

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



Tese de Doutorado

Efeitos do armazenamento e da luminosidade em propriedades tecnológicas e  
compostos bioativos de soja pigmentada

**Adriano Hirsch Ramos**

Pelotas, 2024

**Adriano Hirsch Ramos**

**Efeitos do armazenamento e da luminosidade em propriedades tecnológicas e compostos bioativos de soja pigmentada**

Tese de Doutorado 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 Doutor em Ciência e Tecnologia de Alimentos

Orientador: Prof. Dr. Maurício de Oliveira

Coorientador: Prof. Dr. Cristiano Dietrich Ferreira

Pelotas, 2024

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas  
Catalogação da Publicação

R175e Ramos, Adriano Hirsch

Efeitos do armazenamento e da luminosidade em propriedades tecnológicas e compostos bioativos de soja pigmentada [recurso eletrônico] / Adriano Hirsch Ramos ; Maurício de Oliveira, orientador ; Cristiano Dietrich Ferreira, coorientador. — Pelotas, 2024.  
82 f. : il.

Tese (Doutorado) — Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, 2024.

1. Soja pigmentada. 2. Compostos fenólicos. 3. Isoflavonas. 4. Estabilidade lipídica. 5. Solubilidade proteica. I. Oliveira, Maurício de, orient. II. Ferreira, Cristiano Dietrich, coorient. III. Título.

CDD 633.346

Elaborada por Ubirajara Buddin Cruz CRB: 10/901

Adriano Hirsch Ramos

Efeitos do armazenamento e da luminosidade em propriedades tecnológicas e compostos bioativos de soja pigmentada

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

Data da Defesa: 05/04/2024

Banca Examinadora:

Prof<sup>a</sup>. Dra. Chirle de Oliveira Raphaelli. Doutora em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela Universidade Federal de Pelotas.

Prof<sup>a</sup>. Dra. Silvia Leticia Rivero Meza. Doutora em Ciência dos Alimentos pela Universidade de São Paulo.

Pesq. Dr. Lázaro da Costa Correa Cañizares. Doutor em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela Universidade Federal de Pelotas.

**Dedico este trabalho à minha família e 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 noiva, 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 coorientação 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. **Efeitos do armazenamento e da luminosidade em propriedades tecnológicas e compostos bioativos de soja pigmentada**. 2024, 82f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Universidade Federal de Pelotas.

A soja é um grão amplamente utilizado em diversas aplicações, reconhecido pelos seus compostos antioxidantes benéficos à saúde, tornando crucial a manutenção de condições adequadas de armazenamento para preservar sua qualidade nutricional. Este estudo investigou o impacto do armazenamento (0, 6 e 12 meses) com e sem incidência luminosa sobre a qualidade da soja pigmentada, abordando aspectos como acidez lipídica, atividade de lipase, solubilidade proteica em água e 2% SDS, perfil colorimétrico e compostos fenólicos. Foram utilizados três genótipos diferentes (BRSMG 790A - Soja Amarela, BRSMG 800A - Soja Marrom e BRSMG 715A - Soja Preta). Foi observada uma menor conservabilidade nos materiais armazenados sob luz, comparativamente ao armazenamento sem luz. Durante o armazenamento com incidência luminosa, houve um aumento da atividade da lipase e da acidez, além de uma redução na solubilidade proteica. As alterações no perfil colorimétrico indicaram um escurecimento dos grãos ao longo do tempo. Reduções nos compostos fenólicos foram mais notáveis na soja amarela sob luz. A interconversão de isoformas malonil das isoflavonas identificadas foi sugerida como um possível influenciador das mudanças químicas durante o armazenamento. Os resultados obtidos ressaltam a importância de adotar estratégias de armazenamento adequadas para manter a qualidade da soja, especialmente em ambientes com exposição à luz. Em condições de luminosidade, os grãos de soja pigmentada, frequentemente armazenados em prateleiras, demonstraram uma redução na qualidade proteica, lipídica e nos compostos fenólicos. Essa constatação destaca a necessidade de implementar medidas adequadas de armazenamento para garantir a preservação dos atributos nutricionais e funcionais da soja pigmentada, como embalagens que impeçam a incidência luminosa direta nos grãos de soja.

**Palavras-chave:** soja pigmentada; compostos fenólicos; isoflavonas; estabilidade lipídica; solubilidade proteica

## Abstract

RAMOS, Adriano Hirsch. **Effects of storage and luminosity on technological properties and bioactive compounds of pigmented soybean.** 2024, 82f. Thesis (Philosophy Doctor Degree) – Food Science and Technology Post-Graduation Program. Federal University of Pelotas, Pelotas, Brazil.

Soy is a widely used grain in various applications, recognized for its health-beneficial antioxidant compounds, making it crucial to maintain adequate storage conditions to preserve its nutritional quality. This study investigated the impact of storage (0, 6, and 12 months) with and without light exposure on the quality of pigmented soybeans, addressing aspects such as lipid acidity, lipase activity, protein solubility in water and 2% SDS, colorimetric profile, and phenolic compounds. Three different genotypes were used (BRSMG 790A - Yellow Soybean, BRSMG 800A - Brown Soybean, and BRSMG 715A - Black Soybean). A lower conservability was observed in materials stored under light compared to storage without light. During storage with light exposure, there was an increase in lipase activity and acidity, along with a reduction in protein solubility. Changes in the colorimetric profile indicated darkening of the grains over time. Reductions in phenolic compounds were more noticeable in yellow soybeans under light. The interconversion of malonyl isoforms of identified isoflavones was suggested as a possible influencer of chemical changes during storage. The results emphasize the importance of adopting appropriate storage strategies to maintain soy quality, especially in environments with light exposure. Under luminosity conditions, pigmented soybeans, often stored on shelves, showed a decrease in protein and lipid quality and phenolic compounds. This finding highlights the need to implement adequate storage measures to ensure the preservation of the nutritional and functional attributes of pigmented soybeans, such as packaging that prevents direct light exposure on soybeans.

**Key-words:** pigmented soybeans; phenolic compounds; isoflavones; lipid stability; protein solubility

## Lista de Figuras

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 1 - Maiores produtores mundiais de soja, em área total.....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | 15 |
| Figura 2 - Maiores produtores mundiais de soja, em toneladas .....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | 16 |
| Figura 3 - Ilustração esquemática da molécula de glicinina na forma 11S nativa que consiste em seis polipeptídios ácidos (A) e básicos (B), com cada subunidade AB ligada por uma ligação dissulfeto; (b) ilustração para soja 7S globulina $\alpha'$ .....                                                                                                                                                                    | 18 |
| Figura 4 - Representação esquemática da estrutura da glicinina 11S (a) e $\beta$ -conglucina 7S (c). (b) Ilustração esquemática da distribuição de resíduos hidrofóbicos em glicinina de soja e $\beta$ -conglucina é mostrado em (b). A: Polipeptídios ácidos; B: Polipeptídios básicos; $\alpha$ , $\alpha'$ : Polipeptídios hidrofílicos; $\beta$ : Polipeptídios hidrofóbicos. Fonte: Adaptado de Salas et al. (2013)..... | 18 |
| Figura 5 - Ilustração de estrutura de corpos lipídicos (oleossomo) .....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | 20 |
| Figura 6 - Ilustração esquemática de moléculas de isoflavonas glicosiladas daidzeína (A), genisteína (B) e glicetina (C). .....                                                                                                                                                                                                                                                                                                | 22 |
| Figura 7 - Ilustração esquemática da estrutura morfológica de grãos de soja .....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | 23 |
| Figura 8 - Soja com película pigmentada amarela, marrom e preta.....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 27 |
| Figura 9 - Soja pigmentada amarela, marrom e preta, armazenada por 12 meses com e sem incidência luminosa.....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | 29 |

## **Lista de Tabelas**

|                                                                                                                                       |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabela 1 - Delineamento experimental.....                                                                                             | 27 |
| Tabela 2 - Acidez e atividade da lipase de diferentes genótipos de soja armazenados com e sem luz por 0, 6 e 12 meses.....            | 36 |
| Tabela 3 - Proteína solúvel em água e SDS de diferentes genótipos de soja armazenados com e sem luz por 0, 6 e 12 meses .....         | 39 |
| Tabela 4 - Perfil colorimétrico de diferentes genótipos de soja armazenados com e sem luz por 0, 6 e 12 meses .....                   | 42 |
| Tabela 5 - Compostos fenólicos livres de diferentes genótipos de soja armazenados com e sem luz por 0, 6 e 12 meses (continua).....   | 45 |
| Tabela 6 - Compostos fenólicos ligados de diferentes genótipos de soja armazenados com e sem luz por 0, 6 e 12 meses (continua) ..... | 49 |
| Tabela 7 - Perfil de isoflavonas de diferentes genótipos de soja armazenados com e sem luz por 0, 6 e 12 meses (continua) .....       | 56 |

## Sumário

|                                             |           |
|---------------------------------------------|-----------|
| <b>1. Introdução</b>                        | <b>12</b> |
| <b>1.1. Objetivos</b>                       | <b>14</b> |
| 1.1.1. Objetivo geral                       | 14        |
| 1.1.2. Objetivos específicos                | 14        |
| <b>2. Revisão Bibliográfica</b>             | <b>15</b> |
| 2.1. Produção e consumo de soja             | 15        |
| 2.2. Composição química de grãos de soja    | 16        |
| 2.3. Soja pigmentada                        | 22        |
| 2.4. Armazenamento                          | 24        |
| <b>3. Metodologia</b>                       | <b>26</b> |
| 3.1. Material                               | 26        |
| 3.2. Delineamento experimental              | 27        |
| 3.3.1. Preparo das amostras                 | 27        |
| 3.3.2. Teor de acidez                       | 29        |
| 3.3.3. Atividade da enzima lipase           | 29        |
| 3.3.4. Solubilidade proteica em água        | 30        |
| 3.3.5. Solubilidade proteica em 2% SDS      | 30        |
| 3.3.6. Perfil Colorimétrico                 | 30        |
| 3.3.7. Compostos fenólicos livres e ligados | 30        |
| 3.3.8. Perfil de isoflavonas livres         | 32        |
| 3.3.9. Análise Estatística                  | 32        |
| <b>4. Resultados e discussão</b>            | <b>34</b> |
| 4.1. Acidez e atividade da enzima lipase    | 34        |
| 4.2. Solubilidade proteica                  | 37        |
| 4.3. Perfil colorimétrico                   | 40        |
| 4.4. Perfil de compostos fenólicos          | 43        |
| 4.5. Perfil de isoflavonas                  | 54        |
| <b>5. Conclusão</b>                         | <b>60</b> |

**Referências.....62**

## 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 (32% a 45%) e lipídico (15 a 20%), e dessa forma era utilizada principalmente em países desenvolvidos, porém seu uso atual também permite a extração de óleo e consumo do grão e outros produtos pelos seres humanos. 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 (GOUVEIA, 2020).

Os grãos de soja vêm sendo estudados com relação à suas características físico-químicas, propriedades tecnológicas, compostos antioxidantes, e seus coprodutos, os quais possuem efeitos protetores a danos celulares, doenças cardiovasculares, envelhecimento acelerado, diabetes e câncer. Os compostos associados a estes benefícios para a saúde humana são os compostos fenólicos, presentes em altas concentrações principalmente em variedades de película pigmentado (CHOY et al., 2020).

Devido à natureza sazonal de sua produção, os grãos de soja devem ser colhidos durante o estágio de maturação comercial adequado e armazenados sob condições apropriadas para garantir a qualidade e evitar uma deterioração significativa. O período de armazenamento da soja é variável, podendo os grãos serem comercializados imediatamente após a colheita ou aguardarem por um período prolongado antes do processamento. Diversos aspectos são cruciais na fase pós-colheita, tais como a umidade dos grãos, sua integridade inicial, o tempo de armazenamento, a temperatura, a umidade relativa do ar, e outras condições que podem impactar as propriedades tecnológicas e químicas dos grãos. (ZIEGLER; PARAGINSKI; FERREIRA, 2021).

A avaliação da qualidade dos grãos de soja é fundamental e envolve uma análise das propriedades intrínsecas e extrínsecas, incluindo características físico-químicas. Estudos que investigam a qualidade desses grãos após o armazenamento e a colheita são cruciais, pois simulam as diversas condições climáticas encontradas em sistemas de armazenamento, como silos e prateleiras, que diferem do armazenamento convencional. Por exemplo, a exposição à luminosidade durante o armazenamento pode desencadear reações foto-oxidativas. Em países asiáticos, variedades de soja pigmentada marrom e preta são consumidas devido a razões

culturais e devido aos compostos bioativos, se destaca como um alimento funcional que promove a saúde cardiovascular, cognitiva, óssea e geral, prevenindo doenças crônicas e contribuindo para o bem-estar (CHEN et al., 2023). Estes grãos de película pigmentada são frequentemente armazenados em embalagens transparentes em prateleiras, o que pode expô-las a fatores abióticos, como a luz (LIU et al., 2017).

Durante o armazenamento, a qualidade dos grãos pode ser mantida, mas não aprimorada. Nos últimos anos, estudos têm investigado o efeito do armazenamento em diferentes condições sobre os compostos bioativos dos grãos, revelando a degradação dessas moléculas cruciais para a saúde humana, como os fenólicos, especialmente em variedades com alta concentração desses compostos. Além disso, considerando a alta concentração lipídica e proteica desses grãos, suas propriedades relacionadas à acidez do óleo e solubilidade proteica também são parâmetros importantes na avaliação da qualidade do produto (VERFAILLIE et al., 2023). Contudo, não foram encontrados estudos que avaliassem o efeito do armazenamento de longo prazo com e sem incidência luminosa de grãos de soja com a película pigmentada amarela, marrom e preta.

Dessa forma, o presente trabalho avalia efeitos do armazenamento a longo prazo de genótipos de soja pigmentados sob a incidência luminosa sobre propriedades tecnológicas, perfil de compostos fenólicos e interconversão de isoflavonas.

## **1.1. Objetivos**

### **1.1.1. Objetivo geral**

Avaliar efeitos do armazenamento de grãos de soja pigmentados amarelos, marrons e pretos com e sem luminosidade nas propriedades tecnológicas e compostos bioativos.

### **1.1.2. Objetivos específicos**

Observar o impacto do armazenamento de soja pigmentada com incidência luminosa sobre a acidez lipídica.

Avaliar o efeito do armazenamento de soja pigmentada com incidência luminosa sobre a solubilidade proteica.

Verificar as consequências do armazenamento com incidência luminosa sobre o perfil colorimétrico.

Analisar o efeito do armazenamento a longo prazo com incidência luminosa sobre os compostos fenólicos livres e ligados de soja pigmentada.

## 2. Revisão Bibliográfica

### 2.1. Produção e consumo de soja

A soja (*Glycine max* [L.] Merril) é uma importante *commodity* do agronegócio mundial, representando uma das principais atividades agrícolas desempenhadas no Brasil, devido a seu amplo destino de uso. O Brasil é o maior produtor de soja (Figuras 1 e 2) com produção estimada em mais de 145 milhões de toneladas do produto no ano safra 2022/2023 (CONAB, 2023).

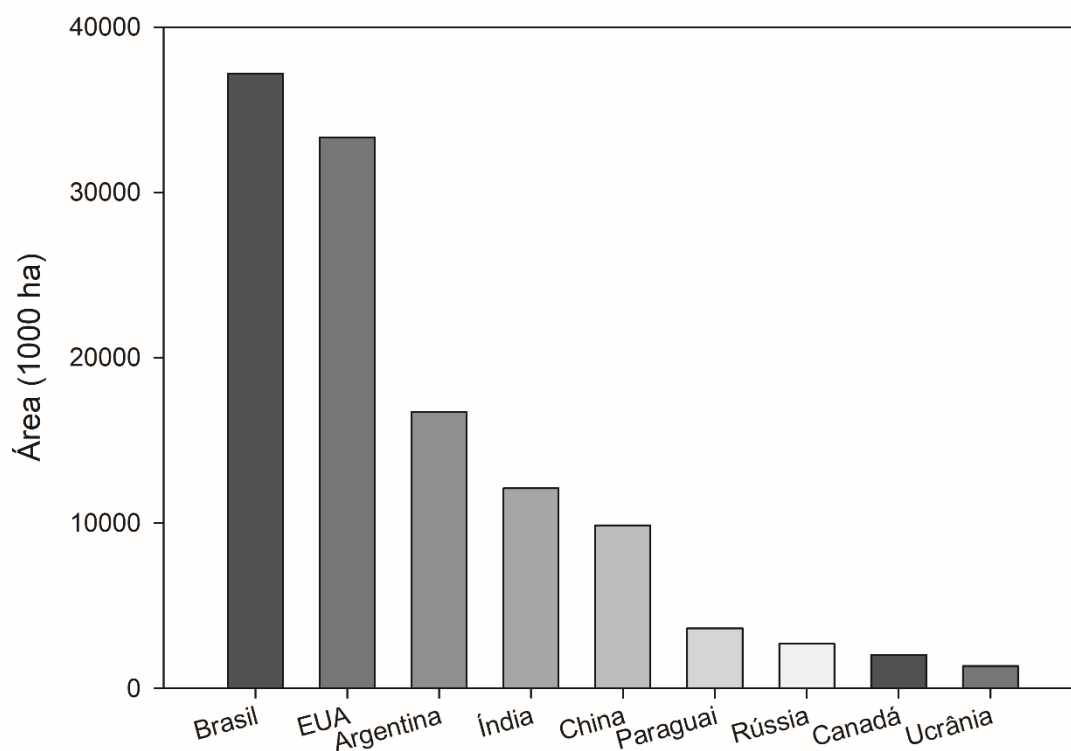


Figura 1 - Maiores produtores mundiais de soja, em área total

Fonte: Adaptado de FAO (2020)

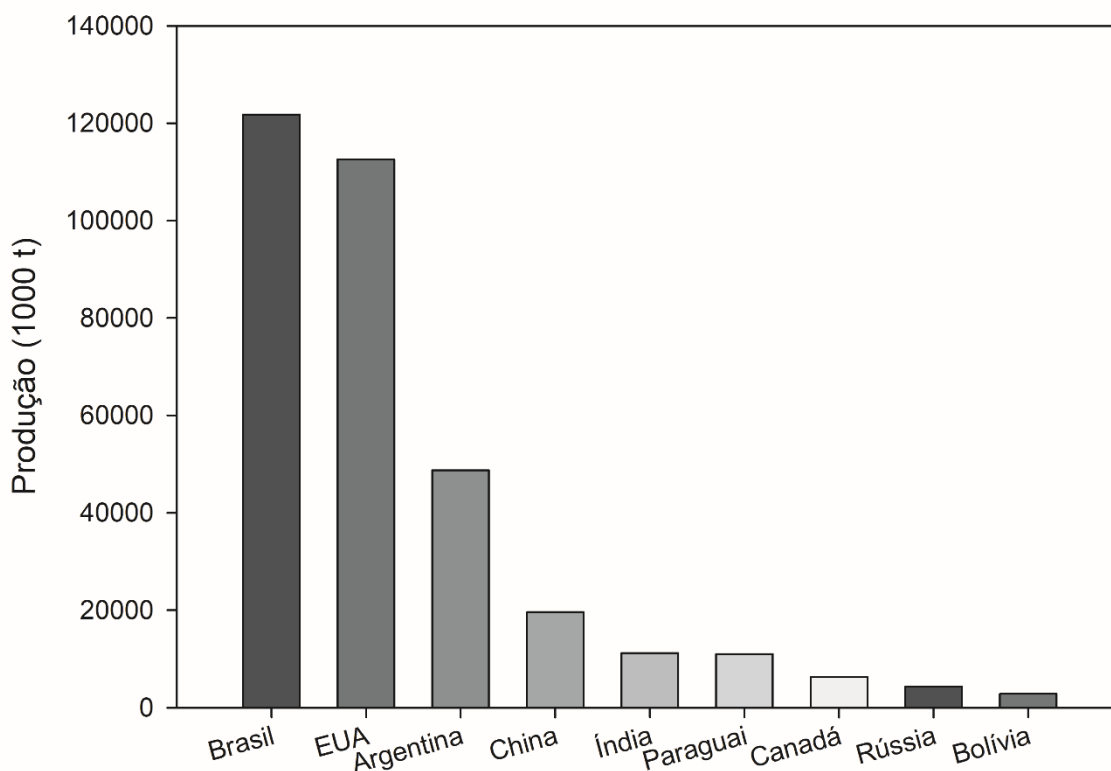


Figura 2 - Maiores produtores mundiais de soja, em toneladas  
Fonte: Adaptado de (FAO, 2020)

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. Ao longo dos últimos 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, 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 (GOUVEIA, 2020).

A produtividade e qualidade (propriedades físico-químicas) dos grãos de soja ocorrem em função do genótipo, ambiente e o manejo adotado antes, durante e após a colheita. No entanto, o quanto que cada componente individualmente afeta estas propriedades ainda não está bem estabelecido na literatura (RAMOS et al., 2021a).

