



UNIVERSIDADE  
ESTADUAL DE LONDRINA

---

NEIDE KIYOKO KONDO KAMIZAKE

**EFEITO DO ENVELHECIMENTO DE SOJA (*Glycine max*)  
SOBRE AS PROPRIEDADES FÍSICAS E QUÍMICAS DOS  
GRÃOS, EXTRATOS E TOFUS E CARACTERÍSTICAS  
SENSORIAS DOS TOFUS**

NEIDE KIYOKO KONDO KAMIZAKE

**EFEITO DO ENVELHECIMENTO DE SOJA (*Glycine max*)  
SOBRE AS PROPRIEDADES FÍSICAS E QUÍMICAS DOS  
GRÃOS, EXTRATOS E TOFUS E CARACTERÍSTICAS  
SENSORIAS DOS TOFUS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos da Universidade Estadual de Londrina como requisito para obtenção do título de Doutor em Ciência de Alimentos.

Orientadora: Profa. Dra. Sandra Helena Prudêncio.

Londrina  
2012

## Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

k15e Kamizake, Neide Kiyoko Kondo.  
Efeito do envelhecimento de soja (*Glycine max*) sobre as propriedades físicas e químicas dos grãos, extratos e tofus e características sensoriais dos tofus / Neide Kiyoko Kondo Kamizake. – Londrina, 2012.  
xviii, 178 f. : il.

Orientadora: Sandra Helena Prudencio.

Dissertação (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos, 2012.

Inclui bibliografia.

1. Microscopia eletrônica de varredura – Teses. 2. Salubridade de proteínas – Teses. 3. Concentração – Coagulantes – Teses. 4. Textura – Perfil. I. Prudencio, Sandra Helena. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos. IV. Título.

CDU 641.002.61

NEIDE KIYOKO KONDO KAMIZAKE

**EFEITO DO ENVELHECIMENTO DE SOJA (*Glycine max*) SOBRE AS  
PROPRIEDADES FÍSICAS E QUÍMICAS DOS GRÃOS, EXTRATOS E  
TOFUS E CARACTERÍSTICAS SENSORIAS DOS TOFUS**

Tese apresentada ao Programa de Pós  
graduação em Ciência de Alimentos da  
Universidade Estadual de Londrina como  
requisito para obtenção do título de Doutor  
em Ciência de Alimentos

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Sandra Helena Prudencio  
UEL – Londrina - PR

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Silvia Renata M. Coelho  
UNIOESTE – Cascavel - PR

---

Prof. Dr. Marcelo Álvares de Oliveira  
EMBRAPA – Soja - Londrina

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Josemeyre Bonifácio da Silva  
UEL – Londrina - PR

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Marta de Toledo Benassi  
UEL – Londrina - PR

Londrina, 05 de dezembro de 2012

## **Dedico**

Ao Luiz Antonio, meu esposo,  
aos meus filhos Augusto e Natalia, que são  
presentes de Deus na minha vida.  
Aos meus parentes e amigos que sempre  
me apoiaram e torceram por mais esta  
vitória conquistada.

## AGRADECIMENTOS

Ao **DEUS** soberano, que me deu força, ajuda e sustento com a sua destra fiel em cada etapa deste trabalho, por isso somente a **DEUS** toda a honra, glória e louvor agora e sempre, amém.

À orientadora professora Dra. SANDRA HELENA PRUDENCIO, pela sua disposição, dedicação, profissionalismo e amizade durante a orientação deste trabalho.

Ao Departamento de Química da Universidade Estadual de Londrina que, por meio do Programa de Capacitação de Docentes, contribuiu para a realização do mesmo.

À Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudo.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos da UEL, pela contribuição e seriedade na formação profissional.

À EMBRAPA - SOJA - LONDRINA e a Cooperativa de Sementes Vilela, pela doação das amostras de soja.

Aos professores e funcionários do Departamento de Química que contribuíram e apoiaram para a realização deste trabalho, em especial, a sub área de Química Analítica.

À estagiária LILIAN CATARINI PEREIRA DA SILVA, pela dedicação e contribuição durante todo o trabalho experimental.

Aos professores Drs. DIONISIO BORSATO e FÁBIO YAMASHITA, pelo auxílio e ensino na utilização do Programa Statistica.

À Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. GENI DA SILVA VARÉA pela orientação na utilização da técnica de eletroforese.

Aos professores DIMAS AUGUSTO MOROZIN ZAIA, JÉFERSON MORICNI CESÁRIO e CARLOS ALBERTO PAULLINETE CÂMARA que sempre me apoiaram para que este trabalho se cumprisse.

Aos Técnicos e funcionários do Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos: Neusa, Nelson, Marly, Maria Alice, Célia, Alessandra, Patrícia, Rubens, Marília e Sandra Resende.

Aos integrantes da equipe sensorial de Análise Descritiva Quantitativa: Ana E. Pereti de Mattos, Caroline Maria Calliari, Cíntia Ladeira Handa, Dalva Iamamura, Cléverson I. Shimizu, Denis F. Marchi, Douglas Xavier dos Santos, Lissa M. Y. Tomiyoshi, Luciane Y. Yoshiara, Márcia M. S. Souza, Mariane Shirai, Neusa Cassula Santos, Thiago Montagner Souza, Tiago B. Madeira, Willian Ridequi Messias Kodama.

À minha **FAMÍLIA**, que muitas vezes tive que estar ausente por motivo de força maior devido às muitas lutas e tribulações durante esta jornada.

A maravilhosa sabedoria dos desígnios divinos

Ó profundidade da riqueza, tanto da sabedoria como do conhecimento de Deus! Quão insondáveis são os seus juízos, e quão inescrutáveis, os seus caminhos!

Quem, pois, conheceu a mente do Senhor? Ou quem foi o seu conselheiro?

Ou quem primeiro deu a ele para que lhe venha a ser restituído?

Porque Dele, e por meio Dele, e para Ele são todas as coisas. A Ele, pois, a glória eternamente. Amém!

(ROMANOS, 11. 33-36)

KAMIZAKE, Neide Kiyoko Kondo. **Efeito do envelhecimento de soja (*Glycine max*) sobre as propriedades físicas e químicas dos grãos, extratos e tofus e características sensoriais dos tofus**. 2012. 178 f. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual de Londrina. Londrina – PR.

## RESUMO

Após a colheita, muitas vezes, a soja é armazenada em temperatura e umidade relativa (UR) ambiente e não controlada, resultando no envelhecimento e perda da qualidade dos grãos. Os objetivos deste trabalho foram investigar as alterações físicas e químicas nos grãos, extratos e tofus em função do envelhecimento dos grãos de soja das cultivares Coodetec 214 e BRS 267 e avaliar as consequências do envelhecimento dos grãos na concentração de coagulante ( $MgSO_4$ ), nas características sensoriais (aparência, aroma, sabor e textura) e na aceitação de tofus. Grãos de soja foram armazenados em três condições: envelhecimento acelerado (EA): 30 °C e 84% UR até nove meses; envelhecimento natural (EN): temperatura e UR ambiente (variação no período = 17,3 a 24,5 °C e 59 a 93% UR) até 18 meses e controle (C): -20 °C e 47% UR. O armazenamento em cada condição foi conduzido em duplicata. As avaliações realizadas na soja foram: micrografia eletrônica de varredura (MEV) da casca e dos cotilédones, taxa de sorção de água e umidade de equilíbrio durante a hidratação dos grãos, medida instrumental de cor dos grãos inteiros e moídos e de dureza dos grãos cozidos, composição centesimal, mineral (Ca, Mg, P), teor de fitatos, compostos fenólicos totais, solubilidade das proteínas e capacidade de absorção e retenção de água pelos grãos moídos. Os extratos foram obtidos pelo método semi-kanetsu-shibori e tiveram a cor e a composição química determinadas. Para o preparo dos tofus, determinou-se a concentração ótima do coagulante (COC) por titulometria. Os tofus foram caracterizados por medida instrumental de cor e perfil de textura, análise sensorial (Análise Descritiva Quantitativa - ADQ) empregando-se 13 julgadores treinados, e a aceitação avaliada por escala hedônica e 110 consumidores. Os dados foram tratados por ANOVA, teste de Tukey, análise de correlação de Pearson ( $p \leq 0,05$ ) e Análise de Componentes Principais. Ao longo do período de estocagem EA e EN observaram-se o escurecimento dos grãos inteiros e moídos, as superfícies das células paliçádicas do cotilédone tornaram-se rugosas e murchas, a taxa de sorção de água e a dureza dos grãos cozidos aumentaram e a umidade de equilíbrio diminuiu, o teor de fitatos não variou, compostos fenólicos totais e acidez aumentaram, lipídeos, pH, capacidade de absorção de água e solubilidade das proteínas diminuíram. O padrão eletroforético das proteínas dos grãos variou somente para a condição EA a partir de 8 meses. Os extratos de soja das condições EA e EN apresentaram-se mais escuros e com menor conteúdo de sólidos que o controle ao longo do tempo. A COC diminuiu com aumento da temperatura de coagulação e tempo de envelhecimento, e apresentou correlação positiva com conteúdo de sólidos totais, proteínas, cinzas, Ca, Mg e P dos extratos de soja. Houve diminuição do rendimento e dos parâmetros de cor ( $L^*$  e  $h^\circ$ ), proteínas, lipídios, carboidratos, cinzas, Ca, Mg, P, fraturabilidade, dureza, elasticidade, coesividade, gomosidade e aumento da adesividade dos tofus com o tempo de envelhecimento dos grãos. Por meio da ADQ os tofus de soja controle foram caracterizados pela cor clara, uniforme e brilhante, aparência coesa, aroma e sabor

adocicado e textura firme e elástica, enquanto os tofus de soja da condição EA (6 meses) apresentaram cor cinza, com manchas escuras, aparência rugosa, aroma e sabor fermentado, sabor rançoso, adstringente, amargo, textura fraturável, mas com aderência na cavidade oral após a mastigação. Os tofus de soja da condição EN (18 meses) apresentaram atributos sensoriais com intensidades intermediárias aos do controle e EA. A preferência pelos tofus da soja controle foi justificada pela suas características de aparência, aroma, sabor e textura.

**Palavras-chave:** Microscopia eletrônica de varredura. Solubilidade de proteínas. Concentração ótima de coagulante. Cor. Perfil de textura. Análise descritiva quantitativa.

KAMIZAKE, Neide Kiyoko Kondo. **Effect of aging of soybean (*Glicine max*) on the physical and chemical properties of the grains, soymilks and tofus and sensorial characteristics of tofu.** 2012. 178 f. Thesis (Doctor's degree in Food Science) - University of Londrina. Londrina - PR.

## ABSTRACT

After the harvest, the soybeans are often stored in temperature and relative humidity (RH) environment and uncontrolled, resulting in aging and loss of grain quality. Main goals of this study were to investigate the physical and chemical changes in the grains, soy milks and tofus due to the aging of soybean cultivars Coodetec 214 and BRS 267, the effect of aging the grain on coagulant concentration ( $\text{MgSO}_4$ ), sensory characteristics (appearance, aroma, flavor and texture) and acceptance of tofu. Soybeans were stored under three conditions: accelerated aging (EA), 30 °C, 84% RH, nine months; natural aging (EN), room temperature, RH (range in the period = 17.3 at 24.5 °C and 59 at 93% RH), 18 months and control (C), -20 °C and 47% RH. Storage in each condition was performed in duplicate. The following evaluations were performed in the samples: scanning electron micrograph (SEM) of the hull and cotyledons, water sorption rate and equilibrium moisture during grain hydration, instrumental color measurement of whole and ground grains and hardness of cooked soybean, proximate composition, minerals (Ca, Mg, P), phytate content, total phenolic, protein solubility and absorption and retention of water by ground grain. The soy milks were obtained by the method semi-kanetsu-shibori and had the color and chemical composition were determined. To prepare tofu, the optimum concentration of coagulant (COC) was measured by the titration method. The tofu was characterized by measuring: color and texture profile, sensory analysis (Quantitative Descriptive Analysis - QDA) employed by 13 trained judges, and acceptance evaluated by hedonic scale and 110 consumers. The data were treated by ANOVA, Tukey test, Pearson correlation analysis ( $p \leq 0.05$ ) and Principal Component Analysis. Throughout the storage period AA and NA observed darkening of whole and ground grains, the surfaces of the palisade cells of the cotyledons became rough and wilted, the water sorption rate and hardness of cooked grains increased and equilibrium moisture content decreased, the content of phytate not varied, total phenolic and acidity increased, lipids, pH, water absorption capacity and proteins solubility decreased. The protein electrophoretic patterns changed only for the AA condition after 8 months. The soy milks of AA and NA conditions were more dark and with lower solids content than control over time. The COC decreased with increasing temperature of coagulation and aging time, and it was positively correlated with total solids content, protein, ash, Ca, Mg and P of aqueous extracts. There was a reduction in yield and color parameters ( $L^*$  and  $h^\circ$ ), proteins, lipids, carbohydrates, ash, Ca, Mg, P, brittleness, hardness, elasticity, cohesiveness, gumminess and increased adhesiveness of tofu with the aging time. The QDA indicated that tofus of soybean control characterized by light color, bright and uniform, cohesive appearance, sweet aroma and taste and firm and elastic texture, while the tofus of soybean condition AA (6 months) have gray color with dark spots, appearance rough, fermented aroma and flavor, rancid taste, astringent, bitter, brittle texture, but with adherence in the mouth after chewing. The tofus of soybean condition NA (18 months) showed sensory attributes with intermediate intensities to

control and AA. The preference for tofu soybean control was justified by the characteristics of appearance, aroma, flavor and texture.

**Keywords:** Scanning electron microscopy. Protein solubility. Optimum concentration of coagulant. Color. Texture profile. Quantitative descriptive analysis.

## LISTA DE QUADROS

### REVISÃO BIBLIOGRÁFICA E MATERIAL E MÉTODOS

<b>Quadro 1</b> - Produção de soja nos últimos seis anos.....	26
<b>Quadro 2</b> - Principais países importadores de soja no período de 2007 a 2012.....	26
<b>Quadro 3</b> - Principais países exportadores de soja no período de 2007 a 2012.....	27
<b>Quadro 4</b> - Principais países processadores (moagem) de soja no período de 2007 a 2012.....	28
<b>Quadro 5</b> - Estoque de soja remanescente no período de 2007 a 2012.....	28
<b>Quadro 6</b> - Soluções para teste de identificação de gostos.....	59
<b>Quadro 7</b> - Amostras utilizadas para o teste de ordenação de intensidade de dureza e os valores medidos no texturômetro.....	61
<b>Quadro 8</b> - Amostras utilizadas para o teste de ordenação de cor e os valores obtidos em colorímetro digital.....	62
<b>Quadro 9</b> - Modelo de ficha para levantamento de terminologia descritiva.....	63
<b>Quadro 10</b> - Descritores, definições e referências utilizados para a Análise Descritiva Quantitativa de tofus formulados a partir de sojas Coodetec 214 e BRS 267 armazenadas em diferentes condições.....	64

### ARTIGO 4

<b>Quadro 1</b> - Descritores, definições e referências utilizados para a Análise Descritiva Quantitativa de tofus formulados a partir de sojas Coodetec 214 e BRS 267 armazenadas em diferentes condições.....	141
---	-----

## LISTA DE FIGURAS

### REVISÃO BIBLIOGRÁFICA E MATERIAL E MÉTODOS

<b>Figura 1</b> - Esquema de obtenção do extrato de soja e tofu .....	34
<b>Figura 2</b> - Modelo de ficha de reconhecimento de gostos básicos .....	60
<b>Figura 3</b> - Modelo de ficha de reconhecimento de odores .....	60
<b>Figura 4</b> - Modelo de ficha de ordenação de intensidade de dureza .....	61
<b>Figura 5</b> - Modelo de ficha de ordenação de intensidade de cor .....	62
<b>Figura 6</b> - Modelo de ficha de avaliação de tofus por ADQ com escalas não estruturadas de 9 cm .....	65
<b>Figura 7</b> - Ficha de teste de aceitação com escala hedônica de 11 pontos.....	67

### ARTIGO CIENTÍFICO 1

<b>Figura 1</b> - Micrografias das células paliçádicas de cotilédones de grãos de soja armazenadas nas condições de controle, EA (6 meses) e EN (18 meses).....	82
<b>Figura 2</b> - Micrografias das células paliçádicas da casca dos grãos de soja armazenadas nas condições de controle, EA (6 meses) e EN (18 meses).....	83
<b>Figura 3</b> - Cinética de sorção de água durante a hidratação dos grãos de soja armazenados nas condições de controle, EA e EM .....	85

### ARTIGO CIENTÍFICO 2

<b>Figura 1</b> - Curva de solubilidade protéica em água em função do tempo de armazenamento dos grãos de soja .....	106
<b>Figura 2</b> - Perfil de solubilidade protéica em diferentes pHs das cultivares de soja Coodetec 214, armazenadas na condição de EA .....	107
<b>Figura 3</b> - Perfil de solubilidade protéica em diferentes pHs das cultivares de soja Coodetec 214, armazenadas na condição de EN .....	107

<b>Figura 4</b> - Perfil de solubilidade protéica em diferentes pHs das cultivares de soja BRS 267, armazenadas na condição de EA .....	108
<b>Figura 5</b> - Perfil de solubilidade protéica em diferentes pHs das cultivares de soja BRS 267, armazenadas na condição de EN .....	108
<b>Figura 6</b> - Eletroforese em gel de SDS-PAGE das proteínas da cultivar de soja Coodetec 214 em função do EA e EN .....	110
<b>Figura 7</b> - Eletroforese em gel de SDS-PAGE das proteínas da cultivar de soja BRS 267 em função do EA e EN .....	111

### **ARTIGO CIENTÍFICO 3**

<b>Figura 1</b> - Concentração ótima do coagulante em função da temperatura de coagulação dos extratos de soja formulados a partir de sojas armazenadas nas condições de controle, EA (9 meses) e EN (18 meses).....	124
<b>Figura 2</b> - Coágulo protéico de extrato de soja com solução de $MgSO_4 \cdot 7 H_2O$ a 20 % em função do tempo e condição de EA .....	131
<b>Figura 3</b> - Coágulo protéico de extrato de soja com solução de $MgSO_4 \cdot 7 H_2O$ 20% em função do tempo e condição de EN .....	132

### **ARTIGO CIENTÍFICO 4**

<b>Figura 1</b> - Gráficos obtidos na Análise de Componentes Principais da ADQ de tofus formulados a partir de sojas armazenadas sob condições controle, EA (6 meses) EN (18 meses) .....	149
---	-----

## LISTA DE TABELAS

### ARTIGO 1

- Tabela 1** - Parâmetros de cor dos grãos inteiros das cultivares de soja Coodetec 214 e BRS 267 armazenados em diferentes condições.....79
- Tabela 2** - Parâmetros de cor dos grãos moídos das cultivares de soja Coodetec 214 e BRS 267 armazenados em diferentes condições.....80
- Tabela 3** - Taxa de sorção de água (S) e umidade de equilíbrio (X<sub>eq</sub>) de soja das cultivares Coodetec 214 e BRS 267 durante a hidratação dos grãos em função das condições de armazenamento.....87
- Tabela 4** - Dureza dos grãos cozidos das cultivares de soja Coodetec 214 e BRS 267, em diferentes condições de armazenamento.....88

### ARTIGO 2

- Tabela 1** - Composição química da soja Coodetec 214 envelhecida ..... 100
- Tabela 2** - Composição química da soja BRS 267 envelhecida ..... 101
- Tabela 3** - Capacidade de absorção e retenção de água, teor de fitatos e compostos fenólicos das cultivares de soja Coodetec 214 e BRS 267 envelhecidas ..... 103
- Tabela 4** - Valores de pH e acidez titulável das cultivares de soja Coodetec 214 e BRS 267 envelhecidas ..... 105

### ARTIGO 3

- Tabela 1** - Características físicas e químicas do extrato de soja Coodetec 214 em função das condições de armazenamento ..... 122
- Tabela 2** - Características físicas e químicas do extrato de soja BRS 267 em função das condições de armazenamento ..... 123
- Tabela 3** - Concentração ótima de coagulante dos extratos de soja a 75 °C de soja Coodetec 214 e BRS 267 em função das condições de armazenamento..... 125

<b>Tabela 4</b> - Correlação entre COC e componentes químicos dos extratos de soja e características físicas dos tofus formulados a partir de cultivares de soja Coodetec 214 e BRS 267 armazenadas sob condições de EA e EM .....	126
<b>Tabela 5</b> - Características físicas e químicas dos tofus formulados a partir da cultivar de soja Coodetec 214 em função das condições de armazenamento.....	129
<b>Tabela 6</b> - Características físicas e químicas do tofus formulados a partir da cultivar de soja BRS 267 em função das condições de armazenamento .....	130

#### **ARTIGO 4**

<b>Tabela 1</b> - Valores de L* e h° de tofus formulados a partir de sojas armazenadas sob diferentes tempos e condições .....	143
<b>Tabela 2</b> - Perfil de textura de tofus formulados a partir de sojas armazenadas sob diferentes condições de envelhecimento .....	144
<b>Tabela 3</b> - Intensidade média de atributos sensoriais de tofus formulados a partir de sojas armazenadas sob diferentes condições .....	146
<b>Tabela 4</b> - Coeficiente de correlação entre os atributos sensorial e as medidas instrumental dos tofus formulados a partir de sojas armazenadas sob as condições .....	147
<b>Tabela 5</b> - Aceitação <sup>a</sup> de atributos sensoriais de tofus formulados a partir de sojas armazenadas sob diferentes condições .....	151

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	19
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	22
2.1 OBJETIVO GERAL .....	22
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	22
<b>3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	24
3.1 ORIGEM DA SOJA E SUA EXPANSÃO .....	24
3.2 PRODUÇÃO E COMERCIALIZAÇÃO MUNDIAL.....	25
3.3 ESTRUTURA E COMPOSIÇÃO DO GRÃO DE SOJA.....	29
3.4 PRODUTOS DE SOJA.....	32
3.4.1 Extrato de Soja.....	32
3.4.2 Tofu: Definição, Histórico e Classificação .....	35
3.4.2.1 Fatores que afetam o preparo de tofu.....	36
3.4.2.1.1 <i>Extração de sólidos solúveis</i> .....	36
3.4.2.1.2 <i>Coagulação das proteínas da soja</i> .....	37
3.4.2.1.3 <i>Tempo e força de prensagem do tofu</i> .....	42
3.5 ENVELHECIMENTO DA SOJA E SUAS IMPLICAÇÕES.....	42
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	49
4.1 MATERIAL .....	49
4.1.1 Condições de Armazenamento da Soja.....	49
4.1.2 Preparo das Amostras Moídas de Soja.....	50
4.2 MÉTODOS.....	50
4.2.1 Análises Físicas .....	50
4.2.1.1 Determinação dos parâmetros de cor dos grãos inteiros e moídos.....	50
4.2.1.2 Microscopia eletrônica de varredura (MEV) da casca e do cotilédone dos grãos.....	51
4.2.1.3 Cinética de sorção de água .....	51
4.2.1.4 Determinação da dureza dos grãos cozidos.....	52
4.2.2 Análises Físico-químicas.....	52
4.2.2.1 Análise de composição centesimal e de minerais.....	52

4.2.2.2	Teor de fósforo fítico .....	53
4.2.2.3	Teor de compostos fenólicos totais.....	53
4.2.2.4	Medida de pH e acidez por titulação.....	54
4.2.2.5	Solubilidade das proteínas em água e em diferentes pHs.....	54
4.2.2.6	Capacidade de absorção e de retenção de água .....	54
4.2.2.7	Eletroforese SDS-PAGE .....	54
4.2.2.8	Preparação do extrato a de soja .....	55
4.2.2.9	Determinação da concentração ótima de coagulante (COC) em diferentes temperaturas .....	55
4.2.2.10	Preparação do tofu.....	56
4.2.2.11	Determinação de rendimento de tofu .....	57
4.2.2.12	Determinação da composição química dos extratos de soja e dos tofus .....	57
4.2.2.13	Cor do extrato de soja e tofu .....	57
4.2.2.14	Análise de Perfil de Textura (APT) instrumental dos tofus .....	58
4.2.3	Análise Sensorial dos Tofus .....	58
4.2.3.1	Análise Descritiva Quantitativa (ADQ) dos tofus.....	59
4.2.3.1.1	<i>Pré-seleção de julgadores</i> .....	59
4.2.3.1.2	<i>Desenvolvimento da terminologia descritiva</i> .....	63
4.2.3.1.3	<i>Treinamento dos julgadores</i> .....	66
4.2.3.1.4	<i>Seleção final dos julgadores</i> .....	66
4.2.3.1.5	<i>Avaliação das amostras</i> .....	66
4.2.3.2	Análise sensorial de aceitação dos tofus .....	67
4.2.4	Delineamento Experimental e Análise Estatística dos Dados .....	68
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSÃO</b> .....	<b>70</b>
5.1	ARTIGO CIENTÍFICO 1 .....	71
5.2	ARTIGO CIENTÍFICO 2 .....	93
5.3	ARTIGO CIENTÍFICO 3 .....	114
5.4	ARTIGO CIENTÍFICO 4 .....	135
<b>6</b>	<b>CONCLUSÕES</b> .....	<b>156</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>158</b>

<b>ANEXOS</b> .....	169
ANEXO A - Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa envolvendo Seres Humanos para análises sensoriais de tofus .....	170
ANEXO B - Questionário para recrutamento de julgadores (Teste Descritivo).....	171
ANEXO C - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Teste Descritivo).....	173
ANEXO D - Questionário para recrutamento de julgadores (Teste de Aceitação).....	174
ANEXO E - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Teste de Aceitação).....	175
ANEXO F - Níveis de significância para julgadores em função da discriminação das amostras ( $F_{amostras}$ ) .....	176
ANEXO G - Níveis de significância para julgadores em função da repetibilidade ( $F_{repetição}$ ) .....	177
ANEXO H - Médias da equipe e de cada julgador para cada atributo .....	178

## 1 INTRODUÇÃO

O crescimento exponencial da produção de soja no Brasil, de quase 260 vezes entre décadas de 1970 a 2000, se deve a vários fatores, como clima e solo favorável; mecanização das lavouras; rotatividade da cultura com o cultivo de trigo no inverno, mercado internacional em alta; substituição das gorduras animais por óleos vegetais na alimentação humana e os possíveis benefícios à saúde (EMBRAPA, 2004). Nos últimos cinco anos, a produção mundial anual de soja foi de aproximadamente 250 milhões de toneladas (USDA, 2012) e cerca de 85% desta produção é processada para obtenção de óleo e ração e o restante é estocada para ser usado como sementes e/ou para consumo humano na forma de produtos fermentados e não fermentados (FUNCIONAIS NUTRÂCEUTICOS, 2007). A porção de soja estocada anualmente é de 50 milhões de toneladas, que muitas vezes são armazenados em condições de temperatura e umidade relativa (UR) não controlada. Em países como o Brasil, que desde 2003 é considerado o segundo maior produtor, e a China, o maior consumidor de soja, a manutenção da qualidade dos grãos se torna difícil por estes países apresentarem clima predominante tropical, onde a temperatura e UR médias são de 27 °C e 80%, respectivamente (KONG et al., 2008), sendo que as condições ideais são temperatura menor que 22 °C e UR entre 55 a 60%.

Os principais fatores que afetam a estabilidade dos grãos e/ou sementes de soja durante o armazenamento são umidade relativa (UR) e temperatura (T) do ambiente, tempo de estocagem (t), conteúdo de umidade no grão, qualidade dos grãos (grãos quebrados ou com fissura na casca), e presença de materiais estranhos (sujidade). Entre estes fatores, a UR do ambiente e o conteúdo de umidade dos grãos são os mais críticos porque estes favorecem, além do crescimento de fungos, o processo de hidratação-desidratação que causam danos na casca (HOU; CHANG, 1998; BRACCINI et al., 1999).

As conseqüências do envelhecimento dos grãos e/ou sementes podem ser evidenciadas por alterações físicas, químicas e fisiológicas. As mudanças físicas nos grãos são caracterizadas pelo escurecimento da casca (SAIO et al. 1980, NARAYAN; CHAUHAN; VERMA, 1988a; THOMAS; deMAN; deMan, 1989; HOU; CHANG, 1998, 2004c, KONG et al., 2008), diminuição de densidade e aumento de dureza dos grãos crus (NARAYAN; CHAUHAN; VERMA, 1988a), e diminuição das

camadas paliçádicas dos tecidos da casca (SILVA; VIEIRA; SANTOS, 2008). As alterações químicas são evidenciadas pela oxidação de lipídeos (TRAWATHA; TEKRONY; HILDEBRAND, 1996), diminuição de pH e aumento da acidez titulável (THOMAS; deMAN; deMan, 1989, LIU; CHANG, 2004, KONG et al. 2008), diminuição da extração de sólidos totais (SAIO et al., 1980, NARAYAN; CHAUHAN; VERMA, 1988a, HOU; CHANG, 2004c, KONG et al., 2008), diminuição da solubilidade das proteínas devido a alterações moleculares (NARAYAN; CHAUHAN; VERMA, 1988a; HOU; CHANG 1998, 2004a, 2004b, 2004c; KONG et al., 2008), e diminuição da capacidade de absorção e retenção de água (NARAYAN; CHAUHAN; VERMA, 1988a). As alterações fisiológicas (alterações na integridade das membranas citoplasmáticas, aumento da atividade enzimática, perda da capacidade de germinação) das sementes em função das condições adversas de estocagem são mais estudadas na área agrônômica devido à perda de vigor das sementes (PARRISH; LEOPOLD, 1977; TRAWATHA; TEKRONY; HILDEBRAND, 1995; BRACCINI et al, 1999; SANTOS; MENEZES; VILLELA, 2005; SILVA; VIEIRA; SANTOS, 2008).

As alterações físicas e químicas influenciam diretamente a qualidade, rendimento e aceitabilidade de produtos a base de soja, em especial os produtos não fermentados, como o extrato aquoso (leite de soja) e tofu (queijo de soja). Hou e Chang (2004a, 2004b) estudaram alterações moleculares nas duas principais frações protéicas da soja, 11S e 7S, em função das condições adversas de estocagem, respectivamente. Nestes estudos foram observados a diminuição da hidrofobicidade de superfície dessas moléculas, de grupos sulfidrilas livres e do conteúdo da estrutura  $\beta$ -folha e aumento de grupos dissulfetos intermoleculares e do conteúdo da estrutura  $\alpha$ -hélice, sem alteração na massa molecular, sugerindo um aumento de agregação intramolecular das proteínas e subseqüente diminuição de solubilidade das proteínas, que pode estar relacionada com a desnaturação parcial. O escurecimento e as alterações químicas dos grãos são transferidos para o extrato aquoso e tofu, diminuindo assim a sua qualidade.

Os tofus obtidos de soja envelhecida em geral apresentam menor rendimento, coloração mais escura, são mais quebradiços (fraturáveis) que aqueles preparados com soja recém-colhida (HOU; CHANG, 1989, 2004c; KONG et al., 2008), porém em relação a dureza, os resultados apresentados na literatura são conflitantes. Hou e Chang (1998, 2004c) e Kong et al. (2008) verificaram que tofus

preparados com soja envelhecida eram mais duros, enquanto que Saio et al. (1980) e Murphy, Chen e Hauck (1997) observaram o oposto.

O tofu é um produto de soja adequado para estudar as transformações químicas e físicas da soja durante o armazenamento, por ser um produto não fermentado e com elevado teor de proteína, cujas alterações no rendimento, textura do gel protéico e sabor em função do envelhecimento da soja são significativos. Entretanto, o que dificulta a comparação dos resultados de vários trabalhos já realizados a respeito do envelhecimento dos grãos de soja e suas implicações na textura e qualidade sensorial do tofu é a falta de padronização dos métodos analíticos e procedimento de formulação do extrato aquoso de soja e do tofu.

Considerando a complexidade do mecanismo de envelhecimento da soja e suas controvérsias, são necessários mais estudos para elucidar as dúvidas e também contribuir com sugestões para obtenção de produtos de soja com maior qualidade. Portanto, o objetivo deste estudo foi identificar as alterações físicas e químicas nos grãos de soja, extrato aquoso e tofu em função do envelhecimento acelerado e natural de duas cultivares de soja, além de avaliar as conseqüências do envelhecimento nas características sensoriais e de aceitação de tofus.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Estudar o efeito das condições de envelhecimento acelerado (EA) e natural (EN) das cultivares de soja (*Glycine max* (L) Merrill) Coodetec 214 e BRS 267 sobre as propriedades físicas e químicas dos grãos, extratos, tofus e as características sensoriais dos tofus.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar as alterações físicas nos grãos de soja: cor, estrutura celular do tecido da casca e do cotilédone, cinética de sorção de água e dureza do grão cozido.
- Determinar as mudanças físico-químicas dos grãos de soja: composição centesimal, minerais, teor de ácido fítico e compostos fenólicos totais, pH e acidez titulável, solubilidade das proteínas em água e em diferentes pHs, capacidade de absorção e retenção de água, padrão eletroforético das proteínas.
- Determinar a concentração ótima de coagulante (COC)  $MgSO_4$  em função da temperatura de coagulação dos extratos de soja e das condições de envelhecimento dos grãos.
- Determinar a (COC)  $MgSO_4$  para os extratos de sojas envelhecidas nas condições de EA e EN para preparo de tofus firmes.
- Determinar a composição química dos extratos aquosos e tofus de sojas envelhecidas.
- Determinar o rendimento de tofus de sojas envelhecidas.
- Avaliar as propriedades de cor e de textura instrumentais dos tofus de sojas envelhecidas.
- Avaliar o efeito do envelhecimento da soja sobre as características sensoriais dos tofus por meio da análise sensorial descritiva.

- Avaliar o efeito do envelhecimento da soja sobre a aceitação dos tofus.

### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 ORIGEM DA SOJA E SUA EXPANSÃO

A soja (*Glycine Max* (L) Merrill) é conhecida e explorada há mais de cinco mil anos e teve sua origem na costa leste da Ásia, em especial ao longo do Rio Amarelo, no norte da China. Por volta de 1766 a 1122 a.C. sua evolução teve início com o aparecimento de plantas oriundas de cruzamentos naturais, entre duas espécies de soja selvagem, que foram domesticadas e melhoradas por cientistas da antiga China (EMBRAPA, 2004).

Entre o período 200 a.C. e o século III d.C, a soja expandiu lentamente para o Sul da China e Sudeste da Ásia, chegando até à Coreia e ao Japão. Nos países europeus, a soja foi introduzida no final do século XV e início do século XVI, onde permaneceu como curiosidade nos jardins botânicos da Alemanha, França e Inglaterra. Somente no século XVIII que alguns pesquisadores europeus interessaram em estudar a soja como fonte de óleo e alimento animal. Na primeira década do século XX, a soja foi cultivada comercialmente nos Estados Unidos como forrageira e na segunda década do século XX, o teor de óleo e proteína dos grãos começou a despertar interesse das indústrias de países europeus como a Rússia, Inglaterra e Alemanha, porém não foram bem sucedidos devido as condições climáticas desfavoráveis de cultivo (EMBRAPA, 2004).

No Brasil, a soja foi introduzida via Estados Unidos, em 1882, e os primeiros estudos de avaliação dessas cultivares foram realizadas na Escola de Agronomia da Bahia. Por volta de 1900, registrou-se o primeiro cultivo de soja no Rio Grande do Sul, onde a cultura encontrou efetivas condições climáticas para desenvolver e expandir devido às semelhanças climáticas do ecossistema de origem (MIYASAKA; MEDINA, 1981).

Na década de 1940, o Brasil teve o seu primeiro registro estatístico nacional de produção de soja, em Santa Rosa, RS, com produção de 450 toneladas no ano de 1941, e em 1949, com produção de 25.000 toneladas, figurando pela primeira vez como produtor nas estatísticas internacionais. Na década de 1960, a soja foi estabelecida como cultura economicamente importante para o Brasil, a sua produção multiplicou-se por cinco e 98% desse volume era produzido nos três estados da região sul. Entretanto, na década de 1970, a soja foi considerada a

principal cultura de agronegócio brasileiro, passando de 1,5 milhões de toneladas em 1970 para 15 milhões de toneladas em 1979. A causa deste crescimento não foi apenas ao aumento da área cultivada (1,3 para 8,8 milhões de ha), mas também ao expressivo incremento da produtividade (1,14 para 1,73 ton./ha) graças às novas tecnologias disponibilizadas aos produtores pela pesquisa brasileira. Nesta época, o volume produzido de soja ainda se concentrava na região Sul do Brasil (EMBAPA, 2004).

Entre as décadas de 1980 a 2000, o cultivo de soja expandiu-se na região centro-oeste, atingindo 60% da produção nacional. Entre as décadas de 1970 a 2000, a expansão exponencial do cultivo de soja no Brasil, de quase 260 vezes, foi responsável pelo desenvolvimento sócio-econômico do País com a mecanização das lavouras, modernização dos sistemas de transportes, expansão das fronteiras agrícolas, profissionalização e incremento do comércio internacional, modificação e enriquecimento da dieta alimentar dos brasileiros, interiorização da população brasileira, tecnificação de outras culturas como a de milho e patrocínio a expansão da avicultura e suinocultura brasileiras (EMBRAPA, 2004).

Atualmente o Brasil é o segundo maior produtor mundial de soja com perspectivas de atingir o primeiro lugar por possuir no ecossistema dos Cerrados, mais de 50 milhões de hectares de terras virgens e aptas para o plantio de soja, enquanto que os EUA, China e Índia só crescerão se diminuïrem as áreas de outros cultivos (BELCHIOR et al., 2010).

### 3.2 PRODUÇÃO E COMERCIALIZAÇÃO MUNDIAL

Os principais países produtores de soja e a produção mundial dos cinco últimos anos estão apresentados no Quadro 1 (USDA, 2012). A produção mundial de soja variou de 211 a 264 bilhões de toneladas/ano, sendo os EUA e o Brasil os dois maiores produtores e exportadores e a China o maior importador (Quadros 2 e 3, USDA, 2012). Cerca de 85% da colheita mundial de soja é processada para produzir óleo e os resíduos da extração, torta, no caso da prensagem, farelo, no caso de extração por solvente, usados na preparação de rações para animais; de 4 a 5% desses resíduos da extração do óleo são reprocessados em farinhas e proteínas para uso alimentícios. Somente 10% dos grãos são usados diretamente para alimentação humana (tofu, misô, natô, extrato de

soja, etc.), principalmente na Ásia, e os 5% restante são usados como sementes ou para alimentação dos animais nas próprias fazendas produtoras (FUNCIONAIS NUTRACÊUTICOS, 2007).

**Quadro 1** - Produção mundial de soja nos últimos seis anos

Países	Produção anual (milhões ton.)					
	2007/08	2008/09	2009/2010	2010/2011	2011/março 2012	2011/abril 2012
Estados Unidos	72,9	80,7	91,4	90,6	83,2	83,2
Brasil	61,0	57,8	69,0	75,5	68,5	66,0
Argentina	46,2	32,0	54,5	49,0	46,5	45,0
China	12,4	15,5	15,0	15,1	13,5	13,5
Índia	9,5	9,1	9,7	9,8	11,0	11,0
Canadá	2,7	3,3	3,5	4,3	4,2	4,2
Paraguai	6,0	3,6	7,3	8,4	5,0	4,2
Outros	8,0	9,5	10,6	11,5	13,1	13,0
Total	218,7	211,5	261,0	264,2	245,0	240,1

Fonte: USDA (2012)

**Quadro 2** - Principais países importadores de soja no período de 2007 a 2012

Países	Importação anual (milhões ton.)					
	2007/08	2008/09	2009/2010	2010/2011	2011/março 2012	2011/abril 2012
China	37,8	41,1	50,3	52,3	55,0	55,0
EU - 27	15,1	13,2	12,7	12,5	11,0	11,0
México	3,6	3,3	3,5	3,5	3,5	3,4
Japão	4,0	3,4	3,4	2,9	2,7	2,7
Taiwan	2,1	2,2	2,5	2,5	2,3	2,2
Tailândia	1,7	1,5	1,7	2,1	2,0	2,0
Indonésia	1,1	1,4	1,6	1,9	1,8	1,9
Egito	1,1	1,6	1,6	1,6	1,6	1,6
Turquia	1,3	1,1	1,6	1,3	1,1	1,1
Vietnã	0,1	0,2	0,2	0,9	1,3	1,1
Outros	10,2	8,4	7,6	7,1	6,9	6,4
Total	78,1	77,4	86,7	88,6	89,2	88,4

Fonte: USDA (2012)

**Quadro 3 - Principais países exportadores de soja no período de 2007 a 2012**

Países	Exportação anual (milhões ton.)					
	2007/08	2008/09	2009/2010	2010/2011	2011/março 2012	2011/abril 2012
Brasil	25,4	30,0	28,6	30,0	36,9	35,7
Estados Unidos	31,5	34,8	40,8	40,9	34,7	35,1
Argentina	13,8	5,6	13,1	9,2	8,9	8,6
Paraguai	4,2	2,3	5,6	6,7	4,0	3,3
Canadá	1,7	2,0	2,2	2,9	2,9	2,9
Outros	1,7	2,2	2,5	3,0	3,5	3,4
Total	78,3	76,9	92,8	92,7	90,9	89,0

Fonte: USDA (2012)

Os principais países processadores (moagem) de soja são China, EUA, Argentina, Brasil, EU (European Union) – 27, Índia e México, somando um total de 193 a 225 milhões de ton./ano nos últimos cinco anos, representam aproximadamente 85% da produção total de soja ao ano (Quadro 4, USDA, 2012). O estoque mundial de soja (remanescente) variou de 43 a 69 milhões entre os anos de 2008 a 2012, representando cerca de 20% do total de soja produzida ao ano (Quadro 5), as quais são destinadas a alimentação humana e para sementes (USDA, 2012). Muitas vezes esta porção de soja (cerca de 20% da produção anual) é estocada por longo tempo e em condições adversas que podem comprometer a qualidade dos grãos, sementes e de seus produtos finais (TRAWATHA; TEKRONY; HILDEBRAND, 1995, HOU; CHANG, 2004a, 2004b, 2004c, KONG et al., 2008).

**Quadro 4** - Principais países processadores (moagem) de soja no período de 2007 a 2012

Países	Moagem (milhões ton)					
	2007/08	2008/09	2009/2010	2010/2011	2011/março 2012	2011/abril 2012
China	39,5	41,0	48,8	55,0	59,1	59,1
Estados Unidos	49,1	45,2	47,7	44,8	43,9	44,4
Argentina	34,6	31,2	34,1	37,6	38,9	38,2
Brasil	32,1	31,9	33,7	35,9	36,0	35,5
EU - 27	14,9	12,9	12,5	12,3	11,3	11,3
Índia	8,4	7,2	7,5	9,6	9,8	9,8
México	3,6	3,5	3,6	3,6	3,6	3,6
Rússia	1,1	1,5	1,9	2,2	2,4	2,4
Taiwan	2,0	1,9	2,2	2,2	2,1	2,0
Japão	2,9	2,5	2,4	2,1	1,8	1,8
Tailândia	1,5	1,4	1,5	1,8	1,8	1,8
Egito	1,1	1,5	1,6	1,6	1,7	1,6
Bolívia	1,2	1,4	1,5	1,5	1,5	1,5
Canadá	1,4	1,3	1,3	1,3	1,3	1,3
Paraguai	1,4	1,5	1,5	1,4	1,3	1,3
Outros	7,5	7,2	7,5	7,6	8,4	7,9
Total	202,3	193,1	209,3	220,5	224,9	223,5

Fonte: USDA (2012)

**Quadro 5** - Estoque remanescente de soja no período de 2007 a 2012

Países	Estoque final (milhões ton.)					
	2007/08	2008/09	2009/2010	2010/2011	2011/março 2012	2011/abril 2012
Argentina	21,8	16,6	22,3	22,9	20,0	19,5
Brasil	18,9	12,0	15,8	22,2	14,7	14,1
China	2,8	7,6	13,3	14,6	12,8	12,8
Estados Unidos	5,6	3,8	4,1	5,9	7,5	6,8
Índia	0,1	0,8	1,7	0,6	0,4	0,4
Outros	2,8	2,2	2,8	3,0	2,0	2,0
Total	52,0	43,0	60,0	69,2	57,4	55,6

Fonte: USDA (2012)

### 3.3 ESTRUTURA E COMPOSIÇÃO DO GRÃO DE SOJA

A biotecnologia tem proporcionado variações genotípicas da soja em relação às características agronômicas, composição química, aparência física, rendimento, doenças, resistência, grupo de maturidade, tamanho/peso. A soja também é suscetível as variações fenotípicas com a composição do solo, temperatura e umidade do ambiente de cultivo (SCHAEFER; LOVE, 1991; CARRÃO-PANIZZI et al., 1999).

O grão de soja mais comum é de forma esférica e com a casca amarelo palha, porém existe soja com forma alongada e casca de cor verde, marrom, preta ou a combinação dessas cores (GANDHI; NENWANI; ALI, 1985).

O grão de soja é constituído por cotilédones (90%), casca (8%) e hipocótilo (2%). O cotilédone é composto por corpos protéicos e lipídicos. A casca serve para proteger o embrião de infecção fúngica e bacteriana antes e após o plantio. O hipocótilo é a região embrionária e apresenta maior concentração de isoflavonas (CARRÃO-PANIZZI, 1996b).

A composição química da soja, em base úmida é: cinzas (4%), água (13%), lipídeos (17%), carboidratos (31%) e proteínas (35%). As indústrias de óleo e farelos não fazem grandes exigências com relação às diferentes cultivares de soja. Entretanto, a partir de melhoramento genético tem-se desenvolvido cultivares de soja com baixo teor de lipoxigenase para minimizar o sabor e odor desagradável do extrato aquoso. Na produção de tofu, sugere-se que as melhores cultivares de soja são aquelas que apresentam grão de tamanho maior, hilos claros e com maior proporção das frações protéicas 11S e 7S (MURPHY; CHEN; HAUCK, 1997; SILVA et al., 2010, SILVA et al. 2012).

A proteína da soja é composta por quatro frações: 2S, 7S, 11S e 15S. As frações 7S e 11S perfazem cerca de 70% das proteínas totais e são denominadas de beta-conglicina e glicina, respectivamente.

A fração 7S ( $\beta$ -conglicina) é uma glicoproteína de massa molecular (MM) igual a 175 kDa, apresenta três subunidades ( $\alpha$ ,  $\alpha'$  e  $\beta$ , cujas MM são 78, 74 e 50 kDa respectivamente) e tem ponto isoelétrico de 4,90. A fração 11S (glicina) é a proteína predominante da soja, MM igual a 350 kDa, apresenta 12 subunidades, ponto isoelétrico igual a 4,64, e não contém carboidratos (SAIO; WATANABE, 1973, UTSUMI; KINSELLA, 1985, KOHYAMA; NHISINARI, 1993, HOU; CHANG, 2004a,

2004b). A temperatura de desnaturação, em pH 7,0, é de 80 e 67 °C para as globulinas 11S e 7S, respectivamente.

A fração 11S forma gel mais firme com agregados protéicos maiores em relação às frações 2S e 7S. A velocidade de formação do gel protéico para a fração 11S é maior do que para a 2S e desta é maior do que para a 7S (TAY et al., 2005). Riblett et al. (2001) observaram que a fração 11S apresenta maior quantidade de aminoácidos sulfurados (metionina e cisteína) em relação à fração 7S, razão pela qual a fração 11S forma gel com maior elasticidade do que a fração 7S.

Cultivares de soja com grãos de tamanho maior apresentam maior teor de fração protéica 11S do que as cultivares de grãos menores (WANG; CHANG, 1995). Em geral, as cultivares com grãos maiores produzem tofu com melhor rendimento e textura mais firme, gomosa e elástica (WANG; CHANG, 1995; MURPHY; CHEN; HAUCK, 1997). Entretanto, Benassi et al. (2011) relataram que não houve diferença no rendimento de tofus para cultivares de soja com diferentes tamanhos produzidas no Brasil.

O segundo componente mais importante da soja são os lipídeos e são classificados em: lipídeos neutros (88%), fosfolipídeos (10%) e glicolipídeos (2%). Os lipídeos neutros são moléculas de triacilgliceróis compostas por 85% de ácidos graxos insaturados, os quais são responsáveis pelo baixo ponto de fusão e elevada suscetibilidade à reação de oxidação do óleo. Os fosfolipídeos são moléculas de triacilgliceróis ligadas ao radical fosfato e são compostos por lecitina (35%), etanolamina fosfatidil (25%), inositol fosfatidil (15%) e ácido fosfatídico (5-10%) (TRAWATHA; TEKRONY; HILDEBRAND, 1995).

Os constituintes minerais em maior quantidade da soja na proporção m/m são: potássio (1,7%), sódio (0,2%), cálcio (0,3%), magnésio (0,3%), enxofre (0,2%) e fósforo (0,7%) e em menor são: ferro (137 ppm), zinco (52 ppm), cobre (20 ppm), manganês (3 ppm) e silício (140 ppm). A digestibilidade desses minerais depende de vários fatores como a forma química do mineral, níveis das dietas de outros nutrientes, presença de quelantes de minerais, tamanho das partículas do alimento, condições de processamento, etc. A concentração de cálcio, magnésio e ácido fítico são importantes na coagulação das proteínas da soja durante o preparo do tofu (SAIO; KAMIYA; WATANABE, 1969, SKURRAY; CUNICH; CARTER, 1980, YUAN et al., 2002, ISHIGURO; ONO; NAKASATO, 2008).

A soja contém cerca de 0,5 a 0,7% de fósforo, sendo que 70% destes são provenientes do ácido fítico e 30% são dos fosfolipídeos e inorgânicos. O ácido fítico é um ciclohexanohexol com seis grupos de inositol esterificados com fosfatos. Os ácidos fíticos estão localizados no interior dos corpos protéicos e são excelentes quelantes de cátions bivalentes ( $Zn^{2+}$ ,  $Fe^{2+}$ , etc.) e são inibidores de enzimas (pepsina,  $\alpha$ -amilase e tripsina). O ácido fítico é utilizado como antioxidante natural de produtos cárneos ou alimentos gordurosos. Na precipitação das proteínas da soja com sais de cálcio ou magnésio, o ácido fítico compete com as proteínas, formando um composto complexo proteína-cálcio-ácido fítico (SAIO; KAMIYA; WATANABE, 1969; ISHIGURO; ONO; NAKASATO, 2008).

O teor de ácido fítico varia de acordo com as partes do grão de soja: 1,54% nos cotilédones, 0% na casca e 0,88% no hipocotilédone. Em alguns produtos de soja foram observados teores de 1,96% (tofu), 1,63% (isolado protéico) e 1,82% (farinha desengordurada) (HOU; CHANG, 2003).

Os compostos fenólicos ou flavonóides, geralmente estão associados à adstringência ou ao gosto amargo, e podem afetar o sabor da soja e seus produtos. Estes compostos reduzem a digestibilidade de proteínas, carboidratos e minerais e estão relacionados com o endurecimento e escurecimento da casca da soja durante o armazenamento (SAIO et al., 1980; NARAYAN; CHAUHAN; VERMA, 1988a).

As isoflavonas são compostos fenólicos pertencentes ao grupo dos flavonóides encontrados em poucas famílias botânicas, e caracterizam-se por apresentar uma estrutura composta por dois anéis benzeno ligados entre si por um anel heterocíclico pirano na posição do carbono 3. As isoflavonas compreendem os  $\beta$ -glicosídeos daidzina, genistina e glicitina e suas respectivas agliconas daidzeína, genisteína e gliciteína; as formas malonil-glicosídicas, 6"O-malonil-daidzina, 6"O-malonil-genistina e 6"O-malonil-glicitina e as acetil-glicosídicas com os conjugados 6"O-acetil-daidzina, 6"O-acetil-genistina, 6"O-acetil-glicitina (LIU, 1999).

O teor de isoflavonas nos grãos de soja é variável (12 mg/100 g até 461 mg/100 g de matéria seca) em função das diferenças genéticas entre as cultivares, além da influência da temperatura ambiental durante o desenvolvimento dos grãos (WANG; MURPHY, 1994b; CARRÃO-PANIZZI et al., 2009c; BENEDETI, 2010).

Wang e Murphy (1996) encontraram cerca de 11 a 20% do teor total de isoflavonas na forma agliconas em extrato de soja e tofu, respectivamente,

registrando um aumento de 3,7 e 2,2 vezes em relação ao observado nos grãos de soja. Matsuura et al. (1989) verificaram aumento do teor de agliconas totais e redução de  $\beta$ -glicosídeos em grãos de soja durante a hidratação, e após a adição de um inibidor da enzima  $\beta$ -glicosidase e concluíram que este aumento ocorreu devido à hidrólise enzimática dos  $\beta$ -glicosídeos.

Em alimentos fermentados, o teor de isoflavonas totais (5,7 e 20 mg/100 g de shoyu e misô, respectivamente) é de duas a três vezes menor que nos alimentos não fermentados (15, 45 e 90 mg/100 g de fórmulas infantis, “leite” em pó e Proteína Texturizada de Soja - PTS, respectivamente), porém os principais compostos de isoflavonas nestes produtos são as formas agliconas (MURPHY; BARUA; HAUCK, 2002).

Muitos estudos clínicos em humanos e animais indicam as associações das isoflavonas com prevenções de certas doenças como o câncer, distúrbios cardiovasculares, perda de massa óssea e sintomas indesejáveis de menopausa (LIU, 1997; BARBOSA et al., 2006, MESSINA; WOOD, 2008).

A soja por apresentar teor elevado de lipídeos, as vitaminas presentes em maior concentração são as lipossolúveis (em média 8, 47 e 20 mg de  $\alpha$ -tocoferol,  $\sigma$ -tocoferol e  $\delta$ -tocoferol para 100g de óleo refinado de soja, respectivamente) e também foram detectados teores consideráveis de vitaminas do complexo B (15, 2,3 e 22  $\mu$ g de tiamina, riboflavina e niacina por g de soja, respectivamente) (BREKKE, 1980a). Ikeda et al. (2006) detectou a presença da vitamina K<sub>2</sub> no produto fermentado de soja “natô” e foi comprovado o benefício dessa vitamina como uma coenzima efetiva para aumentar o depósito de cálcio nos ossos.

### 3.4 PRODUTOS DE SOJA

A soja é utilizada como matéria prima em vários produtos: extrato de soja, tofu, kinako, edamame, misô, shoyu, tempeh, natô e dentre estes os mais comuns no Ocidente são o extrato de soja e o tofu, que tem como principal componente da soja, as proteínas.

### 3.4.1 Extrato de Soja

O extrato de soja popularmente conhecido como leite de soja é considerado tanto um produto final para consumo como um produto intermediário para a fabricação de tofu. A concentração de sólidos totais e em especial de proteínas solúveis no extrato de soja é importante para o preparo de tofu com bom rendimento e qualidade sensorial (aparência, cor, aroma, sabor e textura).

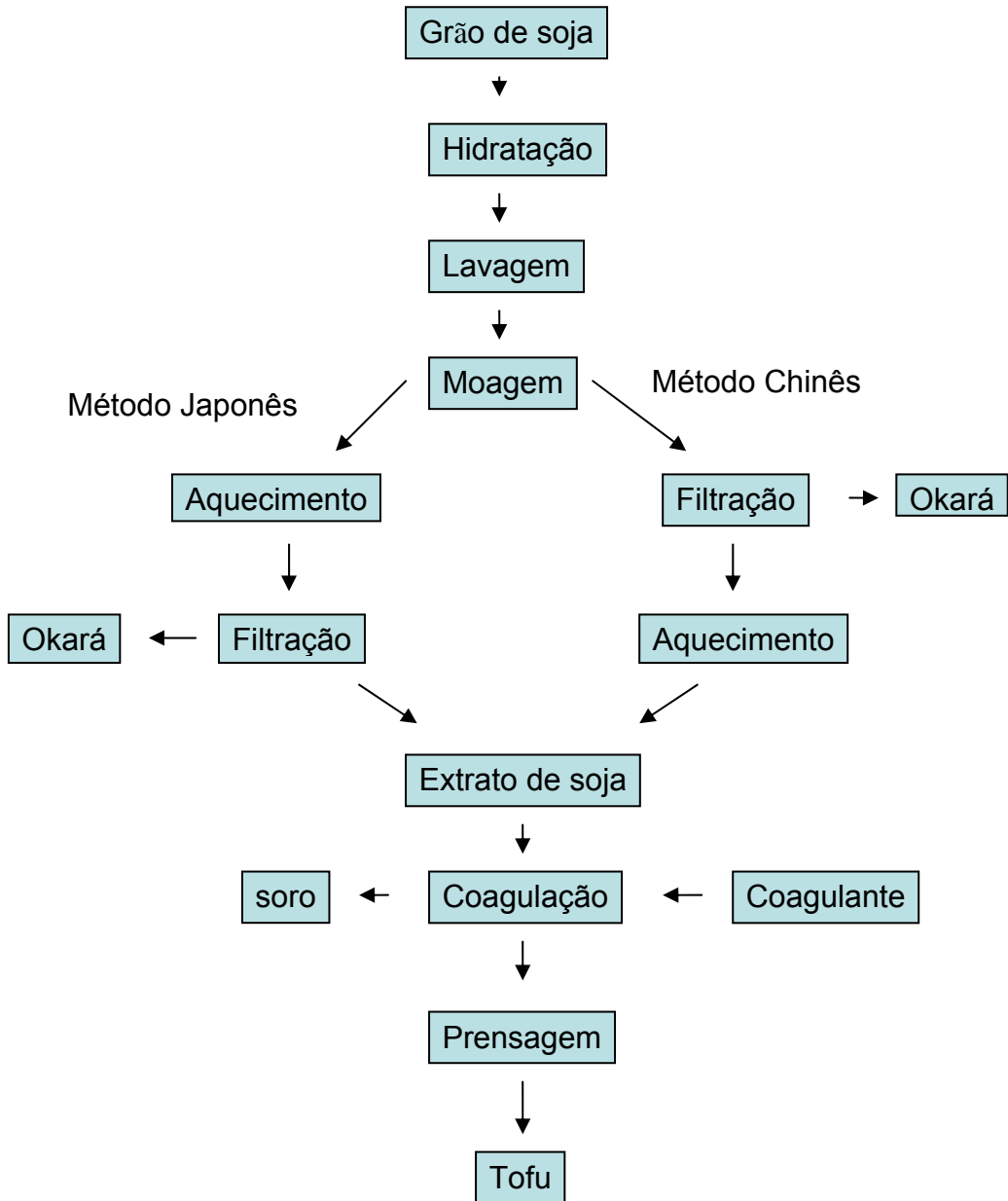
Existem dois métodos tradicionais de obtenção de extrato de soja: método chinês (nama-shibori) e japonês (semi-kanetsu-shibori), cujo esquema está na Figura 1.

