



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

BRUNA YUMI YOSHIDA

**OKARA MODIFICADO POR PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO
ALCALINO, HIDRÓLISE ENZIMÁTICA E EXTRUSÃO:
PROPRIEDADES FÍSICAS, QUÍMICAS E
TECNOFUNCIONAIS**

BRUNA YUMI YOSHIDA

**OKARA MODIFICADO POR PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO
ALCALINO, HIDRÓLISE ENZIMÁTICA E EXTRUSÃO:
PROPRIEDADES FÍSICAS, QUÍMICAS E
TECNOFUNCIONAIS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Doutora em Ciência de Alimentos.

Orientadora: Profa. Dra. Sandra Helena Prudencio.

Londrina
2020

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

Yoshida, Bruna Yumi.

Okara modificado por peróxido de hidrogênio alcalino, hidrólise enzimática e extrusão: propriedades físicas, químicas e tecnofuncionais / Bruna Yumi Yoshida. - Londrina, 2020.

143 f.

Orientador: Sandra Helena Prudencio.

Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, 2020.

Inclui bibliografia.

1. Resíduos agroindustriais - Tese. 2. Fibras modificadas - Tese. 3. Fibras solúveis - Tese. 4. Propriedades de hidratação - Tese. I. Prudencio, Sandra Helena . II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos. III. Título.

CDU 641.1

BRUNA YUMI YOSHIDA

**OKARA MODIFICADO POR PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO ALCALINO,
HIDRÓLISE ENZIMÁTICA E EXTRUSÃO:
PROPRIEDADES FÍSICAS, QUÍMICAS E TECNOLÓGICAS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Doutora em Ciência de Alimentos.

BANCA EXAMINADORA

Orientadora: Profa. Dra. Sandra Helena
Prudencio
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Profa. Dra. Neusa Fátima Seibel
Universidade Tecnológica Federal do Paraná –
UTFPR

Profa. Dra. Fabiana Guillen Moreira Gasparin
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Profa. Dra. Maria Victória Eiras Grossmann
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Profa. Dra. Karla Bigetti Guergoletto
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Londrina, 24 de abril de 2020

Dedico

A **Deus**, meu guia e minha proteção,
que não me deixou fraquejar e me deu
calma para as coisas incríveis que
viriam pela frente.

A meus pais, **Dirce** e **Eduardo**, meu
irmão, **Eder**, e meus avós, **Kazuko**,
Hiroaki (in memoriam), **Fujiko** (in
memoriam) e **Niguiho** (in memoriam),
por todo amor e dedicação que tiveram
comigo a vida toda.

Ao meu noivo, **Pedro**, pelo apoio e
compreensão incondicionais.

AGRADECIMENTOS

À Profa. Sandra Helena Prudencio, por, mais uma vez, ter me recebido como sua orientanda. Obrigada pelos ensinamentos, direcionamentos e força durante todos esses anos.

À Profa. Karla Bigetti Guergoletto, pela oportunidade que tive em realizar o estágio de docência na graduação, sob sua orientação. Obrigada por todo cuidado e ensinamentos que foram transmitidos com tanta humildade. Certamente, foi uma das melhores experiências que tive durante este período de doutoramento.

A todos os professores e técnicos do Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos por toda dedicação e conhecimentos transmitidos. Obrigada, especialmente, por estes últimos anos, em que tivemos muitas dificuldades, e vocês lutaram para que as nossas preocupações fossem minimizadas. A vocês, todo o meu respeito.

Agradeço, especialmente, à Profa. Marta de Toledo Benassi e à técnica Alessandra Cristina Silva, que sempre estiveram presentes, dando o suporte necessário e apoio emocional, com sorrisos e palavras positivas.

Ao técnico, Osvaldo Capelo, e ao coordenador, Prof. Admilton Gonçalves de Oliveira Junior, do Laboratório de Microscopia Eletrônica e de Microanálise, pela realização da microscopia eletrônica de varredura. Obrigada pela dedicação e paciência.

Ao Dr. Paulo Rogério Catarini da Silva, do Departamento de Física, pela execução e auxílio na interpretação de dados da difração de raios X.

À Dra. Ana Paula Bilck, que, generosamente, me ensinou e me acompanhou nos experimentos da extrusão. Às alunas Adriana e Camila por toda contribuição. Sem vocês, esta parte da pesquisa não teria sido possível.

À Profa. Neusa Fátima Seibel por ter me ensinado, dentre tantas outras coisas, análises que foram essenciais para este estudo também, e por ter me mostrado o quão valioso é o okara.

À Profa. Maria Victória Eiras Grossmann que, quando este trabalho ainda era a construção de um projeto, esclareceu minhas dúvidas quanto à modificação de matérias-primas por peróxido de hidrogênio alcalino e sugeriu análises que seriam importantes para este estudo. Ainda, posteriormente, assim

como a Profa. Neusa Fátima Seibel, fez importantes contribuições no meu exame de qualificação.

Aos amigos, Rodolfo Campos Zanin, Heloísa Gabriel Falcão e Cíntia Ladeira Handa, pelas discussões construtivas.

Aos amigos, Everton Ribeiro, Julyene Francisco, Fernanda Mendonça, Fernanda Farinazzo, José Renato da Silva, Dafne Garcia Pereira, Mariah Benine Ramos Silva e, especialmente, Ana Clara Longhi Pavanello e Rebeca Catarino. Foi um enorme prazer conviver e aprender tanto com vocês durante esta caminhada.

Finalmente, agradeço a Deus, a minha mãe, Dirce, ao meu noivo, Pedro, e a minha amiga, Fernanda Carla Henrique, pelo apoio incondicional e diário, por viverem este grande sonho comigo, por acreditarem que tudo isso seria possível e por tanto amor depositado em mim.

A todos, muito obrigada!

YOSHIDA, Bruna Yumi. **Okara modificado por peróxido de hidrogênio alcalino, hidrólise enzimática e extrusão: propriedades físicas, químicas e tecnofuncionais**. 2020. 143 f. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2020.

RESUMO

Okara é o resíduo fibroso do extrato de soja e tofu. Uma grande quantidade deste resíduo é gerada anualmente em diversos países, mas somente uma pequena porção é aproveitada. A modificação de resíduos com elevado teor de fibras alimentares, como o okara, tem sido empregada para aumentar o teor de fibras solúveis, cujo consumo está associado a diversos benefícios à saúde, e melhorar as propriedades de hidratação, minimizando as características sensoriais indesejáveis de textura em produtos, onde estes resíduos são aplicados. Neste contexto, a modificação destes resíduos seria uma alternativa para aumentar o seu potencial de utilização e de agregação de valor. Portanto, o objetivo desta pesquisa foi modificar o okara por solução de peróxido de hidrogênio alcalino, hidrólise enzimática, utilizando uma mistura de carboidrases, e extrusão, associando-os ou não, para aumentar o conteúdo de fibras solúveis e as propriedades de hidratação e investigar seus efeitos sobre as propriedades físicas, químicas e tecnofuncionais. Para isto, primeiramente, foram determinadas as melhores condições para cada método de modificação, visando o aumento simultâneo de fibras solúveis e das propriedades de hidratação do okara. Em seguida, os métodos foram associados, sendo os tratamentos prévios a extrusão ou o peróxido de hidrogênio alcalino, seguido da hidrólise enzimática, para buscar a potencialização destas modificações. Os okaras controle e modificados pelos métodos associados ou não foram analisados quanto à sua microestrutura, cristalinidade, cor, composição química, pH, densidade aparente, capacidade de absorção e retenção de óleo, estabilidade dos sólidos em água e solubilidade proteica. O tratamento otimizado por peróxido de hidrogênio alcalino (2% de H_2O_2 , a 42 °C por 5 h) resultou em um aumento simultâneo de 601% do conteúdo de fibras solúveis, 26% da capacidade de absorção e retenção de água e da capacidade de intumescimento do okara. Já a hidrólise enzimática (0,8% do complexo enzimático, 46 °C por 3 h) provocou um aumento de 105% do conteúdo de fibras solúveis, 34% da capacidade de absorção e retenção de água e 13% da capacidade de intumescimento. A extrusão (35% de umidade da amostra, 115 rpm e 120 °C) ocasionou o aumento de 80% do conteúdo de fibras solúveis, 45% da capacidade de absorção e retenção de água e manutenção da capacidade de intumescimento. Os tratamentos prévios, extrusão ou peróxido de hidrogênio alcalino, à hidrólise enzimática, resultaram em um okara com novos substratos para a mistura de carboidrases, liberando, principalmente, fibras de baixa massa molecular e açúcares simples, respectivamente. O tratamento sequencial por peróxido de hidrogênio alcalino e hidrólise enzimática aumentou a capacidade de intumescimento e manteve a capacidade de absorção e retenção de água. Com a extrusão e posterior uso de enzimas não foi possível aumentar a capacidade de absorção e retenção de água e de intumescimento do okara. No geral, todos os tratamentos, associados ou não, resultaram em alterações na microestrutura, cristalinidade, composição química, pH e demais propriedades tecnofuncionais (densidade aparente, capacidade de absorção e retenção de óleo, estabilidade dos sólidos em água e solubilidade proteica) do okara.

Palavras-chave: Resíduos agroindustriais. Fibras modificadas. Fibras solúveis. Propriedades de hidratação. Microestrutura.

YOSHIDA, Bruna Yumi. **Okara modified by alkaline hydrogen peroxide, enzymatic hydrolysis and extrusion: physical, chemical and techno-functional properties**. 2020. 143 p. Thesis (Doctoral degree in Food Science) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2020.

ABSTRACT

Okara is the fibrous residue from soymilk and tofu. A large amount of this waste is generated annually in several countries, but only a small portion is used. The modification of the agro-industrial wastes with a high content of dietary fibers, such as okara, has been used to increase the content of soluble fibers, which the consumption is associated with several health benefits, and to improve hydration properties, minimizing the undesirable sensory characteristics of texture in products, which these residues are applied. In this context, the modification of these residues would be an alternative to increase their potential for use and added value. Therefore, the objective of this research was to modify okara by alkaline hydrogen peroxide solution, enzymatic hydrolysis, using a carbohydrases mixture, and extrusion, associating or not, to increase the content of soluble fibers and the hydration properties and to investigate their effects on physical, chemical and techno-functional properties. For this purpose, the best conditions for each modification method were determined, aiming the simultaneous increase of soluble fibers content and the hydration properties of okara. Then, the methods were associated, previously treating okara by extrusion or alkaline hydrogen peroxide, followed by enzymatic hydrolysis, to potentiate these modifications. The control and modified okaras were analyzed for their microstructure, crystallinity, color, chemical composition, pH, bulk density, oil absorption and holding capacity, solids stability in water and protein solubility. Treatment of okara with alkaline hydrogen peroxide under optimized conditions (2% H₂O₂, at 42 °C for 5 h) resulted in a 601% increase in soluble fiber content and 26% increase in both water absorption and holding capacity and swelling capacity. Enzymatic hydrolysis (0.8% enzymatic complex, 46 °C for 3 h) resulted in a 105% increase in soluble fibers content, 34% increase in water absorption and holding capacity and 13% increase in swelling capacity. Extrusion (35% feed moisture, 115 rpm and 120 °C) caused a 80% increase in soluble fibers content, 45% increase in water absorption and holding capacity and the maintenance of swelling capacity. The previous treatments, extrusion or alkaline hydrogen peroxide, followed by enzymatic hydrolysis, resulted in a okara with new substrates for carbohydrases mixture, releasing mainly low molecular weight fibers and simple sugars, respectively. Sequential treatment with alkaline hydrogen peroxide and enzymatic hydrolysis increased the swelling capacity and maintained the water absorption and holding capacity. By extrusion and subsequent enzymatic hydrolysis, it was not possible to increase okara water absorption and holding capacity and swelling capacity. In general, all treatments, associated or not, resulted in changes in okara microstructure, crystallinity, chemical composition, pH and other techno-functional properties (bulk density, oil absorption and holding capacity, solids stability in water and protein solubility).

Key words: Agro-industrial waste. Modified fibers. Soluble fibers. Hydration properties. Microstructure.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Figura 1 – Método chinês e japonês para obtenção de extrato de soja	22
Figura 2 – Estrutura da celulose.....	24
Figura 3 – Diagrama esquemático: complexa rede de celulose, hemicelulose e pectina.....	25
Figura 4 – Estrutura de materiais lignocelulósicos antes e após pré-tratamentos químicos ou físicos.....	37

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Artigo 1

Figure 1 – Response surface plots showing the effects of H ₂ O ₂ concentration (% w/v) and treatment temperature (T, °C) on (a) soluble fibers (SF, expressed as g of SF/100 g dry matter), (b) water absorption and holding capacity (WAHC, expressed as g of water absorbed and held/g of sample), (c) swelling capacity (SC, expressed as mL/g of sample), and (d) protein solubility in water (PS, expressed as g of soluble protein/100 g of total protein)	64
Figure 2 – Scanning electron micrographs of control okara (a, b, and c) and okara modified by treatment with 2% H ₂ O ₂ at 42 °C for 5 h (d, e, and f)	68
Figure 3 – Protein solubility of control and modified ¹ okara as a function of pH	72

Artigo 2

Figura 1 – Superfície de resposta em função da concentração de complexo enzimático (%) (CE) e temperatura de reação (T) (°C) para as funções resposta.....	87
Figura 2 – Microscopia eletrônica de varredura dos okaras controle (a, b e c) e hidrolisado ¹ (d, e e f).....	92
Figura 3 – Perfil de solubilidade proteica em diferentes pHs dos okaras controle e hidrolisado ¹	95

Artigo 3

Figura 1 – Microscopia eletrônica de varredura de okaras controle (a, b), E30% (c, d), E35% (e, f) e E40% (g, h).....106

Artigo 4

Figura 1 – Microscopia eletrônica de varredura de okaras controle e modificados por diferentes métodos.....124

Figura 2 – Difractogramas dos okaras controle e modificados por diferentes métodos.....126

LISTA DE TABELAS

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Tabela 1 – Composição química do okara.....	23
Tabela 2 – Conteúdo de fibras alimentares em diferentes alimentos e subprodutos (base seca).....	28
Tabela 3 – Conteúdo de fibras solúveis e insolúveis em diferentes alimentos (base seca)	29
Tabela 4 – Conteúdo de fibras do okara (g/100 g de matéria seca)	31

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Artigo 1

Table 1 – Coded (x) and uncoded (X , in parentheses) values of independent variables and respective responses used in the central composite rotatable design for optimization of alkaline hydrogen peroxide treatment of okara.....	62
Table 2 – Regression coefficients and analysis of variance (ANOVA) results for response surface models.....	63
Table 3 – Color parameters, bulk density, pH, chemical composition, oil absorption and holding capacity, solids stability in water, and protein solubility in water of control okara and okara modified by treatment with 2% (w/v) H_2O_2 at 42 °C for 5 h.....	69

Artigo 2

Tabela 1 – Matriz do DCCR com os valores codificados (x) e reais (X , entre parênteses) aplicada ao tratamento do okara por hidrólise enzimática e funções resposta.....	85
Tabela 2 – Coeficientes de regressão e ANOVA dos modelos matemáticos das funções resposta.....	86
Tabela 3 – Validação das funções resposta utilizando a condição desejável ¹ para modificação do okara por hidrólise enzimática.....	91

Tabela 4 – Parâmetros de cor, densidade aparente, pH, composição química, capacidade de absorção e retenção de óleo, estabilidade dos sólidos em água e solubilidade proteica em água dos okaras controle e hidrolisado¹.....93

Artigo 3

Tabela 1 – Cor de okaras controle e extrusados com diferentes concentrações de umidade.....107

Tabela 2 – Composição química de okaras controle e extrusados com diferentes concentrações de umidade.....108

Tabela 3 – pH e propriedades tecnofuncionais de okaras controle e extrusados com diferentes concentrações de umidade.....110

Artigo 4

Tabela 1 – Cor de okaras controle e modificados por diferentes métodos.....127

Tabela 2 – Composição química de okaras controle e modificados por diferentes métodos.....130

Tabela 3 – pH e propriedades tecnofuncionais de okaras controle e modificados por diferentes métodos.....131

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	OBJETIVOS	17
2.1	OBJETIVO GERAL	17
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	17
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
3.1	SOJA.....	18
3.2	EXTRATO DE SOJA E OKARA.....	21
3.3	FIBRAS DA PAREDE CELULAR	23
3.4	FIBRAS ALIMENTARES	26
3.5	FIBRAS DE OKARA E SUAS PROPRIEDADES TECNOLÓGICAS.....	31
3.6	TRATAMENTOS PARA MODIFICAÇÃO DE FIBRAS	33
3.6.1	Peróxido de Hidrogênio Alcalino.....	34
3.6.2	Hidrólise Enzimática	36
3.6.3	Extrusão.....	39
	REFERÊNCIAS	43
4	MATERIAL E MÉTODOS	52
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	53
5.1	ARTIGO CIENTÍFICO 1	54
5.2	ARTIGO CIENTÍFICO 2	77
5.3	ARTIGO CIENTÍFICO 3	99
5.4	ARTIGO CIENTÍFICO 4	116
6	CONCLUSÕES	137
	ANEXOS	139
	ANEXO A – Ficha técnica Viscozyme® L.....	140
	ANEXO B – Desejabilidade global.....	142

1 INTRODUÇÃO

Na indústria de alimentos existe um crescente interesse no desenvolvimento de produtos funcionais para saúde e, particularmente, nas fibras alimentares, as quais possuem propriedades tecnofuncionais que permitem o seu uso na formulação de alimentos com posterior benefícios à saúde do consumidor (PERCEGONI; NUNES; GOMES, 2015; PÉREZ-LÓPEZ; MATEOS-APARICIO; RUPÉREZ, 2017).

Por meio da solubilidade em água, as fibras alimentares podem ser divididas em solúveis (pectina, algumas hemiceluloses, gomas, β -glucanas, frutooligossacarídeos) e insolúveis (hemiceluloses, celulose e lignina), as quais apresentam diferentes funções fisiológicas na saúde humana. O consumo de fibras insolúveis está mais associado à regulação das funções intestinais e à redução do risco de câncer no cólon. Já as fibras solúveis são mais efetivas em vários aspectos de saúde, em comparação às insolúveis, cujo consumo está relacionado à atenuação da resposta glicêmica e aos efeitos prebiótico, anticarcinogênico e, principalmente, hipocolesterolêmicos. Considerando que os alimentos e ingredientes fontes de fibras alimentares mais comuns na dieta são constituídos majoritariamente pelas insolúveis, a obtenção das solúveis torna-se importante (CHAWLA; PATIL, 2010; MATEOS-APARICIO; MATEOS-PEINADO; RUPÉREZ, 2010; PERCEGONI; NUNES; GOMES, 2015).

Tecnologicamente, as fibras alimentares apresentam propriedades de hidratação que favorecem sua aplicação em alimentos, pois são compostas por moléculas hidrofílicas, como celulose, pectina e hemicelulose. Porém, quando incorporadas em alimentos, podem apresentar efeitos negativos, principalmente, relacionados à textura arenosa e à perda de volume dos produtos alimentícios, limitando o seu uso (GALDEANO; GROSSMANN, 2005; THARANATHAN; MAHADEVAMMA, 2003; THOMPSON, 2000).

Existem diversos tratamentos que podem modificar as fibras insolúveis e assim aumentar o conteúdo das solúveis e melhorar suas propriedades tecnofuncionais em alimento com elevado conteúdo de fibras. Tais tratamentos, como a hidrólise enzimática, a extrusão, o peróxido de hidrogênio alcalino, além de outros, podem ser aplicados separadamente ou de forma associada entre eles. Como resultado, as fibras modificadas podem ser novas opções de ingredientes com

aplicações mais versáteis (FUNG; YUEN; LIONG, 2010; GALDEANO; GROSSMANN, 2005; GOULD, 1985; KASAI *et al.*, 2004; LI *et al.*, 2012; VONG; LIU, 2019).

Os resíduos agrícolas têm baixo valor econômico e alto conteúdo de fibras alimentares, principalmente as insolúveis. Os resíduos têm sido foco de investigações para transformá-los em ingredientes de elevado valor agregado, possibilitando aumentar a aplicação alimentar (FUNG; YUEN; LIONG, 2010).

O okara é o resíduo do preparo do extrato de soja e tofu. A partir de 1 kg de soja são obtidos de 1,1 a 2,5 kg de okara fresco ou úmido (MATEOS-APARICIO; MATEOS-PEINADO; RUPÉREZ, 2010; VONG; LIU, 2016). A composição do okara é relativamente variada, devido aos diferentes processos de obtenção, processamento, cultivar de soja etc. No entanto, é rico em fibras alimentares (42,4 – 58,1 g/100 g de matéria seca), proteínas e lipídeos, além de apresentar funcionalidades tecnológicas, como capacidade de intumescimento e de absorção e retenção de água e óleo, atestadas por pesquisadores ao longo dos anos (LI; QIAO; LU, 2012; VONG; LIU, 2016).

Com o objetivo de aumentar o conteúdo de fibras solúveis do okara e melhorar suas propriedades tecnofuncionais, para maior aproveitamento do material, algumas pesquisas reportaram diferentes tratamentos físicos, químicos e enzimáticos como alternativas para modificação de suas fibras (CHI, 2011; HUANG *et al.*, 2015; LI *et al.*, 2012; MATEOS-APARICIO; MATEOS-PEINADO; RUPÉREZ, 2010; PÉREZ-LÓPEZ; MATEOS-APARICIO; RUPÉREZ, 2017; VILLANUEVA-SUÁREZ; PÉREZ-CÓZAR; REDONDO-CUENCA, 2013; VONG; LIU, 2019; ZONGCAI *et al.*, 2007).

Desta forma, o objetivo deste estudo foi modificar o okara por tratamentos com peróxido de hidrogênio alcalino, hidrólise enzimática (empregando uma mistura de carboidrases) e extrusão, de forma individual ou associada, visando o aumento do conteúdo de fibras solúveis e das propriedades de hidratação. E também investigar seus efeitos sobre as propriedades físicas, químicas e tecnofuncionais do okara, para o maior aproveitamento desse resíduo como um ingrediente alimentar.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Modificar o okara por diferentes tratamentos (com solução de peróxido de hidrogênio alcalino, hidrólise enzimática, utilizando uma mistura de carboidrases, e extrusão), associados ou não, para aumentar o conteúdo de fibras solúveis e as propriedades de hidratação, além de investigar os efeitos destes tratamentos sobre a microestrutura, cristalinidade, cor, densidade aparente, composição química, pH, capacidade de absorção e retenção de óleo, estabilidade dos sólidos em água e solubilidade proteica em água e diferentes pHs do okara.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Empregar solução de peróxido de hidrogênio alcalino para modificar o okara, bem como avaliar os efeitos da concentração do reagente e da temperatura de reação sobre o conteúdo de fibras solúveis e as propriedades de hidratação e comparar o okara controle com o modificado otimizado quanto às suas propriedades físicas, químicas e tecnofuncionais;
- Utilizar um complexo multi-enzimático, composto por carboidrases, para modificar o okara, e também estudar o efeito de sua concentração e da temperatura de reação sobre o conteúdo de fibras solúveis e as propriedades de hidratação e comparar o okara controle com o modificado otimizado quanto às propriedades físicas, químicas e tecnofuncionais;
- Modificar o okara por meio da extrusão de amostras com diferentes conteúdos de umidade, visando aumentar tanto o conteúdo de fibras solúveis, como as propriedades de hidratação, além de caracterizar os extrusados quanto às propriedades físicas, químicas e tecnofuncionais;
- Avaliar o efeito dos tratamentos associados (solução de peróxido de hidrogênio alcalino, hidrólise enzimática e extrusão) sobre o conteúdo de fibras solúveis e propriedades de hidratação do okara e também sua influência sobre as propriedades físicas, químicas e tecnofuncionais do resíduo.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 SOJA

Originária da China e cultivada há mais de cinco mil anos, a soja [*Glycine max* (L.) Merrill] era considerada um grão sagrado e essencial para civilização. A palavra “soja” teve a sua primeira aparição em um dicionário japonês, publicado em 1597, e provém da palavra japonesa “shoyu” (HYMOWITZ, 2008).

O desenvolvimento em larga escala desta cultura e de seu processamento industrial começou nos Estados Unidos entre 1940 e 1950, estimulado pelo rápido crescimento da demanda de refeições proteicas e óleos vegetais. Atualmente, os Estados Unidos são o maior produtor mundial do grão e sua produção representa aproximadamente um terço da produção global, cuja safra 2018/19 foi de 358 milhões de toneladas (GOLBITZ; JORDAN, 2006; USDA, 2020).