## 2.2. Composição química de grãos de soja

A soja é uma das culturas mais valiosas do mundo, não apenas como alimento básico na maioria dos países asiáticos, sendo boa fonte de proteína (32 a 45%) (HESS et al., 2015; RAMOS et al., 2021a) e lipídica (15 a 20%) (ANWAR et al., 2016; MOUNTS; LIST; HEAKIN, 1979; RAMOS et al., 2021b; SONG et al., 2016).

Além de servir como dieta básica para seres humanos como isolados ou concentrados proteicos e óleo de soja, este grão é amplamente utilizado para ração animal e seu uso na indústria química, farmacêutica, construção civil e biodiesel tem aumentado ao longo dos últimos anos (JALILI et al., 2019; JURITSCH; MOREAU, 2018; NACHVAK et al., 2019). Seu amplo uso se deve também aos compostos do metabolismo especializado de plantas, como ácidos fenólicos e isoflavonas. Essa variação de composição ocorre em razão de fatores bióticos e abióticos, como por exemplo o genótipo dos grãos como também das condições de pós-colheita, respectivamente (ANWAR et al., 2016; RAMOS et al., 2021b; SONG et al., 2016).

A proteína de armazenamento de soja é depositada em organelas celulares chamadas de corpos proteicos. Nutricionalmente, as proteínas de soja são compostas por dezoito aminoácidos, incluindo todos os nove aminoácidos essenciais. Além disso, as proteínas de soja normalmente são deficientes em aminoácidos sulfurosos, como a cisteína e metionina. Porém, diferentemente de outros cereais, o teor de lisina é bem elevado quando comparado a outros grãos da família *Poaceae* (ADELEYE et al., 2020; ZAREIE; TABATABAEI YAZDI; MORTAZAVI, 2020).

A soja contém dois tipos principais de proteínas de reserva, em organelas conhecidas como corpos proteicos. Essas proteínas são a  $\beta$ -conglucina e a glicina, que representam 65 a 89% do total de proteínas da semente, e são classificadas como proteínas globulinas e solúveis em solução salina (MIN et al., 2017; NISHINARI et al., 2014; TIAN et al., 2018). Além disso, a soja contém outras proteínas como lectinas, inibidores de tripsina e lipoxigenases (AVILÉS-GAXIOLA et al., 2018; VERFAILLIE et al., 2023). A glicina (também chamada de globulina 11S) é a maior fração única da proteína total da soja (25 a 35%). A glicina tem um alto peso molecular (350 kDa) e consiste em seis subunidades ácidas e seis básicas dispostas em uma estrutura hexâmera. As subunidades são mantidas juntas por ligações dissulfeto (Figura 3). As propriedades desta proteína são baixa viscosidade e alta temperatura estabilidade.

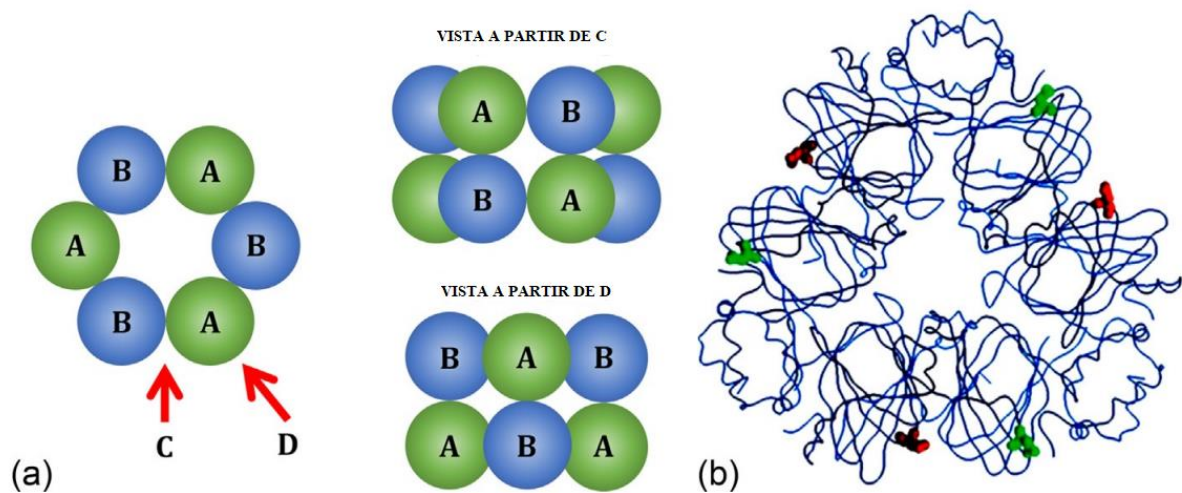


Figura 3 - Ilustração esquemática da molécula de glicinina na forma 11S nativa que consiste em seis polipeptídeos ácidos (A) e básicos (B), com cada subunidade AB ligada por uma ligação dissulfeto; (b) ilustração para soja 7S globulina  $\alpha'$   
Adaptado de Tang (2019)

A  $\beta$ -conglycinina (também chamada de Globulina 7S) é uma proteína trímica com cerca de metade do tamanho molecular da glicinina (175 kDa). As três subunidades são imunologicamente distintas, mas podem variar de acordo com a variedade da soja. Todos os três tipos de subunidades são glicoproteínas com 4-5% de carboidratos. As propriedades da  $\beta$ -conglycinina são alta viscosidade e baixa estabilidade térmica.

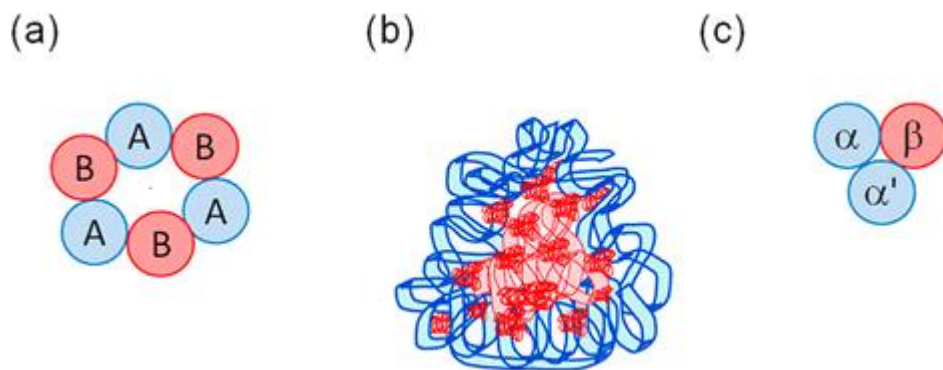


Figura 4 - Representação esquemática da estrutura da glicinina 11S (a) e  $\beta$ -conglycinina 7S (c). (b) Ilustração esquemática da distribuição de resíduos hidrofóbicos em glicinina de soja e  $\beta$ -conglycinina é mostrado em (b). A: Polipeptídeos ácidos; B: Polipeptídeos básicos;  $\alpha$ ,  $\alpha'$ : Polipeptídeos hidrofílicos;  $\beta$ : Polipeptídeos hidrofóbicos. Fonte: Adaptado de Salas et al. (2013).

Devido à composição e estruturas diferentes, essas globulinas de soja têm efeitos compensatórios nas propriedades nutricionais e funcionais dos ingredientes de proteína de soja (JAMES; YANG, 2016). Os principais produtos ou ingredientes a partir da proteína de soja são farinha de soja, concentrados de soja e isolados de

proteína de soja, que são diferenciados principalmente pelo aumento do teor mínimo de proteína, respectivamente (VERFAILLIE et al., 2023). A maioria desses ingredientes é produzida na forma de pó seco ou granulado. As características do produto são definidas pelas aplicações alimentícias direcionadas.

As principais propriedades que podem ser otimizadas para um determinado produto são a capacidade de retenção de água e gelificação, emulsificação e ligação com lipídios, dispersão e molhabilidade, ou baixa viscosidade (DUQUE-ESTRADA et al., 2020; NISHINARI et al., 2014; THRANE et al., 2017). A farinha de soja, concentrados e isolados proteicos também são convertidos em produtos com aparências e texturas definidas por meio de a utilização de uma extrusora de rosca simples ou dupla. Estes podem ser descritos comercialmente como farinha de soja texturizada, concentrado ou isolado de proteína de soja texturizada, e outros produtos alimentares como *nuggets* e *chips* que possuem como ingrediente proteína de soja (BAI et al., 2023; HAN; YU; WANG, 2018; LI et al., 2019; SILVA et al., 2018; TANG, 2019a; YANG et al., 2017).

A soja recém-colhida apresenta solubilidade proteica ao redor de 90% sendo indicadas para utilização em diversos alimentos como sopas, macarrões, proteínas texturizadas, bebidas e suplementos alimentícios. Estas aplicações se devem a essas propriedades físicas e químicas supracitadas, na qual a solubilidade das proteínas de soja é uma das principais características na destinação à produção destes alimentos. Apesar de não haver redução do teor de proteína bruta total dos grãos de soja durante o armazenamento por 12 meses em condições de 12 e 16% de umidade a 15 e 25 °C, a solubilidade proteica é reduzida, principalmente em 16% de umidade a 15 e 25 °C, demonstrando a importância da redução da umidade na conservação das propriedades desejáveis pela indústria (ZIEGLER et al., 2016a).

A soja é uma das principais oleaginosas produzidas no mundo e uma das principais fontes de óleo vegetal para consumo humano. O óleo de soja é composto por cinco principais ácidos graxos, incluindo o ácido palmítico (16:0), ácido esteárico (18:0), ácido oleico (18:1), ácido linoleico (18:2) e ácido linolênico (18:3), que representa aproximadamente concentrações de 10%, 4%, 18%, 55% e 13%, respectivamente. Portanto, a maior concentração de ácidos graxos presente no óleo de soja são insaturados, que possuem características desejáveis para a saúde humana. A qualidade do óleo de soja depende da composição destes ácidos graxos, podendo afetar o valor nutricional, sabor e estabilidade. Estes ácidos graxos são

armazenados no grão na forma de triacilgliceróis, localizados em organelas celulares chamadas de oleossomos (corpos lipídicos). Estes corpos lipídicos, além de armazenarem os triacilgliceróis, possuem uma monocamada fosfolipídios e interações com proteínas ancoradas em sua superfície, conforme ilustrado na figura 5.

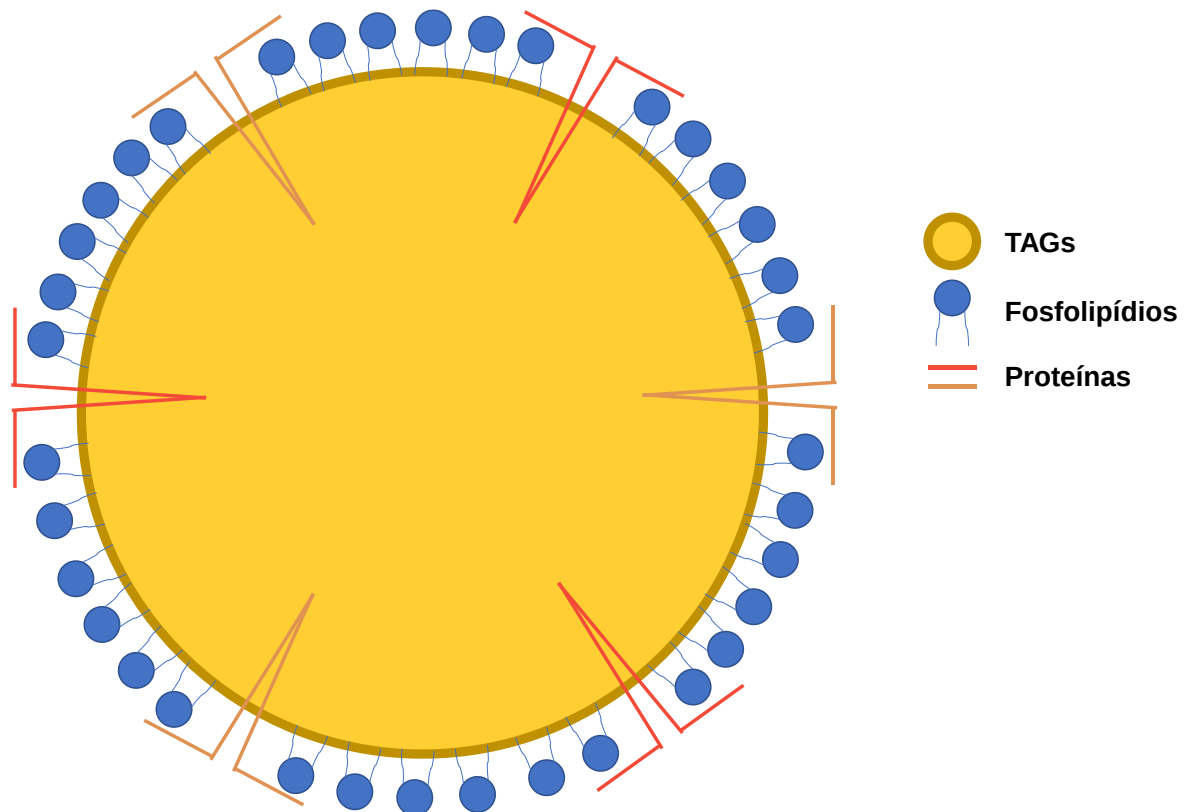


Figura 5 - Ilustração de estrutura de corpos lipídicos (oleossomo)

Os ácidos graxos participam do metabolismo sendo liberados a partir da hidrólise do triacilglicerol, através de rotas catabólicas para fornecer energia e esqueletos de carbono em processos relacionados à germinação. A mobilização do triacilglicerol envolve consecutivas rotas em vários compartimentos celulares. A hidrólise ocorre via ação de enzimas lipases que quebram os triacilgliceróis em ácidos graxos e glicerol, e estes ácidos graxos passam para outra organela, chamada glioxissomo, onde ocorre a  $\beta$ -oxidação e o ciclo do glioxilato (BUCHANAN; GURISSEM; JONES, 2015). Este processo converte os ácidos graxos em acetil-CoA, que é subsequentemente condensada em um açúcar de quatro carbonos via ciclo do glioxilato. Posteriormente, são transportados à mitocôndria, que são

convertidos a malato e transportados até o citosol para a gliconeogênese, ou utilizado como substrato para a respiração.

O processo de respiração ocorre nos grãos mesmo após a colheita, e a taxa respiratória varia conforme as condições do próprio grão e do armazenamento (RAMOS et al., 2021a; ZIEGLER et al., 2016b). No entanto, a ação endógena ou exógena da enzima lipase que hidrolisa a ligação éster entre o glicerol e ácido graxo durante o armazenamento de soja promove efeitos adversos na qualidade do óleo bruto e no óleo refinado. Os ácidos graxos livres causam o aumento da acidez ao óleo, conforme verificado em estudo desenvolvido por Ziegler et al. (2016b) que armazenaram soja por 12 meses em diferentes condições de temperatura (15 e 25 °C) e umidade (12 e 16%) que relataram aumento da acidez e dos coeficientes de extinção específico. Neste estudo, os autores atribuíram a ação de enzimas lipases e fosfolipases endógenas e exógenas. Outros processos metabólicos relacionados à degradação de lipídios podem ocorrer, principalmente durante o armazenamento devido a outros fatores relacionado à processos de degradação enzimáticos e não enzimáticos. A foto oxidação, por exemplo, se caracteriza por ser um processo não enzimático que acelera a oxidação de lipídios, bem como outras moléculas, como compostos fenólicos. Sendo assim, a incidência direta de luz, tanto no armazenamento de grãos a granel, como em prateleira pode alterar as propriedades relacionadas à qualidade do óleo de soja, sendo um dos processos que podem acelerar processos metabólicos.

Os carboidratos presentes nos grãos de soja são componentes encontrados em menores concentrações, quando comparado ao teor de proteína e óleo do grão. Os principais carboidratos presentes no grão são a sacarose, glicose frutose, rafinose e estaquiose. Apesar de que aproximadamente 33% da soja (grão e película) ser constituído de carboidratos, apenas 16,6% são considerados como carboidrato solúvel (HOU et al., 2009). A rafinose e estaquiose presente em grãos de soja e outros da família *Fabaceae* são associados à difícil digestão humana e animal. A rafinose pode ser hidrolisada em sacarose e galactose pela enzima  $\alpha$ -galactosidase. Como os humanos não possuem essa enzima no intestino delgado para quebrar o trissacarídeo, ele passa sem ser digerido e no intestino grosso é utilizado por bactérias da flora intestinal que realizam sua decomposição (WANG et al., 2022; WIJEWARDANA; REDDY; BELLALLOUI, 2019; ZHU et al., 2020).

Além destas macromoléculas supracitadas, a soja ainda possui outros componentes em menores concentrações como minerais e outros compostos derivados do metabolismo especializado de plantas. O metabolismo especializado da soja é explorado devido aos benefícios à saúde humana. Os ácidos fenólicos, como ácido vanílico, ácido cafeico e ácido ferúlico, e as isoformas glicosiladas de isoflavonas, como genisteína, daidzeína e gliciteína (Figura 6) , são conhecidos por seu potencial antioxidante, anti-inflamatório e anticarcinogênico (JALILI et al., 2019; LIAO et al., 2022; WIDOWATI et al., 2022; XU; DU; XU, 2015; YU; PARK; KIM, 2022).

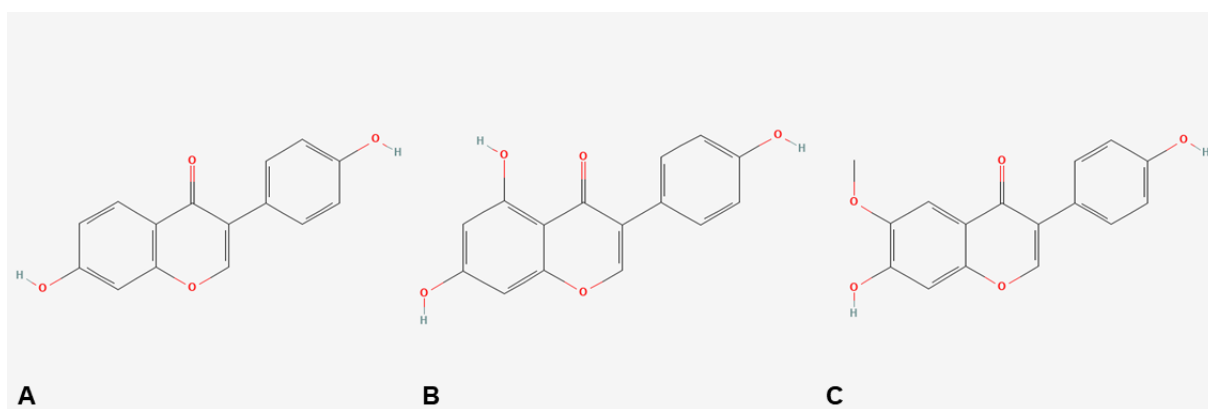


Figura 6 - Ilustração esquemática de moléculas de isoflavonas glicosiladas daidzeína (A), genisteína (B) e gliciteína (C).

Adaptado de PUBCHEM (2024)

O grupo de moléculas conhecido como compostos fenólicos podem variar conforme o genótipo e condições de pré e pós-colheita (ALGHAMDI et al., 2018; FERREIRA et al., 2019; RAMOS et al., 2021a; ZHANG et al., 2018; ZIEGLER et al., 2017).

O acúmulo destas substâncias do metabolismo especializado pode ser verificado em genótipos de soja com a película pigmentada na coloração preta, em razão do acúmulo de antocianinas nesta região. Este material, por possuir altas concentrações deste composto (até 0,05% da massa seca), durante muito tempo foi considerado um produto medicinal, sendo introduzido como produto alimentício nas últimas décadas, principalmente em produtos fermentados. (CAO et al., 2019; HSIAO; HSIEH, 2018; JATI, 2020).

### 2.3. Soja pigmentada

A soja preta e marrom, também conhecida como soja pigmentada, se distingue da soja convencional por sua cor escura, proporcionada por pigmentos antocianinas e flavonoides na película (testa) (Figura 7) (XU & CHANG, 2022). Essa característica singular confere à soja pigmentada propriedades nutricionais e funcionais únicas, despertando o interesse da comunidade científica e da indústria alimentícia.