Em ambos os métodos, os grãos são hidratados por aproximadamente 12 horas e triturados em água a temperatura ambiente. No método chinês, a massa da soja triturada é filtrada e o extrato aquoso obtido é aquecido até fervura (98°C), enquanto que no método japonês, a massa de soja triturada é aquecida até fervura (98°C) e depois filtrada. Após a filtração obtem-se o extrato de soja (filtrado) e okará (farinha úmida).

Os extratos de soja obtidos pelos dois métodos diferem nos conteúdos de sólidos totais, porque o aquecimento da massa antes da filtração modifica a solubilidade dos componentes da soja (TODA; CHIBA; ONO, 2007). A maioria dos estudos sobre a formulação do extrato aquoso de soja envolve o método chinês (SKURRAY; CUNICH; CARTER, 1980; SAIO et al., 1980; SAIO; KOBAYAKAWA; KITO 1982; JOHNSON; WILSON, 1984; NARAYAN; CHAUHAN; VERMA, 1988b; THOMAS; deMAN; deMan, 1989; CAI; CHANG, 1997; HOU; CHANG, 1998, 2003, 2004c; LIU; CHANG, 2008; KONG et al., 2008).

Toda, Chiba e Ono (2007) comparam os dois métodos de extração e observaram maior extração de cálcio e magnésio, viscosidade e proteína particulada (proteínas de tamanho maior que 120 nm de diâmetro) no extrato de soja obtido pelo método japonês (semi-kanetsu-shibori). O extrato de soja obtido a partir do método chinês (nama-shibori) apresentou maior pH (6,77) e menor teor de cálcio, potássio, magnésio, proteína particulada, viscosidade e resultou tofu de menor dureza em relação ao método japonês (semi-kanetsu-shibori).

**Figura 1** - Etapas de preparação do extrato de soja e tofu (Método Japonês: semi-kanetsu- shibori e Chinês: nama-shibori)



### 3.4.2 Tofu: Definição, Histórico e Classificação

O tofu é um gel protéico obtido a partir da coagulação das proteínas do extrato de soja com sais ou ácidos e tem aparência de queijo branco e textura porosa.

Historicamente, estima-se que o tofu foi inventado cerca de 164 a. C. por um filósofo chinês Liu An, e que após 900 anos, o método de preparação do extrato aquoso e tofu propagou-se para o Japão e outros países do Leste Asiático (SHI; REN, 1993). No Ocidente, o tofu foi introduzido há pouco mais de um século com as imigrações dos povos europeus e asiáticos, e o seu consumo tem aumentado devido ao estudo e descobertas dos benefícios que a soja pode oferecer a saúde humana. Além disso, o tofu é um alimento de baixo custo, nutritivo e apresenta certas vantagens quando comparada com a carne e queijo por ser livre de colesterol, lactose e baixo teor de gordura saturada (LIU, 1997).

Os tofus são classificados de acordo com a quantidade de água e propriedade de textura em soft, firme e extra firme (CAI; CHANG, 1997).

Os tofus soft ou silken apresentam teor de água entre 88 a 90%, uma textura lisa, macia e frágil. Este tipo de tofu não sofre desoramento, ou seja, toda a água do extrato aquoso fica retida na rede protéica. O coagulante é adicionado ao extrato aquoso a frio e a mistura é aquecida em banho-maria (90 °C) por 60 minutos para atingir a coagulação completa (LIU; CHANG, 2003, 2004). Os coagulantes utilizados são de ação lenta (Glucona – delta – lactona (GDL) ou  $\text{CaSO}_4$ ).

Os tofus firmes e extra firmes apresentam cerca de 80 a 87% e menor que 80% de água, respectivamente. Os coagulantes utilizados são os de ação rápida ( $\text{CaCl}_2$  ou  $\text{MgCl}_2$ ), estes são misturados ao extrato aquoso a quente (70 a 80 °C) e o tempo para completar a coagulação pode variar de 10 a 20 minutos. Os coágulos são quebrados e prensados. A textura dos tofus firmes é mais firme, elástica e coesa e com menor rendimento devido à perda de água durante o processo de prensagem. Este tipo de tofu é usado para fritura, congelamento, cozidos e sopas enquanto que o tofu soft é consumido in natura (LIU, 1997).

### 3.4.2.1 Fatores que afetam o preparo de tofu

Segundo Liu (1997), preparar tofu é uma arte porque com todo o conhecimento de química de proteínas é difícil preparar tofu com boa qualidade e alto rendimento, bem como controlar as condições de processamento. Basicamente a formulação do tofu envolve três etapas: extração de sólidos solúveis (extrato de soja), coagulação das proteínas e prensagem. A qualidade da textura e sabor do tofu varia muito com cada uma destas etapas.

#### 3.4.2.1.1 *Extração de sólidos solúveis*

Esta etapa depende da cultivar de soja, se a moagem dos grãos é feita com água quente ou fria, se a massa é cozida antes ou depois da filtração, proporção de soja/água e tempo de aquecimento do extrato de soja.

A proporção soja/água influencia o teor de sólidos totais e proteínas solúveis no extrato de soja e este na qualidade de textura e rendimento do tofu. Na literatura encontra-se diversas proporções (soja/água) para extração de sólidos solúveis: proporção 1/5 (THOMAS; deMAN; deMAN, 1989; HOU; CHANG., 1997; CAI; CHANG, 1999; TODA; CHIBA; ONO, 2009), 1/6 (SHUN-TANG; ONO, 2005; OBATOLU, 2008), 1/7 (SCHAEFER; LOVE, 1992; SHUN-TANG; ONO; MIKAMI, 1999; LIU; CHANG, 2003, LIU; CHANG, 2004; KONG et al., 2008, ISHIGURO; ONO; NAKASATO, 2008; BENASSI et al., 2011), 1/8 (NARAYAN; CHEN; HAUCK, 1988b), (WANG; CHANG, 1995), 1/10 (SAIO et al., 1980, WANG; SWAIN; KWOLEK, 1983; SUN; BREENE, 1991, YOON; KIM, 2007; LIU; CHANG, 2008, JAYASENA; KHU; NASAR-ABBAS, 2010), 1/11 (NOH et al., 2005). Shih, Hou e Chang (1997) estudaram o efeito do aumento do conteúdo de sólidos totais no extrato de soja sobre a textura do tofu e observaram que o tofu obtido de extrato de soja com 10 °Brix apresentou textura mais grosseira do que aquele obtido com o conteúdo de sólidos intermediário (12 °Brix). O tofu obtido a partir de extrato com teor de sólido elevado (14 °Brix) apresentou dureza, fraturabilidade e elasticidade maior do que o obtido de extrato com teor de sólidos intermediário (12 °Brix).

### 3.4.2.1.2 Coagulação das proteínas da soja

A formação da rede protéica do tofu é um processo complexo onde há interação entre as proteínas, coagulante, água, lipídeos e outros constituintes da soja (OBATOLU, 2008). O processo de coagulação das proteínas da soja depende da hidrofobicidade das globulinas 11S e 7S, tipo e quantidade de coagulante, temperatura, pH, tempo e velocidade de agitação durante a coagulação (CAI; CHANG, 1998).

- **Hidrofobicidade das globulinas 11S, 7S e 2S**

A fração protéica 11S apresenta maior hidrofobicidade que a fração protéica 2S e esta maior que a 7S e a velocidade de agregação e o tamanho dos agregados protéicos foram maiores para a globulina 11S seguida das globulinas 2S e 7S (TAY; XU; PERERA, 2005). Riblett et al. (2001) observaram que a globulina 11S apresenta maior quantidade de aminoácidos sulfurados (metionina e cisteína) em relação à globulina 7S, razão pela qual explica que a globulina 11S forma gel com maior elasticidade do que o gel da fração protéica 7S.

Alguns autores sugeriram que a estabilização da estrutura tridimensional do gel de proteínas de soja pode envolver ligação de hidrogênio, associação hidrofóbica, interação iônica e ligação dissulfeto (SHIMADA; MATSUSHITA, 1980; BABAJIMOPOULOS et al., 1983). Utsumi e Kinsella (1985) relataram que as possíveis forças moleculares na formação da matriz estrutural do gel da globulina 11S são interações hidrofóbicas, eletrostáticas e ligações dissulfeto, da globulina 7S são interações hidrofóbicas e ligações de hidrogênio e do isolado de soja são ligações de hidrogênio e interações hidrofóbicas.

- **Tipos de coagulantes**

O tipo de coagulantes é muito importante na definição da textura e sabor do tofu. A textura do tofu pode ser lisa, firme e consistente, mas não deve ser dura e borrachenta (OBATOLU, 2008). A preferência por diferentes texturas de tofu, varia entre as diferentes culturas, assim, o uso dos diversos coagulantes é diferente entre as nações. Os chineses usam o sal de cálcio a mais de 2000 anos. Os

japoneses preferem o sal de magnésio e/ou glucona- $\delta$ -lactona (GDL). No Brasil, a grande parte do tofu é produzida artesanalmente e o coagulante mais utilizado é o sulfato de magnésio, conhecido como salamargo. Na Nigéria, o coagulante de preferência é o suco de limão (OBATOLU, 2008).

Segundo Watanabe (1996) os coagulantes são classificados em dois grupos: coagulantes de ação lenta ( $\text{CaSO}_4$  e GDL) e coagulantes de ação rápida ( $\text{CaCl}_2$ ,  $\text{MgCl}_2$  e  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ).

Os tofus soft apresentam superfície lisa e são produzidos a partir dos coagulantes de ação lenta e/ou de sais de cálcio, enquanto que os produzidos a partir dos coagulantes de ação rápida (sais de magnésio) apresentam textura firme, superfície rugosa, elasticidade e gomosidade mais acentuada. O tofu obtido a partir de coagulantes ácido (suco de limão) ou com sais de cátion de carga maior (alumina), apresentam uma textura mais dura e com menor elasticidade e gomosidade (OBATOLU, 2008). Portanto, o mecanismo de interação entre os diferentes coagulantes e as proteínas da soja é responsável pelas diferentes texturas e sabor de tofu.

- **Sais de cátion bivalente**

A coagulação das proteínas de soja pela solução salina é devido à repulsão das cargas elétricas que permitem a agregação das proteínas. Os cloretos de cálcio e/ou magnésio e os sulfatos de cálcio e/ou magnésio permitem a formação de uma ponte através da quais as proteínas da soja podem se agregar, aumentando a interação das ligações cruzadas dos polímeros (BEDDOWS; WONG, 1987; MULLIN et al., 2001).

Obatolu (2008) comparou o tofu formulado com sulfato de cálcio e sulfato de magnésio e observou que o tofu coagulado com o sulfato de cálcio apresentou maior rendimento, menor dureza e mastigabilidade, cujos resultados, foram contrários aos obtidos por Prabhakaran, Perera e Valiyaeettil (2005). A diferença nas características de textura pode ser atribuída ao elevado conteúdo de umidade do tofu e provavelmente a incompleta precipitação das proteínas da soja podem causar defeitos “bolhas de ar” na rede protéica do gel (OBATOLU, 2008).

- **Sais de cátion trivalente**

A coagulação das proteínas da soja com o sulfato duplo de potássio e alumínio forma tofu com menor rendimento e maior dureza, mastigabilidade e fragilidade (OBATOLU, 2008). Os íons  $\text{Al}^{3+}$  e o  $\text{SO}_4^{2-}$  por apresentar elevada força iônica, provoca a expulsão das moléculas de água da rede protéica, formando um tofu com estrutura mais densa e compacta. A baixa capacidade de retenção de água tem sido associada com a diminuição do rendimento e elevada dureza do tofu (CAI; CHANG, 1998; SZCZESNIAK, 1998).

- **Suco de limão ou vinagre**

O suco de limão e o vinagre podem ser usados como coagulantes alternativos. A precipitação das proteínas da soja através destes coagulantes ocorre devido à redução do pH do extrato aquoso até atingir o pH isoeletrico das globulinas 7S e 11S.

Obatolu (2008) reportou que as proteínas de soja coaguladas com o suco de limão produzem tofu com textura mais macia e frágil do que o tofu coagulado com sulfato de cálcio, sulfato de magnésio, alumina e extrato fermentado de milho. Neste estudo, os nigerianos tiveram preferência pelo tofu obtido a partir do suco de limão por apresentar características semelhantes ao tofu soft.

- **Glucona-delta-lactona (GDL)**

O coagulante glucona- $\delta$ -lactona é um forte quelante por apresentar quatro grupos hidroxilas e quando dissolvido em água é hidrolisado em ácido glucônico. Este coagulante é muito usado no Japão para a fabricação de tofu soft. O rendimento do tofu obtido a partir do GDL é aproximadamente três vezes maior que o obtido por outros coagulantes, porque toda a água do extrato aquoso é retida na rede protéica do gel (CAI; CHANG, 1997).

O tofu soft tem sido mais apreciado pelos japoneses, por apresentar uma textura firme, macia e sabor suave. A característica do tofu soft esta relacionada com a alta capacidade de retenção de água pelo complexo proteína-GDL, devido ao forte caráter quelante do GDL. O sabor leve e adocicado também se deve ao GDL,

uma vez que este é utilizado como aditivo para mascarar gosto indesejável (OBATOLU, 2008).

- **Concentração ótima do coagulante**

A concentração ótima do coagulante (COC) é um fator importante para obtenção de tofu com qualidade e rendimento. Sun e Breene (1991) estudaram a concentração ótima de sulfato de cálcio na formulação do tofu e observaram que a melhor concentração foi de 0,02N de  $\text{CaSO}_4$  por ter apresentado maior porcentagem de recuperação de proteína do extrato de soja e sólidos totais no tofu.

Beddows e Wong (1987) relataram que o excesso de coagulante provoca a perda de soro na rede protéica, tornando-se mais semelhante a um precipitado, com a formação de tofus mais duro e de menor rendimento.

Liu e Chang (2003) desenvolveram um método rápido para determinar a concentração ótima de coagulante para fazer tofu. Esta técnica é aplicada para coagulantes de ação rápida e baseia-se na titulação do extrato de soja sob agitação magnética (formação de redemoinho) e a solução de coagulante é adicionada até o desaparecimento do redemoinho. O valor de COC está relacionado com a quantidade de sólidos totais e em especial a concentração de proteína solúvel no extrato de soja as quais variam entre as diferentes cultivares, tempo e condições de armazenamento.

- **Temperatura e pH de coagulação**

A temperatura de desnaturação em pH 7,0 das globulinas 7S e 11S são 67 e 80°C, respectivamente. Na literatura são encontradas várias temperatura de coagulação das proteínas para a preparação de tofu: 100°C (THOMAS; deMAN; deMAN, 1989); 90°C (ISHIGURO et al., 2006; TODA; CHIBA; ONO, 2007); 88°C (WANG; CHANG, 1995); 87°C (NARAYAN; CHAUHAN; VERNA, 1988b; CAI; CHANG, 1997; HOU; CHANG, 1998, 2004c; CAI; CHANG, 1999; OBOH, 2006; KONG et al., 2008); 80°C (SCHAEFER; LOVE, 1991); 75°C (OBATOLU, 2008); 70°C (SKURRAY; CUNICH; CARTER, 1980, SAIO et al., 1980; SUN; BREENE, 1991). Para o preparo do tofu filled, a temperatura inicial de coagulação é de 20 °C com aquecimento gradual em banho-maria até atingir 80 °C (LIU; CHANG, 2003, 2004).

O pH isoelétrico das globulinas 7S e 11S é de 4,90 e 4,64, respectivamente. Portanto, a precipitação das proteínas da soja ocorre numa faixa estreita de pH 4,0 a 5,0.

Kroll (1984) estudou o efeito do pH sobre a ligação do íon cálcio e as proteínas da soja. Observou que a constante de estabilidade da ligação cálcio-proteína aumenta com o aumento de pH e na faixa de pH 3,0 a 6,5 ocorreu um aumento brusco de ligação do íon cálcio com os grupos carboxílicos dos resíduos dos ácidos aspártico e glutâmico das proteínas da soja. Para pH alcalino (9 a 12) ocorre desnaturação irreversível das proteínas.

Yuan et al. (2002) observaram que a precipitação das globulinas 7S e 11S dependem do pH e da concentração do íon cálcio. Na faixa de pH 6,5 a 8,0 a globulina 11S apresentou menor densidade de carga e maior superfície de contato que a globulina 7S, necessitando assim, uma menor quantidade de cálcio para precipitar.

#### • Tempo e velocidade de agitação durante a coagulação

O tempo e a velocidade de agitação durante a coagulação dependem do tipo do coagulante. No caso de sais bastante solúveis como o sulfato e cloreto de magnésio, o tempo de agitação para a mistura é ao redor de 5 segundos e com uma velocidade de agitação bem branda, ou seja, não é necessária agitação vigorosa com auxílio de agitação mecânica. Enquanto que outros sais pouco solúveis como o cloreto de cálcio e sulfato de cálcio, necessitam uma velocidade de agitação maior para misturar e formar a rede protéica do gel (CAI; CHANG, 1997).

Algumas formulações de tofu com o sulfato de cálcio foram realizadas com agitação constante de 285 rpm por 10 s (HOU; CHANG, 1998), 150 rpm por 10 s (HOU; CHANG 2004c), 150 rpm por 14 s (CAI; CHANG, 1997) e mantido em repouso por 10 a 20 minutos para completar a coagulação.

Cai e Chang (1999) compararam a qualidade do tofu obtido por três métodos de processamento de tofu. No método de bancada, a velocidade e o tempo de agitação do sulfato de cálcio foi de 150 rpm durante 14 s, no método piloto foi de 285 rpm por 10 s e no método de produção foi de 420 rpm por 10 s.

A coagulação do tofu filled é obtido a partir da adição do coagulante de ação lenta (GDL ou  $\text{CaSO}_4$ ) ou coagulante de ação rápida ( $\text{CaCl}_2$  ou  $\text{MgCl}_2$ ) a

temperatura inicial de 20 °C e aquecimento gradual em banho-maria até 90°C por uma hora (TODA; CHIBA; ONO, 2007), 80 °C por uma hora (LIU; CHANG, 2003), 70 °C por uma hora (SAIO et al., 1980).

#### *3.4.2.1.3 Tempo e força de prensagem do tofu*

O tempo e a força de prensagem é um parâmetro muito importante para a textura do tofu, porque esta relacionada com a exsudação da água da rede protéica e a dureza do tofu. Entretanto, não existe uma padronização nos trabalhos realizados por diferentes pesquisadores.

A força de prensagem e o tempo encontrado na literatura foram: 56,25 g cm<sup>-2</sup> por 2 horas (SUN; BREENE, 1991), 34,8 g cm<sup>-2</sup> (WANG; CHANG, 1995), 106,6 g cm<sup>-2</sup> (SKURRAY; CUNICH; CARTER, 1980), 64,4 g cm<sup>-2</sup> por 10 minutos seguido de 96,7 g cm<sup>-2</sup> (HOU; CHANG, 2004c; KONG et al., 2008), 21,8 g cm<sup>-2</sup> por 10 minutos, seguido 43,6 g cm<sup>-2</sup> por 10 minutos e seguido de 65,4 g cm<sup>-2</sup> por 30 minutos (CAI; CHANG, 1997; HOU; CHANG, 1998; CAI; CHANG, 1999).

### 3.5 ENVELHECIMENTO DA SOJA E SUAS IMPLICAÇÕES

Após a colheita, a soja, muitas vezes, permanece armazenada por longos períodos em condições ambientais não controladas até que seja transportada para ser processada para a produção de alimentos. Condições ambientais adversas durante o armazenamento resultam na deterioração ou envelhecimentos dos grãos, sendo um problema sério tanto para a agricultura (devido à perda da viabilidade das sementes) quanto para o processamento dos grãos (devido à perda da qualidade tecnológica) (HOU; CHANG, 1998, 2004c; SANTOS; MENEZES; VILLELA, 2005, KONG et al., 2008). Várias alterações físicas, químicas e bioquímicas ocorrem na soja durante a estocagem, dependendo das condições (NARAYAN; CHAUHAN; VERNA, 1988a).

A temperatura, umidade relativa do ar, conteúdo de umidade dos grãos, além da qualidade dos grãos (como a integridade) e a presença de materiais estranhos são os principais fatores que devem ser controlados durante o armazenamento de grãos para preservação dos mesmos (LIU; CHANG, 2003; SANTOS; MENEZES; VILLELA, 2005; KONG et al., 2008).

De acordo com Kong et al. (2008), para preservar a qualidade da soja por tempo prolongado (maior que um ano), a melhor condição de armazenamento é aquela com temperatura baixa ( $< 22\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) e UR entre 55 e 60%, que corresponde ao conteúdo de umidade inicial nos grãos de 8 a 10%. Assim em países de clima tropical como o Brasil e do Sudeste Asiático, onde o clima é quente (temperatura média anual próxima de  $27\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) e úmido (UR média anual é cerca de 80%), a estocagem da soja em condições ambientais é um problema.

A UR do ambiente e o conteúdo de umidade dos grãos são mais críticos que a temperatura de armazenamento (HOU; CHANG, 1998). A UR próxima de 75% e temperatura ambiente propicia o crescimento de fungos durante a estocagem dos grãos (LIU et al., 2008). Em UR inferior a 55%, a soja torna-se excessivamente seca e facilita a fissura da casca e a quebra dos grãos durante o manuseio (KONG et al., 2008).

Hou e Chang (1998), estudando a estabilidade dos grãos de soja com a presença de 10 a 20% de grãos ardidos (danificados por quebra e fissura) armazenados a  $30\text{ }^{\circ}\text{C}$  e 85% de UR por até 60 dias, notaram que quanto maior a porcentagem de grãos danificados mais rápida era a deterioração, pois em grãos quebrados e com fissura na casca a área susceptível a reações químicas é maior.

A recomendação no Brasil é que os grãos de soja com umidade de 10 a 13% sejam armazenados em silos em temperatura máxima de  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$  para evitar crescimento de fungos (DEVILLA et al., 2004). O armazenamento de grãos com teor de umidade superior a 13% resulta em danos provocados por mudanças no metabolismo celular, com o aumento da atividade enzimática e respiratória dos grãos, propiciando o desenvolvimento de fungos que é favorecido pela elevada temperatura (VIEIRA; YOKOYAMA, 2000; SANTOS; MENEZES; VILLELA, 2005).

Grãos de soja envelhecidos comparados com os recém colhidos são caracterizados pela coloração mais escura, menor densidade, maior dureza, alterações na estrutura da casca e dos cotilédones, apresenta maior velocidade de absorção de água e perda de sólidos durante a hidratação (SAIO et al., 1980; NARAYAN; CHAUHAN; VERMA, 1988a; THOMAS; deMan; deMan, 1989; SUN; BREENE, 1995; HOU; CHANG, 1998; BRACCINI et al.; 1999; SILVA; VIEIRA; SANTOS, 2008). Tais características são resultados de alterações fisiológicas e bioquímicas que ocorrem nos grãos durante o armazenamento que dependendo das

condições podem resultar em mudanças de qualidade mais ou menos severas (HOU; CHANG, 1998, 2004a, 2004b; KONG et al., 2008).

O mecanismo do envelhecimento é complexo e ainda não está bem elucidado. Os primeiros sinais de deterioração/envelhecimento dos grãos estão relacionados com a alteração ou perda da integridade das membranas celulares (SANTOS; MENEZES; VILLELA, 2005; SILVA; VIEIRA; SANTOS, 2008). Com a desorganização das membranas celulares há perda da compartimentalização celular e descontrole do metabolismo e das trocas de água e soluto entre as células e o meio exterior (MARCOS FILHO, 1999; SILVA; VIEIRA; SANTOS, 2008). Parrish e Leopold (1978) relataram que a deterioração das membranas celulares dos grãos de soja durante estocagem em condições adversas foi a principal causa de perda de vigor ou capacidade de germinação, declínio da atividade respiratória e perda de eletrólitos dos grãos para a água de hidratação. Saio et al. (1980) também constataram perda de eletrólitos durante a hidratação de grãos envelhecidos de soja.

Os grãos possuem natureza higroscópica e, dependendo das condições ambientais (principalmente não controladas) podem ganhar ou perder água facilmente. Neste processo de hidratação-desidratação, geralmente, ocorrem danos nos tegumentos que resultam na redução de qualidade fisiológica (SANTOS; MENEZES; VILLELA, 2005).

A atividade enzimática também pode indicar transformações nos grãos durante o armazenamento. Por exemplo, foi observada alta atividade da enzima álcool desidrogenase em soja, indicando aumento da respiração em função do acréscimo do grau de hidratação (BOCK, 1999), porém com o tempo há a degradação do sistema respiratório (ABDUL-BAKI; ANDERSON, 1972). A fosfatase ácida, que é uma hidrolase que participa de reação de hidrólise de ésteres, pode atuar sobre os fosfolipídeos da membrana, provocando a peroxidação destes. A enzima esterase tem atividade aumentada durante o armazenamento do feijão, e também está envolvida em reações de hidrólise ligada ao metabolismo de lipídeos, como os fosfolipídeos da membrana (SANTOS; MENEZES; VILLELA, 2005). Durante o envelhecimento da soja pode ocorrer diversas reações enzimáticas e também as não enzimáticas.

Narayan, Chauhan e Verma (1988a) observaram o decréscimo do conteúdo de ácido linoléico e linolênico e aumento de peróxidos e ácidos graxos

livres em soja armazenada em condições ambientais durante 1, 2, 3 e 9 anos. O aumento de peróxidos e ácidos graxos livres foi atribuído à oxidação de ácidos graxos insaturados e a reação hidrolíticas das moléculas de triacilgliceróis, respectivamente. A deterioração dos lipídeos resulta na formação de ácidos graxos livres e compostos voláteis (alcoóis, aldeídos e cetonas) que podem contribuir para o aumento de acidez no tecido do grão, e assim causar a desnaturação parcial das proteínas e conseqüentemente reduzir sua solubilidade e extração (SAIO et al., 1980, NARAYAN; CHAUHAN; VERMA, 1988a; TRAWATHA; TEKRONY; HILDEBRAND, 1995; HOU; CHANG, 1998, 2004a, 2004b).

Hou e Chang (2004a, 2004b), considerando que 70% das proteínas de soja são compostas pelas frações 7S e 11S, caracterizaram e purificaram estas frações a partir de soja estocada em condições adversas (30 °C e 85% UR). Notaram que extrações de ambas frações diminuí drasticamente após três meses para a 11S e seis meses para a 7S, sendo justificada por alterações moleculares nas duas frações. Verificaram que em ambas frações protéicas a estocagem induziu uma redução na hidrofobicidade de superfície e aumento nas interações disulfetos intramoleculares, além do aumento no conteúdo da estrutura secundária  $\alpha$ -hélice e redução da  $\beta$ -folha, porém sem alteração nas massas moleculares, indicando que as moléculas tornaram-se mais agregadas.

O endurecimento dos grãos pode estar associado à polimerização de compostos fenólicos formando polímeros de alta massa molecular com números suficiente de grupamentos hidroxílicos fenólicos para formar ligações cruzadas com as proteínas e carboidratos, como ocorrem em feijão (NOZZOLILLO; BEZEDA, 1984).

O escurecimento dos grãos de soja tem sido explicado pelas reações de escurecimento enzimático, que pode ser o resultado da reação de oxidação de substratos fenólicos pela ação da polifenoloxidase e monooxigenase, ou por meio de reação de escurecimento não enzimático envolvendo a reação de Maillard e formação de compostos escuros (REYS-MORENO; PAREDES-LÓPEZ, 1993; HOU; CHANG, 1998).

Hou e Chang (2004c) observaram que o conteúdo de carboidratos em grãos de soja armazenados a 30 °C e 84% UR durante 9 meses apresentou alterações no seu conteúdo, mas não encontraram uma tendência específica. No mesmo estudo observaram diminuição de 44% de açúcares redutores, cujos resultados concordaram com os encontrados por Locher e Bucheli (1998) que

sugeriram a degradação dos açúcares solúveis, especialmente estaquiose, rafinose e verbascose, de sojas estocadas sob a condição tropical simulada (30°C e 82% de UR), por 9 meses. Os açúcares redutores podem participar da reação de glicosilação não enzimática (ligação entre as moléculas de açúcar e proteínas, exemplo proteínas glicosiladas) e reação de escurecimento de “Maillard” com os resíduos de aminoácidos, contribuindo para o escurecimento dos grãos de soja durante a estocagem (NARAYAN; CHAUHAN; VERNA, 1988a; HOU; CHANG, 1998, 2004a, 2004b, 2004c; KONG et al, 2008).

Thomas, deMan e deMan (1989) observaram decréscimo do teor de fitato e aumento no teor de fosfato inorgânico em sojas armazenadas a 20 e 30°C e 65 e 85% de UR durante 8 meses, e alegaram que pode ter ocorrido a degradação enzimática do fitato, uma vez que a atividade enzimática é ativada com as condições adversas. Neste mesmo trabalho foi observada a diminuição do teor de cálcio no extrato de soja, a qual pode ter reagido com fosfato inorgânico, enquanto que o conteúdo de magnésio variou, mas não foi observada uma tendência específica com as condições de envelhecimento. Hou e Chang (2003) também observaram a diminuição significativa do teor de fitato em sojas armazenadas a 30 °C e 84% UR durante 9 meses e sugeriram que a degradação dos fitatos contribuíram para o decréscimo de pH. Na soja como matéria prima, o conteúdo de fitato é importante, pois influencia as características de textura do tofu (HOU; CHANG, 2003; ISHIGURO et al., 2008).

Hou e Chang (2002) estudaram as alterações das formas das isoflavonas em função de diferentes condições de estocagem da soja. Nas condições de estocagem mais amenas (20 °C e 57% UR) as conversões das isoflavonas glicosídicas para agliconas foram menor. Nas condições de temperatura e UR mais elevadas (30°C e 84%) a conversão dos glicosídeos e malonilglicosídeos para a suas respectivas formas agliconas foram aproximadamente 97% após 9 meses de estocagem. A conversão foi devido a ação das enzimas  $\beta$ -glucosidade B e C que agem em condições ótimas de pH 5,0 e 45 a 50°C (MATSUURA; SASAKI; MURAO, 1995).

O envelhecimento da soja prejudica a qualidade e aceitação de seus produtos, em especial os não fermentados como o extrato de soja e o tofu (NARAYAN; CHAUHAN; VERNA, 1988b; HOU; CHANG, 1998, 2004c; KONG et al, 2008; LIU; CHANG, 2008).

Há diversos relatos sobre prejuízos causados à qualidade de tofu e extrato de soja devido à estocagem dos grãos de soja em condições adversas. A deterioração da qualidade destes produtos inclui principalmente o escurecimento (tofu e extrato de soja), aumento da acidez e redução de sólidos totais (no extrato aquoso), em especial das proteínas, diminuição do rendimento e qualidade de textura do tofu (SAIO et al., 1980, THOMAS; deMan; deMan, 1989; HOU; CHANG, 1998, 2004a, 2004b, 2004c; KONG et al., 2008).

O escurecimento se deve a extração dos compostos escuros formados durante o armazenamento dos grãos (HOU; CHANG, 1998, 2004c; KONG et al., 2008). O baixo pH do extrato aquoso também é consequência do aumento de acidez no tecido dos grãos devido ao envelhecimento, cuja queda é de 6,6 a 5,7 (SAIO et al., 1980, THOMAS; deMan; deMan, 1989, HOU; CHANG, 2002; KONG et al., 2008).

A proteína é o componente bioquímico que mais influencia a textura de tofu. Assim o conteúdo de proteína nos extrato de soja é importante tanto para textura como para o rendimento do produto (TODA et al., 2009). Há relatos sobre a redução do rendimento e da qualidade de textura de tofus preparados de soja envelhecida (SAIO et al., 1980, THOMAS; deMan; deMan, 1989, HOU; CHANG, 1998, 2004c; KONG et al., 2008). Alguns pesquisadores observaram que a textura do tofu apresentou decréscimo de dureza, fraturabilidade e elasticidade em função do tempo de estocagem (SAIO et al., 1980, MURPHY; CHEN; HAUCK, 1997) e outros encontraram o comportamento inverso (THOMAS; deMan; deMan, 1989, HOU; CHANG, 1998, 2004; KONG et al., 2008). Saio et al. (1980) reportaram que mudanças na textura dos tofus em função do envelhecimento de soja estão relacionadas ao decréscimo da extração de sólidos e proteínas no extrato de soja.

A coagulação da proteína do extrato de soja e a quantidade de coagulante são fatores críticos para obtenção de tofu de boa textura e rendimento. A concentração de coagulante depende do conteúdo de sólidos totais, especialmente de proteínas no extrato de soja, além de outras variáveis, como a temperatura, velocidade e tempo de agitação durante a coagulação (LIU; CHANG, 2003, 2004, 2008). Liu e Chang (2008) observaram decréscimo significativo de concentração ótima de  $\text{CaCl}_2$  e  $\text{MgCl}_2$  para coagular extratos de soja armazenadas em diferentes atividade de água durante três meses a 30 °C. A concentração ótima de coagulante para soja recém colhida pode não ser adequada para a soja envelhecida

(SKURRAY; CUNICH; CARTER, 1980) e em caso de situação extrema de concentração muito elevada de coagulante, o tofu resultante tem aparência mais de um precipitado do que de gel (LIU; CHANG, 2008).

Kong et al. (2008) estudaram o tempo ótimo de agitação para a coagulação das proteínas das sojas estocadas de zero a 12,5 meses sob 40°C e 70% de UR, fixando a velocidade de agitação em 150 rpm. Observaram que o tempo de agitação ótimo decresceu de 12 s para 7 s, e a redução do tempo foi justificada pela diminuição da quantidade de sólidos extraídos, devido à baixa solubilidade das proteínas com o tempo e as condições de estocagem.

Poucos estudos demonstram o efeito do envelhecimento da soja sobre as características sensoriais de aparência, aroma, sabor e textura do tofu. Narayan; Chauhan e Verna (1988b) relataram a diminuição de aceitação de tofus preparados a partir de sojas estocadas a temperatura e UR ambiente durante 1, 2, 3 e 9 anos.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados nos Laboratórios dos Departamentos de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Agronomia, Biotecnologia e Bioquímica, e Microscopia Eletrônica da Universidade Estadual de Londrina, Paraná, Brasil.

### 4.1 MATERIAL

Foram utilizadas as cultivares não transgênicas de soja (*Glycine Max* (L) Merrill) Coodetec 214 e BRS 267 recém-colhidas da safra 2008/2009, cujos tamanhos foram classificados em massa, segundo Yokomizo et al. (2000), como 11,7 g/100 g e 19,4 g/100 g de grãos, respectivamente. A cultivar BRS 267 foi cultivada no campo experimental da Embrapa – Soja - Londrina e a Coodetec 214 no Município de Nova Fátima, na Região Norte do Paraná. Todos os reagentes utilizados neste estudo foram de grau analítico.

#### 4.1.1 Condições de Armazenamento da Soja

Tendo como base os estudos de Hou e Chang (2004a, 2004b, 2004c), três condições de armazenamento da soja foram aplicadas: envelhecimento acelerado (EA): 30 °C e 84% UR, até nove meses; envelhecimento natural (EN): temperatura e UR ambiente (variação no período = 17,3 a 24,5 °C e 59 a 93% UR) até 18 meses e controle (C): -20 °C e 47% UR.

Para obter a umidade relativa de 84%, foram utilizados recipientes de plásticos com tampa contendo uma solução saturada de cloreto de potássio depositada no fundo do recipiente. Amostras de 650 g de soja foram embaladas com tecido filó e colocadas sobre um suporte com base de metal perfurada que separou a amostra da solução. Os recipientes com as amostras foram colocados em estufas a 30 °C (FREEZETEC, D1004, Brasil). A temperatura e a umidade relativa, no interior dos recipientes foram monitoradas por meio de um termo-higrômetro (INCOTERM, 7663.02.0.00). As amostras de 650 g foram retiradas da estufa em intervalos de um mês e transferidas para as mesmas condições das amostras controle para posteriores análises.

Para a condição de EN, os grãos foram acondicionados em sacos de algodão (20 kg) e armazenados em uma sala nas condições de temperatura e UR ambiente (variação no período = 17,3 a 24,5 °C e 59 a 93% UR). Em intervalos de três meses, amostras de 650 g foram retiradas e embaladas em pacotes de plásticos e armazenadas nas mesmas condições do controle até realização das análises.

As amostras controles (tempo zero) foram acondicionadas em pacotes de plásticos contendo 900 g.

#### 4.1.2 Preparo das Amostras Moídas de Soja

Os grãos de soja, após serem retirados das condições de estocagem, foram secados em estufa (30 °C) com ventilação de ar (TECNAL, TE 394/3, Brasil) durante 24 h. Em seguida, foram triturados em moinho (IKA, A11). As amostras moídas foram submetidas a análises de cor, composição centesimal, pH, acidez titulável, capacidade de absorção e retenção de água, solubilidade das proteínas em diferentes pHs, teor de fitatos e de compostos fenólicos totais.

### 4.2 MÉTODOS

#### 4.2.1 Análises Físicas

##### 4.2.1.1 Determinação dos parâmetros de cor dos grãos inteiros e moídos

Os parâmetros de cor dos grãos inteiros e moídos foram medidos em um colorímetro (GARDNER, Color Guide 45/0, Alemanha). O colorímetro foi calibrado com o padrão branco ( $L^* = 97,59$ ,  $a^* = 0,39$ ,  $b^* = 1,75$ ). Empregaram-se iluminante CIE-D65 (luz natural do dia), iluminação em ângulo de 45°, ângulo de observação de 0° e observação padrão CIE 10°. O colorímetro forneceu diretamente os parâmetros  $L^*$  (Luminosidade), onde 0 = preto e 100 = branco,  $a^*$  (componente vermelho-verde),  $b^*$  (componente amarelo-azul). A tonalidade cromática ( $h^\circ$ ) foi calculada pela equação 1.

$$h^\circ = \arctan(b^*/a^*) \quad (\text{Equação 1})$$

Onde:  $h^\circ$  = tonalidade cromática ( $0^\circ$  = vermelho puro,  $90^\circ$  = amarelo puro,  $180^\circ$  = verde puro e  $270^\circ$  = azul puro)

#### 4.2.1.2 Microscopia eletrônica de varredura (MEV) da casca e do cotilédone dos grãos

As amostras foram preparadas segundo Kao, Su e Lee (2003) com algumas modificações. Os grãos de soja foram submetidos ao processo de fixação com solução de gluteraldeído 3%, paraformaldeído 2% e solução tampão de fosfato 0,1M pH 7,0, durante 24 h a temperatura ambiente. Em seguida, os grãos foram fraturados em nitrogênio líquido. Uma pequena parte do cotilédone e da casca foram lavadas com solução tampão fosfato 0,1M pH 7,0 (três vezes por 15 min.), e então fixada com a solução de  $\text{OsO}_4$  1%, por 1 h a temperatura ambiente. Então, as amostras foram submetidas ao processo de desidratação com etanol 70% (duas vezes de 15 min.), etanol 80% (duas vezes de 15 min.), etanol 90% (três vezes de 15 min.) e etanol 100% (quatro vezes de 10 min.). Por fim, as amostras foram colocadas em um evaporador à vácuo para sublimar o etanol (Critical Point Dryer CPD 010, Bal-Tec, Alemanha). As amostras secas foram fixadas sobre a superfície de um stub de alumínio e em seguida foi recoberto com ouro (Sputter Coater model SCD 050, Bal-Tec, Alemanha). As estruturas das amostras foram visualizadas por meio da técnica de varredura em microscópio eletrônico a 20 kV (model Quanta 200, FEI, Holanda).

#### 4.2.1.3 Cinética de sorção de água

A taxa de sorção de água ( $S$ ) e a umidade de equilíbrio ( $X_{eq}$ ) dos grãos de soja no processo de hidratação foram determinadas segundo método de Sun e Breene (1991). Aproximadamente 10 g de soja com casca foram imersas em 50 mL de água destilada e mantidos a  $25^\circ\text{C}$  por 24 horas. Em intervalos de 2 horas, por um período de 10 horas, e após 24 horas, os grãos foram drenados em peneira durante 30 segundos e então pesados. A quantidade de água absorvida ( $A$ ) foi calculada pela diferença de massa da amostra em cada intervalo de hidratação e a

massa inicial. Os valores da taxa de sorção de água ( $S$ ) e umidade de equilíbrio ( $X_{eq}$ ) foram determinados através do modelo apresentado na equação 2, usando o programa Statistica 7.0 (STATSOFT, 2004), módulo estimativa não linear:

$$A = \frac{S \times X_{eq} \times t}{1 + t \times S} \quad (\text{Equação 2})$$

Onde:  $A$  = quantidade de água absorvida (g água absorvida/100 g soja)

$S$  = taxa de sorção de água (g água absorvida/ 100 g soja x h)

$X_{eq}$  = umidade de equilíbrio (g água absorvida/ 100 g soja x h)

$t$  = tempo de hidratação (h)

#### 4.2.1.4 Determinação da dureza dos grãos cozidos

A dureza dos grãos cozidos foi determinada segundo o método de Liu et al. (1992). Foram hidratados, em água destilada, 15 g de grãos na proporção 1:5 (m/v), durante quatro horas à temperatura ambiente. Estes foram drenados e acondicionados em saquinhos de tecido (tunil) e cozidos em béquer contendo água pré-aquecida (100°C) na proporção de 1:20 (m/v), com tampa de vidro relógio, durante 90 minutos. Em seguida, os grãos foram resfriados em banho de gelo até atingir a temperatura ambiente. Trinta grãos cozidos, selecionados ao acaso de cada tratamento foram comprimidos em dois ciclos de compressão, até 60% da altura inicial usando um sensor cilíndrico de 25 mm de diâmetro (P 25) e velocidade constante de 2,0 mm/s em um texturômetro (Stable Micro Systems, TA-XT2i, Inglaterra). Os resultados de dureza foram expressos em Newton (N).

#### 4.2.2 Análises Físico-Químicas

##### 4.2.2.1 Análise de composição centesimal e de minerais

Os teores de proteína totais, lipídeos, umidade, cinza e minerais (Ca, Mg e P) foram determinados pelos métodos padrões da AOAC (1995). O teor total de proteína foi determinado pelo método de Kjeldahl usando o fator de conversão

6,25. O teor de carboidratos foi determinado por diferença em relação a proteínas, lipídeos, umidade e cinzas. Os resultados da composição centesimal e dos minerais nos grãos foram expressos em gramas por 100 g de amostra e dos minerais nos extratos de soja e tofus foram expressos em miligramas por gramas de amostras.

#### 4.2.2.2 Teor de fósforo fítico

O teor de fósforo fítico foi determinado pelo método de Thompson e Erdman (1982). Adicionaram-se 50 mL de uma solução de TCA 3% + Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a 10% a um grama de amostra sob agitação mecânica por 2 horas a 100 rpm em Shaker (Marconi, MA 140 CFT) e em seguida, procedeu-se a filtração em papel de filtro qualitativo. Transferiram-se 10 mL do filtrado para um tubo com 10 mL de água e 12 mL de solução de FeCl<sub>3</sub> que foram aquecidos em banho-maria por 90 minutos a 70 °C e então resfriados e centrifugados a 4500 x g por 15 minutos. O sobrenadante foi descartado e o resíduo lavado três vezes com a solução de HCl 0,6% + Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a 2,5% e solubilizado em 7,0 mL de solução digestora (HNO<sub>3</sub> + HClO<sub>4</sub> 4:1). Após a digestão, foi feita a diluição para 100 mL com água deionizada e a absorvância medida em espectrofotômetro (Biochrom, Libra S22) em comprimento de onda de 820 nm (CHEN; TORIBARA; WARNER, 1956). O teor de fósforo fítico foi expresso em gramas de fósforo fítico por 100 g de amostra.

#### 4.2.2.3 Teor de compostos fenólicos totais (CFT)

Os compostos fenólicos totais foram extraídos com solução de etanol 80% (PINTO et al., 2001) e o teor determinado através da reação com Folin-Ciocalteu, conforme descrito por Swain e Hillis (1959), com algumas modificações. Alíquotas de 0,5 mL do extrato de fenóis devidamente diluídas foram misturadas a 2,5 mL de solução aquosa de Folin-Ciocalteu 10% e 2,0 mL de solução de carbonato de sódio a 7,5% e então mantidos por 5 minutos em banho-maria a 50 °C. Após resfriamento a temperatura ambiente, a absorvância foi lida a 760 nm. O resultado foi expresso em gramas de CFT por 100 g de amostra.

#### 4.2.2.4 Medida de pH e acidez por titulação

A medida do pH foi feita por meio de um potenciômetro (HANNA, HI 223). A acidez titulável foi determinada segundo o método de Martin-Cabrejas et al. (1997). A acidez medida por titulação foi expressa como gramas de ácido acético por quilogramas de farinha.

#### 4.2.2.5 Solubilidade das proteínas em água e em diferentes pHs

A um grama de amostra adicionaram-se 50 mL de água deionizada (pH = 6,50) sob agitação mecânica, por dois minutos, em haste agitadora (MARCONI, MA 102), em velocidade de 12000 rpm. A mistura foi centrifugada (BIOENG, BE 6000) a 3700 x g por 25 minutos e determinou-se o teor de proteína solúvel no sobrenadante pelo método de Kjeldhal. Para medida de solubilidade em diferentes pHs, as proteínas foram solubilizadas em 50 mL de soluções de pH 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 e 12, ajustados com soluções de HCl ou NaOH 1M. Os resultados foram expressos em gramas de proteínas solúveis por 100 g de proteínas totais na amostra.

#### 4.2.2.6 Capacidade de absorção e de retenção de água

A capacidade de absorção e retenção de água foi medida segundo o método descrito por Okezie e Bello (1988). Suspensões com um grama de amostra e 50,0 mL de água deionizada (pH 6,5) foram preparadas em tubos de centrifuga, agitadas em agitador de tubos por 1 minuto e centrifugadas a 3700 x g por 20 minutos (centrífuga BIOENG, BE 6000). A seguir, o sobrenadante foi desprezado e a quantidade de água absorvida foi obtida pela diferença entre a massa da amostra antes e após a absorção de água. A capacidade de absorção e retenção de água foi expressa como gramas de água por 100 g de amostra.

#### 4.2.2.7 Eletroforese SDS-PAGE

As proteínas da soja foram extraídas segundo Carrão-Panizzi et al. (2008). O conteúdo de proteínas no sobrenadante foi quantificado pelo método de

Bradford (BRADFORD, 1976). O método de eletroforese utilizado foi o de Laemmli (1970) com algumas modificações. As amostras de proteínas foram dissociadas em tampão tris-glicina 0,075M, pH 6,8, glicerol 45% (v/v), SDS 2% (m/v), azul de bromofenol 0,015% (m/v) e  $\beta$ -mercaptoetanol 0,025% (v/v). Alíquotas de 30  $\mu$ g de proteína foram aplicadas em gel (12 x 8 x 0,15 cm) de poliacrilamida com gradiente de concentração variando de 8 a 16 %. O gel de separação foi preparado utilizando o tampão tris-base 3,78 M, pH 8,9. A separação foi conduzida, aplicando 80 V durante 0,5 hora e 150 V durante 3 horas. O tampão de corrida usado para a separação foi Tris-HCl 0,52 M, glicina 0,53 M e SDS 1%, pH 8,9. As bandas protéicas foram reveladas com solução de corante Coomassie Blue R-250 em metanol e água. A massa molecular das proteínas padrões utilizadas variou de 6 a 180 kDa.

#### 4.2.2.8 Preparação do extrato de soja

Os extratos de soja foram preparados segundo Sun e Breene (1991). Os grãos foram lavados e hidratados em água destilada (1/5, m/v) durante 8 horas a temperatura ambiente. Em seguida foram drenados, enxaguados e triturados com água destilada (1/7, m/v) em liquidificador (Philips Walita, RI2034/01), velocidade média, durante 3 minutos. Adicionou-se 0,1% (v/v) de agente anti-espumante à massa que em seguida foi aquecida em panela de inox, sob constante agitação até atingir a fervura e mantida por mais 5 minutos sob aquecimento brando e agitação. O extrato foi separado do resíduo por meio de filtração em tecido (tunil 100 mesh).

#### 4.2.2.9 Determinação da concentração ótima de coagulante (COC) em diferentes temperaturas

A COC dos extratos de soja em diferentes temperaturas (20, 30, 40, 50, 60, 70 e 80 °C) foi determinada por meio da titulação com solução de  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  a 20%, segundo a metodologia de Liu e Chang (2003) com algumas modificações. Para a titulação utilizou-se uma bureta com capacidade de 10 mL e graduação exata de 0,05 mL (marca Pyrex) conectada a uma bomba peristáltica

(Pharmacia Biotech, pump P-1) e a solução coagulante foi adicionada ao extrato aquoso a uma velocidade constante de 1,0 mL/ minuto. Durante a titulação, 60 mL de extrato de soja (em béquer de 100 mL) foram mantidos na temperatura de estudo (usando um banho Maria) sob agitação constante de 300 rpm, para formação de redemoinho, com auxílio de um agitador magnético (Biomixer, 78HW-1) e barra magnética (10 mm de diâmetro e 30 mm de comprimento) recoberta com teflon. No exato momento em que desapareceu o redemoinho, a bomba foi desligada e feita à leitura do volume da solução do coagulante consumida (Y mL). A COC foi calculada substituindo os valores de Y na equação 3:

$$\text{COC (mM)} = 1000 \cdot \frac{Y}{60 + Y} \cdot \text{concentração molar da solução coagulante} \quad (\text{Equação 3})$$

Para estudo do efeito da temperatura de coagulação dos extratos sobre a COC foram utilizadas as sojas armazenadas nas condições controle, EA 9 meses e EN 18 meses.

#### 4.2.2.10 Preparação do tofu

100 g de grãos foram lavados e hidratados em água destilada (1/5, m/v) por 8 h a temperatura ambiente. Em seguida foram drenados, enxaguados e triturados com água destilada (1/7, m/v) em um liquidificador (Philips Walita, RI2034/01), velocidade média, durante 3 minutos. A massa foi cozida em uma panela de inox sob constante agitação até atingir a fervura e foi mantida por mais 5 minutos sob aquecimento brando e agitação. O extrato foi separado do resíduo por meio de um tecido (tunil, 100 mesh) e a temperatura foi ajustada para 75 °C. Uma porção de 550 mL de extrato de soja foi submetido à coagulação com a solução de MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O a 20%, cuja a COC para cada amostra foi determinada de acordo com a técnica descrita no item 4.2.2.9, mantendo-se a temperatura a 75 °C. A mistura do extrato de soja com a solução coagulante foi feita sob agitação manual durante 10 s. A mistura foi mantida a 75°C em banho-maria durante 20 minutos para ocorrer a coagulação completa. O material coagulado foi transferido para uma forma de plástico (8,0 x 8,0 x 10,0 cm) forrada com um tecido (tunil) e drenado durante uma

hora sob pressão de 20 g/cm<sup>2</sup>. A seguir o tofu foi imerso em água e mantido a 4°C durante uma noite para posterior análises.

#### 4.2.2.11 Determinação de rendimento de tofu

O rendimento de tofu foi calculado por meio da equação 4 e expresso como g tofu/ 100 g de soja crua (Hou e Chang, 2004c).

$$\text{Rendimento (\%)} = \frac{M_1 \cdot V_1}{M_2 \cdot V_2} \cdot 100 \quad (\text{Equação 4})$$

Onde: M<sub>1</sub> = massa do tofu

M<sub>2</sub> = massa dos grãos de soja

V<sub>1</sub> = volume total do extrato

V<sub>2</sub> = volume parcial do extrato

#### 4.2.2.12 Determinação da composição química dos extratos aquosos e dos tofus

O conteúdo de sólidos do extrato de soja e do tofu foram determinados por meio da secagem de 30 g de extrato aquoso e de 20 g de tofu em liofilizador (Edwards, Pirani 501). Os conteúdos de umidade, proteínas, lipídeos, cinzas e minerais (Ca, Mg e P) foram determinados utilizando-se os métodos padrão da AOAC (1995). O conteúdo de carboidratos foi calculado por diferença. Os resultados da composição centesimal foram expressos em gramas por 100 g de amostra e dos minerais em miligramas por gramas de amostra.

#### 4.2.2.13 Cor do extrato de soja e tofu

A avaliação da cor dos extratos aquosos e dos tofus foram feitas em colorímetro (Konica Minolta, CR 400/410, Japão). A leitura dos parâmetros de cor no extrato de soja foi realizada sobre uma cubeta de vidro contendo a amostra (acessório CR – A103) e nos tofus foi feita diretamente sobre a superfície dos produtos. O colorímetro foi calibrado com o padrão branco (L\* = 97,59, a\* = 0,39, b\* = 1,75). Empregaram-se iluminante CIE-D65 (luz natural do dia), iluminação em ângulo de 45°, ângulo de observação de 0° e observação padrão CIE 10°. O colorímetro forneceu diretamente os parâmetros L\* (Luminosidade), onde 0 = preto e

100 = branco,  $a^*$  (componente vermelho-verde),  $b^*$  (componente amarelo-azul). A tonalidade cromática ( $h^\circ$ ) foi calculada pela equação 1 (item 4.2.1.1).

#### 4.2.2.14 Análise de Perfil de Textura (APT) instrumental dos tofus

O perfil de textura das amostras de tofus foi determinado utilizando-se um texturômetro (Stable Micro Systems, TA.XT2i, Inglaterra). Os tofus foram cortados com um cortador cilíndrico (3,0 cm de diâmetro e 2,2 cm de altura), desprezando a superfície externa do tofu. As amostras foram comprimidas, em dois ciclos de compressão, até 75% da altura inicial usando um sensor cilíndrico de 35 mm de diâmetro (P 35) e velocidade constante de 2,0 mm/s (ROSSET, 2007). Os parâmetros fraturabilidade (N), dureza (N), elasticidade, coesividade, adesividade (-N.s) e gomosidade foram calculados pelo software do equipamento.

#### 4.2.3 Análise Sensorial dos Tofus

A Análise Descritiva Quantitativa (ADQ) e teste de aceitação foram conduzidas após aprovação do projeto pelo Comitê de Ética em Pesquisa envolvendo Seres Humanos da Universidade Estadual de Londrina (parecer CEP/UEL nº 194/09, CAAE nº 0141.0.268.000-09, anexo 1 ). O questionário de recrutamento dos julgadores e o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) para os julgadores da ADQ e do teste de aceitação estão apresentados nos anexos 2, 3, 4 e 5, respectivamente.

##### • **Condições dos testes**

Para avaliação, as amostras de tofu foram cortadas em cubos de 2,0 cm (sem a superfície externa) e apresentadas, em temperatura ambiente, em copinhos de plástico transparente (50 mL) cobertos com filme plástico e codificados com números aleatórios de três dígitos. Antes e entre as provas sensoriais, os julgadores utilizaram água potável à temperatura ambiente para limpar a boca.

Os testes da ADQ foram realizados em cabines individuais, sob iluminação de lâmpadas fluorescentes tipo “luz natural do dia”.

O teste de aceitação empregado foi o tipo localização central, sendo conduzido em um clube social da colônia nipônica e no laboratório de análise sensorial.

#### 4.2.3.1 Análise descritiva quantitativa (ADQ) dos tofus

##### 4.2.3.1.1 Pré-seleção de julgadores

Foram recrutados, por meio de contato pessoal, 24 voluntários para participar da equipe julgadora. Os candidatos foram submetidos a teste de reconhecimento de gostos e odores básicos, de ordenação de dureza e cor (MEILGAARD; CIVILLE; CARR, 2007).

Para o reconhecimento de gostos básicos foi utilizada a metodologia da norma ISO 3972 (1991). Foram preparadas soluções para detecção dos gostos doce, salgado, ácido, amargo e umami, e a sensação oral de adstringência, conforme as concentrações das substâncias apresentadas no quadro 6.

**Quadro 6** - Soluções para teste de identificação de gostos básicos e sensação oral.

Gosto/Sensação	Solução	Concentração (%)
Doce	Sacarose	0,58
Salgado	Cloreto de sódio	0,12
Ácido	Ácido cítrico	0,04
Amargo	Cafeína	0,02
Umami	Glutamato monosódico	0,06
Adstringente	Ácido tânico	0,05

**Fonte:** Adaptado da ISO 3972 (1991)

As amostras de cada gosto ou sensação foram apresentadas em ordem aleatória aos candidatos em copinhos de plástico codificados com três dígitos e o critério de aprovação neste teste foi de 100% de acerto. O modelo da ficha de avaliação está apresentado na Figura 2.

**Figura 2** - Modelo de ficha de reconhecimento de gostos básicos

<b>TESTE DE RECONHECIMENTO DE GOSTOS</b>						
Nome: _____			Data: _____			
<p>Prove cuidadosamente cada solução e identifique o gosto/sensação percebido, preenchendo com um X no quadro correspondente ao gosto previamente identificado. Avalie as amostras da esquerda para a direita</p>						
n° da amostra	Doce	Salgado	Amargo	Ácido	Umami	Adstringente
Comentários: _____						

Para o teste de reconhecimento de odores, foram utilizadas 15 substâncias aromáticas diferentes encontradas no cotidiano: vinagre, café, cebola, cravo, pimenta-do-reino, canela, queijo parmesão, Yakult, álcool, orégano, ácido acético, chocolate, kinako, mostarda e cat chup, cujo critério para aprovação foi de 65% de acerto. O modelo da ficha de avaliação está apresentado na Figura 3.

**Figura 3** - Modelo de ficha de reconhecimento de odores

<b>TESTE DE RECONHECIMENTO DE ODORES</b>			
Nome: _____		Data: _____	
<p>Aspire a primeira amostra. Identifique o odor e registre na ficha. Aguarde alguns segundos para aspirar a próxima, ou realize o branco cheirando o seu braço ou mãos inodoros. Proceda desta forma para as amostras restantes.</p>			
Amostra	Descrição de odor	Amostra	Descrição de odor
Comentários: _____			

A contagem de pontos para cada candidato foi realizada da seguinte forma: 3 pontos para cada contagem correta, 2 pontos para respostas com termos descritivos associativos, 1 ponto para resposta errada e 0 ponto quando não houver resposta. O critério de aprovação foi de no mínimo 60% de acerto (WATTS et al., 1992).

Para o teste de ordenação de intensidade de dureza utilizaram-se quatro amostras (cenoura crua, queijo parmesão, queijo minas frescal e marshmallow) cuja dureza variou de 274,1 a 1,05 N (Quadro 7).

**Quadro 7** - Amostras utilizadas para o teste de ordenação de intensidade de dureza e os valores medidos no texturômetro

Produto	Tipo	Marca	Tamanho	Dureza (N)*
Cenoura	Crua	"In natura"	Cubo de 2 cm	279,13
Queijo	Parmesão	Buritis	Cubo de 2 cm	80,13
Queijo	Minas frescal	São Leopoldo	Cubo de 2 cm	7,45
Marshmallow	Geléia	Aragel	Cubo de 2 cm	1,05

\* média de quatro repetições; as amostras foram avaliadas a temperatura ambiente (25°C)

As amostras foram cortadas em cubos de 2,0 cm e apresentadas aos candidatos em ordem aleatória e o critério de aprovação deste teste foi de 100% de acerto. O modelo da ficha está apresentado na Figura 4.

