M. H.; BERGMAN, C. J. A rapid procedure for analysing rice bran tocopherol, tocotrienol and γ -oryzanol contents. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 18, n. 2–3, p. 139–151, 2005.

CHENG, H.; YU, O.; YU, D. Polymorphisms of IFS1 and IFS2 gene are associated with isoflavone concentrations in soybean seeds. **Plant Science**, v. 175, n. 4, p. 505–512, 2008.

CHU, Y. H.; LIN, J. Y. Factors affecting the content of tocopherol in soybean oil. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 70, n. 12, p. 1263–1268, 1993.

COCURON, J.-C. et al. Beyond the Wall: High-Throughput Quantification of Plant Soluble and Cell-Wall Bound Phenolics By Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry. **Journal of Chromatography A**, 2018.

CONAB. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos - Safra 2018/19 - Terceiro levantamento - Dezembro de 2018**. Disponível em: <<https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos>>. Acesso em: 12 de dezembro de 2018.

CONCEIÇÃO, O. A. C. **A Expansão Da Soja No Rio Grande Do Sul**. Disponível em: <<http://cdn.fee.tche.br/digitalizacao/teses-fee/expansao-soja-rio-grande-do-sul-teses-6/expansao-soja-rio-grande-do-sul-teses-6-texto.pdf.pdf>>. Acesso em: 12 de julho de 2017.

DE MELO PEREIRA, G. V. et al. Exploring the impacts of postharvest processing on the aroma formation of coffee beans – A review. **Food Chemistry**, v. 272, p. 441–452, 2019.

DELFAN-HOSSEINI, S. et al. Effect of extraction process on composition, oxidative stability and rheological properties of purslane seed oil. **Food Chemistry**, v. 222, p. 61–66, 2017.

DESMARCHELIER, C.; BOREL, P. Overview of carotenoid bioavailability determinants: From dietary factors to host genetic variations. **Trends in Food Science and Technology**, v. 69, p. 270–280, 2017.

DIJKSTRA, A. J. Soybean Oil. **Encyclopedia of Food and Health**, p. 58–63, 2015.

DOERGE, D. R. Bioavailability of soy isoflavones through placental/lactational transfer and soy food. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 254, n. 2, p. 145–147, 2011.

DOS SANTOS MARASCHIN, F. et al. Enzymes of glycerol-3-phosphate pathway in

triacylglycerol synthesis in plants: Function, biotechnological application and evolution. **Progress in Lipid Research**, v. 73, n. December 2018, p. 46–64, 2018.

DUEÑAS, M. et al. Bioactive Phenolic Compounds of Soybean (*Glycine max* cv. Merit): Modifications by Different Microbiological Fermentations. **Polish Journal of Food and Nutrition Sciences**, v. 62, n. 4, p. 241–250, 2012.

DURMAZ, G.; GÖKMEN, V. Effect of refining on bioactive composition and oxidative stability of hazelnut oil. **Food Research International**, p 158-161, 2018.

EBERT, A. W. et al. Nutritional composition of mungbean and soybean sprouts compared to their adult growth stage. **Food Chemistry**, v. 237, p. 15–22, 2017.

FAO. **Statistical Databases**. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en>>. Acesso em: 5 jun. 2018a.

FAO. **STANDARD FOR NAMED VEGETABLE OILS**. Disponível em: <http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/en/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252Fstandards%252FCODEX%2BSTAN%2B210-1999%252FCXS_210e.pdf>. Acesso em: 31 de janeiro de 2019.

FERNANDES, S. S.; COELHO, M. S.; SALAS-MELLADO, M. DE LAS M. **Bioactive Compounds as Ingredients of Functional Foods**. Elsevier Inc., 2019.

FERREIRA, C. D. et al. Changes in Phenolic Acid and Isoflavone Contents during Soybean Drying and Storage. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 67, n. 4, p. 1146–1155, 2019.

GALÃO, O. F. et al. Differences of fatty acid composition in Brazilian genetic and conventional soybeans (*Glycine max* (L.) Merrill) grown in different regions. **Food Research International**, v. 62, p. 589–594, 2014.