A introdução da soja no Brasil ocorreu em 1882, na Bahia. No início, a soja brasileira era utilizada para alimentação de suínos, como complemento de proteínas da dieta à base de outros vegetais, e como fonte de nitrogênio em adubação verde. No final da década de 60, o Brasil passou a considerar a soja como um produto comercial. Dois fatores internos contribuíram para este acontecimento. Nesta época, o trigo era a principal cultura da região Sul do país e a soja uma opção de verão, em sucessão ao trigo. Além disso, a maior produção de suínos e aves iniciada no Brasil ocasionou a demanda por farelo de soja. Em meados de 1970, o aumento do preço da soja no mercado mundial despertou ainda mais interesse dos agricultores e governo brasileiro. O Brasil se beneficiou de uma vantagem competitiva em relação aos outros países produtores, o escoamento da safra brasileira ocorre na entressafra americana, quando os preços atingem as maiores cotações. Desde então, o Brasil passou a investir em tecnologia para adaptação da cultura às condições brasileiras, liderado pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, o que resultou na “tropicalização” da soja. Esta conquista revolucionou a história mundial da soja (DALL’AGNOL *et al.*, 2007; EMBRAPA, 2019; TRUCOM, 2008). Atualmente, o Brasil é o segundo maior produtor mundial do grão, com safra 2018/2019 de 117 milhões de toneladas (USDA, 2020), mas com a expectativa de ultrapassar os Estados Unidos na safra de 2019/2020, tornando-se o líder de produção global.

Nas últimas décadas, o evento mais significativo para o crescimento do cultivo e da indústria de processamento da soja ocorreu após a sua proteína ter a funcionalidade de saúde reconhecida a partir de evidências científicas em 1999 pelo Food and Drug Administration (FDA), órgão de controle de alimentos dos Estados Unidos. Nos rótulos de produtos de soja contendo no mínimo 6,25 g da proteína por porção foi admitida a seguinte alegação: “dietas com baixo conteúdo de gorduras saturadas e colesterol e que incluam o consumo diário de 25 g de proteína de soja podem reduzir os riscos de doenças cardíacas”. No entanto, em 2017, o FDA propôs a revogação da alegação autorizada em 1999, em decorrência da inconsistente relação entre proteína de soja e doenças cardíacas, observada em diversos estudos (USFDA, 2017).

Desde a aprovação da alegação da funcionalidade de suas proteínas em 1999 pelo FDA, inúmeras pesquisas foram realizadas por cientistas do mundo inteiro. Devido à presença de outros compostos no grão, como as isoflavonas, inibidores de protease e fibras, avaliou-se o impacto do consumo de produtos de soja sobre diversos problemas de saúde, entre eles, colesterol alto, doença cardíaca, câncer de mama, câncer de próstata, saúde dos ossos, sintomas da menopausa, função renal e cognitiva, diverticulite e constipação (HE; CHEN, 2013; PENHA *et al.*, 2007; SEIBEL; JOSÉ; SILVÉRIO, 2018).

O mercado de produtos de soja também sofreu grande crescimento e ocorreram mudanças do *status* da soja na dieta de muitos americanos. Mais de 2700 produtos à base de soja foram introduzidos no mercado americano, entre os anos de 2000 e 2007, e a imagem saudável da soja foi estabelecida entre muitos consumidores jovens e idosos. Em uma pesquisa, a United Soybean Board (USB) monitorou, durante anos, a atitude de consumidores frente à soja e os resultados mostraram que em 1998, 67% dos consumidores consideravam os produtos de soja como alimentos saudáveis e após 13 anos, em 2011, esta porcentagem cresceu para 81% (HE; CHEN, 2013).

A soja se destaca pelo alto conteúdo de proteínas (35 – 44%) e lipídeos (15 – 22%), além de apresentar carboidratos, incluindo as fibras (30 – 35%) e cinzas (4 – 6,6%), sendo que a variação da composição decorre das condições climáticas, localização, variedade, práticas agrícolas, dentre outros (HE; CHEN, 2013; SEIBEL *et al.*, 2018b; SEIBEL; JOSÉ; SILVÉRIO, 2018).

Os lipídeos da soja apresentam elevado valor comercial, sendo constituídos por, aproximadamente, 85% de ácidos graxos insaturados. Dos ácidos graxos, o linoleico é o mais abundante (53%), seguido do oleico (22%), palmítico (12%), linolênico (7%) e esteárico (3%). Os ácidos linolênico e linoleico são considerados essenciais, pois não são sintetizados pelo organismo humano. Além disso, o seu consumo está associado a diversos benefícios à saúde. Por outro lado, o elevado conteúdo de ácidos graxos insaturados está relacionado à instabilidade oxidativa do óleo de soja (HE; CHEN, 2013; SEIBEL; JOSÉ; SILVÉRIO, 2018).

As proteínas da soja, além de apresentarem propriedade funcional de saúde, como já mencionado, apresentam funções nutritiva e tecnológica, além de elevado valor comercial. O grão contém todos os aminoácidos essenciais e em proporções adequadas, exceto metionina e cistina, que estão presentes em baixas concentrações. Desta forma, são as únicas proteínas vegetais nutricionalmente quase equivalentes às proteínas animais. Suas proteínas também apresentam propriedades tecnofuncionais, como capacidade de absorção e retenção de água e óleo e propriedades emulsificantes (HE; CHEN, 2013; SEIBEL; JOSÉ; SILVÉRIO, 2018).

Os carboidratos da soja podem ser divididos em dois grupos, em não estruturais (açúcares de baixa massa molecular, oligossacarídeos e polissacarídeo de reserva energética) e estruturais (polissacarídeos estruturais). Na soja, o primeiro grupo é constituído por sacarose e traços de frutose (4 – 5%), rafinose (1 – 2%) e estaquiose (3,4 – 4,5%). E o segundo é composto por fibras alimentares (celulose, hemiceluloses e pectina). Os carboidratos deste grão apresentam menor valor comercial, em relação às proteínas e ao óleo, e são mais utilizados como complemento energético para alimentação animal (MIDDELBOS; FAHEY, 2008; SEIBEL; JOSÉ; SILVÉRIO, 2018).

A partir desta leguminosa podem ser obtidos diversos produtos fermentados, como o miso, shoyu, tempeh e natto, e não fermentados, como o tofu e extrato de soja (GOLBITZ; JORDAN, 2006; HE; CHEN, 2013; SEIBEL, 2018a; SEIBEL *et al.*, 2018a). No Brasil, o principal produto de soja para consumo direto é o óleo (SEIBEL *et al.*, 2018b), entretanto, nos últimos anos, um aumento gradual do consumo de extrato de soja e outras bebidas à base de extrato foi observado (SEIBEL, 2018a).

3.2 EXTRATO DE SOJA E OKARA

O extrato de soja é o produto resultante da extração aquosa dos grãos que, muitas vezes, é relacionado ao leite de vaca devido à aparência e composição semelhantes. Pode ser utilizado como uma bebida nutritiva ou para o preparo de tofu (GOLBITZ; JORDAN, 2006; LIU, 2004).

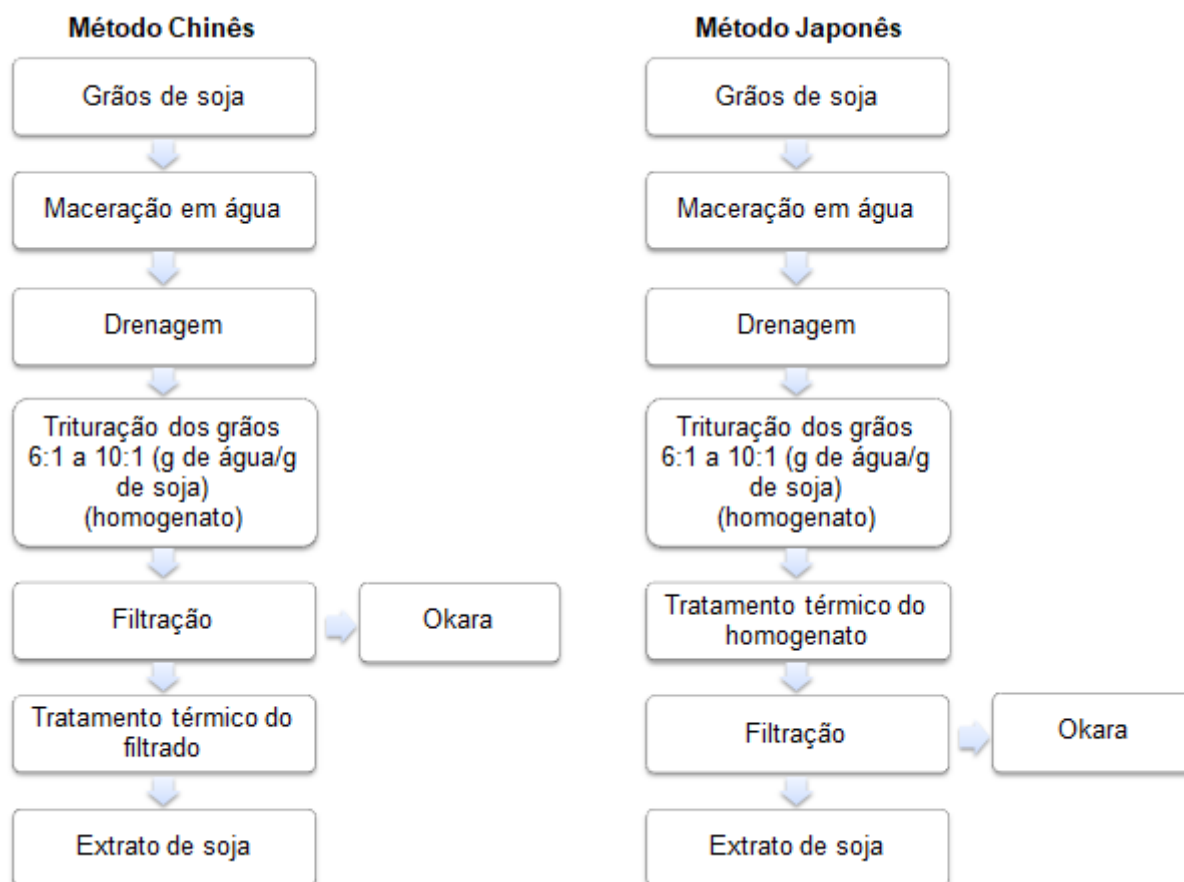
Existem diversos métodos de preparo do extrato de soja, os quais originam bebidas com diferentes composições. Geralmente os extratos são classificados em tradicional e moderno (LIU, 2008).

O extrato tradicional ainda pode ser subdividido em dois tipos devido aos diferentes métodos de obtenção, o japonês e o chinês. O “dou jiang”, extrato produzido pelos chineses, é elaborado por meio da lavagem, maceração e trituração dos grãos, filtração do homogenato para separar o extrato do resíduo (okara), seguido do tratamento térmico do extrato obtido. Este método pode ser definido como “moagem a frio”. A diferença do método japonês para o chinês está na etapa de aquecimento, uma vez que no procedimento japonês o homogenato obtido após a trituração é aquecido antes de ser filtrado (Figura 1) (LIU, 1997; LIU, 2008).

No procedimento moderno, o intuito é aumentar o rendimento, melhorar a qualidade do produto e a aceitabilidade pelos consumidores de diversas culturas e, principalmente, reduzir o sabor de feijão cru. O princípio básico é semelhante ao método tradicional chinês, incluindo as etapas de lavagem, trituração, separação do okara e aquecimento do extrato. No entanto, os extratos são saborizados, adoçados e fortificados com vitaminas e minerais, a fim de enriquecê-los nutricionalmente. Além disso, são utilizadas tecnologias de processamento, como UHT (ultra high temperature) e embalagens assépticas, estendendo a vida útil do produto final (LIU, 2008).

A composição química do extrato de soja varia entre 8 – 12% de sólidos totais, dos quais, em média, 3,6% são proteínas, 2,0 – 3,2% são lipídios, 2,9 – 3,9%, carboidratos e cerca de 0,5% de cinzas, podendo variar de acordo com a cultivar de soja e as condições de processamento (LIU, 2008).

Figura 1 – Método chinês e japonês para obtenção de extrato de soja



Fonte: adaptado de Liu (2008)

Okara é o resíduo, ou polpa, obtido após a moagem dos grãos de soja e extração da fração solúvel em água utilizada para produção de tofu ou extrato de soja (Figura 1). Também é chamado de resíduo de soja, resíduo do tofu, resíduo fibroso, douzha ou tofuzha (em chinês), tofukazu (japonês), bejee (coreano), dentre outras denominações (GOLBITZ; JORDAN, 2006; LI; QIAO; LU, 2012).

A partir de 1 kg de grãos de soja são obtidos de 1,1 a 2,5 kg de okara fresco ou úmido, sendo que a proporção de 1:1,1 – 1,2 (kg de soja: kg de okara fresco ou úmido) é a mais reportada na literatura. Anualmente, uma grande quantidade desse resíduo é gerada em diversos países. No Japão, 800.000 toneladas, na Coreia, 310.000 toneladas e na China, 2.800.000 toneladas são originárias da indústria de tofu. A maior parte do okara é tratada como resíduo ou possui aplicações de baixo valor (MATEOS-APARICIO; MATEOS-PEINADO; RUPÉREZ, 2010; VONG; LIU, 2016). O descarte de resíduos da indústria alimentícia

ocasiona perda econômica e problemas socioambientais e, por esta razão, pesquisas que buscam alternativas para o seu aproveitamento e agregação de valor tornam-se importantes (VONG; LIU, 2016).

O okara é rico em fibras alimentares, além de conter proteínas e lipídeos (Tabela 1). Parte de outros componentes da soja também permanece no resíduo, como as isoflavonas, vitaminas e minerais. Sua composição pode variar, dependendo da cultivar de soja e condições de processamento (VONG; LIU, 2016).

Tabela 1 – Composição química do okara

Componentes	Conteúdo (g/100 g de matéria seca)
Fibras alimentares	42,4 – 58,1
Proteínas	15,2 – 52,76
Lipídeos	8,3 – 29,41
Carboidratos	3,8 – 5,3
Cinzas	2,3 – 4,5

Fonte: Li, Qiao e Lu (2012), Pereira e Seibel (2016) e Vong e Liu (2016)

Diversas pesquisas sobre a composição química, valores nutricionais, atividades biológicas e o uso potencial do okara têm sido realizadas (LI; QIAO; LU, 2012; VONG; LIU, 2016).

3.3 FIBRAS DA PAREDE CELULAR

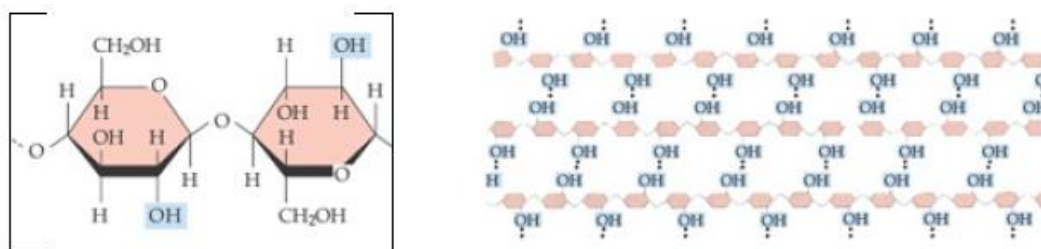
Nos vegetais, a parede celular determina o tamanho e a forma da célula e a textura do tecido, contribui para a forma final de seus órgãos e atua na defesa contra bactérias e fungos patogênicos. Também possui enzimas que desempenham papéis importantes na absorção, transporte e secreção de substâncias nas plantas (KOBLOITZ, 2008; RAVEN; EVERT; EICHHORN, 2014).

Todos os vegetais apresentam parede celular primária. A região onde ocorre a união das paredes primárias de células adjacentes é chamada de lamela média, substância intercelular formada, principalmente, por substâncias pécicas. A parede celular primária é constituída por celulose, hemiceluloses, substâncias pécicas, proteínas estruturais, enzimas e água, podendo conter também lignina. Em células adultas, a parede sofre espessamento, formando uma parede secundária, composta principalmente por celulose (que confere rigidez), lignina e hemiceluloses,

enquanto proteínas estruturais ou pectinas estão em menor quantidade ou são ausentes (KOBLOITZ, 2008; RAVEN; EVERT; EICHHORN, 2014).

A celulose, principal componente da parede celular dos vegetais, é um homopolímero linear, constituído por unidades repetidas de glicose, unidas por ligações glicosídicas β (1-4) (Figura 2 – A). Os grupos OH (Figura 2 – B, em azul) se projetam em ambos os lados das cadeias, formando ligações de hidrogênio (linhas tracejadas) com os grupos OH das cadeias vizinhas, resultando em microfibrilas formadas por moléculas paralelas de celulose com ligações de hidrogênio cruzadas. Essas áreas formadas resultam na cristalinidade da celulose, por isso são insolúveis em água, sendo separadas por regiões menos ordenadas, denominadas de amorfas (BEMILLER; HUBER, 2008; GIUNTINI; MENEZES, 2011; RAVEN; EVERT; EICHHORN, 2014). Quando as ligações de hidrogênio são rompidas, por meio de modificações química ou física, a cristalinidade da celulose é reduzida (FAN; LEE; BEARDMORE, 1981).

Figura 2 – Estrutura da celulose



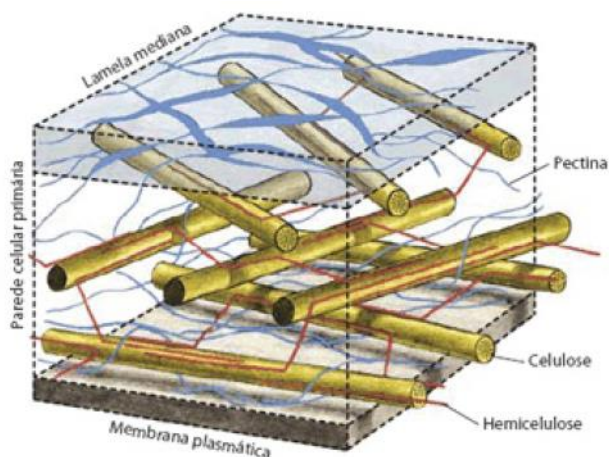
A - Celobiose (unidade repetitiva da celulose)

B - Moléculas de celulose

Fonte: adaptado de BeMiller e Huber (2008) e Raven, Evert e Eichhorn (2014)

Na parede celular, as microfibrilas, formadas pelas moléculas de celulose, estão imersas em uma matriz contendo outros dois polissacarídeos complexos e ramificados, as hemiceluloses e as pectinas. Na Figura 3, o diagrama esquemático mostra como as microfibrilas de celulose são interligadas pelas hemiceluloses formando uma rede complexa. As hemiceluloses são ligadas à superfície das microfibrilas por ligações de hidrogênio. A rede formada é permeada pelas pectinas, altamente hidrofílicas. A lamela mediana, indicada na Figura 3, é rica em pectina e une as paredes primárias de células adjacentes.

Figura 3 – Diagrama esquemático: complexa rede de celulose, hemicelulose e pectina



Fonte: Raven, Evert e Eichhorn (2014)

A hemicelulose é um grupo heterogêneo de polissacarídeos ramificados. Normalmente, contém de 50 a 200 unidades de pentose (xilose e arabinose), além de hexoses (glicose, galactose, manose, ramnose) e ácidos urônicos, unidos por ligações β (1-4), podendo estar na forma solúvel ou insolúvel. Sua estrutura principal é formada por um desses monossacarídeos específico, a partir da qual surgem ramificações laterais de cadeias curtas de outros carboidratos. É classificada pelo açúcar predominante na cadeia principal e na ramificação, como xilana, galactomanana, arabinoxilana e galactosana (GIUNTINI; MENEZES, 2011; MUDGIL; BARAK, 2013; RAVEN; EVERT; EICHHORN, 2014).

A estrutura básica da pectina é formada por uma cadeia linear de ácidos galacturônicos unidos por ligações α (1-4) (ácido poligalacturônico). Nesta cadeia podem estar presentes açúcares neutros, principalmente ramnose. A pectina ainda apresenta cadeias laterais compostas por moléculas de arabinose, galactose e xilose. Devido às cargas negativas dos ácidos galacturônicos, as pectinas possuem alta capacidade de hidratação e ligação com cátions bivalentes. As substâncias pécticas são formadas por duas frações interligadas: ramnogalacturonana e homogalacturonana. A primeira é um heteropolímero com a estrutura principal constituída por unidades repetidas de ácido galacturônico ligado à ramnose e cadeias laterais de arabinose e galactose e não interagem com Ca^{++} . A segunda é um homopolímero formado por unidades de ácidos galacturônicos e apresenta capacidade de ligar Ca^{++} , com importante papel tecnológico relacionado ao aumento

da viscosidade e à formação de gel. As homogalacturonanas ainda podem ser divididas em ácido péctico ou poligalacturônico, quando os grupos carboxílicos das unidades de ácido galacturônico estão livres, e ácido pectínico, quando os grupos carboxílicos estão esterificados com metanol. O grau de metoxilação da pectina varia de acordo com a fonte de obtenção e do método de extração (BEMILLER; HUBER, 2008; DA-SILVA; FRANCO; GOMES, 1997; DHINGRA *et al.*, 2012; GIUNTINI; MENEZES, 2011; RAVEN; EVERT; EICHHORN, 2014).

A lignina também faz parte da parede celular e da lamela média dos vegetais, associada às hemiceluloses. É o único componente estrutural que não é um polissacarídeo; é um composto fenólico, resultante da polimerização de três álcoois, p-cumarílico, coniferílico e sinapílico. É constituída por um arranjo irregular de várias unidades de fenilpropano que pode conter grupos hidroxila e metoxila como substituintes no grupo fenil. Possui estrutura tridimensional e altamente ramificada. Confere resistência à compressão e rigidez à parede celular (DHINGRA *et al.*, 2012; GIUNTINI; MENEZES, 2011; RAVEN; EVERT; EICHHORN, 2014; SALIBA *et al.*, 2001; SILVA *et al.*, 2009).

3.4 FIBRAS ALIMENTARES

Materiais da parede celular vegetal, principalmente celulose, outros polissacarídeos não amido e lignina são os componentes das fibras alimentares (BEMILLER; HUBER, 2008). Embora diversas definições para “fibra alimentar” tenham sido propostas nos últimos 40 anos, em 2008, a comissão do *Codex Alimentarius* estabeleceu a seguinte definição: “fibras alimentares são compostas por polímeros de carboidratos com 10 ou mais unidades monoméricas, as quais não são hidrolisadas pelas enzimas endógenas no intestino delgado humano”. As ligninas e/ou outros compostos que estão associados com os oligo/polissacarídeos da parede celular vegetal (ex.: frações proteicas e compostos fenólicos) e que são quantificados pelo método gravimétrico 991.43 da AOAC para fibras alimentares, também estão incluídos nesta definição. No entanto, se estes compostos forem extraídos ou reintroduzidos em alimentos, não podem ser associados a esta definição. Ademais, a decisão de incluir os oligossacarídeos não digeríveis, com grau de polimerização de 3 a 9, como fibras alimentares, cabe às autoridades de cada país (TOBARUELA *et al.*, 2018; WHO/FAO, 2008, 2009). No Brasil, a

legislação vigente da ANVISA (RDC nº 360 de 23 de dezembro de 2003) apresenta a seguinte descrição para “fibra alimentar”: “é qualquer material comestível que não seja hidrolisado pelas enzimas endógenas do trato digestivo humano” (BRASIL, 2003).

Desta forma, as fibras alimentares não são formadas por um grupo químico definido, mas por uma combinação de substâncias quimicamente heterogêneas. Celulose, hemiceluloses, pectina, gomas, β -glucanas, amido resistente, oligossacarídeos encontrados em leguminosas, como rafinose e estaquiose, e frutanas, como frutooligossacarídeos e inulina, fazem parte dos grupos das fibras alimentares, podendo ser obtidas a partir de cereais, legumes, vegetais, frutas e seus subprodutos (Tabela 2) (DHINGRA *et al.*, 2012; PERCEGONI; NUNES; GOMES, 2015; THARANATHAN; MAHADEVAMMA, 2003).

Apesar de não serem digeríveis no intestino humano, as fibras alimentares são completa ou parcialmente fermentescíveis ao longo do intestino humano, formando produtos indispensáveis à saúde das células do cólon. Ao longo do intestino, exercem efeitos fisiológicos importantes sobre o metabolismo da glicose e dos lipídios e a biodisponibilidade de alguns minerais. Possuem mecanismos de proteção contra diversas condições clínicas do trato digestivo, como constipação, hemorroidas, câncer de cólon, diverticulite etc., e ação no controle de obesidade, diabetes e doenças cardiovasculares, na composição da microbiota intestinal e na integridade funcional do trato gastrintestinal (PERCEGONI; NUNES; GOMES, 2015).

Além disso, apresentam propriedades tecnofuncionais, como capacidade de retenção de água e óleo, formação de emulsão e de gel, dentre outras, as quais permitem sua incorporação no preparo de produtos alimentares, modificando as propriedades de textura, evitam a sinerese, estabilizam emulsões e melhoram a vida útil dos alimentos (ELLEUCH *et al.*, 2011; MUDGIL; BARAK, 2013; PERCEGONI; NUNES; GOMES, 2015).

As fibras alimentares podem ser categorizadas pela sua fonte, solubilidade, fermentabilidade ou pelos efeitos fisiológicos. No entanto, são classificadas amplamente pela sua solubilidade em água, podendo ser solúveis ou insolúveis (THARANATHAN; MAHADEVAMMA, 2003).