**Figura 4** - Modelo de ficha de ordenação de intensidade de dureza

<b>TESTE DE ORDENAÇÃO DE INTENSIDADE DE DUREZA</b>	
Nome: _____	Data: _____
Por favor, ordene as amostras de acordo com a intensidade de dureza (força requerida para romper o alimento entre os dentes molares). Ordene a amostra menos dura como a primeira e a amostra mais dura como a última.	
Primeira: _____	
Segunda: _____	
Terceira: _____	
Quarta: _____	

Para o teste de ordenação da intensidade de cor, utilizaram-se o leite de vaca integral, extrato aquoso de soja BRS 267 com 18 meses de EN e extrato de soja Coodetec 214 com 9 meses de EA (Quadro 8) e o critério para aprovação foi de 100% de acerto. O modelo da ficha de avaliação está apresentado na Figura 5.

**Quadro 8** - Amostras utilizadas para o teste de ordenação de cor e os valores obtidos em colorímetro digital

Produto	Cor
Leite de vaca integral (marca Bom gosto)	L* = 50,85 a* = -1,38 b* = 4,27
EAS BRS 267 18 meses de EN	L* = 46,04 a* = 0,42 b* = 5,97
EAS Coodetec 214 9 meses de EA	L* = 40,66 a* = 1,22 b* = 6,20

EAS = Extrato Aquoso de Soja; EN= Envelhecimento Natural; EA= Envelhecimento Acelerado. Média de quatro repetições, sendo: L\*= luminosidade (0 = preto e 100 = branco); a\* = componente vermelho (+) e verde(-) e b\*= componente amarelo (+) e azul(-); as amostras foram avaliadas a temperatura ambiente (25°C).

**Figura 5** - Modelo de ficha de ordenação de intensidade de cor

<b>TESTE DE ORDENAÇÃO DE INTENSIDADE DE COR</b>	
Nome: _____	Data: _____
Por favor, ordene as amostras de acordo com a intensidade de cor. Ordene a amostra mais clara como a primeira e a amostra mais escura como a última.	
Primeira: _____	
Segunda: _____	
Terceira: _____	

A partir dos resultados dos testes de reconhecimento de gostos e odores básicos e de ordenação da intensidade de dureza e cor foram aprovados 15 dos 24 candidatos.

#### 4.2.3.1.2 Desenvolvimento da terminologia descritiva

Os atributos sensoriais ou descritores foram levantados utilizando o Método de Rede Kelly (Kelly's Repertory Grid Method) (MOSKOWITZ, 1983) pelos 15 julgadores pré-selecionados. As amostras de tofus foram apresentadas aos pares (Coodetec 214 controle e BRS 267 EN 18 meses), (Coodetec 214 EN 18 meses e BRS 267 controle) e (Coodetec 214 EA 6 meses e BRS 267 EA 6 meses) em sessões individuais, para que os julgadores descrevessem as diferenças e semelhanças entre cada par cujo modelo da ficha está no Quadro 9. Por meio de consenso entre os julgadores foram escolhidos os termos mais citados e retirados os termos sinônimos. Também por consenso foram elaborados um glossário com definições dos termos selecionados (Quadro 10) e a ficha de avaliação com escalas não estruturadas de 9 cm (Figura 6).

**Quadro 9** - Modelo de ficha para levantamento de terminologia descritiva

<b>FICHA PARA LEVANTAMENTO DA TERMINOLOGIA DESCRITIVA (MÉTODO REDE)</b>	
NOME: _____	DATA: _____
Por favor, compare as duas amostras quanto à aparência, aroma, sabor e textura e, descreva em que elas são semelhantes e em que são diferentes.	
SemelhançasDiferenças	
Aparência:	
Aroma:	
Sabor:	
Textura:	

**Quadro 10** - Descritores, definições e referências utilizados para a Análise Descritiva Quantitativa de tofus formulados a partir de sojas Coodetec 214 e BRS 267 armazenadas em diferentes condições.

Descritores/Definições	Amostras de Referência
<p><b>Aparência</b> Cor cinza: intensidade de cor cinza</p> <p>Uniformidade da cor: ausência de manchas escuras no tofu</p> <p>Brilho: reflexão da luz na superfície do tofu</p> <p>Rugosidade: Refere-se a uma superfície áspera</p> <p>Coesão: interação entre as partículas do tofu</p>	<p><b>Fraca:</b> tofu da cultivar Coodetec 214, controle <b>Intensa:</b> tofu da cultivar BRS 267, 6 meses de EA</p> <p><b>Baixa</b> (muitas manchas): tofu da cultivar BRS 267, 6 meses de EA. <b>Alta</b> (poucas manchas): tofu da cultivar Coodetec 214, controle</p> <p><b>Pouco:</b> ricota (marca São Leopoldo). <b>Intenso:</b> tofu extra soft (marca Agro-nipo)</p> <p><b>Pouca:</b> tofu extra soft (marca Agro-nipo) <b>Intensa:</b> ricota (marca São Leopoldo)</p> <p><b>Baixa</b> (poucas partículas agrupadas): ricota (marca) <b>Alta</b> (massa compacta): tofu extra soft (marca Agro-nipo)</p>
<p><b>Aroma</b> Adocicado: aroma associado a alimentos doces</p> <p>Fermentado: aroma característico de soja fermentada</p>	<p><b>Fraco:</b> grãos de lentilha da marca Yoki, do tipo 1, classe graúda, cozidos em água destilada durante 30 minutos <b>Forte:</b> milho verde em conserva (marca Fugini) fervido em água destilada durante 50 minutos</p> <p><b>Fraco:</b> grão cozido da cultivar BRS, 9 meses EA <b>Forte:</b> Nato (marca Marufuku) diluído 10 vezes.</p>
<p><b>Sabor</b> Adocicado: gosto associado à solução de sacarose</p> <p>Gosto amargo: gosto associado à solução de cafeína</p> <p>Adstringente: sensação de “amarrar” a mucosa da boca e superfície da língua</p> <p>Ranço: sabor relacionado ao óleo de fritura velho</p> <p>Fermentado: sabor associado a alimentos de soja fermentada</p>	<p><b>Nenhum:</b> água destilada. <b>Forte:</b> solução de sacarose 0,3%.</p> <p><b>Nenhum:</b> água destilada. <b>Forte:</b> solução de cafeína 0,1%.</p> <p><b>Nenhum:</b> água destilada. <b>Forte:</b> Solução de ácido tânico 0,1%</p> <p><b>Nenhum:</b> água destilada <b>Forte:</b> 2 gotas de óleo de soja diluídas em 50 mL de água destilada e, aquecidas em microonda durante 10 minutos</p> <p><b>Nenhum:</b> água destilada <b>Forte:</b> nato (marca Marufuku) diluído 200 vezes</p>
<p><b>Textura</b> Firmeza: força para comprimir o alimento entre os dentes molares</p> <p>Fraturabilidade: facilidade para romper ou esfarelar o alimento durante a mastigação</p> <p>Elasticidade: grau com que o alimento volta à forma original, depois da compressão com os dentes</p> <p>Aderência residual: grau com que o alimento e adere na mucosa da boca após mastigar</p>	<p><b>Pouca:</b> tofu extra soft (marca Agro-nipo) <b>Muita:</b> ricota (marca São Leopoldo)</p> <p><b>Pouca:</b> queijo tipo mussarela (marca Frimesa) <b>Muita:</b> ricota (marca: São Leopoldo)</p> <p><b>Pouca:</b> ricota (marca: São Leopoldo) <b>Muita:</b> queijo tipo mussarela (marca Frimesa)</p> <p><b>Pouca:</b> queijo tipo mussarela (marca Frimesa). <b>Muita:</b> cream chesee (tradicional) da marca Polenghi</p>

**Figura 6** - Modelo de ficha de avaliação de tofus por ADQ com escalas não estruturadas de 9 cm

<b>FICHA DE AVALIAÇÃO DOS TOFUS</b>		
<b>NOME:</b> _____	<b>DATA:</b> ___/___/___	
<b>Nº amostra:</b> _____		
Avalie, por favor, a intensidade de cada descritor utilizando a escala abaixo correspondente		
<b>APARÊNCIA</b>		
Cor cinza	--- ----- ---	Fraca Intensa
Uniformidade de cor	--- ----- ---	Baixa Alta
Brilho	--- ----- ---	Pouco Intenso
Rugosidade	--- ----- ---	Pouca Intensa
Coesão	--- ----- ---	Baixa Alta
<b>AROMA</b>		
Adocicado	--- ----- ---	Fraco Forte
Fermentado	--- ----- ---	Fraco Forte
<b>SABOR</b>		
Adocicado	----- ---	Nenhum Forte
Amargo	----- ---	Nenhum Forte
Adstringente	----- ---	Nenhum Forte
Ranço	----- ---	Nenhum Forte
Fermentado	----- ---	Nenhum Forte
<b>TEXTURA</b>		
Dureza	--- ----- ---	Pouca Muita
Fraturabilidade	--- ----- ---	Pouca Muita
Elasticidade	--- ----- ---	Pouca Muita
Aderência residual	--- ----- ---	Pouca Muita

#### *4.2.3.1.3 Treinamento dos julgadores*

Foram realizadas nove sessões de treinamento utilizando amostras de referência indicadas pela equipe (Quadro 10) para cada atributo quanto aos aspectos qualitativo (reconhecimento do atributo) e quantitativo (medida da intensidade do atributo) (STONE; SIDEL, 2004).

#### *4.2.3.1.4 Seleção final dos julgadores*

Três amostras de tofus preparados a partir da soja Coodetec 214 controle, Coodetec 214 EN 18 meses e BRS 267 EA 6 meses foram avaliadas em cabines individuais, pelos julgadores quanto aos atributos levantados utilizando-se a ficha proposta, empregando-se delineamento de blocos completos. O teste foi repetido três vezes. Foram selecionados os julgadores que apresentaram boa discriminação, repetibilidade e consenso com os demais membros da equipe.

Os dados de cada julgador e cada atributo foram submetidos à análise de variância e teste F. O critério de seleção quanto à discriminação foi o valor de “p” de  $F_{amostra} \leq 0,3$  e para repetibilidade “p” de  $F_{repetição} \geq 0,05$  (Anexos 6 e 7).

O consenso de cada julgador com a equipe foi avaliado, em cada atributo, comparando-se a ordem de intensidade das amostras (Anexo 8), fornecida pelo julgador versus equipe (DAMASIO; COSTEL, 1991).

Dos 15 julgadores, 2 desistiram, 13 foram selecionados e compuseram a equipe final de julgadores.

#### *4.2.3.1.5 Avaliação das amostras*

As amostras de tofus foram avaliadas de forma monádica (sequencialmente) e em ordem aleatória quanto aos atributos sensoriais levantados utilizando-se a ficha proposta pelos julgadores selecionados e treinados (equipe final) em cabines individuais, empregando-se delineamento de blocos completos casualizados, sendo os tratamentos os tofus e os blocos os julgadores. Todas as determinações foram feitas em triplicata para cada repetição do experimento.



#### 4.2.4 Delineamento Experimental e Análise Estatística dos Dados

A tese constou de quatro partes, conforme segue:

##### **1. Alterações físicas nos grãos de soja durante o envelhecimento acelerado e natural**

Foram conduzidos quatro experimentos, um para cada cultivar em cada condição de envelhecimento (Coodetec 214-EA, Coodetec 214-EN, BRS 267-EA e BRS 267-EN), sendo o tempo zero o lote controle. O delineamento experimental empregado foi inteiramente casualizado com duas repetições, onde os tratamentos foram os tempos de armazenamento. Todas as análises foram feitas em duplicata para cada repetição do experimento. Os dados foram tratados por ANOVA e teste de comparação de médias de Tukey ( $p \leq 0,05$ ) utilizando-se o programa Statistica 7.0 (STATSOFT, 2004).

##### **2. Propriedades físico-químicas de componentes de soja envelhecida**

Foram conduzidos quatro experimentos, um para cada cultivar em cada condição de envelhecimento (Coodetec 214-EA, Coodetec 214-EN, BRS 267-EA e BRS 267-EN), sendo o tempo zero a condição controle, conforme delineamento inteiramente casualizado com duas repetições, onde os tratamentos foram os tempos de armazenamento. Todas as análises foram feitas em duplicata em cada repetição do experimento. Os dados foram tratados por ANOVA e teste de comparação de médias de Tukey ( $p \leq 0,05$ ) utilizando-se o programa Statistica 7.0 (STATSOFT, 2004).

##### **3. Efeito do envelhecimento da soja sobre a qualidade do extrato aquoso, tofu firme e concentração ótima do coagulante**

Foram conduzidos quatro experimentos conforme delineamento inteiramente casualizado, um para cada cultivar em cada condição de envelhecimento (Coodetec 214-EA, Coodetec 214-EN, BRS 267-EA e BRS 267-EN), tendo a condição controle como tempo zero. Cada experimento foi repetido duas

vezes, onde os tratamentos foram os tempos de armazenamento. Os resultados foram tratados por ANOVA e teste de comparação de médias de Tukey, utilizando o programa STATISCA versão 7.0 (STATSOFT, 2004). A correlação entre as variáveis foi medida pela correlação de Pearson, cuja significância foi determinada pelo teste “t”. O nível de significância adotado foi igual ou menor que 5%.

#### **4. Consequências do envelhecimento da soja sobre a textura, cor, atributos sensoriais e aceitação de tofus**

Para esta parte do trabalho foram selecionadas seis amostras de tofus: CC (Coodetec 214, controle), CEN (Coodetec 214, envelhecimento natural, 18 meses), CEA (Coodetec 214, envelhecimento acelerado, 6 meses), BC (BRS 267, controle), BEN (BRS 267, envelhecimento natural, 18 meses), BEA (BRS 267, envelhecimento acelerado, 6 meses).

Foi conduzido um experimento para avaliação de cor e textura dos tofus, empregando o delineamento inteiramente casualizado com duas repetições, sendo os tratamentos, os tofus. Todas as determinações foram feitas em triplicata para cada repetição do experimento.

Os experimentos sensoriais (ADQ e aceitação) das amostras de tofus foram conduzidos de acordo com um delineamento de blocos completos casualizados, sendo os tratamentos os tofus e blocos os julgadores. A ADQ foi repetida três vezes. Os dados obtidos foram tratados por ANOVA, teste de comparação de médias de Tukey e análise de correlação de Pearson. O nível de significância foi igual ou menor que 5%. Os dados sensoriais também foram submetidos à Análise de Componentes Principais (ACP), com base na matriz de correlação onde as unidades amostrais foram os tofus, os atributos da ADQ a variáveis ativas e a aceitação global a variável suplementar. O programa estatístico empregado foi o Statistica versão 7.0 (STATSOFT, 2004)

## **5 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Os resultados foram redigidos na forma de quatro artigos científicos, conforme segue:

**ARTIGO CIENTÍFICO 1:** ALTERAÇÕES FÍSICAS NOS GRÃOS DE SOJA DURANTE O ENVELHECIMENTO ACELERADO E NATURAL.

**ARTIGO CIENTÍFICO 2:** PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DE COMPONENTES DE SOJA ENVELHECIDA

**ARTIGO CIENTÍFICO 3:** EFEITO DO ENVELHECIMENTO DA SOJA SOBRE A QUALIDADE DO EXTRATO, TOFU FIRME E CONCENTRAÇÃO ÓTIMA DO COAGULANTE

**ARTIGO CIENTÍFICO 4:** CONSEQUÊNCIAS DO ENVELHECIMENTO DA SOJA SOBRE A TEXTURA, COR, ATRIBUTOS SENSORIAIS E ACEITAÇÃO DE TOFUS

## 5.1 ARTIGO CIENTÍFICO 1

# ALTERAÇÕES FÍSICAS NOS GRÃOS DE SOJA DURANTE O ENVELHECIMENTO ACELERADO E NATURAL.

Neide Kiyoko Kondo Kamizake<sup>1</sup>; Fábio Yamashita<sup>2</sup>; Sandra Helena Prudencio<sup>2</sup>

Periódico a ser submetido: Journal of Agricultural and Food Chemistry

### Resumo

O objetivo deste estudo foi investigar o efeito do envelhecimento acelerado (EA) e envelhecimento natural (EN) sobre as características físicas dos grãos de soja (*Glycine max*). Grãos de duas cultivares (Coodetec 214 e BRS 267) foram estocados sob condições de EA (30°C e 84% de UR, durante 9 meses), EN (temperatura e UR ambiente, variação no período = 17,3 a 24,5 °C e 59 a 93% UR, durante 18 meses) e controle (-20°C e 47% UR). Foram analisadas micrografias eletrônicas de varredura (MEV) da casca e dos cotilédones dos grãos, taxa de sorção de água durante a hidratação e umidade de equilíbrio dos grãos, cor dos grãos inteiros e moídos e dureza dos grãos cozidos. Após o envelhecimento, as superfícies das células paliçádicas do cotilédone apresentaram-se rugosas e murchas, a taxa de sorção de água, o escurecimento da casca e dos grãos moídos e a dureza dos grãos cozidos aumentaram e a umidade de equilíbrio diminuiu.

**Palavras-chave:** Microscopia eletrônica de varredura. Taxa de sorção de água. Umidade de equilíbrio. Cor. Dureza.

### Cover Letter

A soja (*Glycine max*), leguminosa produzida mundialmente em grande escala, é muitas vezes transportada em navios e/ou armazenada por longos períodos em temperatura e umidade relativa não controlada antes do processamento. Desta forma, a soja, por apresentar alto teor de proteínas (~40%) e lipídeos (~20%), é suscetível a decomposição em presença de elevadas

---

<sup>1</sup> Departamento de Química, Universidade Estadual de Londrina, PR 445, Km 380, Campus universitário, caixa postal 6001, CEP 86.051-990, Londrina. Fone: (43)3371-4811, Fax: (43)33714276 .[kamizake@uel.br](mailto:kamizake@uel.br)

<sup>2</sup> Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Estadual de Londrina, PR 445, Km 380, Campus universitário, caixa postal 6001, CEP 86.051-990, Londrina. [fabioy@uel.br](mailto:fabioy@uel.br)

<sup>2</sup> Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Estadual de Londrina, PR 445, Km 380, Campus universitário, caixa postal 6001, CEP 86.051-990, Londrina. [sandrah@uel.br](mailto:sandrah@uel.br)

temperaturas (>30°C) e umidades relativas (>70%). Neste trabalho, foram estudadas as alterações físicas nos grãos de soja que ocorrem em função do envelhecimento acelerado (30 °C e 84% UR) e natural. Observou-se por meio da microscopia eletrônica, a modificação nas membranas das células paliçádicas dos cotilédones, indicando perda de água e possíveis rupturas das membranas. A taxa de sorção de água pelos grãos durante a hidratação aumentou com o tempo de envelhecimento acelerado e natural. Também foram observados o escurecimento dos grãos e o aumento da dureza do grão cozido. Estas alterações implicam na redução de qualidade tanto dos grãos como de produtos de soja, em especial, os não fermentados, como o extrato aquoso de soja e o tofu. Portanto, para soja destinada à alimentação humana, deve-se ter cuidado especial no transporte, condições e tempo de armazenamento, como forma de assegurar a qualidade do produto final.

## 1 INTRODUÇÃO

Entre as leguminosas, a soja (*Glycine max*) é uma das oleaginosas mais produzidas mundialmente, em torno de 245 milhões de toneladas ao ano (1), sendo os EUA e o Brasil os dois maiores produtores. Grande parte da soja produzida é estocada ou transportada de um continente a outro, por meio de navios. A deterioração da soja pode iniciar durante o transporte, uma vez que a temperatura e a umidade ambientes são difíceis de serem controladas. Os fatores que afetam as mudanças físicas e químicas dos grãos de soja são: a temperatura e umidade relativa (UR) do ambiente, conteúdo de umidade dos grãos, tempo de estocagem, qualidade do grão e presença de materiais estranhos (2).

A umidade relativa do ambiente e o conteúdo de água nos grãos de soja são mais críticos que a temperatura durante o armazenamento (3, 4, 5). Kong et al. (2008) observaram que para estocagem da soja durante um período prolongado, maior que um ano, a temperatura ideal deveria ser menor que 22°C, UR entre 55 a 60% e o conteúdo de umidade inicial do grão entre 8 a 10%. Hou e Chang (1998) constataram que grãos de soja com maior porcentagem de quebra e fissuras nas cascas apresentavam maior área suscetível a reações químicas e conseqüentemente deterioravam em menor tempo de estocagem. A presença de materiais estranhos (terra, insetos mortos, folhas, gravetos, etc.) juntos à soja,

também acelera o envelhecimento da mesma, através das reações químicas, crescimento de fungos, etc.

Os fatores que evidenciam o envelhecimento físico dos grãos de leguminosas são: mudança de cor, diminuição da densidade (2, 3, 6), alterações na estrutura da casca e do cotilédone (7), aumento de sorção de água durante a hidratação (8) e aumento da dureza dos grãos cozidos (9) e crus (6).

O escurecimento da casca e dos cotilédones dos grãos de soja tem sido explicado por algumas hipóteses como às reações de escurecimento enzimático, que pode ser resultado da reação de oxidação de substratos fenólicos, e ou por meio de reações de escurecimento não enzimático envolvendo a reação de Maillard (5, 6).

A diminuição da densidade dos grãos após o envelhecimento da soja se deve, provavelmente, às mudanças físicas, químicas e fisiológicas resultando em perda de água, oxidação dos lipídeos, desnaturação das proteínas, ruptura das membranas celulares, diminuição da atividade respiratória e perda do vigor (6, 10, 11).

A taxa de sorção de água ( $S$ ) durante a hidratação dos grãos é a medida da quantidade de água absorvida por uma quantidade de grãos em um determinado tempo até atingir o equilíbrio. A umidade de equilíbrio ( $X_{eq}$ ) é o parâmetro que indica a quantidade de água absorvida pelos grãos após atingir o equilíbrio no tempo tendendo ao infinito (12). Ambos os parâmetros são importantes no processo de hidratação, considerando que a maioria das leguminosas deve ser hidratada para facilitar os processos de moagem, extração e ou cozimento. A taxa de sorção de água durante hidratação de grãos de soja depende do tempo e da temperatura da água de hidratação e da cultivar (12, 13).

O envelhecimento dos grãos de soja também pode influenciar a taxa de sorção de água e umidade de equilíbrio durante a hidratação. Parrish e Leopold (1978) relataram que a deterioração das membranas celulares dos grãos de soja durante as condições adversas de estocagem foi a principal causa da perda de vigor ou da capacidade de germinação, declínio da atividade respiratória e perda de eletrólitos dos grãos para a água de hidratação. Saio et al. (1980) também constataram perda de sólidos durante a hidratação de grãos envelhecidos de soja. Entretanto, na literatura não há estudos sobre a taxa de sorção de água e umidade de equilíbrio pelos grãos em função do envelhecimento.

O aumento da dureza dos grãos de soja em função do envelhecimento pode ser semelhante ao fenômeno que ocorre em leguminosas como o feijão (15) e ervilhas (16). Durante o armazenamento sob condições adversas, ocorre o desencadeamento de reações de oxidação e hidrólise de lipídeos com a formação de peróxidos e ácidos graxos livres que podem promover a ruptura da membrana celular (17, 18) e diminuição do pH e da solubilidade das proteínas do cotilédone (3).

Em feijão, o amaciamento dos cotilédones e a gelatinização incompletos do amido durante o cozimento está relacionado à redução na separação das células do cotilédone, conforme observado por Cárabez-Trejo et al. (1989), por meio de microscopia eletrônica de varredura (MEV), em feijão envelhecido e cozido. No entanto, há pouca informação sobre alterações em nível de estrutura celular em soja envelhecida. Silva et al. (2008) observaram por meio de MEV alterações anatômicas na camada hipodérmica da casca de sementes de soja envelhecidas em temperatura e UR elevadas.

Os fenômenos e as alterações que ocorrem durante o envelhecimento da soja são complexos e existem algumas hipóteses e controvérsias, desta forma há necessidade de mais investigações. Neste trabalho foram estudadas algumas alterações físicas nos grãos de soja em função do envelhecimento acelerado (30°C e 84% de UR) e envelhecimento natural (temperatura e UR ambiente), em duas cultivares de soja Coodetec 214 e BRS 267.

## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 Material**

Foram utilizadas duas cultivares de soja (*Glycine max*), BRS 267 e Coodetec 214, produzidas na safra de 2008/2009, cujos tamanhos dos grãos foram classificados como grandes (19,4 g / 100 grãos) e pequenos (11,7 g / 100 grãos), respectivamente, segundo Yokomizo et al. (2000). A cultivar de soja BRS 267 foi cultivada no campo experimental da Embrapa Soja (Londrina PR, Brasil, latitude - 23°18'37", longitude -51°09'46" e altitude 585 metros). A cultivar Coodetec 214 foi cultivada no Município de Nova Fátima, na Região Norte do Paraná (Brasil), latitude -

24°01'58", longitude -50°27'28" e altitude 673 metros. Todos os reagentes utilizados neste estudo foram de grau analítico.

## **2.2 Armazenamento dos Grãos de Soja**

Tendo como base os estudos de Hou e Chang, (21, 22, 23), três condições de armazenamento da soja foram aplicadas: envelhecimento acelerado (EA): 84% UR e 30°C, envelhecimento natural (EN): temperatura e UR ambiente (variação no período = 17,3 a 24,5 °C e 59 a 93% UR), e controle: 47% UR e -20°C.

Nas condições de EA, a umidade relativa de 84% foi obtida utilizando caixas de plásticos com tampa contendo uma solução saturada de cloreto de potássio depositada no fundo do recipiente. Amostras de 650 g de soja foram empacotadas em sacos de tecido (filó) e colocadas sobre um suporte com base de metal perfurada que separou a amostra da solução. As caixas de plástico foram colocadas em estufas a 30°C (marca FREEZETEC, modelo D1004, Brasil). A temperatura e a umidade relativa, no interior das caixas de plástico foram monitoradas através de um termo-higrômetro (marca INCOTERM, modelo 7663.02.0.00, Brasil). Amostras de 650 g foram retiradas da estufa (em intervalos de um mês durante 9 meses) e armazenadas nas mesmas condições do lote controle até realização das análises.

Nas condições de EN, as sojas foram embaladas em sacos de algodão (20 kg) e armazenadas em uma sala sob condições não controladas (variação no período = 17,3 a 24,5 °C e 59 a 93% UR) por 18 meses. Em intervalos de 3 meses, amostras de 650 g foram embaladas em pacotes de plásticos e armazenadas nas mesmas condições do lote controle até realização das análises.

O lote controle, considerado tempo zero, foi embalado em pacotes de plásticos contendo 900 g de soja e armazenado a -20°C e 47% UR.

## **2.3 Delineamento Experimental**

Foram conduzidos quatro experimentos, um para cada cultivar em cada condição de envelhecimento (Coodetec 214-EA, Coodetec 214-EN, BRS 267-EA e BRS 267-EN), sendo o tempo zero o lote controle. O delineamento experimental empregado foi inteiramente casualizado com duas repetições, onde os

tratamentos foram os tempos de armazenamento. Todas as análises foram feitas em duplicata para cada repetição do experimento.

## **2.4 Análises Físicas**

### **2.4.1 Cor dos grãos inteiros e moídos**

Os parâmetros de cor dos grãos inteiros e moídos foram medidos em um colorímetro (marca BYK GARDNER, modelo Color Guide 45/0, Alemanha), com iluminante CIE-D65 e geometria 45/0. As amostras foram embaladas em sacos plásticos transparentes e as medidas feitas diretamente sobre a superfície. O colorímetro forneceu diretamente os parâmetros  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$  e calculou-se a tonalidade cromática ( $h^\circ = \arctan(b^*/a^*)$ ).

### **2.4.2 Microscopia eletrônica de varredura (MEV) da casca e do cotilédone**

As amostras foram preparadas segundo Kao et al. (2003) com algumas modificações. Grãos de sojas foram submetidos ao processo de fixação com solução de glutaraldeído 3%, paraformaldeído 2% e solução tampão de fosfato 0,1M pH 7,0, durante 24 h a temperatura ambiente. Em seguida, os grãos foram fraturados em nitrogênio líquido. Uma pequena parte do cotilédone e da casca foi lavada três vezes por 15 minutos com solução tampão fosfato 0,1 M pH 7,0 e fixadas com a solução de  $OsO_4$  1%, por 1 h a temperatura ambiente. Então, as amostras foram submetidas ao processo de desidratação com etanol 70% (duas vezes de 15 minutos), etanol 80% (duas vezes de 15 minutos), etanol 90% (três vezes de 15 minutos) e etanol 100% (quatro vezes de 10 minutos). Por fim, foram colocadas em um evaporador à vácuo (CPD 010, Bal-Tec, Alemanha) para sublimar o etanol. As amostras secas foram fixadas sobre a superfície de um stub de alumínio e em seguida recobertas com ouro (Sputter Coater modelo SCD 050, Bal-Tec, Alemanha). A estrutura das amostras foi visualizada por meio da técnica de varredura em microscópio eletrônico a 20 kV (modelo Quanta 200, FEI, Holanda).

### 2.4.3 Cinética de sorção de água

A taxa de sorção de água ( $S$ ) e a umidade de equilíbrio ( $X_{eq}$ ) dos grãos de soja no processo de hidratação foram determinadas segundo método de Sun e Breene (1991). Aproximadamente 10 g de soja com casca foram imersas em 50 mL de água destilada e mantidos a 25°C por 24 horas. Em intervalos de 2 horas, por um período de 10 horas, e após 24 horas, os grãos foram drenados em peneira durante 30 segundos e então pesados. A quantidade de água absorvida ( $A$ ) foi calculada pela diferença de massa da amostra em cada intervalo de hidratação e a massa inicial. Os valores da taxa de sorção de água ( $S$ ) e umidade de equilíbrio ( $X_{eq}$ ) foram determinados através do modelo apresentado na equação 1, usando o programa Statistica 7.0 (Statsoft, 2004), módulo estimativa não linear:

$$A = \frac{S \times X_{eq} \times t}{1 + t \times S} \quad (\text{Equação 1})$$

Onde:  $A$  = quantidade de água absorvida (g água absorvida/100 g soja)

$S$  = taxa de sorção de água (g água absorvida/ 100 g soja x h)

$X_{eq}$  = umidade de equilíbrio (g água absorvida/ 100 g soja x h)

$t$  = tempo de hidratação (h)

### 2.4.4 Dureza dos grãos cozidos

A dureza dos grãos cozidos foi determinada em texturômetro (TA.XT2i, Stable Micro Systems, Inglaterra), segundo o método de Liu et al. (1992). Foram hidratados 15 g de grãos em água destilada na proporção 1:5 (m/v), durante quatro horas a temperatura ambiente. Os grãos foram drenados, acondicionados em saquinhos de tecido (tunil) e cozidos em água pré-aquecida a 100°C na proporção de 1:20 (grão:água, m/v) por 90 minutos. Em seguida, os grãos foram resfriados em banho de gelo até atingir a temperatura ambiente. Trinta grãos cozidos, selecionados ao acaso, de cada tratamento foram comprimidos em dois ciclos de compressão, até 60% da altura inicial usando um sensor cilíndrico de 25 mm de

diâmetro (P 25) e velocidade constante de 2,0 mm/s. Os resultados de dureza foram expressos em Newton (N).

#### **2.4.5 Análises estatísticas**

Os dados foram submetidos à Análise de Variância, teste de comparação de média de Tukey utilizando-se o programa Statistica 7.0 (25).

### **3 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

#### **3.1 Cor do Grão Inteiro e Moído**

Para as duas condições de armazenamento e as duas cultivares observou-se diminuição ( $p \leq 0,05$ ) dos valores de  $L^*$  (luminosidade) e  $h^\circ$  (tonalidade cromática) dos grãos inteiros e moídos, sendo que a diminuição de  $h^\circ$  foi mais pronunciada no grão moído do que no inteiro (Tabelas 1 e 2). A diminuição de  $L^*$  e  $h^\circ$  indica escurecimento e mudança da tonalidade amarela para vermelha em função das condições de envelhecimento, respectivamente. Kong et al. (2008) observaram o mesmo comportamento de alteração de cor em grãos de soja armazenadas em diferentes condições. Hou e Chang (2004c) sugeriram que o parâmetro de cor do grão da soja pode ser usado para indicar a qualidade da soja, durante a estocagem, para a produção de tofu. A mudança de cor durante a estocagem da soja pode

**Tabela 1** - Parâmetros de cor dos grãos inteiros das cultivares de soja Coodetec 214 e BRS 267 armazenados em diferentes condições

Armazenamento	Tempo (mês)	Coodetec 214		BRS 267	
		L*	h°	L*	h°
C	0	53,9 <sup>a</sup> ± 1,1	71,7 <sup>a</sup> ± 1,9	51,1 <sup>a</sup> ± 0,6	70,6 <sup>a</sup> ± 2,3
	1	53,3 <sup>a</sup> ± 0,4	70,6 <sup>ab</sup> ± 1,3	50,1 <sup>b</sup> ± 0,5	71,3 <sup>a</sup> ± 2,4
	2	51,7 <sup>b</sup> ± 0,5	68,9 <sup>ab</sup> ± 2,4	49,5 <sup>bc</sup> ± 0,7	69,2 <sup>a</sup> ± 2,0
	3	50,5 <sup>c</sup> ± 0,6	69,5 <sup>ab</sup> ± 2,0	49,3 <sup>c</sup> ± 0,5	70,4 <sup>a</sup> ± 2,0
	4	50,4 <sup>bc</sup> ± 0,5	70,0 <sup>ab</sup> ± 2,3	49,2 <sup>d</sup> ± 0,6	69,7 <sup>a</sup> ± 1,9
	5	49,6 <sup>de</sup> ± 0,5	68,5 <sup>b</sup> ± 1,4	48,1 <sup>d</sup> ± 0,6	68,6 <sup>a</sup> ± 2,3
	6	49,2 <sup>e</sup> ± 0,5	69,2 <sup>ab</sup> ± 1,8	47,9 <sup>d</sup> ± 0,5	68,3 <sup>a</sup> ± 2,4
	7	49,2 <sup>e</sup> ± 0,6	69,3 <sup>ab</sup> ± 1,9	46,6 <sup>e</sup> ± 0,9	69,7 <sup>a</sup> ± 1,9
	8	47,1 <sup>f</sup> ± 0,5	69,9 <sup>ab</sup> ± 2,3	45,5 <sup>f</sup> ± 0,4	70,5 <sup>a</sup> ± 3,3
EA	9	46,1 <sup>g</sup> ± 0,7	68,8 <sup>b</sup> ± 3,3	44,5 <sup>g</sup> ± 0,4	69,9 <sup>a</sup> ± 3,1
	0	53,9 <sup>a</sup> ± 1,1	71,7 <sup>a</sup> ± 1,9	51,1 <sup>a</sup> ± 0,6	70,6 <sup>a</sup> ± 2,3
	3	53,2 <sup>a</sup> ± 0,7	71,0 <sup>ab</sup> ± 2,1	50,3 <sup>b</sup> ± 0,4	70,4 <sup>a</sup> ± 2,1
	6	52,0 <sup>a</sup> ± 0,6	69,4 <sup>ab</sup> ± 2,3	49,3 <sup>c</sup> ± 0,2	68,9 <sup>ab</sup> ± 1,9
	9	50,8 <sup>a</sup> ± 0,8	68,6 <sup>b</sup> ± 2,4	47,5 <sup>d</sup> ± 0,5	68,4 <sup>ab</sup> ± 2,3
	12	49,4 <sup>a</sup> ± 0,5	69,1 <sup>b</sup> ± 2,0	46,3 <sup>e</sup> ± 0,5	68,5 <sup>ab</sup> ± 2,9
	18	49,2 <sup>a</sup> ± 0,4	68,6 <sup>b</sup> ± 2,0	47,1 <sup>f</sup> ± 0,8	62,2 <sup>b</sup> ± 2,5

Valores médios de duas determinações em cada repetição ± desvio padrão

Médias na coluna, acompanhadas de letras diferentes, para cada experimento de envelhecimento diferem significativamente ( $p \leq 0,05$ )

L\* (luminosidade): 0 = preto, 100 = branco

h° (tonalidade cromática):  $\arctan(b^*/a^*)$ , 0° = vermelho puro, 90° = amarelo puro, 180° = verde puro, 270° = azul puro

C = Controle (tempo zero de armazenamento): -20 °C e 47% UR

EA = Envelhecimento acelerado: 30 °C e 84% UR

EN = Envelhecimento natural: temperatura e UR ambiente (variação no período = 17,3 a 24,5 °C e 59 a 93% UR)

**Tabela 2** - Parâmetros de cor dos grãos moídos das cultivares de soja Coodetec 214 e BRS 267 armazenados em diferentes condições

Armazenamento	Tempo	Coodetec 214		BRS 267	
Condições	(mês)	L*	h°	L*	h°
C	0	82,5 <sup>a</sup> ± 0,8	83,8 <sup>a</sup> ± 0,5	83,0 <sup>a</sup> ± 0,4	83,5 <sup>a</sup> ± 0,5
	1	82,5 <sup>a</sup> ± 0,9	83,2 <sup>a</sup> ± 0,6	83,2 <sup>a</sup> ± 0,4	83,7 <sup>a</sup> ± 0,5
	2	81,8 <sup>ab</sup> ± 0,5	82,1 <sup>bc</sup> ± 0,7	83,0 <sup>a</sup> ± 0,6	83,5 <sup>a</sup> ± 0,7
	3	81,7 <sup>ab</sup> ± 0,5	82,2 <sup>b</sup> ± 0,7	82,1 <sup>b</sup> ± 0,6	82,6 <sup>b</sup> ± 0,4
	4	81,5 <sup>b</sup> ± 0,8	82,4 <sup>b</sup> ± 0,5	82,0 <sup>b</sup> ± 0,5	82,1 <sup>bc</sup> ± 0,5
	5	80,6 <sup>c</sup> ± 0,7	81,3 <sup>cd</sup> ± 0,6	81,0 <sup>c</sup> ± 0,4	81,6 <sup>cd</sup> ± 0,6
	6	79,5 <sup>d</sup> ± 0,6	80,6 <sup>d</sup> ± 0,6	81,3 <sup>c</sup> ± 0,5	81,2 <sup>d</sup> ± 0,4
	7	79,9 <sup>cd</sup> ± 0,5	80,6 <sup>d</sup> ± 0,7	79,4 <sup>d</sup> ± 0,8	79,7 <sup>e</sup> ± 0,6
	8	76,4 <sup>e</sup> ± 0,8	77,9 <sup>e</sup> ± 0,5	76,7 <sup>e</sup> ± 0,6	77,1 <sup>f</sup> ± 0,5
EA	9	75,2 <sup>f</sup> ± 0,3	75,0 <sup>f</sup> ± 0,6	75,6 <sup>f</sup> ± 0,5	75,9 <sup>g</sup> ± 0,6
	0	82,5 <sup>a</sup> ± 0,8	83,8 <sup>a</sup> ± 0,5	83,0 <sup>a</sup> ± 0,4	83,5 <sup>a</sup> ± 0,5
	3	82,3 <sup>a</sup> ± 0,5	83,8 <sup>a</sup> ± 0,5	82,9 <sup>a</sup> ± 1,0	83,4 <sup>a</sup> ± 0,8
	6	81,7 <sup>bc</sup> ± 0,5	82,3 <sup>bc</sup> ± 0,5	82,6 <sup>ab</sup> ± 0,4	82,9 <sup>ab</sup> ± 0,5
	9	81,8 <sup>bc</sup> ± 0,6	82,5 <sup>b</sup> ± 0,3	82,1 <sup>bc</sup> ± 0,8	82,5 <sup>bc</sup> ± 0,8
EN	12	81,3 <sup>c</sup> ± 0,4	81,9 <sup>cd</sup> ± 0,5	82,0 <sup>c</sup> ± 0,5	82,2 <sup>bc</sup> ± 0,5
	18	79,6 <sup>c</sup> ± 0,6	81,7 <sup>d</sup> ± 0,4	81,5 <sup>c</sup> ± 0,4	82,0 <sup>c</sup> ± 0,6

Valores médios de duas determinações em cada repetição ± desvio padrão

Médias na coluna, acompanhadas de letras diferentes, para cada experimento de envelhecimento diferem significativamente ( $p \leq 0,05$ )

L\* (luminosidade): 0 = preto, 100 = branco

h° (tonalidade cromática):  $\arctan(b^*/a^*)$ , 0° = vermelho puro, 90° = amarelo puro, 180° = verde puro, 270° = azul puro

C = Controle (tempo zero de armazenamento): -20 °C e 47% UR

EA = Envelhecimento acelerado: 30 °C e 84% UR

EN = Envelhecimento natural: temperatura e UR ambiente (variação no período = 17,3 a 24,5 °C e 59 a 93% UR)

ser atribuída às reações não enzimáticas, como a reação de Maillard (5). No entanto, o fator principal que pode promover o escurecimento dos grãos durante o armazenamento é a polimerização acelerada de compostos fenólicos de baixa massa molecular (taninos solúveis) para taninos condensados e de elevada massa molecular (26).

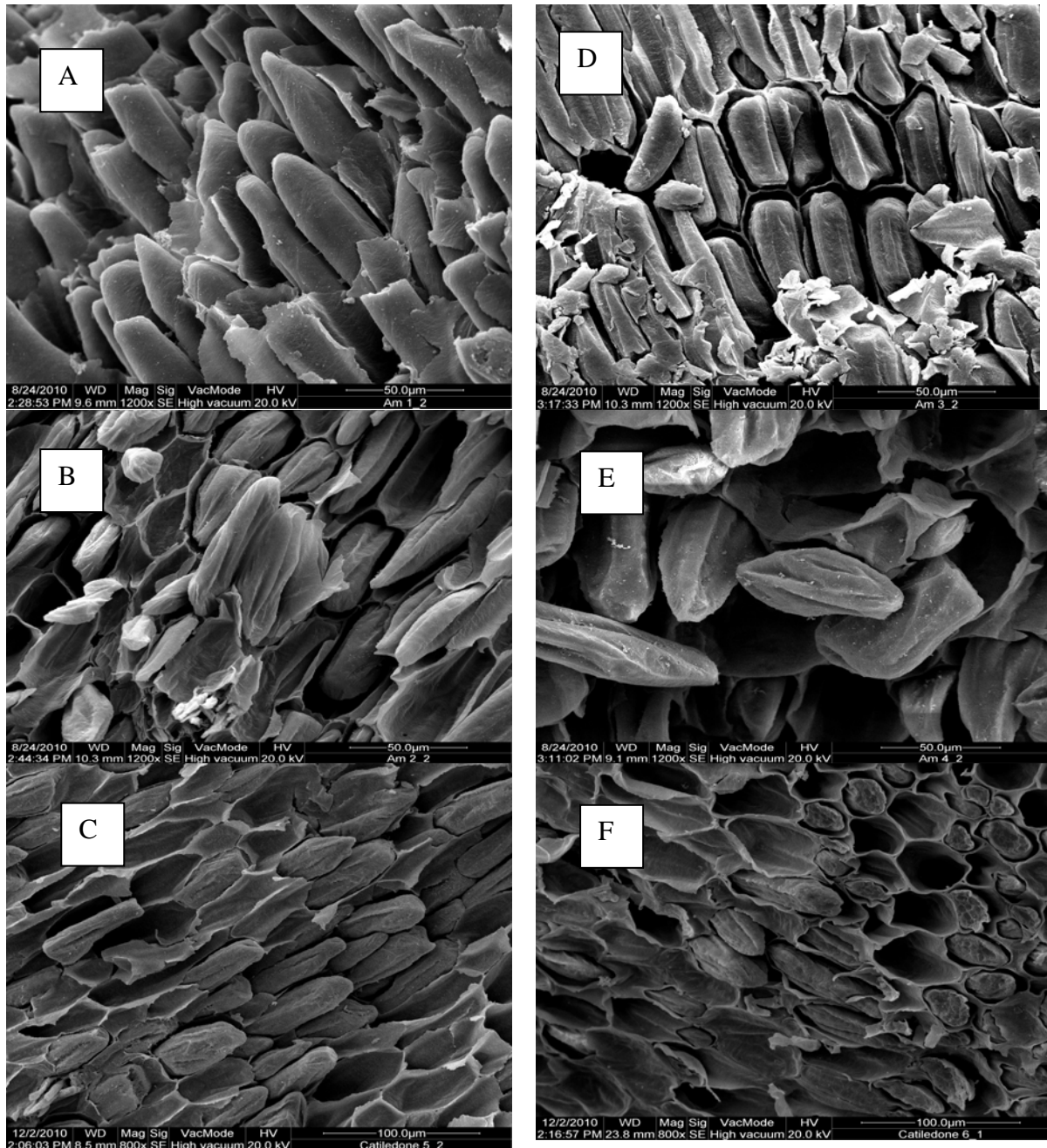
### **3.2 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) da Casca do Grão e do Cotilédone**

Por meio da MEV não foi possível observar alterações na casca dos grãos, em função das condições de envelhecimento (EA e EN), para ambas as cultivares (Figuras 1 A, B, C, D, E, F), ao contrário de Silva et al. (2008), que observaram a diminuição da espessura das camadas das células paliçádicas, hipodérmicas e parenquimática das cascas de grãos de soja envelhecidos a 42°C e 100% UR nos períodos de 48, 72 e 96 horas, sugerindo um colapso das células que compõe estas camadas. Não foram encontrados outros estudos sobre alteração da microestrutura de grãos de soja durante o armazenamento.

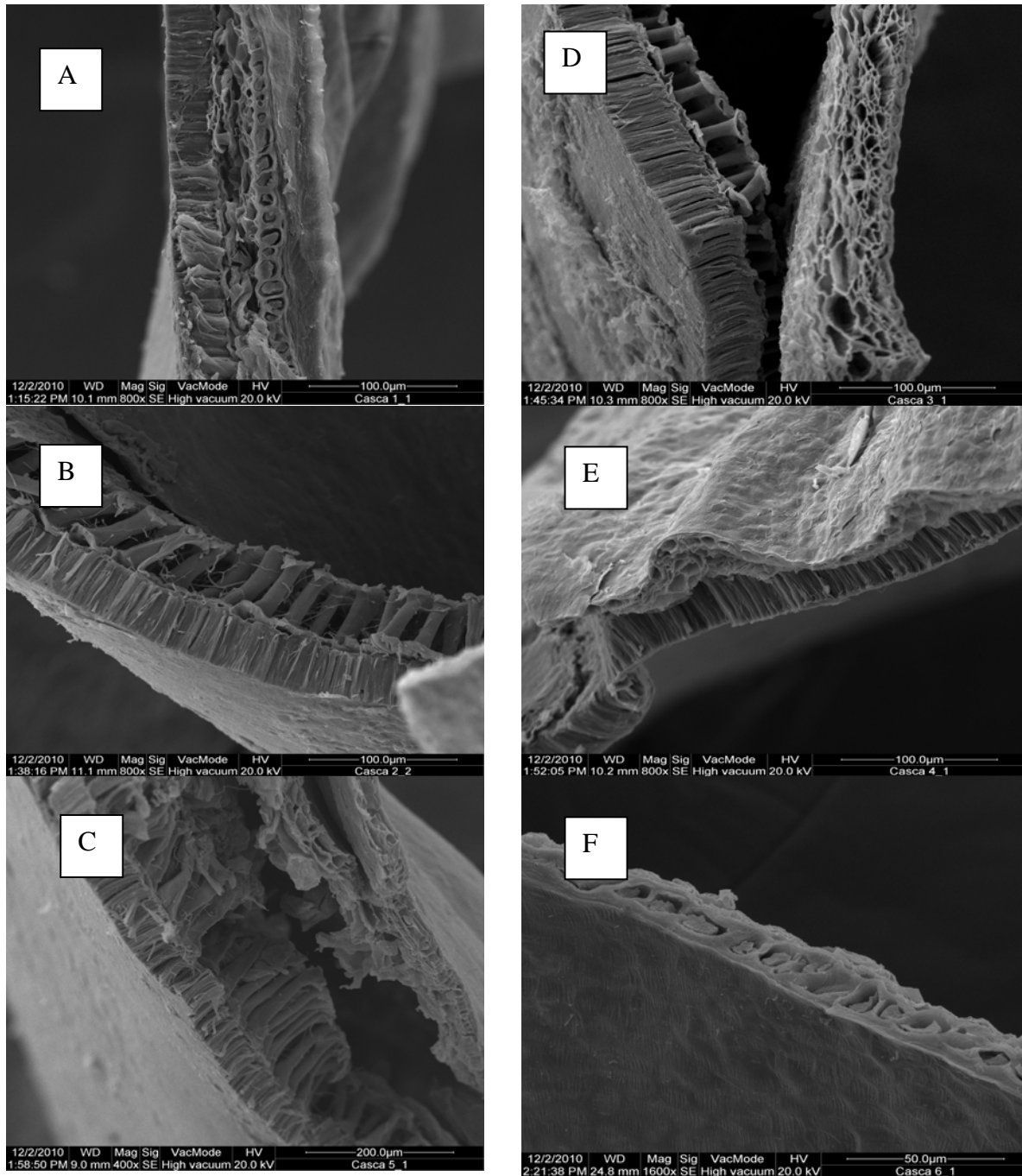
Em feijão, segundo a revisão de Reys-Moreno e Paredes-López (1993) a maioria dos estudos sobre o envelhecimento demonstrou maiores alterações no cotilédone do que na casca do grão. Entretanto, Cárabez-Trejo et al. (1989) observaram compactação das células paliçádicas e mesofílicas da casca de duas variedades de feijão estocadas durante 120 dias a 35°C e 76% UR e relacionaram a alterações ou perda da integridade das membranas celulares.

No presente estudo foi possível verificar mudanças na superfície das células paliçádicas dos cotilédones. As células da soja controle apresentaram a superfície lisa (Figura 2 A e D), enquanto que as células das sojas armazenadas nas condições de EA por 9 meses e EN por 18 meses mostraram a superfície murcha e rugosa (Figuras 4 B, C, E e F). Essas alterações físicas na superfície das células paliçádicas do cotilédone podem ser consequência da perda de água devido às alterações químicas nas moléculas de lipídeos e proteínas em grãos armazenados

**Figura 1** - Micrografias das células paliçádicas dos cotilédones de grãos de soja: A= Coodetec 214 (C); B = Coodetec 214 (EA); C = Coodetec 214 (EN); D = BRS 267 (C); E = BRS 267 (EA); F = BRS 267 (EN). C = armazenamento Controle: -20 °C e 47% UR; EA = envelhecimento acelerado: 30 °C e 84% UR, 9 meses; EN = envelhecimento natural: temperatura e UR ambiente (variação no período = 17,3 a 24,5 °C e 59 a 93% UR), 18 meses)



**Figura 2** - Micrografias das células paliçádicas da casca de grãos de soja. A = Coodetec 214 (C); B = Coodetec 214 (EA); C = Coodetec 214 (EN); D = BRS 267 (C); E = BRS 267 (EA); F = BRS 267 (EN). C = armazenamento Controle: -20 °C e 47% UR; EA = envelhecimento acelerado: 30 °C e 84% UR, 9 meses; EN = envelhecimento natural: temperatura e UR ambiente (variação no período = 17,3 a 24,5 °C e 59 a 93% UR), 18 meses)



em temperatura e UR elevadas conforme observado por alguns pesquisadores (6, 14, 21, 22, 23). A hipótese do mecanismo de murchamento da superfície das células

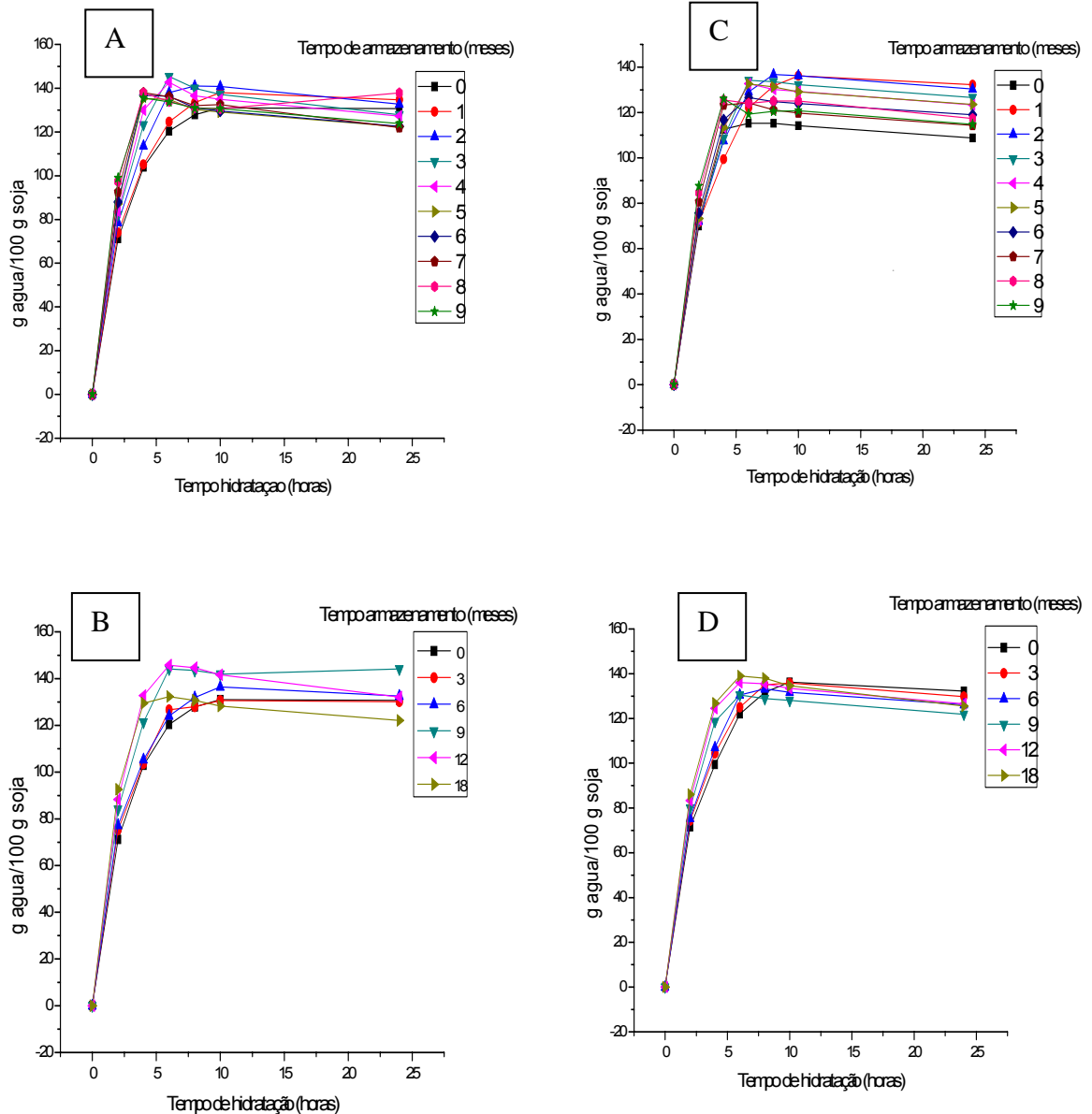
paliçádicas do cotilédone de sojas envelhecidas pode estar relacionada com as reações de hidrólise e oxidação de lipídeos, aumento de acidez e subsequente ruptura das membranas celulares, resultando em uma superfície mais permeável à perda de água e eletrólitos (10, 18).

### 3.3 Cinética de Sorção de Água

O modelo (Equação 1) empregado para o cálculo da taxa de sorção de água ( $S$ ) e umidade de equilíbrio ( $X_{eq}$ ) representou de forma adequada a cinética de sorção de água dos grãos de soja, sendo que os valores dos coeficientes de determinação ( $R^2$ ) variaram de 0,94 a 0,98. O comportamento de  $S$  e de  $X_{eq}$  foram semelhantes para as condições de EA e EN, para ambas cultivares (Figuras 3 A, B, C, D).

Os valores de  $S$  e  $X_{eq}$  dos grãos das cultivares Coodetec 214 e BRS 267 dos diferentes tempos de EA e EN estão apresentados na Tabela 3. A partir do segundo mês de EA, para ambas cultivares de soja, verificou-se aumento de  $S$ . Aos nove meses de EA observou-se que os valores de  $S$  foram aproximadamente quatro e três vezes superiores aos valores dos controles para as cultivares de soja Coodetec 214 e BRS 267, respectivamente. Os grãos da condição de EN, também apresentaram aumento dos valores de  $S$  de aproximadamente três e duas vezes em relação aos controles para as cultivares Coodetec 214 e BRS 267,

**Figura 3** - Cinética de sorção de água durante a hidratação dos grãos de soja armazenados em diferentes condições. A = Coodetec 214 (EA); B = Coodetec 214 (EN); C = BRS 267 (EA); D = BRS 267 (EN). EA = envelhecimento acelerado: 30 °C, 84% UR, 9 meses; EN = envelhecimento natural (variação no período = 17,3 a 24,5 °C e 59 a 93% UR), 18 meses; C = armazenamento Controle: -20 °C, 47% UR)



respectivamente. Este fenômeno provavelmente se deve a alterações físicas da membrana das células paliçádicas do cotilédone, que após o envelhecimento apresentou superfície rugosa e murcha (Figura 1). Abu-Ghannam e McKenna (1997) observaram aumento da taxa de sorção de água pelos grãos de feijão vermelho

após branqueamento durante um minuto e meio em água a 100°C, sugerindo que esta ocorrência se deve a alteração da plasticidade das cascas dos grãos. Semelhantemente, deve ter ocorrido o mesmo fenômeno nas cascas das amostras de soja submetida ao envelhecimento acelerado (30°C e 84% UR), apesar de não ter sido possível observar alteração em nível microscópico (Figura 2).

Verificou-se diminuição dos valores de  $X_{eq}$  para as sojas estocadas após 5 meses sob o EA, para ambas cultivares (Tabela 3). Esta ocorrência pode estar relacionada com a deterioração das membranas celulares e exsudação de água e de eletrólitos (8, 10, 18, 19, 30), e alteração da capacidade de retenção de água pelas proteínas e carboidratos das sojas envelhecidas (6, 31). Hou e Chang (2004a e 2004b) verificaram mudanças na estrutura das proteínas das frações protéicas 11S e 7S, como a diminuição da hidrofobicidade de superfície e aumento das pontes dissulfeto intramoleculares, mas sem alteração das massas moleculares, de sojas estocadas após 3 e 6 meses, respectivamente, a 84% UR e 30°C, indicando que as moléculas estavam mais agregadas ou contraídas. Com as moléculas mais agregadas, haveria menor disponibilidade de sítios para ligar à água e dificultaria a sua retenção. A diminuição dos valores de  $X_{eq}$  também pode ser causada pela perda de eletrólitos e de outros componentes dos grãos, como proteínas e açúcares livres, que é uma consequência da perda da integridade de membranas celulares em função das condições adversas de estocagem (10, 14, 30). Dessa forma, o tempo para hidratação dos grãos envelhecidos pode ser menor do que para os grãos de soja novos.