GANDHI, A. P.; NENWANI, M. M.; ALI, N. Some Physico-Chemical Characteristics of Soybean , *Glycine m a x Merr* . **Food Chemistry**, v. 17, p. 71–74, 1985.

GOULA, A. M. et al. Green ultrasound-assisted extraction of carotenoids from pomegranate wastes using vegetable oils. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 34, p. 821–830, 2017.

HARLAN, J. R. **Crops and man**. Madison, Wisconsin: American Society of Agronomy, 1992.

HARTMAN, L.; LAGO, R. C. Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids. **Laboratory practice**, v. 22, n. 6, p. 475–476, 1973.

HAN, Y.; YU, M.; WANG, L. Preparation and characterization of antioxidant soy protein isolate films incorporating licorice residue extract. **Food Hydrocolloids**, v. 75, p. 13–21, 2018.

HE, F.-J.; CHEN, J.-Q. Consumption of soybean, soy foods, soy isoflavones and breast cancer incidence: Differences between Chinese women and women in Western countries and possible mechanisms. **Food Science and Human Wellness**, v. 2, n. 3–4, p. 146–161, 2013.

HOU, H. J.; CHANG, K. C. Interconversions of Isoflavones in Soybeans as Affected by Storage. **Food Chemistry and toxicology**, v. 67, n. 6, 2002.

HSIAO, Y. H.; HSIEH, J. F. The conversion and deglycosylation of isoflavones and anthocyanins in black soymilk process. **Food Chemistry**, v. 261, p. 8–14, 2018.

HSU, H. W. et al. A Multienzyme Technique for Estimating Protein Digestibility. **Journal of Food Science**, v. 42, n. 5, p. 1269–1273, 1977.

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

HYMOWITZ, T. On the domestication of the soybean. **Economic Botany**, v. 24, n. 4, p. 408–421, 1970.

IVANOV, D.; LEVIC, J.; SREDANOVIC, S. FATTY ACID COMPOSITION OF VARIOUS SOYBEAN PRODUCTS. **Food and Feed Research**, v. 45, n. 2, p. 6570, 2011.

JAYACHANDRAN, M.; XU, B. An insight into the health benefits of fermented soy products. **Food Chemistry**, v. 271, n. July, p. 362–371, 2019.

JIA, M.; KIM, H. J.; MIN, D. B. Effects of soybean oil and oxidized soybean oil on the

stability of b-carotene. **Food Chemistry**, v. 103, n. 3, p. 695–700, 2007.

JUNG, M. Y.; MIN, D. B. Effects of α -, γ - and δ -Tocopherols on Oxidative Stability of Soybean Oil. **Journal of Food Science**, v. 55, n. 5, p. 1464–1465, 1990.

KAN, L. et al. Comparative study on the chemical composition, anthocyanins, tocopherols and carotenoids of selected legumes. **Food Chemistry**, v. 260, p. 317–326, 2018.

KAUR, J.; RAMAMURTHY, V.; KOTHARI, R. M. Characterization of oat lipase for lipolysis of rice brain oil. **Biotechnology letters**, v. 15, n. 3, p. 257–262, 1993.

KIM, H. J.; LEE, H. O.; MIN, D. B. Effects and prooxidant mechanisms of oxidized α -tocopherol on the oxidative stability of soybean oil. **Journal of Food Science**, v. 72, n. 4, p. 223–230, 2007.

KIM, J.; LEE, Y.; LEE, S. Y. Legumes and soy products consumption and functional disability in older women. **Maturitas**, v. 69, n. 3, p. 268–272, 2011.

LEE, A. H. et al. Soy and isoflavone intake associated with reduced risk of ovarian cancer in southern Chinese women. **Nutrition Research**, v. 34, n. 4, p. 302–307, 1 abr. 2014.

LEE, M. J. et al. High resolution LC-ESI-TOF-mass spectrometry method for fast separation, identification, and quantification of 12 isoflavones in soybeans and soybean products. **Food Chemistry**, v. 176, p. 254–262, 2015.