Tabela 2 – Conteúdo de fibras alimentares em diferentes alimentos e subprodutos (base seca)

Fonte de fibras	Fibras alimentares (%)
Alga arame ¹	74,6
Alga nori ¹	34,7
Arroz branco polido ²	2,87
Arroz integral ²	11,76
Bainhas foliares de palmeira real ¹	70,85
Bagaço de maçã ¹	78,2 – 89,8
Casca de gergelim ¹	31,64 – 42
Casca de laranja ¹	64,3
Casca de limão ¹	66,7 – 70,4
Casca de uva ¹	44,2 – 62,6
Concentrado de fibra de laranja ¹	36,9
Concentrado de fibra de manga ¹	28,05
Concentrado de fibra de pêssego ¹	30,7
Concentrado de fibras de tâmara ¹	88 – 92,4
Farelo de arroz ¹	27,04
Farelo de milho ¹	87,86
Farelo de trigo ¹	44,46
Fibras de cotilédones de soja³	59,4
Okara^{4,5}	40,18 – 58,1
Grão de soja⁶	24,4
Subproduto de aspargo ¹	62 – 77

Fonte: Elleuch *et al.* (2011)¹, Li, Qiao e Lu (2012)⁴, Redondo-Cuenca, Villanueva-Suárez e Mateos-Aparicio (2008)⁶, Seibel e Beléia (2009a)³, Walter, Marchzam e Avila (2008)² e Yoshida *et al.* (2014)⁵

As fibras insolúveis provêm da parede celular vegetal que é formada por uma matriz complexa de celulose, lignina e hemiceluloses, encontradas em diversas fontes alimentares, como está apresentado na Tabela 3. As fibras insolúveis ainda podem ser consideradas não viscosas e não/pouco fermentescíveis. A viscosidade afeta as funções da porção superior do trato digestivo e a fermentabilidade, na porção inferior no intestino grosso (PERCEGONI; NUNES; GOMES, 2015; THARANATHAN; MAHADEVAMMA, 2003).

Em relação aos benefícios à saúde, o consumo específico de fibras insolúveis leva ao aumento do volume do bolo fecal e à redução do tempo de trânsito intestinal, os quais diminuem a interação entre a mucosa intestinal e os potenciais metabólitos carcinogênicos presentes nas fezes. Algumas fibras insolúveis são substratos de fermentação, o que altera a atividade da microbiota intestinal e modifica ou reduz a produção de mutagênicos (ADLERCREUTZ *et al.*, 1987; PERCEGONI; NUNES; GOMES, 2015; PORFÍRIO; HENRIQUE; REIS, 2014; THARANATHAN; MAHADEVAMMA, 2003).

Do ponto de vista tecnológico e sensorial, a incorporação de fibras insolúveis em algumas formulações de alimentos pode causar mudanças desagradáveis no produto final, particularmente, no sabor, textura e sensação na boca (cavidade oral), as quais têm sido minimizadas por meio de modificações químicas, físicas e enzimáticas dos polissacarídeos (THARANATHAN; MAHADEVAMMA, 2003; THOMPSON, 2000).

Tabela 3 – Conteúdo de fibras solúveis e insolúveis em diferentes alimentos (base seca)

Fonte de fibras	Fibras solúveis (%)	Fibras insolúveis (%)
Subprodutos de frutas processadas		
Polpa de laranja ¹	13,28	54,19
Polpa de limão ¹	31,81	41,86
Concentrado de fibras de tâmara ¹	6,7	83
Frutas		
Maçã ¹	5,8	7,5
Laranja ¹	9,8	5,2
Pêssego ¹	7,1	6,4
Tomate ¹	7,4	11,4
Tâmara ¹	5,16 – 6,68	9,19 – 11,7
Legumes		
Cenoura ¹	14,9	11,1
Batata ¹	2,12	4,97
Cereais/Leguminosas		
Arroz integral ²	2,82	8,93
Arroz branco polido ²	1,82	1,05
Aveia ¹	4,21	5,66
Grão de Soja³	3,5	20,86
Feijão ⁴	3,29 – 6,29	16,61 – 20,40

Fonte: Elleuch *et al.* (2011)¹, Ramírez-Cárdenasi, Leonel e Costa (2008)⁴, Redondo-Cuenca, Villanueva-Suárez e Mateos-Aparicio (2008)³ e Walter, Marchzam e Avila (2008)²

As fibras solúveis são compostas por pectina, algumas hemiceluloses, gomas, β -glucanas, frutooligossacarídeos e amido resistente, sendo, a maior parte, polímeros de cadeia longa que se dissolvem ou dispersam formando gel na presença de água. Do ponto de vista tecnológico, são utilizadas como estabilizantes de emulsões, na suspensão de partículas, no controle de cristalização, no encapsulamento e na formação de filmes (THARANATHAN; MAHADEVAMMA, 2003; THOMPSON, 2000; WANG; YUAN; YUE, 2015).

As fibras solúveis possuem ainda mais benefícios à saúde do que às insolúveis. No trato gastrintestinal, retardam o esvaziamento gástrico e o tempo de trânsito intestinal. Ao formarem gel no intestino, as fibras solúveis desaceleram o

ritmo de absorção de glicose e colesterol. São substratos para fermentação bacteriana que resultam na formação de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC). Estes AGCC são responsáveis por regular a proliferação epitelial e diferenciação da mucosa colônica, aumentar o fluxo sanguíneo e produção de muco, constituir fonte energética preferencial para os colonócitos, reduzir o pH no cólon, promovendo o crescimento de bactérias benéficas, estimular a absorção de sódio e água e exercer efeito sobre o metabolismo lipídico e glicídico e estimular a secreção pancreática e de outros hormônios (CATALANI *et al.*, 2003; MATEOS-APARICIO; MATEOS-PEINADO; RUPÉREZ, 2010; THARANATHAN; MAHADEVAMMA, 2003; ZONGCAI *et al.*, 2007).

As fibras solúveis podem ser encontradas, principalmente, em frutas, verduras e cereais, como aveia, e em leguminosas, como o feijão (Tabela 3). É desejável que o consumo de fibras alimentares seja de, aproximadamente, 30% de fibras solúveis (MATEOS-APARICIO; MATEOS-PEINADO; RUPÉREZ, 2010). Devido às diferentes proporções de fibras solúveis e fibras insolúveis nos alimentos (Tabela 3), é importante variar suas fontes durante a alimentação (MUDGIL; BARAK, 2013).

A Organização Mundial da Saúde (OMS) recomenda o consumo diário de fibras alimentares de 12,5 g/1000 kcal ou 25 g por dia e o Ministério da Saúde no Brasil também adotou esse nível para a população brasileira (BRASIL, 2008; WHO, 2003). Apesar da importância da ingestão de fibras alimentares, como parte de uma dieta saudável, o seu consumo no Brasil está aquém do valor recomendado. Enquanto a população norte-americana consome 16 g/dia e a belga, 18 g/dia (SARDINHA *et al.*, 2014).

Com base nos dados da Pesquisa de Orçamentos Familiares entre os anos de 2008 e 2009, Sardinha *et al.* (2014) estimaram a disponibilidade domiciliar de fibras no Brasil e identificaram suas fontes alimentares, associando-os com a renda, região e área (rural ou urbana) das famílias. A média do consumo individual de fibras foi de 7,6 g/1000 kcal. As maiores disponibilidade (g/dia) e densidade (g/1000 kcal) de fibras na alimentação doméstica foram observadas nas casas situadas nas zonas rurais e entre as famílias com menor renda. Os alimentos que mais contribuíram para o consumo de fibras alimentares foram feijão (36,9% de fibras totais), seguido do arroz (9,8%), pão (9,3%), vegetais (7,8%), frutas (7,7%) e farinha de mandioca (5,5%). Os resultados ainda indicaram que as famílias com as

maiores rendas consomem mais frutas e vegetais, como fonte de fibras, ao passo que o consumo de feijão, legumes, grãos e seus derivados é menor para esses grupos.

Uma vez que as fibras desempenham um papel preventivo para diversas doenças crônicas e o seu consumo pela população brasileira é inadequado, Sardinha *et al.* (2014) concluíram que deveria haver políticas públicas de incentivo ao consumo de alimentos rico em fibras, como feijões, frutas e hortaliças.

3.5 FIBRAS DE OKARA E SUAS PROPRIEDADES TECNOLÓGICAS

Embora a moagem dos grãos de soja provoque dano mecânico de parte das células, cuja ruptura da parede celular expõe os componentes intracelulares do interior da célula para o meio aquoso, as fibras alimentares, que são compostos da parede celular, permanecem intactas (CATALANI *et al.*, 2003; PREECE *et al.*, 2015), sendo os constituintes em maior proporção no okara (Tabela 1). Como a maioria dos resíduos vegetais da indústria, ele é rico em fibras insolúveis e possui baixo conteúdo de fibras solúveis, conforme apresentado na Tabela 4.

Tabela 4 – Conteúdo de fibras do okara (g/100 g de matéria seca)

Fibras solúveis	Fibras insolúveis	Fibras alimentares	Referências**
1,4	58,9	60,2	Figueiredo <i>et al.</i> (2018)*
2,30	45,88	48,18	Li <i>et al.</i> (2012)
1,91	55,63	58,60	Lu, Liu e Li (2013)
4,2	50,1	54,3	Mateos-Aparicio <i>et al.</i> (2010)
2,08	43,65	45,73	Mateos-Aparicio, Mateos-Peinado e Rupérez (2010)*
4,71	50,77	55,48	Redondo-Cuenca, Villanueva-Suárez e Mateos-Aparicio (2008)
2,78	37,40	40,18	Yoshida <i>et al.</i> (2014)

*okara desengordurado.

Fonte: próprio autor com base em diferentes referências (**)

As fibras insolúveis do okara são constituídas principalmente por celulose, hemiceluloses e lignina e as solúveis por pectina e algumas hemiceluloses (LU; LIU; LI, 2013; MATEOS-APARICIO; REDONDO-CUENCA; VILLANUEVA-

SUÁREZ, 2010; REDONDO-CUENCA; VILLANUEVA-SUÁREZ; MATEOS-APARICIO, 2008).

Funcionalidade tecnológica alimentar é qualquer propriedade de um sistema ou ingrediente alimentar, à exceção de nutricional e saúde, que afeta a utilização (processamento, armazenamento, preparo e consumo) e aceitação do produto (características sensoriais, como textura) (DAMODARAN, 2008).

Diversos estudos reportaram que o okara, em suas diferentes formas, farinha, farinha desengordurada ou suas fibras e proteínas extraídas, apresentam funcionalidade tecnológica ou propriedades tecnofuncionais de interesse para o emprego em formulações alimentícias, como capacidade de absorção e retenção de óleo e propriedades emulsificantes e espumantes e, principalmente, de hidratação. Além disso, devido aos elevados teores de proteínas e fibras, o okara pode ser utilizado em formulações alimentícias pelo seu aporte nutricional e para o enriquecimento de fibras (CHAN; MA, 1999; FUNG; YUEN; LIONG, 2010; MATEOS-APARICIO; MATEOS-PEINADO; RUPÉREZ, 2010; VISHWANATHAN *et al.*, 2011; YOSHIDA *et al.*, 2014).

A funcionalidade do okara se deve aos seus componentes majoritários, fibras e proteínas. As propriedades de hidratação podem ser determinadas pela capacidade de absorção e retenção de água e capacidade de intumescimento. A primeira propriedade é quantificada pela quantidade de água embebida e retida na matriz de moléculas, geralmente, macromoléculas, sem que ocorra a exsudação, após a ação de uma força centrífuga. As moléculas de água se ligam a diversos grupos hidrofílicos tanto das proteínas, quanto das fibras. No caso das fibras, participam desta propriedade os grupos hidroxilas livres dos polissacarídeos, enquanto as ligações intra e intermoleculares possuem efeito oposto. A hidratação das fibras ocorre por adsorção na superfície das macromoléculas e por incorporação às regiões intersticiais da matriz fibrosa. Portanto, a estrutura física da matriz é o fator mais importante para esta propriedade (AUFFRET *et al.*, 1994; DAMODARAN, 2008; ELLEUCH *et al.*, 2011; KAY, 1982).

Já o intumescimento ocorre por meio da fixação espontânea da água pela matriz macromolecular. Esta propriedade está relacionada ao fenômeno de difusão induzido pela afinidade das moléculas do material pelas moléculas do fluido. Conforme o líquido interativo entra em contato com a molécula, ocorre um mecanismo do tipo “abertura de fibrilas”, assumindo uma forma porosa. Quando o

intumescimento se inicia, mais grupos hidroxilas se tornam acessíveis para acomodar mais líquido, abrindo ainda mais a estrutura e resultando em maior intumescimento. Os grupos hidroxilas da região amorfa se tornam disponíveis, enquanto que das regiões cristalinas permanecem inacessíveis (AUFFRET *et al.*, 1994; ELLEUCH *et al.*, 2011; QIAN; DING, 1996).

As propriedades físico-químicas das fibras e proteínas, como seu tamanho, forma, flexibilidade molecular, configuração, estrutura física, composição, características de superfície da molécula, capacidade de interagir com outros compostos, dentre outros, determinam a sua funcionalidade tecnológica. Fatores extrínsecos, relacionados ao meio em que estão, como temperatura, pH e força iônica, também influenciam estas propriedades. As propriedades de hidratação destas macromoléculas estão associadas à suculência e maciez de produtos cárneos e à textura de pães (CHO; DEVRIES; PROSKY, 1997; DAMODARAN, 2008; ELLEUCH *et al.*, 2011).

Diversas pesquisas propuseram o aproveitamento do okara em formulações alimentícias, principalmente, em produtos cárneos e panificáveis, como substituto parcial/total de diversos ingredientes, como farinha de trigo e outros ingredientes à base de soja mais comumente utilizados, como a proteína texturizada de soja (GRIZOTTO *et al.*, 2010, 2012; GUIMARÃES *et al.*, 2018; LU; LIU; LI, 2013; PARK; CHOI; KIM, 2015; SEIBEL, 2018a; YOSHIDA *et al.*, 2014). No entanto, tratamentos físicos, químicos e enzimáticos têm sido estudados para alterar, positivamente, as propriedades físico-químicas do okara e, assim, melhorar a funcionalidade tecnológica e a aceitação de produtos à base deste resíduo (LI; QIAO; LU, 2012).

3.6 TRATAMENTOS PARA MODIFICAÇÃO DE FIBRAS

Devido aos diversos benefícios que o consumo de fibras promove à saúde, os alimentos contendo estes componentes têm ganhado mais popularidade. No entanto, devido à cristalinidade da celulose e da íntima associação entre a celulose, hemicelulose e lignina, sua aplicação tecnológica é frequentemente associada às propriedades sensoriais indesejáveis, principalmente às inerentes à textura, granulosa e grosseira, possuindo pobre funcionalidade tecnológica, bem

como à perda do volume de produto (FUNG; YUEN; LIONG, 2010; GALDEANO; GROSSMANN, 2005; GOULD, 1985).

Diante disso, pesquisadores têm buscado a aplicação de diferentes tratamentos, associados ou não, para modificação das fibras, os quais podem ocasionar a solubilização da lignina e reduzir a cristalinidade da celulose. Essas modificações resultam na exploração de novas funções do material, devido ao aumento das propriedades de hidratação, melhorando, conseqüentemente, as características sensoriais, principalmente, em relação à sensação tátil na boca, e ao aumento de fibras solúveis, que possuem mais benefícios à saúde em comparação às fibras insolúveis (FUNG; YUEN; LIONG, 2010; GALDEANO; GROSSMANN, 2005; GOULD, 1985; KASAI *et al.*, 2004; LI *et al.*, 2012; PÉREZ-LÓPEZ; MATEOS-APARICIO; RUPÉREZ, 2017). Além disso, as fibras modificadas podem conferir efeito prebiótico, devido ao aumento da fração solúvel como resultado da conversão de fibras insolúveis para solúveis (HUANG *et al.*, 2015; MATEOS-APARICIO; MATEOS-PEINADO; RUPÉREZ, 2010).

A literatura aborda a extrusão, a hidrólise enzimática, tratamentos por alta pressão hidrostática e com solução de peróxido de hidrogênio alcalino etc., como métodos para modificação de fibras, objetivando, principalmente, o aumento de fibras solúveis e a melhora das propriedades tecnofuncionais de diversos subprodutos da indústria, como casca de aveia, farelo de arroz, farelo de trigo, fibras de milho e okara (CHEN *et al.*, 2014; GALDEANO; GROSSMANN, 2005; GAJULA *et al.*, 2008; HUANG *et al.*, 2015; LI *et al.*, 2012; MATEOS-APARICIO; MATEOS-PEINADO; RUPÉREZ, 2010; PÉREZ-LÓPEZ; MATEOS-APARICIO; RUPÉREZ, 2017; SINGKHORNART; LEE; RYU, 2013; VILLANUEVA-SUÁREZ; PÉREZ-CÓZAR; REDONDO-CUENCA, 2013; VONG; LIM; LIU, 2017; VONG; LIU, 2019).

3.6.1 Peróxido de Hidrogênio Alcalino

O peróxido de hidrogênio desempenha um papel importante na solubilização da lignina de resíduos agroindustriais. O processo é altamente dependente do pH alcalino ($\approx 11,5$) para que ocorra a reação de dissociação do H_2O_2 . Em meio alcalino, ocorre a formação do ânion hidroperóxido (HOO^-), principal espécie ativa no peróxido. Devido à instabilidade do peróxido neste meio, ele se decompõe em radicais hidroxil ($\cdot OH$) e superóxido ($\cdot O_2^-$), os quais são responsáveis

pela oxidação da lignina. Em razão da lignina estar associada às hemiceluloses, elas também podem ser degradadas parcialmente. A cristalinidade da celulose também pode ser reduzida, por meio da ruptura das ligações de hidrogênio intra e intermoleculares (FANG *et al.*, 1999; GALDEANO; GROSSMANN, 2005; GOULD; FREER, 1984; PAN; BOLTON; LEARY, 1988; SUN *et al.*, 2004).

Além das fibras, as proteínas também podem sofrer alteração com este tratamento, pois, uma vez que o peróxido de hidrogênio alcalino provoca a ruptura da parede celular, pode ocorrer um aumento da exposição de moléculas, como as proteínas, localizadas no interior da célula, melhorando/aumentando sua extração/solubilidade (PREECE *et al.*, 2015). Ademais, as proteínas também são suscetíveis à oxidação pelo peróxido de hidrogênio, podendo acarretar alterações estruturais.

Desta forma, o material modificado pode apresentar menor teor de fibras insolúveis e maior de fibras solúveis, como resultado da ruptura da cadeia polissacarídica, e melhores propriedades de hidratação, devido à maior porosidade do material, o que facilita a penetração de água.

Galdeano e Grossmann (2005) observaram aumento das propriedades de hidratação de cascas de aveia mediante tratamento químico com solução de peróxido de hidrogênio alcalino associado à extrusão. Obtiveram um incremento de 70% da capacidade de retenção de água e 55% do volume de intumescimento, após a modificação. Esses valores sugerem que as partículas do material tratado apresentaram maior porosidade superficial e estrutura interna mais aberta, o que facilita a entrada de água. Ainda, foi observado que o tratamento químico isolado resultou em material com maiores incrementos na capacidade de retenção de água e volume de intumescimento das fibras de cascas de aveia do que a extrusão.

Galdeano e Grossmann (2006) confirmaram a eficiência do tratamento de cascas de aveia com peróxido de hidrogênio associado à extrusão em estudo subsequente, no qual o material modificado foi empregado como ingrediente na formulação de biscoito tipo cookie. Notaram que o biscoito contendo as fibras tratadas não apresentou textura arenosa, além de ter a preferência sensorial em relação ao biscoito contendo as fibras nativas.

Pierce *et al.* (2016) utilizaram peróxido de hidrogênio para obtenção de polissacarídeos da soja solúveis em água. O emprego de 3% de H₂O₂ (em relação à

massa de polissacarídeos), pH 7 a 121 °C por 60 minutos resultou na solubilização de 60% dos polissacarídeos.

Ao modificarem borra de café, Vilela *et al.* (2016) obtiveram redução no teor de fibras solúveis quando utilizaram peróxido de hidrogênio a 20 e 25% em temperatura ambiente por 18 horas, mas com um incremento de 42 e 55% da capacidade de retenção de água e de 13 e 11 % do volume de intumescimento, respectivamente. O teor de fibras solúveis somente aumentou quando foram empregadas concentrações do reagente a 5 – 15%, enquanto o volume de intumescimento não foi alterado e a capacidade de retenção de água aumentou de 23 a 45% em relação ao controle. Ressalta-se que o material foi lavado após a modificação, o que pode ter resultado na lixiviação parcial das fibras solúveis.

Maani *et al.* (2017) estudaram a ação do peróxido de hidrogênio em diferentes concentrações (1 a 7%) e pH (10,5 a 12,5) para modificação de farelo de arroz. Em pH mais elevado (12,5), a capacidade de retenção de água do subproduto aumentou, independente da concentração de H₂O₂ empregada.

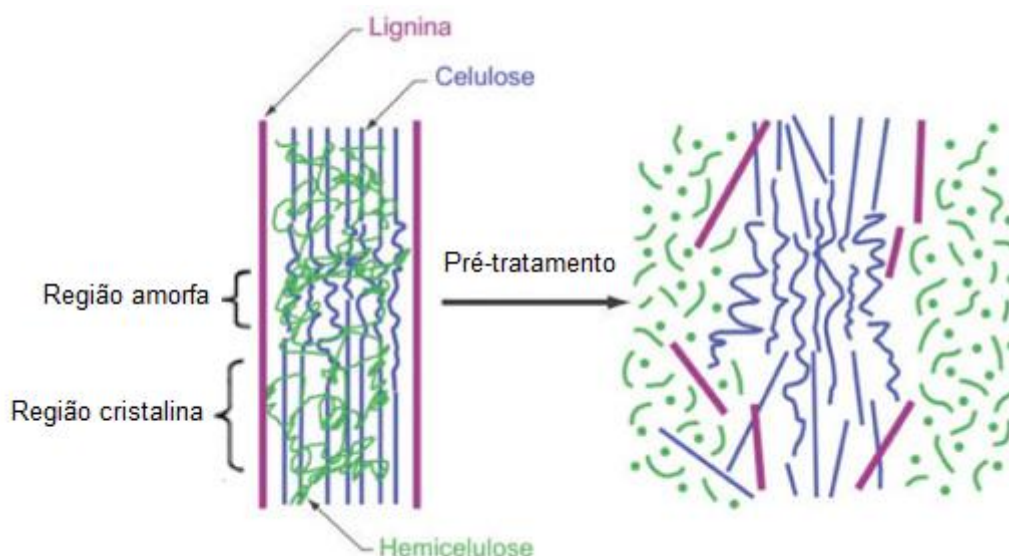
O uso de peróxido de hidrogênio para modificação das fibras e proteínas de okara não está relatado na literatura, apenas sua função como agente branqueador (LI; QIAO; LU, 2012).

3.6.2 Hidrólise Enzimática

A hidrólise enzimática de materiais lignocelulósicos também é um processo muito estudado para modificação de fibras por apresentar vantagens, como o controle de processo, a especificidade da reação, a ausência de reações secundárias, a ausência de formação de produtos secundários, além de ocorrer em condições brandas, onde altas temperaturas e pressões e ambientes corrosivos para os equipamentos não fazem parte do processo (PINHEIRO, 2008; SANTOS *et al.*, 2012).

Tratamentos físicos ou químicos prévios à hidrólise enzimática provocam a fragmentação da matriz, formada por hemicelulose e a lignina, ao redor da celulose, aumentando o acesso da enzima à celulose, como apresentado na Figura 4 (KUMAR *et al.*, 2009; SANTOS *et al.*, 2012).

Figura 4 – Estrutura de materiais lignocelulósicos antes e após pré-tratamentos químicos ou físicos



Fonte: adaptado de Santos *et al.* (2012)

O mecanismo da ação das carboidrases na modificação de fibras visando o aumento de fibras solúveis se baseia na ruptura das ligações glicosídicas entre monossacarídeos formadores de oligossacarídeos ou polissacarídeos, produzindo moléculas pequenas solúveis (HUANG *et al.*, 2015).

Kasai *et al.* (2004) mostraram que o tratamento prévio por autoclavagem foi efetivo para aumentar a hidrólise, pela enzima celulase, dos polissacarídeos da parede celular primária presente no okara. Entretanto, após estes procedimentos foi identificado, por meio de microscopia, que ainda existia um material que não foi digerido pela enzima, a parede celular secundária, composta por ácidos galacturônicos, açúcares neutros e proteínas. Após empregar diversas enzimas (glucanases, pectinases, hemicelulases, protopectinases e proteases) para digestão da parede secundária, os autores observaram que apenas as pectinases resultavam em solubilização satisfatória.