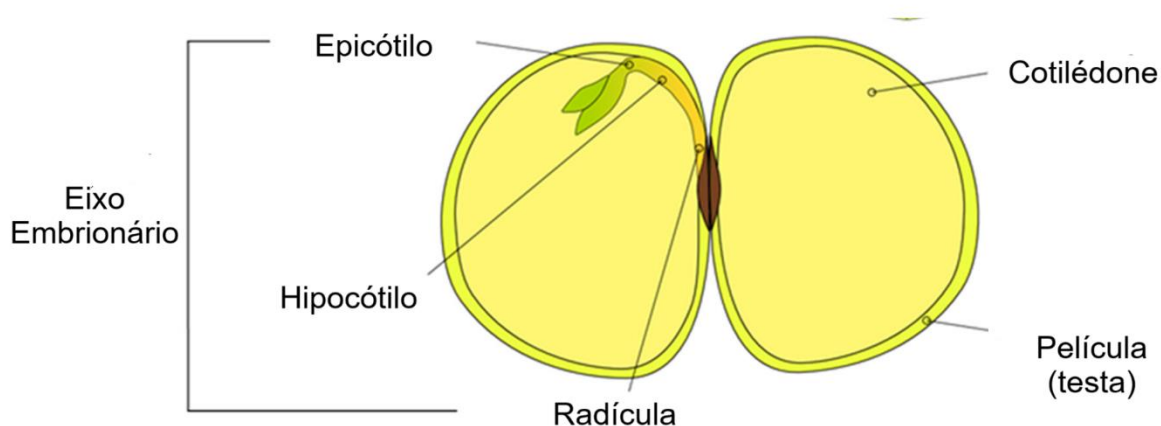


Figura 7 - Ilustração esquemática da estrutura morfológica de grãos de soja Adaptado de Medic, Atkinson e Hurburgh (2014).

A cor da casca da soja pigmentada é resultado da expressão de genes específicos que controlam a produção de antocianinas e flavonoides. Estes compostos são sintetizados na epiderme da testa durante o desenvolvimento do grão e se acumulam em vacúolos celulares. A quantidade e tipo de pigmentos presentes definem a cor final da casca, que pode variar de preto a marrom (ZHANG, LI & BETA, 2021).

A principal diferença da soja pigmentada em relação à convencional reside em sua composição química. A casca pigmentada concentra a maior parte dos compostos bioativos, como antocianinas, flavonoides, ácidos fenólicos e taninos (HE & CHEN, 2022). Estes compostos conferem à soja pigmentada propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias, anticâncer e cardioprotetoras, entre outras (WANG & DAUN, 2021).

As propriedades únicas da soja pigmentada abrem um leque de oportunidades para sua aplicação em diferentes áreas, como na indústria de alimentos, no Desenvolvimento de produtos funcionais com propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias, como iogurtes, bebidas, pães e *snacks*, além do enriquecimento de alimentos com nutrientes como proteínas, fibras e minerais. Da mesma forma, grãos pigmentados podem ser utilizados na indústria farmacêutica e

cosmética, no desenvolvimento de nutracêuticos e suplementos alimentares com propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias e anticâncer; e no desenvolvimento de produtos anti-envelhecimento e protetores solares com propriedades antioxidantes (LIU, YAO & WANG, 2021).

## **2.4. Armazenamento**

A produção mundial de grãos evolui a cada ano, exigindo um aumento no nível de tecnificação em todo o processo produtivo, desde a pré-semeadura até a colheita. Os grãos podem ser colhidos quando atingem a maturação fisiológica, mas esse processo é restrito, pois não permite a trilha mecânica devido ao alto teor de umidade dos grãos favorecer danos mecânicos, como amassamento. Assim, os grãos permanecem nas lavouras até atingirem um teor de umidade adequado para permitir a trilha mecânica, desta forma, os grãos permanecem expostos às intempéries, como chuvas, variações de temperatura e ataques de pragas, que podem alterar sua qualidade.

A redução do tempo entre a maturação e a colheita, que deve ser realizada assim que as lavouras atingirem o teor de umidade adequado para a colheita mecanizada, deve ser visualizada como uma forma de conservação da qualidade do produto. Dentre as perdas observadas durante o armazenamento dos grãos, as perdas quantitativas são representadas pela perda de massa e teor de umidade dos grãos, causadas pelo processo de respiração e pelo equilíbrio higroscópico, respectivamente.

Em termos de perdas qualitativas, há perda de sabor, odor, valor nutricional, metabólitos, parâmetros fisiológicos (germinação e vigor) e aumento do risco de micotoxinas. Estes processos naturalmente reduzem o valor de mercado do produto, principalmente àqueles destinado ao consumo humano. Além disso, as ocorrências de fatores bióticos (insetos, ácaros e fungos) e abióticos (temperatura, vento, pluviosidade e outros eventos climáticos) são determinantes no processo de obtenção de grãos com alta qualidade na lavoura (ALVES et al., 2017; ESFAHANI et al., 2012; FAYE et al., 2018; MEENA; MEENA; YADAV, 2016; MEIER et al., 2020; REGITANO NETO et al., 2016; TAMAGNO et al., 2020).

Os grãos, quando recebidos nas unidades armazenadoras podem chegar secos e limpos, secos e sujos, ou úmidos e sujos. Assim, etapas adequadas de pós-colheita são necessárias para manter a qualidade dos grãos, devendo ser adotadas

diversas medidas nas unidades de armazenamento e processamento de grãos, antes do armazenamento.

A avaliação da qualidade dos grãos no momento do recebimento ou expedição das unidades armazenadoras é fundamental para determinar seu valor de mercado e para decidir quais atividades de manutenção pós-colheita, como pré-limpeza, limpeza e secagem, deverão ser realizadas. Assim, no momento do recebimento nas unidades armazenadoras, é necessário realizar procedimentos corretos de amostragem, homogeneização e avaliação dos grãos, além de coletar informações como o genótipo, local de produção, sistema de coleta e época de colheita, características fundamentais para a tomada de decisão com relação aos processos a serem executados com o lote recebido. A secagem é uma etapa fundamental na conservação de todos os grãos, e é caracterizado como o processo de retirada de água dos grãos a níveis que permitam o armazenamento por longos períodos. A umidade é o principal fator que altera as propriedades dos grãos e torna o ambiente favorável ao desenvolvimento de insetos e microrganismos (POHNDORF et al., 2017; ROBERTSON; CHAPMAN; WILSON, 1984; ZIEGLER et al., 2016b, 2017).

A capacidade de preservar a qualidade, a sanidade e o valor nutricional dos grãos durante o período de armazenamento não depende apenas das condições de produção e colheita, mas também do armazenamento e manutenção de condições adequadas de armazenamento. Os grãos, apesar das características morfológicas de resistência e robustez próprias de cada espécie, estão sujeitos ao ataque de insetos, ácaros, microrganismos, roedores, aves e outros animais. Danos mecânicos, alterações bioquímicas e efeito de produtos químicos não enzimáticos também são observados, mesmo antes do armazenamento dos grãos.

Esse conjunto de fatores indesejáveis causa perdas quantitativas e/ou qualitativas, devido a alterações na composição química, redução do valor nutritivo, desenvolvimento de substâncias tóxicas nos grãos, consumo das reservas energéticas e diminuição do seu valor comercial. Consequentemente, esses fatores acabam comprometendo o uso dos grãos para consumo e até mesmo para industrialização, caso não sejam adotadas técnicas adequadas e métodos eficientes de conservação (DENG et al., 2022; LAVANYA; SAIKIRAN; VENKATACHALAPATHY, 2019; MÜLLER et al., 2022; YANG et al., 2022).

As perdas quantitativas são as mais facilmente observadas, refletindo o metabolismo dos grãos e/ou organismos associados, resultando na redução do teor de matéria seca dos grãos (RAMOS et al., 2021b). As perdas qualitativas, por outro lado, devem-se principalmente a reações químicas e enzimáticas, presença de corpos estranhos, impurezas e ataque microbiano. Isso resulta em perdas de valor nutricional, germinativo e comercial, com possibilidade de formação de substâncias tóxicas nos grãos armazenados, como por exemplo micotoxinas, caso o processo de armazenamento não seja conduzido adequadamente.

Os sistemas de armazenamento são agrupados de acordo com a aplicação prática, em não hermético (convencional), semi-hermético ou a granel (silos horizontais, silos verticais e armazéns), hermético, refrigerado e atmosfera modificada (ZIEGLER; PARAGINSKI; FERREIRA, 2021). Paralelamente ao armazenamento de grãos em larga escala, após o produto ser expedido, o tempo pelo qual o produto conserva suas características é de extrema importância. Tempo de prateleira é o termo utilizado no comércio para designar o tempo de vida útil de um produto perecível. Pode ser, por exemplo, o período no qual o alimento apresenta e conserva as características organolépticas que o caracterizam. Desta forma, as condições de armazenamento em larga escala ou no comércio propriamente dito afetam a qualidade do produto.

Os principais fatores que afetam o produto são as propriedades intrínsecas do próprio grão, teor de umidade, temperatura de armazenamento, tempo de armazenamento, percentual de matéria estranha e impurezas, condições sanitárias dos grãos, incidência de pragas e microrganismos bem como o adequado uso e manutenção dos locais onde o produto é armazenado (FERREIRA et al., 2019; HOFMAN; HELLEVANG, 2015; LANG et al., 2018; RAMOS et al., 2021c; YOUSIF, 2014).

### **3. Metodologia**

#### **3.1. Material**

Foram utilizados três genótipos de grãos com a película pigmentada: BRSMG 790A (Soja Amarela), BRSMG 800A (Soja Marrom) e BRSMG 715A (Soja Preta) (Figura 8). O material foi fornecido pela Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG), sendo produzido no município de Sete Lagoas-MG no ano-

safrá 2019/20. A colheita foi realizada mecanicamente e em seguida os grãos foram transportados para o Laboratório de Pós Colheita, Industrialização e Qualidade de Grãos, no Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial - DCTA, da Faculdade de Agronomia “Eliseu Maciel” - FAEM, da Universidade Federal de Pelotas – UFPEL, sendo submetidos às operações de limpeza, secagem e armazenamento.



Figura 8 - Soja com película pigmentada amarela, marrom e preta

Os materiais foram secos em secador experimental de leito fixo, com vazão de ar de  $0,5 \text{ m.s}^{-1}$ , até atingir teor de água de  $13,00 \pm 0,20\%$ . Em todos os tratamentos, o teor de umidade foi monitorado pela diferença de massa, seguindo a Eq. 1, onde  $m_f$  é massa final da amostra (g),  $m_i$  é a massa inicial da amostra (g),  $u_i$  é a umidade inicial ( $\text{g g}^{-1}$ ), e  $u_f$  a umidade final ( $\text{g g}^{-1}$ ).

$$m_f = m_i \times \left( \frac{100 - u_i}{100 - u_f} \right) \quad \text{Eq. 1}$$

### 3.2. Delineamento experimental

O delineamento experimental do estudo dos efeitos do armazenamento e da luminosidade em propriedades tecnológicas e compostos bioativos de soja pigmenta da está representado na tabela 1.

Tabela 1 - Delineamento experimental

| Variáveis independentes |              |          |              | Variáveis dependentes                    |
|-------------------------|--------------|----------|--------------|------------------------------------------|
| Tratamento              | Genótipo     | Tempo    | Luminosidade |                                          |
| 1                       |              | Inicial  |              | Teor de acidez                           |
|                         |              | 6 meses  | Com Luz      | Atividade de Lipase                      |
| ...                     | Soja Amarela | 12 meses | Sem Luz      | Perfil Colorimétrico                     |
|                         | Soja Marrom  |          |              | Solubilidade proteica em água            |
|                         | Soja Preta   |          |              | Solubilidade proteica em SDS             |
|                         |              |          |              | Compostos fenólicos individuais livres   |
|                         |              |          |              | Compostos fenólicos individuais Ligados  |
| 15                      |              |          |              | Perfil de isoflavonas individuais livres |

### 3.3. Métodos

#### 3.3.1. Preparo das amostras

As amostras de grãos inteiros soja, livres de defeitos, matéria estranha e impurezas foram armazenadas em sacos de polietileno transparentes de baixa densidade com 15 $\mu$  (micras) de espessura de filme plástico, dimensões de 18x30cm, vedados com máquina Webomatic®. O armazenamento foi realizado em triplicata, ou seja, 3 pacotes de 1kg para cada tratamento.

Os grãos, com umidades de 13%, foram armazenados em sistema semi-hermético, em câmaras com controle de temperatura, sendo armazenados com 24 °C, com variações de  $\pm 1$  °C. Em uma das câmaras de armazenamento, os grãos foram armazenados sob a incidência de luz, através do uso de 4 lâmpadas (Lâmpada Fluorescente Tubular T8 6500 K G13 36 W TLD-36W-54 – PHILIPS), com comprimento de onda que varia de 380 a 780 nm. As avaliações foram realizadas em triplicata no início do armazenamento (inicial), aos 6 e aos 12 meses (Figura 9). Para cada tratamento foi coletada uma amostra de cada pacote, que posteriormente foi homogeneizada e analisada em triplicata para cada variável dependente, conservadas em ultrafreezer a -40 C e descongeladas à temperatura ambiente, para realização das análises. Para a realização das análises que precisavam ser realizadas com o material moído, se utilizou o moinho laboratorial Perten 3100 (Perten Instruments, Huddinge, Sweden) para redução das partículas para 35 mesh.



Figura 9 - Soja pigmentada amarela, marrom e preta, armazenada por 12 meses com e sem incidência luminosa

### 3.3.2. Teor de acidez

A acidez foi determinada de acordo com o descrito na AACC método 02-01A (AACC, 1995). A acidez foi expressa em mg de hidróxido de sódio necessária para neutralizar os ácidos em 100 g de amostra, utilizando solução de fenolftaleína como indicador.

### 3.3.3. Atividade da enzima lipase

A atividade da lipase em grãos de soja foi determinada de acordo com a metodologia proposta por Kaur; Ramamurthy; Kothari, (1993), preparando-se o substrato homogeneizando 2 g de álcool polivinílico, 40 mg de deoxicolato de sódio e 50 mL de azeite em 100 mL de tampão fosfato  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ , pH 7,4 (0,5:1; v/v) durante 2,5 min em agitador magnético. Em 5 mL de substrato, 2 g de amostra foram dispersos e incubados a  $38^\circ\text{C}$  por 24 h. A reação foi interrompida pela adição de 20 mL de álcool etílico neutralizado e solução de acetona (1:1; v/v). A quantidade de ácidos graxos livres foi estimada por titulação com  $0,1 \text{ mol. L}^{-1}$  de KOH a pH 8,3 e

atividade da lipase expressa em porcentagem de lipólise (%), com base no índice de saponificação do substrato.

#### **3.3.4. Solubilidade proteica em água**

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

#### **3.3.5. Solubilidade proteica em 2% SDS**

O teor de proteína solúvel em 2% SDS foi determinado de acordo com o método descrito por Buggenhout, Brijs e Delcour (2013), com modificações. A água destilada foi substituída por uma solução de dodecilsulfato de sódio a 2% (SDS) para extração. Foram pesados 10mg de farinha e adicionados 10 mL de tampão fosfato de sódio (0,05 mol.L<sup>-1</sup>, pH 6,8) contendo 2,0% (p/v) de dodecil sulfato de sódio (SDS). Posteriormente a solução foi homogeneizada durante 30 min e posteriormente coletados seus sobrenadantes para análise de proteínas pelo método de AACC 46-13 (AACC, 1995). Os resultados foram expressos em percentual (%).

#### **3.3.6. Perfil Colorimétrico**

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 (-). Para a análise de perfil colorimétrico, foram utilizados os grãos inteiros.

#### **3.3.7. Compostos fenólicos livres e ligados**

Os grãos de soja moída foram desengordurados com hexano por 8 horas usando um aparelho Soxhlet. A partir dos grãos de moídos e desengordurados (2,0 g) foi realizada uma extração com 80% metanol na proporção de 1:20 (p/v), duas

vezes. Para cada extração, a mistura foi mantida por 1 hora à temperatura ambiente em um agitador orbital (Certomat Biotech International) a 150 rpm. Em seguida, amostras foram centrifugadas (Eppendorf 5430-R) a  $7.600 \times g$  por 15 min e os sobrenadantes obtidos de cada extração foram combinados e concentrados usando um evaporador rotativo (Heidolph, Laborota Modelo 4000, Kelheim, Baviera, Alemanha) a 35 °C. O extrato seco foi dissolvido em 25 mL de metanol 80% (DUEÑAS et al., 2012). /

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

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 3µm, Phenomonex, 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 0,2 mL.min<sup>-1</sup>. O volume de injeção foi de 10µL. 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, 8 L.min<sup>-1</sup>; pressão do gás de nebulização, 2 bar; colisão, RF, 150 vpp; tempo de transferência de 70µs, e armazenamento pré-pulso de 5µs. 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<sup>-1</sup>). 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 sirínico (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 µg.g<sup>-1</sup> para cada composto avaliado.

### **3.3.8. Perfil de isoflavonas livres**

Os extratos livres foram usados para análise HPLC-ESI-QToF-MS do isoflavonas, realizada no mesmo equipamento descrito anteriormente. Uma coluna de fase reversa (coluna analítica Shim-pack XR ODS, 2,0 mm × 75 mm × 2,2 µm de tamanho de partícula, Shimadzu, Japão) foi usado para a análise. A fase móvel foi um gradiente preparado a partir de 0,1% de ácido fórmico em água (componente A) e metanol (componente B). O programa de gradiente para o HPLC foi o seguinte: 0–1 min, 15%–15% B; 1–10 min 70% B; 10–12 min 70% B; 12–15 min 15% B, e a taxa de fluxo foi de 0,25 ml/min. O volume de injeção da amostra foi de 10 µL, e a temperatura da coluna era de 35°C. Espectros de massa em m/z faixa 50-1.200 foram obtidos usando ionização por *electrospray* no modo positivo. As condições espectrométricas de massa foram otimizadas como segue: temperatura do gás, 200 °C; vazão do gás de secagem, 9,0 L/min; pressão do gás do nebulizador, 2,0 bar; e potenciais capilares, 4.500 V. O eixo de massa foi calibrado usando formato de sódio 10 mM como um interno solução de calibração. Para análise quantitativa, uma curva de calibração para cada isoflavonas padrão (µmol/ml) foi construído. Os resultados foram expressos como µmol/g de peso seco (DW), como a média ± desvio padrão de quatro replicatas.

### **3.3.9. Análise Estatística**

O experimento foi realizado em triplicata, com exceção da análise de perfil colorimétrico que foi realizado 30 repetições por tratamento. Os resultados das três

determinações foram submetidos à análise de variância (ANOVA) com 95% de confiabilidade. Quando as variáveis independentes (genótipo, tempo de armazenamento e luminosidade) apresentaram efeitos significativos, a divisão em efeitos simples foi realizada. Efeitos simples foram observados pelo teste de Tukey com 95% de confiabilidade.

## 4. Resultados e discussão

### 4.1. Acidez e atividade da enzima lipase

A análise de variância mostrou efeitos significativos ( $p < 0,05$ ) de todas as variáveis estudadas para o teor de acidez e atividade da enzima lipase (APÊNDICE A). Somente na interação entre os três fatores para acidez não foi verificado diferença significativa ( $p < 0,05$ ). Foi observado um aumento do teor de acidez e da atividade da enzima lipase com o aumento do tempo de armazenamento e com a incidência luminosa (Tabela 2).

O teor de acidez da soja com película amarela foi o menor entre as cultivares, durante todo o armazenamento e independentemente da incidência luminosa. Apenas ao final do armazenamento, na condição com incidência luminosa, os genótipos não apresentaram diferença entre si. Foi possível observar que a acidez aumentou conforme maior tempo de armazenamento e incidência luminosa para todos os genótipos estudados, sendo verificado aumentos de 55,10%, 27,36% e 22,44% respectivamente para os genótipos de coloração amarela, marrom e preta, quando comparado o teor de acidez ao final do armazenamento com os valores iniciais.

Foi observado maior atividade da enzima lipase inicialmente na soja com película marrom entre os genótipos avaliados. Independentemente do tempo de armazenamento, foi observado aumento da atividade da enzima lipase em todos os genótipos, no entanto, os tratamentos armazenados com incidência luminosa apresentaram os maiores aumentos, de 85,95%, 128,10% e 68,00% respectivamente para os genótipos de coloração amarela, marrom e preta, quando comparado a atividade da enzima lipase ao final do armazenamento com os valores iniciais.

Estes resultados estão de acordo com o estudo relatado por Ziegler et al. (2016b) que avaliaram o efeito do armazenamento de soja por 12 meses com 12 e 16% de umidade a 15 e 25 °C. Os autores relataram aumento do teor de acidez em ao longo do armazenamento, possuindo maiores aumentos quando armazenado em temperaturas de 25 °C e umidade de 16%. Aumentos de acidez são devidos às ações de lipases e fosfolipases presentes nos próprios grãos ou produzidas pela microflora associada. Estas enzimas contribuem para a quebra das ligações ésteres dos triglicerídeos e para a oxidação de cadeias de carbono insaturadas nos ácidos

graxos. A oxidação dos lipídios por efeitos da luz pode agir de forma direta ou indireta sobre os ácidos graxos insaturados.

A atuação direta da luz pode promover a formação de radicais livres no processo de iniciação da autooxidação, porém o comprimento de onda inferior a 300 nm não reage com lipídios em condições normais de armazenagem. Entretanto, o efeito fotoquímico indireto da luz nos ácidos graxos ocorre com a participação de fotossensibilizadores (substâncias cromóforas), como pigmentos, que absorvem a luz visível próximo ao UV, acumulando energia e transferindo para o oxigênio do meio que passa para o estado reativo de singlete (BIANCHI et al., 2015; NEFF et al., 1993; WALALLAWITA et al., 2016). Ramos et al. (2021b) e Canizares et al. (2024) relataram que a atividade de lipase e teor de acidez de soja aumentam conforme a degradação celular, principalmente em razão do metabolismo do grão e microrganismos associados.