LI, D. et al. Hydrolysis of soybean oil to produce diacylglycerol by a lipase from *Rhizopus oryzae*. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 115, p. 43–50, 2015.

LI, W. et al. Soy and the risk of type 2 diabetes mellitus: A systematic review and meta-analysis of observational studies. **Diabetes Research and Clinical Practice**, v. 137, p. 190–199, 2018.

LIMA, F. S. DE; IDA, E. I. Optimisation of soybean hydrothermal treatment for the conversion of β -glucoside isoflavones to aglycones. **LWT - Food Science and Technology**, v. 56, n. 2, p. 232–239, 2014.

LIST, G. R. 1 – Soybean Lecithin: Food, Industrial Uses, and Other Applications. In: **Polar Lipids**. 1. ed. p. 1–33, 2012.

LIU, X. X. et al. Effect of soy isoflavones on blood pressure: A meta-analysis of randomized controlled trials. **Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases**, v. 22, n. 6, p. 463–470, 1 de junho de 2012.

MANIRAKIZA, P.; COVACI, A.; SCHEPENS, P. Comparative Study on Total Lipid Determination using Soxhlet, Roesse-Gottlieb, Bligh & Dyer, and Modified Bligh & Dyer Extraction Methods. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 14, n. 1, p. 93–100, 2001.

MATTHÄUS, B. W. Determination of the Oxidative Stability of Vegetable Oils by Rancimat and Conductivity and Chemiluminescence Measurements. **Journal of the American Oil Chemists Society**, v. 73, n. 8, p. 1039–1043, 1996.

MBA, O. I.; DUMONT, M. J.; NGADI, M. Thermostability and degradation kinetics of tocopherols and carotenoids in palm oil, canola oil and their blends during deep-fat frying. **LWT - Food Science and Technology**, v. 82, p. 131–138, 2017.

MENG, S. et al. Protein and quality analyses of accessions from the USDA soybean germplasm collection for tofu production. **Food Chemistry**, v. 213, p. 31–39, 2016.

MEZOUARI, S.; EICHNER, K. Comparative study on the stability of crude and refined rice bran oil during long-term storage at room temperature. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 109, p. 198–205, 2007.

MIRAHMADI, S.-M.-S. et al. Soy isoflavone genistein attenuates lipopolysaccharide-induced cognitive impairments in the rat via exerting anti-oxidative and anti-inflammatory effects. **Cytokine**, v. 104, p. 151–159, 2018.

NAMITHA, K. K.; NEGI, P. S. Chemistry and biotechnology of carotenoids. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 50, n. 8, p. 1040–1049, 2010.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de bioquímica de Lehninger**. 6. Ed. Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil. p. 1-1298, 2014.

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

NOSWORTHY, M. et al. Effect of processing on the in vitro and in vivo protein quality of red and green lentils (*Lens culinaris*). **Journal of Organometallic Chemistry**, v. 240, n. 1, p. 588–593, 2018.

NUR SULIHATIMARSYILA, A. W. et al. Refining process for production of refined palm-pressed fibre oil. **Industrial Crops and Products**, v. 129, n. 1, p. 488–494, 2019.

O'BRIEN, R. D. **Fats, Oils & Lipids: Formulating and Processing Applications**. 3. ed. Boca Raton, FL, USA: Taylor & Francis, 2013.

O'TOOLE, D. K. B. T.-R. M. IN F. S. Soybean | Soymilk, Tofu, and Okara. In: **Encyclopedia of Food Grains: Second Edition**. 2. ed. Hong Kong: Elsevier, p. 134–143, 2016.

OCHANDIO, D. et al. Modelling respiration rate of soybean seeds (*Glycine max* (L.)) in hermetic storage. **Journal of Stored Products Research**, v. 74, p. 36–45, 2017.

OUAZIB, M. et al. Germinated, toasted and cooked chickpea as ingredients for breadmaking. **Journal of Food Science and Technology**, v. 53, n. 6, p. 2664–2672, 2016.