Seibel e Beléia (2009b) notaram que o emprego do complexo multi-enzimático Viscozyme® L, na proporção de 200 µL/g de amostra, a 30 °C por 12 horas, em fibras de cotilédones de soja, original (59,4% de fibras totais) e

micronizada (62,5% de fibras totais), ocasionou a máxima solubilização dos carboidratos (68% na fibra original e 70% na fibra micronizada).

Ainda no mesmo estudo, Seibel e Beléia (2009b) observaram que as propriedades tecnofuncionais das partículas da fração sólida, resultantes da hidrólise, foram alteradas após o tratamento. O volume de intumescimento aumentou e a capacidade de absorção de água diminuiu, provavelmente devido às mudanças na estrutura molecular ocorridas durante o tratamento, apesar de não ter ocorrido alteração na capacidade de absorção de óleo.

Antes de preparar o tofu, Rosset, Prudencio e Beléia (2012) empregaram o complexo multi-enzimático de carboidrases Viscozyme® L para hidrolisar os carboidratos insolúveis presentes no homogenato de soja nas seguintes condições: 55 °C, 30 min, 30 FBG/10 g de sólidos em pH natural da suspensão, 6,69. Sendo que, 1 FBG é quantidade de enzima necessária, sob condições padrões (30 °C, pH 5,0 e 30 min de reação), para hidrolisar β -glucanas de cevada em carboidratos redutores, correspondendo a 1 μ mol de glicose/min. O tofu preparado com o homogenato tratado apresentou conteúdo de açúcares redutores quatro vezes maior e redução de 12% do teor de rafinose, em relação ao tofu controle, sendo um fator benéfico, segundo os autores, uma vez que este oligossacarídeo causa flatulência. Além disso, o tratamento enzimático ocasionou a liberação de compostos fenólicos resultando em um aumento da atividade antioxidante do tofu.

Singkhornart, Lee e Ryu (2013) avaliaram o efeito dos pré-tratamentos ácido/alcalino e extrusão (associados ou não) e posterior hidrólise enzimática pela enzima celulase (Celluclast® 1.5 L), complexo multi-enzimático de carboidrases (Viscozyme® L) e xilanases (Pentopan Mono BG®) para obtenção de açúcares redutores e arabinoxilanas solúveis de fibras de milho. Os resultados mostraram que, dentre os tratamentos estudados, a extrusão foi o mais eficiente para dispersão e redução do tamanho de partícula da estrutura lignocelulósica. A extrusão combinada com o tratamento ácido ocasionou aumento na degradação enzimática posterior da celulose a açúcares redutores. Já a extrusão e o tratamento alcalino antes da hidrólise enzimática foram eficientes para aumentar o conteúdo de arabinoxilanas.

Villanueva-Suárez, Pérez-Cózar e Redondo-Cuenca (2013) modificaram o okara com a enzima Ultraflo® L (β -glucanase e xilanase), o que resultou em diferentes propriedades físico-químicas do resíduo. A densidade

diminuiu após o tratamento, de 0,91 g/mL para 0,53 g/mL, e a área superficial da partícula tornou-se maior, assim, melhoraram a capacidade de retenção de água, de 8,33 g/g para 10,76 g/g, o volume de intumescimento, de 9,44 mL/g para 13,85 g/g, e a capacidade de retenção de óleo do okara, de 0,27 g/g para 6,94 g/g. A fermentabilidade *in vitro*, utilizando *Bifidobacterium bifidus*, também foi estudada. A produção de ácidos graxos de cadeia curta foi maior no okara modificado, devido ao maior conteúdo de fibras solúveis desta amostra em relação ao controle, apresentando, portanto, maior efeito bifidogênico.

Pérez-López, Mateos-Aparicio e Rupérez (2017) modificaram o okara empregando a tecnologia de alta pressão hidrostática, além do uso simultâneo do complexo multi-enzimático de carboidrases Viscozyme® L para maximizar o conteúdo de fibras solúveis. O emprego de 600 Mpa de pressão, 0,025% do complexo enzimático e 30 minutos de tratamento resultou no aumento de 2,5 vezes em relação ao teor inicial.

Vong e Liu (2019) obtiveram um incremento de 128% de fibras solúveis de okara, utilizando o complexo multi-enzimático Viscozyme® L (3% de enzima, a 50 °C por três horas). Os resultados mostraram que as fibras insolúveis foram convertidas a fibras solúveis e açúcares simples.

3.6.3 Extrusão

A extrusão é um processo contínuo, de alta temperatura e curto tempo que, por combinação de calor, pressão e atrito mecânico, modifica uma grande variedade de ingredientes crus em produtos intermediários ou finais. Apresenta alta produtividade e versatilidade e ausência de efluentes (STEEL *et al.*, 2012).

O extrusor é composto por um ou dois parafusos giratórios acoplados dentro de um cilindro (canhão), com zonas de aquecimento e um cabeçote com uma matriz. A matéria-prima é alimentada no cilindro e o parafuso, ao girar, conduz o produto em direção à matriz, submetendo o material a alta temperatura, pressão e forças de cisalhamento (FELLOWS, 2006; SPOTTI; CAMPANELLA, 2017; STEEL *et al.*, 2012).

Dentre as modificações alcançadas por este tratamento, diversos pesquisadores relataram que a composição química das fibras alimentares pode ser alterada, podendo ocorrer transformação de fibras insolúveis para solúveis como

resultado da quebra das ligações covalentes e não covalentes dos polissacarídeos e entre os carboidratos e proteínas associados às fibras, liberando fragmentos mais solúveis, além do aumento de fibras totais, embora alguns estudos não tenham observado tal aumento. Além disso, a extrusão pode melhorar as propriedades de hidratação, devido às alterações estruturais das fibras (GAJULA *et al.*, 2008; GALDEANO; GROSSMANN, 2005; LI *et al.*, 2012; SPOTTI; CAMPANELLA, 2017). A intensidade com que estas alterações ocorrem é dependente das características do material, como composição química e umidade da amostra, e das condições operacionais da extrusão, como velocidade da rosca, temperatura, pressão e características gerais do equipamento. As condições deste tratamento devem ser controladas para evitar um rompimento excessivo da estrutura da fibra, o que causaria um efeito contrário ao esperado, de redução das propriedades de hidratação, uma vez que a fragmentação da matriz fibrosa pode reduzir o espaço intersticial e destruir a estrutura que interage com a água (CHEN *et al.*, 2014; GALDEANO; GROSSMANN, 2005; HONCU *et al.*, 2016; STEEL *et al.*, 2012).

Com o objetivo de determinar os efeitos da extrusão na composição química e na digestão hidrolítica e fermentativa *in vitro* de diferentes ingredientes, Dust *et al.* (2004) verificaram que o conteúdo de fibras solúveis aumentou cerca de 35% em cascas de soja, sob condição mais drástica do tratamento (maior energia mecânica específica, 145 – 613 kJ/kg). No entanto, sob condições mais amenas (menor energia mecânica específica, 75 – 329 e 93 – 383 kJ/kg), não houve alteração no teor destas fibras.

Gajula *et al.* (2008) avaliaram o efeito da extrusão sobre o tipo de fibras da farinha de trigo substituída por 0, 10, 20 e 30% de farelo de trigo. Notaram um aumento de 22 a 73% do conteúdo de fibras solúveis e redução de 24 a 37% das fibras insolúveis após a extrusão, dependendo do conteúdo de farelo empregado. Segundo os autores, o tratamento termomecânico promoveu a conversão de parte das fibras insolúveis para solúveis e, possivelmente, a açúcares, devido à fragmentação ou à decomposição termomecânica da celulose e lignina, principais componentes das fibras insolúveis. Contudo, quando os pesquisadores empregaram os materiais extrusados em formulações de cookies e tortilhas mexicanas, obtiveram menor aceitação sensorial dos produtos, quando comparado aos produtos com as farinhas não extrusadas. Segundo os autores, ao mesmo tempo em que a extrusão pode melhorar as propriedades funcionais, também degrada proteínas e amidos do

material acarretando a deterioração da qualidade geral dos ingredientes e consequentemente dos alimentos.

A aplicação da extrusão como pré-tratamento na modificação alcalina para conversão de fibras insolúveis em solúveis resulta em melhor rendimento. Inicialmente, Chi (2011) comparou duas amostras de okara, uma tratada com solução de NaOH e outra previamente extrusada e, posteriormente, tratada com a mesma solução. A amostra pré-tratada apresentou rendimento 2,6 vezes maior em relação à amostra tratada apenas com a solução alcalina. Em seguida, as condições de tratamento alcalino do okara foram otimizadas, por meio do estudo de diferentes concentrações de NaOH, proporções de líquido:sólido, temperatura e tempo. A pesquisa mostrou que empregando-se proporção de líquido:sólido de 26:1, 89 °C e 1,12% NaOH por 68 minutos, o rendimento de fibras solúveis do okara extrusado apresentou a melhor resposta, quase 3,4 vezes maior que a amostra tratada apenas com a NaOH.

Li *et al.* (2012) propuseram a introdução de reagente de produção de CO₂ (mistura de NaHCO₃ e C₆H₈O₇) na amostra para extrusão e assim alcançou maior pressão durante o processo, para resultar em aumento das fibras solúveis de okara. Os autores otimizaram as condições operacionais da extrusão, variando a temperatura da última zona de aquecimento (150, 160 e 170 °C), mantendo-se fixas a temperatura das três primeiras zonas (50, 70, 110 °C para todos os tratamentos), a velocidade de rosca (180, 190 e 200 rpm) e a umidade da amostra (30, 35 e 40%). A condição otimizada, de maior temperatura e velocidade da rosca e umidade moderada, elevou o conteúdo de fibras solúveis do okara extrusado na presença do reagente de produção de CO₂ (35 g/100 g) de 2,30% (controle) para 21,35%. Enquanto a amostra extrusada, sem o uso dos reagentes, apresentou 4,67% de fibras solúveis.

Ainda no mesmo estudo, Li *et al.* (2012) observaram que a capacidade de retenção de água do okara apresentou aumento significativo (36%) após a extrusão somente sem a presença do reagente de produção de CO₂, enquanto que a capacidade de retenção de óleo e volume de intumescimento aumentaram em ambas as amostras, sendo o maior aumento na amostra extrusada na presença do reagente.

Chen *et al.* (2014) notaram que, sob condição ótima de extrusão (170 °C e 150 rpm), o conteúdo de fibras solúveis aumentou substancialmente, de 2,6

para 30,1%. Além disso, a capacidade de retenção de água aumentou 42% e o volume de intumescimento, 24%, após o tratamento.

É importante ressaltar que a extrusão também altera a estrutura e consequente funcionalidade tecnológica das proteínas. Uma das principais aplicações da extrusão em alimentos com elevado conteúdo de proteínas é a texturização, processo que pode ser utilizado para obtenção de produtos que imitam a textura, gosto e aparência da carne ou frutos do mar (STEEL *et al.*, 2012). Na extrusão, as proteínas são desnaturadas, ocorrendo a dissociação e afrouxamento das moléculas, o que permite o alinhamento no sentido do fluxo. Na saída da extrusora, a liberação repentina de pressão faz com que a água do produto evapore, expandindo as estruturas e formando vacúolos de ar no interior destas. O produto final apresenta uma estrutura porosa com arranjos paralelos de fibras laminares de proteínas. A estabilização da estrutura dos extrusados ocorre por meio das pontes dissulfeto, pontes de hidrogênio e interações hidrofóbicas e eletrostáticas, como resultado da reestruturação das moléculas proteicas na saída da extrusora (DAMODARAN, 2008; MURATE; PRUDENCIO-FERREIRA, 1999; PRUDENCIO-FERREIRA; ARÊAS, 1993; SEIBEL, 2018b). O produto final pode apresentar importantes propriedades tecnofuncionais, como as de hidratação e de retenção de gordura (SEIBEL, 2018b). Embora a extrusão da soja seja praticada e estudada há décadas (STEEL *et al.*, 2012), na literatura não foram encontrados trabalhos que abordem o efeito da extrusão sobre as propriedades físico-químicas das proteínas do okara.

REFERÊNCIAS

- ADLERCREUTZ, H.; HÖCKERSTEDT, K.; BANNWART, C.; BLOIGU, S.; HÄMÄLÄINEN, E.; FOTSIS, T.; OLLUS, A. Effect of dietary components, including lignans and phytoestrogens, on enterohepatic circulation and liver metabolism of estrogens and on sex hormone binding globulin (SHBG). **Journal of Steroid Biochemistry**, v. 27, n. 4-6, p. 1135-1144, 1987.
- AUFFRET, A.; RALET, M. C.; GUILLON, F.; BARRY, J. L.; THIBAUT, J. F. Effect of grinding and experimental conditions on the measurement of hydration properties of dietary fibres. **LWT - Food Science and Technology**, v. 27, n. 2, p. 166-172, abr. 1994.
- BEMILLER, J. N.; HUBER, K. C. Carbohydrates. *In*: DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. **Fennema's Food Chemistry**. 4. ed. Boca Raton: CRC PRESS, 2008. p. 83-154.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução - RDC nº 360 de 23 de dezembro de 2003 - Aprova Regulamento Técnico sobre Rotulagem Nutricional de Alimentos Embalados. **Diário Oficial da União**. Brasília, DF, 26 dez. 2003.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. **Guia Alimentar para a População Brasileira**. Brasília, DF, 2008.
- CATALANI, L. A.; KANG, E. M. S.; DIAS, M. C. G.; MACULEVICIUS, J. Fibras alimentares. **Revista Brasileira de Nutrição Clínica**, v. 18, n. 4, p. 178-182, out.-dez. 2003.
- CHAN, W. M.; MA, C. Y. Acid modification of proteins from soy milk residue (okara). **Food Research International**, v. 32, n. 2, p. 119-127, mar. 1999.
- CHAWLA, R.; PATIL, G. R. Soluble dietary fiber. **Comprehensive reviews in Food Science and Food Safety**, v. 9, n. 2, p. 178-196, 2010.
- CHEN, Y.; YE, R.; YIN, L.; ZHANG, N. Novel blasting extrusion processing improved the physicochemical properties of soluble dietary fiber from soybean residue and *in vivo* evaluation. **Journal of Food Engineering**, v. 120, n. 1, p. 1-8, jan. 2014.
- CHI, Y. Optimization of the technology for preparing soluble dietary fiber from extruded soybean residue. *In*: NG, T. **Soybean - Applications and Technology**. Croatia: Intech, 2011. p. 55-66.
- CHO, S.; DEVRIES, J. W.; PROSKY, L. **Dietary Fiber Analysis and Applications**. Gaithersburg: AOAC International, 1997.
- DA-SILVA, R.; FRANCO, C. M. L.; GOMES, E. Pectinases, hemicelulases e celulasas, ação, produção e aplicação no processamento de alimentos: revisão. **Boletim SBCTA**, v. 31, n. 2, p. 249-260, jul.-dez. 1997.

DALL'AGNOL, A.; ROEASSING, A. C.; LAZZAROTTO, J. J.; HIRAKURI, M. H.; OLIVEIRA, A. B. O complexo agroindustrial da soja brasileira. **Circular técnica 43**, p. 1-12, 2007.

DAMODARAN, S. Amino acids, peptides, and proteins. *In*: DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. **Fennema's Food Chemistry**. 4. ed. Boca Raton: CRC PRESS, 2008. p. 217-330.

DHINGRA, D.; MICHAEL, M.; RAJPUT, H.; PATIL, R. T. Dietary fiber in foods: a review. **Journal of Food Science and Technology**, v. 49, n. 3, p. 255-266, maio-jun. 2012.

DUST, J. M.; GAJDA, A. M.; FLICKINGER, E. A.; BURKHALTER, T. M.; MERCHEN, N. R.; FAHEY, G. Extrusion conditions affect chemical composition and in vitro digestion of select food ingredients. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, p. 2989-2996, abr. 2004.

ELLEUCH, M.; BEDIGIAN, D.; ROISEUX, O.; BESBES, S.; BLECKER, C.; ATTIA, H. Dietary fibre and fibre-rich by-products of food processing: Characterisation, technological functionality and commercial applications: A review. **Food Chemistry**, v. 124, p. 411-421, jan. 2011.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA). **História da soja**. Disponível em: <https://www.embrapa.br/soja/cultivos/soja1/historia> Acesso em: nov. 2019.

FAN, L. T.; LEE, Y. H.; BEARDMORE, D. R. The influence of major structural features of cellulose on rate of enzymatic hydrolysis. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 23, n. 2, p. 419-424, fev. 1981.

FANG, J. M.; SUN, R. C.; SALISBURY, D.; FOWLER, P.; TOMKINSON, J. Comparative study of hemicelluloses from wheat straw by alkali and hydrogen peroxide extractions. **Polymer Degradation and Stability**, v. 66, n. 3, p. 423-432, dez. 1999.

FELLOWS, P. J. Extrusão. *In*: FELLOWS, P. J. **Tecnologia do Processamento de Alimentos: Princípios e Práticas**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2006. p. 305-320.

FIGUEIREDO, V. R. G.; YAMASHITA, F.; VANZELA, A. L. L.; IDA, E. I.; KUROZAWA, L. E. Action of multi-enzyme complex on protein extraction to obtain a protein concentrate from okara. **Journal of Food Science and Technology**, v. 55, n. 4, p. 1508-1517, abr. 2018.

FUNG, W.; YUEN, K.; LIONG, M. Characterization of fibrous residues from agrowastes and the production of nanofibers. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, n. 13, p. 8077-8084, jul. 2010.

GAJULA, H.; ALAVI, S.; ADHIKARI, K.; HERALD, T. Precooked bran-enriched wheat flour using extrusion: dietary fiber profile and sensory characteristics. **Journal of Food Science**, v. 73, n. 4, p. 173-179, maio 2008.

- GALDEANO, M. C.; GROSSMANN, M. V. E. Effect of treatment with alkaline hydrogen peroxide associated with extrusion on color and hydration properties of oat hulls. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 48, n. 1, p. 63-72, jan. 2005.
- GALDEANO, M. C.; GROSSMANN, M. V. E. Oat hulls treated with alkaline hydrogen peroxide associated with extrusion as fiber source in cookies. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, p. 123-126, jan./mar. 2006.
- GIUNTINI, E. B.; MENEZES, E. W. Funções plenamente reconhecidas de nutrientes - fibras alimentares. **International Life Sciences Institute do Brasil**, v. 18, abr. 2011.
- GOLBITZ, P.; JORDAN, J. Soyfoods: market and products. *In*: RIAZ, M. N. **Soy Applications in Food**. Boca Raton, Florida: CRC Press, 2006. p. 1-22.
- GOULD, J. M. Enhanced polysaccharide recovery from agricultural residues and perennial grasses treated with alkaline hydrogen peroxide. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 27, n. 6, p. 893-896, jun. 1985.
- GOULD, J. M.; FREER, S. N. High-efficiency ethanol production from lignocellulosic residues pretreated with alkaline H₂O₂. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 26, n. 6, p. 628-631, jun. 1984.
- GRIZOTTO, R. K.; RUFÍ, C. R. G.; YAMADA, E. A.; VICENTE, E. Evaluation of the quality of a molded sweet biscuit enriched with okara flour. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 1, p. 270-275, maio 2010.
- GRIZOTTO, R. K.; ANDRADE, J. C.; MIYAGUSKU, L.; YAMADA, E. A. Physical, chemical, technological and sensory characteristics of Frankfurter type sausage containing okara flour. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 32, n. 3, p. 538-546, jul.-set. 2012.
- GUIMARÃES, R. M.; SILVA, T. E.; LEMES, A. C.; BOLDRIN, M. C. F.; SILVA, M. A. P.; SILVA, F. G.; EGEEA, M. B. Okara: a soybean by-product as an alternative to enrich vegetable paste. **LWT - Food Science and Technology**, v. 92, p. 593-599, jun. 2018.
- HE, F.; CHEN, J. Consumption of soybean, soy foods, soy isoflavones and breast cancer incidence: Differences between Chinese women and women in Western countries and possible mechanisms. **Food Science and Human Wellness**, v. 2, n. 3-4, p. 146 -161, set.-dez. 2013.
- HONCU, I.; SLUKOVÁ, M.; VACULOVÁ, K.; SEDLÁCKOVÁ, I.; WIEGE, B.; FEHLING, E. The effects of extrusion on the content and properties of dietary fibre components in various barley cultivars. **Journal of Cereal Science**, v. 68, p. 132-139, mar. 2016.
- HUANG, S.; HE, Y.; ZOU, Y.; LIU, Z. Modification of insoluble dietary fiber in soya bean okara and their physicochemical properties. **International Journal of Food**

Science and Technology, v. 50, n. 12, p. 2606-2613, ago. 2015.

HYMOWITZ, T. The history of the soybean. *In*: JOHNSON, L.; WHITE, P. J.; GALLOWAY, R. **Soybeans: Chemistry, Production, Processing and Utilization**. Urbana: AOCS, 2008. p. 1-32.

KASAI, N.; MURATA, A.; INUI, H.; SAKAMOTO, T.; KAHN, R. I. Enzymatic high digestion of soybean milk residue (okara). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 18, p. 5709-5716, ago. 2004.

KAY, R. M. Dietary fiber. **Journal of Lipid Research**, v. 23, n. 2, p. 221-242, fev. 1982.

KOBLITZ, M. G. B. Carboidrases. *In*: KOBLITZ, M. G. B. **Bioquímica de alimentos: Teoria e aplicações práticas**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan Ltda., 2008. p. 20-74.

KUMAR, P.; BARRET, D. M.; DELWICHE, M. J.; STROEVE, P. Methods for pretreatment of lignocellulosic biomass for efficient hydrolysis and biofuel production. **Industrial and Engineering Chemistry Research**, v. 48, n. 8, p. 3713-3729, mar. 2009.

LI, B.; QIAO, M.; LU, F. Composition, nutrition, and utilization of okara (Soybean Residue). **Food Reviews International**, v. 28, n. 3, p. 231-252, abr. 2012.

LI, H.; LONG, D.; PENG, J.; MING, J.; ZHAO, G. A novel in-situ enhanced blasting extrusion technique - Extrudate analysis and optimization of processing conditions with okara. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 16, p. 80-88, out. 2012.

LIU, K. **Soybeans: chemistry, technology, and utilization**. New York: Chapman and Hall, 1997.

LIU, K. **Soybeans as Functional Foods and Ingredients**. Illinois: AOCS Press, 2004.

LIU, K. Food use of whole soybeans. *In*: JOHNSON, L.; WHITE, P. J.; GALLOWAY, R. **Soybeans: chemistry, production, processing and utilization**. Urbana: AOCS, 2008. p. 441 - 482.

LU, F.; LIU, Y.; LI, B. Okara dietary fiber and hypoglycemic effect of okara foods. **Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre**, v. 2, n. 2, p. 126-132, out. 2013.

MAANI, B.; ALIM, M.; SHOKOOHI, S.; FAZELI, F. Substitution of modified starch with hydrogen peroxide modified rice bran in salad dressing formulation: physicochemical, texture, rheological and sensory properties. **Journal of Texture Studies**, v. 48, n. 3, p. 205 - 214, ago. 2017.

MATEOS-APARICIO, I.; MATEOS-PEINADO, C.; RUPÉREZ, P. High hydrostatic pressure improves the functionality of dietary fibre in okara by-product from soybean.

Innovative Food Science and Emerging Technologies, v. 11, n. 3, p. 445-450, jul. 2010.

MATEOS-APARICIO, I.; REDONDO-CUENCA, A.; VILLANUEVA-SUÁREZ, M. J.; ZAPATA-REVILLA, M.; TENORIO-SANZ, M. Pea pod, broad bean pod and okara, potential sources of functional compounds. **LWT-Food Science and Technology**, v. 43, n. 9, p. 1467-1470, nov. 2010.

MIDDELBOS, I. S.; FAHEY, G. C. Soybean carbohydrates. *In*: JOHNSON, L.; WHITE, P. J.; GALLOWAY, R. **Soybeans: Chemistry, Production, Processing and Utilization**. Urbana: AOCS, 2008. p. 269-296.

MUDGIL, D.; BARAK, S. Composition, properties and health benefits of indigestible carbohydrate polymers as dietary fiber: A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 61, p. 1-6, out. 2013.

MURATE, E. H.; PRUDENCIO-FERREIRA, S. H. Propriedades funcionais de concentrado protéico extrusado de sementes de girassol. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 42, n. 2, 1999.

PAN, G. X.; BOLTON, J. L.; LEARY, G. J. Determination of ferulic and p-coumaric acids in wheat straw and the amounts released by mild acid and alkaline peroxide treatment. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 46, n. 12, p. 5283-5288, dez. 1998.

PARK, J.; CHOI, I.; KIM, Y. Cookies formulated from fresh okara using starch, soy flour and hydroxypropyl methylcellulose have high quality and nutritional value. **LWT - Food Science and Technology**, v. 63, n. 1, p. 660-666, set. 2015.

PENHA, L. A. O.; FONSECA, I. C. B.; MANDARINO, J. M.; BENASSI, V. T. A soja como alimento: valor nutricional, benefícios para a saúde e cultivo orgânico. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimento**, v. 25, n. 1, p. 91-102, jan.-jun. 2007.