Os menores valores de atividade de lipase observados na soja pigmentada preta ao final do armazenamento, independentemente da incidência luminosa podem estar relacionados às propriedades morfológicas e químicas deste genótipo por possuir maiores concentrações de compostos fenólicos em seu tegumento, o que promoveria maiores condições de prevenção contra a degradação destes lipídios (JATI, 2020; LIU et al., 2017).

Tabela 2 - Acidez e atividade da lipase de diferentes genótipos de soja armazenados com e sem luz por 0, 6 e 12 meses

| Tempo de armazenamento                       | Inicial (0 meses) |                 | 6 meses         |                  | 12 meses        |                 |
|----------------------------------------------|-------------------|-----------------|-----------------|------------------|-----------------|-----------------|
| Genótipo                                     | Com luz           | Sem luz         | Com luz         | Sem luz          | Com luz         | Sem luz         |
| <i>Acidez (mg NaOH 100g<sup>-1</sup>)*</i>   |                   |                 |                 |                  |                 |                 |
| Soja Amarela                                 | 6.08 ± 0.01 bAβ   | 6.08 ± 0.01 bAγ | 8.13 ± 0.31 bAα | 6.67 ± 0.30 bBβ  | 9.43 ± 0.46 aAα | 7.80 ± 0.12 bBα |
| Soja Marrom                                  | 7.09 ± 0.32 aAβ   | 7.09 ± 0.32 aAβ | 8.84 ± 0.12 aAα | 8.13 ± 0.01 aBα  | 9.03 ± 0.14 aAα | 8.60 ± 0.19 aAα |
| Soja Preta                                   | 7.53 ± 0.28 aAβ   | 7.53 ± 0.28 aAβ | 8.82 ± 0.19 aAα | 8.17 ± 0.37 aAαβ | 9.22 ± 0.17 aAα | 8.75 ± 0.01 aBα |
| <i>Atividade da lipase (% de lipólise) *</i> |                   |                 |                 |                  |                 |                 |
| Soja Amarela                                 | 1.85 ± 0.00 cAγ   | 1.85 ± 0.00 cAβ | 2.69 ± 0.00 aAβ | 2.10 ± 0.11 aBα  | 3.44 ± 0.11 bAα | 2.18 ± 0.00 aBα |
| Soja Marrom                                  | 2.10 ± 0.11 aAβ   | 2.10 ± 0.11 aAα | 2.35 ± 0.00 aAβ | 1.93 ± 0.11 aBα  | 4.79 ± 0.11 aAα | 1.93 ± 0.11 aBα |
| Soja Preta                                   | 1.00 ± 0.00 bAγ   | 1.00 ± 0.00 bAγ | 1.34 ± 0.00 bAβ | 1.17 ± 0.00 bBβ  | 1.68 ± 0.00 cAα | 1.34 ± 0.00 bBα |

\*Letras minúsculas comparam os genótipos pelo teste de Tukey, letras maiúsculas comparam a iluminação pelo teste t e letras gregas comparam o tempo de armazenamento pelo teste de Tukey.

#### 4.2. Solubilidade proteica

A análise de variância mostrou efeitos significativos ( $p < 0,05$ ) de todas as variáveis estudadas para a solubilidade proteica em água e 2% SDS (Apêndice A). Somente na interação entre os três fatores para a solubilidade proteica em 2% SDS não foi verificada diferença significativa ( $p > 0,05$ ). Foi observado uma redução da solubilidade proteica em água e SDS com o aumento do tempo de armazenamento e com a incidência luminosa (Tabela 3).

No início do armazenamento, foi observado que a solubilidade proteica do genótipo de soja pigmentada amarela possuía os maiores valores. No entanto, ao final de armazenamento, a soja pigmentada preta foi a que apresentou os maiores valores de solubilidade proteica, independentemente de ter sido armazenada com ou sem luz. Também foi observado que a solubilidade proteica de todos os genótipos de soja diminuiu ao longo do armazenamento. A soja armazenada com incidência luminosa apresentou reduções de solubilidade proteica em água de 22,99%, 34,48% e 11,30% aos 6 meses de armazenamento e de 17,90%, 69,97% e 9,85% aos 12 meses de armazenamento, respectivamente, para soja pigmentada amarela, marrom e preta, quando comparado a soja armazenada sem luz. O mesmo comportamento pôde ser observado na solubilidade proteica em 2% de tampão SDS.

A maior solubilidade proteica em soja de pericarpo amarelo poderá se dar pelas interações com compostos apolares existentes nos grãos de pericarpo pigmentado, como alguns compostos fenólicos ou proteínas de membrana. A diminuição da solubilidade durante o armazenamento é resultado das alterações da desnaturação da proteína na estrutura da  $\beta$ -folha e do fortalecimento das pontes dissulfeto, conforme demonstrado pelas alterações na entalpia de desnaturação do concentrado de proteína obtido em estudo desenvolvido por Ziegler et al. (2018) que avaliaram os efeitos do armazenamento de soja por 12 meses com umidade de 12 e 15% sobre as propriedades funcionais e perfil de isoflavonas de concentrado proteico de soja. As modificações químicas e estruturais nas proteínas durante o armazenamento favorecem o processo de lignificação, principalmente pelo aumento dos sítios de ligação das proteínas com compostos fenólicos, conforme observado por Ferreira et al. (2017) em estudo de armazenamento de 12 meses de feijão preto com 14 e 17% de umidade a 11, 18, 25 e 32 °C. Buggenhout, Brijs e Delcour, (2013) relataram que a menor capacidade de extração de proteínas em tampão SDS pode

ser atribuída ao aumento da agregação de proteínas, sendo o SDS responsável por acessar principalmente ligações de hidrogênio e ligações hidrofóbicas. Diferentemente da solubilidade da farinha de grãos de soja em água, o SDS é um detergente que pode solubilizar compostos hidrófobos, através da formação de micelas, sendo importante para determinar a interação de compostos com a proteína, como lipídios e proteínas de membrana celular e pigmentos.

Esse fenômeno sugere que proteínas podem ser degradadas em pequenos peptídeos e aminoácidos devido às necessidades metabólicas dos grãos durante o armazenamento. Neste sentido, os compostos fenólicos, por possuírem ação de defesa para as estruturas do grão pode ter se complexado com estes peptídeos principalmente por ação da incidência luminosa, o que explica a solubilidade observada, principalmente ao final do armazenamento, quando comparados os genótipos de soja preta com a soja amarela e marrom. Em parte, este comportamento é explicado por Liu et al. (2017) que verificaram as diferenças de metabolismo e estabilidade durante o armazenamento de genótipos de soja de película claro e escuro, de 1 a 3 anos a 10 °C e umidade relativa do ar de 60%. Estes autores observaram que, os grãos de película de cor clara deterioraram-se mais facilmente (redução de solubilidade proteica e aumento de ácidos graxos livres), enquanto as de cor escura mantiveram maior viabilidade das sementes ao longo do armazenamento.

Os grãos de soja pigmentada marrom e preta apresentaram maior estabilidade durante o armazenamento devido uma possível dureza dos genótipos de coloração escura. Essa característica inclui tanto a estrutura física quanto os constituintes químicos, ou seja, múltiplas camadas duras e fenólicas no tegumento de cor escura, que efetivamente previnem danos externos, como a oxidação. Além disso, os produtos de oxidação lipídica, da mesma forma como espécies reativas de oxigênio, podem reagir com proteínas, promovendo oxidação lipídica, que promove modificação das cadeias laterais de aminoácidos e do esqueleto proteico, como a carbonilação, fragmentação ou ligação cruzada. Estas modificações podem promover modificações na estrutura e conformação das proteínas, alterando sua hidrofobicidade e perda de aminoácidos (DUQUE-ESTRADA et al., 2020).

Tabela 3 - Proteína solúvel em água e SDS de diferentes genótipos de soja armazenados com e sem luz por 0, 6 e 12 meses

| Tempo de armazenamento               | Inicial (0 meses) |                  | 6 meses          |                  | 12 meses         |                  |
|--------------------------------------|-------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| Genótipo                             | Com luz           | Sem luz          | Com luz          | Sem luz          | Com luz          | Sem luz          |
| <i>Proteína solúvel em água (%)*</i> |                   |                  |                  |                  |                  |                  |
| Soja Amarela                         | 67.80 ± 2.63 aAα  | 67.80 ± 2.63 aAα | 41.57 ± 2.09 bBβ | 53.98 ± 0.49 bAβ | 35.22 ± 1.08 bBγ | 42.90 ± 0.74 bAγ |
| Soja Marrom                          | 47.12 ± 0.86 cAα  | 47.12 ± 0.86 cAα | 21.28 ± 0.52 cBβ | 32.48 ± 0.19 cAβ | 6.86 ± 0.09 cBγ  | 22.84 ± 0.70 cAγ |
| Soja Preta                           | 62.42 ± 1.81 bAα  | 62.42 ± 1.81 bAα | 52.04 ± 2.73 aBβ | 58.67 ± 2.39 aAβ | 49.25 ± 2.75 aBγ | 54.63 ± 1.03 aAγ |
| <i>Proteína solúvel 2% SDS (%)*</i>  |                   |                  |                  |                  |                  |                  |
| Soja Amarela                         | 43.80 ± 1.64 aAα  | 43.80 ± 1.64 aAα | 30.92 ± 0.77 aBβ | 35.17 ± 2.26 bAβ | 22.11 ± 0.22 bBγ | 27.53 ± 1.01 bAγ |
| Soja Marrom                          | 30.07 ± 0.51 cAα  | 30.07 ± 0.51 cAα | 13.28 ± 0.19 cBβ | 19.56 ± 0.18 cAβ | 4.24 ± 0.16 cBγ  | 13.55 ± 0.24 cAγ |
| Soja Preta                           | 40.14 ± 1.22 bAα  | 40.14 ± 1.22 bAα | 33.25 ± 1.77 aBβ | 37.69 ± 1.64 aAβ | 31.54 ± 1.80 aBγ | 35.13 ± 0.69 aAγ |

\*Letras minúsculas comparam os genótipos pelo teste de Tukey, letras maiúsculas comparam a iluminação pelo teste t e letras gregas comparam o tempo de armazenamento pelo teste de Tukey.

### 4.3. Perfil colorimétrico

A análise de variância mostrou efeitos significativos ( $p < 0,05$ ) de todas as variáveis estudadas e suas interações para os valores de  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$  (APÊNDICE B). Somente para o valor de  $a^*$ , foi verificado apenas efeito significativo apenas no genótipo, luminosidade e a interação entre estes fatores.

Para o valor de  $a^*$ , foi verificado que a soja pigmentada marrom possuiu o maior valor entre os genótipos, independentemente da incidência luminosa e tempo de armazenamento, seguido da soja pigmentada amarela e da soja pigmentada preta, respectivamente (Tabela 4 e Figura 9).

Para o valor de  $b^*$ , foi verificado em todo o experimento que a soja pigmentada amarela apresentou o maior valor, seguido da soja pigmentada marrom e soja pigmentada preta, independentemente do tempo de armazenamento e incidência luminosa. No entanto, a partir de 6 meses de armazenamento com incidência luminosa, foi observado uma redução do valor de  $b^*$  para a soja pigmentada amarela e soja pigmentada marrom de 12,34% e 20,70%, respectivamente, quando comparada a soja armazenada por 6 meses sem incidência luminosa. Para a soja pigmentada preta, apenas aos 12 meses de armazenamento apresentou redução do valor de  $b^*$  de 16,07% quando armazenada com incidência luminosa, quando comparada à soja pigmentada preta armazenada sem incidência luminosa. Quando comparado o tempo de armazenamento, a partir de 6 meses, a soja pigmentada preta apresentou um aumento do valor de  $b^*$  de 115,05% (Tabela 4 e Figura 9).

Para o valor de  $L^*$ , foi observado que a soja pigmentada amarela foi a que possui maior valor entre os genótipos, independentemente do tempo de armazenamento e da incidência luminosa. No entanto, a soja pigmentada marrom apresentou redução do valor de  $L^*$  aos 6 meses de armazenamento com incidência luminosa de 15,72%. Quando comparado a incidência luminosa aos 12 meses de armazenamento, a soja que foi armazenada com incidência luminosa apresentou 19,77% menor valor de  $L^*$  quando comparado a soja pigmentada marrom sem incidência luminosa e armazenada por 12 meses (Tabela 4 e Figura 9).

Estes resultados estão de acordo com os resultados encontrados por Nasar-Abbas et al. (2008) que avaliou o efeito do armazenamento por 12 meses de feijão fava (*Vicia faba* L.) sob condições de atmosfera modificada (embalagem com nitrogênio e sem nitrogênio). Os autores verificaram escurecimento do tegumento

dos grãos ao longo do armazenamento em condições de exposição ao oxigênio, onde o escurecimento da cor em fava é provavelmente devido à alteração oxidativa de compostos fenólicos. Compostos fenólicos variam amplamente em complexidade, mas a característica comum de todos desses compostos é que eles são facilmente oxidados (TSIMOGIANNIS; OREOPOULOU, 2018).

Em estudo desenvolvido por Lindemann et al. (2020) os autores avaliaram o efeito do armazenamento de feijão caupi por 12 meses sob atmosfera modificada a 15, 20 e 25 °C, sobre a estrutura do grão, qualidade de cocção, digestibilidade do amido e fenóis. Os autores também verificaram escurecimento dos grãos sob condições de oxigênio e atribuíram à oxidação de fenólicos. Neste presente estudo, este comportamento foi acentuado na condição de armazenamento sob incidência luminosa (BENTO et al., 2020; JATI, 2020; NASAR-ABBAS et al., 2008; ŽILIĆ et al., 2013), o que pode ter favorecido a oxidação de fenólicos e assim, ter reduzido o valor de  $b^*$  para soja amarela, aumentado o valor de  $b^*$  para a soja preta e ter reduzido o valor de  $L^*$  para soja marrom ao final do armazenamento sob incidência luminosa, quando comparado aos grãos iniciais.

Tabela 4 - Perfil colorimétrico de diferentes genótipos de soja armazenados com e sem luz por 0, 6 e 12 meses

| Tempo de armazenamento | Inicial (0 meses) |                  | 6 meses          |                   | 12 meses         |                  |
|------------------------|-------------------|------------------|------------------|-------------------|------------------|------------------|
| Genótipo               | Com luz           | Sem luz          | Com luz          | Sem luz           | Com luz          | Sem luz          |
| <i>a*-Value *</i>      |                   |                  |                  |                   |                  |                  |
| Soja Amarela           | 3.07 ± 0.26 bAα   | 3.07 ± 0.26 bAα  | 4.02 ± 0.31 bAα  | 3.73 ± 0.53 bAα   | 4.28 ± 0.47 bAα  | 3.88 ± 0.42 bAα  |
| Soja Marrom            | 10.70 ± 0.75 aAα  | 10.7 ± 0.75 aAα  | 12.26 ± 1.15 aAα | 12.00 ± 1.07 aAα  | 12.43 ± 0.69 aAα | 12.89 ± 0.83 aAα |
| Soja Preta             | 0.85 ± 0.18 cAα   | 0.85 ± 0.18 cAα  | 0.78 ± 0.37 cAα  | 0.86 ± 0.44 cAα   | 0.78 ± 0.54 cAα  | 1.05 ± 0.55 cAα  |
| <i>b*-Value *</i>      |                   |                  |                  |                   |                  |                  |
| Soja Amarela           | 31.00 ± 1.19 aAα  | 31.00 ± 1.19 aAα | 25.85 ± 1.05 aBβ | 29.48 ± 1.43 aAαβ | 25.12 ± 1.85 aBβ | 28.21 ± 1.17 aAβ |
| Soja Marrom            | 21.31 ± 2.76 bAα  | 21.31 ± 2.76 bAα | 15.98 ± 2.43 bBβ | 20.15 ± 1.97 bAα  | 15.14 ± 0.94 bBβ | 20.86 ± 1.85 bAα |
| Soja Preta             | 0.45 ± 0.24 cAβ   | 0.45 ± 0.24 cAβ  | 0.97 ± 0.17 cAα  | 0.85 ± 0.50 cAα   | 0.94 ± 0.48 cBα  | 1.12 ± 0.83 cAα  |
| <i>L*-Value *</i>      |                   |                  |                  |                   |                  |                  |
| Soja Amarela           | 65.87 ± 2.42 aAα  | 65.87 ± 2.42 aAα | 67.13 ± 2.44 aAα | 65.14 ± 1.57 aAα  | 64.56 ± 2.33 aAα | 63.21 ± 1.75 aAα |
| Soja Marrom            | 39.75 ± 2.92 bAα  | 39.75 ± 2.92 bAα | 33.5 ± 2.61 bBβ  | 39.37 ± 2.92 bAα  | 31.62 ± 1.23 bBβ | 39.41 ± 2.90 bAα |
| Soja Preta             | 18.62 ± 1.01 cAα  | 18.62 ± 1.01 cAα | 21.02 ± 1.89 cAα | 20.3 ± 2.08 cAα   | 20.57 ± 1.62 cAα | 21.43 ± 1.22 cAα |

\*Letras minúsculas comparam os genótipos pelo teste de Tukey, letras maiúsculas comparam a iluminação pelo teste t e letras gregas comparam o tempo de armazenamento pelo teste de Tukey.

#### 4.4. Perfil de compostos fenólicos

A análise de variância mostrou efeitos significativos ( $p < 0,05$ ) de todas as variáveis estudadas para os compostos fenólicos livres (Apêndice C).

Foram identificados os compostos na fração livre: Ácido Vanílico Glucosídeo de aromadendrina, Ácido Hidroxibenzóico, Kaempferol ramnosídeo 2, Kaempferol diglucopside, Licoagroside b2, Kaempferol e Ácido Protocatecuico (Apêndice C e tabela 5).

O composto Quercetina não apresentou diferença significativa para a luminosidade nem para a interação dupla luminosidade e tempo de armazenamento ( $p > 0,05$ ). Os compostos Ácido p-coumárico e ácido siríngico não apresentaram diferença significativa para os fatores luminosidade e para a interação dupla genótipo e luminosidade, enquanto para o ácido siríngico também não apresentou diferença significativa para as interações duplas genótipo e tempo e, luminosidade e tempo ( $p > 0,05$ ). O composto Kaempferol diglucosídeo apresentou diferença significativa apenas para o fator genótipo e o fator tempo ( $p < 0,05$ ).

Foi observado que a soja amarela apresentou maiores teores de Ácido vanílico no início do armazenamento e apresentou redução do teor de composto, independentemente da incidência luminosa. A soja marrom foi a que apresentou maior concentração de Glucosídeo de aromadendrina no início do armazenamento, seguido da soja preta e soja amarela, respectivamente. Apenas a soja preta apresentou redução do teor de Glucosídeo de aromadendrina ao final do armazenamento, para ambas as condições de incidência luminosa. Com relação ao Ácido Hidroxibenzóico, a soja marrom foi a que apresentou o maior teor no início do armazenamento, seguido da soja amarela e preta. No entanto, a partir de 6 meses de armazenamento, a soja preta reduziu o teor de Ácido Hidroxibenzóico em ambas as condições de incidência luminosa, enquanto a soja marrom apresentou aumento da concentração de Ácido Hidroxibenzóico com a presença de luz, tanto aos 6 como aos 12 meses de armazenamento. A soja preta foi a que apresentou maior concentração de Kaempferol ramnosídeo 2 no início do armazenamento, seguido pela soja marrom e soja amarela, respectivamente. Em ambas as condições de incidência luminosa, foi observado aumento da concentração de Kaempferol ramnosídeo 2 a partir dos 6 meses de armazenamento. Para o composto Kaempferol diglucosídeo, o maior teor foi observado na soja marrom, seguido da soja amarela e soja preta, respectivamente, no início do armazenamento. No

entanto, a soja preta apresentou reduções do teor de Kaempferol diglucosídeo a partir dos 6 meses de armazenamento, enquanto a soja amarela apresentou aumentos aos 12 meses de armazenamento, independentemente da presença ou ausência de luz. Foi observado que a soja marrom e soja preta foram as que apresentaram maior concentração de licoagrosídeo b2 no início do armazenamento, No entanto, a soja amarela e soja marrom apresentaram aumentos ao final do armazenamento, independentemente da incidência de luz. Com relação ao kaempferol, a soja marrom apresentou aumento aos 12 meses de armazenamento. Foi observado maiores valores de ácido protocatecuico para a soja marrom, seguida da soja preta e soja amarela, respectivamente, no início do armazenamento, no entanto, para todos os genótipos em ambas as condições de incidência de luz, foi verificado redução da concentração do ácido protocatecuico. A soja amarela e soja preta apresentaram reduções do teor de ácido protocatecuico a partir dos 6 meses com incidência luminosa, quando comparado à soja armazenada por 6 meses sem luz.