PARAGINSKI, R. T. et al. Starch and flour from defective rice kernels and their physicochemical properties. **Starch/Staerke**, v. 66, p. 1–9, 2014a.

PARAGINSKI, R. T. et al. Physicochemical and pasting properties of maize as affected by storage temperature. **Journal of Stored Products Research**, v. 59, p. 209e214, 2014b.

PAUCAR-MENACHO, L. M. et al. Effect of time and temperature on bioactive compounds in germinated Brazilian soybean cultivar BRS 258. **Food Research International**, v. 43, n. 7, p. 1856–1865, 2010.

PESKE, S. T.; VILLELA, F. A.; MENEGHELLO, G. E. **Sementes: Fundamentos Científicos e Tecnológicos**. 3. ed. Pelotas, RS, Brasil: Editora Universitária / UFPel, 2012.

PESTANA-BAUER, V. R. et al. γ -Oryzanol and tocopherol contents in residues of rice bran oil refining. **Food Chemistry**, v. 134, n. 3, p. 1479–1483, 2012.

POYSA, V.; WOODROW, L.; YU, K. Effect of soy protein subunit composition on tofu quality. **Food Research International**, v. 39, n. 3, p. 309–317, 2006.

RASHEEDA, K.; BHARATHY, H.; NISHAD FATHIMA, N. Vanillic acid and syringic acid: Exceptionally robust aromatic moieties for inhibiting in vitro self-assembly of type I collagen. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 113, p. 952–960, 2018.

RASHID KHAN, M. et al. Tocotrienols have a nephroprotective action against lipid-induced chronic renal dysfunction in rats. **Renal Failure**, v. 37, n. 1, p. 136–143, 2015.

REITER, E.; JIANG, Q.; CHRISTEN, S. Anti-inflammatory properties of α - and γ -tocopherol. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 28, n. 5–6, p. 668–691, 2007.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. **A Guide to Carotenoid Analysis in Foods**. 2003.

SAINI, R. K.; KEUM, Y. S. Tocopherols and tocotrienols in plants and their products: A review on methods of extraction, chromatographic separation, and detection. **Food Research International**, v. 82, p. 59–70, 2016.

SANTOS, G. T. A. D.; SANTOS, P. S. M.; DUARTE, A. C. Vanillic and syringic acids from biomass burning: Behaviour during Fenton-like oxidation in atmospheric aqueous phase and in the absence of light. **Journal of Hazardous Materials**, v. 313, p. 201–208, 2016.

SANTOS, O. S. **A Cultura da Soja - 1: Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná**. 1. ed. Rio de Janeiro, RJ: Globo, 1988.

SAS INSTITUTE. **Statistical Analysis System**. Cary, NC, U.S.A. SAS Institute, 2002.

SEDIYAMA, T. et al. Cultura da soja - Parte I. In: **Cultura da Soja**. 1. ed. Viçosa, Minas Gerais: UFV, Imp. Univ, 1985. p. 96.

SEDIYAMA, T.; TEIXEIRA, R. C.; BARROS, H. B. **Tecnologias de produção e usos da soja**. 1. ed. Londrina, PR: Mecnas, 2009.

SHI, D. YANG et al. Increased plant density and reduced N rate lead to more grain yield and higher resource utilization in summer maize. **Journal of Integrative Agriculture**, v. 15, n. 11, p. 2515–2528, 2016.

SHI, M. X.; CHEN, F. Stability of lutein under various storage conditions. **Molecular Nutrition and Food Research**, v. 41, n. 1, p. 38–41, 1997.

SLAVIN, M. . et al. Antioxidant properties and phenolic, isoflavone, tocopherol and carotenoid composition of Maryland-grown soybean lines with altered fatty acid profiles. **Food Chemistry**, v. 114, n. 1, p. 20–27, 2009.

SLEETER, R. T. Effect of Processing on Quality of Soybean oil. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 58, n. 3, p. 239–247, 1981.

SRINIVASULU, C. et al. Syringic acid (SA) – A Review of Its Occurrence, Biosynthesis, Pharmacological and Industrial Importance. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 108, n. September, p. 547–557, 2018.