**Tabela 3** - Taxa de sorção de água (S) e umidade de equilíbrio ( $X_{eq}$ ) de soja das cultivares Coodetec 214 e BRS 267 durante a hidratação dos grãos em função das condições de armazenamento

Armazenamento Condições	Tempo (mês)	Coodetec 214		BRS 267		
		S	$X_{eq}$	S	$X_{eq}$	
C	0	5,4	150,4	5,0	155,4	
	EA	1	5,3	156,8	4,6	157,6
		2	6,6	157,4	6,4	150,3
		3	8,7	152,1	7,3	145,6
		4	9,9	149,0	7,4	145,4
		5	13,3	143,8	9,0	137,4
		6	13,6	141,0	10,7	136,2
		7	15,5	141,1	11,5	133,6
		8	18,4	138,6	13,0	133,3
		9	19,3	137,8	15,3	130,2
C	0	5,4	150,4	5,0	155,4	
	EN	3	6,1	148,8	5,7	153,6
		6	5,9	152,6	6,7	148,0
		9	7,9	157,1	9,4	140,2
		12	9,1	155,7	9,7	145,9
		18	13,1	145,7	10,4	146,9

S = taxa de sorção de água (g água / 100 g de grão de soja / h)

$X_{eq}$  = umidade de equilíbrio (g água / 100 g de grão de soja / h)

C = Controle (tempo zero de armazenamento): -20 °C e 47% UR

EA = Envelhecimento acelerado: 30 °C e 84% UR

EN = Envelhecimento natural: temperatura e UR ambiente (variação no período = 17,3 a 24,5 °C e 59 a 93% UR)

A cultivar de soja Coodetec 214 apresentou maior taxa de hidratação que a cultivar BRS 267 durante o EA, por apresentar grãos menores, tendo assim maior área superficial de contato com a água durante a hidratação.

### 3.4 Dureza dos Grãos Cozidos

Os valores de dureza dos grãos cozidos das cultivares de soja Coodetec 214 e BRS 267 em função das condições de EA e EN estão apresentados na Tabela 4.

**Tabela 4** - Dureza dos grãos cozidos das cultivares de soja Coodetec 214 e BRS 267 armazenadas em diferentes condições

Armazenamento Condições	Tempo (mês)	Dureza do grão cozido (N)	
		Coodetec 214	BRS 267
C	0	14,5 <sup>g</sup> ± 4,0	12,9 <sup>h</sup> ± 3,3
	1	16,8 <sup>fg</sup> ± 5,4	14,3 <sup>gh</sup> ± 4,0
	2	19,2 <sup>ef</sup> ± 5,8	16,6 <sup>fg</sup> ± 4,7
	3	20,7 <sup>e</sup> ± 6,6	18,2 <sup>ef</sup> ± 6,8
	4	24,4 <sup>d</sup> ± 8,4	18,9 <sup>ef</sup> ± 4,9
	5	28,3 <sup>c</sup> ± 8,9	21,7 <sup>cd</sup> ± 7,1
	6	31,3 <sup>bc</sup> ± 11,6	22,6 <sup>de</sup> ± 7,1
	7	32,7 <sup>b</sup> ± 10,1	25,7 <sup>c</sup> ± 9,0
	8	36,9 <sup>a</sup> ± 11,0	30,7 <sup>b</sup> ± 14,0
EA	9	40,0 <sup>a</sup> ± 9,9	36,8 <sup>a</sup> ± 16,5
	0	14,5 <sup>d</sup> ± 4,0	12,9 <sup>d</sup> ± 3,3
	3	18,0 <sup>c</sup> ± 6,3	14,8 <sup>c</sup> ± 3,3
	6	17,9 <sup>c</sup> ± 6,2	15,6 <sup>c</sup> ± 3,6
	9	19,7 <sup>bc</sup> ± 5,8	17,4 <sup>b</sup> ± 4,5
	12	21,7 <sup>b</sup> ± 6,9	18,5 <sup>b</sup> ± 5,2
	18	26,8 <sup>a</sup> ± 5,3	22,4 <sup>a</sup> ± 3,9

Valores médios de quatro determinações cada ± desvio padrão

Médias na coluna, acompanhadas de letras diferentes, para cada experimento de envelhecimento diferem significativamente ( $p \leq 0,05$ )

C = Controle (tempo zero de armazenamento): -20 °C e 47% UR

EA = Envelhecimento acelerado: 30 °C e 84% UR

EN = Envelhecimento natural: temperatura e UR ambiente (variação no período = 17,3 a 24,5 °C e 59 a 93% UR)

As duas cultivares apresentaram aumento da dureza ( $p \leq 0,05$ ) em função do tempo de armazenamento. A Coodetec 214 apresentou maior dureza em relação a BRS 267, para todos os tempos de EA e EN. Narayan et al. (1988a)

observaram aumento na dureza dos grãos crus de soja armazenados nas condições ambiente de temperatura e umidade durante 1, 2, 3 e 9 anos.

Não foram encontrados estudos sobre a dureza dos grãos cozidos de soja em função do tempo e condições de armazenamento. O parâmetro de dureza do grão cozido em função do envelhecimento do grão tem sido estudado com mais frequência em outras leguminosas como o feijão (15, 28) e ervilhas (16) por serem consumidas com maior frequência nesta forma. Entretanto, o mecanismo de endurecimento de grão de outras leguminosas deve ser diferente do grão de soja por este apresentar elevado teor de proteínas e lipídeos.

Com base no trabalho de outras leguminosas, o aumento da dureza do grão de soja cozido em função das condições e tempo de armazenamento pode ser devido às possíveis alterações químicas nos principais componentes: lipídeos (20%) e proteínas (40%). Como hipótese, a sequência de eventos do endurecimento dos grãos de soja cozidos pode iniciar-se durante o armazenamento, com a oxidação dos lipídeos e subsequente formação de peróxidos, ácidos graxos livres, diminuição do pH, ruptura da membrana celular e perda de água, e desnaturação das principais frações protéicas 11S e 7S. O endurecimento do grão também pode estar associado à polimerização de compostos fenólicos (ácidos fenólicos e flavonóides) em polímeros fenólicos (taninos e ligninas) de alta massa molecular contendo número suficiente de grupamentos hidroxílicos fenólicos para a formação de ligações cruzadas estáveis com proteínas e carboidratos como ocorre em feijões. As alterações que ocorrem durante o envelhecimento manifestam-se no cozimento e os grãos não atingem o amaciamento. As proteínas desnaturadas se agregam, isto é, coagulam formando uma barreira física que impede a entrada de quantidade de água suficiente para separação celular e restringe a decomposição e solubilização da pectina da parede celular durante o cozimento.

As alterações físicas nos grãos de soja envelhecidos podem ser conseqüências de alterações fisiológicas (diminuição da atividade respiratória e da capacidade de germinação) e químicas, que uma vez iniciada durante o armazenamento, torna-se irreversíveis. Os mecanismos dessas alterações ainda necessitam de mais estudos para a compreensão deste fenômeno complexo e para encontrar formas de evitar perdas e danos na qualidade dos grãos durante o armazenamento e contribuir para economia de indústrias de produtos de soja.

## 4 Agradecimento

Agradecemos ao Laboratório de Microscopia Eletrônica da Universidade Estadual de Londrina pelas análises da casca e do cotilédone dos grãos de soja.

A Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudo do primeiro autor.

## Referências

- (1) USDA. Production, supply and distribution on line. [Online] <http://www.fas.usda.gov/psdonline/psdQuery.aspx>. (accessed Set. 13, 2011).
- (2) Kong, E.; Chang, S. K. C.; Liu, Z.; Wilson, L. A. Changes of Soybean Quality during Storage as Related to Soymilk and Tofu Making. *J. Food Sci.* **2008**, 73, 3, 134-144.
- (3) Thomas, R.; deMAN, J. M.; deMan, L. Soymilk and tofu properties as influenced by soybean storage conditions. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1989**, 66, 6, 777-782.
- (4) Murphy, P. A.; Chen, H. P.; Hauck, C. C.; Wilson, L. A. Soybean protein composition and tofu quality. *Food Technol.* **1997**, 51, 3, 86-87, 110-111.
- (5) Hou, H. J.; Chang, S. K. C. Yield and quality of soft tofu as affected by soybean physical damage and storage. *J. Agric. Food Chem.* **1998**, 46, 4798-4805.
- (6) Narayan, R.; Chauhan, G. S.; Verma, N. S. Changes in the Quality of Soybean During Storage. Part 1 – Effect of Storage on some Physico-chemical Properties of Soybean. *Food Chem.* **1988a**, 27, 13-23.
- (7) Cárabez-Trejo, A.; Pares-López, O. Reyes-Moreno, C. Microstructure of cotyledon cells from hard-to-cook common beans. *Starch/Stärke.* **1989**, 41, 335.
- (8) Braccini, A. L.; Reis, M. S.; Sedyama, C. S.; Scapin, C. A.; Braccini, M. C. L. Avaliação da qualidade fisiológica de sementes de soja após o processo de hidratação-desidratação e envelhecimento acelerado. *Pesq. Agropec. Bras.* **1999**, 34, 6, 1053-1066.
- (9) Paredes-López, O.; Cárabez-Trejo, A.; Palma-Tirado, L.; Reyes-Moreno, C. Influence of hardening procedure and soaking solution on cooking quality of common beans. *Plant Foods Hum. Nutr.* **1991**, 41, 155.
- (10) Siadat, S. A.; Moosavi, A.; Zadeh, M. S. Effects of seed priming on antioxidant activity and germination characteristics of maize seeds under different ageing treatment. *Res. J. Seed Sci.* **2012**, 5, 51-62.

- (11) Coutinho, M. R.; Conceição, W. A. S.; Paraíso, P. R.; Andrade, C. M. G.; Omoto, E. S.; Jorge, R. M. M.; Maciel Filho, R.; Jorge, L. M. M. Application of the Hsu model to soybean grain hydration. *Ciê. Tecnol. Aliment.* **2010**, 30, 1, 19-29.
- (12) Sun, N.; Breene, W. M. Calcium sulfate concentration influence on yield and quality of tofu from five soybean varieties. *J. of Food Sci.* **1991**, 56, 6, 1604-1607.
- (13) Parrish, D. J.; Leopold, A. C. On the mechanism of aging in soybean seeds. *Plant Physiol.* **1978**, 61, 365-368.
- (14) Saio, K.; Nikkuni, I.; Ando, Y.; Otsuru, M.; Terauchi, Y.; Kito, M. Soybean Quality Changes During Model Storage Studies. *Cereal Chem.* **1980**, 57, 2, 77-82.
- (15) Garcia, E.; Lajolo, F. M. Starch alterations in hard-to-cook beans (*Phaseolus vulgaris* L.), *J. Food Chem.*, **1994**, 42, 612-615.
- (16) Liu, K.; Phillips, R. D.; Hung, Y-C; Shewfelt, R. L.; McWATTERS, K. H. Hard-to-cook Defect in Cowpeas: Storage induced and Treatment-induced Development, *J. Food Sci.*, **1992**, 57, 5, 1155-1160.
- (17) Priestley, D. A. *Seed aging*. Cornell Univ: Press. Ithaca, NY. SAS/STAT User's guide. 6.03 ed. Cary, NC, **1986**.
- (18) Trawatha, S. E.; TeKrony, D. M.; Hildebrand, D. F. Relationship of soybean seed quality to fatty acid and C<sub>6</sub>-Aldehyde levels during storage. *Crop Sci.* **1995**, 35, 1415-1422.
- (19) Silva, M. A. D.; Vieira, R. D.; Santos, J. M. Influência do envelhecimento acelerado na anatomia da testa de sementes de soja. CV. Monsoy 8400. *Rev. Bras. Sementes.* **2008**, 30, 2, 91-99.
- (20) Yokomizo, G. K.; Duarte, J. B.; Vello, N. A. Correlações fenotípicas entre tamanho de grãos e outros caracteres em topocruzamentos de soja tipo alimento com tipo grão. *Pesq. Agropec. Bras.*, Brasília. **2000**, 35, 2235-2241.
- (21) Hou, H. J.; Chang, S. K. C. Structural characteristics of purified glicinin from soybeans stored under various conditions. *J. Agric. Food Chem.* **2004a**, 52, 3792-3800.
- (22) Hou, H. J.; Chang, S. K. C. Structural characteristics of purified beta-conglicinin from soybeans stored under four conditions. *J. Agric. Food Chem.* **2004b**, 52, 7931-7937.
- (23) Hou, H. J.; Chang, S. K. C. Storage conditions affect soybean color, chemical composition and tofu qualities. *J. Food Proces. and Presev.* **2004c**, 28, 473-488.
- (24) Kao, F. J.; Su, N. W.; Lee, M. H. Effect of calcium sulfate concentration in soymilk on the microstructure of firm tofu and the protein constitutions in tofu whey. *J. Agric. Food Chem.* **2003**, 51, 21, 6211-6216.
- (25) Statsoft. *Statistica v 7.0 for Windows*. Inc. Software: Tulsa, 2004.

- (26) Nozzolillo, C.; Bezada, J. M. Browning of lentil seeds, concomitant loss of viability and the possible role of soluble tannins in both phenomenon. *Can. J. Plant Sci.* **1984**, 64, 815-819.
- (27) Stanley, D. W.; Wu, X.; Plhak, L. C., Caldwell, K. B. Seed coat effect in cooked reconstituted bean texture, *J. Tex. Stud.* **1989**, 20, 419-429.
- (28) Reys-Moreno, C.; Paredes-López, O. Hard-to-cook phenomenon in common beans – A review. *Crit. Rev. Food. Sci. Nutr.* **1993**, 33, 3, 227-286.
- (29) Abu-Ghannam, N.; McKenna, B. The application of peleg's equation to model water absorption during the soaking of red kidney beans (*Phaseolus vulgaris L.*). *J. Food Engin.* **1997**, 32, 391-401.
- (30) Santos, C. M. R.; Meneses, N. L.; Villela, F. A. Modificações fisiológicas e bioquímicas em sementes de feijão no armazenamento. *Rev. Bras. Sem.* **2005**, 27, 1, 104-114.
- (31) Yoshino, U.; Iwasaki, Y.; Okubo, M.; Okuyama, T. Effect of storage conditions on soybean protein. *J. Jap. Soc. Fd. Sci. Tech.* **1997**, 24, 1.

## 5.2 ARTIGO CIENTÍFICO 2

### PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DE COMPONENTES DE SOJA ENVELHECIDA

Neide Kiyoko Kondo Kamizake<sup>1</sup>; Geni da Silva Varéa<sup>2</sup>; Sandra Helena Prudencio<sup>3\*</sup>

Periódico a ser submetido: Journal of Food and Precessing and Preservation

#### Resumo

Duas cultivares de soja (Coodetec 214 e BRS 267) estocadas em três condições, envelhecimento acelerado (EA: 30 °C, 84% de UR, até nove meses), envelhecimento natural (EN: temperatura e UR ambiente, 18 meses) e controle (C: - 20 °C e 47% UR) foram avaliadas quanto a influencia do envelhecimento nas propriedades físico-químicas de alguns componentes. Verificou-se que o teor de fitatos não variou, compostos fenólicos e acidez aumentaram, lipídeos, pH, capacidade de absorção de água e a solubilidade das proteínas diminuíram ao longo do período de estocagem EA e EN. O padrão eletroforético das proteínas variou somente para a condição EA a partir de 8 meses.

**Palavras-chave:** Proteínas. pH. Acidez titulável. Fitatos. Fenólicos. Eletroforese.

#### 1 INTRODUÇÃO

A soja como os demais grãos podem sofrer mudanças químicas e físicas quando armazenadas por longo período em temperatura e umidade relativa (UR) elevadas, semelhantes ao clima de países tropicais com temperatura média anual de 27 °C e 80% de UR (Kong et al., 2008). As mudanças químicas que ocorrem na soja durante a estocagem adversa podem ser evidenciadas pela variação qualitativa e quantitativa das proteínas, lipídeos, açúcares, compostos fenólicos, fósforo fítico e minerais (Thomas et al., 1989; Murphy et al., 1997; Hou e Chang, 1998; 2004a; 2004b; 2004c; Kong et al., 2008).

<sup>1</sup> Departamento de Química, Universidade Estadual de Londrina, PR 445, Km 380, Campus universitário, caixa postal 6001, CEP 86.051-990, Londrina. Fone: (43)3371-4811, Fax: (43)3371-4276. [kamizake@uel.br](mailto:kamizake@uel.br)

<sup>2</sup> Departamento de Bioquímica, Universidade Estadual de Londrina, PR 445, Km 380, Campus universitário, caixa postal 6001, CEP 86.051-990, Londrina. Fone: (43)3371-4812. [gpvarea@uel.br](mailto:gpvarea@uel.br)

<sup>3\*</sup> Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Estadual de Londrina, PR 445, Km 380, Campus universitário, caixa postal 6001, CEP 86.051-990, Londrina. [sandrah@uel.br](mailto:sandrah@uel.br). Autor correspondente

Os primeiros sinais de deterioração em grãos estão relacionados com a alteração ou perda da integridade das membranas celulares dos tecidos devido ao aumento da atividade das enzimas álcool desidrogenase (sistema respiratório) e fosfatase ácida e estearase (hidrólise de lipídeos). A fosfatase ácida participa de reações de hidrólise de ésteres e pode provocar a peroxidação dos fosfolipídeos de membranas facilitando a perda de sua integridade e da compartimentalização de constituintes celulares e subseqüentemente desencadeia reações de hidrólise e oxidação dos triacilgliceróis e ácidos graxos insaturados, respectivamente (Santos et al., 2005). Os produtos de deterioração dos lipídeos podem causar a diminuição de pH em grãos de soja e promover desnaturação das proteínas de soja (Thomas et al. 1989). Hou e Chang (2004a e 2004b) verificaram alterações moleculares na estrutura da glicinina e  $\beta$ -conglucina purificadas de sojas armazenadas após 3 e 6 meses, respectivamente, em condições adversas (30 °C e 84% UR).

Hou e Chang (2004c) observaram uma diminuição de 44% de açúcares livres totais em sojas armazenadas após 9 meses sob 30°C e 84% de UR e sugeriram que estes podem ser metabolizados nos grãos para superar as condições de stress durante a estocagem. Locher e Bucheli (1998) relataram resultados semelhantes e sugeriram que a degradação de açúcares solúveis, em especial os oligossacarídeos, ocorre em soja estocada em condições tropicais simuladas (30 °C e 82% UR). Os açúcares redutores podem participar de glicolização não enzimáticas da reação de Maillard com resíduos de aminoácidos, contribuindo para o escurecimento da soja durante a estocagem (Hou e Chang, 1998). Outro possível mecanismo de escurecimento dos grãos é a polimerização acelerada de compostos fenólicos para polifenóis de alta massa molecular (Nozzolillo e Bezada, 1984).

Hou & Chang (2003) observaram um decréscimo do conteúdo de fitato em soja armazenada por 9 meses a 30°C e 84% UR, porém para sojas estocadas em condições amena (20 °C e 57% UR), a frio (4 °C) e ambiente por 18 meses não houve alteração significativa. Na soja como matéria prima, o conteúdo de fitato é importante, pois influencia nas características de textura do tofu (Hou e Chang, 2003, Ishiguro et al., 2008).

O envelhecimento dos grãos de soja também pode reduzir a capacidade de absorção e retenção de água e prejudicar a qualidade e aceitação de seus produtos, em especial os não fermentados (Narayan et al., 1988a, Hou e

Chang 2004a, 2004b). O objetivo deste estudo foi determinar as alterações físico-químicas dos componentes das cultivares de soja Coodetec 214 e BRS 267 envelhecidas em condições acelerada e natural.

## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 Material**

As cultivares de soja utilizadas neste estudo foram a BRS 267 e Coodetec 214 da safra de 2009 e cultivadas no campo experimental da Embrapa – Soja – Londrina, PR, Brasil (latitude  $-23^{\circ}18'37''$ , longitude  $-51^{\circ}09'46''$  e altitude 585 metros) e no Município de Nova Fátima, na Região Norte do Paraná, Brasil (latitude  $-24^{\circ}01'58''$ , longitude  $-50^{\circ}27'28''$  e altitude 673 metros), respectivamente. Todos os reagentes utilizados foram de grau analítico.

### **2.2 Condições de armazenamento da soja**

Três condições de armazenamento foram aplicadas: envelhecimento acelerado (EA):  $30^{\circ}\text{C}$  e 84% UR durante 9 meses, envelhecimento natural (EN): temperatura e UR ambiente durante 18 meses (variação no período =  $17,3$  a  $24,5^{\circ}\text{C}$  e 59 a 93% UR) e controle (C):  $-20^{\circ}\text{C}$  e 47% UR (Hou e Chang, 2004a, 2004b, 2004c, Kamizake et al. 2012). As amostras armazenadas sob EA e EN foram retiradas em intervalos de um mês e de três meses, respectivamente, e então armazenadas nas mesmas condições das amostras controle até realização das análises. Para as análises, os grãos foram triturados em moinho (IKA, A11).

### **2.3 Análises de Composição Centesimal e de Minerais**

Os teores de sólidos totais, proteínas, lipídeos, umidade, cinza e minerais (Ca, Mg e P) foram determinados pelos métodos padrões da AOAC (1995). O teor total de proteínas foi determinado pelo método de Kjeldahl usando o fator de conversão 6,25. O teor de carboidratos foi determinado por diferença. Os resultados da composição centesimal foram expressos em gramas por 100 g de amostra. Os

teores de minerais foram expressos em gramas por 100 g de amostra nos grãos e miligramas por gramas de amostras nos extratos de soja e tofu.

#### **2.4 Teor de Fósforo Fítico**

O teor de fósforo fítico foi determinado pelo método de Thompson e Erdman (1982). Adicionaram-se 50 mL de uma solução de TCA 3% + Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a 10% a um grama de amostra sob agitação mecânica por 2 horas a 100 rpm em Shaker (Marconi, MA 140 CFT) e em seguida, procedeu-se a filtração em papel de filtro qualitativo. Transferiram-se 10 mL do filtrado para um tubo com 10 mL de água e 12 mL de solução de FeCl<sub>3</sub> que foram aquecidos em banho-maria por 90 minutos a 70 °C e então resfriados e centrifugados a 4500 x g por 15 minutos. O sobrenadante foi descartado e o resíduo lavado três vezes com a solução de HCl 0,6% + Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a 2,5% e solubilizado em 7,0 mL de solução digestora (HNO<sub>3</sub> + HClO<sub>4</sub> 4:1). Após a digestão, foi feita a diluição para 100 mL com água deionizada e a absorbância foi lida em espectrofotômetro (Biochrom, Libra S22) em comprimento de onda de 820 nm (Chen et al., 1956). O teor de fósforo fítico foi expresso em gramas de fósforo fítico por 100 g de amostra.

#### **2.5 Teor de Compostos Fenólicos Totais (CFT)**

Os compostos fenólicos totais foram extraídos com solução de etanol 80% (Pinto, 2001) e o teor determinado através da reação com Folin-Ciocalteu, conforme descrito por Swain e Hillis (1959), com algumas modificações. Alíquotas de 0,5 mL do extrato de fenóis devidamente diluídas foram misturadas a 2,5 mL de solução aquosa de Folin-Ciocalteu 10% e 2,0 mL de solução de carbonato de sódio a 7,5% e então mantidos por 5 minutos em banho-maria a 50 °C. Após resfriamento a temperatura ambiente, a absorvância foi lida a 760 nm. O resultado foi expresso em gramas de fenólicos totais por 100g de amostra.

## **2.6 Medidas de pH e Acidez Titulável**

O pH foi medido em um potenciômetro (Hanna, HI 223). A acidez titulável foi determinada segundo o método de Martin-Cabrejas et al. (1997). A acidez por titulação foi expressa como gramas de ácido acético por quilogramas de farinha.

## **2.7 Solubilidade das Proteínas em Água e em Diferentes pHs**

A um grama de amostra adicionaram-se 50 mL de água deionizada (pH = 6,5) sob agitação mecânica em haste agitadora (Marconi, MA 102), em velocidade de 12000 rpm por dois minutos. A mistura foi centrifugada (Bioeng, BE 6000) a 3700 x g por 25 minutos e determinou-se o teor de proteína solúvel no sobrenadante pelo método de Kjeldahl. Para medida de solubilidade em diferentes pHs, as proteínas foram solubilizadas em 50 mL de soluções de pH 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 e 12, ajustados com soluções de HCl ou NaOH 1M. Os resultados foram expressos em gramas de proteínas solúveis por 100 gramas de proteínas totais na amostra.

## **2.8 Capacidade de Absorção e de Retenção de Água**

A capacidade de absorção e retenção de água foi medida segundo o método descrito por Okezie e Bello (1988). Suspensões com um grama de amostra e 50,0 mL de água deionizada (pH 6,5) foram preparadas em tubos de centrifuga, agitadas em agitador de tubos por 1 minuto e centrifugadas a 3700 x g por 20 minutos (Bioeng, BE 6000). A seguir, o sobrenadante foi desprezado e a quantidade de água absorvida foi obtida pela diferença entre a massa da amostra antes e após a absorção de água. A capacidade de absorção e retenção de água foi expressa como gramas de água por 100g de amostra.

## **2.9 Eletroforese (SDS-PAGE)**

As proteínas da soja foram extraídas segundo Carrão-Panizzi et al. (2008). O conteúdo de proteínas no sobrenadante foi quantificado pelo método de

Bradford (Bradford, 1976). O método de eletroforese utilizado foi o de Laemli (1970) com algumas modificações. As amostras de proteínas foram dissociadas em tampão tris-glicina 0,075M, pH 6,8, glicerol 45% (v/v), SDS 2% (m/v), azul de bromofenol 0,015% (m/v) e  $\beta$ -mercaptoetanol 0,025% (v/v). Alíquotas de 30  $\mu$ g de proteína foram aplicadas em gel (12 x 8 x 0,15 cm) de poliacrilamida com gradiente de concentração variando de 8 a 16 %. O gel de separação foi preparado utilizando o tampão tris-base 3,78 M, pH 8,9. A separação foi conduzida, aplicando 80 V durante 0,5 hora e 150 V durante 3 horas. O tampão de corrida usado para a separação foi Tris-HCl 0,52 M, glicina 0,53 M e SDS 1%, pH 8,9. As bandas protéicas foram reveladas com solução de corante Coomassie Blue R-250 em metanol e água. A massa molecular das proteínas padrões utilizadas variou de 6 a 180 kDa.

## **2.10 Delineamento Experimental e Análise Estatística**

Foram conduzidos quatro experimentos, um para cada cultivar em cada condição de envelhecimento (Coodetec 214-EA, Coodetec 214-EN, BRS 267-EA e BRS 267-EN), sendo o tempo zero a condição controle, conforme delineamento inteiramente casualizado com duas repetições, onde os tratamentos foram os tempos de armazenamento. Todas as análises foram feitas em duplicata em cada repetição do experimento. Os dados foram tratados por ANOVA e teste de comparação de médias de Tukey ( $p \leq 0,05$ ) utilizando-se o programa Statistica 7.0 (Statsoft, 2004).

## **3 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **3.1 Composição Química**

A composição química das cultivares de soja Coodetec 214 e BRS 267 armazenadas (condições controle e de EA e EN) estão apresentados nas tabelas 1 e 2, respectivamente. Verificaram-se pequenas alterações na composição centesimal e teores de minerais durante o armazenamento de ambas cultivares. O conteúdo de umidade da soja Coodetec 214 aumentou ( $p \leq 0,05$ ) de 8,95 para 9,51% ao final de 9 meses de estocagem EA e de 8,95 para 9,36% nos primeiros 12

meses de condição EN e permaneceu estável até 18 meses, isso indica que a adsorção de água pelos grãos equilibrou após 12 meses. A umidade absorvida pelos grãos pode ser resultado da alta umidade nos ambientes de estocagem (EA = 84% e EN = variação de 59 a 93% UR). Esses resultados estão consistentes com as observações de Hou e Chang (2004c). A soja BRS 267 não apresentou variação de umidade. O teor dos demais constituintes está apresentado em base seca. As proteínas não variaram em função do tempo nas condições de EA e EN para cultivar BRS 267, mas houve variações ( $p \leq 0,05$ ) para Coodetec 214. Houve redução de lipídeos ( $p \leq 0,05$ ), para ambas cultivares na condição de EA, que provavelmente se degradaram ao longo da estocagem. Pelo contrário, Hou e Chang (2004c) observaram aumento de 17,18 para 20,36% ao longo de 9 meses de estocagem de soja em condições adversas (30 °C e 86% UR), mas indicaram que a razão deste aumento é desconhecida. Nas condições de EN, não houve variação dos lipídeos para ambas cultivares de soja, o mesmo comportamento foi observado por Hou e Chang (2004c) nas condições de armazenamento a frio (4 °C e 86% UR) e amena (20 °C e 57% UR) por 18 meses.

O teor de carboidratos não variou nas condições de EN, para ambas cultivares. Entretanto para condição de EA, constatou-se aumento ( $p \leq 0,05$ ) para cultivar BRS 267, enquanto que para a Coodetec 214 não houve variação. Os teores de cinzas e dos minerais Ca, Mg e P em ambas cultivares e condições de armazenamento não variaram. Observou-se que o teor de cinzas e P da cultivar de soja BRS 267 foi aproximadamente de 20% e 40% maior que da cultivar Coodetec 214, respectivamente.

**Tabela 1 - Composição química da soja Coodetec 214 envelhecida**

Armazenamento	Tempo	Umidade	Proteínas	Lipídeos	Carboidratos	Cinzas	Minerais (%)		
							Condições	(mês)	(%)
C EA	0	8,95 <sup>bc</sup> ± 0,19	43,5 <sup>b</sup> ± 0,2	25,2 <sup>a</sup> ± 0,9	26,5 <sup>bc</sup> ± 0,9	4,80 <sup>a</sup> ± 0,09	0,36 <sup>a</sup> ± 0,03	0,24 <sup>a</sup> ± 0,01	0,44 <sup>ab</sup> ± 0,03
	1	8,42 <sup>cd</sup> ± 0,20	43,7 <sup>ab</sup> ± 0,6	22,8 <sup>b</sup> ± 1,6	28,7 <sup>ab</sup> ± 1,0	4,81 <sup>a</sup> ± 0,06	0,35 <sup>a</sup> ± 0,01	0,25 <sup>a</sup> ± 0,02	0,44 <sup>ab</sup> ± 0,03
	2	8,50 <sup>bcd</sup> ± 0,29	43,2 <sup>b</sup> ± 0,3	23,2 <sup>ab</sup> ± 0,5	28,8 <sup>b</sup> ± 0,6	4,79 <sup>a</sup> ± 0,10	0,35 <sup>a</sup> ± 0,01	0,22 <sup>a</sup> ± 0,00	0,43 <sup>ab</sup> ± 0,01
	3	8,49 <sup>bcd</sup> ± 0,18	43,5 <sup>ab</sup> ± 0,3	23,9 <sup>ab</sup> ± 0,9	27,8 <sup>abc</sup> ± 0,9	4,80 <sup>a</sup> ± 0,06	0,34 <sup>a</sup> ± 0,02	0,22 <sup>a</sup> ± 0,01	0,42 <sup>b</sup> ± 0,03
	4	8,16 <sup>d</sup> ± 0,14	43,6 <sup>ab</sup> ± 0,3	23,9 <sup>ab</sup> ± 0,7	27,7 <sup>abc</sup> ± 0,6	4,82 <sup>a</sup> ± 0,08	0,34 <sup>a</sup> ± 0,03	0,25 <sup>a</sup> ± 0,05	0,42 <sup>b</sup> ± 0,02
	5	8,61 <sup>bcd</sup> ± 0,04	44,0 <sup>ab</sup> ± 0,5	24,6 <sup>ab</sup> ± 0,5	26,5 <sup>bc</sup> ± 1,0	4,94 <sup>a</sup> ± 0,04	0,36 <sup>a</sup> ± 0,03	0,23 <sup>a</sup> ± 0,02	0,44 <sup>ab</sup> ± 0,05
	6	8,96 <sup>b</sup> ± 0,12	43,6 <sup>b</sup> ± 0,3	24,9 <sup>ab</sup> ± 0,7	25,9 <sup>c</sup> ± 0,4	4,76 <sup>a</sup> ± 0,11	0,36 <sup>a</sup> ± 0,03	0,22 <sup>a</sup> ± 0,02	0,43 <sup>ab</sup> ± 0,02
	7	8,62 <sup>bcd</sup> ± 0,08	43,9 <sup>ab</sup> ± 0,8	23,7 <sup>ab</sup> ± 0,5	27,6 <sup>abc</sup> ± 0,4	4,80 <sup>a</sup> ± 0,13	0,35 <sup>a</sup> ± 0,04	0,22 <sup>a</sup> ± 0,01	0,43 <sup>b</sup> ± 0,04
	8	8,76 <sup>bc</sup> ± 0,32	44,4 <sup>a</sup> ± 0,2	23,1 <sup>ab</sup> ± 0,7	27,5 <sup>abc</sup> ± 0,4	4,74 <sup>a</sup> ± 0,02	0,32 <sup>a</sup> ± 0,02	0,22 <sup>a</sup> ± 0,03	0,43 <sup>ab</sup> ± 0,04
9	9,51 <sup>a</sup> ± 0,39	44,6 <sup>a</sup> ± 0,3	22,8 <sup>b</sup> ± 1,0	27,8 <sup>abc</sup> ± 0,7	4,73 <sup>a</sup> ± 0,03	0,38 <sup>a</sup> ± 0,03	0,23 ± 0,02	0,47 <sup>a</sup> ± 0,01	
C EN	0	8,95 <sup>b</sup> ± 0,19	43,5 <sup>b</sup> ± 0,2	25,2 <sup>a</sup> ± 0,9	26,5 <sup>a</sup> ± 0,9	4,80 <sup>a</sup> ± 0,09	0,36 <sup>ab</sup> ± 0,03	0,24 <sup>a</sup> ± 0,01	0,44 <sup>a</sup> ± 0,03
	3	9,14 <sup>ab</sup> ± 0,03	43,7 <sup>b</sup> ± 0,2	24,2 <sup>ab</sup> ± 0,7	27,4 <sup>a</sup> ± 0,8	4,80 <sup>a</sup> ± 0,05	0,35 <sup>ab</sup> ± 0,03	0,22 <sup>a</sup> ± 0,02	0,46 <sup>a</sup> ± 0,04
	6	9,01 <sup>b</sup> ± 0,04	43,5 <sup>b</sup> ± 0,2	23,9 <sup>ab</sup> ± 0,3	27,8 <sup>a</sup> ± 0,4	4,84 <sup>a</sup> ± 0,01	0,34 <sup>b</sup> ± 0,02	0,25 <sup>a</sup> ± 0,02	0,44 <sup>a</sup> ± 0,01
	9	8,33 <sup>c</sup> ± 0,28	43,8 <sup>b</sup> ± 0,4	23,4 <sup>b</sup> ± 0,4	28,0 <sup>a</sup> ± 0,6	4,80 <sup>a</sup> ± 0,03	0,36 <sup>ab</sup> ± 0,03	0,23 <sup>a</sup> ± 0,02	0,43 <sup>a</sup> ± 0,05
	12	9,36 <sup>a</sup> ± 0,24	44,3 <sup>ab</sup> ± 0,7	23,5 <sup>b</sup> ± 1,0	27,4 <sup>a</sup> ± 1,5	4,82 <sup>a</sup> ± 0,02	0,40 <sup>a</sup> ± 0,04	0,23 <sup>a</sup> ± 0,01	0,46 <sup>a</sup> ± 0,03
18	9,12 <sup>ab</sup> ± 0,31	44,7 <sup>a</sup> ± 0,3	23,8 <sup>ab</sup> ± 0,5	28,5 <sup>a</sup> ± 0,9	4,81 <sup>a</sup> ± 0,01	0,40 <sup>a</sup> ± 0,02	0,24 <sup>a</sup> ± 0,01	0,45 <sup>a</sup> ± 0,02	

Os valores de proteínas, lipídeos, carboidratos, cinzas e minerais estão em base seca

Valores médios de duas determinações em cada repetição ± desvio padrão

Médias na coluna, acompanhadas de letras diferentes, para cada tratamento, diferem significativamente ( $p \leq 0,05$ )

C= Controle (tempo zero de armazenamento): -20 °C e 47% UR

EA= Envelhecimento acelerado: 30 °C e 84% UR

EN= Envelhecimento natural: temperatura e UR ambiente (variação no período = 17,3 a 24,5 °C e 59 a 93% UR)

**Tabela 2 - Composição química da soja BRS 267 envelhecida**

Armazenamento	Tempo	Umidade	Proteínas	Lipídeos	Carboidratos	Cinzas	Minerais (%)		
Condições	(mês)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	Ca	Mg	P
Controle EA	0	9,15 <sup>ab</sup> ± 0,10	45,2 <sup>a</sup> ± 0,2	23,9 <sup>a</sup> ± 0,9	25,0 <sup>c</sup> ± 1,0	5,66 <sup>c</sup> ± 0,05	0,40 <sup>a</sup> ± 0,03	0,23 <sup>a</sup> ± 0,02	0,65 <sup>a</sup> ± 0,04
	1	8,93 <sup>ab</sup> ± 0,12	45,4 <sup>a</sup> ± 0,3	23,7 <sup>ab</sup> ± 1,1	25,0 <sup>bc</sup> ± 1,1	5,77 <sup>bc</sup> ± 0,03	0,40 <sup>a</sup> ± 0,03	0,22 <sup>a</sup> ± 0,01	0,67 <sup>a</sup> ± 0,06
	2	8,84 <sup>b</sup> ± 0,19	44,8 <sup>a</sup> ± 1,2	24,1 <sup>a</sup> ± 0,8	25,3 <sup>bc</sup> ± 1,5	5,81 <sup>abc</sup> ± 0,05	0,39 <sup>a</sup> ± 0,03	0,23 <sup>a</sup> ± 0,01	0,67 <sup>a</sup> ± 0,02
	3	8,94 <sup>ab</sup> ± 0,45	45,2 <sup>a</sup> ± 0,3	23,3 <sup>abc</sup> ± 0,6	25,8 <sup>bc</sup> ± 0,9	5,76 <sup>bc</sup> ± 0,04	0,41 <sup>a</sup> ± 0,04	0,23 <sup>a</sup> ± 0,01	0,67 <sup>a</sup> ± 0,02
	4	9,02 <sup>ab</sup> ± 0,10	44,4 <sup>a</sup> ± 0,6	22,3 <sup>abcd</sup> ± 0,2	27,5 <sup>abc</sup> ± 0,7	5,79 <sup>abc</sup> ± 0,08	0,41 <sup>a</sup> ± 0,01	0,24 <sup>a</sup> ± 0,01	0,64 <sup>a</sup> ± 0,07
	5	9,28 <sup>ab</sup> ± 0,13	45,3 <sup>a</sup> ± 0,6	21,3 <sup>cd</sup> ± 0,4	27,7 <sup>abc</sup> ± 0,9	5,79 <sup>abc</sup> ± 0,06	0,39 <sup>a</sup> ± 0,04	0,23 <sup>a</sup> ± 0,02	0,67 <sup>a</sup> ± 0,04
	6	9,31 <sup>a</sup> ± 0,07	45,0 <sup>a</sup> ± 0,3	21,5 <sup>bcd</sup> ± 0,6	27,7 <sup>abc</sup> ± 0,8	5,81 <sup>abc</sup> ± 0,10	0,38 <sup>a</sup> ± 0,01	0,20 <sup>a</sup> ± 0,02	0,68 <sup>a</sup> ± 0,07
	7	8,98 <sup>ab</sup> ± 0,19	45,1 <sup>a</sup> ± 0,3	21,2 <sup>cd</sup> ± 1,1	28,0 <sup>abc</sup> ± 1,5	5,82 <sup>abc</sup> ± 0,04	0,36 <sup>a</sup> ± 0,02	0,21 <sup>a</sup> ± 0,02	0,66 <sup>a</sup> ± 0,04
	8	9,35 <sup>a</sup> ± 0,09	45,6 <sup>a</sup> ± 0,7	20,5 <sup>d</sup> ± 0,5	28,0 <sup>ab</sup> ± 0,5	5,94 <sup>a</sup> ± 0,05	0,43 <sup>a</sup> ± 0,03	0,22 <sup>a</sup> ± 0,03	0,69 <sup>a</sup> ± 0,04
	9	9,25 <sup>ab</sup> ± 0,02	44,3 <sup>a</sup> ± 0,1	20,2 <sup>d</sup> ± 1,7	29,6 <sup>a</sup> ± 1,7	5,87 <sup>ab</sup> ± 0,07	0,43 <sup>a</sup> ± 0,02	0,22 <sup>a</sup> ± 0,02	0,68 <sup>a</sup> ± 0,04
C EN	0	9,15 <sup>a</sup> ± 0,10	45,2 <sup>a</sup> ± 0,2	23,9 <sup>a</sup> ± 0,9	25,0 <sup>b</sup> ± 1,0	5,66 <sup>a</sup> ± 0,05	0,40 <sup>b</sup> ± 0,03	0,23 <sup>a</sup> ± 0,02	0,65 <sup>a</sup> ± 0,04
	3	9,34 <sup>a</sup> ± 0,44	45,0 <sup>a</sup> ± 0,2	22,4 <sup>a</sup> ± 1,1	26,8 <sup>ab</sup> ± 1,4	5,74 <sup>a</sup> ± 0,15	0,42 <sup>ab</sup> ± 0,01	0,23 <sup>a</sup> ± 0,02	0,65 <sup>a</sup> ± 0,04
	6	9,27 <sup>a</sup> ± 0,07	44,9 <sup>a</sup> ± 0,2	22,1 <sup>a</sup> ± 0,7	27,3 <sup>a</sup> ± 0,7	5,60 <sup>a</sup> ± 0,02	0,40 <sup>ab</sup> ± 0,04	0,22 <sup>a</sup> ± 0,02	0,67 <sup>a</sup> ± 0,06
	9	9,11 <sup>a</sup> ± 0,01	44,8 <sup>a</sup> ± 0,3	22,4 <sup>a</sup> ± 0,8	27,3 <sup>a</sup> ± 0,5	5,60 <sup>a</sup> ± 0,04	0,44 <sup>ab</sup> ± 0,02	0,24 <sup>a</sup> ± 0,01	0,67 <sup>a</sup> ± 0,02
	12	9,58 <sup>a</sup> ± 0,24	45,2 <sup>a</sup> ± 0,2	22,4 <sup>a</sup> ± 0,3	26,8 <sup>ab</sup> ± 0,4	5,57 <sup>a</sup> ± 0,03	0,46 <sup>a</sup> ± 0,02	0,25 <sup>a</sup> ± 0,01	0,66 <sup>a</sup> ± 0,04
	18	9,58 <sup>a</sup> ± 0,03	44,9 <sup>a</sup> ± 0,3	22,5 <sup>a</sup> ± 0,5	27,0 <sup>a</sup> ± 0,8	5,60 <sup>a</sup> ± 0,03	0,46 <sup>a</sup> ± 0,03	0,24 <sup>a</sup> ± 0,01	0,68 <sup>a</sup> ± 0,03

Os valores de proteínas, lipídeos, carboidratos, cinzas e minerais foram calculados em base seca

Valores médios de duas determinações em cada repetição ± desvio padrão

Médias na coluna, acompanhadas de letras diferentes, para cada tratamento, diferem significativamente ( $p \leq 0,05$ )

C= Controle (tempo zero de armazenamento): -20 °C e 47% UR

EA= Envelhecimento acelerado: 30 °C e 84% UR

EN= Envelhecimento natural: temperatura e UR ambiente (variação no período = 17,3 a 24,5 °C e 59 a 93% UR)

### 3.2 Teores de fósforo fítico e compostos fenólicos totais (CFT)

Os teores de fitato das cultivares Coodetec 214 e BRS 267, nas condições de EA e EN não apresentaram diferenças significativas, com exceção para a cultivar BRS 267 na condição de EA, que mostrou decréscimo ( $p \leq 0,05$ ) de 1,72 para 1,56% após 9 meses de armazenamento (Tabela 3). Thomas et al. (1989) observaram decréscimo do teor de fitato e aumento do fósforo inorgânico em sojas armazenadas a 20 e 30 °C e a 65 e 85% de UR durante 8 meses. Hou & Chang (2003) também relataram decréscimo de fitato na soja, extrato aquoso e nos tofu produzidos a partir de sojas armazenadas a 30 °C e 84% UR e sugeriram que a diminuição de fitato no extrato aquoso pode resultar em aumento de rendimento e firmeza do tofu.

No presente estudo, constatou-se que o teor de fósforo fítico e inorgânico para a cultivar BRS 267 foi aproximadamente 40% maior em relação a cultivar Coodetec 214 (Tabelas 1, 2 e 3).

**Tabela 3** - Capacidade de absorção e retenção de água, teor de fósforo fítico e compostos fenólicos totais das cultivares de soja Coodetec 214 e BRS 267 envelhecidas

Armazenamento Condições	Tempo (mês)	Absorção e retenção de água (%)		Fósforo fítico (%)		CFT (%)	
		Coodetec 214	BRS 267	Coodetec 214	BRS 267	Coodetec 214	BRS 267
C	0	194,3 <sup>a</sup> ± 4,5	201,2 <sup>a</sup> ± 4,1	1,01 <sup>a</sup> ± 0,07	1,72 <sup>ab</sup> ± 0,03	0,35 <sup>h</sup> ± 0,01	0,36 <sup>g</sup> ± 0,00
EA	1	193,1 <sup>a</sup> ± 3,6	201,1 <sup>a</sup> ± 5,3	0,95 <sup>a</sup> ± 0,08	1,73 <sup>a</sup> ± 0,07	0,36 <sup>g</sup> ± 0,01	0,37 <sup>fg</sup> ± 0,01
	2	187,1 <sup>ab</sup> ± 6,6	198,0 <sup>a</sup> ± 5,4	0,89 <sup>a</sup> ± 0,06	1,73 <sup>a</sup> ± 0,07	0,37 <sup>g</sup> ± 0,00	0,38 <sup>ef</sup> ± 0,01
	3	184,9 <sup>ab</sup> ± 5,2	200,0 <sup>a</sup> ± 3,3	0,87 <sup>a</sup> ± 0,05	1,73 <sup>a</sup> ± 0,09 <sup>a</sup>	0,38 <sup>f</sup> ± 0,01	0,37 <sup>fg</sup> ± 0,01
	4	185,6 <sup>ab</sup> ± 3,6	197,7 <sup>a</sup> ± 3,2	0,89 <sup>a</sup> ± 0,06	1,65 <sup>ab</sup> ± 0,05	0,39 <sup>f</sup> ± 0,00	0,38 <sup>efg</sup> ± 0,01
	5	185,8 <sup>ab</sup> ± 3,5	196,1 <sup>a</sup> ± 5,3	0,94 <sup>a</sup> ± 0,12	1,59 <sup>ab</sup> ± 0,04	0,41 <sup>e</sup> ± 0,01	0,39 <sup>de</sup> ± 0,01
	6	187,3 <sup>ab</sup> ± 4,2	197,2 <sup>a</sup> ± 5,2	0,94 <sup>a</sup> ± 0,10	1,62 <sup>ab</sup> ± 0,04	0,46 <sup>d</sup> ± 0,00	0,40 <sup>d</sup> ± 0,01
	7	186,7 <sup>ab</sup> ± 4,5	195,4 <sup>a</sup> ± 5,8	0,90 <sup>a</sup> ± 0,05	1,68 <sup>ab</sup> ± 0,09	0,49 <sup>c</sup> ± 0,01	0,42 <sup>c</sup> ± 0,01
	8	177,1 <sup>b</sup> ± 3,0	171,9 <sup>b</sup> ± 3,0	0,87 <sup>a</sup> ± 0,09	1,59 <sup>ab</sup> ± 0,06	0,52 <sup>b</sup> ± 0,00	0,46 <sup>b</sup> ± 0,00
	9	164,8 <sup>c</sup> ± 2,2	160,6 <sup>c</sup> ± 3,9	0,87 <sup>a</sup> ± 0,08	1,56 <sup>b</sup> ± 0,09	0,57 <sup>a</sup> ± 0,01	0,51 <sup>a</sup> ± 0,01
C	0	194,3 <sup>a</sup> ± 4,5	201,2 <sup>a</sup> ± 4,1	1,01 <sup>a</sup> ± 0,07	1,72 <sup>a</sup> ± 0,03	0,35 <sup>b</sup> ± 0,01	0,36 <sup>b</sup> ± 0,00
EN	3	187,3 <sup>a</sup> ± 3,9	198,3 <sup>a</sup> ± 4,8	1,06 <sup>a</sup> ± 0,02	1,68 <sup>a</sup> ± 0,07	0,35 <sup>b</sup> ± 0,01	0,36 <sup>b</sup> ± 0,01
	6	188,4 <sup>a</sup> ± 2,5	194,4 <sup>a</sup> ± 6,4	1,03 <sup>a</sup> ± 0,01	1,62 <sup>a</sup> ± 0,14	0,35 <sup>b</sup> ± 0,01	0,37 <sup>ab</sup> ± 0,01 <sup>b</sup>
	9	190,4 <sup>a</sup> ± 3,4	194,0 <sup>a</sup> ± 6,2	0,98 <sup>a</sup> ± 0,06	1,61 <sup>a</sup> ± 0,09	0,35 <sup>b</sup> ± 0,01	0,37 <sup>ab</sup> ± 0,01 <sup>b</sup>
	12	186,7 <sup>a</sup> ± 5,1	194,0 <sup>a</sup> ± 5,4	1,00 <sup>a</sup> ± 0,02	1,64 <sup>a</sup> ± 0,08	0,37 <sup>a</sup> ± 0,01	0,36 <sup>b</sup> ± 0,01
	18	187,8 <sup>a</sup> ± 4,8	197,6 <sup>a</sup> ± 4,2	0,98 <sup>a</sup> ± 0,02	1,67 <sup>a</sup> ± 0,02	0,37 <sup>a</sup> ± 0,01	0,39 <sup>a</sup> ± 0,01

Valores médios de duas determinações em cada repetição ± desvio padrão

Médias na coluna, acompanhadas de letras diferentes, para cada tratamento, diferem significativamente ( $p \leq 0,05$ )

C= Controle (tempo zero de armazenamento): -20 °C e 47% UR

EA= Envelhecimento acelerado: 30 °C e 84% UR

EN= Envelhecimento natural: temperatura e UR ambiente (variação no período = 17,3 a 24,5 °C e 59 a 93% UR)

O teor de compostos fenólicos totais aumentou ( $p \leq 0,05$ ) nas cultivares de soja Coodetec 214 e BRS 267 armazenadas nas condições de EA e EN (Tabela 3). Durante a estocagem de leguminosas em condições adversas de temperatura e UR, pode ocorrer à oxidação de substratos fenólicos como ácidos fenólicos e aminoácidos aromáticos fenilalamina e tirosina pela ação das enzimas polifenoloxidase e monooxigenase. A formação de melaninas, melanoidinas e polifenóis nas leguminosas ao longo do envelhecimento é responsável pelo seu escurecimento (Reyes-Moreno e Paredes-Lopez, 1993, Hou e Chang, 1998). Segundo Nozzolillo e Bezada (1984) o fator principal que pode promover o escurecimento dos grãos durante o armazenamento é a polimerização acelerada de compostos fenólicos de baixa massa molecular (taninos solúveis) para taninos condensados e de elevada massa molecular.

### **3.3 pH e Acidez Titulável**

Observou-se a diminuição de pH e o aumento de acidez titulável ( $p \leq 0,05$ ) em ambas cultivares em função do tempo e condições de EA e EN (Tabela 4), sendo que a redução foi mais acentuada para Coodetec 214 na condição EA (9 meses). O pH diminuiu de 6,97 para 6,09 e de 6,88 para 6,20 para as cultivares Coodetec 214 e BRS 267, respectivamente, durante o armazenamento EA. Estes resultados concordam com os de Thomas et al. (1989) que observaram redução de 6,55 a 6,40, após 8 meses de armazenamento a 30 °C e 85% de UR, e com os de Kong et al. (2008) que verificaram queda de 6,58 a 5,98, após 12 meses de armazenamento a 40 °C e 65% de UR. O aumento da acidez na soja envelhecida pode estar relacionado à degradação dos lipídeos com formação de ácidos graxos livres durante o armazenamento (Thomas et al., 1988, Narayan et al., 1989a, Hou e Chang, 1998, 2004c). Narayan et al. (1988a) observaram aumento de valores ácidos graxos livres e peróxidos como produto da reação de hidrólise das moléculas de triacilglicerois e oxidação dos ácidos linoléico e linolênico, respectivamente, cujos produtos podem contribuir para aumento de acidez em soja envelhecida.

**Tabela 4** - Valores de pH e acidez titulável das cultivares de soja Coodetec 214 e BRS 267 envelhecidas

Armazenamento condições	Tempo (mês)	Coodetec 214		BRS 267	
		pH	Acidez Titulável	pH	Acidez Titulável
C	0	6,97 <sup>a</sup> ± 0,01	2,76 <sup>g</sup> ± 0,05	6,88 <sup>a</sup> ± 0,02	3,15 <sup>i</sup> ± 0,08
EA	1	6,91 <sup>b</sup> ± 0,01	2,90 <sup>fg</sup> ± 0,03	6,80 <sup>ab</sup> ± 0,01	3,46 <sup>h</sup> ± 0,05
	2	6,81 <sup>c</sup> ± 0,02	3,10 <sup>f</sup> ± 0,05	6,74 <sup>bc</sup> ± 0,01	4,12 <sup>g</sup> ± 0,04
	3	6,74 <sup>d</sup> ± 0,01	3,89 <sup>e</sup> ± 0,02	6,68 <sup>cd</sup> ± 0,02	4,32 <sup>f</sup> ± 0,02
	4	6,56 <sup>e</sup> ± 0,02	4,24 <sup>d</sup> ± 0,08	6,63 <sup>d</sup> ± 0,01	4,46 <sup>e</sup> ± 0,04
	5	6,45 <sup>f</sup> ± 0,02	4,66 <sup>c</sup> ± 0,11	6,51 <sup>e</sup> ± 0,08	4,95 <sup>c</sup> ± 0,06
	6	6,26 <sup>g</sup> ± 0,02	5,81 <sup>b</sup> ± 0,18	6,51 <sup>e</sup> ± 0,08	4,74 <sup>d</sup> ± 0,03
	7	6,23 <sup>g</sup> ± 0,01	5,78 <sup>b</sup> ± 0,08	6,36 <sup>f</sup> ± 0,00	5,80 <sup>b</sup> ± 0,05
	8	6,15 <sup>h</sup> ± 0,01	7,00 <sup>a</sup> ± 0,07	6,24 <sup>g</sup> ± 0,01	6,72 <sup>a</sup> ± 0,03
	9	6,09 <sup>i</sup> ± 0,01	6,98 <sup>a</sup> ± 0,06	6,20 <sup>g</sup> ± 0,00	6,78 <sup>a</sup> ± 0,04
C	0	6,97 <sup>a</sup> ± 0,01	2,76 <sup>e</sup> ± 0,05	6,88 <sup>a</sup> ± 0,02	3,15 <sup>e</sup> ± 0,08
EN	3	6,86 <sup>b</sup> ± 0,01	3,18 <sup>d</sup> ± 0,06	6,82 <sup>b</sup> ± 0,01	3,54 <sup>de</sup> ± 0,05
	6	6,76 <sup>bc</sup> ± 0,01	3,26 <sup>d</sup> ± 0,04	6,78 <sup>c</sup> ± 0,01	3,82 <sup>cd</sup> ± 0,05
	9	6,72 <sup>cd</sup> ± 0,01	3,52 <sup>c</sup> ± 0,03	6,71 <sup>d</sup> ± 0,00	4,04 <sup>bc</sup> ± 0,05
	12	6,62 <sup>d</sup> ± 0,01	3,75 <sup>b</sup> ± 0,05	6,68 <sup>d</sup> ± 0,02	4,31 <sup>ab</sup> ± 0,04
	18	6,43 <sup>e</sup> ± 0,01	4,70 <sup>a</sup> ± 0,03	6,49 <sup>e</sup> ± 0,01	4,78 <sup>a</sup> ± 0,02

Valores médios de duas determinações em cada repetição ± desvio padrão

Médias na coluna, acompanhadas de letras diferentes, para cada tratamento, diferem significativamente ( $p \leq 0,05$ )

C= Controle (tempo zero de armazenamento): -20 °C e 47% UR

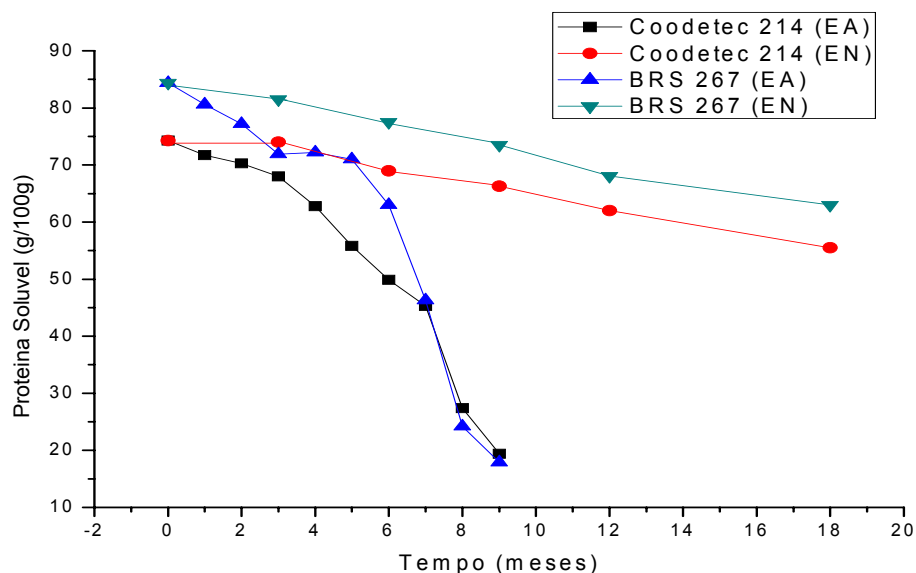
EA= Envelhecimento acelerado: 30 °C e 84% UR

EN= Envelhecimento natural: temperatura e UR ambiente (variação no período = 17,3 a 24,5 °C e 59 a 93% UR)

### 3.4 Solubilidade das Proteínas em Água e em Diferentes pHs

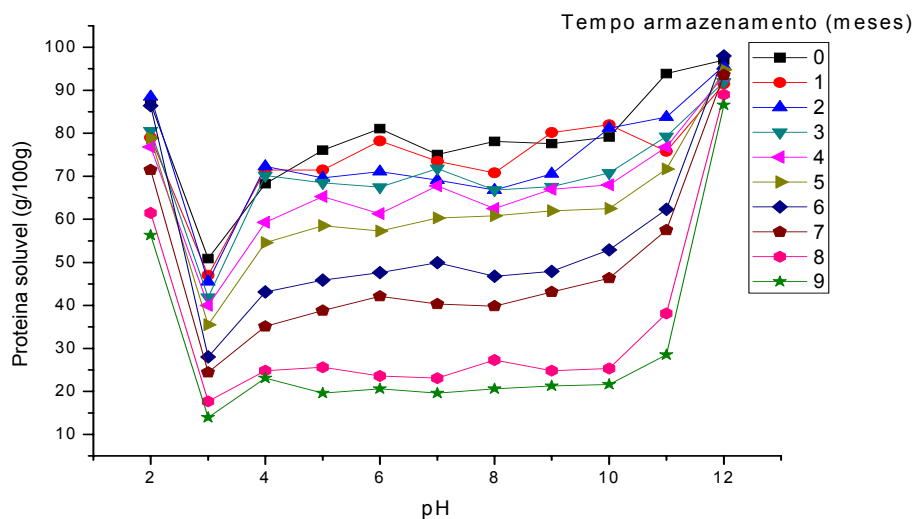
Observou-se redução, ao longo do tempo, na solubilidade das proteínas em água nas duas condições de armazenamento (Figura 1). Na condição de EA, após 9 meses, a redução foi de 85% para 17% para a cultivar Coodetec 214 e de 74% para 18% para a BRS 267. Na condição EN, após 18 meses, a redução foi de 85 para 65% e 74 para 55% para a cultivar Coodetec 214 e BRS 267, respectivamente.