Tabela 5 - Compostos fenólicos livres de diferentes genótipos de soja armazenados com e sem luz por 0, 6 e 12 meses (continua)

| Tempo de armazenamento                     | Inicial (0 meses)  |                    | 6 meses            |                    | 12 meses           |                    |
|--------------------------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| Genótipo                                   | Com luz            | Sem luz            | Com luz            | Sem luz            | Com luz            | Sem luz            |
| <i>Ácido vanílico (µg/g)*</i>              |                    |                    |                    |                    |                    |                    |
| Soja Amarela                               | 38.56 ± 1.83 aAα   | 38.56 ± 1.83 aAα   | 24.93 ± 0.08 aBβ   | 27.53 ± 1.09 aAβ   | 22.36 ± 0.20 aAγ   | 23.38 ± 1.03 aAγ   |
| Soja Marrom                                | 15.14 ± 1.01 bAα   | 15.14 ± 1.01 bAα   | 14.85 ± 1.19 bAα   | 14.36 ± 0.12 cAα   | 16.37 ± 0.41 bAα   | 15.25 ± 0.29 bAα   |
| Soja Preta                                 | 16.96 ± 1.36 bAα   | 16.96 ± 1.36 bAα   | 5.41 ± 0.04 cBβ    | 17.80 ± 0.86 bAα   | 15.01 ± 0.58 bAα   | 16.62 ± 1.03 bAα   |
| <i>Glucosídeo de aromadendrina (µg/g)*</i> |                    |                    |                    |                    |                    |                    |
| Soja Amarela                               | 58.59 ± 2.75 cAα   | 58.59 ± 2.75 cAα   | 59.36 ± 2.00 aAα   | 52.03 ± 0.77 cBα   | 55.80 ± 0.67 cAβ   | 60.95 ± 8.78 cAα   |
| Soja Marrom                                | 346.71 ± 10.13 aAα | 346.71 ± 10.13 aAα | 330.27 ± 18.47 aAα | 369.94 ± 0.55 aAα  | 364.03 ± 12.81 aAα | 358.63 ± 9.53 aAα  |
| Soja Preta                                 | 149.25 ± 0.34 bAα  | 149.25 ± 0.34 bAα  | 113.18 ± 7.40 bBβ  | 129.65 ± 3.59 bAβ  | 124.03 ± 0.41 bAβ  | 122.01 ± 2.21 bAβ  |
| <i>Ácido Hidroxibenzóico (µg/g)*</i>       |                    |                    |                    |                    |                    |                    |
| Soja Amarela                               | 9.80 ± 0.76 bAα    | 9.80 ± 0.76 bAα    | 2.56 ± 0.03 bAβ    | <LOD               | 8.78 ± 0.02 bAα    | 8.31 ± 0.64 bAα    |
| Soja Marrom                                | 18.16 ± 0.46 aAγ   | 18.16 ± 0.46 aAβ   | 31.38 ± 0.31 aAβ   | 20.61 ± 1.46 aBα   | 45.94 ± 2.66 aAα   | 21.38 ± 1.23 aBα   |
| Soja Preta                                 | 3.16 ± 0.02 cAα    | 3.16 ± 0.02 cAα    | <LOD               | <LOD               | <LOD               | <LOD               |
| <i>Kaempferol ramnosídeo 2 (µg/g)*</i>     |                    |                    |                    |                    |                    |                    |
| Soja Amarela                               | 86.24 ± 5.68 cAβ   | 86.24 ± 5.68 cAγ   | 128.02 ± 5.35 cAα  | 124.55 ± 2.40 cAβ  | 113.07 ± 4.54 cBα  | 159.86 ± 13.29 cAα |
| Soja Marrom                                | 136.76 ± 4.19 bAβ  | 136.76 ± 4.19 bAβ  | 182.59 ± 8.84 bAα  | 190.11 ± 11.82 bAα | 196.12 ± 6.49 bAα  | 202.88 ± 7.27 bAα  |
| Soja Preta                                 | 261.88 ± 4.58 aAβ  | 261.88 ± 4.58 aAγ  | 293.36 ± 12.4 aBα  | 326.31 ± 14.3 aAβ  | 295.61 ± 2.91 aBα  | 348.27 ± 1.52 aAα  |

\*Letras minúsculas comparam os genótipos pelo teste de Tukey, letras maiúsculas comparam a iluminação pelo teste t e letras gregas comparam o tempo de armazenamento pelo teste de Tukey. LOD = Limite de detecção.

Tabela 5 - Compostos fenólicos livres de diferentes genótipos de soja armazenados com e sem luz por 0, 6 e 12 meses (conclusão)

| Tempo de armazenamento                 | Inicial (0 meses) |                  | 6 meses          |                   | 12 meses          |                  |
|----------------------------------------|-------------------|------------------|------------------|-------------------|-------------------|------------------|
| Genótipo                               | Com luz           | Sem luz          | Com luz          | Sem luz           | Com luz           | Sem luz          |
| <i>Kaempferol diglucosídeo (µg/g)*</i> |                   |                  |                  |                   |                   |                  |
| Soja Amarela                           | 61.74 ± 0.62 bAβ  | 61.74 ± 0.62 bAβ | 55.75 ± 3.57 bAβ | 58.41 ± 2.35 bAβ  | 80.2 ± 1.18 bAα   | 83.76 ± 6.52 bAα |
| Soja Marrom                            | 98.03 ± 1.81 aAα  | 98.03 ± 1.81 aAα | 98.00 ± 7.38 aAα | 109.91 ± 0.85 aAα | 103.51 ± 2.57 aAα | 99.07 ± 2.23 aAα |
| Soja Preta                             | 16.86 ± 0.53 cAα  | 16.86 ± 0.53 cAα | 11.81 ± 0.75 cAβ | 11.54 ± 0.85 cAβ  | 14.12 ± 0.27 cAβ  | 12.16 ± 0.70 cAβ |
| <i>Licoagroside b2 (µg/g)*</i>         |                   |                  |                  |                   |                   |                  |
| Soja Amarela                           | 42.93 ± 2.47 bAβ  | 42.93 ± 2.47 bAβ | 46.60 ± 3.30 cAβ | 49.59 ± 1.09 bAα  | 53.87 ± 0.04 bAα  | 53.16 ± 2.75 aAα |
| Soja Marrom                            | 54.80 ± 3.02 aAβ  | 54.8 ± 3.02 aAβ  | 57.99 ± 2.12 aAα | 59.33 ± 0.20 aAα  | 58.86 ± 1.24 aAα  | 56.95 ± 2.70 aAα |
| Soja Preta                             | 53.72 ± 2.96 aAα  | 53.72 ± 2.96 aAα | 50.35 ± 1.96 bAα | 56.17 ± 4.09 aAα  | 47.98 ± 2.52 cAα  | 53.90 ± 1.21 aAα |
| <i>Kaempferol (µg/g)*</i>              |                   |                  |                  |                   |                   |                  |
| Soja Amarela                           | 2.29 ± 0.02 aAα   | 2.29 ± 0.02 aAα  | 2.07 ± 0.07 bAβ  | 2.15 ± 0.10 aAα   | 2.20 ± 0.02 bAα   | 2.19 ± 0.19 bAα  |
| Soja Marrom                            | 2.40 ± 0.16 aAβ   | 2.40 ± 0.16 aAβ  | 2.49 ± 0.07 aAβ  | 2.41 ± 0.17 aAβ   | 2.96 ± 0.09 aAα   | 2.74 ± 0.17 aAα  |
| Soja Preta                             | 2.23 ± 0.04 aAα   | 2.23 ± 0.04 aAα  | 2.09 ± 0.03 bAβ  | 2.16 ± 0.15 aAα   | 2.24 ± 0.05 bAα   | 2.26 ± 0.05 bAα  |
| <i>Ácido Protocatecuico (µg/g)*</i>    |                   |                  |                  |                   |                   |                  |
| Soja Amarela                           | 30.97 ± 1.29 cAα  | 30.97 ± 1.29 cAα | 19.67 ± 0.29 bBβ | 23.02 ± 1.62 bAβ  | 19.11 ± 0.85 aBβ  | 24.82 ± 1.78 aAβ |
| Soja Marrom                            | 39.76 ± 1.40 aAα  | 39.76 ± 1.40 aAα | 25.31 ± 1.67 aAβ | 19.35 ± 1.69 cBβ  | 19.14 ± 0.28 aAγ  | 18.87 ± 0.63 bAβ |
| Soja Preta                             | 35.84 ± 0.93 bAα  | 35.84 ± 0.93 bAα | 16.42 ± 0.18 cBβ | 27.02 ± 0.58 aAβ  | 16.02 ± 0.23 bAβ  | 16.48 ± 0.69 cAγ |

\*Letras minúsculas comparam os genótipos pelo teste de Tukey, letras maiúsculas comparam a iluminação pelo teste t e letras gregas comparam o tempo de armazenamento pelo teste de Tukey. LOD = Limite de detecção.

A análise de variância mostrou efeitos significativos ( $p < 0,05$ ) de todas as variáveis estudadas para os compostos fenólicos ligados (Apêndice D).

Foram identificados os compostos na fração ligada: Ácido cafeico, Catequina, Ácido Ferúlico, Quercetina, Ácido Vanílico, Ácido p-coumarico, Ácido Sirínico, Glucosídeo de aromadendrina, Ácido Hidroxibenzóico, Kaempferol diglucosídeo, Kaempferol e Ácido Protocatecuico (Apêndice D e tabela 6).

Foi observado maiores valores de Ácido cafeico para a soja preta, seguida da soja marrom e amarela, respectivamente, no início do armazenamento. Houve redução do Ácido cafeico a partir dos 6 meses de armazenamento na condição de incidência luminosa para a soja preta, enquanto para a soja marrom a redução ocorreu independentemente da incidência luminosa. Para a Catequina, reduções foram observadas a partir dos 6 meses de armazenamento, sendo que aos 12 meses, quando comparado o fator luminosidade, a soja armazenada com incidência luminosa apresentou menores teores de Catequina. A soja amarela foi a que apresentou maiores teores de ácido ferúlico, seguido da soja marrom e preta, respectivamente, no início do armazenamento. O teor de Ácido Ferúlico da soja amarela aumentou ao longo do armazenamento, e quando comparado a incidência luminosa, a soja amarela armazenada com incidência luminosa apresentou maiores valores tanto aos 6 quanto aos 12 meses de armazenamento. A soja marrom apresentou maior conservabilidade do Ácido Ferúlico quando armazenado por 6 meses com incidência luminosa. A soja preta apresentou reduções do teor de Quercetina ao longo do armazenamento com incidência luminosa. Para o Ácido vanílico, a soja amarela apresentou aumento a partir dos 6 meses de armazenamento, apresentando maiores valores quando armazenada com incidência luminosa, no entanto, para a soja marrom e soja preta, houve redução deste composto a partir dos 6 meses de armazenamento com incidência luminosa. Com relação ao Ácido p-coumárico, houve redução ao longo do armazenamento, independentemente da incidência luminosa para a soja preta. A soja amarela foi a que apresentou maiores teores de Ácido Sirínico no início do armazenamento, aumentando ao longo do armazenamento, no entanto, a soja marrom apresentou redução aos 6 meses de armazenamento com incidência luminosa. Já para o composto Glucosídeo de aromadendrina, foi observado a maior concentração na soja preta, soja marrom e soja amarela, respectivamente, no início do armazenamento. Para a soja marrom e preta, foi observado um aumento de

Glucosídeo de aromadendrinaa ao longo do armazenamento, independentemente da incidência de luz, porém a soja amarela apresentou uma redução aos 6 meses e um aumento aos 12 meses de armazenamento. Foi verificado que a soja marrom apresentou o maior teor de Ácido Hidroxibenzóico no início do armazenamento, seguido pela soja amarela e preta, respectivamente. A soja amarela apresentou reduções ao longo do armazenamento, enquanto a soja marrom apresentou aumento ao final do armazenamento com incidência luminosa, para o Ácido Hidroxibenzóico. A soja preta foi a que apresentou maiores teores de Kaempferol ramnosídeo 2, seguido da soja amarela e marrom, respectivamente, no início do armazenamento. No entanto, foi observado redução do Kaempferol ramnosídeo 2 no final do armazenamento da soja amarela, e quando comparado a incidência luminosa, foi observado menores valores para a soja armazenada com incidência luminosa. Com relação ao Kaempferol diglucosídeo, a soja amarela e soja preta apresentaram os maiores teores no início do armazenamento, porém reduziram aos 6 meses de armazenamento com luz e aumentaram após os 12 meses de armazenamento. Foi verificado que a soja marrom foi a que apresentou maiores teores de kaempferol no início do armazenamento, quando comparado à soja amarela e soja preta. A partir dos 6 meses de armazenamento, houve redução do teor de kaempferol em condições com e sem luz, sendo que a soja marrom e soja amarela apresentaram menores valores quando armazenadas com incidência luminosa, quando comparado ao armazenamento sem luz. A soja preta apresentou o maior teor de Ácido protocatecuico, seguido da soja marrom e soja amarela, respectivamente, no início do armazenamento. A partir dos 6 meses de armazenamento, foi observado redução do Ácido protocatecuico, principalmente quando comparado o armazenamento com incidência luminosa, ao armazenamento sem luz.

Tabela 6 - Compostos fenólicos ligados de diferentes genótipos de soja armazenados com e sem luz por 0, 6 e 12 meses (continua)

| Tempo de armazenamento        | Inicial (0 meses) |                  | 6 meses           |                  | 12 meses          |                   |
|-------------------------------|-------------------|------------------|-------------------|------------------|-------------------|-------------------|
| Genótipo                      | Com luz           | Sem luz          | Com luz           | Sem luz          | Com luz           | Sem luz           |
| <i>Ácido cafeico (µg/g)*</i>  |                   |                  |                   |                  |                   |                   |
| Soja Amarela                  | <LOD              | <LOD             | <LOD              | <LOD             | <LOD              | <LOD              |
| Soja Marrom                   | 3.1 ± 0.07 bAα    | 3.1 ± 0.07 bAα   | <LOD              | <LOD             | <LOD              | <LOD              |
| Soja Preta                    | 5.94 ± 0.11 aAα   | 5.94 ± 0.11 aAα  | 4.76 ± 0.17 aBβ   | 5.95 ± 0.25 aAα  | 4.86 ± 0.02 aBβ   | 5.59 ± 0.22 aAα   |
| <i>Catequina (µg/g)*</i>      |                   |                  |                   |                  |                   |                   |
| Soja Amarela                  | <LOQ              | <LOQ             | <LOQ              | <LOQ             | <LOQ              | <LOQ              |
| Soja Marrom                   | <LOQ              | <LOQ             | <LOQ              | <LOQ             | <LOQ              | <LOQ              |
| Soja Preta                    | 63.59 ± 3.33 aAα  | 63.59 ± 3.33 aAα | 54.36 ± 1.06 aAβ  | 52.7 ± 1.13 aAβ  | 44.59 ± 1.48 aBγ  | 55.85 ± 1.72 aAβ  |
| <i>Ácido Ferúlico (µg/g)*</i> |                   |                  |                   |                  |                   |                   |
| Soja Amarela                  | 84.67 ± 1.80 aAγ  | 84.67 ± 1.80 aAβ | 100.82 ± 1.76 aAβ | 87.45 ± 5.45 aBβ | 124.02 ± 8.66 aAα | 102.22 ± 3.05 aBα |
| Soja Marrom                   | 56.78 ± 3.36 bAα  | 56.78 ± 3.36 bAα | 53.2 ± 1.54 bAα   | 43.94 ± 3.27 bBβ | 42.54 ± 0.35 bAβ  | 44.29 ± 2.21 bAβ  |
| Soja Preta                    | 38.2 ± 1.81 cAβ   | 38.2 ± 1.81 cAβ  | 41.44 ± 1.19 cBα  | 43.76 ± 0.25 bAα | 36.68 ± 2.03 cBγ  | 39.01 ± 0.01 cAβ  |
| <i>Quercetina (µg/g)*</i>     |                   |                  |                   |                  |                   |                   |
| Soja Amarela                  | <LOQ              | <LOQ             | <LOQ              | <LOQ             | 1.4 ± 0.02        | 0.53 ± 0.02       |
| Soja Marrom                   | <LOQ              | <LOQ             | <LOQ              | <LOQ             | <LOQ              | <LOQ              |
| Soja Preta                    | 5.58 ± 0.32 aAα   | 5.58 ± 0.32 aAα  | 5.01 ± 0.09 aAβ   | 4.60 ± 0.07 aAβ  | 4.77 ± 0.11 aAγ   | 5.22 ± 0.24 Aα    |

\*Letras minúsculas comparam os genótipos pelo teste de Tukey, letras maiúsculas comparam a iluminação pelo teste t e letras gregas comparam o tempo de armazenamento pelo teste de Tukey. LOD = Limite de detecção. LOQ = Limite de quantificação.

Tabela 6 - Compostos fenólicos ligados de diferentes genótipos de soja armazenados com e sem luz por 0, 6 e 12 meses (continua)

| Tempo de<br>armazenamento                  | Inicial (0 meses) |                   | 6 meses           |                   | 12 meses          |                   |
|--------------------------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| o                                          | Com luz           | Sem luz           | Com luz           | Sem luz           | Com luz           | Sem luz           |
| <i>Ácido vanílico (µg/g)*</i>              |                   |                   |                   |                   |                   |                   |
| Soja Amarela                               | 120.18 ± 1.67 bAβ | 120.18 ± 1.67 bAβ | 133.31 ± 2.41 aAα | 122.99 ± 6.13 aBβ | 132.11 ± 3.32 aBα | 139.94 ± 1.20 aAα |
| Soja Marrom                                | 72.78 ± 1.66 cAα  | 72.78 ± 1.66 cAα  | 67.56 ± 0.38 cAβ  | 67.52 ± 3.72 bAβ  | 65.04 ± 2.71 cAβ  | 62.96 ± 1.76 cAγ  |
| Soja Preta                                 | 123.68 ± 0.18 aAα | 123.68 ± 0.18 aAα | 102.44 ± 1.89 bBβ | 125.91 ± 1.28 aAα | 97.11 ± 1.55 bBγ  | 111.41 ± 3.58 bAβ |
| <i>Ácido p-coumárico (µg/g)*</i>           |                   |                   |                   |                   |                   |                   |
| Soja Amarela                               | <LOD              | <LOD              | <LOD              | <LOD              | <LOD              | <LOD              |
| Soja Marrom                                | <LOD              | <LOD              | <LOD              | <LOD              | <LOD              | <LOD              |
| Soja Preta                                 | 4.59 ± 0.00 aAα   | 4.59 ± 0.00 aAα   | 4.39 ± 0.06 aAβ   | 4.81 ± 0.04 aAα   | 4.30 ± 0.23 aAβ   | 4.22 ± 0.08 aAβ   |
| <i>Ácido Siríngico (µg/g)*</i>             |                   |                   |                   |                   |                   |                   |
| Soja Amarela                               | 118.15 ± 0.75 aAβ | 118.15 ± 0.75 aAβ | 131.38 ± 1.10 aAα | 122.65 ± 9.87 aAβ | 131.29 ± 9.29 aAα | 143.08 ± 0.02 aAα |
| Soja Marrom                                | 53.02 ± 3.73 cAα  | 53.02 ± 3.73 cAα  | 47.41 ± 0.47 cAβ  | 51.56 ± 3.64 cAα  | 46.67 ± 0.17 cAβ  | 46.39 ± 0.63 cAβ  |
| Soja Preta                                 | 66.42 ± 6.37 bAα  | 66.42 ± 6.37 bAα  | 62.70 ± 1.20 bAα  | 70.84 ± 3.39 bAα  | 65.62 ± 0.48 bAα  | 70.09 ± 0.49 bAα  |
| <i>Glucosídeo de aromadendrina (µg/g)*</i> |                   |                   |                   |                   |                   |                   |
| Soja Amarela                               | 25.38 ± 1.34 cAβ  | 25.38 ± 1.34 cAβ  | 6.12 ± 0.14 cAγ   | 20.18 ± 0.32 cAβ  | 42.26 ± 0.99 bAα  | 51.47 ± 0.37 bAα  |
| Soja Marrom                                | 58.26 ± 0.08 bAα  | 58.26 ± 0.08 bAα  | 56.18 ± 3.21 bAα  | 56.92 ± 0.07 bAα  | 61.16 ± 4.54 aAα  | 58.22 ± 2.15 aAα  |
| Soja Preta                                 | 99.71 ± 1.91 aAα  | 99.71 ± 1.91 aAα  | 69.62 ± 4.08 aAβ  | 59.79 ± 0.78 aAβ  | 66.73 ± 4.11 aAβ  | 59.22 ± 0.5 aAβ   |

\*Letras minúsculas comparam os genótipos pelo teste de Tukey, letras maiúsculas comparam a iluminação pelo teste t e letras gregas comparam o tempo de armazenamento pelo teste de Tukey. LOD = Limite de detecção. LOQ = Limite de quantificação.