STANOJEVIC, S. P. et al. Assessment of soy genotype and processing method on quality of soybean tofu. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, n. 13, p. 7368–7376, 2011.

TIAN, H. et al. Fabrication, properties and applications of soy-protein-based materials: A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 120, p. 475–490, 2018.

UPCHURCH, R. G. Fatty acid unsaturation, mobilization, and regulation in the response of plants to stress. **Biotechnology Letters**, v. 30, n. 6, p. 967–977, 2008.

WATANABE, S.; UEHARA, M. Health Effects and Safety of Soy and Isoflavones. In: SINGH, R. B.; WATSON, R. R.; TAKAHASHI, T. (Eds.). **The Role of Functional Food Security in Global Health**. 1. ed. Amsterdam, The Netherlands: Academic Press, 2019. p. 379–394.

WILSON, L. A. **Practical Handbook of Soybean Processing and Utilization**. 1995.

WRIGLEY, C. et al. **Encyclopedia of Food Grains**. 2. ed. Amsterdam: Lisa Tickner, 2016.

WRIGLEY, C.; BATEY, I.; MISKELLY, D. **Cereal Grains: Accessing and Managing Quality**. 2. ed. Amsterdam, The Netherlands: Elsevier Inc., 2017.

WRIGLEY, C.; CORKE, H.; WALKER, C. E. **Encyclopedia of Grain Science**. Amsterdam: Elsevier Inc., 2004.

XU, L.; DU, B.; XU, B. A systematic, comparative study on the beneficial health components and antioxidant activities of commercially fermented soy products marketed in China. **Food Chemistry**, v. 174, p. 202–213, 2015.

YOUSIF, A. M. Soybean Grain Storage Adversely Affects Grain Testa Color, Texture and Cooking Quality. **Journal of Food Quality**, v. 37, n. 1, p. 18–28, 2014.

ZEB, A.; MEHMOOD, S. Carotenoids Contents from Various Sources and Their Potential Health Applications. **Pakistan Journal of Nutrition**, v. 3, n. 3, p. 199–204, 2004.

ZHANG, Z. SHAN; XIE, Q. FANG; CHE, L. MING. Effects of gamma irradiation on aflatoxin B1 levels in soybean and on the properties of soybean and soybean oil. **Applied Radiation and Isotopes**, v. 139, p. 224–230, 2018.

ZIEGLER, V. et al. Changes in the Bioactive Compounds Content of Soybean as a Function of Grain Moisture Content and Temperature during Long-Term Storage. **Journal of Food Science**, v. 81, n. 3, p. 762–768, 2016a.

ZIEGLER, V. et al. Physicochemical and technological properties of soybean as a function of storage conditions. **Brazilian Journal of Food Research**, v. 7, n. 3, p. 117–132, 2016b.

ZIEGLER, V. et al. Effects of moisture and temperature during grain storage on the functional properties and isoflavone profile of soy protein concentrate. **Food Chemistry**, v. 242, n. June 2017, p. 37–44, 2018a.

ZIEGLER, V. et al. Heat-moisture treatment of oat grains and its effects on lipase activity and starch properties. **Starch/Staerke**, v. 70, n. 1–2, p. 2–9, 2018b.

ZIMMER, S. et al. Effects of soybean variety and Bradyrhizobium strains on yield, protein content and biological nitrogen fixation under cool growing conditions in

Germany. **European Journal of Agronomy**, v. 27, n. 6, p. 448–452, 2014.