**Figura 1** - Curva de solubilidade protéica em água em função do tempo de armazenamento da cultivar de soja Coodetec 214 e BRS 267, armazenadas sob condições de EA (30°C, 84% de UR) e EN (variação no período = 17,3 a 24,5 °C e 59 a 93% UR)

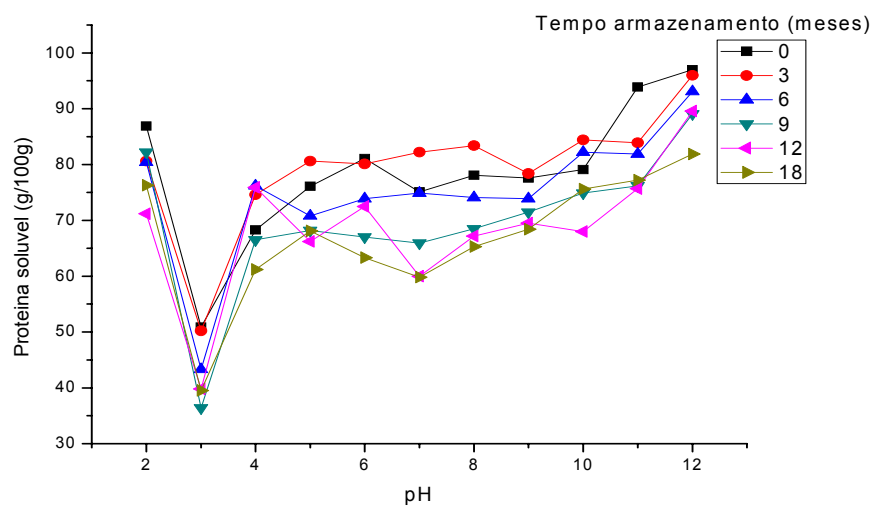


Os perfis de solubilidade das proteínas em diferentes pHs para as cultivares de soja Coodetec 214 e BRS 267, nas duas condições de armazenamento, estão nas figuras 2 a 5, respectivamente. O perfil de solubilidade foi semelhante para todos os tempos de EA e EN, sendo a solubilidade máxima no pHs extremos (pH 2,0 e 12) e a mínima em pH 3,0. Na condição EA (Figuras 2 e 4), notou-se pouca diferença para os 5 primeiros meses de envelhecimento das duas cultivares e diminuição brusca de solubilidade após 8 meses. Na condição EN (Figuras 3 e 5), a solubilidade protéica das duas cultivares armazenadas por 18 meses foi semelhante à condição de EA por 5 meses (Figura 2 e 4). Comparando-se os perfis de solubilidade em diferentes pHs, partindo-se do tempo zero (controle) até 9 meses de EA e 18 meses de EN, pode-se observar uma diminuição de solubilidade de aproximadamente 60% e 15% para ambas cultivares, respectivamente.

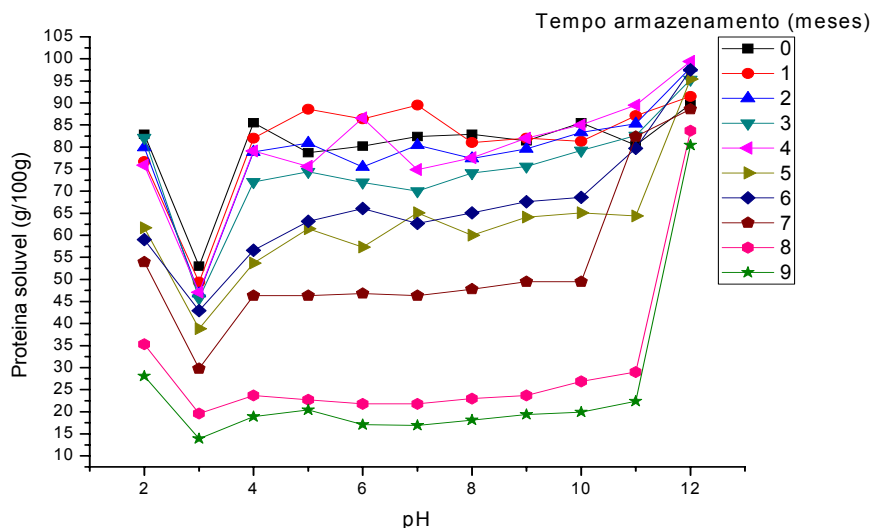
**Figura 2** - Perfil de solubilidade protéica em diferentes pHs da cultivar de soja Coodetec 214 armazenada na condição EA (30°C, 84% UR, até nove meses)



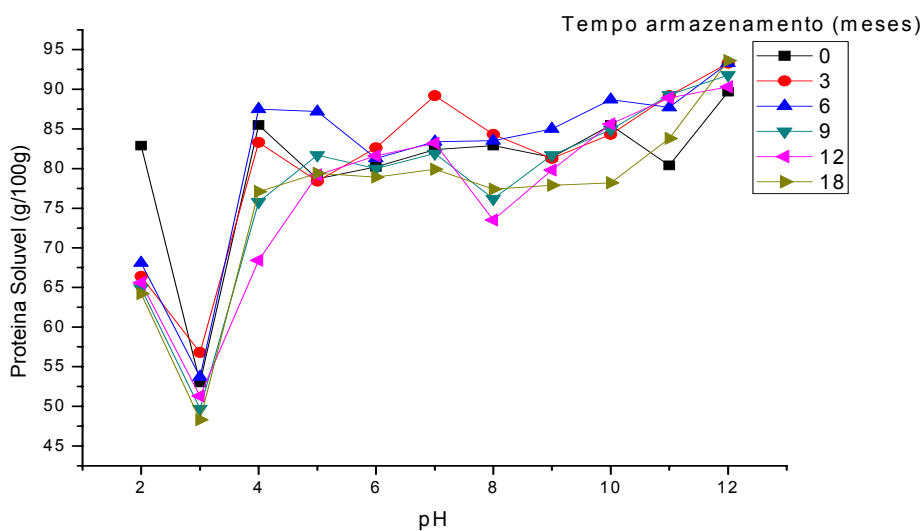
**Figura 3** - Perfil de solubilidade protéica em diferentes pHs da cultivar de soja Coodetec 214 armazenada na condição EN (variação no período = 17,3 a 24,5 °C e 59 a 93% UR, até 18 meses)



**Figura 4** - Perfil de solubilidade protéica em diferentes pHs da cultivar de soja BRS 267 armazenada na condição EA (30°C, 84% UR, até nove meses)



**Figura 5** - Perfil de solubilidade protéica em diferentes pHs da cultivar de soja BRS 267 armazenada na condição EN (variação no período = 17,3 a 24,5 °C e 59 a 93% UR, até 18 meses)



Coelho et al. (2011) verificaram comportamento semelhante no perfil de solubilidade das proteínas de duas variedades de feijões (carioca e preto) em diferentes pHs, armazenados a 40 °C e 76% de UR durante 0, 15, 30, 45, 60 e 75 dias.

Thomas et al. (1989) observaram um decréscimo de aproximadamente 15% no teor de proteínas extraídas em água após estocagem da soja a 30 °C e 85% UR por 8 meses. Da mesma forma, Kong et al. (2008) relataram decréscimo de extração protéica após 12 meses de estocagem a 40 °C e 65% UR. A diminuição da solubilidade das proteínas de soja pode estar relacionada a alterações nas moléculas protéicas causadas pelo aumento de acidez do tecido durante o armazenamento. Hou & Chang (2004a, 2004b) verificaram redução da extração das duas principais frações protéicas (glicinina e  $\beta$ -conglucina) de soja armazenada em condições adversas (30 °C e 84% UR). A redução foi justificada pela desnaturação das proteínas que foi evidenciada pela redução da hidrofobicidade de superfície e do conteúdo total de sulfidrila livres e aumento das interações dissulfeto intramoleculares; além da redução na estrutura secundária  $\beta$ -folha e aumento da  $\alpha$ -hélice, mas sem alteração das massas moleculares indicando que durante o armazenamento as moléculas tornaram-se mais agregadas ou contraídas. Coelho et al. (2011) verificaram que as pontes de hidrogênio e as interações hidrofóbicas representaram papel importante na agregação de proteínas de feijão durante a estocagem, mas a formação de pontes dissulfeto não foi um fator importante para explicar a perda de solubilidade das proteínas.

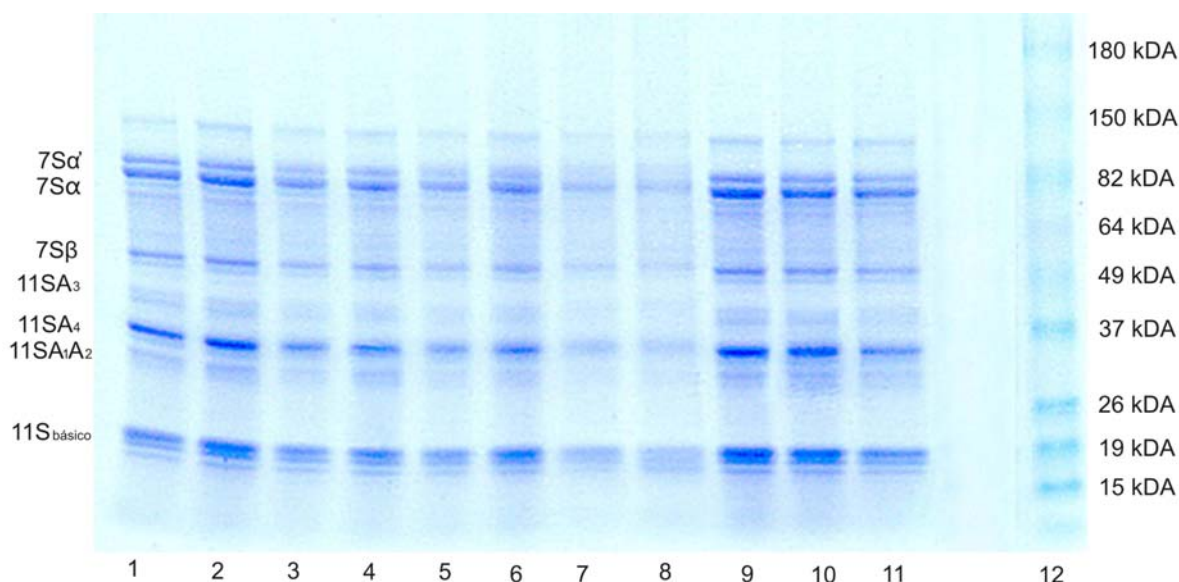
### **3.5 Capacidade de Absorção e Retenção de Água**

A capacidade de absorção e retenção de água na condição de EA reduziu ( $p \leq 0,05$ ) de 194,3 a 164,8 e de 201,2 a 160,6 para as cultivares Coodetec 214 e BRS 267, respectivamente e na condição de EN não variou significativamente para ambas cultivares (Tabela 3). Estes resultados estão de acordo com os observados por Yoshino et al. (1977) e Narayan et al. (1988a) que sugeriram que a diminuição da capacidade de absorção e retenção de água em sojas estocadas por longos períodos pode estar relacionada à perda de higroscopicidade das proteínas e carboidratos. A capacidade de absorção e retenção de água pela soja envelhecida e triturada está, em parte, relacionada à estrutura das principais frações protéicas 7S e 11S. Se a estrutura destas proteínas está mais agregada ou contraída conforme demonstrado por Hou e Chang (2004a; 2004b), há muitas interações intramoleculares na estrutura protéica e menor disponibilidade de grupos funcionais para ligar as moléculas de água.

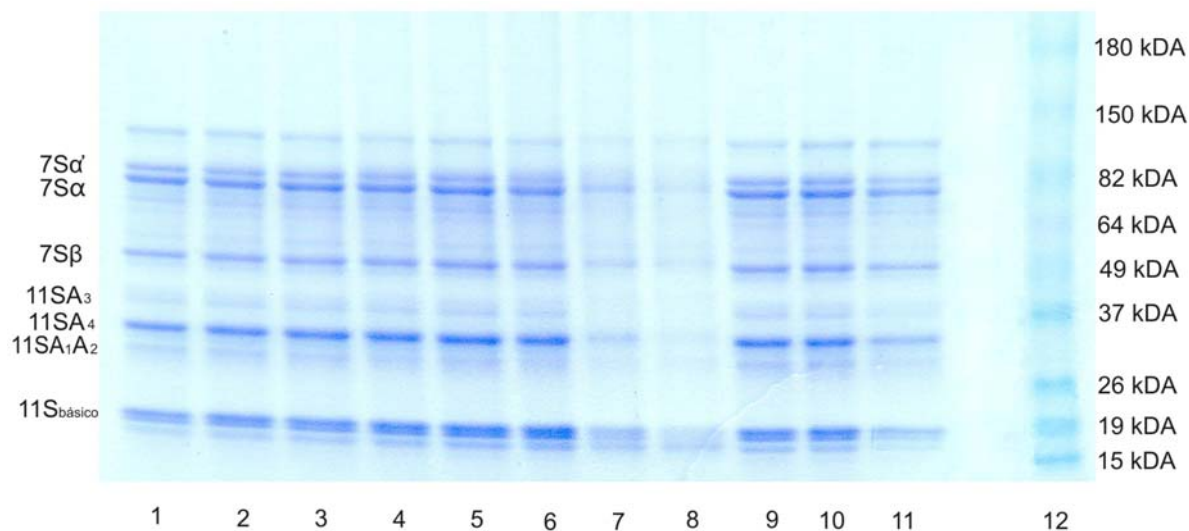
### 3.6 Eletroforese SDS-PAGE

Comparando-se o perfil eletroforético em SDS-PAGE das subunidades das frações protéicas das amostras controles (Figuras 6 e 7, lane 1) com aquelas de 3 e 7 meses de EA (Figuras 6 e 7, lane 2 a 6) e com as de 3, 12 e 18 meses de EN (Figuras 6 e 7, lane 9 a 11) verificou-se que não houve diferença. Entretanto para os tempos de 8 e 9 meses de EA (Figuras 6 e 7, lane 7 e 8) notou-se um decréscimo das frações protéicas 11S e 7S que pode estar relacionado a diminuição de suas solubilidades (Figuras 2 e 4) devido à possível desnaturação parcial. Liu et al. (2008) observaram a desnaturação da subunidade A<sub>3</sub> e B<sub>1</sub> a B<sub>5</sub> das frações protéicas 11S, a partir de 3 meses de armazenamento a 30°C e 88% UR, cujo resultados foram semelhantes aos obtidos por Hou e Chang (2004a; 2004b).

**Figura 6** - Eletroforese em gel de SDS-PAGE das proteínas de soja cultivar Coodetec 214 envelhecida. Lane 1 (controle), Lane 2 a 8 (3 a 9 meses de EA), Lane 9 a 11 (3, 12 e 18 meses de EN), Lane 12 (pool de proteínas com massa molecular padrão variando de 15 a 180 kDA). EA = envelhecimento acelerado (30 °C, 84% UR), EN = envelhecimento natural (variação no período = 17,3 a 24,5 °C e 59 a 93% UR) e Controle (-20 °C, 47% UR)



**Figura 7** - Eletroforese em gel de SDS-PAGE das proteínas de soja cultivar BRS 267 envelhecida. Lane 1 (controle), Lane 2 a 8 (3 a 9 meses de EA), Lane 9 a 11 (3, 12 e 18 meses de EN), Lane 12 (pool de proteínas com massa molecular padrão variando de 15 a 180 kDA). EA = envelhecimento acelerado (30 °C, 84% UR), EN = envelhecimento natural (variação no período = 17,3 a 24,5 °C e 59 a 93% UR) e Controle (-20 °C, 47% UR)



## CONCLUSÕES

O envelhecimento natural e acelerado dos grãos de soja, para ambas cultivares conduzem ao aumento de compostos fenólicos e acidez titulável, redução de lipídeos, pH, capacidade de absorção e retenção de água e solubilidade das proteínas.

## REFERÊNCIAS

- AOAC. 1995. *Official Methods of Analysis*, 16th ed. Association of Official Analytical Chemists International, Washington, D.C.
- BRADFORD, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein, dye binding. *Analytical Biochem.*, v. 72, p. 248-254.
- CARRÃO-PANIZZI, M.C., KWANYUENP, P., ERHAN, S.Z. and LOPES, I.O.N. 2008. Genetic variation and environmental effects on beta-conglycinin and glycinin content in Brazilian soybean cultivars. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 43, p. 1105-1114.

- CHEN, P.S., TORIBARA, I.T.Y. and WARNER, H. 1956. Phosphorus micro determination. *Anal. Chem.*, v. 28, p. 1756-1758.
- COELHO, S.R.M., PRUDÊNCIO, S.H., CHRIST, D. and SAMPAIO, S.C. 2011. Storage-induced Changes in protein interactions and protein solubility in common beans. *J. Food, Agric. & Environ.*, v. 9, p. 44-48.
- HOU, H.J. and CHANG, S.K.C. 1998. Yield and quality of soft tofu as affected by soybean physical damage and storage. *J. Agric. Food Chem.*, v. 46, p. 4798-4805.
- HOU, H.J. and CHANG, S.K.C. 2003. Yield and textural properties of tofu as affected by the changes of phytate content during soybean storage. *J. Food Sci.*, v. 68, p. 1185-1191.
- HOU, H.J. and CHANG, S.K.C. 2004a. Structural characteristics of purified glycinin from soybeans stored under various conditions. *J. Agric. Food Chem.*, v. 52, p. 3792-3800.
- HOU, H. J. and CHANG, S.K.C. 2004b. Structural characteristics of purified beta-conglycinin from soybeans stored under four conditions. *J. Agric. Food Chem.*, v. 52, p. 7931-7937.
- HOU, H.J. and CHANG, S.K.C. 2004c. Storage conditions affect soybean color, chemical composition and tofu qualities. *J. Food Proces. Presev.*, v. 28, p. 473-488.
- ISHIGURO, T.; ONO, T.; NAKASATO, K. 2008. The localization of phytate in tofu curd formation and effects of phytate on tofu texture. *J. of Food Sci.*, v. 73, n. 2, p. 67-71.
- KAMIZAKE, N.K.K., YAMASHITA, F. and PRUDENCIO, S.H. 2012. Physical alterations of soybean during accelerated and natural aging. *J. Agric. Food Chem.*
- KONG, E., CHANG, S.K.C., LIU, Z. and WILSON, L.A. 2008. Changes of Soybean Quality during Storage as Related to Soymilk and Tofu Making. *J. Food Sci.*, v. 73, p. 134-144.
- LAEMMLI, U. K. 1970. Cleavage of structural proteins during assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature.*, v. 227, p. 680-686.
- LIU, C., WANG, X., MA, H., ZHANG, Z., GAO, W., XIAO, L. 2008. Functional properties of protein isolates from soybeans stored under various conditions. *Food Chem.*, v. 111, p. 29-37.
- LOCHER, R. and BUCHELI, P. 1998. Comparison of soluble sugar degradation in soybean seed under simulated tropical storage conditions. *Crop Sci.*, n. 38, p. 1229-1235.

- MARTIN-CABREJAS, M. A., ESTEBAN, R. M., PEREZ, P., MAINA, G. and WALDRON, K.W. 1997. Changes physicochemical properties of dry beans (*Phaseolus vulgaris* L) during long-term storage. J. Agric. Food Chem., v. 45, p. 3223-3227.
- MURPHY, P.A., CHEN, H.P., HAUCK C.C. and Wilson, L.A. 1997. Soybean protein composition and tofu quality. Food Technol., v. 51, p. 86-87, p. 110.
- NARAYAN, R., CHAUHAN, G.S. and VERMA, N. S. 1988a. Changes in the Quality of Soybean During Storage. Part 1 – Effect of Storage on some Physico-chemical Properties of Soybean. Food Chem., v. 27, p. 13-23.
- NOZZOLILIO, C. and BEZADA, J. M. 1984. Browning of lentil seeds, concomitant loss of viability and the possible role of soluble tannins in both phenomenon. Can. J. Plant Sci., v. 64, p. 815- 824.
- OKEZIE, B. and BELLO, A. B. 1988. Physico-chemical and functional properties of winged beans flour and isolated compared with soy isolated. J. Food Sci., v. 53, n. 2, p. 450-454.
- PINTO, N. A. V. D., FERNANDES, S. M., PIRES, T. C., PEREIRA, R. G. F. A., CARVALHO, V. D. 2001. Avaliação dos polifenóis e açúcares em padrões de bebida do café torrado tipo expresso. Revista Brasileira de Agrociência., v. 7, n. 3, p. 193-195.
- REYES-MORENO, C. and PAREDES-LOPEZ, O. 1993. Hard-to-cook phenomenon in common beans - A review. Crit. Rev. Food Sci. Nutr., v. 33, n. 3, p. 227-286.
- SANTOS, C. M. R., MENEZES, N. L., VILLELA, F. A. 2005. Modificações fisiológicas e bioquímicas em sementes de feijão no armazenamento. Revista Brasileira de Sementes, v. 7, n. 1, p. 104-114.
- STATSOFT. 2004. *Statistica v 7.0 for Windows*. Tulsa: Inc. Software.
- SWAIN, T. and HILLIS, W. E. 1959. The phenolic constituents of *prumus domestica* L – The quantitative analysis of phenolic constituents. J. Sci. Food Agric., v. 10, n. 1, p. 63-68.
- THOMAS, R., deMAN, J.M. and deMan, L. 1989. Soymilk and tofu properties as influenced by soybean storage conditions. J. Am. Oil Chem. Soc., v. 66, p. 777-782.
- THOMPSON, D. B. and ERDMAN, J. W. Jr. 1982. Phytic acid determination in soybeans. J. Food Sci., v. 47, p. 513-517.
- YOSHINO, U., IWASAKI, Y., OKUNO, M. and OKUYAMA, T. 1977. Effect of storage conditions on soybean protein. J. Jap. So. Food Sci. Tech., v. 24, n. 10, p. 526-529.

### 5.3 ARTIGO CIENTÍFICO 3

## EFEITO DO ENVELHECIMENTO DA SOJA SOBRE A QUALIDADE DO EXTRATO DE SOJA, TOFU FIRME E CONCENTRAÇÃO ÓTIMA DO COAGULANTE

Neide Kiyoko Kondo Kamizake<sup>1</sup>; Lilian Catarini Pereira da Silva<sup>1</sup>; Sandra Helena Prudencio<sup>2\*</sup>

Periódico a ser submetido: Journal of Food Quality

### Resumo

Foi investigada a influencia do envelhecimento da soja (cultivares Coodetec 214 e BRS 267) sobre as propriedades físico-químicas de extratos de soja e tofus. Duas condições de envelhecimento foram empregadas: envelhecimento acelerado (EA), 84% UR e 30 °C, até 9 meses; envelhecimento natural (EN), temperatura e UR ambiente, até 18 meses e um controle (47% UR, -20 °C). Os tofus foram coagulados com MgSO<sub>4</sub>. A concentração ótima de coagulante (COC) diminuiu com aumento da temperatura de coagulação e tempo de envelhecimento da soja, e apresentou correlação positiva com conteúdo de sólidos totais, proteínas, cinzas, Ca, Mg e P dos extratos de soja. Nos produtos houve, de modo geral, redução dos parâmetros de cor (L\* e h°), proteínas, lipídios, carboidratos, cinzas, Ca, Mg, P e sólidos totais (exceto nos tofus) e firmeza (tofu) com aumento do tempo de envelhecimento. O rendimento dos tofus diminuiu com aumento do tempo de envelhecimento EA.

**Palavras chave:** Armazenamento. Sólidos totais. Proteínas. Textura. Coagulação.

### APLICAÇÕES PRÁTICAS

A qualidade do extrato de soja e do tofu dependem da conservação da soja pós-colheita. Geralmente, a soja é estocada em silos, sem controle de temperatura e umidade relativa. Entretanto, países de clima tropical, onde a temperatura e a umidade são elevadas (27 °C e 80% UR) a deterioração da soja é

---

<sup>1</sup> Departamento de Química, Universidade Estadual de Londrina, PR 445, Km 380, Campus universitário, Caixa postal 6001, CEP 86.051-990, Londrina. Fone: (43)3371-4811, Fax: (43)3371-4276. [kamizake@uel.br](mailto:kamizake@uel.br)

<sup>2\*</sup> Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Estadual de Londrina, PR 445, Km 380, Campus universitário, Caixa postal 6001, CEP 86.051-990, Londrina. Fone/Fax: (43)3371-4080, [sandrah@uel.br](mailto:sandrah@uel.br). Autor correspondente

acelerada. Os danos são evidenciados pelo escurecimento do grão, perda de sólidos durante a hidratação, redução de pH, sólidos totais e proteínas no extrato de soja. Na fabricação do tofu, a adição de excesso de coagulante provoca a elevada produção de soro e tofu com menor rendimento e qualidade de textura. Portanto, é importante a determinação da concentração ótima de coagulante (COC) e esse valor pode mudar em função do tempo de armazenamento, tendo em vista que a COC tem relação direta com a concentração de proteína no extrato de soja. O conhecimento sobre a COC pode contribuir com a qualidade do tofu preparado com soja envelhecida, minimizando os danos provenientes do envelhecimento da soja.

## 1 INTRODUÇÃO

O tofu e o extrato de soja são alimentos de soja amplamente consumidos no Oriente e estão tornando-se populares no Ocidente. A qualidade desses produtos depende, além do processo de fabricação, da cultivar e da qualidade dos grãos de soja, sendo que esta última está relacionada às condições de estocagem tais como tempo, temperatura e umidade relativa (Thomas et al., 1989; Murphy et al., 1997; Hou e Chang, 1998, 2004a, 2004b 2004c; Kong et al., 2008). Há diversos relatos sobre os prejuízos causados à qualidade de tofu e extrato aquoso devido à estocagem dos grãos de soja em condições adversas (tempo prolongado em alta temperatura e umidade relativa). A deterioração da qualidade destes produtos inclui principalmente o escurecimento, redução de sólidos totais, em especial de proteínas, diminuição do rendimento e da qualidade de textura do tofu. (Saio et al., 1980, Thomas et al., 1989, Hou e Chang, 1998, 2004a, 2004b, 2004c, Kong et al., 2008).

O processo de fabricação de tofu é complexo e envolve algumas etapas. A primeira etapa é a obtenção do extrato de soja, que também é um produto final para consumo. Neste caso, o preparo é realizado com algumas modificações, como a inativação de enzimas lipoxigenases, adição ou não de açúcar e aromas (Ciabotti et al., 2007).

A coagulação do extrato de soja é a etapa mais crítica para a obtenção de tofu de boa textura e rendimento. Os coagulantes empregados podem ser de ação lenta ( $\text{CaSO}_4$  e GDL ou glucano- $\delta$ -lactona) e de ação rápida ( $\text{CaCl}_2$ ,  $\text{MgCl}_2$  e  $\text{MgSO}_4$ ) e resultam em tofus macios ou soft (silken e filled) e firmes

(momen), respectivamente. A formação do coágulo envolve interações complexas entre as proteínas da soja, coagulantes e compostos não protéicos, tais como fitatos, lipídeos e carboidratos (Hou e Chang, 2003).

A quantidade de coagulante adicionada ao extrato de soja é um fator crítico para fabricação de tofu e afeta principalmente o rendimento e a textura do produto. A adição de uma quantidade maior que o ótimo leva a maior produção de soro e menor de tofu (Skurray et al. 1980). Além disso, o tofu resultante é mais duro e em casos extremos de adição muito maior que o ótimo, o tofu assemelha-se mais a um precipitado do que um gel (Liu e Chang, 2008). O conhecimento prévio da concentração ótima de coagulante (COC) é essencial, principalmente para coagulantes de ação rápida. Estudos já foram conduzidos para  $\text{CaCl}_2$  e  $\text{MgCl}_2$ , porém não existem relatos para o  $\text{MgSO}_4$  utilizado para o preparo de tofu firme, muito comum no Brasil. A COC pode ser determinada por um método titulométrico rápido desenvolvido por Liu e Chang (2003).

A COC depende do conteúdo de sólidos totais, especialmente de proteínas do extrato de soja, além de outras variáveis, como a temperatura, velocidade e tempo de agitação durante a coagulação (Liu e Chang, 2003, 2004, 2008). A COC para soja recém colhida pode não ser adequada para soja velha. Informações sobre o efeito das condições de armazenamento dos grãos sobre a COC para seus extratos são limitadas. Liu e Chang (2008) observaram decréscimo significativo da concentração ótima de  $\text{CaCl}_2$  e  $\text{MgCl}_2$  para extratos de sojas armazenadas sob diferentes atividades de água durante três meses a 30 °C.

Os objetivos deste estudo foram avaliar o efeito da temperatura de extrato de soja de grãos envelhecidos sobre a COC  $\text{MgSO}_4$ , determinar o efeito do envelhecimento de soja sobre a COC  $\text{MgSO}_4$  para preparo de tofus firmes, verificar a correlação entre a COC e as características físico-químicas dos extratos aquosos e determinar a qualidade dos tofus.

## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 Material**

As cultivares de soja, BRS 267 e Coodetec 214, estudadas foram produzidas na safra de 2009, na região norte do Paraná, Brasil. O anti-espumante comercial foi doado pela Prosabor (São Paulo – Brasil). O coagulante utilizado foi o  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  (marca Sigma). Todos os outros reagentes foram de grau analítico.

### **2.2 Armazenamento dos Grãos de Soja**

De acordo com estudos de Hou e Chang (2004a, 2004b, 2004c) três condições de armazenamento da soja foram aplicadas: envelhecimento acelerado (EA): 84% UR, 30°C durante nove meses; envelhecimento natural (EN): temperatura e UR ambiente (variação no período = 17,3 a 24,5 °C e 59 a 93% UR) durante 18 meses e controle: 47% UR e -20°C. Amostras de sojas armazenadas sob EA e EN foram retiradas em intervalos de um mês e de três meses, respectivamente, e armazenadas nas mesmas condições das amostras controle até realização das análises.

### **2.3 Preparação dos extratos de soja**

Os extratos foram preparados segundo Sun e Breene (1991). Os grãos foram lavados e hidratados em água destilada (1/5, m/v) durante 8 horas a temperatura ambiente. Em seguida foram drenados, enxaguados e triturados com água destilada (1/7, m/v) em liquidificador (Philips Walita, RI2034/01), velocidade média, durante 3 minutos. Adicionou-se 0,1% (v/v) de agente anti-espumante à massa que em seguida foi aquecida em panela de inox, sob constante agitação até atingir a fervura e mantida por mais 5 minutos sob aquecimento brando e agitação. O extrato foi separado do resíduo por meio de filtração em tecido (tunil 100 mesh).

## 2.4 Determinação da Concentração Ótima de Coagulante (COC) em Diferentes Temperaturas

A COC dos extratos em diferentes temperaturas (20, 30, 40, 50, 60, 70 e 80 °C) foi determinada por meio da titulação com solução de  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  a 20%, segundo a metodologia de Liu e Chang (2003) com algumas modificações. Para a titulação utilizou-se uma bureta com capacidade de 10 mL e graduação exata de 0,05 mL (marca Pyrex) conectada a uma bomba peristáltica (marca Pharmacia Biotech modelo pump P-1) e a solução coagulante foi adicionada ao extrato a uma velocidade constante de 1,0 mL/minuto. Durante a titulação, 60 mL de extrato (em béquer de 100 mL) foram mantidos na temperatura de estudo (usando um banho Maria) sob agitação constante de 300 rpm, para formação de redemoinho, com auxílio de um agitador magnético (marca Biomixer modelo 78HW-1) e barra magnética (10 mm de diâmetro e 30 mm de comprimento) recoberta com teflon. No exato momento em que desapareceu o redemoinho, a bomba foi desligada e feita à leitura do volume da solução do coagulante consumida (Y mL). A COC foi calculada substituindo os valores de Y na equação 1:

$$\text{COC (mM)} = 1000 \cdot \frac{Y}{60 + Y} \cdot \text{concentração molar da solução coagulante} \quad (\text{equação 1})$$

Para estudo do efeito da temperatura de coagulação dos extratos sobre a COC foram utilizadas as sojas armazenadas nas condições controle, EA 9 meses e EN 18 meses.

## 2.5 Preparação dos Tofus Firmes

A COC de  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  foi determinada utilizando-se a mesma metodologia descrita no item 2.4, porém mantendo-se a temperatura do extrato a 75°C. Esta medida foi realizada nos extratos das cultivares de sojas armazenadas em todos os tempos dos experimentos de EA e EN, além do controle.

Uma amostra de 550 mL de cada extrato a 75°C foi coagulada com a solução de  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  a 20%, cujo volume foi determinado de acordo com o valor da COC. A mistura do extrato e da solução coagulante foi feita sob agitação manual durante 10 s, e para completar a coagulação a temperatura foi mantida a 75

°C em banho-maria durante 20 minutos para completar a coagulação. O material coagulado foi transferido para uma forma de plástico (8,0 x 8,0 x 10,0 cm), forrada com tecido tunil e drenado durante uma hora sob pressão de 20 g/cm<sup>2</sup>. A seguir o tofu foi imerso em água e mantido a 4°C durante uma noite para posterior análise.

## 2.6 Determinação de Rendimento de Tofu

O rendimento de tofu foi calculado por meio da equação 2 e expresso como g tofu/ 100 g de soja crua (Hou e Chang, 2004c).

$$\text{Rendimento (\%)} = \frac{M_1 \cdot V_1}{M_2 \cdot V_2} \cdot 100 \quad (\text{equação 2})$$

Onde:  $M_1$  = massa do tofu

$M_2$  = massa dos grãos de soja

$V_1$  = volume total do extrato

$V_2$  = volume parcial do extrato

## 2.7 Determinação da Composição Química dos Extratos de soja e dos Tofus

O conteúdo de sólidos totais foi determinado por meio da secagem de 30g de amostra em liofilizador (Edwards, Pirani 501). Os conteúdos de umidade, proteínas, lipídeos, cinzas e minerais foram determinados nas amostras utilizando-se os métodos padrão da AOAC (1995). O conteúdo de carboidratos foi calculado por diferença. As medidas foram feitas em duplicatas para cada repetição do experimento. Os resultados da composição centesimal foram expressos em gramas por 100 g de amostra. Os teores de minerais foram expressos em miligramas por gramas de amostras nos extratos e tofus.

## 2.8 Determinação da Cor dos Extratos de soja e Tofus

Os parâmetros de cor foram determinados em colorímetro (Konica Minolta, CR 400/410, Japão). O extrato de soja foi colocado em cubeta de vidro e a leitura foi realizada diretamente sobre a sua superfície (acessório CR – A103). Os

tofus foram cortados por meio de um cortador cilíndrico, retirando-se as camadas externas e a leitura foi realizada diretamente sobre a superfície do produto. As leituras foram realizadas após a calibração do aparelho com o padrão branco. Para os extratos de soja foram feitas duas medidas de cor para cada repetição, enquanto que para os tofus foram feitas três medidas para cada repetição do experimento. O colorímetro forneceu diretamente os parâmetros  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$  e calculou-se a tonalidade cromática ( $h^\circ = \arctan(b^*/a^*)$ ).

## **2.9 Determinação da Firmeza dos Tofus**

A firmeza dos tofus foi determinada em texturômetro (Texture Analyser, TA-XT2i, Inglaterra). Amostras cilíndricas (3,0 cm de diâmetro e 2,2 cm de altura) de tofus foram comprimidas até 73% de deformação com cilindro de alumínio de 35 mm de diâmetro (P35) e velocidade de 2,0 mm/s (Rosset, 2007). Foram realizadas três medidas para cada repetição do experimento e os resultados foram expressos em Newton (N).

## **2.10 Delineamento Experimental e Análise Estatística**

Foram conduzidos quatro experimentos conforme delineamento inteiramente casualizado, um para cada cultivar em cada condição de envelhecimento (Coodetec 214-EA, Coodetec 214-EN, BRS 267-EA e BRS 267-EN), tendo a condição controle como tempo zero. Cada experimento foi repetido duas vezes, onde os tratamentos foram os tempos de armazenamento. Os resultados foram tratados por ANOVA e teste de comparação de médias de Tukey, utilizando o programa STATISCA versão 7.0 (Statsoft, 2004). A correlação entre as variáveis foi medida pela correlação de Pearson, cuja significância foi determinada pelo teste “t”. O nível de significância adotado foi igual ou menor que 5%.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 Características Físicas e Químicas de Extratos de Sojas Envelhecidas

Constatou-se uma diminuição dos parâmetros de cor  $L^*$  e  $h^\circ$  (Tabela 1 e 2) que indica, respectivamente, o escurecimento e a mudança da tonalidade da cor amarela para vermelha dos extratos de soja em função do tempo e condições de EA e EN.

O escurecimento dos extratos está relacionado ao escurecimento dos grãos durante o envelhecimento devido a reações não enzimáticas e enzimáticas (Hou e Chang, 1998, 2004c). O escurecimento não enzimático envolve a reação entre os aminoácidos e os açúcares redutores, enquanto que o enzimático está relacionado à oxidação de ácidos fenólicos pela ação de polifenoloxidase com formação de polifenóis de elevada massa molecular (Nozzolilo e Bezada, 1984). As reações levam a formação de compostos escuros (melaninas, melanoidinas e polifenóis) que são extraídos nos produtos.

Ademais, verificou-se também a redução dos conteúdos de sólidos totais, proteínas, lipídeos, carboidratos, cinza, cálcio, magnésio e fósforo com o envelhecimento (Tabelas 1 e 2). Estes resultados concordaram com aqueles observados por Thomas et al. (1989), Liu e Chang (2004; 2008) e Kong et al. (2008). Durante o armazenamento, a temperatura e UR elevadas causam danos nos tegumentos dos grãos e ativam as enzimas envolvidas na respiração, provocando a peroxidação dos fosfolipídeos das membranas e causando a perda da compartimentalização dos constituintes celulares (Trawatha et al. 1995, Santos et al. 2005), assim há o desencadeamento de uma série de reações químicas como a possível hidrólise e oxidação de lipídeos, aumento da acidez (Thomas et al., 1989, Kong et al., 2008) e desnaturação de proteínas (Hou e Chang, 2004a, 2004b). Estes eventos podem ser responsáveis pela diminuição de extração de sólidos totais e em especial das proteínas.

**Tabela 1 - Características físicas e químicas do extrato de soja Coodetec 214 em função das condições de armazenamento**

Armazenamento	Tempo	L*	h°	Sólidos	Proteínas	Lipídeos	Carboidratos	Cinzas	Minerais (mg/g)		
				Totais					Ca	Mg	P
Condições	(mês)			(%)	(%)	(%)	(%)	(%)			
C	0	48,7 <sup>a</sup> ± 0,2	93,6 <sup>a</sup> ± 0,5	9,4 <sup>a</sup> ± 0,2	3,5 <sup>a</sup> ± 0,1	3,1 <sup>a</sup> ± 0,1	2,4 <sup>ab</sup> ± 0,1	0,51 <sup>a</sup> ± 0,01	0,28 <sup>a</sup> ± 0,02	0,26 <sup>a</sup> ± 0,02	1,02 <sup>a</sup> ± 0,02
EA	1	48,3 <sup>ab</sup> ± 0,1	92,9 <sup>a</sup> ± 0,9	9,1 <sup>ab</sup> ± 0,1	3,3 <sup>ab</sup> ± 0,2	2,8 <sup>b</sup> ± 0,1	2,7 <sup>a</sup> ± 0,1	0,47 <sup>b</sup> ± 0,00	0,26 <sup>a</sup> ± 0,03	0,23 <sup>b</sup> ± 0,01	0,93 <sup>b</sup> ± 0,03
	2	47,9 <sup>ab</sup> ± 0,4	91,5 <sup>b</sup> ± 0,6	8,8 <sup>bc</sup> ± 0,1	3,3 <sup>ab</sup> ± 0,0	2,6 <sup>bc</sup> ± 0,1	2,8 <sup>a</sup> ± 0,2	0,36 <sup>c</sup> ± 0,01	0,25 <sup>a</sup> ± 0,03	0,21 <sup>ab</sup> ± 0,01	0,88 <sup>bc</sup> ± 0,02
	3	47,6 <sup>bc</sup> ± 0,3	90,4 <sup>bc</sup> ± 0,4	8,5 <sup>cd</sup> ± 0,1	3,1 <sup>b</sup> ± 0,1	2,6 <sup>bcd</sup> ± 0,1	2,6 <sup>ab</sup> ± 0,1	0,32 <sup>d</sup> ± 0,00	0,19 <sup>b</sup> ± 0,01	0,19 <sup>cd</sup> ± 0,01	0,88 <sup>bc</sup> ± 0,04
	4	46,9 <sup>cd</sup> ± 0,4	89,2 <sup>cd</sup> ± 0,4	8,3 <sup>de</sup> ± 0,1	3,2 <sup>b</sup> ± 0,0	2,5 <sup>cd</sup> ± 0,1	2,6 <sup>ab</sup> ± 0,2	0,30 <sup>de</sup> ± 0,00	0,20 <sup>b</sup> ± 0,01	0,18 <sup>d</sup> ± 0,01	0,83 <sup>c</sup> ± 0,01
	5	46,6 <sup>cde</sup> ± 0,3	87,9 <sup>d</sup> ± 0,4	7,9 <sup>ef</sup> ± 0,1	3,0 <sup>b</sup> ± 0,0	2,3 <sup>d</sup> ± 0,1	2,6 <sup>ab</sup> ± 0,1	0,28 <sup>e</sup> ± 0,01	0,18 <sup>b</sup> ± 0,01	0,16 <sup>e</sup> ± 0,00	0,77 <sup>d</sup> ± 0,03
	6	46,3 <sup>de</sup> ± 0,4	86,3 <sup>e</sup> ± 0,3	7,6 <sup>f</sup> ± 0,2	2,6 <sup>c</sup> ± 0,1	2,0 <sup>e</sup> ± 0,2	2,4 <sup>ab</sup> ± 0,2	0,24 <sup>f</sup> ± 0,02	0,13 <sup>c</sup> ± 0,01	0,12 <sup>f</sup> ± 0,01	0,64 <sup>e</sup> ± 0,06
	7	45,8 <sup>e</sup> ± 0,6	85,2 <sup>ef</sup> ± 0,5	7,6 <sup>f</sup> ± 0,2	2,3 <sup>c</sup> ± 0,1	1,7 <sup>f</sup> ± 0,1	2,3 <sup>b</sup> ± 0,1	0,23 <sup>f</sup> ± 0,01	0,14 <sup>c</sup> ± 0,00	0,11 <sup>f</sup> ± 0,00	0,59 <sup>e</sup> ± 0,06
	8	44,5 <sup>f</sup> ± 0,6	83,9 <sup>f</sup> ± 0,3	6,0 <sup>g</sup> ± 0,2	1,7 <sup>d</sup> ± 0,0	1,2 <sup>g</sup> ± 0,0	1,6 <sup>c</sup> ± 0,1	0,17 <sup>g</sup> ± 0,01	0,10 <sup>cd</sup> ± 0,01	0,08 <sup>g</sup> ± 0,00	0,46 <sup>f</sup> ± 0,03
	9	42,6 <sup>g</sup> ± 0,6	81,9 <sup>g</sup> ± 0,7	4,7 <sup>h</sup> ± 0,3	1,2 <sup>e</sup> ± 0,2	0,8 <sup>h</sup> ± 0,1	1,3 <sup>c</sup> ± 0,1	0,15 <sup>g</sup> ± 0,02	0,07 <sup>d</sup> ± 0,01	0,06 <sup>g</sup> ± 0,00	0,39 <sup>f</sup> ± 0,04
C	0	48,7 <sup>a</sup> ± 0,2	93,6 <sup>a</sup> ± 0,5	9,4 <sup>a</sup> ± 0,2	3,5 <sup>a</sup> ± 0,1	3,1 <sup>a</sup> ± 0,1	2,4 <sup>b</sup> ± 0,1	0,51 <sup>a</sup> ± 0,01	0,28 <sup>a</sup> ± 0,02	0,26 <sup>a</sup> ± 0,02	1,02 <sup>a</sup> ± 0,02
EN	3	47,8 <sup>b</sup> ± 0,4	92,4 <sup>b</sup> ± 0,7	9,0 <sup>b</sup> ± 0,2	3,4 <sup>ab</sup> ± 0,2	2,3 <sup>b</sup> ± 0,1	3,0 <sup>a</sup> ± 0,4	0,46 <sup>bc</sup> ± 0,01	0,27 <sup>ab</sup> ± 0,02	0,22 <sup>bc</sup> ± 0,01	1,00 <sup>a</sup> ± 0,03
	6	47,5 <sup>dc</sup> ± 0,6	91,1 <sup>c</sup> ± 0,7	8,8 <sup>bc</sup> ± 0,1	3,4 <sup>a</sup> ± 0,1	2,3 <sup>b</sup> ± 0,1	2,9 <sup>ab</sup> ± 0,2	0,48 <sup>ab</sup> ± 0,00	0,25 <sup>abc</sup> ± 0,02	0,23 <sup>ab</sup> ± 0,02	0,98 <sup>ab</sup> ± 0,03
	9	47,1 <sup>bc</sup> ± 0,2	90,0 <sup>cd</sup> ± 0,3	8,6 <sup>cd</sup> ± 0,1	3,2 <sup>abc</sup> ± 0,2	2,3 <sup>b</sup> ± 0,1	2,9 <sup>ab</sup> ± 0,3	0,44 <sup>cd</sup> ± 0,00	0,23 <sup>cd</sup> ± 0,01	0,22 <sup>bcd</sup> ± 0,02	0,91 <sup>bc</sup> ± 0,03
	12	47,5 <sup>bc</sup> ± 0,5	90,0 <sup>cd</sup> ± 0,3	8,5 <sup>de</sup> ± 0,0	3,0 <sup>bc</sup> ± 0,2	2,0 <sup>c</sup> ± 0,1	3,1 <sup>a</sup> ± 0,3	0,44 <sup>cd</sup> ± 0,02	0,24 <sup>bc</sup> ± 0,02	0,19 <sup>cd</sup> ± 0,01	0,85 <sup>cd</sup> ± 0,03
	18	46,8 <sup>c</sup> ± 0,2	89,1 <sup>d</sup> ± 0,4	8,4 <sup>e</sup> ± 0,0	3,0 <sup>c</sup> ± 0,2	2,0 <sup>c</sup> ± 0,1	3,1 <sup>a</sup> ± 0,2	0,42 <sup>d</sup> ± 0,01	0,21 <sup>d</sup> ± 0,02	0,19 <sup>d</sup> ± 0,01	0,84 <sup>d</sup> ± 0,04

Os valores de proteínas, lipídeos, carboidratos, cinza e minerais foram calculados em base seca

Valores médios de duas determinações em cada repetição ± desvio padrão

Médias na coluna, acompanhadas de letras diferentes, para cada tratamento, diferem significativamente ( $p \leq 0,05$ )

C = Controle (tempo zero de armazenamento): -20 °C e 47% UR

EA = Envelhecimento acelerado: 30 °C e 84% UR

EN = Envelhecimento natural: temperatura e UR ambiente (variação no período = 17,3 a 24,5 °C e 59 a 93% UR)

L\* (luminosidade): 0= preto, 100= branco

h° (tonalidade cromática):  $\arctan(b^*/a^*)$ , 0°= vermelho puro, 90°= amarelo puro, 180°= verde puro, 270°= azul puro

**Tabela 2 - Características físicas e químicas do extrato de soja BRS 267 em função das condições de armazenamento**

Armazenamento	Tempo	L*	h°	Sólidos totais	Proteínas	Lipídeos	Carboidratos	Cinzas	Minerais (mg%)		
									Condições	(mês)	(%)
C	0	47,8 <sup>a</sup> ± 0,2	92,0 <sup>a</sup> ±0,4	9,6 <sup>a</sup> ±0,4	4,0 <sup>a</sup> ±0,2	2,3 <sup>a</sup> ±0,1	2,7 <sup>a</sup> ±0,4	0,58 <sup>a</sup> ±0,04	0,29 <sup>ab</sup> ±0,01	0,13 <sup>ab</sup> ±0,01	1,33 <sup>a</sup> ±0,03
EA	1	47,3 <sup>ab</sup> ± 0,4	90,7 <sup>ab</sup> ±0,3	9,2 <sup>ab</sup> ±0,2	3,8 <sup>a</sup> ±0,1	2,1 <sup>ab</sup> ±0,1	3,0 <sup>ab</sup> ±0,2	0,51 <sup>b</sup> ±0,01	0,31 <sup>a</sup> ±0,01	0,13 <sup>a</sup> ±0,00	1,31 <sup>a</sup> ±0,01
	2	46,7 <sup>bcd</sup> ±0,4	89,9 <sup>bc</sup> ±0,5	8,9 <sup>bc</sup> ±0,2	3,9 <sup>a</sup> ±0,2	2,1 <sup>ab</sup> ±0,0	2,7 <sup>b</sup> ±0,0	0,47 <sup>bc</sup> ±0,01	0,30 <sup>a</sup> ±0,01	0,13 <sup>ab</sup> ±0,01	1,29 <sup>a</sup> ±0,02
	3	46,6 <sup>bc</sup> ± 0,4	89,2 <sup>cd</sup> ±0,2	8,8 <sup>bc</sup> ±0,4	3,8 <sup>a</sup> ±0,1	2,1 <sup>ab</sup> ±0,0	2,9 <sup>ab</sup> ±0,3	0,43 <sup>cd</sup> ±0,01	0,30 <sup>a</sup> ±0,02	0,12 <sup>ab</sup> ±0,00	1,27 <sup>a</sup> ±0,04
	4	46,6 <sup>cd</sup> ± 0,2	88,2 <sup>de</sup> ±0,4	8,7 <sup>bc</sup> ±0,3	3,6 <sup>a</sup> ±0,1	2,0 <sup>b</sup> ±0,2	2,9 <sup>ab</sup> ±0,4	0,40 <sup>de</sup> ±0,02	0,29 <sup>abc</sup> ±0,01	0,12 <sup>b</sup> ±0,01	1,25 <sup>a</sup> ±0,05
	5	45,9 <sup>de</sup> ± 0,1	86,8 <sup>ef</sup> ±0,3	8,5 <sup>c</sup> ±0,2	3,2 <sup>b</sup> ±0,3	1,8 <sup>b</sup> ±0,2	2,8 <sup>ab</sup> ±0,6	0,36 <sup>e</sup> ±0,01	0,26 <sup>c</sup> ±0,01	0,10 <sup>c</sup> ±0,00	1,10 <sup>b</sup> ±0,04
	6	45,6 <sup>e</sup> ± 0,3	85,9 <sup>f</sup> ±0,4	8,5 <sup>c</sup> ±0,3	3,0 <sup>bc</sup> ±0,2	1,4 <sup>c</sup> ±0,1	3,5 <sup>a</sup> ±0,4	0,36 <sup>e</sup> ±0,03	0,27 <sup>bc</sup> ±0,01	0,10 <sup>c</sup> ±0,00	1,10 <sup>b</sup> ±0,03
	7	44,5 <sup>f</sup> ± 0,2	84,4 <sup>h</sup> ±0,5	7,7 <sup>d</sup> ±0,2	2,7 <sup>c</sup> ±0,3	1,2 <sup>c</sup> ±0,2	2,7 <sup>b</sup> ±0,0	0,30 <sup>f</sup> ±0,02	0,23 <sup>d</sup> ±0,01	0,08 <sup>d</sup> ±0,00	0,94 <sup>c</sup> ±0,04
	8	41,6 <sup>g</sup> ± 0,4	81,9 <sup>g</sup> ±0,7	4,7 <sup>e</sup> ±0,0	1,7 <sup>d</sup> ±0,3	0,8 <sup>d</sup> ±0,1	1,7 <sup>c</sup> ±0,4	0,21 <sup>g</sup> ±0,03	0,14 <sup>e</sup> ±0,01	0,05 <sup>e</sup> ±0,00	0,71 <sup>d</sup> ±0,05
	9	39,6 <sup>h</sup> ± 0,4	80,8 <sup>g</sup> ±1,5	4,3 <sup>e</sup> ±0,3	1,2 <sup>e</sup> ±0,2	0,6 <sup>d</sup> ±0,0	1,1 <sup>c</sup> ±0,3	0,15 <sup>h</sup> ±0,01	0,10 <sup>f</sup> ±0,01	0,04 <sup>f</sup> ±0,00	0,55 <sup>e</sup> ±0,05
C	0	47,8 <sup>a</sup> ± 0,2	92,0 <sup>a</sup> ±0,4	9,6 <sup>a</sup> ±0,4	4,0 <sup>a</sup> ±0,2	2,3 <sup>a</sup> ±0,1	2,7 <sup>a</sup> ±0,1	0,58 <sup>a</sup> ±0,04	0,29 <sup>ab</sup> ±0,01	0,13 <sup>a</sup> ±0,01	1,33 <sup>a</sup> ±0,03
EN	3	47,8 <sup>a</sup> ± 0,1	91,2 <sup>b</sup> ±0,2	9,1 <sup>b</sup> ±0,0	3,9 <sup>ab</sup> ±0,1	2,0 <sup>bcd</sup> ±0,1	2,7 <sup>a</sup> ±0,2	0,50 <sup>b</sup> ±0,04	0,30 <sup>ab</sup> ±0,02	0,12 <sup>ab</sup> ±0,00	1,15 <sup>bcd</sup> ±0,02
	6	48,0 <sup>a</sup> ± 0,3	90,0 <sup>c</sup> ±0,3	8,8 <sup>bc</sup> ±0,1	3,8 <sup>ab</sup> ±0,3	2,2 <sup>ab</sup> ±0,1	2,5 <sup>a</sup> ±0,2	0,50 <sup>b</sup> ±0,02	0,31 <sup>a</sup> ±0,01	0,12 <sup>b</sup> ±0,00	1,20 <sup>b</sup> ±0,04
	9	47,5 <sup>ab</sup> ± 0,7	89,5 <sup>cd</sup> ±0,3	8,6 <sup>cd</sup> ±0,0	3,8 <sup>ab</sup> ±0,2	2,1 <sup>bc</sup> ±0,2	2,4 <sup>a</sup> ±0,3	0,47 <sup>bc</sup> ±0,03	0,28 <sup>abc</sup> ±0,02	0,11 <sup>bc</sup> ±0,01	1,10 <sup>cd</sup> ±0,06
	12	47,0 <sup>ab</sup> ± 0,1	89,2 <sup>de</sup> ±0,3	8,5 <sup>cd</sup> ±0,0	3,7 <sup>b</sup> ±0,1	2,0 <sup>cd</sup> ±0,1	2,6 <sup>a</sup> ±0,3	0,45 <sup>bc</sup> ±0,01	0,26 <sup>c</sup> ±0,01	0,11 <sup>c</sup> ±0,01	1,07 <sup>d</sup> ±0,05
	18	46,4 <sup>b</sup> ± 0,1	88,5 <sup>e</sup> ±0,4	8,4 <sup>d</sup> ±0,1	3,5 <sup>ab</sup> ±0,2	1,9 <sup>d</sup> ±0,1	2,5 <sup>a</sup> ±0,2	0,44 <sup>c</sup> ±0,02	0,27 <sup>bc</sup> ±0,01	0,10 <sup>c</sup> ±0,00	1,17 <sup>bc</sup> ±0,05

Os valores de proteínas, lipídeos, carboidratos, cinza e minerais foram calculados em base seca

Valores médios de duas determinações em cada repetição ± desvio padrão

Médias na coluna, acompanhadas de letras diferentes, para cada tratamento, diferem significativamente ( $p \leq 0,05$ )

C = Controle (tempo zero de armazenamento): -20 °C e 47% UR

EA = Envelhecimento acelerado: 30 °C e 84% UR

EN = Envelhecimento natural: temperatura e UR ambiente (variação no período = 17,3 a 24,5 °C e 59 a 93% UR)

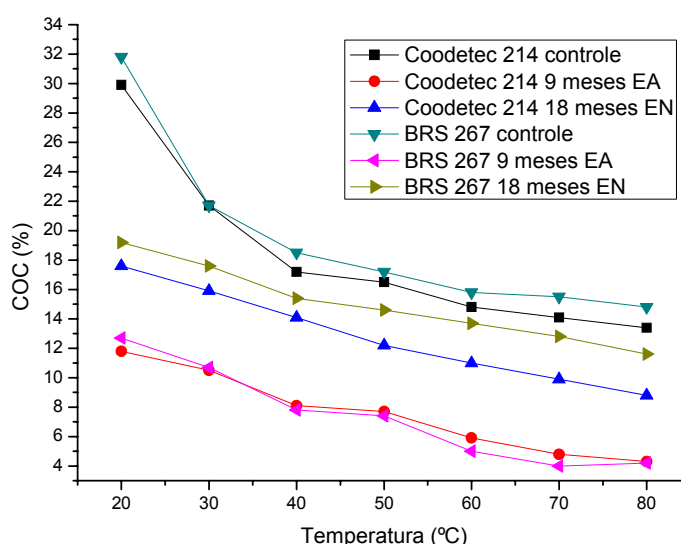
L\* (luminosidade): 0= preto, 100= branco

h° (tonalidade cromática):  $\arctan(b^*/a^*)$ , 0°= vermelho puro, 90°= amarelo puro, 180°= verde puro, 270°= azul puro

### 3.2 Efeito da Temperatura de Coagulação dos Extratos e das Condições de Armazenamento da Soja Sobre a COC

Observou-se que o valor de COC decresceu em função do aumento do tempo de envelhecimento e da temperatura de coagulação do extrato de soja (Figura 1). A redução da COC, provavelmente se deve ao menor conteúdo de proteínas no extrato conforme o aumento do tempo de armazenamento dos grãos. Além da menor extração, as proteínas presentes no extrato podem apresentar alguns radicais carboxílicos protonados, devido ao aumento de ácidos orgânicos nos grãos envelhecidos, reduzindo o número de cargas negativas disponíveis para ligação com os cátions do coagulante (Kroll, 1984; Liu e Chang, 2008). Já o aumento da temperatura do extrato de soja induz a uma maior constante de velocidade de coagulação e conseqüentemente diminuiu a quantidade de coagulante (Liu e Chang, 2003).