Tabela 6 - Compostos fenólicos ligados de diferentes genótipos de soja armazenados com e sem luz por 0, 6 e 12 meses (continua)

| Tempo de armazenamento                                       | Inicial (0 meses)            |                              | 6 meses                      |                              | 12 meses                      |                              |
|--------------------------------------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|-------------------------------|------------------------------|
| Genótipo                                                     | Com luz                      | Sem luz                      | Com luz                      | Sem luz                      | Com luz                       | Sem luz                      |
| <i>Ácido Hidroxibenzóico (<math>\mu\text{g/g}</math>)*</i>   |                              |                              |                              |                              |                               |                              |
| Soja Amarela                                                 | 3.19 $\pm$ 0.10 bA $\alpha$  | 3.19 $\pm$ 0.10 bA $\alpha$  | 2.26 $\pm$ 0.02 bA $\beta$   | 2.54 $\pm$ 0.10 bA $\beta$   | 2.61 $\pm$ 0.01 bA $\beta$    | 2.26 $\pm$ 0.16 bA $\beta$   |
| Soja Marrom                                                  | 90.08 $\pm$ 2.43 aA $\gamma$ | 90.08 $\pm$ 2.43 aA $\alpha$ | 69.11 $\pm$ 3.61 aA $\beta$  | 91.1 $\pm$ 0.02 aA $\alpha$  | 119.49 $\pm$ 4.23 aA $\alpha$ | 91.73 $\pm$ 1.59 aA $\alpha$ |
| Soja Preta                                                   | <LOD                         | <LOD                         | <LOD                         | <LOD                         | <LOD                          | 14.93 $\pm$ 0.34 aA $\alpha$ |
| <i>Kaempferol ramnosídeo 2 (<math>\mu\text{g/g}</math>)*</i> |                              |                              |                              |                              |                               |                              |
| Soja Amarela                                                 | 16.67 $\pm$ 0.78 bA $\beta$  | 16.67 $\pm$ 0.78 bA $\alpha$ | 33.89 $\pm$ 0.29 aA $\alpha$ | 17.35 $\pm$ 1.23 bB $\alpha$ | 11.65 $\pm$ 0.67 bB $\gamma$  | 14.4 $\pm$ 0.30 bA $\beta$   |
| Soja Marrom                                                  | 11.13 $\pm$ 0.25 cA $\alpha$ | 11.13 $\pm$ 0.25 cA $\alpha$ | 11.31 $\pm$ 0.1 cA $\alpha$  | 8.15 $\pm$ 0.17 cB $\beta$   | 8.92 $\pm$ 0.52 cA $\beta$    | 7.62 $\pm$ 0.26 cB $\beta$   |
| Soja Preta                                                   | 19.05 $\pm$ 0.59 aA $\beta$  | 19.05 $\pm$ 0.59 aA $\beta$  | 22.43 $\pm$ 0.84 bB $\alpha$ | 30.71 $\pm$ 0.67 aA $\alpha$ | 21.35 $\pm$ 0.87 aA $\alpha$  | 18.27 $\pm$ 0.76 aA $\beta$  |
| <i>Kaempferol diglucosídeo (<math>\mu\text{g/g}</math>)*</i> |                              |                              |                              |                              |                               |                              |
| Soja Amarela                                                 | 2.05 $\pm$ 0.14 aA $\alpha$  | 2.05 $\pm$ 0.14 aA $\alpha$  | 1.89 $\pm$ 0.01 aA $\beta$   | 1.88 $\pm$ 0.09 aA $\beta$   | 1.91 $\pm$ 0.14 aA $\alpha$   | 2.11 $\pm$ 0.06 aA $\alpha$  |
| Soja Marrom                                                  | 1.66 $\pm$ 0.03 bA $\alpha$  | 1.66 $\pm$ 0.03 bA $\alpha$  | 1.57 $\pm$ 0.07 bA $\alpha$  | 1.59 $\pm$ 0.10 bA $\alpha$  | 1.72 $\pm$ 0.01 bA $\alpha$   | 1.68 $\pm$ 0.11 bA $\alpha$  |
| Soja Preta                                                   | 1.13 $\pm$ 0.06 aA $\alpha$  | 1.13 $\pm$ 0.06 cA $\alpha$  | 0.98 $\pm$ 0.01 cA $\beta$   | 1.07 $\pm$ 0.01 cA $\alpha$  | 1.02 $\pm$ 0.05 cA $\alpha$   | 1.10 $\pm$ 0.04 cA $\alpha$  |

\*Letras minúsculas comparam os genótipos pelo teste de Tukey, letras maiúsculas comparam a iluminação pelo teste t e letras gregas comparam o tempo de armazenamento pelo teste de Tukey. LOD = Limite de detecção. LOQ = Limite de quantificação.

Tabela 6 - Compostos fenólicos ligados de diferentes genótipos de soja armazenados com e sem luz por 0, 6 e 12 meses (conclusão)

| Tempo de armazenamento              | Inicial (0 meses) |                   | 6 meses            |                   | 12 meses          |                   |
|-------------------------------------|-------------------|-------------------|--------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| Genótipo                            | Com luz           | Sem luz           | Com luz            | Sem luz           | Com luz           | Sem luz           |
| <i>Kaempferol (µg/g)*</i>           |                   |                   |                    |                   |                   |                   |
| Soja Amarela                        | 2.50 ± 0.02 bAα   | 2.50 ± 0.02 bAα   | 1.40 ± 0.04 bAγ    | 1.73 ± 0.11 bAβ   | 1.62 ± 0.00 bBβ   | 1.84 ± 0.12 bAβ   |
| Soja Marrom                         | 133.35 ± 6.09 aAα | 133.35 ± 6.09 aAα | 43.5 ± 3.87 aBβ    | 95.46 ± 1.17 aAβ  | 32.87 ± 2.30 aBγ  | 79.7 ± 5.13 aAγ   |
| Soja Preta                          | 3.99 ± 0.17 bAα   | 3.99 ± 0.17 bAα   | 2.55 ± 0.01 bAβ    | 2.54 ± 0.03 bAβ   | 2.42 ± 0.07 bAβ   | 2.45 ± 0.10 bAβ   |
| <i>Ácido protocatecuico (µg/g)*</i> |                   |                   |                    |                   |                   |                   |
| Soja Amarela                        | <LOQ              | <LOQ              | <LOQ               | <LOQ              | <LOQ              | <LOQ              |
| Soja Marrom                         | 126.00 ± 3.73 bAα | 126.00 ± 3.73 bAα | 46.61 ± 0.07 bBβ   | 98.58 ± 4.22 bAβ  | 32.08 ± 3.53 bBβ  | 70.32 ± 0.73 bAγ  |
| Soja Preta                          | 173.51 ± 0.30 aAα | 173.51 ± 0.30 aAα | 154.49 ± 12.32 aAβ | 163.06 ± 2.42 aAβ | 166.33 ± 4.47 aAβ | 155.04 ± 0.34 aAβ |

\*Letras minúsculas comparam os genótipos pelo teste de Tukey, letras maiúsculas comparam a iluminação pelo teste t e letras gregas comparam o tempo de armazenamento pelo teste de Tukey. LOD = Limite de detecção. LOQ = Limite de quantificação.

Em estudo desenvolvido por Xu e Chang (2008), os autores avaliaram o conteúdo de fenólicos de 30 genótipos de soja cultivados na Dakota do Norte e Minnesota e verificaram a presença de ácidos fenólicos, como ácido protocatecuico, ácido vanílico, ácido sirínico, ácido hidroxibenzóico e outros. Os autores deste mesmo estudo reportaram que o conteúdo de compostos fenólicos pode variar conforme o local de produção, genótipo e ano de cultivo. Ademais, em estudo desenvolvido por Ferreira et al. (2019), os autores verificaram os efeitos da secagem (30-110 °C) e armazenamento por 12 meses a 25 °C de duas cultivares de soja de película amarelo (BMX Força RR e Nidera 5909 RR) sobre a germinação e o perfil de compostos fenólicos e isoflavonas, e reportaram que os efeitos da secagem e armazenagem podem modificar a concentração de compostos fenólicos.

Devido a oxidação ou catálise realizada por atividade microbiana durante o armazenamento, que é influenciado pela secagem. A integridade do grão previamente ser armazenado também interfere no metabolismo de compostos fenólicos, como é verificado por Ramos et al. (2021a) que verificaram o efeito dos defeitos de soja sobre a concentração de compostos fenólicos. Ziegler et al. (2016a) verificaram redução do teor de Ácido vanílico em soja armazenada por mais de 12 meses a temperaturas de 25 °C com umidade do grão entre 15 e 18%. A oxidação da matéria orgânica promove o aumento de fenóis mais oxidados da lignina (Ácido sirínico e Ácido vanílico) quando comparados aos aldeídos menos oxidados (vanilina e siringaldeído) (RAMOS et al., 2021a; SANTOS; SANTOS; DUARTE, 2016; WAGGONER et al., 2017). As enzimas  $\alpha$ - e  $\beta$ -glucosidase produzidas por fungos do gênero *Rhizopus*, encontradas em estudo desenvolvido por Ferreira et al. (2019), promovem o aumento do teor de fenólicos livres através da clivagem de carboidratos associados a materiais lignocelulósicos. A degradação dos ácidos sirínico e vanílico pode ser realizada por microrganismos, principalmente anaeróbios, através da quebra da ligação éter entre as subunidades fenólicas e a posterior ruptura do anel aromático por bactérias ou fungos (DUEÑAS et al., 2012, 2021; MOHAMMADI SHAD; ATUNGULU, 2019; WANG et al., 2012).

Por outro lado, o aumento de outros compostos fenólicos também pode ser mediado por microrganismos. Segundo a literatura, a síntese de metabólitos secundários é um importante evento mediado por microrganismos. Embora a produtividade e a infestação por fungos não tenham sido avaliadas, o perfil

colorimétrico e a aparência visual da soja (tabela 4 e figura 9) revelaram escurecimento do tegumento.

O escurecimento e presença de fungos foi observado pelo estudo desenvolvido por Ziegler et al. (2016a), que verificaram o efeito do armazenamento de soja com diferentes teores de umidade e temperatura de armazenamento, reportando que em maiores teores de umidade e temperatura de armazenamento, a provável razão para a diminuição de ácido vanílico na soja armazenada a 15% ou 18% de umidade e 25 °C ou 32 °C, em comparação com os grãos no 1º dia de armazenamento, é sua degradação em outros metabólitos da via biossintética. Estudos realizados com a fermentação da soja revelaram que a biossíntese dos aminoácidos fenilalanina, tirosina, alanina e ácido glutâmico é mediada por microrganismos. A fenilalanina é precursora de vários metabólitos secundários (CAO et al., 2019; DUEÑAS et al., 2012; JAYACHANDRAN; XU, 2019; QIAO et al., 2022; WANG et al., 2022). A enzima fenilalanina amônia liase (PAL) é responsável por desencadear a transformação da fenilalanina em compostos fenólicos, além disso, esta enzima e a própria atividade dos microrganismos pode ser afetada diretamente pela incidência de luz (JUNG et al., 2021; KAUR; ASTHIR, 2022; SABERI RISEH et al., 2021; SHARMA; BHASKAR, 2021).

#### **4.5. Perfil de isoflavonas**

A análise de variância mostrou efeitos significativos ( $p < 0,05$ ) de todas as variáveis estudadas para o perfil de isoflavonas (Apêndice E).

Foram identificados os compostos Daidzeína, Genisteína, Gliciteína, Glicitina, Daidzina, Genistina, Malonil Daidzina, Malonil Genistina e Malonil Glicitina, (Apêndice E e Tabela 7).

Para a Gliciteína, somente foi observado efeito significativo para o genótipo e o tempo de armazenamento. Para o composto Glicitina, não foi observado efeito significativo para a interação tripla entre genótipo, luminosidade e tempo de armazenamento. Não foi observado efeito significativo para o composto Malonil Glicitina para as variáveis luminosidade e interação dupla genótipo e luminosidade.

A soja preta foi a que apresentou valores de Daidzeína e Genisteína acima do limite de quantificação. Foi observado uma redução da isoflavonas Daidzeína a partir dos 6 meses de armazenamento para a soja preta. Ao final do armazenamento, quando comparado a soja armazenada sob incidência luminosa, a soja armazenada

sem luz apresentou redução de 70,19%. Foi observado redução dos valores de Genistina para soja preta aos 6 e aos 12 meses de armazenamento, independentemente da incidência luminosa. Quando comparado o armazenamento com incidência luminosa, a soja amarela apresentou menores valores de Genistina quando armazenada por 12 meses sob incidência luminosa. Foi verificado redução da Daidzina aos 6 e 12 meses de armazenamento para soja amarela, enquanto a soja preta apresentou redução aos 12 meses de armazenamento, ambas independentemente da incidência luminosa. Para Gliciteína, foi observado reduções aos 6 e aos 12 meses de armazenamento para soja amarela e preta, que também apresentaram redução quando armazenadas sob incidência luminosa aos 6 meses de armazenamento. Quanto as formas Malonil, foi observado reduções de Malonil Daidzina para soja preta aos 6 e aos 12 meses de armazenamento, enquanto a soja amarela apresentou reduções aos 12 meses de armazenamento. Foi observado reduções de Malonil Genistina aos 6 meses de armazenamento para todos os genótipos, sem incidência de luz. Aos 12 meses de armazenamento, apenas os genótipos de película marrom e preto apresentaram reduções de Malonil Genisteína quando armazenado sem incidência luminosa quando comparada ao armazenamento com luz. A soja preta apresentou reduções de Malonil Gliciteína aos 6 meses de armazenamento, independentemente da incidência luminosa, enquanto a soja amarela apresentou reduções aos 12 meses de armazenamento quando armazenada sem incidência luminosa.

Tabela 7 - Perfil de isoflavonas de diferentes genótipos de soja armazenados com e sem luz por 0, 6 e 12 meses (continua)

| Tempo de armazenamento      | Inicial (0 meses) |                 | 6 meses         |                 | 12 meses        |                 |
|-----------------------------|-------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| Genótipo                    | Com luz           | Sem luz         | Com luz         | Sem luz         | Com luz         | Sem luz         |
| <i>Daidzeína (μmol/g)*</i>  |                   |                 |                 |                 |                 |                 |
| Soja Amarela                | <LOD              | <LOD            | <LOD            | <LOD            | <LOD            | <LOD            |
| Soja Marrom                 | <LOD              | <LOD            | <LOD            | <LOD            | <LOD            | <LOD            |
| Soja Preta                  | 5.68 ± 0.12 aAα   | 5.68 ± 0.12 aAα | 4.86 ± 0.10 aAβ | 4.95 ± 0.34 aAβ | 4.73 ± 0.43 aAβ | 1.41 ± 0.14 aBγ |
| <i>Gliciteína (μmol/g)*</i> |                   |                 |                 |                 |                 |                 |
| Soja Amarela                | 0.02 ± 0.00 aAα   | 0.02 ± 0.00 aAα | 0.02 ± 0.00 aAα | 0.02 ± 0.00 aAα | 0.02 ± 0.00 aAα | 0.02 ± 0.00 aAα |
| Soja Marrom                 | 0.02 ± 0.00 aAα   | 0.02 ± 0.00 aAα | 0.02 ± 0.00 aAα | 0.02 ± 0.00 aAα | 0.02 ± 0.00 aAα | 0.02 ± 0.00 aAα |
| Soja Preta                  | 0.02 ± 0.00 aAα   | 0.02 ± 0.00 aAα | 0.02 ± 0.00 aAα | 0.02 ± 0.00 aAα | 0.02 ± 0.00 aAα | 0.02 ± 0.00 aAα |
| <i>Genisteína (μmol/g)*</i> |                   |                 |                 |                 |                 |                 |
| Soja Amarela                | <LOD              | <LOD            | <LOD            | <LOD            | <LOD            | <LOD            |
| Soja Marrom                 | <LOD              | <LOD            | <LOD            | <LOD            | <LOD            | <LOD            |
| Soja Preta                  | 0.01 ± 0.00 aAα   | 0.01 ± 0.00 aAα | 0.01 ± 0.00 aAα | 0.01 ± 0.00 aAα | 0.01 ± 0.00 aAα | 0.01 ± 0.00 aAα |

\*Letras minúsculas comparam os genótipos pelo teste de Tukey, letras maiúsculas comparam a iluminação pelo teste t e letras gregas comparam o tempo de armazenamento pelo teste de Tukey. LOD = Limite de detecção

Tabela 7 - Perfil de isoflavonas de diferentes genótipos de soja armazenados com e sem luz por 0, 6 e 12 meses (continua)

| Tempo de armazenamento     | Inicial (0 meses) |                 | 6 meses         |                 | 12 meses        |                 |
|----------------------------|-------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| Genótipo                   | Com luz           | Sem luz         | Com luz         | Genótipo        | Com luz         | Sem luz         |
| <i>Genistina (μmol/g)*</i> |                   |                 |                 |                 |                 |                 |
| Soja Amarela               | 0.48 ± 0.01 bAα   | 0.48 ± 0.01 bAα | 0.48 ± 0.04 bAα | 0.48 ± 0.00 bAα | 0.39 ± 0.00 bBα | 0.53 ± 0.01 bAα |
| Soja Marrom                | 0.45 ± 0.00 bAα   | 0.45 ± 0.00 bAα | 0.47 ± 0.00 bAα | 0.46 ± 0.00 bAα | 0.47 ± 0.00 bAα | 0.44 ± 0.01 bAα |
| Soja Preta                 | 1.28 ± 0.00 aAα   | 1.28 ± 0.00 aAα | 1.16 ± 0.02 aBβ | 1.22 ± 0.02 bAβ | 1.15 ± 0.01 aAβ | 1.13 ± 0.00 aAγ |
| <i>Daidzina (μmol/g)*</i>  |                   |                 |                 |                 |                 |                 |
| Soja Amarela               | 1.03 ± 0.00 bAα   | 1.03 ± 0.00 bAβ | 0.95 ± 0.07 bBβ | 1.12 ± 0.00 bAα | 0.87 ± 0.02 cAβ | 0.94 ± 0.06 cAβ |
| Soja Marrom                | 1.02 ± 0.01 bAα   | 1.02 ± 0.01 bAα | 1.04 ± 0.01 bAα | 1.06 ± 0.06 bAα | 1.09 ± 0.01 bAα | 1.08 ± 0.03 bAα |
| Soja Preta                 | 2.39 ± 0.01 aAα   | 2.39 ± 0.01 aAα | 2.30 ± 0.03 aAα | 2.31 ± 0.06 aAα | 2.15 ± 0.03 aAβ | 2.24 ± 0.01 aAα |
| <i>Glicitina (μmol/g)*</i> |                   |                 |                 |                 |                 |                 |
| Soja Amarela               | 0.40 ± 0.00 bAα   | 0.40 ± 0.00 bAα | 0.38 ± 0.03 bBα | 0.45 ± 0.00 bAα | 0.33 ± 0.01 bAβ | 0.34 ± 0.02 bAβ |
| Soja Marrom                | 0.27 ± 0.00 cAα   | 0.27 ± 0.00 cAα | 0.28 ± 0.00 cAα | 0.32 ± 0.02 cAα | 0.33 ± 0.00 bAα | 0.33 ± 0.00 bAα |
| Soja Preta                 | 0.76 ± 0.03 aAα   | 0.76 ± 0.03 aAα | 0.59 ± 0.01 aBγ | 0.71 ± 0.02 aAα | 0.64 ± 0.01 aAβ | 0.67 ± 0.03 aAβ |

\*Letras minúsculas comparam os genótipos pelo teste de Tukey, letras maiúsculas comparam a iluminação pelo teste t e letras gregas comparam o tempo de armazenamento pelo teste de Tukey. LOD = Limite de detecção