Apêndice

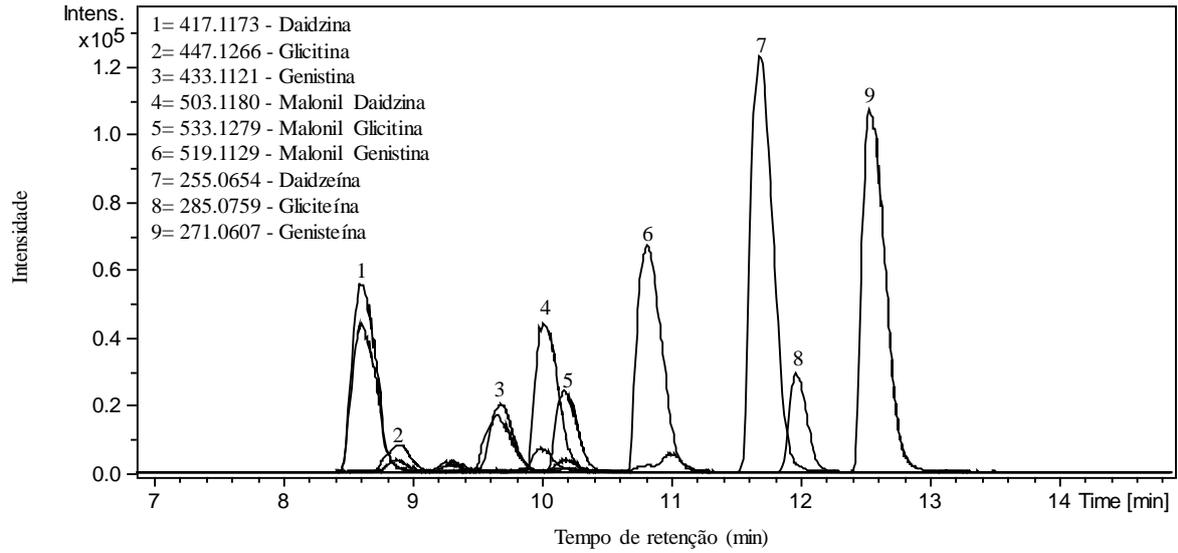


Figura 16 - Cromatograma do perfil de isoflavonas por HPLC-MS

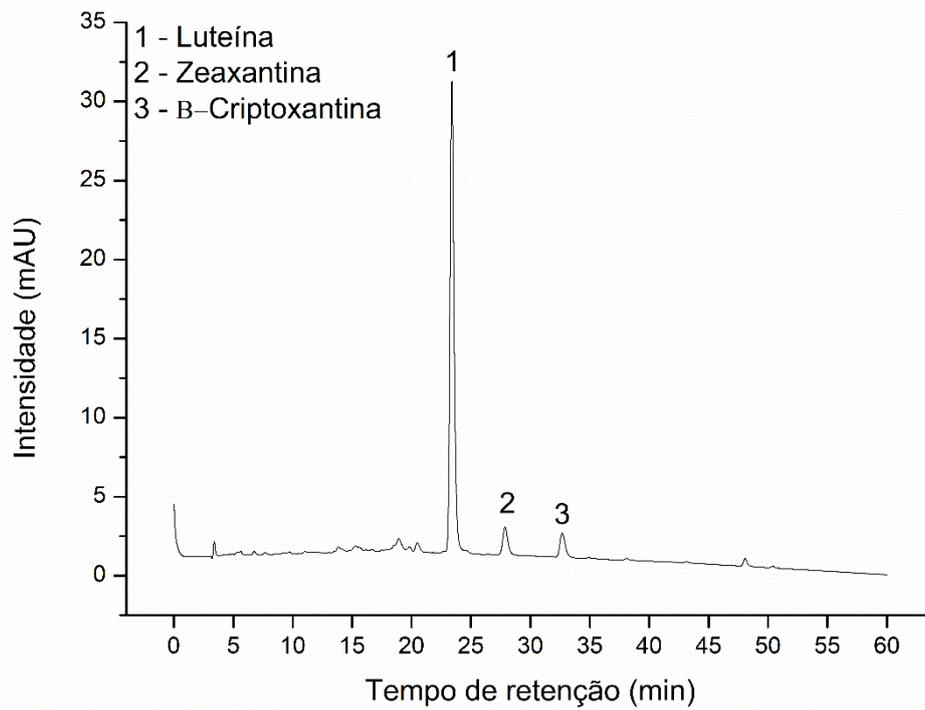


Figura 17 - Cromatograma do perfil de carotenoides por HPLC-DAD