**Figura 1** - Concentração ótima do coagulante (COC) em função da temperatura de coagulação do extrato de soja obtido de soja Coodetec 214 e BRS 267 armazenadas a  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$  e 47% UR (controle), a  $30\text{ }^{\circ}\text{C}$  e 84% UR, 9 meses (EA = envelhecimento acelerado), e a temperatura e UR ambiente, 18 meses (EN = envelhecimento natural)



Portanto, para extratos tratados com temperaturas mais elevadas ( $70^{\circ}\text{C}$ ) a velocidade de coagulação é maior e necessita menor COC, formando

coágulos maiores que são característicos de tofus firmes. Enquanto que para o preparo de tofu filled, obtido a partir de uma coagulação mais lenta e com elevação gradual de temperatura de coagulação de 20°C até atingir 80°C, possivelmente há necessidade de maior COC.

### 3.3 Tofu firme de Sojas Envelhecidas

#### 3.3.1 Concentração ótima de coagulante para preparo tofus a partir de extratos de sojas envelhecidas

Os valores de COC para coagulação a 75 °C dos extratos obtidos de sojas armazenadas em diferentes tempos nas condições EA e EN estão apresentados na Tabela 3.

**Tabela 3** - Concentração ótima de coagulante dos extratos de soja a 75 °C de soja Coodetec 214 e BRS 267 em função das condições de armazenamento

Armazenamento Condições	Tempo (mês)	COC (mM)	
		Coodetec 214	BRS 267
C EA	0	14,1 <sup>a</sup> ±0,4	15,4 <sup>a</sup> ±0,4
	1	12,7 <sup>b</sup> ±0,1	14,7 <sup>ab</sup> ±0,7
	2	11,6 <sup>bcd</sup> ±0,3	13,7 <sup>bcd</sup> ±0,7
	3	10,9 <sup>bcd</sup> ±0,2	13,5 <sup>bcd</sup> ±0,2
	4	10,2 <sup>efg</sup> ±0,2	13,2 <sup>de</sup> ±0,5
	5	8,9 <sup>h</sup> ±0,1	12,6 <sup>ef</sup> ±0,3
	6	9,0 <sup>gh</sup> ±0,4	11,5 <sup>f</sup> ±0,5
	7	7,1 <sup>i</sup> ±0,4	8,2 <sup>g</sup> ±0,5
	8	6,3 <sup>i</sup> ±0,5	6,0 <sup>h</sup> ±0,3
C EN	0	14,1 <sup>a</sup> ±0,4	15,4 <sup>a</sup> ±0,4
	3	12,7 <sup>b</sup> ±0,4	14,5 <sup>abc</sup> ±0,2
	6	12,2 <sup>bc</sup> ±1,0	13,9 <sup>bcd</sup> ±0,4
	9	11,3 <sup>cde</sup> ±0,6	13,4 <sup>cde</sup> ±0,5
	12	10,5 <sup>def</sup> ±0,6	13,5 <sup>cde</sup> ±0,5
	18	9,8 <sup>fgh</sup> ±0,4	12,8 <sup>de</sup> ±0,8

Valores médios de duas determinações em cada repetição ± desvio padrão

Médias na coluna, acompanhadas de letras diferentes, para cada tratamento, diferem significativamente ( $p \leq 0,05$ )

C = Controle (tempo zero de armazenamento): -20 °C e 47% UR

EA = Envelhecimento acelerado: 30 °C e 84% UR

EN = Envelhecimento natural: temperatura e UR ambiente (variação no período = 17,3 a 24,5 °C e 59 a 93% UR)

Houve diminuição das COC em função do tempo e das condições de envelhecimento, provavelmente devido à redução da extração de sólidos totais, especialmente proteínas (Tabelas 1 e 2), conforme observado por Liu e Chang (2008) para extratos de soja envelhecida a 30 °C, durante três meses e atividade de água da soja variando entre 0,60 a 0,80.

### 3.3.2 Correlação Entre COC e Composição Química dos Extratos de Soja

As correlações entre as COC e os componentes químicos dos extratos de sojas armazenadas nas condições EA e EN estão apresentadas na Tabela 4. Os sólidos totais correlacionaram-se positivamente com a COC para ambas cultivares e condições de armazenamento, estes resultados foram semelhantes aos observados por Liu e Chang (2003). Entretanto, Liu e Chang (2004) não encontraram correlação entre conteúdo de sólidos e COC em extratos de soja obtidos de 37 cultivares de soja com diferentes tempos de pós colheita.

**Tabela 4** - Correlação entre COC e componentes químicos dos extratos de soja e características físicas dos tofus formulados a partir de cultivares de soja Coodetec 214 e BRS 267 armazenadas sob condições de EA e EN

Composição química	COC (extrato de soja)			
	Coodetec 214		BRS 267	
	EA	EN	EA	EN
Sólidos totais	0,93**	0,90**	0,94**	0,79**
Proteínas	0,92**	0,64**	0,96**	0,39
Cinzas	0,96**	0,81**	0,94**	0,75**
Cálcio	0,93**	0,77**	0,94**	0,40
Magnésio	0,97**	0,81**	0,96**	0,80**
Fósforo	0,96**	0,83**	0,97**	0,61**

Características físicas	COC (Tofu)			
	Coodetec 214		BRS 267	
	EA	EN	EA	EN
Rendimento	0,81**	0,01	0,91**	-0,34
Firmeza	0,87**	0,73**	0,91**	0,73**

<sup>a</sup>\*, significância para  $p < 0,05$ ; \*\*, significância para  $p < 0,01$

EA = Envelhecimento acelerado: 30°C e 84% UR

EN = Envelhecimento natural: temperatura e UR ambiente

COC = concentração ótima de coagulante  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  20%

A correlação positiva entre a COC e o conteúdo de proteínas no extrato (exceção cultivar BRS 267, EN) encontrada está de acordo com Ohara et al. (1992), porém Skurray et al. (1980) observaram o oposto. Liu e Chang (2004) encontraram correlação negativa quando estudaram extratos de soja de várias cultivares de soja com diferentes tempos pós colheita, mas quando avaliaram uma série de extratos com diferentes concentrações de proteínas preparados a partir de material específico de soja, observaram aumento da COC  $\text{CaCl}_2$  com o aumento do conteúdo de proteína.

A COC correlacionou-se positivamente com os conteúdos de cinza, cálcio, magnésio e fósforo nos extratos de soja para ambas cultivares e condições de armazenamento, com exceção do cálcio na cultivar BRS 267 na condição EN. Liu e Chang (2004) verificaram que não houve correlação entre as COC de  $\text{CaCl}_2$  e  $\text{MgCl}_2$  e o teor de cinza de extratos de 37 cultivares de soja envelhecidas em condições não padronizadas. No mesmo estudo, Liu e Chang (2004) encontraram correlação negativa entre teor de cálcio do extrato de soja e a COC, mas não encontraram correlação com o conteúdo de magnésio do extrato e a justificativa foi que o íon  $\text{Ca}^{2+}$  é efetivo para reagir com a proteína durante a coagulação do extrato enquanto que a maioria dos íons  $\text{Mg}^{2+}$  poderia não estar na forma de íon livre. Hou e Chang (2003) observaram decréscimo de P fítico em grãos de soja armazenados a 30 °C e 84% UR e relataram a diminuição da COC devido à degradação do fitato, uma vez que, este se complexa aos íons cálcio.

Para cultivar BRS 267 na condição de EN a COC não correlacionou com as proteínas e cálcio do extrato aquoso, possivelmente porque estes componentes não apresentaram alterações suficientes para influenciar a COC.

De forma geral, com o envelhecimento dos grãos há menor extração de sólidos, em especial de proteína, principal componente do extrato e tofu, reduzindo assim a quantidade ótima de coagulante necessária para atingir a coagulação completa.

### **3.3.3 Características físicas e químicas de tofus firmes de soja envelhecidas**

As características físicas e químicas dos tofus firmes obtidos a partir das cultivares de soja Coodetec 214 e BRS 267 nas condições EA e EN estão apresentadas nas Tabelas 5 e 6, respectivamente.

Considerando que os tofus foram produzidos a partir dos extratos de sojas, cuja composição e cor estão apresentadas nas Tabelas 1 e 2, variações semelhantes foram observadas nos tofus, exceto para sólidos totais, que não variou, e carboidratos que aumentaram com o tempo de envelhecimento (Tabela 5). Diferente de Hou e Chang (2003) que relataram aumento de sólidos em tofus formulados a partir de sojas armazenadas durante 6 e 7 meses a 30°C e 84% UR. Esta divergência pode ser justificada pela técnica diferente de processamento dos tofus em ambos os estudos. O aumento de carboidratos se deve a possível reação de glicosilação dos açúcares com as frações protéicas 11S e 7S com o envelhecimento da soja, as quais são facilmente extraídas, conforme foi relatado por Hou e Chang (2004a e 2004c).

O rendimento dos tofus para as cultivares Coodetec 214 e BRS 267 diminuiu significativamente com o tempo na condição EA. Hou e Chang (2003) observaram diminuição do rendimento do tofu a partir de 2 a 3 meses de armazenamento a 30 °C e 84% UR e sugeriram que nestas condições, após 7 meses, não seria possível obter tofu. O decréscimo do rendimento com o tempo e condições adversas de estocagem pode estar relacionado à desnaturação e redução da solubilidade e extração das proteínas dos grãos (Hou e Chang, 2004c; Kong et al., 2008). A COC apresentou correlação positiva com o rendimento dos tofus obtidos de sojas de EA, ou seja, menor quantidade de coagulante é necessária para reagir com as proteínas de extratos de sojas envelhecidas (Tabela 4). Este resultado concorda com o obtido por Liu e Chang (2008). Entretanto, a COC não correlacionou com os rendimentos dos tofus de soja EN para ambas cultivares, isto se deve a diminuição da COC com o EN (Tabela 3), porém não houve variação no rendimento dos tofus de soja EN (Tabelas 5 e 6).

**Tabela 5 - Características físicas e químicas dos tofus formulados a partir da cultivar de soja Coodetec 214 em função das condições de armazenamento**

Armazenamento	Tempo	Rendimento	L*	h°	Firmeza	Sólidos	Proteínas	Lipídeos	Carboidratos	Cinzas	Minerais (mg/g)		
						totais					Ca	Mg	P
Condições	(mês)	(%)			N	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)			
C	0	208,5 <sup>a</sup> ± 8,2	87,6 <sup>a</sup> ± 0,5	88,8 <sup>a</sup> ± 0,1	4,49 <sup>a</sup> ± 0,50	18,9 <sup>a</sup> ± 0,8	6,9 <sup>ab</sup> ± 0,2	5,6 <sup>ab</sup> ± 0,0	5,7 <sup>c</sup> ± 0,8	0,86 <sup>a</sup> ± 0,04	0,41 <sup>a</sup> ± 0,01	0,53 <sup>a</sup> ± 0,02	2,02 <sup>a</sup> ± 0,06
EA	1	212,1 <sup>a</sup> ± 4,8	86,4 <sup>b</sup> ± 0,4	86,7 <sup>b</sup> ± 0,4	4,37 <sup>ab</sup> ± 0,21	18,3 <sup>a</sup> ± 1,1	6,8 <sup>abc</sup> ± 0,0	5,7 <sup>a</sup> ± 0,1	5,8 <sup>c</sup> ± 0,1	0,79 <sup>b</sup> ± 0,02	0,41 <sup>a</sup> ± 0,01	0,47 <sup>b</sup> ± 0,03	2,00 <sup>a</sup> ± 0,04
	2	200,6 <sup>ab</sup> ± 15,4	86,2 <sup>bc</sup> ± 0,4	86,5 <sup>bc</sup> ± 0,1	4,32 <sup>ab</sup> ± 0,44	18,9 <sup>a</sup> ± 2,5	7,0 <sup>a</sup> ± 0,0	5,6 <sup>ab</sup> ± 0,3	6,7 <sup>abc</sup> ± 0,4	0,83 <sup>ab</sup> ± 0,03	0,38 <sup>ab</sup> ± 0,03	0,48 <sup>b</sup> ± 0,01	2,01 <sup>ab</sup> ± 0,11
	3	199,6 <sup>ab</sup> ± 10,7	85,3 <sup>ef</sup> ± 0,60	85,8 <sup>c</sup> ± 0,3	4,34 <sup>ab</sup> ± 0,44	18,5 <sup>a</sup> ± 1,9	6,7 <sup>abc</sup> ± 0,2	5,5 <sup>ab</sup> ± 0,2	6,7 <sup>abc</sup> ± 0,4	0,78 <sup>b</sup> ± 0,03	0,34 <sup>cd</sup> ± 0,01	0,42 <sup>c</sup> ± 0,00	1,83 <sup>b</sup> ± 0,09
	4	199,4 <sup>ab</sup> ± 8,7	85,0 <sup>ef</sup> ± 0,24	85,6 <sup>bc</sup> ± 0,3	4,41 <sup>ab</sup> ± 0,50	18,3 <sup>a</sup> ± 1,9	6,8 <sup>abc</sup> ± 0,1	5,4 <sup>abc</sup> ± 0,4	6,3 <sup>abc</sup> ± 0,7	0,71 <sup>c</sup> ± 0,04	0,33 <sup>c</sup> ± 0,03	0,40 <sup>c</sup> ± 0,02	1,63 <sup>c</sup> ± 0,11
	5	200,8 <sup>ab</sup> ± 10,0	84,2 <sup>f</sup> ± 0,30	84,2 <sup>d</sup> ± 0,6	3,92 <sup>b</sup> ± 0,46	17,9 <sup>a</sup> ± 1,4	6,5 <sup>bc</sup> ± 0,2	5,2 <sup>abc</sup> ± 0,4	6,2 <sup>abc</sup> ± 0,5	0,66 <sup>cd</sup> ± 0,03	0,26 <sup>d</sup> ± 0,02	0,32 <sup>d</sup> ± 0,01	1,49 <sup>c</sup> ± 0,05
	6	185,0 <sup>b</sup> ± 10,1	82,9 <sup>g</sup> ± 0,42	82,6 <sup>e</sup> ± 0,6	3,39 <sup>c</sup> ± 0,25	17,8 <sup>a</sup> ± 1,8	6,3 <sup>cd</sup> ± 0,1	5,4 <sup>abc</sup> ± 0,3	6,4 <sup>abc</sup> ± 0,5	0,66 <sup>cd</sup> ± 0,03	0,22 <sup>e</sup> ± 0,03	0,30 <sup>de</sup> ± 0,01	1,28 <sup>d</sup> ± 0,04
	7	184,4 <sup>b</sup> ± 9,5	82,4 <sup>h</sup> ± 0,27	81,5 <sup>f</sup> ± 0,4	3,19 <sup>c</sup> ± 0,30	17,5 <sup>a</sup> ± 1,7	5,8 <sup>d</sup> ± 0,3	5,2 <sup>abc</sup> ± 0,1	7,1 <sup>ab</sup> ± 0,3	0,63 <sup>d</sup> ± 0,02	0,21 <sup>e</sup> ± 0,01	0,27 <sup>ef</sup> ± 0,01	1,22 <sup>d</sup> ± 0,04
	8	133,9 <sup>c</sup> ± 4,1	79,3 <sup>i</sup> ± 0,44	79,9 <sup>g</sup> ± 0,2	2,91 <sup>c</sup> ± 0,42	17,2 <sup>a</sup> ± 1,3	5,3 <sup>e</sup> ± 0,2	5,1 <sup>bc</sup> ± 0,1	7,4 <sup>a</sup> ± 0,3	0,58 <sup>ef</sup> ± 0,03	0,18 <sup>e</sup> ± 0,02	0,24 <sup>fg</sup> ± 0,00	1,27 <sup>d</sup> ± 0,07
	9	95,5 <sup>d</sup> ± 6,0	75,8 <sup>k</sup> ± 0,46	77,2 <sup>h</sup> ± 0,5	2,23 <sup>d</sup> ± 0,39	16,9 <sup>a</sup> ± 1,5	4,9 <sup>f</sup> ± 0,0	4,9 <sup>c</sup> ± 0,1	7,1 <sup>ab</sup> ± 0,3	0,52 <sup>f</sup> ± 0,02	0,11 <sup>f</sup> ± 0,01	0,23 <sup>g</sup> ± 0,01	1,18 <sup>d</sup> ± 0,04
C	0	208,5 <sup>a</sup> ± 8,2	87,6 <sup>a</sup> ± 0,5	88,8 <sup>a</sup> ± 0,1	4,49 <sup>a</sup> ± 0,50	18,9 <sup>a</sup> ± 0,8	6,9 <sup>ab</sup> ± 0,2	5,6 <sup>a</sup> ± 0,0	5,7 <sup>bc</sup> ± 0,8	0,86 <sup>a</sup> ± 0,04	0,41 <sup>a</sup> ± 0,01	0,53 <sup>a</sup> ± 0,02	2,02 <sup>a</sup> ± 0,06
EN	3	194,6 <sup>ab</sup> ± 6,3	88,0 <sup>a</sup> ± 0,33	88,8 <sup>a</sup> ± 0,4	4,38 <sup>a</sup> ± 0,24	18,9 <sup>a</sup> ± 1,7	6,6 <sup>abc</sup> ± 0,2	5,3 <sup>a</sup> ± 0,0	6,5 <sup>ab</sup> ± 0,1	0,82 <sup>ab</sup> ± 0,01	0,40 <sup>ab</sup> ± 0,01	0,47 <sup>b</sup> ± 0,01	2,05 <sup>a</sup> ± 0,07
	6	198,8 <sup>ab</sup> ± 9,7	86,4 <sup>b</sup> ± 0,31	87,3 <sup>b</sup> ± 0,3	4,30 <sup>ab</sup> ± 0,20	19,1 <sup>a</sup> ± 1,2	6,7 <sup>ab</sup> ± 0,3	5,3 <sup>a</sup> ± 0,3	6,6 <sup>ab</sup> ± 0,2	0,78 <sup>bc</sup> ± 0,02	0,39 <sup>ab</sup> ± 0,01	0,45 <sup>b</sup> ± 0,01	2,08 <sup>a</sup> ± 0,07
	9	194,5 <sup>ab</sup> ± 5,7	85,2 <sup>a</sup> ± 0,29	86,9 <sup>b</sup> ± 0,1	4,27 <sup>ab</sup> ± 0,18	18,7 <sup>a</sup> ± 1,8	6,7 <sup>ab</sup> ± 0,2	5,4 <sup>a</sup> ± 0,2	6,8 <sup>a</sup> ± 0,5	0,75 <sup>c</sup> ± 0,05	0,40 <sup>ab</sup> ± 0,01	0,39 <sup>c</sup> ± 0,01	1,96 <sup>a</sup> ± 0,05
	12	203,9 <sup>ab</sup> ± 2,7	85,9 <sup>cd</sup> ± 0,20	87,0 <sup>b</sup> ± 0,2	4,04 <sup>b</sup> ± 0,18	17,6 <sup>a</sup> ± 1,3	6,5 <sup>bc</sup> ± 0,7	5,4 <sup>a</sup> ± 0,1	5,6 <sup>c</sup> ± 0,1	0,69 <sup>d</sup> ± 0,01	0,39 <sup>ab</sup> ± 0,01	0,39 <sup>c</sup> ± 0,01	1,77 <sup>b</sup> ± 0,03
	18	207,5 <sup>a</sup> ± 5,1	85,5 <sup>de</sup> ± 0,23	86,8 <sup>b</sup> ± 0,1	3,71 <sup>c</sup> ± 0,19	17,8 <sup>a</sup> ± 1,3	6,3 <sup>c</sup> ± 0,1	5,4 <sup>a</sup> ± 0,1	5,8 <sup>bc</sup> ± 0,3	0,66 <sup>d</sup> ± 0,02	0,38 <sup>b</sup> ± 0,01	0,34 <sup>d</sup> ± 0,01	1,71 <sup>b</sup> ± 0,07

Os valores de proteínas, lipídeos, carboidratos, cinza e minerais foram calculados em base seca

Valores médios de duas determinações em cada repetição ± desvio padrão

Médias na coluna, acompanhadas de letras diferentes, para cada tratamento, diferem significativamente ( $p \leq 0,05$ )

C = Controle (tempo zero de armazenamento): -20 °C e 47% UR

EA = Envelhecimento acelerado: 30 °C e 84% UR

EN = Envelhecimento natural: temperatura e UR ambiente (variação no período = 17,3 a 24,5 °C e 59 a 93% UR)

L\* (luminosidade): 0= preto, 100= branco

h° (tonalidade cromática):  $\arctan(b^*/a^*)$ , 0°= vermelho puro, 90°= amarelo puro, 180°= verde puro, 270°= azul puro

**Tabela 6 - Características físicas e químicas do tofus formulados a partir da cultivar de soja BRS 267 em função das condições de armazenamento**

Armazenamento	Tempo	Rendimento	L*	h°	Firmeza	Sólidos	Proteínas	Lipídeos	Carboidratos	Cinzas	Minerais (mg/g)		
						totais					Ca	Mg	P
Condições	(mês)	(%)			N	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)			
C	0	207,1 <sup>a</sup> ± 8,1	85,3 <sup>ab</sup> ± 0,6	87,9 <sup>a</sup> ± 0,3	4,70 <sup>ab</sup> ± 0,38	18,4 <sup>a</sup> ± 1,6	8,2 <sup>a</sup> ± 0,3	5,6 <sup>ab</sup> ± 0,4	4,7 <sup>ab</sup> ± 0,5	0,91 <sup>a</sup> ± 0,01	0,43 <sup>a</sup> ± 0,01	0,52 <sup>a</sup> ± 0,01	2,56 <sup>a</sup> ± 0,13
EA	1	211,7 <sup>a</sup> ± 8,0	84,7 <sup>bcd</sup> ± 0,6	86,8 <sup>a</sup> ± 0,1	4,99 <sup>a</sup> ± 0,40	18,1 <sup>a</sup> ± 1,4	8,0 <sup>a</sup> ± 0,1	5,7 <sup>a</sup> ± 0,3	4,5 <sup>ab</sup> ± 0,5	0,87 <sup>ab</sup> ± 0,02	0,42 <sup>a</sup> ± 0,01	0,51 <sup>a</sup> ± 0,01	2,51 <sup>ab</sup> ± 0,09
	2	209,4 <sup>a</sup> ± 4,3	83,8 <sup>ef</sup> ± 0,6	85,2 <sup>b</sup> ± 0,4	4,73 <sup>ab</sup> ± 0,27	18,0 <sup>a</sup> ± 1,1	8,1 <sup>a</sup> ± 0,1	5,6 <sup>ab</sup> ± 0,2	4,1 <sup>b</sup> ± 0,2	0,86 <sup>ab</sup> ± 0,03	0,37 <sup>bc</sup> ± 0,01	0,50 <sup>b</sup> ± 0,01	2,32 <sup>abc</sup> ± 0,07
	3	207,4 <sup>a</sup> ± 5,8	84,2 <sup>de</sup> ± 0,5	84,7 <sup>b</sup> ± 0,3	4,69 <sup>ab</sup> ± 0,30	18,1 <sup>a</sup> ± 1,0	7,8 <sup>a</sup> ± 0,3	5,5 <sup>ab</sup> ± 0,2	4,4 <sup>ab</sup> ± 0,4	0,85 <sup>ab</sup> ± 0,02	0,38 <sup>b</sup> ± 0,00	0,43 <sup>c</sup> ± 0,01	2,29 <sup>bc</sup> ± 0,08
	4	211,6 <sup>a</sup> ± 4,5	84,3 <sup>cde</sup> ± 0,6	84,2 <sup>bc</sup> ± 0,1	4,72 <sup>ab</sup> ± 0,16	18,0 <sup>a</sup> ± 0,7	7,9 <sup>a</sup> ± 0,2	5,4 <sup>abc</sup> ± 0,2	4,1 <sup>b</sup> ± 0,2	0,81 <sup>b</sup> ± 0,01	0,36 <sup>bc</sup> ± 0,00	0,39 <sup>d</sup> ± 0,01	2,20 <sup>cd</sup> ± 0,06
	5	203,0 <sup>a</sup> ± 4,7	83,5 <sup>f</sup> ± 0,3	83,1 <sup>cd</sup> ± 0,5	4,54 <sup>b</sup> ± 0,29	18,3 <sup>a</sup> ± 0,9	7,8 <sup>a</sup> ± 0,2	5,2 <sup>abc</sup> ± 0,1	4,6 <sup>ab</sup> ± 0,3	0,77 <sup>cd</sup> ± 0,03	0,35 <sup>cd</sup> ± 0,02	0,37 <sup>de</sup> ± 0,00	2,17 <sup>c</sup> ± 0,12
	6	197,3 <sup>a</sup> ± 4,6	82,3 <sup>g</sup> ± 0,3	82,7 <sup>d</sup> ± 0,4	3,84 <sup>c</sup> ± 0,34	18,0 <sup>a</sup> ± 1,3	7,8 <sup>ab</sup> ± 0,2	5,4 <sup>abc</sup> ± 0,2	4,7 <sup>ab</sup> ± 0,2	0,72 <sup>d</sup> ± 0,03	0,33 <sup>d</sup> ± 0,00	0,35 <sup>ef</sup> ± 0,01	2,05 <sup>cd</sup> ± 0,09
	7	178,4 <sup>b</sup> ± 13,4	81,3 <sup>h</sup> ± 0,5	80,9 <sup>e</sup> ± 0,7	3,33 <sup>d</sup> ± 0,23	18,0 <sup>a</sup> ± 2,3	7,1 <sup>b</sup> ± 0,3	5,2 <sup>abc</sup> ± 0,2	4,9 <sup>a</sup> ± 0,3	0,65 <sup>e</sup> ± 0,02	0,32 <sup>d</sup> ± 0,01	0,34 <sup>fg</sup> ± 0,01	1,76 <sup>e</sup> ± 0,11
	8	120,4 <sup>c</sup> ± 2,6	77,4 <sup>i</sup> ± 0,3	77,5 <sup>f</sup> ± 1,0	2,60 <sup>e</sup> ± 0,20	17,6 <sup>a</sup> ± 1,7	6,3 <sup>c</sup> ± 0,2	5,1 <sup>bc</sup> ± 0,1	5,0 <sup>a</sup> ± 0,2	0,62 <sup>e</sup> ± 0,02	0,27 <sup>e</sup> ± 0,02	0,33 <sup>gh</sup> ± 0,01	1,67 <sup>ef</sup> ± 0,09
	9	69,1 <sup>d</sup> ± 9,3	75,4 <sup>j</sup> ± 0,2	75,5 <sup>g</sup> ± 1,0	2,06 <sup>f</sup> ± 0,21	16,4 <sup>a</sup> ± 0,6	6,0 <sup>c</sup> ± 0,2	4,9 <sup>c</sup> ± 0,2	5,0 <sup>a</sup> ± 0,2	0,53 <sup>f</sup> ± 0,02	0,18 <sup>f</sup> ± 0,01	0,31 <sup>h</sup> ± 0,01	1,49 <sup>f</sup> ± 0,06
C	0	207,1 <sup>a</sup> ± 8,1	85,3 <sup>ab</sup> ± 0,6	87,9 <sup>a</sup> ± 0,3	4,70 <sup>a</sup> ± 0,38	18,4 <sup>a</sup> ± 1,6	8,2 <sup>a</sup> ± 0,3	5,6 <sup>a</sup> ± 0,4	4,7 <sup>a</sup> ± 0,5	0,91 <sup>a</sup> ± 0,01	0,43 <sup>a</sup> ± 0,01	0,52 <sup>a</sup> ± 0,01	2,56 <sup>a</sup> ± 0,13
EN	3	205,2 <sup>a</sup> ± 7,2	85,6 <sup>a</sup> ± 0,7	87,0 <sup>b</sup> ± 0,1	4,68 <sup>a</sup> ± 0,22	19,1 <sup>a</sup> ± 2,5	7,9 <sup>a</sup> ± 0,3	5,3 <sup>a</sup> ± 0,1	4,6 <sup>a</sup> ± 0,2	0,89 <sup>a</sup> ± 0,01	0,40 <sup>b</sup> ± 0,01	0,43 <sup>b</sup> ± 0,00	2,48 <sup>ab</sup> ± 0,10
	6	206,6 <sup>a</sup> ± 3,5	85,0 <sup>abc</sup> ± 0,6	86,4 <sup>c</sup> ± 0,1	4,53 <sup>a</sup> ± 0,21	18,6 <sup>a</sup> ± 1,9	8,0 <sup>a</sup> ± 0,5	5,3 <sup>a</sup> ± 0,2	4,4 <sup>ab</sup> ± 0,2	0,87 <sup>ab</sup> ± 0,01	0,38 <sup>c</sup> ± 0,01	0,43 <sup>b</sup> ± 0,00	2,38 <sup>abc</sup> ± 0,11
	9	209,6 <sup>a</sup> ± 3,7	84,6 <sup>cd</sup> ± 0,5	85,2 <sup>d</sup> ± 0,2	4,13 <sup>b</sup> ± 0,17	18,2 <sup>a</sup> ± 2,3	7,8 <sup>a</sup> ± 0,1	5,3 <sup>a</sup> ± 0,1	4,4 <sup>ab</sup> ± 0,3	0,88 <sup>ab</sup> ± 0,04	0,37 <sup>c</sup> ± 0,00	0,39 <sup>c</sup> ± 0,00	2,26 <sup>bcd</sup> ± 0,12
	12	209,3 <sup>a</sup> ± 4,0	84,8 <sup>bcd</sup> ± 0,4	85,3 <sup>d</sup> ± 0,1	3,99 <sup>bc</sup> ± 0,18	17,4 <sup>a</sup> ± 1,0	7,9 <sup>a</sup> ± 0,2	5,4 <sup>a</sup> ± 0,1	3,8 <sup>b</sup> ± 0,1	0,83 <sup>b</sup> ± 0,02	0,39 <sup>bc</sup> ± 0,01	0,38 <sup>c</sup> ± 0,00	2,17 <sup>cd</sup> ± 0,05
	18	210,4 <sup>a</sup> ± 3,4	84,1 <sup>def</sup> ± 0,6	84,6 <sup>e</sup> ± 0,3	3,76 <sup>c</sup> ± 0,18	17,5 <sup>a</sup> ± 0,9	7,7 <sup>a</sup> ± 0,0	5,4 <sup>a</sup> ± 0,1	4,0 <sup>bc</sup> ± 0,1	0,75 <sup>c</sup> ± 0,02	0,37 <sup>c</sup> ± 0,01	0,38 <sup>c</sup> ± 0,01	2,11 <sup>d</sup> ± 0,07

Os valores de proteínas, lipídeos, carboidratos, cinza e minerais foram calculados em base seca

Valores médios de duas determinações em cada repetição ± desvio padrão

Médias na coluna, acompanhadas de letras diferentes, para cada tratamento, diferem significativamente ( $p \leq 0,05$ )

C = Controle (tempo zero de armazenamento): -20 °C e 47% UR

EA = Envelhecimento acelerado: 30 °C e 84% UR

EN = Envelhecimento natural: temperatura e UR ambiente (variação no período = 17,3 a 24,5 °C e 59 a 93% UR)

L\* (luminosidade): 0= preto, 100= branco

h° (tonalidade cromática):  $\arctan(b^*/a^*)$ , 0°= vermelho puro, 90°= amarelo puro, 180°= verde puro, 270°= azul puro

A firmeza dos tofus das duas cultivares decresceu com o tempo e condições de armazenamento (Tabelas 5 e 6), este resultado discorda com os observados por Thomas et al. (1989), Hou e Chang (1998) e Kong et al. (2008). Entretanto, Murphy et al. (1997) relataram a diminuição da firmeza em tofus preparados a partir de sojas envelhecidas e sugeriram que este fenômeno pode estar relacionado com as modificações nas estruturas das moléculas de proteínas, em especial a fração 11S que é responsável pela dureza e não fraturabilidade do gel. A firmeza de tofus está relacionada, em parte, ao tamanho do coágulo formado durante o processo de coagulação. Os extratos aquosos obtidos a partir de sojas envelhecidas formaram coágulos de tamanho menores e menos coesos como demonstrado nas Figuras 2 e 3.

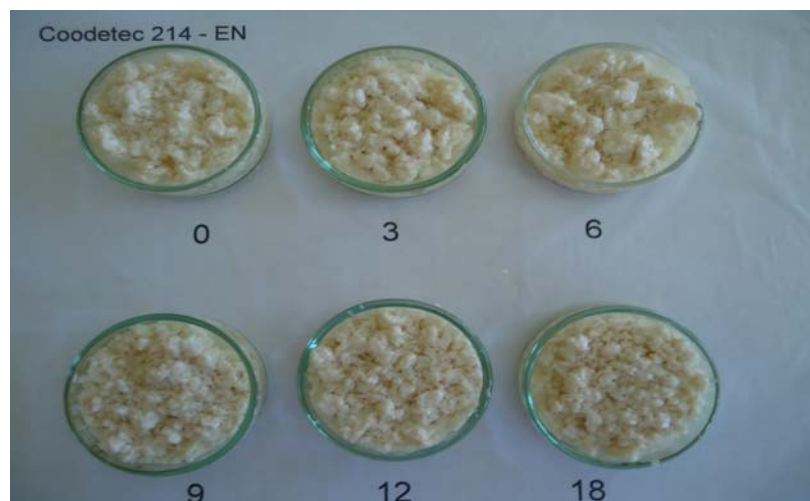
**Figura 2** - Coágulo protéico de extrato de soja envelhecida na condição EA (solução coagulante:  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  20%)



0 = controle (-20°C e 50% UR)

1 a 9 = meses de armazenamento EA (envelhecimento acelerado: 30 °C e 84% UR)

**Figura 3** - Coágulo protéico de extrato de soja envelhecida na condição EN (solução coagulante:  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  20%)



0 = controle (-20°C e 50% UR)

3 a 18 = meses de armazenamento EN (envelhecimento natural: temperatura e umidade relativa ambiente)

De acordo com Liu e Chang (2008) o extrato de soja envelhecida coagula muito rapidamente e forma um coágulo fraco. A COC correlacionou positivamente com a firmeza dos tofus obtidos de sojas de EA e EN (Tabela 4). Devido à menor quantidade de proteína solúvel em extratos de sojas envelhecidas houve a necessidade de menor quantidade de coagulante (Tabela 4), porém a firmeza dos tofus foi menor.

#### 4 CONCLUSÕES

Quando a soja é estocada por longos períodos em condições ambientais (variação de 17 a 25 °C e de 60 a 93% de UR ao longo de 18 meses) ou de envelhecimento acelerado (30 °C, 84% UR durante 9 meses) resulta em alterações significativas na cor e composição química do extrato aquoso e tofu. Para o preparo de tofu a concentração ótima de coagulante  $\text{MgSO}_4$  diminui com a temperatura de coagulação e o tempo de armazenamento dos grãos de soja e apresenta correlação positiva com o conteúdo de sólidos no extrato, especialmente de proteínas. Ainda que se utilize coagulante em concentração ótima, o rendimento e firmeza dos tofus de soja envelhecida em condições drásticas são prejudicadas. Enquanto que naqueles de soja envelhecida em condições ambiente, o uso de

coagulante em concentração ótima pode minimizar os prejuízos de textura e rendimento dos tofus.

## 5 REFERÊNCIAS

AOAC. 1995. *Official Methods of Analysis*, 16th ed. Association of Official Analytical Chemists International, Washington, D.C.

CIABOTTI, S., BARCELOS, M. F. P., PINHEIRO, A. C. M., CLEMENTE, P. R., LIMA, M. P. C. 2007. Características sensoriais e físicas de extratos e tofus de soja comum processada termicamente e livre de lipoxigenase. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, Campinas, v. 27, n. 3, p. 643-648.

HOU, H.J. and CHANG, S.K.C. 1998. Yield and quality of soft tofu as affected by soybean physical damage and storage. *J. Agric. Food Chem.*, v. 46, p. 4798-4805.

HOU, H.J. and CHANG, S.K.C. 2003. Yield and textural properties of tofu as affected by the changes of phytate content during soybean storage. *J. Food Sci.*, v. 68, p.1185-1191.

HOU, H.J. and CHANG, S.K.C. 2004a. Structural characteristics of purified glycinin from soybeans stored under various conditions. *J. Agric. Food Chem.*, v. 52, p. 3792-3800.

HOU, H. J. and CHANG, S.K.C. 2004b. Structural characteristics of purified beta-conglycinin from soybeans stored under four conditions. *J. Agric. Food Chem.*, v. 52, p. 7931-7937.

HOU, H.J. and CHANG, S.K.C. 2004c. Storage conditions affect soybean color, chemical composition and tofu qualities. *J. Food Proces. Presev.*, v. 28, p. 473-488.

KAMIZAKE, N.K.K., YAMASHITA, F. and PRUDENCIO, S.H. 2012. Physical alterations of soybean during accelerated and natural aging. *J. Agric. Food Chem.*

KONG, E., CHANG, S.K.C., LIU, Z. and WILSON, L.A. 2008. Changes of Soybean Quality during Storage as Related to Soymilk and Tofu Making. *J. Food Sci.*, v. 73, p. 134-144.

KROLL, R.D. 1984. Effect of pH on the binding of calcium ions by soybean proteins. *Cereal Chem.*, v. 61, p. 490-495.

LIU, Z.S. and CHANG, S.K.C. 2003. Development of a rapid titration method for predicting optimal coagulant concentration for filled tofu. *J. Agric. Food Chem.*, v. 52, p. 3405-3411.

LIU, Z.S. and CHANG, S.K.C. 2004. Effect of soy milk characteristics and cooking conditions on coagulant requirements for making filled tofu. *J. Agric. Food Chem.*, v. 52, p. 3405-3411.

LIU, Z.S. and CHANG, S.K.C. 2008. Optimal coagulant concentration, soymilk and tofu quality as affected by a short-term model storage of Proto soybeans. *J. Food Process. Preserv.*, v. 32, p. 39-59.

MURPHY, P.A., CHEN, H.P., HAUCK C.C. and WILSON, L.A. 1997. Soybean protein composition and tofu quality. *Food Technol.*, v. 51, p. 86-87, p. 110.

NOZZOLILIO, C. and BEZADA, J. M. 1984. Browning of lentil seeds, concomitant loss of viability and the possible role of soluble tannins in both phenomenon. *Can. J. Plant Sci.*, v. 64, p. 815- 824.

OHARA, T., OHHINATA, H., KARASAWA, H. and MATSUHASHI, T. 1992. Contribution of chemical constituents in soymilk to the optimum concentration of coagulant in coagulation process of milk. (Studies on coagulation process of soymilk in tofu and kori-tofu manufacture. Part V). *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, v. 39, p. 586-595.

ROSSET, M. (2007). Distribuição de ácido fítico e minerais durante o processamento de extrato hidrosolúvel de soja e tofu. Dissertação (mestrado em Ciência de Alimentos) – Centro de Ciências Agrárias. Universidade Estadual de Londrina, Londrina.

SAIO, K., NIKKUNI, I., ANDO, Y., OTSURU, M., TERAUCHI, Y., KITO, M. 1980. Soybean Quality Changes During Model Storage Studies. *Cereal Chem.*, v. 57, p. 77-82.

SANTOS, C. M. R., MENEZES, N. L., VILLELA, F. A. 2005. Modificações fisiológicas e bioquímicas em sementes de feijão no armazenamento. *Revista Brasileira de Sementes*, v. 7, n. 1, p. 104-114.

SKURRAY, G., CUNICH, J. and CARTER, O. 1980. The effect of different varieties of soybean and calcium ion concentration on the quality of tofu. *Food Chem.*, v. 6, p. 89-95.

STATSOFT. 2004. *Statistica v 7.0 for Windows*. Tulsa: Inc. Software.

SUN, N. and BREENE, W.M. 1991. Calcium sulfate concentration influence on yield and quality of tofu from five soybean varieties. *J. of Food Sci.*, v. 56, p. 1604-1607.

THOMAS, R., deMAN, J.M. and deMan, L. 1989. Soymilk and tofu properties as influenced by soybean storage conditions. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, v. 66, p. 777-782.

TRAWATHA, S.E., TeKrony, D.M. and HILDEBRAND, D.F. 1995. Relationship of soybean seed quality to fatty acid and C<sub>6</sub>-Aldehyde levels during storage.

## 5.4 ARTIGO CIENTÍFICO 4

### CONSEQUÊNCIAS DO ENVELHECIMENTO DA SOJA SOBRE A TEXTURA, COR, ATRIBUTOS SENSORIAIS E ACEITAÇÃO DE TOFUS

Neide Kiyoko Kondo Kamizake<sup>1</sup>; Lilian Catarini Pereira da Silva<sup>1</sup>; Sandra Helena Prudencio<sup>2\*</sup>

Periódico a ser submetido: International Journal of Food Science and Technology

#### Resumo

A medida instrumental de textura e a cor e o perfil sensorial (determinado pela Análise Descritiva Quantitativa) foram investigadas em tofus produzidos a partir das cultivares de soja Coodetec 214 e BRS 267, armazenadas em três condições: Envelhecimento acelerado (EA, 84% de UR, 30 °C, 6 meses), envelhecimento natural (variação no período = 17,3 a 24,5 °C e 59 a 93% UR, 18 meses) e controle (C, -20 °C 47%, de UR). Os tofus obtidos de soja EA e EN apresentaram um decréscimo nos valores instrumentais de L\* e h°, dureza, gomosidade, elasticidade, fraturabilidade e aumento de adesividade. A Análise Descritiva Quantitativa indicou que os tofus de soja controle caracterizam-se pela cor clara, uniforme e brilhante, aparência coesa, aroma e sabor adocicado e textura firme e elástica, enquanto os tofus de soja da condição EA possuem cor cinza, com manchas escuras, aparência rugosa, aroma e sabor fermentado, sabor rançoso, adstringente, amargo, textura fraturável, mas com aderência na cavidade oral após a mastigação. Os tofus de soja da condição EN apresentaram atributos sensoriais com intensidades intermediárias aos do controle e EA. A preferência pelos tofus de soja controle foi justificada pelas suas características de aparência, aroma, sabor e textura.

**Palavras-chave:** Armazenamento. Análise descritiva quantitativa. Teste hedônico de atributos. Análise de perfil de textura instrumental. Análise de componentes principais. Consumidores.

## 1 INTRODUÇÃO

O tofu é um produto de soja milenar e muito consumido pela população asiática. Nas últimas décadas, a população Ocidental tem demonstrado interesse no consumo de produtos de soja devido à influência da imigração asiática

---

<sup>1</sup> Departamento de Química, Universidade Estadual de Londrina, PR 445, Km 380, Campus universitário, Londrina. Fone: (43) 3371-4811, Fax: (43) 33714276 .[kamizake@uel.br](mailto:kamizake@uel.br).

<sup>2\*</sup> Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Estadual de Londrina, PR 445, Km 380, Campus universitário, Londrina. [sandrah@uel.br](mailto:sandrah@uel.br). Autor correspondente.

e pela descoberta dos possíveis benefícios da soja à saúde humana (Poysa e Woodrow, 2001, Yuan e Chang, 2007, Shin, et al., 2010). No entanto, para um produto realmente ser consumido, ele deve satisfazer o consumidor em relação aos atributos de aparência, aroma, sabor e textura. No tofu, tais atributos podem ser influenciados pela cultivar de soja e pela qualidade dos grãos, sendo que esta última pode estar relacionada às condições de estocagem (Thomas et al., 1989; Murphy et al., 1997; Hou e Chang, 1998, 2004c; Kong et al. 2008).

A cor do tofu pode variar de branca até amarela pálida, sendo que o consumidor tem preferência pelo produto fresco e de cor branca (Cai e Chang, 1997). Uma coloração mais amarelada não é considerada atrativa para o tofu por estar associada ao envelhecimento do produto (Cui et al., 2004) e uma coloração mais escura pode estar relacionada ao envelhecimento dos grãos utilizados como matéria prima (Chang, 1998, 2004c; Kong et al. 2008).

Devido ao sabor suave do tofu, as propriedades de textura tem papel importante na qualidade e aceitação pelo consumidor (Lim et al., 1990).

Segundo Cai e Chang (1997) o tofu pode ser classificado de acordo com o conteúdo de umidade e firmeza, em tofu macio (87-90% umidade), tofu regular (82-88% umidade), tofu firme (76-81% umidade) e seco (<76% umidade). A preferência de acordo com o tipo de tofu varia de acordo com gosto pessoal do consumidor e com o hábito cultural, no Japão, o tofu macio é popular, enquanto que na China e Taiwan a preferência é pelo tofu firme, e os consumidores Ocidentais preferem tofus de textura mais firme e sabor adocicado (Wang et al., 1983; Cui et al., 2004).

A textura e o rendimento de tofus são influenciados por cada etapa do processo de produção, como a obtenção e coagulação do extrato aquoso protéico e a prensagem.

A proteína é o componente bioquímico que mais influencia a textura do tofu, uma vez que durante o processamento, as proteínas são extraídas em água e ao extrato aquoso é adicionado um agente coagulante, sob aquecimento, para dar origem à matriz protéica responsável pela textura do produto (Poysa et al., 2006; Chang, 2010). Assim o conteúdo de proteína nos grãos e no extrato aquoso de soja é importante para a textura e rendimento do produto (Toda et al., 2009).

Em relação às cultivares, tem-se preferência por grãos de tamanho grande, casca, hilos e cotilédones claros e com maior proporção das frações

protéicas 11S e 7S em relação às demais (Murphy et al., 1997; Silva et al., 2010; 1012).

Um fator de grande importância para qualidade de tofu é a preservação da qualidade dos grãos durante a estocagem, que devem ser mantidos em condições ideais de temperatura ( $< 22\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) e UR entre 55 a 60% (Kong et al., 2008). Entretanto, grande parte da soja é armazenada por longos períodos sob condições não controladas, produzindo alterações físicas e químicas nos grãos que, conseqüentemente, poderão gerar alterações em seus produtos.

Estudos de efeito do envelhecimento da soja na qualidade dos grãos e de seus produtos demonstraram o escurecimento dos grãos, do extrato aquoso e tofu, a redução da extração de sólidos totais e das proteínas, diminuição de pH e aumento de acidez titulável nos grãos e do extrato aquoso, e alterações na textura e rendimento do tofu (Thomas et al., 1989; Hou e Chang, 1998; 2004a; 2004b; 2004c; Liu e Chang, 2004; 2008; Kong et al. 2008; Kamizake et al., 2012 artigo 1; 2; 3).

Alguns pesquisadores observaram que a textura do tofu apresentou um decréscimo de dureza, fraturabilidade e elasticidade em função do tempo de estocagem da soja (Saio et al., 1980; Murphy et al., 1997) e outros encontraram o comportamento inverso (Thomas et al., 1989, Hou e Chang, 1998, 2004c e Kong et al., 2008). Saio et al. (1980) reportaram que mudanças na textura dos tofus em função do envelhecimento da soja, tais como o decréscimo de dureza, perda de coesão e aumento de fragilidade estão relacionados do decréscimo de extração de sólidos e proteínas no extrato aquoso.

Além de alterações na textura dos tofus obtidos de sojas envelhecidas, também tem sido relatada a presença de sabor estranho e escurecimento causadas por reações de oxidação de lipídeos e reações de escurecimento enzimático e não enzimático nos grãos (Saio et al., 1980, Hou e Chang, 1998).

Diante de poucos relatos sobre a descrição sensorial de tofus preparados com soja envelhecida, o objetivo deste estudo foi determinar o efeito do envelhecimento da soja sobre as características sensoriais e sua relação com a aceitação de tofus, além da avaliação das propriedades de textura e cor por meios instrumentais.

## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 Material**

As cultivares de sojas Coodetec 214 e BRS 267 estudadas foram da safra de 2009 cultivadas na Região Norte do Paraná, Brasil. O coagulante de proteína utilizado foi o  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (marca Sigma) e o anti-espumante comercial foi fornecido pela da Prosabor (São Paulo – Brasil).

### **2.2 Métodos**

#### **2.2.1 Armazenamento dos grãos de soja**

Os grãos recém-colhidos das duas cultivares foram armazenados em três condições: controle (C):  $-20\text{ }^\circ\text{C}$  e 47% UR, envelhecimento acelerado (EA):  $30\text{ }^\circ\text{C}$  e 84% UR por 6 meses, envelhecimento natural (EN): temperatura e UR ambiente (variação no período =  $17,3$  a  $24,5\text{ }^\circ\text{C}$  e 59 a 93%) UR por 18 meses (Hou e Chang 2004a, 2004b, 2004c; Kamizake et al., 2012a, 2012b, 2012c). Ao final do tempo de EA e EN as amostras foram armazenadas nas mesmas condições das amostras controle até realização das análises.

#### **2.2.2 Preparação do tofu**

100 g de grãos de cada amostra foram lavados e hidratados em água destilada (1/5, soja/água) por 8 h a temperatura ambiente. Em seguida foram drenados, enxaguados e triturados com água destilada na proporção 1/7 (soja/água) em um liquidificador (Philips Walita, RI2034/01), velocidade média, durante 3 minutos. Em seguida adicionou-se 0,1% (v/v) de agente anti-espumante (Prosabor, São Paulo, Brasil) e as massas foram cozidas em panela de inox, sob agitação manual constante até atingir a fervura, e então, mantidas por mais 5 minutos sob aquecimento brando e agitação. Os extratos foram separados por filtração em tecido tunil (100 mesh) e a temperatura ajustada para  $75\text{ }^\circ\text{C}$ . Uma porção de 550 mL de cada extrato foi coagulado com a solução de  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  a 20%. A quantidade de solução coagulante para cada extrato foi determinada de acordo com Liu e Chang,

2003; Kamizake et al., 2012 (artigo 3). A solução coagulante foi adicionada a cada extrato sob agitação manual durante 10 s. Cada mistura foi mantida a 75 °C em banho-maria durante 20 minutos para permitir a coagulação completa. O material coagulado foi transferido para uma forma de plástico (8,0 x 8,0 x 10,0 cm) forrada com tecido tunil e drenado durante uma hora sob pressão de 20 g/cm<sup>2</sup>. A seguir os tofus foram imersos em água a 4°C durante uma noite para posterior análises.

### **2.2.3 Análise de Perfil de Textura (APT) Instrumental dos tofus**

O perfil de textura das amostras de tofus foi determinado utilizando-se um texturômetro (Texture Analyser, TA.XT2i, Inglaterra). Amostras cilíndricas de tofus (3,0 cm de diâmetro e 2,2 cm de altura, desprezando a superfície externa) foram comprimidas, em dois ciclos de compressão, até 75% da altura inicial usando um sensor cilíndrico de alumínio de 35 mm de diâmetro (P 35) e velocidade constante de 2,0 mm/s (Rosset, 2007). Os parâmetros fraturabilidade (N), dureza (N), elasticidade, coesividade, adesividade (-N.s) e gomosidade foram calculados pelo software do instrumento.

### **2.2.4 Determinação da cor dos tofus**

A cor dos tofus foi medida em colorímetro (Konica Minolta, CR 400/410, Japão). A leitura foi realizada diretamente sobre a superfície dos produtos, após calibração com o padrão branco ( $L^* = 97,59$ ,  $a^* = 0,39$ ,  $b^* = 1,75$ ). Empregaram-se iluminante CIE-D65 (luz natural do dia), iluminação em ângulo de 45°, ângulo de observação de 0° e observação padrão CIE 10. O colorímetro forneceu diretamente os parâmetros  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$  e calculou-se a tonalidade cromática ( $h^\circ = \arctan(b^*/a^*)$ ).

### **2.2.5 Análise sensorial dos tofus**

Para avaliação, as amostras de tofu foram cortadas em cubos de 2,0 cm (sem superfície externa) e apresentadas, em temperatura ambiente, em copinhos de plástico cobertos com filme plástico e codificados com números aleatórios de três dígitos. Antes e entre as provas, os julgadores utilizaram água potável a temperatura

ambiente para limpar a boca. Os testes foram realizados em cabines individuais, sob iluminação de lâmpadas fluorescentes (luz natural do dia). Para aceitação, além de teste em laboratório, também foram realizados testes de localização central, em um clube social de associação nipônica.

### **2.2.5.1 Análise Descritiva Quantitativa (ADQ)**

A partir de 24 candidatos, 13 julgadores foram selecionados com base no desempenho em teste de reconhecimento de gostos e odores básicos e de ordenação de intensidade de dureza e de cor (Meilgaard et al., 2003). Os descritores (atributos) de aparência (cor cinza, uniformidade de cor, brilho, rugosidade e coesão), de aroma (adocicado e fermentado), de sabor (adocicado, amargo, adstringente, ranço e fermentado) e de textura (firmeza, fraturabilidade, elasticidade e aderência residual) foram gerados em consenso pela equipe usando o método de rede (Moskowitz, 1983). A equipe, em consenso, definiu os atributos, indicou as amostras de referências (Quadro 1) e elaborou a ficha de avaliação. A escala empregada foi uma linha não estruturada de 9 cm, ancorada com termos de intensidade a 0,0 ou 0,5 cm da extremidade esquerda, indicando ausência ou intensidade mínima, respectivamente, e a 0,5 cm da extremidade direita com termo indicando intensidade máxima do atributo (ABNT, NBR 14 140, 1998; Richter et al., 2010). A equipe de julgadores foi treinada para identificar e quantificar os atributos utilizando as amostras de referência (Quadro 1). Após nove sessões de treinamento, seguiu-se a seleção final de julgadores, onde cada um avaliou, em três repetições, três amostras de tofus (Cultivar Coodetec 214 controle, Coodetec 214 EN 18 meses e BRS EA 6 meses). Os dados de cada julgador foram tratados por ANOVA com dois fatores (amostras e repetições) e teste F. Os critérios de seleção foram a capacidade discriminativa ( $p$  de  $F_{amostra} \leq 0,3$ ), repetibilidade dos julgamentos ( $p$  de  $F_{repetição} \geq 0,05$ ) e concordância com os demais membros da equipe. A concordância foi avaliada por meio da comparação das médias das amostras obtidas para cada provador com as médias da equipe, para cada atributo (Damásio e Costtel, 1991; ABNT, NBR 14140, 1998). A equipe final foi composta por treze julgadores treinados que avaliaram as seis amostras codificadas de tofus, com três repetições (em três sessões). A apresentação das amostras aos julgadores foi monádica, seqüencial e seguiu o delineamento descrito no item 2.2.7.

**Quadro 1 -** Descritores, definições e referências utilizados para a Análise Descritiva Quantitativa de tofus formulados a partir de sojas Coodetec 214 e BRS 267 armazenadas em diferentes condições

Descritores/Definições	Amostras de Referência
<p><b>Aparência</b> Cor cinza: intensidade de cor cinza</p> <p>Uniformidade da cor: ausência de manchas escuras no tofu</p> <p>Brilho: reflexão da luz na superfície do tofu</p> <p>Rugosidade: Refere-se a uma superfície áspera</p> <p>Coesão: interação entre as partículas do tofu</p>	<p><b>Fraca:</b> tofu da cultivar Coodetec 214, controle <b>Intensa:</b> tofu da cultivar BRS 267, 6 meses de EA</p> <p><b>Baixa</b> (muitas manchas): tofu da cultivar BRS 267, 6 meses de EA. <b>Alta</b> (poucas manchas): tofu da cultivar Coodetec 214, controle</p> <p><b>Pouco:</b> ricota (marca São Leopoldo). <b>Intenso:</b> tofu extra soft (marca Agro-nipo)</p> <p><b>Pouca:</b> tofu extra soft (marca Agro-nipo) <b>Intensa:</b> ricota (marca São Leopoldo)</p> <p><b>Baixa</b> (poucas partículas agrupadas): ricota (marca) <b>Alta</b> (massa compacta): tofu extra soft (marca Agro-nipo)</p>
<p><b>Aroma</b> Adocicado: aroma associado a alimentos doces</p> <p>Fermentado: aroma característico de soja fermentada</p>	<p><b>Fraco:</b> grãos de lentilha da marca Yoki, do tipo 1, classe graúda, cozidos em água destilada durante 30 minutos <b>Forte:</b> milho verde em conserva (marca Fugini) fervido em água destilada durante 50 minutos</p> <p><b>Fraco:</b> grão cozido da cultivar BRS, 9 meses EA <b>Forte:</b> Nato (marca Marufuku) diluído 10 vezes.</p>
<p><b>Sabor</b> Adocicado: gosto associado à solução de sacarose</p> <p>Gosto amargo: gosto associado à solução de cafeína</p> <p>Adstringente: sensação de “amarrar” a mucosa da boca e superfície da língua</p> <p>Ranço: sabor relacionado ao óleo de fritura velho</p> <p>Fermentado: sabor associado a alimentos de soja fermentada</p>	<p><b>Nenhum:</b> água destilada. <b>Forte:</b> solução de sacarose 0,3%.</p> <p><b>Nenhum:</b> água destilada. <b>Forte:</b> solução de cafeína 0,1%.</p> <p><b>Nenhum:</b> água destilada. <b>Forte:</b> Solução de ácido tânico 0,1%</p> <p><b>Nenhum:</b> água destilada <b>Forte:</b> 2 gotas de óleo de soja diluídas em 50 mL de água destilada e, aquecidas em microonda durante 10 minutos</p> <p><b>Nenhum:</b> água destilada <b>Forte:</b> nato (marca Marufuku) diluído 200 vezes</p>
<p><b>Textura</b> Firmeza: força para comprimir o alimento entre os dentes molares</p> <p>Fratrabilidade: facilidade para romper ou esfarelar o alimento durante a mastigação</p> <p>Elasticidade: grau com que o alimento volta à forma original, depois da compressão com os dentes</p> <p>Aderência residual: grau com que o alimento e adere na mucosa da boca após mastigar</p>	<p><b>Pouca:</b> tofu extra soft (marca Agro-nipo) <b>Muita:</b> ricota (marca São Leopoldo)</p> <p><b>Pouca:</b> queijo tipo mussarela (marca Frimesa) <b>Muita:</b> ricota (marca: São Leopoldo)</p> <p><b>Pouca:</b> ricota (marca: São Leopoldo) <b>Muita:</b> queijo tipo mussarela (marca Frimesa)</p> <p><b>Pouca:</b> queijo tipo mussarela (marca Frimesa). <b>Muita:</b> cream chesee (tradicional) da marca Polenghi</p>

### **2.2.5.2 Teste de aceitação**

A aceitação dos tofus quanto aos atributos de aparência, cor, aroma, sabor, textura e global (Stone; Sidel, 2004) foi avaliada por 110 julgadores não treinados. Foi utilizada escala hedônica estruturada de onze pontos, onde: 10 = gostei muitíssimo, 5= nem gostei, nem desgostei, 0 = desgostei muitíssimo. As amostras de tofus foram apresentadas simultaneamente aos julgadores em ordem aleatória.