Tabela 7 - Perfil de isoflavonas de diferentes genótipos de soja armazenados com e sem luz por 0, 6 e 12 meses (conclusão)

| Tempo de armazenamento                                   | Inicial (0 meses)           |                             | 6 meses                     |                             | 12 meses                    |                             |
|----------------------------------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| Genótipo                                                 | Com luz                     | Sem luz                     | Com luz                     | Sem luz                     | Com luz                     | Sem luz                     |
| <i>Malonil Daidzina (<math>\mu\text{mol/g}</math>)*</i>  |                             |                             |                             |                             |                             |                             |
| Soja Amarela                                             | $0.12 \pm 0.00$ bA $\alpha$ | $0.12 \pm 0.00$ bA $\alpha$ | $0.10 \pm 0.01$ bA $\alpha$ | $0.10 \pm 0.00$ bA $\alpha$ | $0.07 \pm 0.00$ bA $\beta$  | $0.07 \pm 0.00$ bA $\beta$  |
| Soja Marrom                                              | $0.13 \pm 0.00$ bA $\alpha$ | $0.13 \pm 0.00$ bA $\alpha$ | $0.11 \pm 0.00$ bA $\alpha$ | $0.10 \pm 0.01$ bA $\alpha$ | $0.11 \pm 0.00$ bA $\alpha$ | $0.09 \pm 0.00$ bA $\alpha$ |
| Soja Preta                                               | $0.44 \pm 0.00$ aA $\alpha$ | $0.44 \pm 0.00$ aA $\alpha$ | $0.37 \pm 0.00$ aA $\beta$  | $0.32 \pm 0.00$ aB $\beta$  | $0.34 \pm 0.00$ aA $\beta$  | $0.27 \pm 0.00$ aB $\gamma$ |
| <i>Malonil Genistina (<math>\mu\text{mol/g}</math>)*</i> |                             |                             |                             |                             |                             |                             |
| Soja Amarela                                             | $0.32 \pm 0.00$ bA $\alpha$ | $0.32 \pm 0.00$ bA $\alpha$ | $0.29 \pm 0.03$ bA $\alpha$ | $0.24 \pm 0.00$ bB $\beta$  | $0.21 \pm 0.01$ bA $\beta$  | $0.23 \pm 0.01$ bA $\beta$  |
| Soja Marrom                                              | $0.27 \pm 0.01$ bA $\alpha$ | $0.27 \pm 0.01$ bA $\alpha$ | $0.24 \pm 0.00$ bA $\beta$  | $0.21 \pm 0.01$ bA $\beta$  | $0.22 \pm 0.00$ bA $\beta$  | $0.18 \pm 0.01$ bB $\gamma$ |
| Soja Preta                                               | $0.82 \pm 0.01$ aA $\alpha$ | $0.82 \pm 0.01$ aA $\alpha$ | $0.65 \pm 0.00$ aA $\beta$  | $0.63 \pm 0.04$ aA $\beta$  | $0.65 \pm 0.01$ aA $\beta$  | $0.50 \pm 0.00$ aB $\gamma$ |
| <i>Malonil Glicitina (<math>\mu\text{mol/g}</math>)*</i> |                             |                             |                             |                             |                             |                             |
| Soja Amarela                                             | $0.06 \pm 0.00$ bA $\alpha$ | $0.06 \pm 0.00$ bA $\alpha$ | $0.06 \pm 0.00$ bA $\alpha$ | $0.06 \pm 0.00$ bA $\alpha$ | $0.04 \pm 0.00$ bA $\alpha$ | $0.03 \pm 0.00$ bA $\beta$  |
| Soja Marrom                                              | $0.04 \pm 0.00$ bA $\alpha$ | $0.04 \pm 0.00$ bA $\alpha$ | $0.03 \pm 0.00$ bA $\alpha$ | $0.03 \pm 0.00$ bA $\alpha$ | $0.04 \pm 0.00$ bA $\alpha$ | $0.03 \pm 0.00$ bA $\alpha$ |
| Soja Preta                                               | $0.18 \pm 0.01$ aA $\alpha$ | $0.18 \pm 0.01$ aA $\alpha$ | $0.12 \pm 0.00$ aA $\beta$  | $0.13 \pm 0.00$ aA $\beta$  | $0.13 \pm 0.00$ aA $\beta$  | $0.11 \pm 0.00$ aA $\beta$  |

\*Letras minúsculas comparam os genótipos pelo teste de Tukey, letras maiúsculas comparam a iluminação pelo teste t e letras gregas comparam o tempo de armazenamento pelo teste de Tukey. LOD = Limite de detecção

O perfil de isoflavonas encontrado neste estudo está de acordo com o reportado na literatura. Ferreira et al. (2019) verificaram os efeitos da secagem (30-110°C) e armazenamento por 12 meses a 25 °C de duas cultivares de soja de película amarelo (BMX Força RR e Nidera 5909 RR) sobre a germinação e o perfil de compostos fenólicos e isoflavonas, e verificaram maiores concentrações de isoflavonas em sua forma malonil. Esta informação coincide com estudo desenvolvido por Xu e Chang (2008) que avaliaram o perfil de isoflavonas de 30 genótipos de soja cultivadas na região da Dakota do Norte e Minnesota, que reportaram maiores concentrações de glicosídeos na forma malonil e forma beta, enquanto a forma acetil e agliconas normalmente são encontradas em menores concentrações. As isoflavonas em soja existem nas formas agliconas, glicosídeos e malonilglicosídeos. As isoformas malonilglicosídicas são formas de isoflavonas que possuem um grupo malonil ligado a um glicosídeo, enquanto às glicosídeas já não possuem este grupamento malonil.

O teor de isoflavonas em soja pode variar conforme condições ambientais e genéticas, como temperatura, fertilidade, local, condições de secagem e armazenagem (BUSTAMANTE-RANGEL et al., 2018; CHOI et al., 2020; FERREIRA et al., 2019; HOU; CHANG, 2002). Neste mesmo estudo de Ferreira et al (2019), os autores verificaram que em condições de secagem a germinação de ambas as cultivares foi de 0%, o que indicaria que a atividade metabólica de interconversão de isoflavonas no grão, durante o armazenamento naquelas condições, seria proveniente de ação de microrganismos, via síntese ou lançamento de enzimas exógenas no grão.

As enzimas relatadas na literatura produzidas por fungo são a  $\alpha$  - e  $\beta$ -glucosidase,  $\alpha$ -amilase e  $\beta$ -glicuronidases envolvidas na reimplantação ou degradação, liberando compostos fenólicos. Podem ocorrer interconversões de malonil-glicosídeos para acetil- $\beta$ -glicosídeos (por descarboxilação), de malonil- e acetil-glicosídeos para  $\beta$ -glicosídeos (por desesterificação) e malonil-, acetil- e  $\beta$ -glicosídeos para agliconas (por hidrólise), sendo todos acelerados por hidrólise térmica, ácida, alcalina e enzimática. Comportamento semelhante foi observado por Ziegler et al. (2017) avaliando concentrado proteico extraído de grãos de soja armazenados a 12% e 15% de umidade em diferentes temperaturas por 12 meses. Eles relataram aumentos para daidzeína, genisteína e gliciteína sob condições de 15% de umidade e armazenamento a 32 °C. Neste presente estudo possivelmente

houve interconversão das formas malonil em formas glicosídicas e agliconas, sendo que as reduções observadas ao final do armazenamento para as formas glicosídicas possam ter sido interconvertidas em agliconas que, para soja preta (daidzeína) tenham relação com a oxidação destes compostos ao final do armazenamento (HOU; CHANG, 2002). Portanto, assim como outros compostos fenólicos, as isoflavonas podem ter desempenhado função essencial na redução da taxa de degradação de outros compostos ao longo do armazenamento

## 5. Conclusão

O armazenamento de soja pigmentada amarela, marrom e preta por 12 meses com incidência luminosa apresentou menor conservabilidade quando comparado ao armazenamento sem incidência luminosa.

O teor de acidez e a atividade de lipase aumentou ao longo do armazenamento com incidência luminosa. A solubilidade proteica em água e em 2% SDS reduziu ao longo do armazenamento para todos os genótipos armazenados com incidência luminosa. Foi observado alteração do perfil colorimétrico, sendo possível verificar o escurecimento dos grãos armazenados sob incidência luminosa, os quais tiveram seu  $L^*$  e  $b^*$  reduzidos ao longo do armazenamento.

A soja marrom na fração livre dos compostos fenólicos foi a que apresentou maiores concentrações de kaempferol diglucosídeo, ácido protocatecuico, hidroxibenzóico e glucosídeo de aromadendrina, enquanto a soja preta apresentou maiores teores de glucosídeo ramnosídeo e a soja amarela apresentou maiores teores de ácido vanílico.

Foi possível observar reduções de ácido vanílico da fração livre da soja amarela ao final do armazenamento enquanto a soja preta e soja marrom apresentaram reduções do ácido protocatecuico ao final do armazenamento. Entre os genótipos avaliados, o armazenamento de soja amarela sob incidência luminosa apresentou mais diferenças significativas (reduções) quando comparado à soja pigmentada marrom e preta.

Na fração ligada de compostos fenólicos, foi possível observar maiores teores de ácido cafeico, catequina, quercetina, ácido p-coumárico, ácido protocatecuico e glucosídeo de aromadendrina na soja preta, enquanto a soja marrom apresentou maiores teores para ácido cafeico, ácido vanílico, ácido hidroxibenzoico e kaempferol. Já a soja amarela apresentou maiores teores de ácido ferúlico, ácido vanílico, ácido

siríngico e kaempferol diglucosídeo na fração ligada. A maioria dos compostos fenólicos para a fração ligada apresentou reduções em pelo menos um dos genótipos.

A redução da concentração de isoformas de isoflavonas malonil ao longo do armazenamento possivelmente ocorreu devido a interconversão em formas glicosiladas ou agliconas, em razão da degradação destas moléculas ao longo do armazenamento. A interconversão de isoflavonas é um processo complexo que pode influenciar sua biodisponibilidade e seus efeitos na saúde humana.

Com base nos resultados obtidos, recomenda-se enfaticamente o uso de embalagens ou sistemas de armazenamento que impeçam ou reduzam drasticamente a incidência de luz direta nos grãos de soja, especialmente nas variedades com pericarpo pigmentado. Essa medida é crucial para preservar propriedades tecnológicas relacionados à proteína e lipídios, e especialmente os compostos bioativos sensíveis à luz.

## Referências

AACC. **American Association of Cereal Chemists Approved Methods**. 10th. ed. St. Paul, MN.: AACC, 1995. v. 4

ADELEYE, O. O. et al. Effect of high-temperature, short-time cooking conditions on in vitro protein digestibility, enzyme inhibitor activity and amino acid profile of selected legume grains. **Heliyon**, v. 6, n. 11, p. e05419, 2020.

ALGHAMDI, S. S. et al. Comparative phytochemical profiling of different soybean (*Glycine max* (L.) Merr) genotypes using GC–MS. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 25, n. 1, p. 15–21, 2018.

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.

AVILÉS-GAXIOLA, S. et al. Effect of thermal processing and reducing agents on trypsin inhibitor activity and functional properties of soybean and chickpea protein concentrates. **Lwt**, v. 98, n. September, p. 629–634, 2018.

BAI, M. et al. A novel universal strategy for fabricating soybean protein adhesive with excellent adhesion and anti-mildew performances. **Chemical Engineering Journal**, v. 452, 2023.

BENTO, J. A. C. et al. Aging indicators for stored carioca beans. **Food Research International**, v. 134, 2020.

BIANCHI, L. M. et al. Contribution of Chlorophyll to Photooxidation of Soybean Oil at Specific Visible Wavelengths of Light. **Journal of Food Science**, v. 80, n. 2, p. C252–C261, 2015.

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

BUGGENHOUT, J.; BRIJS, K.; DELCOUR, J. A. Impact of processing conditions on the extractability and molecular weight distribution of proteins in parboiled brown rice. **Journal of Cereal Science**, v. 58, n. 1, p. 8–14, 2013.

BUSTAMANTE-RANGEL, M. et al. Analysis of Isoflavones in Foods. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 17, n. 2, p. 391–411, 2018.

CAO, Z. H. et al. Bioactivity of soy-based fermented foods: A review. **Biotechnology Advances**, v. 37, n. 1, p. 223–238, 2019.

CHEN, J.; ZHANG, Z.; SONG, S.; LI, H.; ZHOU, C.; CHEN, X.; ... (2023). Black soybean: A review of its bioactive constituents and health benefits. **Nutrients**, v. 15, n. 2, p. 1-22, 2023.

CHOI, Y. M. et al. Isoflavones, anthocyanins, phenolic content, and antioxidant activities of black soybeans (*Glycine max* (L.) Merrill) as affected by seed weight. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, 2020.

CONAB. **Boletim da safra brasileira de grãos, safra 2022/2023**. Disponível em: <conab.gov.br>. Acesso em: 22 maio. 2023.

CAÑIZARES, L.C. et al. Influence of broken kernels content on soybean quality during storage. **Grain & Oil Science and Technology**, v. 7, p. 20-27, 2024.

DENG, W. et al. Effect of the changes of microbial community on flavor components of traditional soybean paste during storage period. **Food Research International**, v. 161, 2022.

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.

DUEÑAS, M. et al. Effects of different industrial processes on the phenolic composition of white and brown teff (*Eragrostis tef* (Zucc.) Trotter). **Food Chemistry**, v. 335, p. 127331, 2021.

DUQUE-ESTRADA, P. et al. Oxidative stability of soy proteins: From ground soybeans to structured products. **Food Chemistry**, v. 318, p. 126499, 2020.

ESFAHANI, M. et al. Effects of pre-harvest application of parquat on grain moisture reduction, grain yield and quality of rapeseed (*Brassica napus* L.) cultivars. **Caspian Journal of Environmental Sciences**, v. 10, n. 1, p. 75–82, 2012.

FAO. **FAO Statistics**. Disponível em: <<https://www.fao.org/faostat>>. Acesso em: 19 out. 2022.

FAYE, B. et al. Potential impact of climate change on peanut yield in Senegal, West Africa. **Field Crops Research**, v. 219, n. July 2017, p. 148–159, 2018.

FERREIRA, C. D. et al. Quality of black beans as a function of long-term storage and moldy development: chemical and functional properties of flour and isolated protein. **Food Chemistry**, v. 246, n. 1, p. 473–480, 2017.

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.

GOUVEIA, Paulo R. Expansão da soja no Brasil: Causas, impactos e alternativas. **Revista Estudos Avançados em Economia Agrícola**, São Paulo, v. 34, n. 1, p. 1-24, 2020.

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.

HOFMAN, V. L.; HELLEVANG, K. J. Harvesting, Drying, and Storage of Sunflower. n. 35, p. 671–696, 2015.

HOU, A. et al. Genetic variability of seed sugar content in worldwide soybean germplasm collections. **Crop Science**, v. 49, n. 3, p. 903–912, 2009.

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, n. March, p. 8–14, 2018.

JALILI, M. et al. Soy isoflavones and cholecalciferol reduce inflammation, and gut permeability, without any effect on antioxidant capacity in irritable bowel syndrome: A randomized clinical trial. **Clinical Nutrition ESPEN**, v. 34, p. 50–54, 2019.

JAMES, A. T.; YANG, A. Interactions of protein content and globulin subunit composition of soybean proteins in relation to tofu gel properties. **Food Chemistry**, v. 194, p. 284–289, 2016.

JATI, I. R. A. P. Black Soybean Seed: Black Soybean Seed Antioxidant Capacity. Em: **Nuts and Seeds in Health and Disease Prevention**. Cambridge, Massachusetts, US Elsevier, 2020. p. 147–159.

JAYACHANDRAN, M.; XU, B. An insight into the health benefits of fermented soy products. **Food Chemistry**, v. 271, n. October 2017, p. 362–371, 2019.

JUNG, J. W. et al. Metabolomic variability of different soybean genotypes:  $\beta$ -carotene-enhanced (glycine max), wild (glycine soja), and hybrid (glycine max  $\times$  glycine soja) soybeans. **Foods**, v. 10, n. 10, 2021.

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

KAUR, K.; ASTHIR, B. Regulation of polyphenol catabolism in amelioration of high-temperature stress vis-a-vis antioxidant defense system in wheat. **Cereal Research Communications**, 2022.

LANG, G. H. et al. Influence of drying temperature on the structural and cooking quality properties of black rice. **Cereal Chemistry**, v. 95, n. 4, p. 564–574, 2018.

LAVANYA, M. N.; SAIKIRAN, K. C. S.; VENKATACHALAPATHY, N. Stabilization of rice bran milling fractions using microwave heating and its effect on storage. **Journal of Food Science and Technology**, v. 56, n. 2, p. 889–895, 2019.

LI, J. et al. Improvement of protein quality and degradation of allergen in soybean meal fermented by *Neurospora crassa*. **LWT**, v. 101, p. 220–228, 2019.

LIAO, X. et al. Changes in phenolic compounds and antioxidant activities of “nine steaming nine sun-drying” black soybeans before and after in vitro simulated gastrointestinal digestion. **Food Research International**, v. 162, 1 dez. 2022.

LINDEMANN, I. DA S. et al. Cowpea storage under nitrogen-modified atmosphere at different temperatures: Impact on grain structure, cooking quality, in vitro starch digestibility, and phenolic extractability. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 44, n. 3, 2020.

LIU, J. et al. Metabolism variation and better storability of dark- versus light-coloured soybean (*Glycine max* L. Merr.) seeds. **Food Chemistry**, v. 223, p. 104–113, 2017.

LIU, K.; MCWATTERS, K. H.; PHILLIPS, R. D. Protein Insolubilization and Thermal Destabilization during Storage As Related to Hard-To-Cook Defect in Cowpeas. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 40, n. 12, p. 2483–2487, 1992.

MEDIC, J.; ATKINSON, C.; HURBURGH, C. R., Jr. Current Knowledge in Soybean Composition. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 91, n. 3, p. 363–384, 2014.

MEENA, H. N.; MEENA, M.; YADAV, R. S. Comparative performance of seed types on yield potential of peanut (*Arachis hypogaea* L.) under saline irrigation. **Field Crops Research**, v. 196, p. 305–310, 2016.

MEIER, E. et al. Management practices that maximise gross margins in Australian canola (*Brassica napus* L.). **Field Crops Research**, v. 252, n. March, p. 107803, 2020.

MIN, C. W. et al. In-depth proteomic analysis of *Glycine max* seeds during controlled deterioration treatment reveals a shift in seed metabolism. **Journal of Proteomics**, v. 169, p. 125–135, 2017.

MOHAMMADI SHAD, Z.; ATUNGULU, G. G. Post-harvest kernel discoloration and fungi activity in long-grain hybrid, pureline and medium-grain rice cultivars as influenced by storage environment and antifungal treatment. **Journal of Stored Products Research**, v. 81, p. 91–99, 2019.

MÜLLER, A. et al. Rice Drying, Storage and Processing: Effects of Post-Harvest Operations on Grain Quality. **Rice Science**, v. 29, n. 1, p. 16–30, 2022.

NASAR-ABBAS, S. M. et al. Nitrogen retards and oxygen accelerates colour darkening in faba bean (*Vicia faba* L.) during storage. **Postharvest Biology and Technology**, v. 47, n. 1, p. 113–118, 2008.

NEFF, W. E. et al. Photooxidation of Soybean Oils as Affected by Triacylglycerol Composition and Structure 1. **JAACS (Journal of American Oil Chemist's Society)**, v. 70, n. 2, p. 163–167, 1993.

NISHINARI, K. et al. Soy proteins: A review on composition, aggregation and emulsification. **Food Hydrocolloids**, v. 39, p. 301–318, 2014.

POHNDORF, R. S. et al. Physical properties and effective thermal diffusivity of soybean grains as a function of moisture content and broken kernels. **Journal of Food Process Engineering**, v. 41, n. 1, p. 1–9, 2017.

PUBCHEM. PubChem. Disponível em: <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>>. Acesso em: 02 de abril 2024 .

QIAO, Y. et al. Fermented soybean foods: A review of their functional components, mechanism of action and factors influencing their health benefits. **Food Research International**, v. 158, 2022.

RAMOS, A. H. et al. Effects of the intensification of soybean defects: Degradation metabolism of carbohydrates, organic acids, proteins, lipids, and phenolics. **Journal of Food Processing and Preservation**, n. March, p. 1–13, 2021a.

RAMOS, A. H. et al. Effects of the intensification of soybean defects: consequences on the physicochemical, technological, protein and oil properties. **European Food Research and Technology**, n. 0123456789, 2021b.

RAMOS, A. H. et al. Red rice drying and storage: Effects on technological properties and phenolic compounds of the raw and cooked grains. **Journal of Cereal Science**, v. 103, p. 103405, 2021c.

REGITANO NETO, A. et al. Environmental effect on sunflower oil quality. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 16, n. 3, p. 197–204, 2016.

ROBERTSON, J. A.; CHAPMAN, G. W.; WILSON, R. L. Effect of moisture content of oil type sunflower seed on fungal growth and seed quality during storage. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 61, n. 4, p. 768–771, 1984.

SABERI RISEH, R. et al. Changes in the Activity of Enzymes Phenylalanine Ammonia-Lyase, Polyphenol Oxidase, and Peroxidase in Some Wheat Genotypes against Take-All Disease. **J. Agr. Sci. Tech**, v. 23, n. 4, p. 929–942, 2021.

SALAS, C. et al. On the surface interactions of proteins with lignin. **ACS Applied Materials and Interfaces**, v. 5, n. 1, p. 199–206, 2013.

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.

SHARMA, M.; BHASKAR, P. Phenolic compounds in whole-grains of wheat: a review. **T Appl. Biol. Chem. J**, v. 2, n. 1, p. 8–17, 2021.

SILVA, F. DE O. et al. Soybean meal and fermented soybean meal as functional ingredients for the production of low-carb, high-protein, high-fiber and high isoflavones biscuits. **LWT - Food Science and Technology**, v. 90, n. 2018, p. 224–231, 2018.

TAMAGNO, S. et al. Dynamics of oil and fatty acid accumulation during seed development in historical soybean varieties. **Field Crops Research**, v. 248, n. January, p. 107719, 2020.

TANG, C. Nanostructures of soy proteins for encapsulation of food bioactive ingredients. Em: **Biopolymer Nanostructures for Food Encapsulation Purposes**. Cambridge, Massachusetts, US Elsevier, 2019a. v. 1p. 247–285.