PERCEGONI, N.; NUNES, R. M.; GOMES, A. O papel da fibra na promoção da saúde e na dieta. *In*: SEIXAS, D. **Compostos Bioativos dos Alimentos**. São Paulo: VP Editora, 2015. p. 190-214.

PEREIRA, D. G.; SEIBEL, N. F. Uso de diferentes métodos para a obtenção do extrato de soja e okara. *In*: OLIVEIRA, A. F.; STORTO, L. J. **Tópicos em Ciência e Tecnologia de Alimentos**. São Paulo: Blücher, 2016. p. 19-36.

PÉREZ-LÓPEZ, E.; MATEOS-APARICIO, I.; RUPÉREZ, P. High hydrostatic pressure aided by food-grade enzymes as a novel approach for okara valorization. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 42, n. 1, p. 197-203, ago. 2017.

PIERCE, B. C.; WICHMANN, J.; TRAN, T. H.; CHEETAMUN, R. Formation of water-soluble soybean polysaccharides from spent flakes by hydrogen peroxide treatment. **Carbohydrate Polymers**, v. 144, n. 1, p. 504 - 513, jun. 2016.

- PINHEIRO, D. M. Introdução. *In*: KOBLITZ, M. G. B. **Bioquímica de alimentos: Teoria e aplicações práticas**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan Ltda., 2008. p. 7-17.
- PORFÍRIO, E.; HENRIQUE, V. S. M.; REIS, M. J. A. Elaboração de farofa de grãos, sementes oleaginosas e castanha de caju: composição de fibras, ácidos graxos e aceitação. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 17, n. 3, p. 185-191, jul.-set. 2014.
- PREECE, K. E.; DROST, E.; HOOSHYAR, N.; KRIJGSMAN, A.; COX, P. W.; ZUIDAM, N. Confocal imaging to reveal the microstructure of soybean processing materials. **Journal of Food Engineering**, v. 147, p. 8-13, fev. 2015.
- PRUDÊNCIO-FERREIRA, S. H.; ARÊAS, J. A. G. Protein-protein interactions in the extrusion of soya at various temperatures and moisture contents. **Journal of Food Science**, v. 58, n. 2, p. 378-381, mar. 1993.
- QIAN, J. Y.; DING, X. L. Effect of twin-screw extrusion on the functional properties of soya fibre. **Journal of Science of Food and Agriculture**, v. 71, n. 1, p. 64-68, 1996.
- RAMÍREZ-CÁRDENAS, L.; LEONEL, A. J.; COSTA, N. M. B. Efeito do processamento doméstico sobre o teor de nutrientes e de fatores antinutricionais de diferentes cultivares de feijão comum. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 1, p. 200-213, jan.-mar. 2008.
- RAVEN, H. P.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. **Biologia Vegetal**. 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan Ltda., 2014.
- REDONDO-CUENCA, A.; VILLANUEVA SUÁREZ, M. J.; MATEOS-APARICIO, I. Soybean seeds and its by-product okara as sources of dietary fibre. Measure by AOAC and Englyst methods. **Food Chemistry**, v. 108, n. 3, p. 1099-1105, jun. 2008.
- ROSSET, M.; PRUDENCIO, S. H.; BELÉIA, A. D. P. Viscozyme L action on soy slurry affects carbohydrates and antioxidant properties of silken tofu. **Food Science and Technology International**, v. 18, n. 6, p. 531-538, dez. 2012.
- SALIBA, E. O. S.; RODRIGUEZ, N. M.; MORAIS, S. A. L.; PILÓ-VELOSO, D. P. Ligninas – métodos de obtenção e caracterização química, **Ciência Rural**, v. 31, n. 5, p. 917-929, set.-out. 2001.
- SANTOS, F. A.; QUEIRÓZ, J. L.; FERNANDES, C. S.; GUIMARÃES, V. M.; REZENDE, S. T. Potencial da palha de cana-de-açúcar para produção de etanol. **Química Nova**, v. 35, n. 5, p. 1004-1010, jan. 2012.
- SARDINHA, A. N.; CANELLA, D.; MARTINS, A. P. B.; CLARO, R. M.; LEVY, R. B. Dietary sources of fiber intake in Brazil. **Appetite**, v. 79, p. 134-138, ago. 2014.
- SEIBEL, N. F. Produtos não fermentados de soja. *In*: SEIBEL, N. F. **Soja: cultivo, benefícios e processamento**. Curitiba: CRV, 2018a. p. 81-102.

SEIBEL, N. F. Alimentos proteicos de soja. *In*: SEIBEL, N. F. **Soja: cultivo, benefícios e processamento**. Curitiba: CRV, 2018b. p. 63-80.

SEIBEL, N. F.; BELÉIA, A. D. P. Características químicas e funcionalidade tecnológica de ingredientes de soja [*Glycine Max* (L.) Merrill]: carboidratos e proteínas. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 12, n. 2, p. 113-122, jul. 2009a.

SEIBEL, N. F.; BELÉIA, A. D. P. Hidrólise enzimática de fibras de cotilédones de soja e caracterização das frações sólidas e solúveis. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, n. 10, p. 1336-1345, out. 2009b.

SEIBEL, N. F.; JOSÉ, A. C. S.; SILVÉRIO, G. B. Compostos químicos da soja e seus benefícios. *In*: SEIBEL, N. F. **Soja: cultivo, benefícios e processamento**. Curitiba: CRV, 2018. p. 31-62.

SEIBEL, N. F.; PAULO, A. F. S.; SILVA, N. L. V.; SILVA, A. R. Produtos fermentados de soja. *In*: SEIBEL, N. F. **Soja: cultivo, benefícios e processamento**. Curitiba: CRV, 2018a. p. 103-118.

SEIBEL, N. F.; PAVANELLO, A. C. L.; ARDILES, N. E.; CATARINO, R. P. F. Grãos de soja: características agrônômicas de produção e químicas. *In*: SEIBEL, N. F. **Soja: cultivo, benefícios e processamento**. Curitiba: CRV, 2018b. p. 11-30.

SILVA, R.; HARAGUSHI, S. K.; MUNIZ, E. C.; RUBIRA, A. F. Aplicações de fibras lignocelulósicas na química de polímeros e em compósitos. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 661-671, abr. 2009.

SINGKHORNART, S.; LEE, S. G.; RYU, G. H. Influence of twin-screw extrusion on soluble arabinoxylans and corn fiber gum from corn fiber. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 93, n. 12, p. 3046-3054, abr. 2013.

SPOTTI, M. J.; CAMPANELLA, O. H. Functional modifications by physical treatments of dietary fibers used in food formulations. **Current Opinion in Food Science**, v. 15, p. 70-78, out. 2017.

STEEL, C. J.; LEORO, M. G. V.; SCHMIELE, M.; FERREIRA, R. E.; CHANG, Y. K. Thermoplastic extrusion in food processing. *In*: EL-SONBATI, A. Z. **Thermoplastic Elastomers**. Croatia: Intech Open, 2012. p. 265-290.

SUN, J. X.; SUN, X. F.; SUN, R. C.; SU, Y. Q. Fractional extraction and structural characterization of sugarcane bagasse hemicelluloses. **Carbohydrate Polymers**, v. 56, n. 2, p. 195-204, jun. 2004.

THARANATHAN, R. N.; MAHADEVAMMA, S. Grain legumes a boon to human nutrition. **Trends in Food Science and Technology**, v. 14, n. 12, p. 507-518, dez. 2003.

THOMPSON, D. B. Strategies for the manufacture of resistant starch. **Trends in Food Science and Technology**, v. 11, n. 7, p. 245-253, jul. 2000.

TOBARUELA, E. C.; SANTOS, A. O.; ALMEIDA-MURADIAN, L. B.; ARAÚJO, E. S.; LAJOLO, F. M.; MENEZES, E. W. Application of dietary fiber method AOAC 2011.25 in fruit and comparison with AOAC 991.43 method. **Food Chemistry**, v. 238, n. 1, p. 87-93, jan. 2018.

TRUCOM, C. **Soja**: nutrição e saúde. São Paulo: Alaúde Editorial Ltda., 2008.

U. S. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (FDA). **Food labeling. Health claims: soy protein and risk of coronary heart disease (CHD)**. Fed. Reg. 57732, 21CF101.82. 1999. Disponível em: https://www.ecfr.gov/cgi-bin/text-idx?SID=a234e9dbd3498fb825dc3c359e36b032&mc=true&node=se21.2.101_182&rn=div8. Acesso em: nov. 2019.

U. S. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (FDA). **Food Labeling: Health Claims: Soy Protein and Coronary Heart Disease – Proposed rule**. Disponível em: <https://www.federalregister.gov/documents/2017/10/31/2017-23629/food-labeling-health-claims-soy-protein-and-coronary-heart-disease>. Acesso em: nov. 2019.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE (USDA). **Production, Supply and Distribution**. Disponível em: <https://apps.fas.usda.gov/psdonline/app/index.html#/app/advQuery>. Acesso em: fev. 2020.

VILELA, W. F.; LEÃO, D. P.; FRANCA, A. S.; OLIVEIRA, L. S. Effect of peroxide treatment of functional and technological properties of fiber-rich powders based on spent coffee grounds. **International Journal of Food Engineering**, v. 2, n. 1, p. 42-47, jun. 2016.

VILLANUEVA-SUÁREZ, M. J.; PÉREZ-CÓZAR, M.; REDONDO-CUENCA, A. Sequential extraction of polysaccharides from enzymatically hydrolyzed okara byproduct: Physicochemical properties and *in vitro* fermentability. **Food Chemistry**, v. 141, n. 2, p. 1114-1119, nov. 2013.

VISHWANATHAN, K. H.; GOVINDARAJU, K.; SINGH, V.; SUBRAMANIAN, R. Production of okara and soy protein concentrates using membrane technology. **Food Engineering and Physical Properties**, v. 76, n. 1, p. 158-164, jan./fev. 2011.

VONG, W. C.; LIM, X. Y.; LIU, S. Q. Biotransformation with cellulase, hemicellulase and *Yarrowia lipolytica* boosts health benefits of okara. **Biotechnological Products and Process Engineering**, v. 101, n. 19, p. 7129-7140, out. 2017.

VONG, W. C.; LIU, S. Biovalorisation of okara (soybean residue) for food and nutrition. **Trends in Food Science & Technology**, v. 52, p. 139-147, jun. 2016.

VONG, W. C.; LIU, S. The effects of carbohydrase, probiotic *Lactobacillus paracasei* and yeast *Lindnera saturnus* on the composition of a novel okara (soybean residue) functional beverage. **Food Science and Technology**, v. 100, p. 196-204, fev. 2019.

WALTER, M.; MARCHEZAN, E.; AVILA, L. A. Arroz: composição e características nutricionais. **Ciência Rural**, v. 38, n. 4, p. 1184-1192, jul. 2008.

WANG, X.; YUAN, Y.; YUE, T. The application of starch-based ingredients in flavor encapsulation. **Starch Starke**, v. 67, n. 3-4, mar. 2015.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Diet, Nutrition and the Prevention of Chronic Diseases**. Geneva: Technical Report Series, 916. 2003.

WORLD HEALTH ORGANIZATION/ FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION (WHO/FAO). *Codex Alimentarius*. **Report of the 30th Session of the Codex Committee on Nutrition and Foods for Special Dietary Uses**. ALINORM 09/32/26. Cape Town, África do Sul, 3-7, nov. 2008.

WORLD HEALTH ORGANIZATION/ FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION (WHO/FAO). *Codex Alimentarius*. **Report of the 31st Session of the Codex Committee on Nutrition and Foods for Special Dietary Uses**. ALINORM 10/33/26. Düsseldorf, Alemanha, 2-6, nov. 2009.

YOSHIDA, B. Y.; PEREIRA, D. G.; CASTILHO, S. G.; SEIBEL, N. F. Produção e caracterização de cookies contendo farinha de okara. **Alimentos e Nutrição**, v. 25, n. 1, p. 49-54, jan.-mar. 2014.

ZONGCAI, T.; JINLIN, L.; RUAN, R.; CHANGMEI, L. HUI, W.; DAN, W. Process for increasing soluble dietary fiber content of soybean meals. **Transactions from the Chinese Society of Agricultural Engineering**, v. 23, n. 5, p. 246-250, maio 2007.

4 MATERIAL E MÉTODOS

O material e métodos estão descritos nos quatro artigos científicos apresentados no próximo item, **5 RESULTADOS E DISCUSSÃO**.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados e discussão foram redigidos na forma de quatro artigos científicos e estão apresentados nos subitens de 5.1 a 5.4.

5.1 ARTIGO CIENTÍFICO 1

Alkaline hydrogen peroxide improves physical, chemical, and techno-functional properties of okara

ABSTRACT

The objective was to evaluate the effect of modifying okara with alkaline hydrogen peroxide at different H₂O₂ concentrations and treatment temperatures on its soluble fiber content, water absorption and holding capacity, swelling capacity, and protein solubility in water. Multi-response optimization and characterization of physical, chemical, and techno-functional properties of unmodified and modified okara under optimal conditions were performed. Treatment under optimal conditions (2% H₂O₂ and 42 °C for 5 h) resulted in a 601% increase in soluble fiber content, a 26% increase in water absorption and holding capacity and swelling capacity, and a 609% increase in soluble protein. Scanning electron micrographs revealed that modified okara particles had a more fragmented structure and a rougher surface than control. Alkaline hydrogen peroxide treatment altered the color, chemical composition, and techno-functional properties of okara. The modification method has potential to add value to okara and contribute to the use of agro-industrial residues.

Keywords: Soy pulp. Modified fibers. Soluble fibers. Water absorption and holding capacity. Swelling capacity. Protein solubility.

1 INTRODUCTION

Okara, also known as soy pulp and doufu zha, is a fibrous residue from soymilk and tofu production. For every kilogram of soybean processed, 1.1 – 2.5 kg of okara is obtained (Mateos-Aparicio, Mateos-Peinado, & Rupérez, 2010a; Seibel, 2018; Vong & Liu, 2016), representing a substantial amount of waste generated in several countries. In China, 2.8 million tonnes of okara are generated annually from tofu production, most of which is used in low-value applications or treated as waste. The environmentally friendly disposal of these residues is a major challenge for the industry (Seibel, 2018).

Like many agro-industrial wastes, okara is a potential source of functional compounds that present health and technological benefits. It is rich in dietary fiber (42.4 – 58.1 g/100 g dry basis) and protein (15.2 – 46.9 g/100 g dry basis) and has important techno-functional properties, especially those associated with hydration (Li, Qiao, & Lu, 2012a; Vong et al., 2016).

Dietary fibers are known for their diverse technological and physiological functions. Cellulose, hemicellulose, and lignin are insoluble fibers associated with the regulation of intestinal motility and reduction of colon cancer risk. Soluble fibers, such as pectins, gums, β -glucans, fructooligosaccharides, and resistant starch, have hypocholesterolemic effects (Huang, He, Zou, & Liu, 2015; Li, Long, Peng, Ming, & Zhao, 2012b; Mateos-Aparicio et al., 2010a). Research indicates that soluble fibers provide more health benefits than insoluble fibers. However, common sources of dietary fiber are composed mostly of insoluble fibers (Huang et al., 2015; Mateos-Aparicio et al., 2010a). Transformation of insoluble fibers into soluble fibers is a strategy to increase the nutritional potential of the fiber source.

Dietary fibers exhibit good hydration properties because of the presence of hydrophilic compounds (e.g., cellulose, pectin, and hemicelluloses). However, dietary fibers often produce undesirable effects in food formulations, including gritty and coarse texture and reduced product volume, which limits their use (Galdeano & Grossmann, 2005). Fiber modification techniques, such as extrusion, fermentation, and hydrolysis, have been proposed to minimize these negative effects. Treatments cause partial polysaccharide hydrolysis, leading to improved material porosity, and, as a result, enhance the techno-functional properties of dietary fibers and increase soluble fiber content, diversifying the possibilities of application (Fung, Yuen, & Liang, 2010; Galdeano et al., 2005).

In a recent review, Zhang, Wang, Cao, and Wang (2018) reported that milling, extrusion, and thermal and biological treatment of wheat bran, prior to its addition to flour, improved the rheological properties of high-fiber flour and the texture and sensorial properties of final products. Other studies have successfully used chemical, enzymatic, and fermentation processes to increase the levels of soluble fibers and improve the techno-functional properties of okara (Li et al., 2012a; Tao et al., 2019).

Chemical treatment with alkaline hydrogen peroxide solubilizes lignin and hemicelluloses and reduces cellulose crystallinity by breaking intra- and intermolecular hydrogen bonds (Galdeano et al., 2005; Gould & Freer, 1984). An alkaline pH is necessary for lignin and hemicellulose solubilization. Reagent concentration, reaction time, and temperature are other important parameters affecting treatment success. Treatment with alkaline hydrogen peroxide effectively increased the hydration properties and soluble fiber content of oat hulls, spent coffee

grounds, and rice bran (Galdeano et al., 2005; Maani, Alimi, Shokoohi, & Fazeli, 2017; Vilela, Leão, Franca, & Oliveira, 2016). Despite these benefits, hydrogen peroxide has never been used to modify okara, only for bleaching purposes (Li et al., 2012a; Tao et al., 2019). No study has attempted simultaneous modification of okara fibers and proteins using alkaline hydrogen peroxide.

The hypothesis of this study is that alkaline hydrogen peroxide treatment may be a promising method to increase the soluble fiber content of okara and improve its techno-functional properties. This method may add value to okara and stimulate the use, and consequent reduction, of agro-industrial wastes. The objective of the current study was to evaluate the effect of modifying okara with alkaline hydrogen peroxide at different H₂O₂ concentrations and treatment temperatures on its soluble fiber content, water absorption and holding capacity, swelling capacity, and protein solubility in water. Multi-response optimization and characterization of physical, chemical, and techno-functional properties of unmodified okara and okara modified under optimal conditions were performed.

2 MATERIAL AND METHODS

2.1 OKARA SAMPLE AND CHEMICALS

Okara was kindly donated by a tofu-processing industry located in Londrina, Brazil. The soybean cultivar used to produce tofu was TMG 7062 IPRO. All reagents were analytical grade.

2.2 PREPARATION OF DRIED AND DEFATTED OKARA

Okara was dried in a forced-air oven (TE-394/2, Tecnal, Piracicaba, Brazil) at 60 °C for 12 h. Then, dried okara was milled, defatted with hexane (1:10, w/v) under agitation (300 rpm for 1 h) at room temperature, vacuum filtered, and dried at room temperature for 12 h. The defatting procedure was repeated twice (Ogunwolu, Henshaw, Mock, Santos, & Awonorin, 2009).

2.3 MODIFICATION OF OKARA USING ALKALINE HYDROGEN PEROXIDE

A central composite rotatable design (CCRD) was used to model, evaluate, and optimize okara modification with alkaline hydrogen peroxide. The independent variables H₂O₂ concentration (X_1 , % w/v) and treatment temperature (X_2 , °C) were investigated. Coded and uncoded values are shown in Table 1. The response variables were soluble fiber content, water absorption and holding capacity, swelling capacity, and protein solubility in water (Table 1). The independent variables, H₂O₂ concentration and treatment temperature, and their levels were selected to be investigated on the basis of preliminary tests and literature data (Galdeano et al., 2005; Maani et al., 2017; Vilela et al., 2016).

CCRD comprised 11 runs (4 factor points, 4 axial points, and 3 center points) carried out in random order. The following regression equation was used to evaluate the responses: $Y = \beta_0 + \beta_1x_1 + \beta_{11}x_1^2 + \beta_2x_2 + \beta_{22}x_2^2 + \beta_{12}x_1x_2$, where Y is the response, x_1 and x_2 are the independent variables, and β is the estimated coefficient for each term of the response surface model.

Treatment was carried out according to the methods of Gould (1984) and Galdeano et al. (2005), with modifications. Briefly, okara and alkaline hydrogen peroxide solution (pH 11.5 ± 0.1) were added at a 1:12.5 (w/v) ratio to an Erlenmeyer flask. The flask was placed in a water bath (Dubnoff TE-0538, Tecnal, Piracicaba, Brazil) under stirring at 120 rpm. After 5 h, the mixture was neutralized (pH 6.5 – 7.5) with 5 M HCl solution, frozen, freeze-dried, and milled to obtain modified okara.

Data were subjected to regression analysis and analysis of variance (ANOVA). Determination coefficients, R^2 and R^2_{adjusted} , and lack of fit (p) were calculated. Some non-significant effects were removed from the model after a first coefficient evaluation (β) followed by a new statistical analysis to obtain a better adjusted model considering the experimental data (Granato, Calado, & Jarvis, 2014). The better R^2_{adjusted} ($\alpha = 0.05$) was used to explain the response function. Response surface plots were generated from the mathematical model of each response using Statistica version 10.0 software (StatSoft, Inc., 2011). Statistical significance was set at $p < 0.05$. Analyses were performed using Statistica version 10.0 (StatSoft, Inc., 2011).

The multi-response optimization to obtain okara with high content of soluble fiber, water absorption and holding capacity, and swelling capacity

simultaneously was performed using overall desirability function. According to Yolmeh and Jafari (2017) this function is initially based on constructing a desirability function for each individual response. For each response $Y_i(x)$, a desirability function $d_i(Y_i)$ assigns numbers between 0 and 1 to the possible values of Y_i , with $d_i(Y_i) = 0$ representing a completely undesirable value of Y_i and $d_i(Y_i) = 1$ representing a completely desirable or ideal response value. The individual desirabilities were then combined using the geometric mean, which gives the overall desirability. The overall desirability was calculated using Statistica version 10.0 software (StatSoft, Inc., 2011).

The experiment was performed in two replicates, and the proposed models were validated experimentally. Predicted and experimental responses were compared using Student's t -test ($p < 0.05$). On the basis of this information, the best conditions were determined.

2.4 PHYSICAL, CHEMICAL, AND TECHNO-FUNCTIONAL PROPERTIES

2.4.1 Scanning Electron Microscopy (SEM) Analysis

Okara samples were placed in a desiccator with calcium chloride for 10 days. Then, samples were attached to a stub and spur coated with gold (99.6% purity; Sputter Coater SCD 050, BAL-TEC, Germany). Okara particles morphology was observed using a Quanta 200 scanning electron microscope (FEI, USA).

2.4.2 Color Measurements

Color was measured on a colorimeter (CR400, Konica Minolta, Osaka, Japan) with CIE standard Illuminant D65 and 45/0 geometry. The values of L^* (lightness, where 0 = black and 100 = white), a^* (redness/greenness), b^* (blueness/yellowness), and h^* (hue, where 0° = pure red, 90° = pure yellow, 180° = pure green, and 270° = pure blue) were determined.

2.4.3 Bulk Density

Bulk density was determined by first placing 10 g of sample in a

graduated cylinder. The cylinder was tapped gently 30 times, and the volume was measured. Density (g/mL) was calculated as the ratio between sample mass and volume (Seibel & Beléia, 2009).

2.4.4 pH Measurements

Samples were homogenized with distilled water (pH 6.5 – 7.5) at a 1:10 (w/v) ratio, and the pH was determined using a digital potentiometer (HI 3221, HANNA, Romania) previously calibrated with buffer solutions of pH 4.0 and 7.0 (Kamizake, Varéa, & Prudencio, 2014).

2.4.5 Chemical Composition

Protein, lipid, ash, and moisture contents were determined according to AOAC (2012). Nitrogen content was determined by the Kjeldahl method, and protein content was calculated using a conversion factor of 6.25. The results were expressed as g/100 g of sample on a dry basis, except for moisture content.

2.4.6 Soluble and Insoluble Fibers

Soluble and insoluble fibers were determined by an enzymatic–gravimetric method (method 991.43; AOAC, 2012). α -Amylase, amyloglucosidase, and protease were purchased from Sigma–Aldrich.

2.4.7 Determination of Total Sugars

Total sugars were determined by the phenol–sulfuric acid colorimetric method (Dubois, Gilles, Hamilton, Rebers, & Smith, 1956). Absorbance was read at 490 nm using an S22 UV-Vis spectrophotometer (Biochrom Libra, England).

2.4.8 Water and Oil Absorption and Holding Capacity

A 1:30 (w/v) mixture of okara and distilled water or soybean oil was prepared and kept under constant stirring for 30 min. Subsequently, the material was

centrifuged at $1000 \times g$ for 10 min (Centrifuge 5804 R, Eppendorf, Hamburg, Germany). The supernatant was discarded, and the moist sediment was weighed. Water or oil absorption and holding capacity was expressed as g of water or oil absorbed and held/g of sample (Seibel et al., 2009).

2.4.9 Swelling Capacity

Okara (250 mg) was placed in a graduated cylinder with 5 mL of distilled water, stirred at 125 rpm for 30 min to eliminate air bubbles, and left to rest overnight. The volume (mL) occupied by the sample was measured and divided by the mass (g) of the sample to obtain the swelling capacity (mL/g) (Mateos-Aparicio et al., 2010a).