Entre os julgadores, 36,4% consumiam tofu com frequência (1 a 5 vezes por semana), 39,1% moderadamente (1 a 3 vezes por mês), 20% ocasionalmente (1 a 5 vezes ao ano), e apenas 4,5% nunca consumiram.

A equipe foi composta por 62% de julgadores do sexo feminino e 38% do masculino, com idades entre 15 e 70 anos (sendo mais numerosa a faixa de 15 a 25 anos, com 40% e acima de 50 anos, com 32%) e grau de instrução variado (48% com nível universitário e 26% com 2° grau completo). Ademais, 68% dos participantes eram descendentes de orientais.

### **2.2.7 Delineamento experimental e análise estatística dos dados**

Foi conduzido um experimento para avaliação de cor e textura instrumentais dos tofus, empregando o delineamento inteiramente casualizado com duas repetições, sendo os tratamentos, os tofus. As determinações foram feitas em triplicata para cada repetição do experimento.

Os experimentos sensoriais (ADQ e aceitação) das amostras de tofus foram conduzidos de acordo com um delineamento de blocos completos casualizados, sendo os tratamentos os tofus e blocos os julgadores. A ADQ foi repetida três vezes.

Os dados obtidos foram tratados por ANOVA, teste de comparação de médias de Tukey e análise de correlação de Pearson. O nível de significância foi igual ou menor que 5%. Os dados sensoriais também foram submetidos à Análise de Componentes Principais (ACP) com base na matriz de correlação, onde as unidades amostrais foram os tofus, os atributos da ADQ as variáveis ativas e a aceitação global a variável suplementar. O programa estatístico empregado foi o Statistica versão 7.0 (STATSOFT, 2004)

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 Cor e Perfil de Textura Instrumentais dos Tofus

A luminosidade ( $L^*$ ) e a tonalidade cromática ( $h^\circ$ ) dos tofus decresceram ( $p \leq 0,05$ ) em função do armazenamento dos grãos nas condições de EN e EA (Tabela 1), indicando o escurecimento e a perda da cor amarela para vermelha, respectivamente, em função do envelhecimento dos grãos. Resultados semelhantes foram observados por Hou e Chang, 1998, 2004c, Kong et al., 2008 e Chang, 2010. A mudança de cor dos tofus se deve as possíveis reações de escurecimento enzimático e não enzimático durante o envelhecimento dos grãos (Hou e Chang, 1998). A temperatura e UR elevadas de armazenamento ativam as enzimas presentes nos grãos promovendo reações entre o oxigênio e substratos fenólicos (ácidos fenólicos, aminoácidos aromáticos) levando a formação de compostos escuros como melaninas, melanoidinas e polifenóis (Nozzolilo e Bezada, 1984) que são carregados para o extrato aquoso e tofu. Enquanto que, o escurecimento não enzimático envolve reações entre proteínas e açúcares redutores, que são mais relevantes durante o preparo do tofu, onde há um aumento maior de temperatura favorecendo a reação de Maillard, do que durante o armazenamento dos grãos (Hou e Chang, 1998).

**Tabela 1** - Parâmetros de cor ( $L^*$  e  $h^\circ$ ) de tofus formulados a partir de sojas armazenadas em diferentes condições

Tofus	$L^*$	$h^\circ$
CC	87,7 <sup>a</sup> ± 0,33	88,8 <sup>a</sup> ± 0,14
CEN	85,5 <sup>b</sup> ± 0,27	86,8 <sup>c</sup> ± 0,12
CEA	82,9 <sup>cd</sup> ± 0,44	82,6 <sup>e</sup> ± 0,59
BC	85,1 <sup>b</sup> ± 0,54	87,9 <sup>b</sup> ± 0,31
BEN	83,8 <sup>c</sup> ± 0,90	84,6 <sup>d</sup> ± 0,28
BEA	82,0 <sup>d</sup> ± 0,35	82,7 <sup>e</sup> ± 0,40

Valores médios de duas determinações em cada repetição ± desvio padrão

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa (teste de Tukey,  $p \leq 0,05$ )

$L^*$  (luminosidade): 0 = preto, 100 = branco

$h^\circ$  (tonalidade cromática):  $\arctan(b^*/a^*)$ ,  $0^\circ$  = vermelho puro,  $90^\circ$  = amarelo puro,  $180^\circ$  = verde puro,  $270^\circ$  = azul puro

CC = Coodetec 214-C; CEN = Coodetec 214-EN; CEA = Coodetec 214-EA; BC = BRS 267-C; BEN = BRS 267-EN; BEA = BRS 267-EA

C = Controle (tempo zero de armazenamento):  $-20^\circ\text{C}$  e 47% UR

EN = Envelhecimento natural: temperatura e UR ambiente (variação no período = 17,3 a  $24,5^\circ\text{C}$  e 59 a 93% UR), por 18 meses

EA = Envelhecimento acelerado:  $30^\circ\text{C}$  e 84% UR, por 6 meses

O perfil de textura instrumental dos tofus está apresentado na Tabela 2. A dureza dos tofus diminuiu ( $p \leq 0,05$ ) com o envelhecimento dos grãos. Este resultado está de acordo com os de Murphy et al. (1997), Hou e Chang (2004c). Entretanto, resultados contrários foram observados por Thomas et al. (1989), Hou e Chang (1998) e Kong et al. (2008). Esta controvérsia possivelmente se deve aos diferentes métodos de preparo e tipos de tofus utilizados em cada estudo.

A fraturabilidade, elasticidade, coesividade e gomosidade dos tofus também diminuiram ( $p \leq 0,05$ ) em função do envelhecimento dos grãos (Tabela 2). Murphy et al. (1997) reportaram que a fraturabilidade e coesividade decresceram significativamente com a estocagem acelerada da soja. A adesividade dos tofus aumentou ( $p \leq 0,05$ ) com o envelhecimento da soja (Tabela 2). Na literatura não

**Tabela 2** - Perfil de textura instrumental de tofus formulados a partir de sojas armazenadas em diferentes condições de envelhecimento

Parâmetros	Tofus					
	CC	CEN	CEA	BC	BEN	BEA
Fraturabilidade (N)	0,043 <sup>a</sup> ±0,002	0,036 <sup>b</sup> ±0,006	0,032 <sup>b</sup> ±0,003	0,042 <sup>a</sup> ±0,005	0,032 <sup>b</sup> ±0,005	0,034 <sup>b</sup> ±0,005
Dureza (N)	4,49 <sup>a</sup> ±0,50	3,71 <sup>bc</sup> ±0,19	3,38 <sup>b</sup> ±0,25	4,69 <sup>a</sup> ±0,38	3,78 <sup>c</sup> ±0,18	3,84 <sup>c</sup> ±0,34
Elasticidade	0,84 <sup>b</sup> ±0,02	0,71 <sup>d</sup> ±0,02	0,66 <sup>e</sup> ±0,02	0,90 <sup>a</sup> ±0,01	0,79 <sup>c</sup> ±0,01	0,83 <sup>b</sup> ±0,01
Coesividade	0,78 <sup>ab</sup> ±0,01	0,76 <sup>cd</sup> ±0,01	0,75 <sup>d</sup> ±0,01	0,78 <sup>a</sup> ±0,01	0,77 <sup>bc</sup> ±0,01	0,78 <sup>ab</sup> ±0,01
Adesividade (-N.s)	0,03 <sup>d</sup> ±0,01	0,32 <sup>a</sup> ±0,02	0,31 <sup>ab</sup> ±0,02	0,06 <sup>c</sup> ±0,01	0,29 <sup>b</sup> ±0,02	0,30 <sup>b</sup> ±0,02
Gomosidade	3,42 <sup>ab</sup> ±0,24	2,88 <sup>c</sup> ±0,22	2,56 <sup>d</sup> ±0,18	3,65 <sup>a</sup> ±0,21	2,98 <sup>c</sup> ±0,14	3,27 <sup>b</sup> ±0,24

Valores médios de duas determinações em cada repetição ± desvio padrão

Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa (teste de Tukey,  $p \leq 0,05$ )

CC = Coodetec 214-C; CEN = Coodetec 214-EN; CEA = Coodetec 214-EA; BC = BRS 267-C; BEN = BRS 267-EN; BEA = BRS 267-EA

C = Controle (tempo zero de armazenamento): -20 °C e 47% UR

EN = Envelhecimento natural: temperatura e UR ambiente (variação no período = 17,3 a 24,5 °C e 59 a 93% UR), por 18 meses

EA = Envelhecimento acelerado: 30 °C e 84% UR, por 6 meses

existe estudos sobre adesividade de tofus em função das condições de estocagem da soja.

As proteínas são os principais componentes responsáveis pela textura de tofu. Alguns estudos indicam que as frações 7S e 11S são as principais frações proteínas envolvidas na formação e textura de gel de tofu. Para Saio et al.

(1969) o gel da fração 11S apresentou maior dureza, coesividade e elasticidade do que da fração 7S. De acordo com Riblett et al. (2001) a proteína 11S apresenta maior quantidade de aminoácidos sulfurados, sendo assim, responsável pela formação de gel mais firme e de maior elasticidade. Para Tay et al. (2005) a velocidade de agregação e o tamanho dos agregados protéicos apresentam a seguinte ordem decrescente para as frações protéicas 11S > 2S > 7S.

Alterações moleculares nas frações protéicas, devido ao envelhecimento dos grãos, podem resultar em tofus com textura diferente do produto preparado com grãos recém colhidos. Hou e Chang (2004a e 2004b) notaram uma diminuição drástica na extração das frações 11S e 7S em soja estocada por mais de três meses em condições adversas (30 °C e 84% UR) que foi justificada por uma maior agregação molecular e desnaturação destas frações, sendo que a fração 11S foi mais sensível à mudança estrutural do que a 7S.

Para Kong et al. (2008) a dureza, fraturabilidade e elasticidade de tofu aumentam com o tempo de estocagem dos grãos em temperaturas e UR elevadas. Além disso, de acordo com os autores, a soja estocada em condições adversas tende a formar coágulos grandes e grosseiros e quanto maior o grânulo de proteína na rede do coágulo, mais duro será o tofu. Kamizake et al (2012c) estudando as mesmas cultivares e condições de armazenamento do presente estudo, notaram uma redução da extração de proteínas, formação de coágulos protéicos pequenos e pouco coesos e tofus menos duro, com o tempo de envelhecimento dos grãos.

Hou e Chang verificaram que a estocagem em condições adversas (30 °C e 84% UR), induz uma redução significativa na hidrofobicidade de superfície e aumento das interações dissulfeto intramoleculares nas frações 7S e 11S. Além disso, notaram aumento do conteúdo de  $\alpha$ -hélice e redução no conteúdo de  $\beta$ -folha na estrutura secundária da proteína. Essas alterações podem ter contribuído para perda da habilidade das proteínas de soja formar uma rede de gel de qualidade adequada e resulta tofu de menor dureza, fraturabilidade, elasticidade, coesividade e gomosidade e com maior adesividade.

## 3.2 Análise Sensorial

### 3.2.1 Análise Descritiva Quantitativa dos tofus

Diferenças significativas ( $p \leq 0,05$ ) foram encontradas entre os tofus, para os 16 atributos levantados pela equipe sensorial (Tabela 3).

**Tabela 3** - Intensidade<sup>a</sup> média de atributos sensoriais de tofus formulados a partir de sojas armazenadas em diferentes condições

Atributos	Tofus						
	Aparência	CC	CEN	CEA	BC	BEN	BEA
Cor cinza		0,65 <sup>e</sup> ± 0,14	3,82 <sup>c</sup> ± 1,27	7,36 <sup>a</sup> ± 1,04	1,54 <sup>d</sup> ± 1,46	4,84 <sup>b</sup> ± 1,03	8,20 <sup>a</sup> ± 0,32
Uniformidade de cor		8,28 <sup>a</sup> ± 0,22	4,89 <sup>b</sup> ± 1,23	1,74 <sup>d</sup> ± 1,24	7,50 <sup>a</sup> ± 0,94	3,87 <sup>c</sup> ± 1,27	0,84 <sup>d</sup> ± 0,60
Brilho		7,82 <sup>a</sup> ± 0,77	4,85 <sup>b</sup> ± 1,06	1,89 <sup>a</sup> ± 1,25	7,05 <sup>a</sup> ± 1,16	4,09 <sup>b</sup> ± 0,95	1,22 <sup>c</sup> ± 0,75
Rugosidade		0,84 <sup>c</sup> ± 0,26	4,52 <sup>b</sup> ± 1,39	7,11 <sup>a</sup> ± 1,49	1,46 <sup>c</sup> ± 0,82	5,01 <sup>b</sup> ± 1,24	7,95 <sup>a</sup> ± 0,59
Coesão		8,03 <sup>a</sup> ± 0,30	4,76 <sup>b</sup> ± 1,31	1,59 <sup>c</sup> ± 0,92	7,32 <sup>a</sup> ± 1,15	3,88 <sup>b</sup> ± 1,38	0,93 <sup>c</sup> ± 0,31
<b>Aroma</b>							
Adocicado		7,52 <sup>a</sup> ± 1,11	4,57 <sup>b</sup> ± 1,20	1,67 <sup>c</sup> ± 1,21	6,98 <sup>a</sup> ± 1,34	4,29 <sup>b</sup> ± 1,14	1,29 <sup>c</sup> ± 0,86
Fermentado		0,84 <sup>c</sup> ± 0,24	3,34 <sup>b</sup> ± 1,43	6,49 <sup>a</sup> ± 2,17	1,34 <sup>c</sup> ± 1,06	4,15 <sup>b</sup> ± 1,52	6,78 <sup>a</sup> ± 2,29
<b>Sabor</b>							
Adocicado		7,57 <sup>a</sup> ± 1,05	4,62 <sup>b</sup> ± 1,28	1,57 <sup>c</sup> ± 1,02	6,98 <sup>a</sup> ± 1,77	4,05 <sup>b</sup> ± 1,19	1,07 <sup>c</sup> ± 0,49
Gosto amargo		0,97 <sup>c</sup> ± 0,40	3,97 <sup>b</sup> ± 1,26	6,98 <sup>a</sup> ± 1,25	1,62 <sup>c</sup> ± 1,38	4,64 <sup>b</sup> ± 0,96	7,53 <sup>a</sup> ± 1,25
Adstringente		1,22 <sup>c</sup> ± 0,82	4,24 <sup>b</sup> ± 1,35	7,05 <sup>a</sup> ± 1,06	1,61 <sup>c</sup> ± 1,08	4,62 <sup>b</sup> ± 1,16	7,57 <sup>a</sup> ± 0,88
Ranço		0,87 <sup>c</sup> ± 0,22	3,67 <sup>b</sup> ± 1,54	6,82 <sup>a</sup> ± 1,57	1,23 <sup>c</sup> ± 0,60	4,29 <sup>b</sup> ± 1,36	7,57 <sup>a</sup> ± 0,68
Fermentado		0,89 <sup>c</sup> ± 0,23	3,58 <sup>b</sup> ± 1,68	6,77 <sup>a</sup> ± 1,75	1,35 <sup>c</sup> ± 1,18	4,22 <sup>b</sup> ± 1,70	7,12 <sup>a</sup> ± 1,70
<b>Textura</b>							
Firmeza		7,79 <sup>a</sup> ± 1,30	4,30 <sup>b</sup> ± 1,27	1,35 <sup>c</sup> ± 1,11	7,63 <sup>a</sup> ± 0,54	3,89 <sup>b</sup> ± 1,26	1,22 <sup>c</sup> ± 1,37
Fraturabilidade		1,88 <sup>c</sup> ± 2,40	4,68 <sup>b</sup> ± 1,48	6,92 <sup>a</sup> ± 2,14	2,00 <sup>c</sup> ± 2,09	4,99 <sup>b</sup> ± 1,47	7,15 <sup>a</sup> ± 2,45
Elasticidade		7,69 <sup>a</sup> ± 1,33	3,70 <sup>b</sup> ± 1,24	1,57 <sup>c</sup> ± 1,36	7,17 <sup>a</sup> ± 1,63	3,73 <sup>b</sup> ± 1,18	1,05 <sup>c</sup> ± 0,81
Aderência residual		1,41 <sup>c</sup> ± 1,93	4,76 <sup>b</sup> ± 1,37	6,98 <sup>a</sup> ± 2,25	1,76 <sup>c</sup> ± 1,90	4,87 <sup>b</sup> ± 1,29	7,52 <sup>a</sup> ± 1,64

CC = Coodetec 214-C; CEN = Coodetec 214-EN; CEA = Coodetec 214-EA; BC = BRS 267-C; BEN = BRS 267-EN; BEA = BRS 267-EA

C = Controle: -18 °C e 50% UR, EA: 30 °C e 84% UR (6 meses), EN: temperatura e UR ambiente (variação no período = 17,3 a 24,5 °C e 59 a 93% UR) (18 meses)

Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa (teste de Tukey,  $p \leq 0,05$ )

<sup>a</sup>Escala de intensidade de 9 cm

A cor cinza dos tofus intensificou-se com as condições de EN e EA dos grãos, concordando com os resultados de Hou e Chang (1998 e 2004c) e Kong et al. (2008). Os tofus de soja envelhecida apresentaram menor uniformidade de cor, isto é apresentaram manchas escuras. A medida de cor sensorial mostrou correlação significativa ( $p \leq 0,01$ ) com a medida instrumental (Tabela 4).

**Tabela 4** - Coeficiente de correlação entre a intensidade dos atributos sensoriais e as medidas instrumentais de cor e textura de tofus formulados a partir de sojas armazenadas em diferentes condições

Atributos sensoriais	Medidas instrumentais	Tofus
Cor cinza	L*	-0,90**
	h°	-0,98**
Firmeza	dureza	0,65**
Elasticidade	Elasticidade	0,62**
Fraturabilidade	Fraturabilidade	0,62**
Aderência residual	Adesividade	0,83**

\*\* =  $p \leq 0,01$

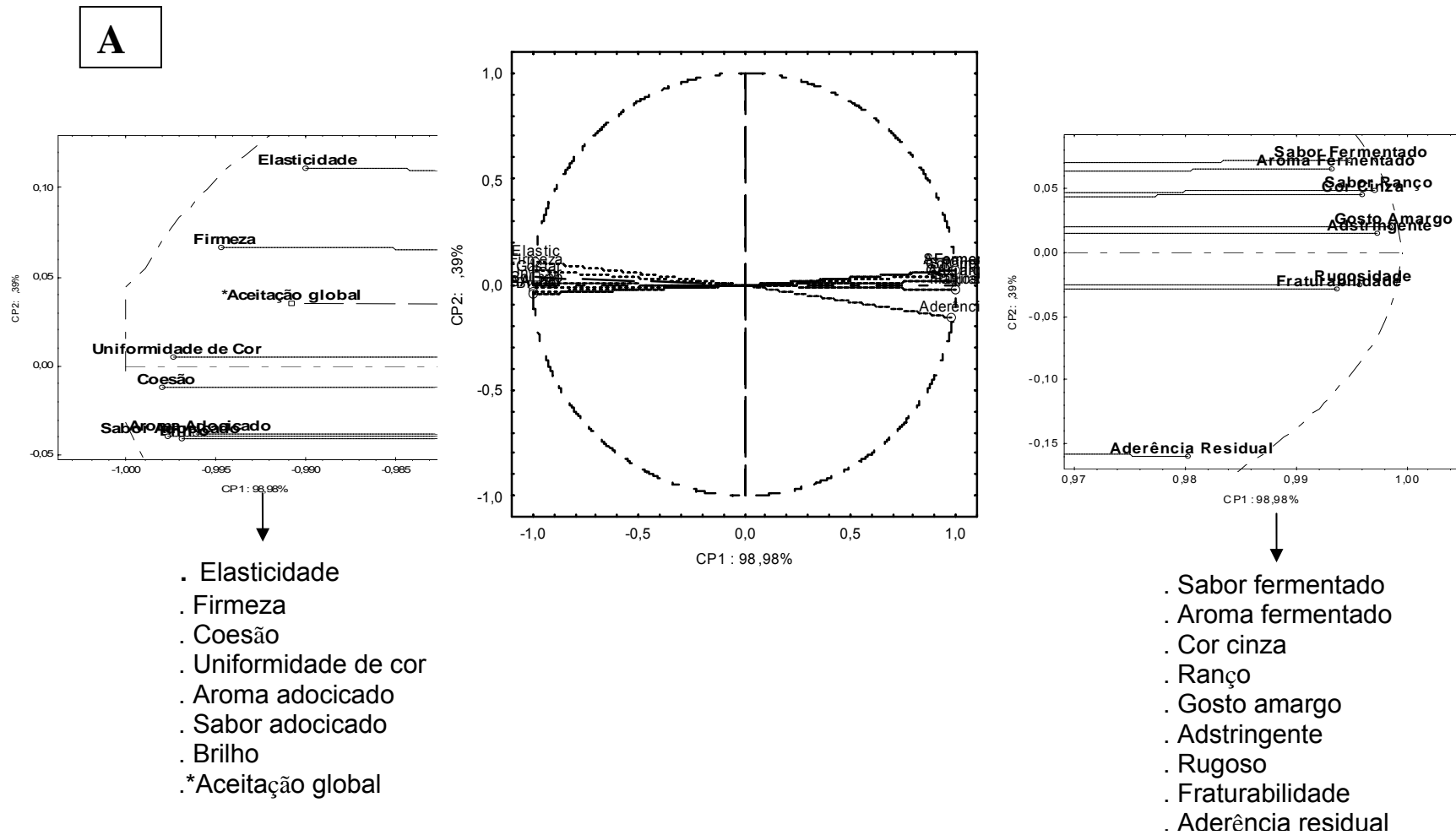
O envelhecimento da soja resultou em perda de brilho, de coesão e aumento de rugosidade nos tofus. Quanto ao aroma e sabor, os tofus elaborados com grãos envelhecidos perderam o adocicado e intensificaram o fermentado. Além disso, observou-se a intensificação do gosto amargo, sabor adstringente e de ranço. A alteração dos atributos de aroma e sabor se devem as reações de hidrólise enzimática (lípsases) dos fosfolipídeos e triacilglicerídeos com formação de ácidos graxos livres, e estes em presença de lipoxigenases e oxigênio resultam na formação de peróxidos que pela ação da hidroperoxidolase formam isômeros de hexanal e ácidos de baixa massa molecular que são responsáveis pelo sabor ranço (Narayan et al., 1988b, Clark e Snyder, 1991, Trawatha et al., 1995). A intensificação do gosto amargo e a sensação de adstringência em tofus de soja envelhecida está relacionada com a conversão das isoflavonas glicosídicas para a forma agliconas. Hou e Chang (2002) detectaram a conversão de aproximadamente 97% dos glicosídeos e malonilglicosídeos para a suas respectivas formas agliconas em grãos de soja armazenados a 30°C e 84% durante 9 meses. Alguns autores relataram que as formas agliconas (daidzeína e genisteína) estão associadas ao desenvolvimento do gosto amargo e da sensação de adstringência de forma mais intensa (Matsuura; et al., 1989, Okubo et al., 1992).

Quanto aos atributos sensoriais de textura dos tofus, a firmeza e elasticidade diminuíram, enquanto que a fraturabilidade e aderência residual aumentaram em função do EA e EN dos grãos. Houve concordância entre os dados sensoriais e instrumentais de textura, conforme os valores das correlações apresentados na Tabela 4.

Na ACP dos dados sensoriais, os dois primeiros componentes principais (CP1 e CP2) explicaram 99,37% da variabilidade total contida nas variáveis originais, sendo que a CP1 explicou 98,98% (Figura 1). Todos atributos contribuíram para explicação do CP1 ( $r > 0,98$ ), sendo que a uniformidade de cor, brilho, coesão, aroma e sabor adocicado, firmeza e elasticidade apresentaram correlação negativa com a componente (a esquerda do gráfico, Figura 1A) e a cor cinza, rugosidade, aroma e sabor fermentado, amargo, adstringente e ranço, fraturabilidade e aderência residual apresentaram correlação positiva (a direita do gráfico, Figura 1A).

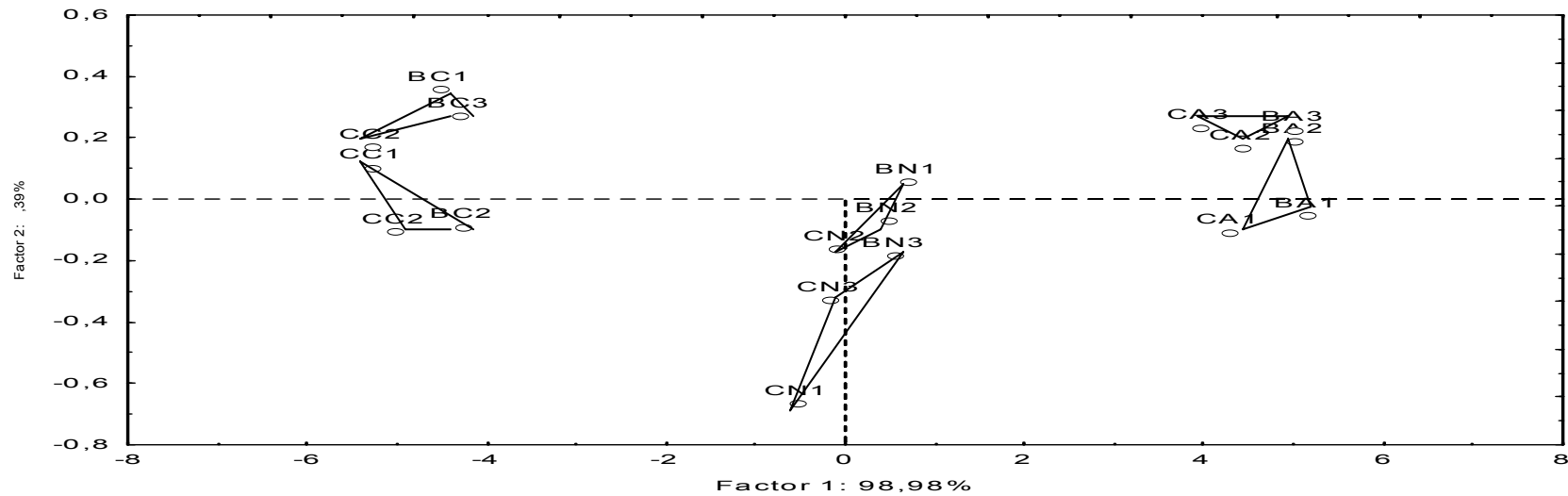
Na figura 1B, cada tofu está apresentada por um triângulo, no qual cada vértice corresponde ao valor médio atribuído pela equipe em cada repetição da avaliação. Nota-se que a CP1 separou os tofus quanto à condição de situaram-se à direita do gráfico (Figura 1B) e foram caracterizados pelos atributos que estão à direita da Figura 1A; os tofus obtidos a partir das sojas controles ficaram alocados a esquerda (Figura 1B) e foram caracterizados pelos atributos que estão a esquerda na Figura 1A; e aqueles produzidos a partir da soja de condições EN, que apresentaram atributos com intensidade intermediária aos dos tofus controle e EA, localizaram-se na região central do gráfico (Figura 1B).

**Figura 1.** Projeções dos atributos sensoriais (A) e dos tofus de soja armazenadas em diferentes condições (B) sobre o plano fatorial CP1 X CP2



Continuação...

**B**



CC = Coodetec 214-C; CEN = Coodetec 214-EN; CEA = Coodetec 214-EA; BC = BRS 267-C; BEN = BRS 267-EN; BEA = BRS 267-EA

1 – 3 = repetições das avaliações

Condições de armazenamento: C (controle: -20 °C e 47% UR), EN (envelhecimento natural: variação de temperatura e UR no período = 17,3 a 24,5 °C e 59 a 93% UR, 18 meses) e EA (envelhecimento acelerado: 30 °C e 84% UR, 6 meses)

### 3.2.2 Aceitação de Tofus

A aceitação, quanto aos atributos sensoriais, de tofus produzidos a partir de sojas armazenadas sob as condições de controle, EA e EN, está apresentada na Tabela 5.

**Tabela 5** - Aceitação<sup>a</sup> de atributos sensoriais de tofus formulados a partir de sojas armazenadas em diferentes condições

Atributos	Tofus					
	CC	CEN	CEA	BC	BEN	BEA
Aroma	8,2 <sup>a</sup> ± 1,8	6,0 <sup>b</sup> ± 1,4	4,8 <sup>c</sup> ± 1,4	7,6 <sup>a</sup> ± 1,5	5,7 <sup>b</sup> ± 1,5	4,2 <sup>c</sup> ± 1,7
Cor	8,5 <sup>a</sup> ± 2,3	5,9 <sup>c</sup> ± 2,2	4,3 <sup>e</sup> ± 2,3	7,7 <sup>b</sup> ± 2,3	5,2 <sup>d</sup> ± 2,1	3,5 <sup>f</sup> ± 2,2
Aparência	8,6 <sup>a</sup> ± 2,0	6,0 <sup>c</sup> ± 1,9	4,4 <sup>e</sup> ± 1,9	7,9 <sup>b</sup> ± 2,3	5,3 <sup>d</sup> ± 1,8	3,8 <sup>f</sup> ± 2,2
Textura	8,4 <sup>a</sup> ± 1,7	6,1 <sup>b</sup> ± 1,5	4,6 <sup>c</sup> ± 1,7	7,9 <sup>a</sup> ± 1,7	5,6 <sup>b</sup> ± 1,5	4,2 <sup>c</sup> ± 1,7
Sabor	8,3 <sup>a</sup> ± 2,5	5,8 <sup>b</sup> ± 2,1	4,0 <sup>d</sup> ± 2,2	7,7 <sup>a</sup> ± 2,6	5,0 <sup>c</sup> ± 2,2	3,4 <sup>d</sup> ± 2,4
Global	8,4 <sup>a</sup> ± 2,0	6,0 <sup>c</sup> ± 1,9	4,4 <sup>e</sup> ± 2,1	7,8 <sup>b</sup> ± 2,2	5,3 <sup>d</sup> ± 1,9	3,8 <sup>f</sup> ± 2,2

CC = Coodetec 214-C; CEN = Coodetec 214-EN; CEA = Coodetec 214-EA; BC = BRS 267-C;

BEN = BRS 267-EN; BEA = BRS 267-EA

C = Controle: -18 °C e 47% UR, EA: 30 °C e 84% UR (6 meses), EN: temperatura e UR ambiente (variação no período = 17,3 a 24,5 °C e 59 a 93% UR) (18 meses)

Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa (teste de Tukey,  $p \leq 0,05$ )

<sup>a</sup>Escala: 0 = desgostei muitíssimo, 10 = gostei muitíssimo

Ficou evidente que, os tofus produzidos a partir das sojas controles (não envelhecidas) tiveram maior aceitação ( $\geq 8,2$ ) e os de soja EA menor aceitação ( $\leq 4,8$ ) para aroma, cor, aparência, textura e sabor. Comparando-se os tofus controles, o Coodetec 214 apresentou melhor aceitação que o BRS 267 quanto à cor e aparência, possivelmente, isto se deve a cor mais clara do tofu Coodetec 214 (Tabela 1), indicando que o consumidor tem preferência por tofus de cor mais próxima ao branco (Cai e Chang, 1997). Em relação à aceitação global, os tofus apresentaram a seguinte ordem decrescente: Coodetec 214 Controle, BRS 267 Controle, Coodetec 214 EN, BRS 267 EN, Coodetec 214 EA e BRS 267 EA. A maior aceitação global pelos tofus da cultivar Coodetec 214 em relação aos da BRS 267, provavelmente tenha ocorrido devido a sua cor mais clara.

Nota-se pela ACP dos dados da ADQ incluindo a variável suplementar, aceitação global, (Figura 1A) que a preferência está relacionada aos atributos: elasticidade, firmeza, coesão, uniformidade de cor, aroma adocicado, gosto doce e brilho que são características de tofus preparados com soja controle (não envelhecida) (Figura 1B).

## CONCLUSÕES

O envelhecimento da soja resulta na redução da qualidade dos tofus em relação aos aspectos de aparência, cor, aroma, sabor e textura, sendo evidenciada tanto por medidas instrumentais (cor e textura) como sensoriais (Análise Descritiva Quantitativa) e confirmada pela baixa aceitação dos produtos.

Tofus preparados com soja controle são caracterizados por cor clara, uniforme e brilhante, aparência coesa, aroma e sabor adocicado e textura firme e elástica, enquanto que os tofus de soja envelhecidas em condições adversas apresentam cor cinza com manchas escuras, aparência rugosa, aroma de fermentado, sabor fermentado, rançoso e amargo e textura fraturável, mas com aderência na cavidade oral após a mastigação.

## 4. REFERÊNCIAS

Cai T.D. & Chang S.K.C. (1997). Dry tofu characteristics affected by soymilk solid content and coagulation time. *Journal of Food Quality*, v. 20, p. 391-402.

Chang, S.K.C. (2010). Storage-Induced Color and Biochemical Changes of Soybeans As Related to Soymilk and Tofu Making. *Chemistry, Texture, and Flavor of Soy*, (K.R. Cadwallader and S. K. C. Chang, eds) Chapter 8, p. 113-130, American Chemical Society, Washington.

Clark, P.K. & Snyder, H.E. (1991). Hydroperoxide formation in soybeans seeds during storage. *Journal American Oil Chemistry*, v. 68, p. 346-347.

Cui, Z.; James, A.T.; Myiasaki, S.; Wilson R.F. & Carter Jr., T.E. (2004). Breeding specialty soybeans for traditional and new soyfoods. In: Liu, K. (Ed.) *Soybeans as functional foods and ingredients*. Champaign: AOCS Press, p. 290-295.

Fukushima, D. (2001). Recent progress in research and technology on soybeans. *Food Science and Technology Research*, Tsukuba, v. 7, b.1, p. 8-16.

Hou, H.J. & Chang, S.K.C. (1998). Yield and quality of soft tofu as affected by soybean physical damage and storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 46, p. 4798-4805.

Hou, H.J. & Chang, S.K.C. (2004a). Structural characteristics of purified glycinin from soybeans stored under various conditions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 52, p. 3792-3800.

Hou, H.J. & Chang, S.K.C. (2004b). Structural characteristics of purified beta-conglycinin from soybeans stored under four conditions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 52, p. 7931-7937.

Hou, H.J. & Chang, S.K.C. (2004c). Storage conditions affect soybean color, chemical composition and tofu qualities. *Journal of Food Processing and Preservation*, v. 28, p. 473-488.

Kamizake, N. K. K., Yamashita, F.; Prudencio, S. H. (2012a). Physical alterations of soybean during accelerated and natural aging. *Journal Agricultural and Food Chemistry*, v. , n. , p. xx-xx.

Kamizake, N. K. K., Varéa, G. S.; Prudencio, S. H. (2012b). Physico-Chemical Properties of Aged Soybean Components. *Journal of Food Processing and Preservation*, v. , n. , p. xx-xx.

Kamizake, N. K. K.; Silva, L. C. P.; Prudencio, S. H. (2012c). Effect of aging on the quality of soybean milk, firm tofu and optimal concentration of coagulant. *Journal of Food Quality*, v. , n., p. xx-xx.

Kong, E., Chang, S.K.C., Liu, Z. & WILSON, L.A. (2008). Changes of Soybean Quality during Storage as Related to Soymilk and Tofu Making. *Journal Food Science*, v. 73, p. 134-144.

Lim, B.T.; De Man, J.M.; De Man, L.; Buzzel, R.I. (1990). Yield and quality of tofu as affected by soybean and soymilk characteristics: calcium sulfate coagulant. *Journal of Food Science*, v. 55, 4, p. 1088-1092.

Matsuura, M.; Sasaki, J.; Murao, S. Studies on beta-glucosidase from soybeans that hydrolyze daidzin and gemistin: isolation and characterization of an isozyme. *Biosci Biotechnol Biochem*, v 59, n. 9, p. 1623-1627, 1995.

Meilgaard, M.C., Civille, G.V. & Carr, T. (2007) *Sensory Evaluation Techniques*. 4<sup>th</sup> ed. New York: CRC Press.

Murphy, P.A., Chen, H.P., Hauck C.C. & Wilson, L.A. (1997). Soybean protein composition and tofu quality. *Food Technology*, v. 51, p. 86-87, p. 110.

Narayan, R., Chauhan, G.S. & Verma, N.S. (1988a). Changes in the Quality of Soybean During Storage. Part 1 – Effect of Storage on some Physico-chemical Properties of Soybean. *Food Chemistry*, v. 27, p. 13-23.

Nozzolillo, C. and Bezeda, J. M. (1984). Browning of lentil seeds, concomitant loss of viability and the possible role of soluble tannins in both phenomenon. *Canadian of Journal of Plant Science*, 64, p. 815- 824.

Okubo, K.; Ijima, M.; Kobayashi, Y.; Yoshikoshi, M.; Uchida, T.; Kudou, S. Components responsible for the undesirable taste of soybeans seeds. **Bioscience Biotechnology and Biochemistry**, v. 5, p. 99-103, 1992.

Poysa, V. & Woodrow, L. (2002). Stability of soybean seed composition and its effect on soymilk and tofu yield and quality. *Food Research International*, v. 35, p. 337-345.

Poysa, V.; Woodrow, L.; Yu, K. (2006). Effect of soy protein subunit composition on tofu quality. *Food Research International*, v. 39, n. 3, p. 209-317.

Riblett, A.L., Herald, T.J., Schmidt, K.A. & Tilley, K.A. (2001). Characterization of beta-conglycinin and glycinin soy protein fractions from four selected soybean genotypes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 49, p. 4983-4989.

Rosset, M. (2007). Distribuição de ácido fítico e minerais durante o processamento de extrato hidrosolúvel de soja e tofu. Dissertação (mestrado em Ciência de Alimentos) – Centro de Ciências Agrárias. Universidade Estadual de Londrina, Londrina.

Saio, K.; Kamiya, M.; Watanabe, T. (1969). Food Processing characteristics of soybean 11S and 7S proteins Part 1. Effect of difference of protein components among soybean varieties on formation of tofu-gel. *Agricultural Biological Chemistry*, v. 33, n. 9, p. 1301-1308.

Saio, K., Nikkuni, I., Ando, Y., Otsuru, M., Terauchi, Y. & Kito, M. (1980). Soybean Quality Changes During Model Storage Studies. *Cereal Chemistry*, v. 57, n. 2, p. 77-82.

Saio, K., Kobayakawa, K. & Kito, M. (1982). Protein denaturation during model storage studies of soybeans and meals. *Cereal Chemistry*, v. 59, n. 5, p. 408-412.

Shin, I.-S., Han, J.-S., Choi, K.-D., Chung, D.-H., Choi, G.-P., & Ahn, J. (2010). Effect of isothiocyanates from horseradish (*Armoracia rusticana*) on the quality and shelf life of tofu. *Food Control*, v. 21, p. 1081-1086.

Silva, J.B.; Felberg, I.; Carrão-Panizzi, M.C.; Lee, S.Y. & Prudêncio, S.H. (2010). Relationships among sensory analysis, isoflavone and hexanal contents of soymilk powder. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, v. 55, n. 5, p. 1197-1204.

Silva, J.B.; Prudêncio, S.H Carrão-Panizzi, M.; Gregorut, C.; Fonseca, F. & Mattoso, L. (2012). Study on the flavour of soybean cultivars by sensory analysis and electronic tongue. *International Journal of Food Science & Technology*, v. 47, p. 1630-1638.

Statsoft. *Statistica* (2004) v 7.0 for Windows. Inc. Software: Tulsa.

Tay, S.L., Guo, Q. X. & Perera, C.O. (2005). Aggregation profile of 11S, 7S and 2S coagulated with GDL. *Food Chemistry*, v. 95, p. 457-462.

Thomas, R., deMAN, J.M. & deMan, L. (1989) Soymilk and tofu properties as influenced by soybean storage conditions. *Journal American Oil Chemistry Society*, v. 66, n. 6, p. 777-782.

Toda, K.; Nakamura Y.; Takahashi, K. & Komaki, K. (2009) Components in soybean seeds affecting the consistency of tofu. *JARQ*, v. 43, p. 295-300.

Wang, H.L., Swain, E.W., Kwolek, W.F. & Fehr, W.R. (1983). Effect of soybean variety on the quality of tofu. *Cereal Chemistry*, v. 60, p. 245-248.

Yuan, S., Chang, S.K.C. (2007). Texture Profile of tofu as affected by instron parameters and sample preparation, and correlations of instron hardness and springiness with sensory scores. *Journal Food Science*, v. 72, n. 2, p. 136-145.

## 6 CONCLUSÕES

O envelhecimento natural e acelerado da soja por tempo prolongado conduz a:

- alterações físicas nos grãos, que foram evidenciados pelo escurecimento, as superfícies das células paliçádicas do cotilédone tornaram-se rugosas e murchas, a taxa de sorção e a dureza dos grãos cozidos aumentaram e a umidade de equilíbrio diminuiu.
- alterações físico-químicas nos grãos, tais como formação de ácidos, diminuição de pH, capacidade de absorção de água e solubilidade das proteínas, aumento de compostos fenólicos e acidez, enquanto que o teor de fitato não variou. A variação do padrão eletroforético das proteínas ocorreu somente para a condição EA a partir de 8 meses.
- redução de extração de sólidos totais, assim como dos componentes (proteínas, lipídeos, carboidratos, cinzas e minerais).

Os compostos escuros formados durante o envelhecimento dos grãos são extraídos, resultando em extratos e tofus escuros.

A concentração ótima de coagulante ( $MgSO_4$ ) para os extratos aquosos de sojas diminui em função do aumento da temperatura de coagulação.

Os extratos de soja envelhecidas (EA e EN) requerem menor quantidade de coagulante (COC).

Grãos envelhecidos na condição de EA a partir de 7 meses resultam em menor rendimento de tofu.

Tofus preparados com soja controle são mais aceitos que aqueles preparados com soja envelhecida (6 meses de EA e 18 meses de EN) por

apresentarem as seguintes características: cor clara, uniforme e brilhante, aparência coesa, aroma e sabor adocicado e textura firme e elástica

Tofus de soja envelhecida em condições de EA (6 meses) são poucos apreciados por apresentarem as seguintes características: cor cinza com manchas escuras, aparência rugosa, aroma de fermentado, sabor fermentado, rançoso e amargo e textura fraturável, mas com aderência na cavidade oral após a mastigação.

Os tofus da soja da condição EN (18 meses) são caracterizados por atributos sensoriais com intensidades intermediárias aos tofus de sojas controle e EA.

## REFERÊNCIAS

- ABDUL-BAKI, A. A.; ANDERSON, J. D. Physiological and biochemical deterioration of seeds. In: KOZLOWSKI, T. T. (Ed.). **Seed biological**. New York: Academic Press, 1972. v. 2, cap. 4, p. 283-315.
- ABU-GHANNAM, N.; MCKENNA, B. The application of Peleg's equation to model water absorption during the soaking of red kidney beans (*Phaseolus vulgaris L.*). **Journal of Food Engineering**, Essex, v. 32, p. 391-401, 1997.
- BABAJIMOPOULOS, M.; DAMODARAM, S.; RIZVI, S. S. H.; KINSELLA, J. E. Effects of various anions on the rheological and gelling behavior of soy proteins: Thermodynamic observations. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 31, p. 1270-1273, 1983.
- BARBOSA, A. C. L.; HASSIMOTTO, N. M. A.; LAJOLO, F. M.; GENOVESE, M. I. Teores de isoflavonas e capacidade antioxidante da soja e produtos derivados. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 4, p. 921-926, 2006.
- BEDDOWS, C. G.; WONG, J. Optimization of yield and properties of silken tofu from soybean: III. Coagulant concentration, mixing and filtration pressure. **International Journal of Food Science and Technology**, Oxford, v. 22, p. 29-34, 1987.
- BELCHIOR, E. B.; SOUSA, T. C. R.; MOREIRA, J. M. M. A.; AGUIAR, J. L. P.; TEIXEIRA, L. P. **Avaliação dos impactos do uso de gesso agrícola na produção de soja em áreas do cerrado**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2010.
- BENASSI, V. T.; BENASSI, M. T.; PRUDENCIO, S. H. Brazilian soybeans cultivars: tofu-making characteristics and acceptance by consuming market. **Semina**, v. 32, suplemento 1, p. 1901-1914, 2011.
- BENEDETI, S. **Efeito do tratamento térmico em isoflavonas concentradas por nanofiltração**. 2010. 103 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2010.
- BOCK, F. L. **Resposta a nível molecular do envelhecimento artificial, natural e pré-condicionamento de sementes de soja**. 1999. 27f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Sementes) – Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 1999.
- BRACCINI, A. L.; REIS, M. S.; SEDIYAMA, C. S.; SCAPIM, C. A.; BRACCINI, M. C. L. Avaliação da qualidade fisiológica de sementes de soja, após o processo de hidratação-desidratação e envelhecimento acelerado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 34, n. 6, p. 1053-1066, 1999.
- BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein, dye binding. **Analytical Biochemistry**, New York, v.72, p. 248-254, 1976.

BREKKE, O. L. Edible oil processing: introduction. In: ERICKSON, D. R.; PRYDE, E. H., BREKKE, O. L.; MOUNTS, T. L.; FALB, R. A., (Ed.). **Handbook of soy oil processing and utilization**. Saint-Louis: American Soybean Association, 1980a. p. 67-69.

CAI, T. D.; CHANG, K. C. Dry tofu characteristics affected by soymilk solid content and coagulation time. **Journal of Food Quality**, Wastport, v. 20, n. 5, p. 391-402, 1997.

CAI, T. D.; CHANG, S. K. C. Characteristic of production-scale tofu as affected by soymilk coagulation method: propeller blade size, mixing time and coagulant concentrations. **Food Research International**, Barking, v. 31, p. 289-295, 1998.

CAI, T.; CHANG, K. C. Processing effect on soybean storage proteins and their relationship with tofu quality. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 47, n. 2, p. 720-727, 1999.

CÁRABEZ-TREJO, A.; PAREDES-LÓPEZ, O.; REYES-MORENO, C. Microstructure of cotyledon cells from hard-to-cook common beans. **Starch/Stärke**, Weinheim, v. 41, n. 9, p. 335-339, 1989.

CARRÃO-PANIZZI, M. C. Avaliação de cultivares de soja quanto aos teores de isoflavonóides. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 31, n. 10, p. 691-698, 1996b.

CARRÃO-PANIZZI, M. C.; BELÉIA, A. D. P.; KITAMURA, K.; OLIVEIRA, M. C. N. Effects of genetics and environment on isoflavone content of soybean from different regions of Brazil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 34, n. 10, p. 1787-1795, 1999.

CARRÃO-PANIZZI, M. C.; BERHOW, M.; MANDARINO, J. M. G.; OLIVEIRA, M. C. N. Environmental and genetic variation of isoflavone content of soybean seeds grown in Brazil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 44, n. 11, p. 1444-1451, 2009c.

CARRÃO-PANIZZI, M. C.; KWANYUENP, P.; ERHAN, S. Z.; LOPES, I. O. N. Genetic variation and environmental effects on beta-conglycinin and glycinin content in Brazilian soybean cultivars. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 43, p. 1105-1114, 2008.

CHANG, S. K. C. Storage-induced color and biochemical changes of soybeans: as related to soymilk and tofu making. In: CADWALLADER, K. R.; CHANG, S. K. C. (Ed.). **Chemistry, texture and flavor of soy**. Washington: American Chemical Society, 2010. Chap. 8, p. 113-130.

CHEN, P. S.; TORIBARA, I. T. Y.; WARNER, H. Microdetermination of phosphorus. **Analytical Chemistry**, Washington, v. 28, p. 1756-1758, 1956.

CIABOTTI, S.; BARCELOS, M. F. P.; PINHEIRO, A. C. M.; CLEMENTE, P. R.; LIMA, M. P. C. Características sensoriais e físicas de extratos e tofus de soja comum processada termicamente e livre de lipoxigenase. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27, n. 3, p. 643-648, 2007.

CLARK, P. K.; SNYDER, H. E. Hydro peroxide formation in soybeans seeds during storage. **Journal American Oil Chemistry**, Chicago, v. 68, n. 5, p. 346-347, may 1991.

COELHO, S. R. M.; PRUDÊNCIO, S. H.; CHRIST, D.; SAMPAIO, S. C. Storage-induced changes in protein interactions and protein solubility in common beans. **Journal of Food, Agriculture & Environment**, Helsinki, v. 9, n. 3-4, p. 44-48, 2011.

COUTINHO, M. R.; CONCEIÇÃO, W. A. S.; PARAÍSO, P. R.; ANDRADE, C. M. G.; OMOTO, E. S.; JORGE, R. M. M.; MACIEL FILHO, R.; JORGE, L. M. M. Application of the Hsu model to soybean grain hydration. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 30, n. 1, p. 19-29, 2010.

CUI, Z.; JAMES, A.T.; MYIASAKI, S.; WILSON R. F.; CARTER JUNIOR, T. E. Breeding specialty soybeans for traditional and new soyfoods. In: LIU, K. (Ed.) **Soybeans as functional foods and ingredients**. Champaign: AOCS Press, 2004. p. 290-295

CUNNIFF, P. (Ed.). Official methods of analysis of AOAC International. 16. ed. Arlington: AOAC International, 1995. 2 v.

DAMÁSIO, M. H.; COSTEL, E. Análisis sensorial descriptivo: generación de descriptores y selección de catadores. **Revista Agroquímica y Tecnología de Alimentos**, Valencia, v. 31, n. 2, p. 165-178, 1991.

DEVILLA, I. A.; COUTO, S. M.; ZOLNIER, S.; SILVA, J. S. **Variação da temperatura e umidade de grãos armazenados em silos com aeração**. Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental, **Campina Grande**, v. 8, n. 2-3, p. 284-291, 2004.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. A soja no Brasil. Sistema de produção, n. 1. 2004. Disponível em: <<http://www.cnpso.embrapa.br/producaosoja/SojanoBrasil.htm>>. Acesso em: 15 maio 2012.

FUKUSHIMA, D. Recent progress in research and technology on soybeans. **Food Science and Technology Research**, Tsukuba, v. 7, n.1, p. 8-16, 2001.

FUNCIONAIS NUTRACÊUTICOS. A soja: história, tendências e virtudes. Disponível em: <[http://www.insumos.com.br/funcionais\\_e\\_nutraceuticos/materias/76.pdf](http://www.insumos.com.br/funcionais_e_nutraceuticos/materias/76.pdf)>. Acesso em: 15 maio 2012.

GANDHI, A. P.; NENWANI, M. M.; ALI, N. Same physico-chemical characteristics of soybean, *glicine max merr*. **Food Chemistry**, London, v. 17, n. 1, p. 71-74, 1985.

GARCIA, E; LAJOLO, F. M. Starch alterations in hard-to-cook beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **Journal Food Chemistry**, London, v. 42, p. 612-615, 1994.

GUO, Shun-Tang; ONO, T. The role of composition and content of protein particles in soymilk on tofu curding by glucono- $\delta$ -lactone or calcium sulfate. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 70, n. 4, p. 258-262, May 2005

- GUO, Shun-Tang; ONO, T.; MIKAMI, M. Incorporation of soy milk lipid into protein coagulum by addition of calcium chloride. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 47, p. 901-905, 1999.
- HOU, H. J.; CHANG, S. K. C. Interconversions of isoflavones in soybeans as affected by storage. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 67, n. 6, p. 2083-2089, 2002.
- HOU, H. J.; CHANG, S. K. C. Storage conditions affect soybean color, chemical composition and tofu qualities. **Journal of Food Processing and Preservation**, Trumbull, v. 28, n. 6, p. 473-488, dec. 2004c.
- HOU, H. J.; CHANG, S. K. C. Structural characteristics of purified glicinin from soybeans stored under various conditions. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 52, p. 3792-3800, 2004a.
- HOU, H. J.; CHANG, S. K. C. Structural characteristics of purified beta-conglicinin from soybeans stored under four conditions. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 52, p. 7931-7937, 2004b.
- HOU, H. J.; CHANG, S. K. C. Yield and quality of soft tofu as affected by soybean physical damage and storage. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 46, p. 4798-4805, 1998.
- HOU, H. J.; CHANG, S. K. C. Yield and textural properties of tofu as affected by the changes of phytate content during soybean storage. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 68, n. 4, p. 1185-1191, 2003.
- HOU, H. J.; CHANG, S. K. C.; SHIH, M. C. Yield and textural properties of soft tofu as affected by coagulation method. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 62, n. 4, p. 824-827, 1997.
- IKEDA, Y.; MORITA, A.; KAJITA, E.; KAGAMIMORI, S.; KAGAWA, Y.; YONESHIMA, H. Intake of fermented soybeans, natto, is associated with reduced bone loss in postmenopausal women: japanese population-based osteoporosis - (JPOS). **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 136, n. 5, p. 1323-1328, 2006.
- ISHIGURO, T.; ONO, T.; NAKASATO, K. The localization of phytate in tofu curd formation and effects of phytate on tofu texture. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 73, n. 2, p. 67-71, 2008.
- ISHIGURO, T.; ONO, T.; WADA, T.; TSUKAMOTO, C.; KONO, Y. Changes in soybean phytate content as a result of field growing conditions and influence on tofu texture. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, Tokyo, v. 70, p. 874-880, 2006.
- JAYASENA, V.; KHU, W. S.; NASAR-ABBAS, S. M. The development and sensory acceptability of lupin-based tofu. **Journal of Food Quality**, Westport, v. 33, p. 85-97, 2010.
- JOHNSON, L. D.; WILSON, L. A. Influence of soybean variety and the method of processing in tofu manufacturing: Comparison of methods for measuring soluble solids in soymilk. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 49, p. 202-204, 1984.

JYOTHY, T. C.; SINDHU KANYA, T. C.; APPU RAO, A. G. Influence of germination on saponins in soybeans and recovery of soy sapogenol I. **Journal of Food Biochemistry**, Westport, v. 31, p. 1-13, 2007.

KAMIZAKE, N. K. K., VARÉA, G. S.; PPRUDENCIO, S. H. Physico-Chemical Properties of Aged Soybean Components. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. , n. , p. xx-xx, 2012b.

KAMIZAKE, N. K. K., YAMASHITA, F.; PRUDENCIO, S. H. Physical alterations of soybean during accelerated and natural aging. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v.--, n. --, p. xx – xxx, 2012a.

KAMIZAKE, N. K. K.; SILVA, L. C. P.; PRUDENCIO, S. H. Effect of aging on the quality of soybean milk, firm tofu and optimal concentration of coagulant. **Journal of Food Quality**, v. , n., p. xx-xx, 2012c.

KAO, F. J.; SU, N. W.; LEE, M. H. Effect of calcium sulfate concentration in soymilk on the microstructure of firm tofu and the protein constitutions in tofu whey. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 51, n. 21, p. 6211-6216, 2003.

KIM, J. J.; KIM, S. H.; HAHN, S. J.; CHUNG, I. M. Changing soybean isoflavone composition and concentration under two different storage conditions over three years. **Food Research International**, Barking, v. 38, n. 4, p. 435-444, 2005.

KOHYAMA, K.; NISHINARI, K. Rheological studies on the gelation process of soybean 7S and 11S proteins in the presence of glucono-delta-lactone. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 41, p. 8-14, 1993.

KONG, E.; CHANG, S. K. C.; LIU, Z.; WILSON, L. A. Changes of soybean quality during storage as related to soymilk and tofu making. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 73, n. 3, p. 134-144, 2008.

KROLL, R. D. Effect of pH on the binding of calcium ions by soybean proteins. **Cereal Chemistry**, Saint Paul, v. 61, n. 6, p. 490-495, 1984.

LAEMMLI, U. K. Cleavage of structural proteins during assembly of the head of bacteriophage T4. **Nature**, London, v. 227, p. 680-686, 1970.

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

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

LIU, K. **Soybeans: chemistry, technology and utilization**. New York: Chapman and Hall, 1997.

LIU, K.; PHILLIPS, R. D.; HUNG, Y-C; SHEWFELT, R. L.; McWATTERS, K. H. Hard-to-cook defect in cowpeas: storage induced and treatment-induced development. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 57, n. 5, p. 1155-1160, 1992.

- LIU, Z. S.; CHANG, S. K. C. Development of a rapid titration method for predicting optimal coagulant concentration for filled tofu. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 51, p. 5214-5221, 2003.
- LIU, Z. S.; CHANG, S. K. C. Effect of soy milk characteristics and cooking conditions on coagulant requirements for making filled tofu. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 52, p. 3405-3411, 2004.
- LIU, Z. S.; CHANG, S. K. C. Optimal coagulant concentration, soymilk and tofu quality as affected by a short-term model storage of Proto soybeans. **Journal of Food Processing and Preservation**, Westport, v. 32, p. 39-59, 2008.
- LOCHER, R.; BUCHELI, P. Comparison of soluble sugar degradation in soybean seed under simulated tropical storage conditions. **Crop Science**, Madison, v. 38, p. 1229-1235, 1998.
- MARCOS FILHO, J. Teste de envelhecimento acelerado. In: KRZYZANOWSKI, F.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA-NETO, J. B. (Ed.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, cap. 3, p. 1-24, 1999.
- MARTIN-CABREJAS, M. A.; ESTEBAN, R. M.; PEREZ, P.; MAINA, G.; WALDRON, K.W. Changes physicochemical properties of dry beans (*Phaseolus vulgaris L*) during long-term storage. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 45, p. 3223-3227, 1997.
- MATSUURA, M.; OBATA, A.; HUKUSHIMA, D. Objectionable flavor of soy milk developed during the soaking of soybeans and its control. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 54, n. 3, p. 602-605, 1989.
- MATSUURA, M.; SASAKI, J.; MURAO, S. Studies on beta-glucosidase from soybeans that hydrolyze daidzin and genistin: isolation and characterization of an isozyme. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, Tokyo, v. 59, n. 9, p. 1623-1627, 1995.
- MEILGAARD, M. C.; CIVILLE, G. V.; CARR, T. **Sensory evaluation techniques**. 4. ed. New York: CRC Press, 2007.
- MESSINA, M. J.; WOOD, C. E. Soy isoflavones, estrogen therapy, and breast cancer risk: analysis and commentary. **Nutrition Journal**, Port Townsend, v. 7, p. 7-17, 2008.
- MIYASAKA, S.; MEDINA, J. C. (Ed.). **A soja no Brasil**. Campinas: Ed. ITAL, 1981.
- MOSKOWITZ, H. R. **Product testing and sensory evaluation of food-marketing and r & d approaches**. Westport: Food and Nutrition Press, 1983.
- MULLIN, W. J.; FREGEAU-REID, J. A.; BUTLER, M.; POYSA, V.; WOODROW, L.; JESSOP, D. B.; RAYMOND, D. An interlaboratory test of a procedure to assess soybean quality for soymilk and tofu production. **Food Research International**, Ottawa, v. 34, n. 8, p. 669-677, 2001.