TANG, C. H. Nanostructured soy proteins: Fabrication and applications as delivery systems for bioactives (a review). **Food Hydrocolloids**, v. 91, n. September 2018, p. 92–116, 2019b.

THRANE, M. et al. Soy Protein: Impacts, Production, and Applications. Em: **Sustainable Protein Sources**. Cambridge, Massachusetts, US Elsevier Inc., 2017. p. 23–45.

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.

TSIMOGIANNIS, D.; OREOPOULOU, V. Classification of Phenolic Compounds in Plants. **Polyphenols in Plants**, p. 263–284, 2018.

VERFAILLIE, D. et al. A systematic study of the impact of the isoelectric precipitation process on the physical properties and protein composition of soy protein isolates. **Food Research International**, v. 163, 2023.

WAGGONER, D. C. et al. The role of reactive oxygen species in the degradation of lignin derived dissolved organic matter. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, v. 208, p. 171–184, 2017.

WALALLAWITA, W. K. U. S. et al. Comparison of Oxidative Stability of Sesame (*Sesamum Indicum*), Soybean (*Glycine Max*) and Mahua (Mee) (*Madhuca Longifolia*) Oils Against Photo-Oxidation and Autoxidation. **Procedia Food Science**, v. 6, p. 204–207, 2016.

WANG, S. et al. Case study of the relationship between fungi and bacteria associated with high-molecular-weight polycyclic aromatic hydrocarbon degradation. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 113, n. 5, p. 624–630, 2012.

WANG, Y. et al. In Vitro Fermentability of Soybean Oligosaccharides from Wastewater of Tofu Production. **Polymers**, v. 14, n. 9, 2022.

WIDOWATI, W. et al. Detam 1 black soybean against cisplatin-induced acute renal failure on rat model via antioxidant, antiinflammatory and antiapoptosis potential. **Journal of Traditional and Complementary Medicine**, v. 12, n. 4, p. 426–435, 2022.

WIJEWARDANA, C.; REDDY, K. R.; BELLALOU, N. Soybean seed physiology, quality, and chemical composition under soil moisture stress. **Food Chemistry**, v. 278, p. 92–100, 2019.

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

XU, 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.

YANG, H. et al. Germination-Assisted Enzymatic Hydrolysis Can Improve the Quality of Soybean Protein. **Journal of Food Science**, v. 82, n. 8, p. 1814–1819, 2017.

YANG, Z. et al. Effect of superheated steam treatment and extrusion on lipid stability of black soybean noodles during storage. **Food Control**, v. 132, 2022.

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.

YU, S.; PARK, H.; KIM, W. Anti-inflammaging effects of black soybean and black rice mixture extract by reprogramming of mitochondrial respirations in murine macrophages. **Journal of Functional Foods**, v. 94, 2022.

ZAREIE, Z.; TABATABAEI YAZDI, F.; MORTAZAVI, S. A. Development and characterization of antioxidant and antimicrobial edible films based on chitosan and gamma-aminobutyric acid-rich fermented soy protein. **Carbohydrate Polymers**, v. 244, n. May, p. 116491, 2020.

ZHANG, J. et al. Genome-wide Scan for Seed Composition Provides Insights into Soybean Quality Improvement and the Impacts of Domestication and Breeding. **Molecular Plant**, v. 11, n. 3, p. 460–472, 2018.

ZHU, X. et al. Soybean oligosaccharide, stachyose, and raffinose in broilers diets: effects on odor compound concentration and microbiota in cecal digesta. **Poultry Science**, v. 99, n. 7, p. 3532–3539, 2020.

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. H762–H768, 2016a.

ZIEGLER, V. et al. Effects of temperature and moisture during semi-hermetic storage on the quality evaluation parameters of soybean grain and oil. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 37, n. 1, p. 131–144, 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, p. 37–44, 2017.

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, p. 37–44, 1 mar. 2018.

ZIEGLER, V.; PARAGINSKI, R. T.; FERREIRA, C. D. Grain storage systems and effects of moisture, temperature and time on grain quality - A review. **Journal of Stored Products Research**, v. 91, p. 101770, 2021.

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

## **Apêndice**

Apêndice A. Análise de variância para o teor de acidez, atividade da enzima lipase e proteína solúvel em água e SDS.

| Efeitos principais                               | GL |              | Quadrado Médio   |                     |              |
|--------------------------------------------------|----|--------------|------------------|---------------------|--------------|
|                                                  |    |              | Proteína Solúvel |                     |              |
|                                                  |    |              | Acidez           | Atividade de lipase | Água         |
| Genótipo                                         | 2  | 3.12103333*  | 5.70680833*      | 2465.595633*        | 1125.267869* |
| Luminosidade                                     | 1  | 3.19217778*  | 3.51562500*      | 390.721111*         | 123.136011*  |
| Genótipo × Luminosidade                          | 2  | 0.43124444*  | 0.64665833*      | 19.153011*          | 5.278803NS   |
| Tempo de armazenamento                           | 2  | 11.20863333* | 2.60960833*      | 1762.728533*        | 749.137544*  |
| Genótipo × Tempo de armazenamento                | 4  | 0.38926667*  | 0.31735417*      | 141.657417*         | 61.352465*   |
| Luminosidade × Tempo de armazenamento            | 2  | 0.80457778*  | 1.76725833*      | 97.800278*          | 31.719211*   |
| Genótipo × Luminosidade × Tempo de armazenamento | 4  | 0.12244444NS | 0.51795417*      | 10.576228*          | 2.256290NS   |
| Repetição                                        | 2  | 0.01690000NS | 0.00722500NS     | 0.048400NS          | 0.141878NS   |
| CV (%)                                           |    | 3.148125     | 3.621454         | 3.769209            | 4.139217     |
| Erro                                             |    | 1.06440000   | 0.09392500       | 50.916500           | 25.449422    |

\*Efeito significativo; NS = Efeito não significativo; GL = Grau de liberdade; CV = Coeficiente de variação

## Apêndice B. Análise da variância para o perfil colorimétrico.

| Efeitos principais              | Quadrado Médio |                      |              |              |
|---------------------------------|----------------|----------------------|--------------|--------------|
|                                 | GL             | Perfil Colorimétrico |              |              |
|                                 |                | a*-value             | b*-value     | L*-value     |
| Genótipo                        | 2              | 1946.838516*         | 11867.53878* | 31244.46270* |
| Luminosidade                    | 1              | 16.356436*           | 98.10878*    | 26.43644*    |
| Genótipo × Luminosidade         | 2              | 4.906649*            | 39.17135*    | 68.01769*    |
| Tempo                           | 2              | 0.012169NS           | 154.17905*   | 60.69128*    |
| Genótipo × Tempo                | 4              | 0.528869NS           | 41.93346*    | 134.41784*   |
| Luminosidade × Tempo            | 2              | 0.277769NS           | 39.26308*    | 22.33503*    |
| Genótipo × Luminosidade × Tempo | 4              | 0.354339NS           | 11.85183*    | 34.14992*    |
| Repetição                       | 2              | 0.546269NS           | 3.12886NS    | 5.42963NS    |
| CV (%)                          |                | 11.09284             | 9.506275     | 5.303719     |
| Erro                            |                | 56.123480            | 359.59728    | 719.20157    |

\*Efeito significativo; NS = Efeito Não-Significativo; GL = Graus de liberdade; CV = Coeficiente de variação

Apêndice C. Análise da variância para os compostos fenólicos livres (continua).

| Efeitos Principais                    | GL | Quadrado Médio |                             |                       |                         |
|---------------------------------------|----|----------------|-----------------------------|-----------------------|-------------------------|
|                                       |    | Ácido vanílico | Glucosídeo de aromadendrina | Ácido Hidroxibenzóico | Kaempferol ramnosídeo 2 |
| Genótipo                              | 2  | 810.435733*    | 283205.0875*                | 2051.535169*          | 103221.8201*            |
| Luminosidade                          | 1  | 28.444444*     | 240.8187*                   | 163.498844*           | 2278.4711*              |
| Genótipo × Luminosidade               | 2  | 21.013878*     | 110.8781NS                  | 127.761719*           | 428.7700*               |
| Tempo de armazenamento                | 2  | 132.867633*    | 250.6156*                   | 80.076053*            | 11138.9599*             |
| Genótipo × Tempo de armazenamento     | 4  | 86.700992*     | 485.5794*                   | 129.153240*           | 47.8037NS               |
| Luminosidade × Tempo de armazenamento | 2  | 21.194444*     | 277.7629*                   | 52.223786*            | 968.9018*               |
| Genótipo × Luminosidade × Tempo       | 4  | 13.103478*     | 235.2651*                   | 50.538599*            | 271.9653*               |
| Repetição                             | 2  | 4.188844NS     | 96.4651NS                   | 0.013611NS            | 22.4992NS               |
| CV (%)                                |    | 4.681.466      | 3.976.504                   | 7.811.635             | 3.975.797               |
| Erro                                  |    | 14.515.556     | 8.758.485                   | 12.968.889            | 10.338.190              |

\*Efeito significativo; NS = Efeito Não-Significativo; GL = Graus de liberdade; CV = Coeficiente de variação

Apêndice C. Análise da variância para os compostos fenólicos livres (conclusão).

| Efeitos Principais                    | GL | Quadrado Médio          |                 |              |                      |
|---------------------------------------|----|-------------------------|-----------------|--------------|----------------------|
|                                       |    | Kaempferol diglucosídeo | Licoagroside b2 | Kaempferol   | Ácido Protocatecuico |
| Genótipo                              | 2  | 23166.23043*            | 239.7264694*    | 0.53303333*  | 22.106503*           |
| Luminosidade                          | 1  | 14.63063NS              | 20.1002778NS    | 0.00217778NS | 21.406044*           |
| Genótipo × Luminosidade               | 2  | 9.28083NS               | 13.8669694NS    | 0.01481111NS | 29.828953*           |
| Tempo de armazenamento                | 2  | 215.28006*              | 43.8528361*     | 0.12403333*  | 933.209878*          |
| Genótipo × Tempo de armazenamento     | 4  | 274.84957*              | 46.8915403*     | 0.08441667*  | 44.575382*           |
| Luminosidade × Tempo de armazenamento | 2  | 28.06792NS              | 8.9238694NS     | 0.00617778NS | 5.71901*             |
| Genótipo × Luminosidade × Tempo       | 4  | 23.96951NS              | 4.5372986NS     | 0.00406111NS | 24.890357*           |
| Repetição                             | 2  | 3.84814NS               | 14.2884NS       | 0.0100NS     | 4.636844NS           |
| CV (%)                                |    | 4.648.414               | 4.500.551       | 4.824.408    | 4.057.332            |
| Erro                                  |    | 13.508.671              | 954.583         | 0.2145       | 18.153.856           |

\*Efeito significativo; NS = Efeito Não-Significativo; GL = Graus de liberdade; CV = Coeficiente de variação

Apêndice D - Análise da variância para os compostos fenólicos ligados (continua).

| Efeitos Principais              | GL | Quadrado Médio |              |                |             |
|---------------------------------|----|----------------|--------------|----------------|-------------|
|                                 |    | Ácido cafeico  | Catequina    | Ácido Ferúlico | Quercetina  |
| Genótipo                        | 2  | 103.0907444*   | 12447.12111* | 11427.80727*   | 98.9698083* |
| Luminosidade                    | 1  | 0.40960*       | 10.240*      | 160.69788*     | 0.0756250NS |
| Genótipo × Luminosidade         | 2  | 0.409600*      | 10.240*      | 138.65114*     | 0.0871583*  |
| Tempo                           | 2  | 6.2973694*     | 64.61818*    | 73.57861*      | 0.4680250*  |
| Genótipo × Tempo                | 4  | 3.5916694*     | 64.61818*    | 487.85780*     | 0.7273583*  |
| Luminosidade × Tempo            | 2  | 0.1208083*     | 16.47053*    | 40.73348*      | 0.0189083NS |
| Genótipo × Luminosidade × Tempo | 4  | 0.1208083*     | 16.47053*    | 58.42947*      | 0.2077667*  |
| Repetição                       | 2  | 0.0160444NS    | 4.60818NS    | 2.86738NS      | 0.0014694NS |
| CV (%)                          |    | 4.503.698      | 6.555.162    | 5.148.084      | 7.351.341   |
| Erro                            |    | 0.1644556      | 2.525.702    | 17.405.112     | 0.3034806   |

\*Efeito significativo; NS = Efeito Não-Significativo; GL = Graus de liberdade; CV = Coeficiente de variação

Apêndice D - Análise da variância para os compostos fenólicos ligados (continua).

| Efeitos Principais              | GL | Quadrado Médio |                   |                 |
|---------------------------------|----|----------------|-------------------|-----------------|
|                                 |    | Ácido vanílico | Ácido p-coumárico | Ácido Siríngico |
| Genótipo                        | 2  | 11818.55142*   | 80.5207111*       | 20000.63274*    |
| Luminosidade                    | 1  | 122.17618*     | 0.0136111NS       | 42.46694NS      |
| Genótipo × Luminosidade         | 2  | 178.390*       | 0.0136111NS       | 9.33288NS       |
| Tempo de armazenamento          | 2  | 51.05929*      | 0.0514111*        | 65.91534*       |
| Genótipo × Tempo                | 4  | 327.43919*     | 0.0514111*        | 170.83626NS     |
| Luminosidade × Tempo            | 2  | 34.56925*      | 0.0250778*        | 23.49214NS      |
| Genótipo × Luminosidade × Tempo | 4  | 94.71175*      | 0.0250778*        | 52.65688*       |
| Repetição                       | 2  | 10.69290NS     | 0.0075111NS       | 45.83290NS      |
| CV (%)                          |    | 2.362.607      | 4.115.082         | 4.959.528       |
| Erro                            |    | 10.150.610     | 0.0643889         | 27.697.590      |

\*Efeito significativo; NS = Efeito Não-Significativo; GL = Graus de liberdade; CV = Coeficiente de variação

Apêndice D - Análise da variância para os compostos fenólicos ligados (continua).

| Efeitos Principais              | GL | Quadrado Médio              |                       |                         |
|---------------------------------|----|-----------------------------|-----------------------|-------------------------|
|                                 |    | Glucosídeo de aromadendrina | Ácido Hidroxibenzóico | Kaempferol ramnosídeo 2 |
| Genótipo                        | 2  | 6865.42203*                 | 31935.58343*          | 468.0290361*            |
| Luminosidade                    | 1  | 1.53760NS                   | 9.19100NS             | 18.9370028*             |
| Genótipo × Luminosidade         | 2  | 140.36417*                  | 38.13934*             | 30.0548861*             |
| Tempo                           | 2  | 848.99376*                  | 377.81477*            | 153.9532028*            |
| Genótipo × Tempo                | 4  | 1022.24102*                 | 179.11748*            | 45.3301153*             |
| Luminosidade × Tempo            | 2  | 3.59808NS                   | 106.93435*            | 12.7457528*             |
| Genótipo × Luminosidade × Tempo | 4  | 38.79159*                   | 294.46777*            | 66.6351986*             |
| Repetição                       | 2  | 7.04018NS                   | 6.12563NS             | 0.2826694NS             |
| CV (%)                          |    | 3.884.131                   | 4.708.739             | 3.819.984               |
| Erro                            |    | 7.520.272                   | 3.948.903             | 6.883.681               |

\*Efeito significativo; NS = Efeito Não-Significativo; GL = Graus de liberdade; CV = Coeficiente de variação

Apêndice D - Análise da variância para os compostos fenólicos ligados (conclusão).

| Efeitos Principais              | GL | Quadrado Médio          |              |                      |
|---------------------------------|----|-------------------------|--------------|----------------------|
|                                 |    | Kaempferol diglucosídeo | Kaempferol   | Ácido Protocatecuico |
| Genótipo                        | 2  | 2.53280833*             | 28166.64880* | 81017.9382*          |
| Luminosidade                    | 1  | 0.01246944NS            | 1096.71361*  | 850.4028*            |
| Genótipo × Luminosidade         | 2  | 0.00480278NS            | 1078.10547*  | 932.1887*            |
| Tempo                           | 2  | 0.04690833*             | 2413.36121*  | 2822.7716*           |
| Genótipo × Tempo                | 4  | 0.00517917NS            | 2192.25741*  | 1685.8561*           |
| Luminosidade × Tempo            | 2  | 0.00511944NS            | 276.40581*   | 306.6527*            |
| Genótipo × Luminosidade × Tempo | 4  | 0.00609028NS            | 271.69731*   | 258.9049*            |
| Repetição                       | 2  | 0.03673611NS            | 32.94760ns   | 15.4318NS            |
| CV (%)                          |    | 4.446.535               | 7.542.363    | 4.374.791            |
| Erro                            |    | 0.08311389              | 8.958.640    | 2.216.283            |

\*Efeito significativo; NS = Efeito Não-Significativo; GL = Graus de liberdade; CV = Coeficiente de variação

Apêndice E – Análise de variância para o perfil de isoflavonas (continua).

| Efeitos Principais              | GL | Quadrado Médio |              |              |
|---------------------------------|----|----------------|--------------|--------------|
|                                 |    | Daidzeína      | Genisteína   | Gliciteína   |
| Genótipo                        | 2  | 165.9234722*   | 0.00047639*  | 0.00000272*  |
| Luminosidade                    | 1  | 2.31125*       | 0.00003472*  | 0.00000139NS |
| Genótipo × Luminosidade         | 2  | 2.31125*       | 0.00004306*  | 0.00000039NS |
| Tempo                           | 2  | 4.7972097*     | 0.00004306*  | 0.00000606*  |
| Genótipo × Tempo                | 4  | 4.7972097*     | 0.00009931*  | 0.00000072NS |
| Luminosidade × Tempo            | 2  | 2.5158292*     | 0.00009306*  | 0.00000072NS |
| Genótipo × Luminosidade × Tempo | 4  | 2.5158292*     | 0.00003264*  | 0.00000022NS |
| Repetição                       | 2  | 0.0138889NS    | 0.00000139NS | 0.00000050NS |
| CV (%)                          |    | 9.416.964      | 2.788.402    | 3.337.417    |
| Erro                            |    | 10.831.111     | 0.00042361   | 0.00002850   |

\*Efeito significativo; NS = Efeito Não-Significativo; GL = Graus de liberdade; CV = Coeficiente de variação

Apêndice E – Análise de variância para o perfil de isoflavonas (continua).

| Efeitos Principais              | GL | Quadrado Médio |              |             |
|---------------------------------|----|----------------|--------------|-------------|
|                                 |    | Glicitina      | Daidzina     | Genistina   |
| Genótipo                        | 2  | 1.01217639*    | 13.11234306* | 4.34039306* |
| Luminosidade                    | 1  | 0.01531250*    | 0.02880000*  | 0.00405*    |
| Genótipo × Luminosidade         | 2  | 0.00195417*    | 0.00940417*  | 0.00496250* |
| Tempo                           | 2  | 0.00756806*    | 0.05005972*  | 0.01715556* |
| Genótipo × Tempo                | 4  | 0.02167014*    | 0.04299931*  | 0.01321597* |
| Luminosidade × Tempo            | 2  | 0.00968750*    | 0.00753750*  | 0.001350*   |
| Genótipo × Luminosidade × Tempo | 4  | 0.00083542NS   | 0.00618542*  | 0.00716875* |
| Repetição                       | 2  | 0.00086806NS   | 0.00005NS    | 0.001250NS  |
| CV (%)                          |    | 4.940.601      | 2.636.201    | 2.281.707   |
| Erro                            |    | 0.02755694     | 0.07750      | 0.01415     |

\*Efeito significativo; NS = Efeito Não-Significativo; GL = Graus de liberdade; CV = Coeficiente de variação

Apêndice E – Análise de variância para o perfil de isoflavonas (conclusão).

| Efeitos Principais              | GL | Quadrado Médio   |                   |                   |
|---------------------------------|----|------------------|-------------------|-------------------|
|                                 |    | Malonil Daidzina | Malonil Genistina | Malonil Glicitina |
| Genótipo                        | 2  | 0.53390417*      | 1.45394306*       | 0.07870556*       |
| Luminosidade                    | 1  | 0.00605000*      | 0.01445*          | 0.00011250NS      |
| Genótipo × Luminosidade         | 2  | 0.00240417*      | 0.00292917*       | 0.00001667NS      |
| Tempo                           | 2  | 0.03087917*      | 0.11994306*       | 0.00725972*       |
| Genótipo × Tempo                | 4  | 0.00732083*      | 0.01972639*       | 0.00303889*       |
| Luminosidade × Tempo            | 2  | 0.00177917*      | 0.00402917*       | 0.00048750*       |
| Genótipo × Luminosidade × Tempo | 4  | 0.00068333*      | 0.00578333*       | 0.00016667*       |
| Repetição                       | 2  | 0.00013889NS     | 0.00008889NS      | 0.00003472NS      |
| CV (%)                          |    | 3.897.328        | 4.255.093         | 7.056.674         |
| Erro                            |    | 0.00306111       | 0.01531111        | 0.00179028        |

\*Efeito significativo; NS = Efeito Não-Significativo; GL = Graus de liberdade; CV = Coeficiente de variação