2.4.10 Solids Stability in Water

In a graduated cylinder, sample (6% w/v) and water were mixed using a magnetic stirrer for 1.5 min. The mixture was left to rest for 10 min, and the volume of the sediment was measured. The sediment volume corresponded to solids stability in water, expressed as mL/g of sample (Charunuch, Boonyasirikool, & Tiengpook, 2003).

2.4.11 Protein Solubility in Water and at Different pH

To determine protein solubility in water, 1 g of okara was suspended in 50 mL of distilled water under stirring (12,000 rpm) for 2 min in a homogenizer (Turratec TE 102, Tecnal, Piracicaba, Brazil). Then, the sample was centrifuged at $3700 \times g$ for 25 min (Centrifuge 5804 R, Eppendorf, Hamburg, Germany). The soluble protein content in the supernatant was determined by the Kjeldahl method ($N \times 6.25$). The same procedure was used to determine protein solubility at different pH values (2, 4, 6, 8, 10, and 12), using HCl or NaOH solutions to obtain the desired pH (Kamizake et al., 2014). Results were expressed as g of soluble protein/100 g of total protein.

2.5 EXPERIMENTAL DESIGN AND DATA ANALYSIS OF CONTROL AND OPTIMIZED OKARA: EVALUATION OF PHYSICAL, CHEMICAL, AND TECHNO-FUNCTIONAL PROPERTIES

A completely randomized design was used to evaluate the physical, chemical, and techno-functional properties of control (unmodified) and optimized (treated under optimal conditions) okara. The experiment (alkaline hydrogen peroxide treatment under optimized condition) was replicated twice. The physical, chemical, and techno-functional properties analyses were performed in triplicate for each replication of the experiment ($n = 3 \times 2 = 6$). Except for fibers and protein solubility at different pH, which were performed in duplicate for each replication of the experiment ($n = 2 \times 2 = 4$). Data were compared by Student's *t*-test at $p < 0.05$ using Statistica version 10.0 (StatSoft, Inc., 2011).

3 RESULTS AND DISCUSSION

3.1 OKARA MODIFICATION WITH ALKALINE HYDROGEN PEROXIDE

CCRD experiment results are shown in Table 1. The soluble fiber content of the control sample (unmodified okara) was similar to that observed by Figueiredo, Yamashita, Vanzela, Ida, and Kurozawa (2018) (1.4 g/100 g) but lower than those found in other studies (2.08 – 4.71 g/100 g) (Mateos-Aparicio, Redondo-Cuenca, Villanueva-Suárez, Zapata-Revilla, & Tenorio-Sanz, 2010b; Mateos-Aparicio et al., 2010a; Redondo-Cuenca, Villanueva-Suárez, & Mateos-Aparicio, 2008). Water absorption and holding capacity and swelling capacity values were in accordance with those reported in the literature: 2.36 – 8.33 g/g and 6.15 – 9.44 mL/g, respectively (Fung et al., 2010; Li et al., 2012b; Mateos-Aparicio et al., 2010a; Villanueva-Suárez, Pérez-Cózar, & Redondo-Cuenca, 2013). The wide ranges of values for soluble fiber content and hydration properties found in the literature can be explained by differences in soybean cultivars, okara preparation methods (grinding, drying, and defatting), and, mainly, soymilk production processes. The use of different methods for determining these parameters also contributes to the variability among studies (Fung et al., 2010; Huang et al., 2015; Mateos-Aparicio et al., 2010a; Villanueva-Suárez et al., 2013).

Table 1 – Coded (x) and uncoded (X , in parentheses) values of independent variables and respective responses used in the central composite rotatable design for optimization of alkaline hydrogen peroxide treatment of okara

Run	x_1 (X_1)	x_2 (X_2)	Response			
			SF ¹	WAHC ²	SC ²	PS ²
1	-1 (1.3)	-1 (24)	7.81	10.47	8.54	39.53
2	-1 (1.3)	1 (45)	8.54	7.92	10.39	73.40
3	1 (2.7)	-1 (24)	7.05	9.31	8.93	62.12
4	1 (2.7)	1 (45)	9.85	9.00	8.87	83.79
5	-1.41 (1.0)	0 (35)	8.06	10.82	9.33	38.81
6	1.41 (3.0)	0 (35)	7.99	11.35	7.25	79.91
7	0 (2.0)	-1.41 (20)	6.26	10.94	9.00	43.78
8	0 (2.0)	1.41 (50)	8.32	8.28	10.69	90.83
9	0 (2.0)	0 (35)	8.52	11.11	8.41	56.22
10	0 (2.0)	0 (35)	8.59	11.64	8.34	57.70
11	0 (2.0)	0 (35)	8.29	11.86	8.13	57.01
Control okara	-	-	1.33	7.66	7.32	12.09

x_1 and X_1 , H₂O₂ (% w/v); x_2 and X_2 , treatment temperature (°C); SF, soluble fibers (g of SF/100 g dry matter); WAHC, water absorption and holding capacity (g of water absorbed and held/g of sample); SC, swelling capacity (mL/g of sample); PS, protein solubility in water (g of soluble protein/100 g of total protein). ¹ Mean of two determinations. ² Mean of three determinations.

The low protein solubility in control okara (12.09 g/100 g, Table 1) was expected. According to Figueiredo et al. (2018), a major part of soluble proteins is extracted to soymilk during production. Therefore, it follows that okara is composed predominantly of insoluble proteins. In addition, the drying process used in okara preparation may have caused protein denaturation and a consequent reduction in solubility.

Regression coefficients and ANOVA results for the mathematical models describing responses of runs 1 to 11 (Table 1) are presented in Table 2. The objective of this study was to investigate changes in okara hydration properties and soluble fiber content after chemical treatment. Nevertheless, protein solubility was studied because of its importance and influence on techno-functional properties of foods with high protein content. Some non-significant terms were maintained in the equation because of their contribution to R^2 and R^2_{adjusted} . The linear and quadratic terms of X_2 (treatment temperature) and the interaction X_1X_2 (H₂O₂ concentration × treatment temperature) had a significant effect ($p < 0.05$) on soluble fiber content. X_2 linear and quadratic terms had a significant negative effect on water absorption and holding capacity ($p < 0.05$). For swelling capacity and protein solubility in water, all linear, quadratic, and interaction effects of the independent variables were significant

($p < 0.05$), except for the quadratic effect of X_1 on swelling capacity (Table 2).

Table 2 – Regression coefficients and analysis of variance (ANOVA) results for response surface models

Parameter ^b	Regression coefficient (β)			
	SF	WAHC	SC	PS
Intercept				
β_0	8.413	11.537	8.319	56.977
Linear				
β_1	ns	ns	-0.509 ^a	11.388 ^a
β_2	0.805 ^a	-0.828 ^a	0.523 ^a	15.260 ^a
Quadratic				
β_{11}	ns	-0.519	ns	1.536 ^a
β_{22}	-0.408 ^a	-1.256 ^a	0.797 ^a	5.509 ^a
Interaction				
β_{12}	0.518 ^a	0.560	-0.478 ^a	-3.050 ^a
R^2	0.874	0.827	0.945	0.969
R^2_{adjusted}	0.820	0.713	0.908	0.938
Lack of fit (p)	0.113	0.173	0.154	0.017 ^a

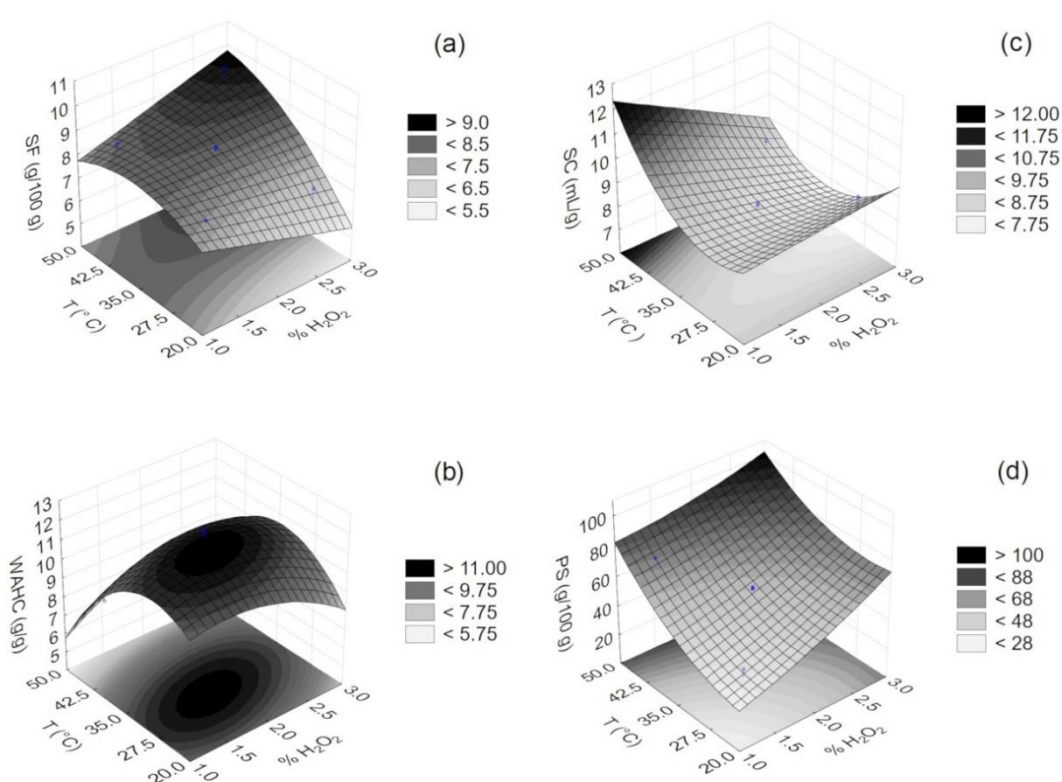
SF, soluble fibers (g of SF/100 g dry matter); WAHC, water absorption and holding capacity (g of water absorbed and held/g of sample); SC, swelling capacity (mL/g of sample); PS, protein solubility in water (g of soluble protein/100 g of total protein); ns, non-significant terms removed from the model; R^2 , coefficient of determination. ^a Significant parameter ($p < 0.05$). ^b The numbers 1 and 2 in subscript represent H_2O_2 concentration (% w/v) and treatment temperature ($^{\circ}C$), respectively.

The regression models for soluble fiber content, water absorption and holding capacity, and swelling capacity showed no significant lack of fit and had R^2 values of 0.87, 0.83, and 0.94, respectively (Table 2), showing that they can be used for predictive purposes. Although the model for protein solubility in water had a high R^2 value (0.97), the lack of fit was significant ($p < 0.05$) (Table 2); therefore, it cannot be used for predictive purposes. This result might be associated with the low experimental error, that is, the low variability of center point runs.

Figure 1 shows the response surface plots for soluble fiber content (Figure 1a), water absorption and holding capacity (Figure 1b), swelling capacity (Figure 1c), and protein solubility in water (Figure 1d). Soluble fiber content increases with hydrogen peroxide concentration and reaction temperature (Figure 1a). The maximum response for water absorption and holding capacity (Figure 1b) is obtained at $-0.8 < x_1 < 0.4$ and $-0.8 < x_2 < 0$; that is, with an X_1 of 1.4 – 2.3% and an X_2 of 26 – 35 $^{\circ}C$. High swelling capacity (Figure 1c) is obtained with low X_1 and high X_2 , whereas high protein solubility in water is obtained at high X_1 and X_2 levels (Figure

1d).

Figure 1 – Response surface plots showing the effects of H₂O₂ concentration (% w/v) and treatment temperature (T, °C) on (a) soluble fibers (SF, expressed as g of SF/100 g dry matter), (b) water absorption and holding capacity (WAHC, expressed as g of water absorbed and held/g of sample), (c) swelling capacity (SC, expressed as mL/g of sample), and (d) protein solubility in water (PS, expressed as g of soluble protein/100 g of total protein)



Soluble fiber content and hydration properties (Table 1) were satisfactorily improved by chemical treatment of okara. Dietary fibers are cell wall components divided by the middle lamella. Celluloses and hemicelluloses are predominant, whereas lignin is distributed throughout the structure but occurs at a higher concentration in the middle lamella. Cellulose is present in the form of microfibrils, immersed in a matrix containing hemicelluloses, pectins, and proteins. Hemicelluloses are bound to lignin and to the surface of microfibrils by hydrogen bonds (Raven, Evert, & Eichhorn, 2014).

Oxidizing agents, such as hydrogen peroxide, are important for lignin

degradation. The combination of sodium hydroxide and peroxide results in an effective solution for delignification and hemicellulose solubilization because of the formation of hydroperoxide anions (HOO^-), the main active species of peroxide at alkaline pH. Under these conditions, hydrogen peroxide is unstable and decomposes into hydroxyl (OH^\bullet) and superoxide ($\text{O}^{\bullet-2}$) radicals, which are responsible for lignin oxidation. As hemicelluloses are chemically bound to lignin, they also undergo partial degradation. In addition, there is a decrease in cellulose crystallinity associated with swelling, which increases the porosity of the material (Fang, Sun, Salisbury, Fowler, & Tomkinson, 1999). These structural changes may facilitate water penetration and binding and, thus, improves hydration properties of the modified material.

An undamaged cell wall acts as a barrier, preventing solvent penetration. Once ruptured, the cell wall loses its barrier function, resulting in increased solvent accessibility and protein solubility (Preece, Drost, Hooshyar, Krijgsman, Cox, & Zuidam, 2015). Other factors may also explain the higher protein solubility observed in modified okara. Proteins are susceptible to unfolding at high pH and may undergo structural changes upon oxidation. These modifications result in a more open structure, leading to the exposure of internal sites and, consequently, facilitating water penetration and binding (Galdeano et al., 2005). Solubilization might have been further enhanced by the salting-in effect of salts formed in the neutralization step (Damodaran, 2008).

Besides the structural changes, improved hydration properties may also be related to the higher content of soluble fibers and soluble proteins in modified okara (Table 1) (Tao et al., 2019). Peroxide treatment alters the chemical composition of foods by breaking polysaccharide chains into smaller, more soluble fragments, thereby decreasing the amount of insoluble fibers while increasing the content of soluble fibers (Galdeano et al., 2005; Rezende, Lima, Maziero, Azevedo, Garcia, & Polikarpov, 2011).

It is important to note that alkaline pH alone modifies fibers and proteins. Alkaline treatment disrupts hydrogen bonds in the network structure, increasing surface roughness and facilitating water penetration and retention in the matrix (Tao et al., 2019). Gould et al. (1984) found that an alkaline medium (pH 11.5) solubilized about 8% of the lignin and 28% of the hemicelluloses in wheat straw in the absence of H_2O_2 . In the presence of 1% H_2O_2 , the amount of lignin and hemicelluloses solubilized rose to 50% and 72%, respectively.

Although alkaline hydrogen peroxide treatment greatly improved the soluble fiber content and protein solubility of okara (Tables 1 and 2 and Figure 1), some treatment conditions were too harsh for water absorption and holding capacity and swelling capacity. Moura et al. (2011), studying the modification of oat fibers with H_2O_2 , reached similar results. The swelling capacity of oat fibers increased when low H_2O_2 concentrations were used but decreased markedly with increasing concentrations. This behavior is attributed to the collapse of the fiber matrix and interstitial spaces that interact with water (Galdeano et al., 2005; Moura et al., 2011). Pierce, Wichmann, Tran, and Cheetamun (2016) obtained 60% of solubilized soy polysaccharides by treating spent soy flakes with 3% H_2O_2 at pH 7 and 121 °C for 60 min. Galdeano et al. (2005) investigated the combined effects of alkaline hydrogen peroxide treatment and extrusion on the properties of oat hulls. Among the studied variables (H_2O_2 concentration, feed moisture, and extrusion temperature), temperature was the most important parameter influencing hydration properties. The authors concluded that mild extrusion temperatures led to the best results: a 70% increase in water-holding capacity and a 55% increase in swelling capacity compared with the unmodified sample. Vilela et al. (2016) reported that spent coffee grounds subjected to high H_2O_2 concentrations (20 and 25%) at room temperature for 18 h showed a 55% increase in water holding capacity and a 13% increase in swelling capacity. Lower H_2O_2 concentrations (5 to 15%) increased soluble fiber contents, but more severe oxidation conditions (20 and 25% H_2O_2) had the opposite effect. It should be noted that the authors washed the material after treatment, which may have resulted in loss of some components, such as soluble fibers. Maani et al. (2017) treated rice bran with different alkaline H_2O_2 concentrations (1 – 7%) at different pH values (10.5 – 12.5). The highest pH condition (12.5) enhanced water holding capacity regardless of H_2O_2 concentration.

3.2 MULTI-RESPONSE OPTIMIZATION AND EXPERIMENTAL VALIDATION

An overall desirability function was used for simultaneous optimization of alkaline hydrogen peroxide treatment of okara, inside the experimental region studied, for soluble fiber content, water absorption and holding capacity, and swelling capacity. Optimum conditions were 2% H_2O_2 ($x_1 = 0$) and 42 °C ($x_2 = 0.70711$). The developed models were validated experimentally under these conditions.

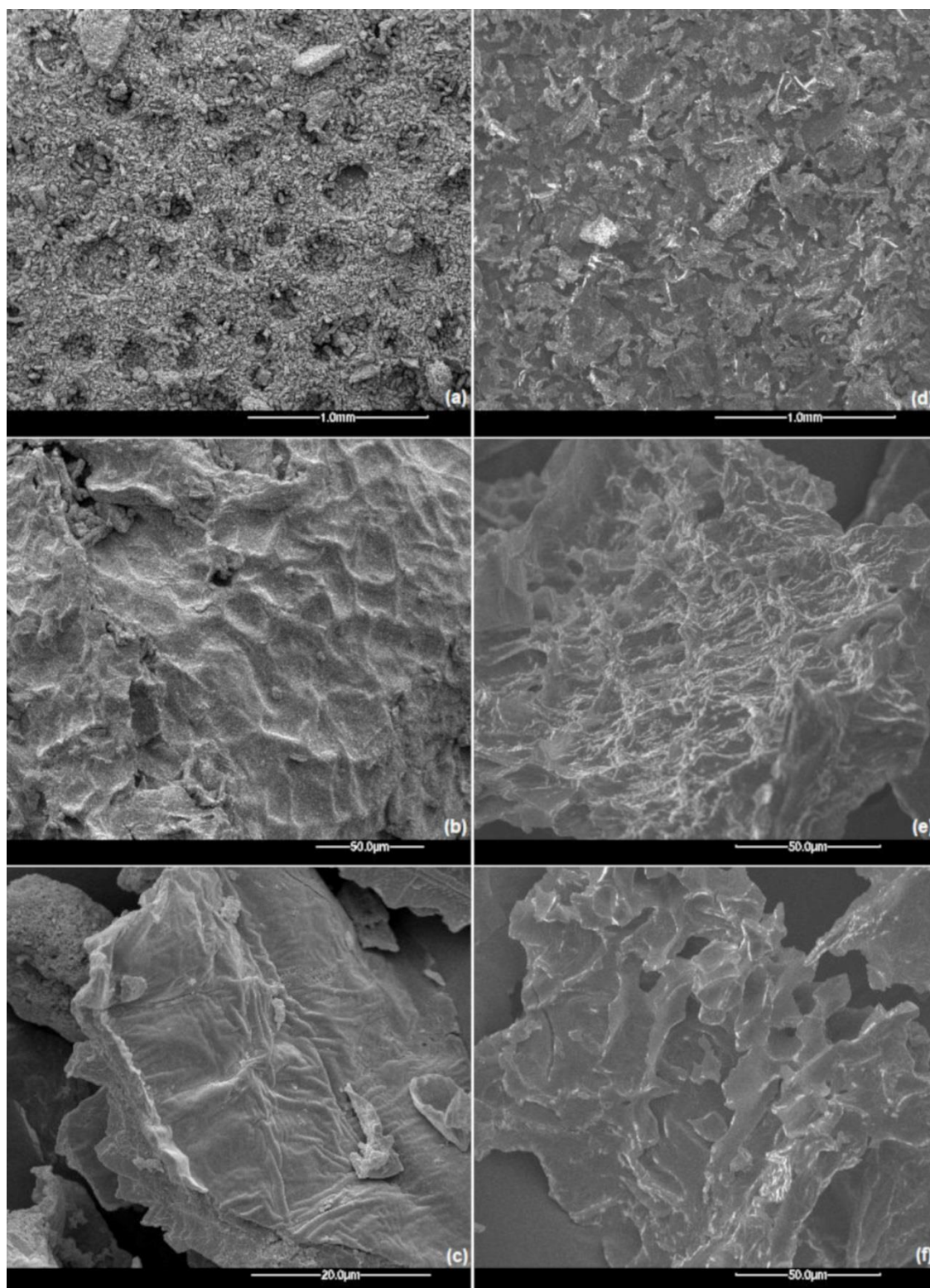
Comparison of predicted soluble fiber content, water absorption and holding capacity, and swelling capacity (8.78 g/100 g, 10.32 g/g, and 9.09 mL/g, respectively) with experimental values (9.32 g/100 g, 9.65 g/g, and 9.23 mL/g, respectively) revealed no significant differences ($p > 0.05$), thereby validating the proposed models.

Treatment of okara under optimized conditions (2% H₂O₂, 42 °C, 5 h) resulted in a 601% increase in soluble fiber content and a 26% increase in both water absorption and holding capacity and swelling capacity.

3.3 PHYSICAL, CHEMICAL, AND TECHNO-FUNCTIONAL CHARACTERIZATION OF CONTROL AND OPTIMIZED MODIFIED OKARA

The results of physical, chemical, and techno-functional characterization of control and optimized modified okara are presented in Figures 2 and 3 and Table 3. SEM examination revealed that optimized alkaline hydrogen peroxide treatment produced morphological structural changes in okara particles (Figure 2). Modified okara exhibits a less dense, more fragmented architecture with a rougher surface (Figure 2d, e, and f) compared with the control (Figure 2a, b, and c). These are positive characteristics that facilitate water penetration and binding, improving hydration properties (Galdeano et al., 2005). Niu, Li, Xia, Hou, and Xu (2018) reported similar findings in a study of alkaline hydrogen peroxide treatment of tomato peels.

Figure 2 – Scanning electron micrographs of control okara (a, b, and c) and okara modified by treatment with 2% H₂O₂ at 42 °C for 5 h (d, e, and f)



Scale bars: (a) and (d) = 1 mm; (b), (e), and (f) = 50 μm; (c) = 20 μm.

The only color parameter affected by alkaline hydrogen peroxide treatment was b^* ; modified okara was more yellow than the control (Table 3). This behavior was also observed by Aider, Martel, Ferracci, and Halleux (2012) in flax meal treated with alkaline hydrogen peroxide. Although the mechanism of color change induced by hydrogen peroxide in food has not been fully elucidated, it is suggested to be due to the oxidation of proteins and pigments, mainly quinones, which result from phenolic oxidation (Aider et al., 2012).

Table 3 – Color parameters, bulk density, pH, chemical composition, oil absorption and holding capacity, solids stability in water, and protein solubility in water of control okara and okara modified by treatment with 2% (w/v) H_2O_2 at 42 °C for 5 h

Parameter	Okara	
	Control	Modified
L^*	90.80 ± 0.67 ^a	89.79 ± 1.39 ^a
a^*	0.22 ± 0.10 ^a	0.32 ± 0.79 ^a
b^*	12.00 ± 0.39 ^b	24.83 ± 3.82 ^a
h^*	88.90 ± 0.49 ^a	89.49 ± 1.74 ^a
Bulk density	0.52 ± 0.01 ^a	0.22 ± 0.01 ^b
pH	7.14 ± 0.04 ^b	7.73 ± 0.11 ^a
Moisture	10.06 ± 0.17 ^a	7.76 ± 0.55 ^b
Proteins	43.90 ± 0.25 ^a	37.60 ± 0.88 ^b
Lipids	2.72 ± 0.26 ^a	1.33 ± 0.14 ^b
Ash	3.46 ± 0.06 ^b	6.03 ± 0.31 ^a
Carbohydrates		
Insoluble fibers	50.27 ± 0.99 ^a	26.09 ± 0.52 ^b
Soluble fibers	1.33 ± 0.11 ^b	9.32 ± 0.99 ^a
Total sugars	6.97 ± 0.51 ^b	7.68 ± 0.44 ^a
Techno-functional properties		
Protein solubility in water	12.09 ± 0.95 ^b	85.71 ± 4.17 ^a
Oil absorption and holding capacity	3.20 ± 0.23 ^b	5.63 ± 0.30 ^a
Solids stability in water	9.32 ± 0.02 ^b	11.58 ± 0.59 ^a

Mean ± standard deviation.

Means in a row followed by different letters are significantly different ($p > 0.05$).

Values are the mean of two repetitions, each performed in triplicate, for all parameters except soluble and insoluble fibers. Fiber results are the mean of two repetitions in duplicate. Color parameters: L^* , lightness (0 = black, 100 = white); a^* , redness/greenness ($-a$ = green, $+a$ = red); b^* , blueness/yellowness ($-b$ = blue, $+b$ = yellow); and h^* , hue (0° = pure red, 90° = pure yellow, 180° = pure green, 270° = pure blue).

Bulk density expressed in g/mL.