MURPHY, P. A.; BARUA, K.; HAUCK, C. C. Solvent extraction selection in the determination of isoflavones in soy foods. **Journal of Chromatography B**, Amsterdam, v. 777, p. 129-138, 2002.

MURPHY, P. A.; CHEN, H. P.; HAUCK, C. C.; Wilson, L. A. Soybean protein composition and tofu quality. **Food Technology**, Chicago, v. 51, n. 3, p. 86-87, p. 110-111, 1997.

NARAYAN, R.; CHAUHAN, G. S.; VERMA, N. S. Changes in the quality of soybean during storage, part 1: effect of storage on some physico-chemical properties of soybean. **Food Chemistry**, London, v. 27, p. 13-23, 1988a.

NARAYAN, R.; CHAUHAN, G. S.; VERMA, N. S. Changes in the quality of soybean during storage, part 2: effect of soybean storage on the sensory qualities of the products made there from. **Food Chemistry**, London, v. 30, p. 181-190, 1988b.

NOH, E. J.; PARK, S. Y.; PARK, J. I.; HONG, S. T.; YUN, S. E. Coagulation of soymilk and quality of tofu as affected by freeze treatment of soybeans. **Food Chemistry**, London, v. 91, p. 715-721, 2005.

NOZZOLILO, C.; BEZEDA, J. M. Browning of lentil seeds, concomitant loss of viability and the possible role of soluble tannins in both phenomenon. **Canadian Journal of Plant Science**, Ottawa, v. 64, p. 815 - 824, 1984.

OBATOLU, V. A. Effect of different coagulant on yield and quality of tofu from soymilk. **European Food Research and Technology**, Berlin, v. 226, p. 467-472, 2008.

OBHOH, G. Coagulants modulate the hypocholesterolemic effect of tofu (coagulated soymilk). **African Journal of Biotechnology**, Nairobi, v. 5, n. 3. p. 290- 294, 2006.

OHARA, T., OHHINATA, H., KARASAWA, H. and MATSUHASHI, T. Contribution of chemical constituents in soymilk to the optimum concentration of coagulant in coagulation process of milk: studies on coagulation process of soymilk in tofu and kori-tofu manufacture, part v. **Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi**, Tsukuba, v. 39, p. 586-595, 1992.

OKEZIE, B.; BELLO, A. B. Physico-chemical and functional properties of winged beans flour and isolated compared with soy isolated. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 53, n. 2, p. 450-454, 1988.

PAREDES-LÓPEZ, O.; CÁRABEZ-TREJO, A.; PALMA-TIRADO, L.; REYES-MORENO, C. Influence of hardening procedure and soaking solution on cooking quality of common beans. **Plant Foods for Human Nutrition**, Dordrecht, v. 41, p. 155-164, 1991.

PARRISH, D. J.; LEOPOLD, A. C. On the mechanism of aging soybean seeds. **Plant Physiology**, Lancaster, v. 61, p. 365-368, 1978.

PINTO, N. A. V. D.; FERNANDES, S. M.; PIRES, T. C.; PEREIRA, R. G. F. A.; CARVALHO, V. D. Avaliação dos polifenóis e açúcares em padrões de bebida do café torrado tipo expresso. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 7, n. 3, p. 193-195, 2001.

POYSA, V.; WOODROW, L. Stability of soybean seed composition and its effect on soymilk and tofu yield and quality. **Food Research International**, Ottawa, v. 35, p. 337- 345, 2002.

POYSA, V.; WOODROW, L.; YU, K. Effect of soy protein subunit composition on tofu quality. **Food Research International**, Ottawa, v. 39, n. 3, p. 209-317, 2006.

PRABHAKARAN, M. P.; PERERA, C. O.; VALIYAEETIL, S. Effect of different coagulants on the isoflavone levels and physical properties of prepared firm tofu. **Food Chemistry**, London, v. 99, n. 3, p. 492- 499, 2006. Disponível em: <[http://www.sciencedirect.com.ez78.periodicos.capes.gov.br/science?\\_ob=ArticleListURL&\\_method=list&\\_ArticleListID=2136490705&\\_sort=r&\\_st=13&view=c&\\_acct=C000037199&\\_version=1&\\_urlVersion=0&\\_userid=686187&md5=1572eb07216fe8d3d3220968e5afdee2&searchtype=a](http://www.sciencedirect.com.ez78.periodicos.capes.gov.br/science?_ob=ArticleListURL&_method=list&_ArticleListID=2136490705&_sort=r&_st=13&view=c&_acct=C000037199&_version=1&_urlVersion=0&_userid=686187&md5=1572eb07216fe8d3d3220968e5afdee2&searchtype=a)>. Acesso em: 15 maio 2012.

PRIESTLEY, D. A. **Seed aging**. Ithaca: Cornell Universty Press, 1986.

REYS-MORENO, C.; PAREDES-LÓPEZ, O. Hard-to-cook phenomenon in common beans : a review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v. 33, n. 3, p. 227-286, 1993.

RIBEIRO, H. J. S. S.; PRUDENCIO-FERREIRA, S. H.; MIYAGUE, D. T. Propriedades físicas e químicas de feijão comum preto, cultivar IAPAR 44, após envelhecimento acelerado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, n. 1, p. 165-169, 2005.

RIBLETT, A. L.; HERALD, T. J.; SCHMIDT, K. A.; TILLEY, K. A. Characterization of beta-conglycinin and glycinin soy protein fractions from four selected soybean genotypes. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 49, p. 4983-4989, 2001.

RICHTER, V. B.; ALMEIDA, T. C. A.; PRUDENCIO, S. H.; BENASSI, M. T. Proposing a ranking descriptive sensory method. **Food Quality and Preference**, v.21, p. 611-620, 2010.

ROSSET, M. **Distribuição de ácido fítico e minerais durante o processamento de extrato hidrossolúvel de soja e tofu**. 2007. 78 f. Dissertação (mestrado em Ciência de Alimentos) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2007.

SAIO, K.; KAMIYA, M.; WATANABE, T. Food Processing characteristics of soybean 11S and 7S proteins, part 1. Effect of difference of protein components among soybean varieties on formation of tofu-gel. **Agricultural and Biological Chemistry**, Tokyo, v. 33, n. 9, p. 1301-1308, 1969.

SAIO, K.; KOBAYAKAWA, K.; KITO, M. Protein denaturation during model storage studies of soybeans and meals. **Cereal Chemistry**, Saint Paul, v. 59, n.5, p. 408-412, 1982.

SAIO, K.; NIKKUNI, I.; ANDO, Y.; OTSURU, M.; TERAUCHI, Y.; KITO, M. Soybean quality changes during model storage studies. **Cereal Chemistry**, Saint Paul, n. 57, n. 2, p. 77-82, 1980.

SAIO, K.; WATANABE, T. Food use soybean 7S and 11S proteins. Extraction and functional properties of their fractions. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 38, p. 1139-1144, 1973.

SANTOS C. M. R.; MENEZES, N. L.; VILLELA, F. A. Modificações fisiológicas e bioquímicas em sementes de feijão no armazenamento. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 27, n. 1, p. 104-114, 2005.

SCHAEFER, M. J.; LOVE, J. Relationships between soybean components and tofu texture. **Journal of Food Quality**, Wastport, v. 15, p. 53-66, 1991.

SHI, Y. G., REN, L. **Soyfood technology (Chinese)**. Beijing: China's Light Industry Publisher, 1993.

SHIH, M. C.; HOU, H. J.; CHANG, S. K. C. Process optimization for soft tofu. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 62, n. 4, p. 833- 837, 1997.

SHIMADA, K.; MATSUSHITA, S. Gel formation of soybean 7S and 11S proteins. **Agricultural Biological Chemistry**, v. 44, p. 637-640, 1980.

SHIN, I.-S.; HAN, J.-S.; CHOI, K.-D.; CHUNG, D.-H.; CHOI, G.-P.; AHN, J. Effect of isothiocyanates from horseradish (*Armoracia rusticana*) on the quality and shelf life of tofu. **Food Control**, Guildford, v. 21, p. 1081-1086, 2010.

SIADAT, S. A.; MOOSAVI, A.; ZADEH, M. S. Effects of seed priming on antioxidant activity and germination characteristics of maize seeds under different ageing treatment. **Research Journal of Seed Science**, Lismore, v. 5, p. 51 - 62, 2012.

SILVA, J. B.; FELBERG, I.; CARRÃO-PANIZZI, M. C.; LEE, S.Y.; PRUDENCIO, S. H. Relationships among sensory analysis, isoflavone and hexanal contents of soymilk powder. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 55, n. 5, p. 1197-1204, 2010.

SILVA, J. B.; PRUDENCIO, S. H; CARRÃO-PANIZZI, M.; GREGORUT, C.; FONSECA, F.; MATTOSO, L. Study on the flavour of soybean cultivars by sensory analysis and electronic tongue. **International Journal of Food Science & Technology**, Osney Mead, v. 47, p. 1630-1638, 2012.

SILVA, M. A. D.; VIEIRA, R. D.; SANTOS, J. M. Influência do envelhecimento acelerado na anatomia da testa de sementes de soja. CV. Monsoy 8400. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 30, n. 2, p. 91-99, 2008.

SKURRAY, G.; CUNICH, J.; CARTER, O. The effect of different varieties of soybean and calcium ion concentration on the quality of tofu. **Food Chemistry**, London, v. 6, p. 89-95, 1980.

STANLEY, D. W.; WU, X.; PLHAK, L. C., CALDWELL, K. B. Seed coat effect in cooked reconstituted bean texture. **Journal of Texture Studies**, Dordrecht, v. 20, p. 419-429, 1989.

STATSOFT Company History. Release history: Statistica 7.0. 2004. Disponível em: <<http://www.statsoft.com/company/history/>>. Acesso em: 15 maio 2012

STONE, H; SIDEL, J. L. **Sensory evaluation practices**. 3. ed. New York: Academic Press, 2004.

SUN, N.; BREENE, W. M. Calcium sulfate concentration influence on yield and quality of tofu from five soybean varieties. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 56, n. 6, p. 1604-1607, 1991.

SWAIN, T.; HILLIS, W. E. The phenolic constituents of prumus domestica I: the quantitative analysis of phenolic constituents. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 10, n. 1, p. 63-68, 1959.

SZCZESNIAK, A. S. Sensory texture profiling- historical and sensorial perspective. **Food Technology**, Chicago, v. 52, n. 8, p. 52-57, 1998.

TAY, S. L.; XU, G. Q.; PERERA, C. O. Aggregation profile of 11S, 7S and 2S coagulated with GDL. **Food Chemistry**, London, v. 91, p. 457-462, 2005.

THOMAS, R.; deMan, J. M.; deMan, L. Soymilk and tofu properties as influenced by soybean storage conditions. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Champaign, v. 66, n. 6, p. 777-782, 1989.

THOMPSON, D. B.; ERDMAN JUNIOR, J. W. Phytic acid determination in soybeans. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 47, p. 513-517, 1982.

TODA, K.; CHIBA, K.; ONO, T. Effect of components extracted from okara on the physicochemical properties of soymilk and tofu texture. **Journal of Food Science: Food Chemistry and Toxicology**, Chicago, v. 72, n. 2, p. 108-113, mar. 2007.

TODA, K.; NAKAMURA, Y.; TAKAHASHI, K.; KOMAKI, K. Components in soybean seeds affecting the consistency of tofu. **Japan Agricultural Research Quartely**, Tsukuba, v. 43, n. 4, p. 295-300, 2009.

TRAWATHA, S. E.; TEKRONY, D. M.; HILDEBRAND, D. F. Relationship of soybean seed quality to fatty acid and C<sub>6</sub>-Aldehyde levels during storage. **Crop Science**, Madison, v. 35, p. 1415-1422, 1995. Disponível em: <<http://www.fas.usda.gov/psdonline/psdQuery.aspx>>. Acesso em: 15 maio 2012.

UTSUMI, S.; KINSELLA, J. E. Forces involved in soy protein gelation: effects of various reagents on the formation, hardness and solubility of heat-induced gels made from 7S, 11S, and soy isolate. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 50, p. 1278-1282, 1985.

VIEIRA, E. H. N.; YOKOYAMA, M. Colheita, processamento e armazenamento. In: VIEIRA, E. H. N.; RAVA, C. A. **Sementes de feijão** – Produção e tecnologia. Santo Antonio de Goiás: EMBRAPA ARROZ E FEIJÃO, p. 233-248, 2000.

WANG, C. -C. R.; CHANG, S. K. C. Physicochemical properties and tofu quality of soybean cultivar Proto. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 43, p. 3029-3034, 1995.

WANG, H. -J.; MURPHY, P. A. Isoflavone composition of american and japanese soybeans in Iowa: effects of variety, crop year and location. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 42, p. 1674 -1677, 1994b.

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

WANG, H. L.; SWAIN, E. W.; KWOLEK, W. F. Effect of soybean varieties on the yield and quality of tofu. **Cereal Chemistry**, Saint Paul, v. 60, n. 3, p. 245 - 248, 1983.

WATANABE, T. Material soybeans. In: Watanabe, T. (Ed.). **Science of tofu**. 2. nd. Kyoto: Food Journal; Shimogio-ku, 1996. p. 67-76.

WATTS, B. M.; YLIMAKI, G. L.; JEFFERY, L. E.; ELIAS, L. G. **Métodos sensoriais básicos para la evaluación de alimentos**. Ottawa: Centro Internacional de Investigaciones para el Desarrollo, 1992.

YOKOMIZO, G. K.; DUARTE, J. B.; VELLO, N. A. Correlações fenotípicas entre tamanho de grãos e outros caracteres em topocruzamentos de soja tipo alimento com tipo grão. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 35, p. 2235-2241, 2000.

YOON, H. H.; KIM, M. Physicochemical and sensory properties of tofu prepared with heat-treated soybeans. **Journal of Texture Studies**, Westport, v. 38, p. 393-403, 2007.

YOSHINO, U.; IWASAKI, Y.; OKUBO, M.; OKUYAMA, T. Effect of storage conditions on soybean protein. **Journal of the Japanese Society for Food Science and Technology**, Tokyo, v. 24, n. 10, p. 526-529, 1977.

YUAN, S.; CHANG, S. K. C. Texture profile of tofu as affected by instron parameters and sample preparation, and correlations of instron hardness and springiness with sensory scores. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 72, n. 2, p. 136-145, 2007.

YUAN, Y. J.; VELEY, O. D.; CHEN, K.; CAMPBELL, B. E.; KALER, E. W.; LENHOFF, A. M. Effect of pH and íon Ca. Induced associations of soybean proteins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 50, p. 4953-4958, 2002.

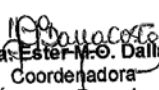
## **ANEXOS**

## ANEXO A

Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa envolvendo Seres Humanos para análises sensoriais de tofus



**COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA ENVOLVENDO SERES HUMANOS**  
 Universidade Estadual de Londrina/ Hospital Universitário Regional Norte do Paraná  
 Registro CONEP 268

Parecer PF 194/09 CAAE Nº 0141.0.268.000-09 FOLHA DE ROSTO Nº 281388	Londrina, 07 de dezembro de 2009
PESQUISADORA: <b>SANDRA HELENA PRUDÊNCIO</b> CCA/MESTRADO / BOU TORADO	
Prezada Senhora:  O "Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da Universidade Estadual de Londrina/ Hospital Universitário Regional Norte do Paraná" (Registro CONEP 268) - de acordo com as orientações da Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde/MS e Resoluções Complementares, avaliou o projeto:  <b>"EFEITO DAS CONDIÇÕES DE ENVELHECIMENTO ACELERADO E NATURAL DA SOJA (GLICINE MAX) SOBRE AS PROPRIEDADES QUÍMICAS E FÍSICAS DO GRÃO, EXTRATO AQUOSO DE SOJA E TOFU"</b>	
Situação do Projeto: <b>APROVADO</b>  Informamos que deverá ser comunicada, por escrito, qualquer modificação que ocorra no desenvolvimento da pesquisa, bem como deverá apresentar ao CEP/UJEL relatório final da pesquisa.	
<p style="text-align: center;">Atenciosamente,</p> <p style="text-align: center;">   <b>Prof. Dra. Ester M.O. Dalla Costa</b>          Coordenadora          Comitê de Ética em Pesquisa-CEP/UJEL       </p>	

NEIDE

## ANEXO B

### QUESTIONÁRIO PARA RECRUTAMENTO DE JULGADORES (Teste descritivo)

Você já deve ter ouvido falar de julgadores profissionais de vinhos que diferenciam vinhos de safras diferentes apenas pelo odor. O que torna esses julgadores capazes de tal façanha é, principalmente, o treinamento que eles recebem.

Neste momento, desejamos formar uma equipe treinada de julgadores, capacitada para medir a intensidade das características sensoriais (aparência, sabor, e textura) de tofu (queijo de soja). As amostras serão produzidas a partir de sojas estocas em diferentes condições: 30°C e 84% de umidade relativa durante 9 meses; nas condições do ambiente (sem controle de temperatura e umidade relativa) durante 18 meses e sob a -18°C e 50% de umidade relativa (controle, tempo zero). Ser um julgador não tomará muito de seu tempo e não envolverá nenhuma tarefa difícil. A equipe de julgadores se reunirá semanalmente, por um período de 30 minutos, no Laboratório de Análise Sensorial do DCTA. Esperamos que os julgadores tenham disponibilidade para participar da equipe por cerca de 6 (seis) meses.

**Se você deseja participar da equipe de julgadores, por favor, preencha este formulário.**

Se você tiver alguma dúvida, ou necessitar de informações adicionais, não hesite em entrar em contato com Neide (tel: 3327-1647, e-mail: kamizake@uel.br) ou Profa. Sandra Helena (tel: 3371-4080, e-mail: sandrah@uel.br).

Dados Pessoais:

Nome \_\_\_\_\_

Telefone trabalho \_\_\_\_\_ Telefone casa \_\_\_\_\_ E-mail \_\_\_\_\_

Horários e dias da semana disponíveis para participar do treinamento:

Indique o período em que você pretende tirar férias este ano:

1. Faixa etária: 2. Sexo:

( ) 15-25 ( ) masculino

( ) 25-35 ( ) feminino

( ) 35-50

( ) acima de 50 anos

3. Ocupação: 4. Escolaridade:

( ) aluno ( ) 1º grau

( ) funcionário ( ) 2º grau

( ) professor ( ) 3º grau

( ) outro ( ) outro

5. Indique o quanto você aprecia cada um destes produtos:

	Gosto	Nem gosto/Nem desgosto	Não gosto	Nunca provei
Queijo frescal				
Tofu				

6. Já teve a oportunidade de experimentar os seguintes produtos de soja?

- Leite de soja ( ) Sim ( ) Não

- Kinako (soja torrada e moída) ( ) Sim ( ) Não

- Misô (pasta fermentada de soja) ( ) Sim ( ) Não

- Shoyu (tempero de soja) (  ) Sim (  ) Não
- Proteína texturizada de soja (carne de soja) (  ) Sim (  ) Não
- Tofu (queijo de soja) (  ) Sim (  ) Não

7. Cite alimentos e ingredientes que você desgosta muito.

8. Você é capaz de citar três alimentos macios?

9. Descreva algumas características de textura que você percebe em queijos?

10. Especifique os alimentos que você não pode comer ou beber por razões de saúde. Explique, por favor.

11. Você se encontra em dieta por razão de saúde? Em caso positivo, explique por favor.

12. Indique se você possui:

- (  ) Doença bucal
- (  ) Dentadura
- (  ) Diabetes
- (  ) Hipertensão

13. Já participou de algum teste sensorial? (  ) Não (  ) Sim  
De que tipo? Aceitação (  ) - Discriminativo (  ) - Descritivo (  )

## ANEXO C

### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TESTE DESCRITIVO)

Gostaríamos de convidá-lo para participar da equipe de análise sensorial de tofu (queijo de soja). Desejamos formar uma equipe treinada de julgadores, capacitada para medir a intensidade das características sensoriais de aparência, gosto, sabor e textura em amostras de tofu elaboradas pelo Projeto de Pesquisa “Efeito das condições de envelhecimento Acelerado e Natural da soja (Glicine max), sobre as propriedades químicas e físicas do grão, extrato aquoso de soja e tofu”. O tofu é um produto de soja semelhante a um queijo e é consumido rotineiramente nos países orientais e também no Brasil. O tofu será produzido a partir de soja armazenada sob diferentes condições: envelhecimento acelerado (30°C e 84% de umidade relativa durante nove meses); envelhecimento natural (temperatura e umidade relativa do ambiente por 18 meses) e controle, representando tempo 0 (zero) de envelhecimento (-18°C e 50% de umidade relativa). Para o preparo do tofu somente serão utilizados grãos em condições apropriadas, sendo um ingrediente seguro. O preparo do tofu seguirá as Boas Práticas de Fabricação, resultando em um alimento seguro que não trará nenhum risco à sua saúde. Algumas pessoas podem apresentar flatulência (gases) devido à ingestão de tofu, mas a ocorrência é rara. Caso isso aconteça, você poderá sair da equipe e, deixando de consumir o produto seu organismo voltará ao normal. Antes da etapa de avaliação das amostras de tofu, os julgadores serão selecionados e treinados para avaliar tais amostras. Nesta etapa, será necessária a ingestão de soluções (em água) de açúcar, sal de cozinha, ácido cítrico (próprio de frutas) e cafeína (substância presente no café) em baixas concentrações e também aspirar (cheirar) substâncias de origem alimentícias comuns no dia a dia. A avaliação de tais substâncias não causa qualquer dano ou risco a sua saúde. A sua participação nos testes irá requerer 30 minutos semanalmente durante aproximadamente seis meses, conforme descrito no **Questionário para Recrutamento de Julgadores**, em anexo.

A qualquer momento, você poderá entrar em contato com o pesquisador responsável (tel. trab.: 3371-4080, tel. res.: 3321-1856) e/ou com o Comitê de Ética (tel: 3371-2490) cep\_uel@uel.br, para sanar eventuais dúvidas em relação ao projeto, seus riscos e benefícios. Você poderá deixar de participar da pesquisa em qualquer fase, sua participação não envolverá quaisquer custos, e a sua identidade será preservada. Ao participar, estará colaborando para o desenvolvimento de uma tese de doutorado e o aperfeiçoamento de um profissional.

Londrina, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 200\_\_.

\_\_\_\_\_  
Assinatura do Pesquisador Responsável  
(Profa. Dra. Sandra Helena Prudêncio)  
telefone/e-mail: 3371-4080 / sandrah@uel.br  
Lab. Análise Sensorial do DCTA/CCA/UUEL

Eu, \_\_\_\_\_, declaro que fui satisfatoriamente esclarecido pelo pesquisador, em relação à minha participação no projeto de pesquisa “Efeito das condições de envelhecimento acelerado e natural da soja (Glicine max), sobre as propriedades químicas e físicas no grão, extrato aquoso e tofu”, na qualidade de provador ou julgador do produto.

Além disso, não coloco qualquer objeção quanto ao uso dos dados originados neste projeto para fins didáticos e de divulgação em revistas científicas brasileiras ou estrangeiras.

Desta forma, sem ter sido submetido a qualquer tipo de pressão ou coação, concordo voluntariamente e expresse meu total consentimento em participar do projeto.

\_\_\_\_\_  
Assinatura do Participante  
Telefone/e-mail

**ANEXO D**  
**QUESTIONÁRIO PARA RECRUTAMENTO DE JULGADORES**  
**(Teste de Aceitação)**

Desejamos formar uma equipe de julgadores para avaliar a aceitação de tofu. As amostras serão produzidas a partir de sojas estocas em diferentes condições: 30°C e 84% de umidade relativa durante 9 meses; nas condições do ambiente (sem controle de temperatura e umidade relativa) durante 18 meses e sob a -18°C e 50% de umidade relativa (controle, tempo zero). Ser um julgador não tomará muito seu tempo e não envolverá nenhuma tarefa difícil. A prova será realizada no Laboratório de Análise Sensorial do DCTA, leva em torno de 15 minutos e você poderá fazê-la no horário em que tiver maior disponibilidade.

**Se você deseja participar do teste, por favor, preencha este formulário.** Se você tiver alguma dúvida, ou necessitar de informações adicionais, não hesite em entrar em contato com Neide (tel: 3327-1647, e-mail: kamizake@uel.br) ou Profa. Sandra Helena (tel: 3371-4080, e-mail: sandrah@uel.br).

Dados Pessoais:

Nome \_\_\_\_\_

Telefone trabalho \_\_\_\_\_ Telefone casa \_\_\_\_\_ Email \_\_\_\_\_

1. Faixa etária: 2. Sexo:

( ) 15-25 ( ) masculino

( ) 25-35 ( ) feminino

( ) 35-50

( ) acima de 50 anos

3. Ocupação: 4. Escolaridade:

( ) aluno ( ) 1º grau

( ) funcionário ( ) 2º grau

( ) professor ( ) 3º grau

( ) outro ( ) outro

5. Gosta de produtos de soja, tais como?

- Leite de soja ( ) Sim ( ) Não

- Kinako (soja torrada e moída) ( ) Sim ( ) Não

- Misô (pasta fermentada de soja) ( ) Sim ( ) Não

- Shoyu (tempero de soja) ( ) Sim ( ) Não

- Proteína texturizada de soja (carne de soja) ( ) Sim ( ) Não

- Tofu (queijo de soja) ( ) Sim ( ) Não

7. Frequência de consumo de queijo:

( ) Nunca

( ) Ocasionalmente - \_\_\_\_\_ vezes por ano

( ) Moderadamente - \_\_\_\_\_ vezes por mês

( ) Frequentemente - \_\_\_\_\_ vezes por semana

10. Frequência de consumo de *tofu*:

( ) Nunca

( ) Ocasionalmente - \_\_\_\_\_ vezes por ano

( ) Moderadamente - \_\_\_\_\_ vezes por mês

( ) Frequentemente - \_\_\_\_\_ vezes por semana

**ANEXO E**  
**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**  
**(TESTE DE ACEITAÇÃO)**

A função do julgador para o teste de aceitação é avaliar o quanto gostou das amostras de tofu fornecidas durante a sessão de avaliação previamente agendada pelo Projeto de Pesquisa “Efeito das condições de envelhecimento Acelerado e Natural da soja (Glicine max), sobre as propriedades químicas e físicas do grão, extrato aquoso de soja e tofu”. O tofu (queijo de soja) é um produto de soja e consumido rotineiramente nos países orientais e também no Brasil. Será produzido a partir de soja armazenada sob diferentes condições: Envelhecimento Acelerado (30°C e 84% de umidade relativa durante nove meses); Envelhecimento Natural (temperatura e umidade relativa do ambiente por 18 meses) e Controle, representando tempo 0 (zero) de envelhecimento (-18°C e 50% de umidade relativa). A ingestão de tal produto não trará nenhum risco à sua saúde por se tratar de um alimento seguro. A sua participação no teste irá requerer 30 minutos semanalmente durante aproximadamente seis meses, conforme descrito no **Questionário para Recrutamento de Julgadores**, em anexo.

A qualquer momento, você poderá entrar em contato com o pesquisador responsável (tel. trab.: 3371-4080, tel. res.: 3321-1856) e/ou com o Comitê de Ética (tel: 3371-2490) cep\_uel@uel.br, caso haja algum efeito inesperado. Você poderá deixar de participar da pesquisa em qualquer fase, sua participação não envolverá quaisquer custos, e a sua identidade será preservada. Ao participar, estará colaborando para o desenvolvimento de uma tese de doutorado e o aperfeiçoamento de um profissional.

Londrina, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 200\_\_\_\_\_.

\_\_\_\_\_  
Assinatura do Pesquisador Responsável  
(Profa. Dra. Sandra Helena Prudêncio)  
telefone/e-mail: 3371-4080 / sandrah@uel.br  
Lab. Análise Sensorial do DCTA/CCA/UJEL

Eu, \_\_\_\_\_, declaro que fui satisfatoriamente esclarecido pelo pesquisador, em relação à minha participação no projeto de pesquisa “Efeito das condições de envelhecimento acelerado e natural da soja (*Glicine max*), sobre as propriedades químicas e físicas no grão, extrato aquoso e tofu”, na qualidade de provador ou julgador do produto.

Além disso, não coloco qualquer objeção quanto ao uso dos dados originados neste projeto para fins didáticos e de divulgação em revistas científicas brasileiras ou estrangeiras.

Desta forma, sem ter sido submetido a qualquer tipo de pressão ou coação, concordo voluntariamente e expresso meu total consentimento em participar do projeto.

\_\_\_\_\_  
Assinatura do Participante  
Telefone/e-mail:

**ANEXO F**  
Níveis de significância para julgadores em função da discriminação das amostras  
( $F_{\text{amostras}}$ )

Julgador	Aparência				Aroma		
	Cor cinza	Uniformidade de cor	Brilho	Rugosidade	Coesão	Adocicado	Fermentado
Julgador 1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Julgador 2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Julgador 3	0,00	0,00	0,12	0,00	0,00	0,00	0,00
Julgador 4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Julgador 5	0,00	0,00	0,00	0,00	0,16	0,00	0,00
Julgador 6	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Julgador 7	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Julgador 8	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Julgador 9	0,00	0,00	0,17	0,61	0,03	0,00	0,03
Julgador 10	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Julgador 11	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Julgador 12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Julgador 13	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Julgador 14	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

$p \leq 0,30$  = julgador aprovado

Julgador	Sabor					Textura			Aderência residual
	Adocicado	Amargo	Adstringente	Ranço	Fermentado	Firmeza	Fraturabilidade	Elasticidade	
Julgador 1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Julgador 2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Julgador 3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Julgador 4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Julgador 5	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Julgador 6	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Julgador 7	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Julgador 8	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Julgador 9	0,01	0,15	0,02	0,01	0,06	0,00	0,99	0,76	0,00
Julgador 10	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Julgador 11	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Julgador 12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Julgador 13	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Julgador 14	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

$p \leq 0,30$  = julg

## ANEXO G

Níveis de significância para julgadores em função da repetibilidade ( $F_{\text{repetição}}$ )

Julgador	Aparência				Aroma		
	Cor cinza	Uniformidade de cor	Brilho	Rugosidade	Aglomerado	Adocicado	Fermentado
Julgador 1	0,57	0,44	0,01	0,26	0,09	0,47	0,65
Julgador 2	0,90	0,57	0,59	0,87	0,06	0,79	0,28
Julgador 3	0,34	0,74	0,49	0,35	0,82	0,13	0,37
Julgador 4	0,44	0,83	0,91	0,24	0,46	0,32	0,44
Julgador 5	0,63	0,45	0,87	0,62	0,43	0,56	0,35
Julgador 6	0,44	0,44	0,93	0,48	0,19	0,25	0,35
Julgador 7	0,61	0,00	0,38	0,46	0,37	0,74	0,13
Julgador 8	0,50	0,18	0,25	0,44	0,79	0,35	0,32
Julgador 9	0,44	0,44	0,07	0,80	0,08	0,47	0,30
Julgador 10	0,34	0,44	0,41	0,11	0,48	0,22	0,81
Julgador 11	0,44	0,44	0,55	0,38	0,59	0,20	0,20
Julgador 12	0,83	0,80	0,50	0,34	0,82	0,75	0,63
Julgador 13	0,26	0,61	0,59	0,94	0,20	0,89	0,72
Julgador 14	0,44	0,44	0,05	0,58	0,62	0,30	0,11

p  $\geq$  0,05 = julgador aprovado

Julgador	Sabor					Textura			Aderência residual
	Adocicado	Amargo	Adstringente	Ranço	Fermentado	Firmeza	Fraturabilidade	Elasticidade	
Julgador 1	0,23	0,68	0,61	0,22	0,58	0,63	0,50	0,38	0,16
Julgador 2	0,49	0,78	0,76	0,21	0,42	0,34	0,36	0,60	0,65
Julgador 3	0,26	0,96	0,79	0,62	0,28	0,36	0,44	0,16	0,76
Julgador 4	0,44	0,68	0,54	0,50	0,78	0,23	0,20	0,47	1,00
Julgador 5	0,39	0,42	0,29	0,18	0,31	0,71	0,24	0,82	0,51
Julgador 6	0,58	0,40	0,29	0,32	0,42	0,40	0,89	0,16	0,54
Julgador 7	0,94	0,17	0,18	0,11	0,22	0,44	0,34	0,66	0,08
Julgador 8	0,25	0,48	0,55	0,55	0,05	0,55	0,47	0,79	0,44
Julgador 9	0,92	0,68	0,26	0,33	0,18	0,03	0,44	0,71	0,38
Julgador 10	0,60	0,90	0,01	0,53	0,37	0,94	0,01	0,43	0,49
Julgador 11	0,82	0,75	0,23	0,02	0,27	0,99	0,68	0,55	0,59
Julgador 12	0,36	0,50	0,85	1,00	0,69	0,48	0,91	0,61	0,74
Julgador 13	0,31	0,98	0,85	0,83	0,93	0,91	0,64	0,42	0,67
Julgador 14	0,09	0,96	0,11	0,29	0,32	0,09	0,58	0,38	0,95

p  $\geq$  0,05 = julgador aprovado

## ANEXO H

## Médias da equipe e de cada jogador para cada atributo

		ATRIBUTOS															
Julgador		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
Julgador 1	1	0,6 <sup>1</sup>	8,4 <sup>3</sup>	7,7 <sup>3</sup>	0,8 <sup>1</sup>	7,8 <sup>3</sup>	7,6 <sup>3</sup>	0,9 <sup>1</sup>	7,6 <sup>3</sup>	1,1 <sup>1</sup>	1,2 <sup>1</sup>	1,4 <sup>1</sup>	0,8 <sup>1</sup>	7,7 <sup>3</sup>	1,3 <sup>1</sup>	7,5 <sup>3</sup>	1,6 <sup>1</sup>
	2	8,4 <sup>3</sup>	0,6 <sup>1</sup>	1,8 <sup>1</sup>	7,4 <sup>3</sup>	1,4 <sup>1</sup>	1,2 <sup>1</sup>	7,5	1,2 <sup>1</sup>	7,2 <sup>3</sup>	7,2 <sup>3</sup>	7,1 <sup>3</sup>	7,2 <sup>3</sup>	1,4 <sup>1</sup>	7,6 <sup>3</sup>	1,6 <sup>1</sup>	7,7 <sup>3</sup>
	3	4,1 <sup>2</sup>	6,6 <sup>2</sup>	6,0 <sup>2</sup>	6,0 <sup>2</sup>	4,3 <sup>2</sup>	3,5 <sup>2</sup>	6,4 <sup>2</sup>	3,4 <sup>2</sup>	5,9 <sup>2</sup>	5,9 <sup>2</sup>	4,6 <sup>2</sup>	3,8 <sup>2</sup>	4,4 <sup>2</sup>	5,1 <sup>2</sup>	4,3 <sup>2</sup>	3,1 <sup>2</sup>
Julgador 2	1	0,6 <sup>1</sup>	8,4 <sup>3</sup>	8,0 <sup>3</sup>	2,6 <sup>1</sup>	7,8 <sup>3</sup>	6,6 <sup>3</sup>	0,7 <sup>1</sup>	6,8 <sup>3</sup>	1,0 <sup>1</sup>	2,9 <sup>1</sup>	0,7 <sup>1</sup>	0,8 <sup>1</sup>	8,1 <sup>3</sup>	7,0 <sup>3</sup>	8,1 <sup>3</sup>	0,8 <sup>1</sup>
	2	8,2 <sup>3</sup>	0,6 <sup>1</sup>	3,5 <sup>1</sup>	8,2 <sup>3</sup>	0,9 <sup>1</sup>	2,1 <sup>1</sup>	7,3 <sup>3</sup>	0,8 <sup>1</sup>	7,8 <sup>3</sup>	8,0 <sup>3</sup>	7,4 <sup>3</sup>	7,4 <sup>3</sup>	1,2 <sup>1</sup>	2,0 <sup>1</sup>	0,9 <sup>1</sup>	7,0 <sup>3</sup>
	3	4,7 <sup>2</sup>	4,6 <sup>2</sup>	6,4 <sup>2</sup>	8,0 <sup>2</sup>	1,5 <sup>2</sup>	2,2 <sup>2</sup>	6,4 <sup>2</sup>	0,8 <sup>1</sup>	6,6 <sup>2</sup>	7,7 <sup>2</sup>	5,9 <sup>2</sup>	6,7 <sup>2</sup>	2,2 <sup>2</sup>	2,2 <sup>2</sup>	2,1 <sup>2</sup>	6,3 <sup>2</sup>
Julgador 3	1	0,8 <sup>1</sup>	8,1 <sup>3</sup>	7,2 <sup>3</sup>	1,3 <sup>1</sup>	7,3 <sup>3</sup>	7,1 <sup>3</sup>	1,6 <sup>1</sup>	7,1 <sup>3</sup>	1,7 <sup>1</sup>	1,7 <sup>1</sup>	1,7 <sup>1</sup>	1,6 <sup>1</sup>	7,1 <sup>3</sup>	1,6 <sup>1</sup>	7,1 <sup>3</sup>	1,7 <sup>1</sup>
	2	8,0 <sup>3</sup>	0,9 <sup>1</sup>	3,4 <sup>1</sup>	7,2 <sup>3</sup>	1,5 <sup>1</sup>	1,8 <sup>1</sup>	7,1 <sup>3</sup>	1,6 <sup>1</sup>	7,2 <sup>3</sup>	7,1 <sup>3</sup>	7,1 <sup>3</sup>	7,1 <sup>3</sup>	7,0 <sup>2</sup>	1,6 <sup>1</sup>	1,7 <sup>1</sup>	7,2 <sup>3</sup>
	3	5,4 <sup>2</sup>	3,5 <sup>2</sup>	3,6 <sup>2</sup>	5,7 <sup>2</sup>	3,6 <sup>2</sup>	3,6 <sup>2</sup>	5,4 <sup>2</sup>	3,4 <sup>2</sup>	5,6 <sup>2</sup>	5,7 <sup>2</sup>	5,9 <sup>2</sup>	5,7 <sup>2</sup>	3,4 <sup>1</sup>	5,3 <sup>3</sup>	3,3 <sup>2</sup>	5,6 <sup>2</sup>
Julgador 4	1	0,5 <sup>1</sup>	8,1 <sup>3</sup>	7,8 <sup>3</sup>	0,9 <sup>1</sup>	7,9 <sup>3</sup>	7,9 <sup>3</sup>	0,5 <sup>1</sup>	7,7 <sup>3</sup>	0,8 <sup>1</sup>	1,0 <sup>1</sup>	0,9 <sup>1</sup>	0,7 <sup>1</sup>	7,9 <sup>3</sup>	0,8 <sup>1</sup>	7,8 <sup>3</sup>	0,7 <sup>1</sup>
	2	8,5 <sup>3</sup>	0,9 <sup>1</sup>	1,1 <sup>1</sup>	7,5 <sup>3</sup>	0,9 <sup>1</sup>	1,0 <sup>1</sup>	7,9 <sup>3</sup>	0,9 <sup>1</sup>	7,5 <sup>3</sup>	7,9 <sup>3</sup>	7,7 <sup>3</sup>	7,7 <sup>3</sup>	0,8 <sup>1</sup>	7,8 <sup>3</sup>	0,9 <sup>1</sup>	7,9 <sup>3</sup>
	3	4,2 <sup>2</sup>	5,6 <sup>2</sup>	2,8 <sup>2</sup>	6,0 <sup>2</sup>	6,2 <sup>2</sup>	6,2 <sup>2</sup>	4,3 <sup>2</sup>	2,9 <sup>2</sup>	5,8 <sup>2</sup>	5,8 <sup>2</sup>	4,2 <sup>2</sup>	4,6 <sup>2</sup>	2,4 <sup>2</sup>	6,7 <sup>2</sup>	2,9 <sup>2</sup>	6,5 <sup>2</sup>
Julgador 5	1	0,7 <sup>1</sup>	8,3 <sup>3</sup>	7,5 <sup>3</sup>	1,3 <sup>1</sup>	7,6 <sup>3</sup>	7,9 <sup>3</sup>	1,1 <sup>1</sup>	8,0 <sup>3</sup>	1,2 <sup>1</sup>	1,3 <sup>1</sup>	1,3 <sup>1</sup>	1,1 <sup>1</sup>	7,8 <sup>3</sup>	1,2 <sup>1</sup>	7,8 <sup>3</sup>	1,4 <sup>1</sup>
	2	8,3 <sup>3</sup>	0,7 <sup>1</sup>	1,1 <sup>1</sup>	7,7 <sup>3</sup>	5,4 <sup>2</sup>	1,0 <sup>1</sup>	7,8 <sup>3</sup>	1,1 <sup>1</sup>	7,7 <sup>3</sup>	7,6 <sup>3</sup>	7,8 <sup>3</sup>	7,7 <sup>3</sup>	1,0 <sup>1</sup>	7,9 <sup>3</sup>	1,1 <sup>1</sup>	7,9 <sup>3</sup>
	3	5,6 <sup>2</sup>	3,3 <sup>2</sup>	3,4 <sup>2</sup>	5,8 <sup>2</sup>	3,4 <sup>1</sup>	5,2 <sup>2</sup>	5,1 <sup>2</sup>	3,1 <sup>2</sup>	5,4 <sup>2</sup>	3,4 <sup>2</sup>	3,7 <sup>2</sup>	4,1 <sup>2</sup>	3,9 <sup>2</sup>	5,4 <sup>2</sup>	4,1 <sup>2</sup>	5,5 <sup>2</sup>
Julgador 6	1	0,7 <sup>1</sup>	8,1 <sup>3</sup>	8,0 <sup>3</sup>	0,6 <sup>1</sup>	8,1 <sup>3</sup>	4,6 <sup>3</sup>	0,7 <sup>1</sup>	4,5 <sup>3</sup>	0,6 <sup>1</sup>	0,7 <sup>1</sup>	0,7 <sup>1</sup>	0,7 <sup>1</sup>	7,9 <sup>3</sup>	0,7 <sup>1</sup>	7,6 <sup>3</sup>	0,8 <sup>1</sup>
	2	8,1 <sup>3</sup>	0,7 <sup>1</sup>	1,1 <sup>1</sup>	8,0 <sup>3</sup>	0,8 <sup>1</sup>	0,7 <sup>1</sup>	4,6 <sup>3</sup>	0,7 <sup>1</sup>	7,4 <sup>3</sup>	7,0 <sup>3</sup>	6,4 <sup>3</sup>	6,0 <sup>3</sup>	0,8 <sup>1</sup>	8,1 <sup>3</sup>	0,8 <sup>1</sup>	8,1 <sup>3</sup>
	3	5,9 <sup>2</sup>	3,0 <sup>2</sup>	3,9 <sup>2</sup>	4,8 <sup>2</sup>	4,0 <sup>2</sup>	1,7 <sup>2</sup>	2,2 <sup>2</sup>	1,9 <sup>2</sup>	2,8 <sup>2</sup>	2,8 <sup>2</sup>	2,8 <sup>2</sup>	2,7 <sup>2</sup>	3,5 <sup>2</sup>	5,7 <sup>2</sup>	2,9 <sup>2</sup>	4,7 <sup>2</sup>
Julgador 7	1	0,6 <sup>1</sup>	8,2 <sup>3</sup>	7,9 <sup>3</sup>	0,8 <sup>1</sup>	8,0 <sup>3</sup>	7,8 <sup>3</sup>	0,6 <sup>1</sup>	8,0 <sup>3</sup>	0,6 <sup>1</sup>	0,7 <sup>1</sup>	0,7 <sup>1</sup>	0,7 <sup>1</sup>	7,9	0,8 <sup>1</sup>	7,9 <sup>3</sup>	0,8 <sup>1</sup>
	2	7,6 <sup>3</sup>	0,9 <sup>1</sup>	0,9 <sup>1</sup>	7,4 <sup>3</sup>	1,1 <sup>1</sup>	0,6 <sup>1</sup>	8,1	0,6 <sup>1</sup>	7,9 <sup>3</sup>	7,9 <sup>3</sup>	7,8 <sup>3</sup>	7,8 <sup>3</sup>	0,8 <sup>1</sup>	7,7 <sup>3</sup>	0,9 <sup>1</sup>	7,7 <sup>3</sup>
	3	2,3 <sup>2</sup>	2,3 <sup>2</sup>	2,5 <sup>2</sup>	7,0 <sup>2</sup>	2,4 <sup>2</sup>	2,2 <sup>2</sup>	6,7 <sup>2</sup>	2,7 <sup>2</sup>	6,5 <sup>2</sup>	6,4 <sup>2</sup>	6,3 <sup>2</sup>	6,3 <sup>2</sup>	2,1 <sup>2</sup>	6,6 <sup>2</sup>	2,4 <sup>2</sup>	6,2 <sup>2</sup>
Julgador 8	1	0,9 <sup>1</sup>	8,0 <sup>3</sup>	8,0 <sup>3</sup>	0,9 <sup>1</sup>	8,0 <sup>3</sup>	8,0 <sup>3</sup>	0,9 <sup>1</sup>	7,9 <sup>3</sup>	0,9 <sup>1</sup>	0,9 <sup>1</sup>	0,9 <sup>1</sup>	0,9 <sup>1</sup>	7,9 <sup>3</sup>	0,8 <sup>1</sup>	8,0 <sup>3</sup>	0,8 <sup>1</sup>
	2	8,0 <sup>3</sup>	0,9 <sup>1</sup>	1,0 <sup>1</sup>	8,0 <sup>3</sup>	0,9 <sup>1</sup>	0,9 <sup>1</sup>	8,1 <sup>3</sup>	0,9 <sup>1</sup>	7,9 <sup>3</sup>	7,8 <sup>3</sup>	7,9 <sup>3</sup>	7,9 <sup>3</sup>	0,9 <sup>1</sup>	8,2 <sup>3</sup>	1,0 <sup>1</sup>	8,0 <sup>3</sup>
	3	5,4 <sup>2</sup>	4,0 <sup>2</sup>	3,9 <sup>2</sup>	5,4 <sup>2</sup>	3,7 <sup>2</sup>	3,9 <sup>2</sup>	4,8 <sup>2</sup>	4,1 <sup>2</sup>	5,2 <sup>2</sup>	5,2 <sup>2</sup>	5,2 <sup>2</sup>	5,2 <sup>2</sup>	4,0 <sup>2</sup>	5,4 <sup>2</sup>	3,8 <sup>2</sup>	5,4 <sup>2</sup>
Julgador 9	1	0,5 <sup>1</sup>	8,5 <sup>3</sup>	6,5 <sup>3</sup>	2,2 <sup>1</sup>	5,1 <sup>3</sup>	6,8 <sup>3</sup>	0,5 <sup>1</sup>	7,0 <sup>3</sup>	1,2 <sup>1</sup>	1,8 <sup>1</sup>	0,5 <sup>1</sup>	0,5 <sup>1</sup>	5,8 <sup>3</sup>	6,8 <sup>3</sup>	2,9 <sup>2</sup>	0,7 <sup>1</sup>
	2	8,5 <sup>3</sup>	0,5 <sup>1</sup>	3,4 <sup>1</sup>	4,4 <sup>3</sup>	1,7 <sup>1</sup>	2,3 <sup>1</sup>	2,9 <sup>3</sup>	1,3 <sup>1</sup>	3,6 <sup>2</sup>	5,6 <sup>3</sup>	5,8 <sup>3</sup>	3,2 <sup>3</sup>	0,8 <sup>1</sup>	6,6 <sup>1</sup>	3,3 <sup>3</sup>	7,7 <sup>3</sup>
	3	4,4 <sup>2</sup>	4,5 <sup>2</sup>	4,2 <sup>2</sup>	3,3 <sup>2</sup>	3,3 <sup>2</sup>	3,5 <sup>2</sup>	1,8 <sup>2</sup>	2,9 <sup>2</sup>	3,7 <sup>3</sup>	4,4 <sup>2</sup>	5,1 <sup>2</sup>	2,1 <sup>2</sup>	1,7 <sup>2</sup>	6,7 <sup>2</sup>	2,1 <sup>1</sup>	5,3 <sup>2</sup>
Julgador 10	1	0,7 <sup>1</sup>	8,5 <sup>3</sup>	7,6 <sup>3</sup>	1,0 <sup>1</sup>	7,7 <sup>3</sup>	7,5 <sup>3</sup>	1,1 <sup>1</sup>	7,8 <sup>3</sup>	1,2 <sup>1</sup>	1,1 <sup>1</sup>	1,9 <sup>1</sup>	1,0 <sup>1</sup>	7,8 <sup>3</sup>	1,4 <sup>1</sup>	7,4 <sup>3</sup>	1,2 <sup>1</sup>
	2	8,3 <sup>3</sup>	0,7 <sup>1</sup>	1,7 <sup>1</sup>	7,4 <sup>3</sup>	1,3 <sup>1</sup>	1,2 <sup>1</sup>	7,5 <sup>3</sup>	1,1 <sup>1</sup>	7,5 <sup>3</sup>	7,5 <sup>3</sup>	7,0 <sup>3</sup>	7,0 <sup>3</sup>	1,3 <sup>1</sup>	7,7 <sup>3</sup>	1,5 <sup>1</sup>	7,6 <sup>3</sup>
	3	4,0 <sup>2</sup>	6,9 <sup>2</sup>	6,2 <sup>2</sup>	4,8 <sup>2</sup>	2,4 <sup>2</sup>	2,3 <sup>2</sup>	6,9 <sup>2</sup>	2,4 <sup>2</sup>	6,5 <sup>2</sup>	5,3 <sup>2</sup>	4,4 <sup>2</sup>	4,1 <sup>2</sup>	4,3 <sup>2</sup>	6,3 <sup>2</sup>	4,5 <sup>2</sup>	2,6 <sup>2</sup>
Julgador 11	1	0,5 <sup>1</sup>	8,5 <sup>3</sup>	7,2 <sup>3</sup>	1,0 <sup>1</sup>	7,3 <sup>3</sup>	7,0 <sup>3</sup>	1,4 <sup>1</sup>	7,1 <sup>3</sup>	1,4 <sup>1</sup>	1,2 <sup>1</sup>	1,2 <sup>1</sup>	1,3 <sup>1</sup>	7,2 <sup>3</sup>	0,9 <sup>1</sup>	6,3 <sup>3</sup>	0,8 <sup>1</sup>
	2	8,5 <sup>3</sup>	0,5 <sup>1</sup>	1,1 <sup>1</sup>	7,0 <sup>3</sup>	1,2 <sup>1</sup>	1,3 <sup>1</sup>	6,7 <sup>3</sup>	1,4 <sup>1</sup>	7,5 <sup>3</sup>	7,2 <sup>3</sup>	7,3 <sup>3</sup>	7,4 <sup>3</sup>	1,0 <sup>1</sup>	7,8 <sup>3</sup>	0,9 <sup>1</sup>	7,9 <sup>3</sup>
	3	2,9 <sup>2</sup>	6,5 <sup>2</sup>	4,6 <sup>2</sup>	4,2 <sup>2</sup>	4,9 <sup>2</sup>	4,8 <sup>2</sup>	4,3 <sup>2</sup>	4,0 <sup>2</sup>	5,6 <sup>2</sup>	5,1 <sup>2</sup>	4,5 <sup>2</sup>	4,1 <sup>2</sup>	2,2 <sup>2</sup>	6,2 <sup>2</sup>	2,7 <sup>2</sup>	6,3 <sup>2</sup>
Julgador 12	1	1,4 <sup>1</sup>	7,7 <sup>3</sup>	7,5 <sup>3</sup>	1,8 <sup>1</sup>	7,1 <sup>3</sup>	7,5 <sup>3</sup>	1,4 <sup>1</sup>	7,5 <sup>3</sup>	1,8 <sup>1</sup>	1,8 <sup>1</sup>	1,7 <sup>1</sup>	1,8 <sup>1</sup>	7,5 <sup>3</sup>	1,6 <sup>1</sup>	7,5 <sup>3</sup>	1,6 <sup>1</sup>
	2	7,7 <sup>3</sup>	1,3 <sup>1</sup>	2,0 <sup>1</sup>	7,2 <sup>3</sup>	2,1 <sup>1</sup>	1,8 <sup>1</sup>	7,1 <sup>3</sup>	1,8 <sup>1</sup>	7,6 <sup>3</sup>	7,5 <sup>3</sup>	7,4 <sup>3</sup>	7,4 <sup>3</sup>	1,4 <sup>1</sup>	7,6 <sup>3</sup>	1,8	7,3 <sup>3</sup>
	3	6,1 <sup>2</sup>	2,8 <sup>2</sup>	3,1 <sup>2</sup>	6,4 <sup>2</sup>	2,5 <sup>2</sup>	3,6 <sup>2</sup>	6,0 <sup>2</sup>	4,0 <sup>2</sup>	6,1 <sup>2</sup>	6,1 <sup>2</sup>	6,3 <sup>2</sup>	6,2 <sup>2</sup>	3,0 <sup>2</sup>	6,0 <sup>2</sup>	2,6 <sup>2</sup>	6,3 <sup>2</sup>
Julgador 13	1	0,9 <sup>1</sup>	8,0 <sup>3</sup>	7,8 <sup>3</sup>	1,0 <sup>1</sup>	8,0 <sup>3</sup>	7,6 <sup>3</sup>	1,3 <sup>1</sup>	7,6 <sup>3</sup>	1,0 <sup>1</sup>	0,9 <sup>1</sup>	1,0 <sup>1</sup>	1,1 <sup>1</sup>	7,5 <sup>3</sup>	0,9 <sup>1</sup>	7,9 <sup>3</sup>	0,9 <sup>1</sup>
	2	7,9 <sup>3</sup>	1,0 <sup>1</sup>	1,0 <sup>1</sup>	8,0 <sup>3</sup>	0,9 <sup>1</sup>	1,0 <sup>1</sup>	7,3 <sup>3</sup>	1,3 <sup>1</sup>	7,6 <sup>3</sup>	7,3 <sup>3</sup>	7,3 <sup>3</sup>	7,4 <sup>3</sup>	1,2 <sup>1</sup>	7,9 <sup>3</sup>	1,0 <sup>1</sup>	7,9 <sup>3</sup>
	3	5,0 <sup>2</sup>	4,0 <sup>2</sup>	4,0 <sup>2</sup>	4,9 <sup>2</sup>	3,8 <sup>2</sup>	3,9 <sup>2</sup>	4,7 <sup>2</sup>	3,9 <sup>2</sup>	5,0 <sup>2</sup>	5,0 <sup>2</sup>	4,9 <sup>2</sup>	5,0 <sup>2</sup>	3,6 <sup>2</sup>	4,8 <sup>2</sup>	1,0 <sup>1</sup>	4,9 <sup>2</sup>
Julgador 14	1	0,5 <sup>1</sup>	8,5 <sup>3</sup>	7,5 <sup>3</sup>	1,2 <sup>1</sup>	7,8 <sup>3</sup>	8,1 <sup>3</sup>	0,9 <sup>1</sup>	8,0 <sup>3</sup>	1,0 <sup>1</sup>	1,0 <sup>1</sup>	1,0 <sup>1</sup>	0,9 <sup>1</sup>	7,8 <sup>3</sup>	1,1 <sup>1</sup>	7,6 <sup>3</sup>	1,2 <sup>1</sup>
	2	8,5 <sup>3</sup>	0,5 <sup>1</sup>	1,1 <sup>1</sup>	7,8 <sup>3</sup>	1,1 <sup>1</sup>	1,1 <sup>1</sup>	7,7 <sup>3</sup>	1,1 <sup>1</sup>	7,6 <sup>3</sup>	8,0 <sup>3</sup>	7,5 <sup>3</sup>	7,7 <sup>3</sup>	1,1 <sup>1</sup>	7,7 <sup>3</sup>	1,1 <sup>1</sup>	7,7 <sup>3</sup>
	3	3,8 <sup>2</sup>	5,2 <sup>2</sup>	5,2 <sup>2</sup>	5,6 <sup>2</sup>	3,5 <sup>2</sup>	5,6 <sup>2</sup>	3,0 <sup>2</sup>	5,3 <sup>2</sup>	3,2 <sup>2</sup>	3,2 <sup>2</sup>	3,2 <sup>2</sup>	3,7 <sup>2</sup>	3,1 <sup>2</sup>	6,1 <sup>2</sup>	3,3 <sup>2</sup>	5,5 <sup>2</sup>
Média	1	0,7 <sup>1</sup>	8,2 <sup>3</sup>	7,6 <sup>3</sup>	1,2 <sup>1</sup>	7,5 <sup>3</sup>	7,3 <sup>3</sup>	1,0 <sup>1</sup>	7,3 <sup>3</sup>	1,1 <sup>1</sup>	1,3 <sup>1</sup>	1,1 <sup>1</sup>	1,0 <sup>1</sup>	7,6 <sup>3</sup>	1,9 <sup>1</sup>	7,2 <sup>3</sup>	1,1 <sup>1</sup>
	2	8,2 <sup>3</sup>	0,8 <sup>1</sup>	1,7 <sup>1</sup>	7,4 <sup>3</sup>	1,5 <sup>1</sup>	1,3 <sup>1</sup>	7,0 <sup>3</sup>	1,1 <sup>1</sup>	7,3 <sup>3</sup>	7,4 <sup>3</sup>	7,3 <sup>3</sup>	7,1 <sup>3</sup>	1,5 <sup>1</sup>	6,9 <sup>3</sup>	1,3 <sup>1</sup>	7,7 <sup>3</sup>
	3	4,6 <sup>2</sup>	4,5 <sup>2</sup>	4,3 <sup>2</sup>	5,6 <sup>2</sup>	3,5 <sup>2</sup>	3,7 <sup>2</sup>	4,9 <sup>2</sup>	3,2 <sup>2</sup>	5,3 <sup>2</sup>	5,1 <sup>2</sup>	4,8 <sup>2</sup>	4,6 <sup>2</sup>	3,3 <sup>2</sup>	5,4 <sup>2</sup>	3,2 <sup>2</sup>	5,2 <sup>2</sup>

\*Número sobrescrito indica a ordem crescente de médias

Atributos 1 = Cor cinza, 2 = Uniformidade de cor, 3 = Brilho, 4 = Rugosidade, 5 = Coesão, 6 = Aroma adocicado, 7 = Aroma fermentado, 8 = Sabor adocicado, 9 = Gosto amargo, 10 = Adstringente, 11 = Ranço, 12 = Sabor fermentado, 13 = Firmeza, 14 = Fraturabilidade, 15 = Elasticidade, 16 = Aderência residua