Moisture expressed in g/100 g. Protein, lipid, ash, fiber, and total sugar contents expressed as g/100 g of sample on a dry basis.

Oil absorption and holding capacity expressed as g of oil absorbed and held/g of sample.

Solids stability in water expressed as mL of sediment/g of sample.

Protein solubility in water expressed as g of soluble protein/100 g of total protein.

Okara bulk density decreased from 0.52 to 0.22 g/mL after chemical treatment (Table 3); that is, modified okara had more than twice the volume of the control. This property is advantageous in bakery applications, in which volume gains are beneficial. The reduction in bulk density is probably due to structural modifications and increased porosity, as revealed by SEM analysis (Figure 2).

Modified okara had a slightly higher pH than the control (Table 3). However, the pH of both materials was close to neutral, and these differences are not likely to affect their use.

The chemical composition of modified okara differed from that of control okara ($p < 0.05$) (Table 3). Insoluble fiber, lipid, and protein contents were lower in modified okara, whereas ash and sugar contents were higher. The retention of total dietary fiber in modified okara was 68.62% in relation to control. Insoluble fiber content likely decreased because of its conversion to soluble fiber and lignin degradation. The increase in sugars suggests that a small portion of free sugars were released from polysaccharides after treatment. However, the reduction in insoluble fiber content was not proportional to the increase in soluble fibers and sugars. It is possible that low molecular weight fibers not quantified by the method were formed during the reaction (Tobaruela, Santos, Almeida-Muradian, Araújo, Lajolo, & Menezes, 2018). Considering these low molecular weight fibers, the retention of total dietary fiber in modified okara was 98.62% in relation to control.

The increase in ash content in modified okara (Table 3) is likely due to the formation of sodium chloride in the post-treatment neutralization step (Inglett, 1995). This does not represent a problem, as salt is generally added to food formulations. The changes in the content of other macromolecules may be related to the chemical balance between components as well to oxidation by hydrogen peroxide, which might have produced compounds not detected by the analytical methods used in this study (Galdeano et al., 2005).

Alkaline hydrogen peroxide modified the chemical composition of oat hulls, beet fibers, and spent coffee grounds (Galdeano et al., 2005; Soronja-Simovic et al., 2016; Vilela et al., 2016). These studies showed that dietary fibers are the main macromolecules affected by chemical treatment. Other macromolecules are mainly influenced by the chemical balance and the loss of soluble compounds, such as proteins and soluble fibers, during the washing step.

Chemical treatment increased okara oil absorption and holding capacity

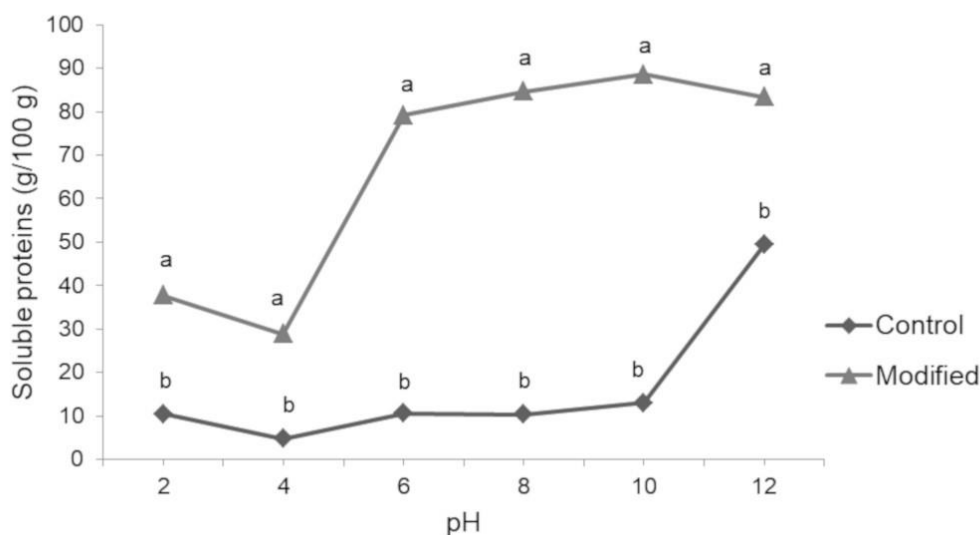
from 3.20 to 5.63 g/g (Table 3). A similar result was observed by Vilela et al. (2016) when studying the modification of spent coffee grounds with 5 – 25% alkaline H₂O₂. The greatest increase in oil absorption and holding capacity (from 2.64 to 4.58 g/g) was achieved using 20% H₂O₂. In another study, low H₂O₂ concentrations (0.3 – 0.9%) had no effect on the oil absorption and holding capacity of fibers (Moura et al., 2011). This important parameter prevents fat loss during processing and contributes to taste retention (Vilela et al., 2016).

The sediment volume of modified okara (11.58 mL/g) was higher than that of the control (9.32 mL/g) (Table 3). Nevertheless, it can be inferred from the results that a suspension of control okara is no more stable than a suspension of modified okara. The higher sediment volume may be related to the improved hydration properties of modified okara. This became even more evident from the transparency of the supernatant of the control and the cloudy appearance of the supernatant of modified okara. The ability to form a stable suspension is important for ingredients used in beverages and instant powders.

The retention of okara proteins after modification was 85.65%. However, it is important to note that the protein solubility in water (Table 3) and at different pH (Figure 3) increased substantially after chemical treatment. Both control and modified okara had low protein solubility at pH 4 and higher at extremes pH (Figure 3), as occurs with most food proteins (Damodaran, 2008). However, because of the low protein solubility of the control sample, the characteristic curve was less pronounced. Most soluble proteins are extracted during soymilk production; therefore, okara has a high content of insoluble proteins. Temperature effects during drying of okara can lead to protein denaturation and aggregation and a consequent reduction in solubility. Chemical treatment, in contrast, increases solubility by breaking down proteins. Furthermore, the presence of salts may have contributed to the high protein solubility of modified okara. Preece, Hooshyar, and Zuidam (2017) reported that other methods, such as enzymatic hydrolysis and ultrasound, also increase the extraction and solubility of denatured and/or aggregated proteins in soy products.

Although alkaline hydrogen peroxide can be desirable for okara from the physicochemical properties point of view, this treatment may have some adverse effect on nutritional properties of okara proteins.

Figure 3 – Protein solubility of control and modified¹ okara as a function of pH



¹Okara was modified by treatment with 2% (w/v) H₂O₂ at 42 °C for 5 h. Different letters indicate significant ($p < 0.05$) differences between samples at the same pH.

4 CONCLUSIONS

Alkaline hydrogen peroxide treatment increased okara soluble fiber and soluble protein contents and improved its hydration properties. H₂O₂ concentration and treatment temperature caused different effects on the response functions. Multi-response optimization revealed that the best results can be achieved by using 2% H₂O₂ at 42 °C for 5 h. These conditions provided a 601% increase in soluble fibers, a 26% increase in both water absorption and holding capacity and swelling capacity, and a 609% increase in protein solubility.

Modified okara particles exhibited a rougher surface and a more fragmented architecture than the control. Chemical treatment under optimized conditions altered the chemical composition and solids stability in water, increased the oil absorption and holding capacity and protein solubility at different pH, and decreased the bulk density of okara. Thus, okara modified with alkaline hydrogen peroxide qualifies as a new ingredient with higher soluble fiber content, improved hydration properties, greater oil absorption and holding capacity, and twice the volume of untreated okara. Alkaline hydrogen peroxide modification has great

potential to add value to okara and contribute to the use of agro-industrial residues. Future studies should investigate whether alkaline modification of okara improves the texture properties of food formulations.

Acknowledgements

BY Y would like to thank the Brazilian Federal Agency for Support and Evaluation of Graduate Education (CAPES) for the PhD scholarship. SHP is grateful to the Brazilian National Council for Scientific and Technological Development (CNPq) for the research fellowship (grant no. 303612/2018-2).

Declarations of interest: none.

REFERENCES

Aider, M., Martel, A., Ferracci, J., & Halleux, D. (2012). Purification of whole brown flaxseed meal from coloring pigments by treatment in hydrogen peroxide solutions: impact on meal color. *Food and Bioprocess Technology*, 5, 3051-3065. <https://doi.org/10.1007/s11947-011-0632-5>.

AOAC (2012). Official Methods of Analysis of AOAC International. 19. ed.

Charunuch, C., Boonyasirikool, P., & Tiengpook, C. (2003). Using extrusion process for preparation of instant cereal beverage based on corn and soybean. *Kasetsart Journal (Natural Science)*, 37, 72-83.

Damodaran, S. (2008). *Fennema's Food Chemistry*. (4th ed.). Boca Raton: CRC PRESS, (Chapter 5).

Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A., & Smith, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*, 28, 350-356. <http://dx.doi.org/10.1021/ac60111a017>.

Fang, J. M., Sun, R. C., Salisbury, D., Fowler, P., & Tomkinson, J. (1999). Comparative study of hemicelluloses from wheat straw by alkali and hydrogen peroxide extractions. *Polymer Degradation and Stability*, 66, 423-432. [https://doi.org/10.1016/S0141-3910\(99\)00095-6](https://doi.org/10.1016/S0141-3910(99)00095-6).

Figueiredo, V. R. G., Yamashita, F., Vanzela, A. L. L., Ida, E. I., & Kurozawa, L. E. (2018). Action of multi-enzyme complex on protein extraction to obtain a protein concentrate from okara. *Journal of Food Science and Technology*, 55, 1508-1517. <https://doi.org/10.1007/s13197-018-3067-4>.

Fung, W., Yuen, K., & Liong, M. (2010). Characterization of fibrous residues from agrowastes and the production of nanofibers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, 8077-8084. <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jf1012506>.

Galdeano, M. C., & Grossmann, M. V. E. (2005). Effect of treatment with alkaline hydrogen peroxide associated with extrusion on color and hydration properties of oat hulls. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 48, 63-72. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-89132005000100010>.

Gould, J. M. (1984). Alkaline peroxide delignification of agricultural residues to enhance enzymatic saccharification. *Biotechnology and Bioengineering*, 26, 46-52. <https://doi.org/10.1002/bit.260260110>.

Gould, J. M., & Freer, S. N. (1984). High-efficiency ethanol production from lignocellulosic residues pretreated with alkaline H₂O₂. *Biotechnology and Bioengineering*, 26, 628-631. <https://doi.org/10.1002/bit.260260613>.

Granato, D., Calado, V. M. A., & Jarvis, B. (2014). Observations on the use of statistical methods in Food Science and Technology. *Food Research International*, 55, 137-149. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.10.024>.

Huang, S., He, Y., Zou, Y., & Liu, Z. (2015). Modification of insoluble dietary fiber in soya bean okara and their physicochemical properties. *International Journal of Food Science and Technology*, 50, 2606-2613. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12929>.

Inglett, G. E. (1995). Dietary fiber gels for preparing calorie reduced foods. *U. S. Patent Application Serial Number 08/563, 834*.

Kamizake, N. K. K., Varéa, G. S., & Prudencio, S. H. (2014). Physicochemical properties of aged soybean components. *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 12, 263-268. <https://doi.org/10.1234/4.2014.4449>.

Li, B., Qiao, M., & Lu, F. (2012a). Composition, nutrition, and utilization of okara (Soybean Residue). *Food Reviews International*, 28, 231-252. <https://doi.org/10.1080/87559129.2011.595023>.

Li, H., Long, D., Peng, J., Ming, J., & Zhao, G. (2012b). A novel in-situ enhanced blasting extrusion technique - Extrudate analysis and optimization of processing conditions with okara. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 16, 80-88. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2012.04.009>.

Maani, B., Alimi, M., Shokoohi, S., & Fazeli, F. (2017). Substitution of modified starch with hydrogen peroxide modified rice bran in salad dressing formulation: physicochemical, texture, rheological and sensory properties. *Journal of Texture Studies*, 48, 205-214. <https://doi.org/10.1111/jtxs.12229>.

Mateos-Aparicio, I., Mateos-Peinado, C., & Rupérez, P. (2010a). High hydrostatic pressure improves the functionality of dietary fiber in okara by-product from soybean. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 11, 445-450. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2010.02.003>.

- Mateos-Aparicio, I., Redondo-Cuenca, A., Villanueva-Suárez, M. J., Zapata-Revilla, M. A., & Tenorio-Sanz, M. D. (2010b). Pea pod, broad bean pod and okara, potential sources of functional compounds. *LWT - Food Science and Technology*, 43, 1467-1470. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.05.008>.
- Moura, F. A., Pereira, J. M., Silva, D. O., Zavareze, E. R., Moreira, A. S.; Helbig, E., & Dias, A. R. G. (2011). Effects of oxidative treatment on the physicochemical, rheological and functional properties of oat β -glucan. *Food Chemistry*, 128, 982-987. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.04.003>.
- Niu, Y., Li, N., Xia, Q., Hou, Y., & Xu, G. (2018). Comparison of three modifications on structural, rheological and functional properties of soluble dietary fibers from tomato peels. *LWT - Food Science and Technology*, 88, 56-63. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.10.003>.
- Ogunwolu, S. O., Henshaw, F. O., Mock, H., Santos, A., & Awonorin, S. O. (2009). Functional properties of protein concentrates and isolates produced from cashew (*Anacardium occidentale* L.) nut. *Food Chemistry*, 115, 852-858. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.01.011>.
- Pierce, B. C., Wichmann, J., Tran, T. H., & Cheetamun, R. (2016). Formation of water-soluble soybean polysaccharides from spent flakes by hydrogen peroxide treatment. *Carbohydrate Polymers*, 144, 504-513. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.02.082>.
- Preece, K. E., Drost, E., Hooshyar, N., Krijgsman, A., Cox, P. W., & Zuidam, N. (2015). Confocal imaging to reveal the microstructure of soybean processing materials. *Journal of Food Engineering*, 147, 8-13. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2014.09.022>.
- Preece, K. E., Hooshyar, N., & Zuidam, N. J. (2017). Whole soybean protein extraction processes: A review. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 43, 163-172. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2017.07.024>.
- Raven, P. H., Evert, R. F., & Eichhorn, S. E. (2014). *Biologia Vegetal*. (8th ed.). Rio de Janeiro: Guanabara Koogan Ltda, (Chapter 3).
- Redondo-Cuenca, A., Villanueva-Suárez, M. J., & Mateos-Aparicio, I. (2008). Soybean seeds and its by-product okara as sources of dietary fiber. Measure by AOAC and Englyst methods. *Food Chemistry*, 108, 1099-1105. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.11.061>.
- Rezende, C. A., Lima, M. A., Maziero, P., Azevedo, E. R., Garcia, W., & Polikarpov, I. (2011). Chemical and morphological characterization of sugarcane bagasse submitted to a delignification process for enhanced enzymatic digestibility. *Biotechnology for Biofuels*, 4, 1-18. <https://doi.org/10.1186/1754-6834-4-54>.
- Seibel, N. F. (2018). *Soja: cultivo, benefícios e processamento*. (1th ed.). Curitiba: CRV, (Chapter 4).

- Seibel, N. F., & Beléia, A. D. P. (2009). The chemical characteristics and technological functionality of soybean based ingredients [Glycine Max (L.) Merrill]: carbohydrates and proteins. *Brazilian Journal of Food Technology*, 12, 113-122. <https://doi.org/10.4260/BJFT20093607>.
- Soronja-Simovic, D., Seres, Z., Maravic, N., Djordjevic, M., Djordjevic, M., Lukovic, J., & Tepic, A. (2016). Enhancement of physicochemical properties of sugar beet fibers affected by chemical modification and vacuum drying. *Food and Bioproducts Processing*, 100, 432-439. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2016.09.003>.
- StatSoft, Inc. (2011). STATISTICA (data analysis software system), version 10. www.statsoft.com.
- Tao, X., Cai, Y., Liu, T., Long, Z., Huang, L., Deng, X., Zhao, Q., & Zhao, M. (2019). Effects of pretreatments on the structure and functional properties of okara protein. *Food Hydrocolloids*, 90, 394-402. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.12.028>.
- Tobaruela, E. C., Santos, A. O., Almeida-Muradian, L. B., Araújo, E. S., Lajolo, F. M., & Menezes, E. W. (2018). Application of dietary fiber method AOAC 2011.25 in fruit and comparison with AOAC 991.43 method. *Food Chemistry*, 238, p. 87-93. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.12.068>.
- Vilela, W. F., Leão, D. P., Franca, A. S., & Oliveira, L. S. (2016). Effect of peroxide treatment of functional and technological properties of fiber-rich powders based on spent coffee grounds. *International Journal of Food Engineering*, 2, 42-47. <https://doi.org/10.18178/ijfe.2.1.42-47>.
- Villanueva-Suárez, M. J., Pérez-Cózar, M., & Redondo-Cuenca, A. (2013). Sequential extraction of polysaccharides from enzymatically hydrolyzed okara byproduct: Physicochemical properties and *in vitro* fermentability. *Food Chemistry*, 141, 1114-1119. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.03.066>.
- Vong, W. C., & Liu, S. (2016). Biovalorisation of okara (soybean residue) for food and nutrition. *Trends in Food Science & Technology*, 52, 139-147. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.04.011>.
- Yolmeh, M., & Jafari, S. M. (2017). Applications of response surface methodology in the food industry processes. *Food and Bioprocess Technology*, 10, 413-433. <https://doi.org/10.1007/s11947-016-1855-2>.
- Zhang, H., Wang, H., Cao, X., & Wang, J. (2018). Preparation and modification of high dietary fiber flour: A review. *Food Research International*, 113, 24-35. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.06.068>.

5.2 ARTIGO CIENTÍFICO 2

Propriedades físicas, químicas e tecnofuncionais de okara modificado por uma mistura de carboidrases

RESUMO

Uma mistura de carboidrases (celulase, hemicelulase, arabanase, beta-glucanase e xilanase) foi utilizada para hidrolisar os polissacarídeos da parede celular presente no okara, objetivando o aumento de fibras solúveis e propriedades de hidratação. A hidrólise foi realizada com diferentes concentrações do complexo multi-enzimático (0,1 a 1,0%) e temperaturas de reação (20 a 55 °C), de acordo com o delineamento composto central rotacional. A condição ótima de hidrólise (0,8% do complexo enzimático, 46 °C por 3 h) para maximização simultânea das funções resposta foi determinada e o okara modificado otimizado foi analisado quanto às características físicas, químicas e tecnofuncionais. Na condição ótima foi possível aumentar 105% do conteúdo de fibras solúveis, 34% da capacidade de absorção e retenção de água e 13% da capacidade de intumescimento. Em relação ao controle, as partículas do okara modificado otimizado apresentaram estrutura mais porosa e fragmentada e alterações na cor e na composição química (teor de fibras insolúveis diminuiu e das fibras solúveis e dos açúcares aumentaram). Ainda, a capacidade de absorção e retenção de óleo aumentou 73%, enquanto a estabilidade dos sólidos e a solubilidade proteica em água não foram alteradas pelo tratamento. A hidrólise enzimática se mostrou um método apropriado para melhorar propriedades físico-químicas importantes para futura aplicação do okara, resultando em um ingrediente potencialmente de valor acrescentado e uma alternativa para o aproveitamento deste resíduo.

Palavras-chave: Hidrólise enzimática. Fibra modificada. Microestrutura. Capacidade de absorção e retenção de água. Fibra solúvel.

1 INTRODUÇÃO

As fibras alimentares são classificadas, quanto a sua solubilidade em água, em insolúveis e solúveis, as quais apresentam diferentes efeitos fisiológicos e tecnológicos. O consumo de fibras insolúveis, como celulose, lignina e hemiceluloses, está associado à regulação das funções intestinais e à redução do risco de câncer no cólon. Por outro lado, as fibras solúveis, como pectina, algumas hemiceluloses e gomas, tem o consumo associado a efeitos hipocolesterolêmicos e a maior efetividade em vários outros aspectos de saúde do que as insolúveis (Dang & Vasanthan, 2019; Dhingra, Michael, Rajput & Patil, 2012; Huang, He, Zou & Liu, 2015; Li, Long, Peng, Ming & Zhao, 2012). Além disso, por apresentarem

propriedades tecnológicas superiores às fibras insolúveis, as solúveis são mais facilmente incorporadas em alimentos (Dang & Vasanthan, 2019; Li et al., 2012).

A importância do consumo de fibras alimentares resultou no desenvolvimento deste mercado, onde há uma tendência pela busca de novas fontes que possam ser utilizadas na indústria de alimentos (Dhingra et al., 2012). O okara é o resíduo fibroso obtido após a extração da fração solúvel dos grãos de soja para produção do extrato e tofu. Ele apresenta elevado conteúdo de proteínas (15,2 – 46,9%, b.s.) e fibras alimentares (42,4 – 58,1%, b.s.). Estima-se que, anualmente, o Japão, a Coreia e a China, juntos, geram aproximadamente quatro milhões de toneladas do resíduo, oriundo somente da produção de tofu (Li, Qiao & Lu, 2012; Vong & Liu, 2016).

Dentre as formas de utilização, as fibras alimentares do okara foram estudadas devido à capacidade de melhorar as características tecnofuncionais dos alimentos e ao seu potencial como uma matéria-prima para fermentação (Al Loman & Ju, 2017). Não obstante, ainda é considerado um resíduo, tornando-se importante a realização de estudos que resultem em sua valorização e que possibilitem o seu emprego na indústria de alimentos.

A incorporação em formulações alimentícias de resíduos agroindustriais com elevado teor de fibras insolúveis, como o okara, pode acarretar efeitos indesejáveis no produto final, principalmente, relacionados à textura granulosa (Vong & Liu, 2019).

Neste contexto, tratamentos químicos, físicos e biológicos podem melhorar as propriedades funcionais tecnológicas destes resíduos e ainda aumentar o conteúdo de fibras solúveis, provendo a sua valorização como ingrediente alimentar. Dentre os tratamentos, o uso de enzimas, que degradam a parede celular vegetal, resulta em produtos com estrutura mais porosa, melhores propriedades de hidratação e, muitas vezes, alterações na composição química, como o aumento de compostos mais solúveis (Huang et al., 2015; Spotti & Campanella, 2017; Vong, Lim & Liu, 2017).

A hidrólise dos polissacarídeos da parede celular presente no okara por carboidrases tem sido estudada recentemente e tem como objetivo o aumento da fração solúvel e/ou outras modificações relacionadas, principalmente, à melhora das propriedades funcionais de saúde (Pérez-López, Mateos-Aparicio & Rupérez, 2017; Vong et al., 2017; Vong & Liu, 2019). No entanto, a otimização do processo de

hidrólise enzimática das fibras do okara, por mistura de carboidrases, visando o aumento simultâneo de fibras solúveis e das propriedades de hidratação não foi pesquisada anteriormente. Assim como estudos da caracterização física, química e de outras propriedades tecnofuncionais, cujo conhecimento é essencial para aplicação do resíduo modificado, também não foram encontrados.

Desta forma, os objetivos deste estudo foram avaliar o efeito da concentração de uma mistura de carboidrases e da temperatura de hidrólise sobre o conteúdo de fibras solúveis e as propriedades de hidratação de okara, otimizar a condição de hidrólise e determinar as características físicas, químicas e funcionais tecnológicas do okara modificado otimizado.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 MATERIAL

Foi utilizado o okara de uma indústria processadora de tofu da cidade de Londrina, PR. A cultivar de soja utilizada para a produção do tofu foi a TMG 7062 IPRO. O complexo multi-enzimático Viscozyme[®] L (Novozymes, Dinamarca), composto pelas enzimas celulase, hemicelulase, arabanase, beta-glucanase e xilanase, foi concedido pela empresa Tovani Benzaquen, São Paulo, SP. Estas enzimas eram provenientes de *Aspergillus aculeatus* com atividade 100 unidades de Fungal Beta-Glucanase (FBG)/g. A ficha técnica do complexo multi-enzimático está apresentada no Anexo A. Os reagentes utilizados foram de grau analítico.

2.2 PREPARO DO OKARA

O okara foi seco a 60 °C/12 h, Estufa TE - 394/2, Tecnal, Piracicaba, Brasil, moído e desengordurado com hexano na proporção de 1:10 (m/v), em temperatura ambiente, sob agitação (300 rpm/1 h). Em seguida, a mistura foi filtrada a vácuo e seca em temperatura ambiente por 12 horas e o resíduo foi desengordurado mais uma vez nas mesmas condições (Ogunwolu, Henshaw, Mock, Santos & Awonorin, 2009).

2.3 HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DOS POLISSACARÍDEOS DA PAREDE CELULAR DE OKARA

As variáveis independentes investigadas, concentração de complexo enzimático (% m/m) e temperatura de hidrólise (°C), e seus níveis estão apresentados na Tabela 1. Os níveis das variáveis independentes estudadas foram determinados com base em testes preliminares, recomendações do fabricante do complexo multi-enzimático e dados da literatura (Figueiredo, Yamashita, Vanzela, Ida & Kurozawa, 2018; Pérez-López et al., 2017; Vong et al., 2017). Os 11 ensaios foram executados em ordem aleatória de acordo com o delineamento composto central rotacional (Tabela 1).

Para obtenção do okara modificado, a hidrólise enzimática foi realizada em um erlenmeyer contendo o okara e água destilada (pH ajustado $5,5 \pm 0,1$) na proporção 1:10 (m/v) em banho-maria sob agitação (Dubnoff TE - 0538, Tecnal, Piracicaba, Brasil). Em seguida, o complexo enzimático foi adicionado, mantendo-se a agitação por três horas. Para interrupção da reação, as amostras foram submetidas a 90 °C/10 min, e, em seguida, congeladas, liofilizadas (Christ Alpha 2-4 LD Plus, Osterode am Harz, Alemanha), trituradas e mantidas em refrigerador (≈ 2 °C) até as determinações de conteúdo de fibras solúveis, capacidade de absorção e retenção de água e capacidade de intumescimento.

2.4 CARACTERIZAÇÃO FÍSICA, QUÍMICA E TECNOFUNCIONAL DO OKARA MODIFICADO OTIMIZADO

O okara modificado enzimaticamente na condição otimizada foi caracterizado quanto à microestrutura, cor, densidade aparente, pH, composição química e às propriedades tecnofuncionais, capacidade de absorção e retenção de óleo, estabilidade dos sólidos em água e solubilidade proteica em água e em diferentes pHs.

2.5 PROCEDIMENTOS ANALÍTICOS

2.5.1 Microestrutura por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A microestrutura das amostras foi analisada por meio do microscópio eletrônico de varredura (Quanta 200, FEI, Estados Unidos). Para isso, as amostras foram, previamente, mantidas em um dessecador com cloreto de cálcio durante 10 dias, para retirada de umidade, e, em seguida, foram fixadas sobre a superfície de um stub e recobertas com uma camada de ouro (grau de pureza de 99,6%; Sputter Coater SCD 050, BAL-TEC, Alemanha).

2.5.2 Medidas de Cor

Para a determinação de cor das amostras foi utilizado um colorímetro (CR400, Konica Minolta, Osaka, Japão) sob as seguintes condições: iluminante padrão D65 e geometria 45/0. Foram obtidos os valores de L^* (luminosidade), onde 0 = preto e 100 = branco, a^* (componente vermelho - verde), b^* (componente amarelo - azul) e h^* (tonalidade cromática), onde 0° = vermelho puro, 90° = amarelo puro, 180° = verde puro e 270° = azul puro.

2.5.3 Densidade Aparente

Uma amostra de 10 g de okara foi acomodada em uma proveta graduada. A densidade aparente foi calculada pela razão entre a massa e o volume da amostra na proveta e expressa como g/mL (Seibel & Beléia, 2009a).

2.5.4 Medidas de pH

A amostra foi diluída em água destilada (pH 6,5 – 7,5) na proporção de 1:10 (m/v) e o pH foi determinado em potenciômetro digital (HI 3221, HANNA, Romênia), previamente calibrado com soluções tampão de pH 4,0 e 7,0 (Kamizake, Varéa & Prudencio, 2014).

2.5.5 Composição Química

Umidade, proteínas, lipídeos e cinzas foram determinados conforme a AOAC (2012). O nitrogênio foi determinado por Kjeldahl (proteína = N x 6,25). As fibras alimentares foram determinadas pelo método enzimático-gravimétrico 991.43 da AOAC (2012). As enzimas α -amilase, amiloglucosidase e protease utilizadas foram da marca Sigma. Os açúcares totais foram determinados pelo método colorimétrico de fenol-sulfúrico (Dubois, Gilles, Hamilton, Rebers & Smith, 1956) e quantificados por absorção em espectrofotômetro (S22 UV-Visível, Biochrom Libra, Inglaterra) a 490 nm. Os resultados foram expressos em g/100 g de amostra (em base seca, exceto umidade).

2.5.6 Capacidade de Absorção e Retenção de Água ou Óleo

Uma mistura de amostra e água destilada ou óleo de soja (1:30, m/v) foi mantida sob agitação (250 rpm) por 30 minutos e centrifugada a 1000 x g por 10 minutos (Centrífuga 5804 R, Eppendorf, Alemanha). Em seguida, o sobrenadante foi descartado e o sedimento úmido pesado. A capacidade de absorção e retenção de água ou óleo foi expressa em massa (g) de água ou óleo absorvida e retida/g de amostra (Seibel & Beléia, 2009a).

2.5.7 Capacidade de Intumescimento

A amostra (250 mg) e 5 mL de água destilada foram adicionados em uma proveta, a qual foi agitada (125 rpm/30 min) para a remoção das bolhas de ar e deixada em repouso *overnight*. O volume (mL) ocupado pela amostra foi medido e a capacidade de intumescimento expressa em mL/g de amostra (Mateos-Aparicio, Mateos-Peinado & Rupérez, 2010).

2.5.8 Estabilidade de Sólidos em Água

Uma mistura de amostra e água (6%, m/v) foi mantida sob agitação em um agitador magnético durante 90 segundos e, em seguida, deixada em repouso por 10 minutos. O volume do sedimento foi medido, o qual correspondeu à estabilidade

dos sólidos em água, expressa em mL/g de amostra (Charunuch, Boonyasirikool & Tiengpook, 2003).

2.5.9 Solubilidade das Proteínas em Água e em Diferentes pHs

A amostra (1 g) foi suspensa em 50 mL de água destilada sob agitação em haste agitadora (TE 102, Tecnal, Piracicaba, Brasil) a 12000 rpm por 2 minutos e, em seguida, centrifugada a 3700 x g por 25 minutos (Centrífuga 5804 R, Eppendorf, Alemanha). O teor de proteína solúvel no sobrenadante foi determinado pelo método de Kjeldahl. Para determinação da solubilidade das proteínas em diferentes pHs (2, 4, 6, 8, 10 e 12), soluções de HCl ou NaOH foram empregadas para o ajuste (Kamizake et al., 2014). Os resultados foram expressos em gramas de proteínas solúveis por 100 g de proteínas totais na amostra.

2.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

2.6.1 Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR) para a Hidrólise Enzimática do Okara

Com base nas determinações das funções resposta, conteúdo de fibras solúveis, capacidade de absorção e retenção de água e capacidade de intumescimento, a análise de regressão e a ANOVA foram realizadas. Os termos linear e quadrático das variáveis independentes e suas interações foram avaliados. Os modelos para cada resposta foram expressos conforme a equação $Y = \beta_0 + \beta_1x_1 + \beta_{11}x_1^2 + \beta_2x_2 + \beta_{22}x_2^2 + \beta_{12}x_1x_2$, onde Y = função resposta e β = coeficientes estimados para cada termo do modelo da superfície de resposta. A partir dos modelos ajustados de cada resposta, foram gerados os gráficos de superfície de resposta. O nível de significância considerado foi de 5%. Empregou-se o programa Statistica 10.0 (StatSoft, Inc., 2011).

2.6.2 Otimização Multi-Respostas e Validação dos Modelos

Para a maximização simultânea das três funções repostas, conteúdo de fibras solúveis, capacidade de absorção e retenção de água e capacidade de

intumescimento, a função de desejabilidade global do programa Statistica 10.0 (StatSoft, Inc., 2011) foi utilizada. A partir do respectivo ensaio em duas repetições, os modelos foram validados, comparando-se as médias de cada função resposta estimada com a obtida experimentalmente (teste t de Student, nível de significância = 5%).

2.6.3 Caracterização Física, Química e Tecnofuncional do Okara Modificado Otimizado

As análises das propriedades físicas, químicas e tecnofuncionais seguiram o delineamento inteiramente casualizado. As medidas foram realizadas em triplicata para cada repetição do experimento ($n = 3 \times 2 = 6$), exceto para fibras insolúveis e solubilidade proteica em diferentes pHs, medidas em duplicata para cada repetição ($n = 2 \times 2 = 4$). Os dados da amostra controle e modificada foram comparados pelo teste t-Student. O nível de significância considerado foi de 5%. O programa estatístico utilizado foi o Statistica 10.0 (StatSoft, Inc., 2011).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 EFEITO DA HIDRÓLISE ENZIMÁTICA SOBRE O CONTEÚDO DE FIBRAS SOLÚVEIS E NAS PROPRIEDADES DE HIDRATAÇÃO DO OKARA

As funções resposta estudadas foram influenciadas pelas diferentes condições de hidrólise (ensaios 1 a 11). Os conteúdos de fibras solúveis dos okaras tratados variaram de 1,83 a 2,78 g/100 g. Para as propriedades de hidratação, a capacidade de absorção e retenção de água e a capacidade de intumescimento variaram de 9,19 a 11,15 g/g e 7,59 a 8,77 mL/g, respectivamente (Tabela 1).

Tabela 1 – Matriz do DCCR com os valores codificados (x) e reais (X , entre parênteses) aplicada ao tratamento do okara por hidrólise enzimática e funções resposta

	Concentração de complexo enzimático (%)	Temperatura de hidrólise (°C)	Funções resposta		
			FS ¹	CARA ²	CI ²
Controle	-	-	1,33	7,66	7,32
Ensaio					
01	-1 (0,2)	-1 (25)	2,14	9,19	7,84
02	-1 (0,2)	1 (50)	2,20	9,51	7,72
03	1 (0,9)	-1 (25)	2,27	9,72	7,59
04	1 (0,9)	1 (50)	2,39	10,63	8,26
05	-1,41 (0,1)	0 (37)	1,83	9,86	7,99
06	1,41 (1,0)	0 (37)	2,51	11,15	8,13
07	0 (0,5)	-1,41 (20)	2,09	10,18	8,12
08	0 (0,5)	1,41 (55)	2,38	10,52	8,01
09	0 (0,5)	0 (37)	2,69	9,54	8,64
10	0 (0,5)	0 (37)	2,76	9,61	8,77
11	0 (0,5)	0 (37)	2,78	9,90	8,68

FS = conteúdo de fibras solúveis, expresso em g de FS/100 g de amostra, em base seca. CARA = capacidade de absorção e retenção de água, expressa em g de água absorvida e retida/g de amostra. CI = capacidade de intumescimento, expressa em mL/g de amostra. ¹Médias de duas determinações. ²Médias de três determinações.

Os parâmetros de regressão e ANOVA indicaram diferentes efeitos linear, quadrático e interação significativos ($p < 0,05$) para as funções resposta. Sendo que a manutenção de termos não significativos nos modelos decorreu de sua contribuição para o ajuste do modelo. Todos os modelos das funções resposta apresentaram $R^2 \geq 0,7$, indicando que se ajustaram adequadamente aos dados experimentais, além da falta de ajuste não significativa ($p > 0,05$) (Tabela 2). Assim, os modelos podem ser utilizados para fins preditivos.

Para o conteúdo de fibras solúveis, as variáveis X_1 (concentração de complexo enzimático) e X_2 (temperatura de reação) apresentaram efeito linear positivo e quadrático negativo, todos significativos ($p < 0,05$) (Tabela 2). A superfície de resposta (Figura 1a) indicou que a máxima resposta para o conteúdo de fibras solúveis ocorre quando x_1 está entre -0,2 e +0,75 e x_2 entre -0,4 e +0,7, isto é, quando a concentração do complexo enzimático está entre 0,44 e 0,8% e a temperatura de reação entre 32 e 46 °C.

Tabela 2 – Coeficientes de regressão e ANOVA dos modelos matemáticos das funções resposta

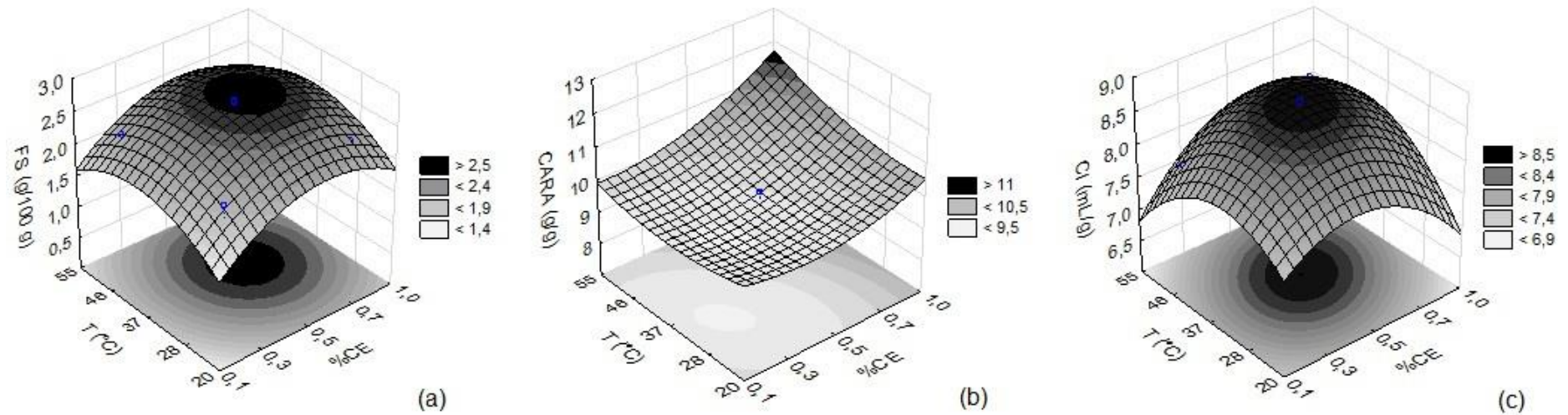
Parâmetros	Coeficientes de regressão (β)		
	FS	CARA	CI
Intercepto			
β_0	2,743	9,683	8,697
Linear			
β_1	0,160 ^a	0,434 ^a	0,061
β_2	0,074 ^a	0,214	0,049
Quadrático			
β_{11}	-0,275 ^a	0,245	-0,371 ^a
β_{22}	-0,242 ^a	0,167	-0,368 ^a
Interação			
β_{12}	–	0,148	0,198 ^a
R^{2b}	0,925	0,696	0,897
R^2 ajustado	0,875	0,391	0,794
Falta de ajuste (p) ^c	0,127	0,104	0,082

FS = conteúdo de fibras solúveis, expresso em g de FS/100 g de amostra, em base seca. CARA = capacidade de absorção e retenção de água, expressa em g de água absorvida e retida/g de amostra. CI = capacidade de intumescimento, expressa em mL/g de amostra. ^aParâmetros significativos ($p < 0,05$). ^bCoeficiente de determinação. ^cFalta de ajuste dos modelos. β_1 e β_2 (números subscritos) correspondem a concentração de complexo enzimático (%) e temperatura de reação (°C), respectivamente. – termo não significativo removido do modelo.

Somente a variável X_1 (concentração de complexo enzimático) exibiu efeito linear positivo e significativo ($p < 0,05$) para a capacidade de absorção e retenção de água, sendo que os demais parâmetros tiveram menor influência sobre esta resposta (Tabela 2). Na Figura 1b, observa-se que os maiores valores se localizam na região de maior concentração do complexo enzimático e temperatura de reação. Adicionalmente, nota-se uma tendência de redução dos valores quando ocorre a diminuição dos níveis destas variáveis.

Já a capacidade de intumescimento apresentou efeito quadrático negativo e significativo ($p < 0,05$) para a concentração de complexo enzimático e temperatura de reação e a interação de ambos, X_1X_2 , positiva e significativa ($p < 0,05$), sendo pequenos e não significativos ($p > 0,05$) os efeitos lineares de ambas as variáveis (Tabela 2). Na superfície de resposta, uma tendência semelhante à primeira função resposta foi observada (Figura 1c), onde a máxima resposta ocorre quando x_1 está entre -0,4 e +0,6 e x_2 entre -0,4 e +0,6, ou seja, quando a concentração do complexo enzimático está entre 0,38 e 0,74% e a temperatura de reação entre 32 e 45 °C.

Figura 1 – Superfície de resposta em função da concentração de complexo enzimático (%) (CE) e temperatura de reação (T) (°C) para as funções resposta



(a) FS = conteúdo de fibras solúveis, expresso em g de FS/100 g de amostra, em base seca. (b) CARA = capacidade de absorção e retenção de água, expressa em g de água absorvida e retida/g de amostra. (c) CI = capacidade de intumescimento, expressa em mL/g de amostra.

Uma vez que a parede celular presente no okara é composta por pectina, hemiceluloses, celulose e lignina (Al Loman & Ju, 2017; Figueiredo et al., 2018), o uso de carboidrases, como celulase, hemicelulases e pectinases, é importante para modificar esta estrutura, tornando-a mais permeável e obtendo fragmentos menores e mais solúveis.

O tratamento enzimático pode ter ocasionado alterações na parede celular, refletindo nas funções de hidratação e no conteúdo de fibras solúveis do okara, como observado nos resultados (Tabela 1 e Figura 1). Após a hidrólise, o aumento do teor de fibras solúveis pode ser resultado da conversão de fibras insolúveis e as propriedades de hidratação podem ter melhorado porque a estrutura modificada facilita a entrada de água na matriz. Ademais, o próprio aumento de fibras solúveis pode contribuir para elevação da hidratação do material modificado, devido à sua superior habilidade de hidratar e se misturar com a matriz alimentícia (Dang & Vasanthan, 2019).

O aumento da concentração enzimática possibilita maior clivagem das moléculas de polissacarídeos da parede celular (Figueiredo et al., 2018). Além disso, elevadas temperaturas de hidrólise aumentam a velocidade da reação devido ao aumento da energia cinética das moléculas (Lehninger & Cox, 2017). No entanto, para o conteúdo de fibras solúveis e capacidade de intumescimento, o aumento dos níveis de concentração enzimática e temperatura de reação provocou incrementos até a região ótima (0,44 – 0,8% de complexo enzimático e 32 – 46 °C para fibras solúveis e 0,38 – 0,74% de complexo enzimático e 32 – 45 °C para capacidade de intumescimento, Figuras 1a e 1c, respectivamente). A redução destas respostas com a contínua elevação das variáveis do processo (Figuras 1a e 1c) pode estar associada à eventual produção de carboidratos simples, como resultado da solubilização parcial das fibras insolúveis e, também, da hidrólise de fibras solúveis a fragmentos ainda menores. Além disso, outras alterações estruturais não favoráveis para o intumescimento das partículas da amostra podem ter ocorrido, como o colapso da matriz fibrosa e proteica, reduzindo o espaço intersticial e, conseqüentemente, diminuindo o intumescimento.

É importante ressaltar que o conteúdo máximo de fibras solúveis alcançado neste estudo ainda é baixo (Figura 1a). Algumas hipóteses podem ser levantadas para este comportamento. Em se tratando de uma mistura de enzimas, a Viscozyme® L pode ter atividade, predominante, em pontos específicos da cadeia

polissacarídica que resultou na formação de cadeias ainda longas e açúcares simples, ao ponto de não serem quantificados como fibra solúvel. Sendo estas, supostamente, as transformações obtidas dentro da região experimental estudada. Ademais, a presença de lignina dificulta o acesso da mistura enzimática aos demais compostos da parede celular do okara, diminuindo a eficiência do tratamento (Al Loman & Ju, 2017). Pré-tratamentos, físicos ou químicos, poderiam ser métodos promissores para reduzir a rigidez da parede celular, aumentando a área superficial acessível à enzima e, conseqüentemente, aumentos ainda maiores para esta resposta poderiam ser notados com o uso posterior da mistura enzimática. No mesmo sentido, o estudo de Fischer et al. (2001) mostrou que a hidrólise prévia da soja por proteases aumenta a eficiência enzimática de carboidrases, uma vez que tanto as proteínas, como os carboidratos estão envolvidos em uma matriz complexa. Segundo os pesquisadores, as proteínas também dificultam o acesso das carboidrases a seus substratos.

Zhou et al. (2009) observaram uma queda na produção de glicose, durante a hidrólise enzimática de palha de trigo por uma mistura de celulasas. Quando todas as concentrações enzimáticas utilizadas foram acima de determinados valores, a redução de glicose foi justificada pela competição por sítios de ligação entre as enzimas do complexo ou a saturação individual de cada enzima.

Para Pérez-López et al. (2017) a cinética enzimática da mistura de carboidrases para hidrolisar as fibras do okara não é simples, pois em diferentes condições, após a obtenção do ponto de saturação, ainda pode haver um posterior aumento de fibras solúveis, indicando que a grande complexidade estrutural do okara, com parede celular primária e secundária, assim como pectinas, proteínas, celulose e hemiceluloses, podem provocar este comportamento.

Vong e Liu (2019) e Vong et al. (2017) obtiveram aumentos de 128 e 79% de fibras solúveis, respectivamente, em okara tratado com a mesma mistura de carboidrases desta pesquisa, porém, sob diferentes condições de hidrólise (3% de complexo multi-enzimático (v/m), 50 °C por 3 h, em ambos os estudos). Associando o uso desta enzima à tecnologia de alta pressão hidrostática, Pérez-López et al. (2017) alcançaram um incremento ainda maior, 2,5 vezes mais que o okara não tratado.

Em relação à variável temperatura, embora, no geral, exista a correlação positiva com velocidade de reação, temperaturas mais altas podem levar

a desnaturação e inativação enzimática com conseqüente redução de atividade (Lehninger & Cox, 2017). Rosset, Acquaro e Beléia (2014), ao hidrolisarem (Viscozyme L) carboidratos da soja, observaram que a elevação da temperatura de 55 para 62 °C resultou na menor obtenção de açúcares redutores. Isto porque temperaturas acima de 60 °C são próximas à temperatura de inativação do complexo enzimático. Ademais, Gama, Van Dyk e Pletschke (2015) reportaram que a Viscozyme L retém uma atividade residual acima de 90% após 24 horas de incubação até 37 °C, entretanto, esta atividade diminui para 60% quando submetida a 50 °C para bagaço de maçã.

Para a capacidade de absorção e retenção de água, ao contrário do observado para as demais funções resposta, condições extremas de hidrólise (maiores concentrações do complexo e temperaturas mais elevadas) resultaram em alterações do okara que levaram ao contínuo aumento desta resposta (Figura 1b).

Seibel e Beléia (2009b) também observaram comportamentos distintos entre as duas determinações de hidratação da fração sólida de fibras de soja hidrolisadas pela mesma mistura de carboidrases deste estudo. O volume de intumescimento das partículas aumentou após a hidrólise, enquanto o índice de absorção de água diminuiu. Já Villanueva-Suárez, Pérez-Cózar e Redondo-Cuenca (2013) obtiveram um aumento de 8,33 g/g para 10,76 g/g para capacidade de retenção de água e de 9,44 mL/g para 13,85 g/g para a capacidade de intumescimento de okara tratado por outra mistura de carboidrases, Ultraflo L[®] (β -glucanase e xilase).

Embora a capacidade de absorção e retenção de água e a capacidade de intumescimento sejam funções relacionadas à mesma propriedade, de hidratação, as variáveis independentes do estudo exerceram diferentes efeitos sobre elas (Tabela 2 e Figura 1). Isto pode ser explicado porque suas determinações e os fatores que as influenciam são diferentes. A capacidade de absorção e retenção de água depende da conformação molecular, tamanho de partículas e número de sítios de ligação das moléculas, sendo estimada pela quantidade de água retida na matriz sem que ocorra exsudação após a ação de uma força centrífuga, enquanto que a capacidade de intumescimento é dependente também da porosidade, densidade e solubilidade das partículas, sendo determinada pela fixação espontânea da água pela matriz fibrosa e proteica (Auffret, Ralet, Guillon, Barry & Thibault, 1994; Elleuch et al., 2011).

3.2 OTIMIZAÇÃO MULTI-RESPOSTAS E VALIDAÇÃO EXPERIMENTAL DOS RESULTADOS

Visando a maximização das funções resposta de forma simultânea, a condição ótima para a hidrólise enzimática do okara foi encontrada empregando-se 0,8% de complexo enzimático a 46 °C por 3 h, segundo a desejabilidade global gerada pelo programa estatístico utilizado (Anexo B). Esta condição, denominada desejável ou otimizada, possibilitou um aumento simultâneo de 105% do conteúdo de fibras solúveis, 34% da capacidade de absorção e retenção de água e 13% da capacidade de intumescimento do okara, em relação à amostra não tratada (Tabela 3).

Tabela 3 – Validação das funções resposta utilizando a condição desejável¹ para modificação do okara por hidrólise enzimática

Funções resposta	Respostas previstas	Respostas experimentais ²
FS	2,65 ± 0,10 ^a	2,73 ± 0,58 ^a
CARA	10,42 ± 0,45 ^a	10,30 ± 0,42 ^a
CI	8,50 ± 0,16 ^a	8,29 ± 0,59 ^a

¹Concentração de complexo enzimático = 0,8; temperatura de reação = 46 °C. ²Médias de duas repetições e triplicata para cada repetição das análises de CARA e CI e médias de duas repetições e duplicata para cada repetição para FS ± desvio padrão. FS = conteúdo de fibras solúveis, expresso em g de FS/100 g de amostra, em base seca. CARA = capacidade de absorção e retenção de água, expressa em g de água absorvida e retida/g de amostra. CI = capacidade de intumescimento, expressa em mL/g de amostra. Letras iguais na mesma linha não são significativamente diferentes ($p > 0,05$).

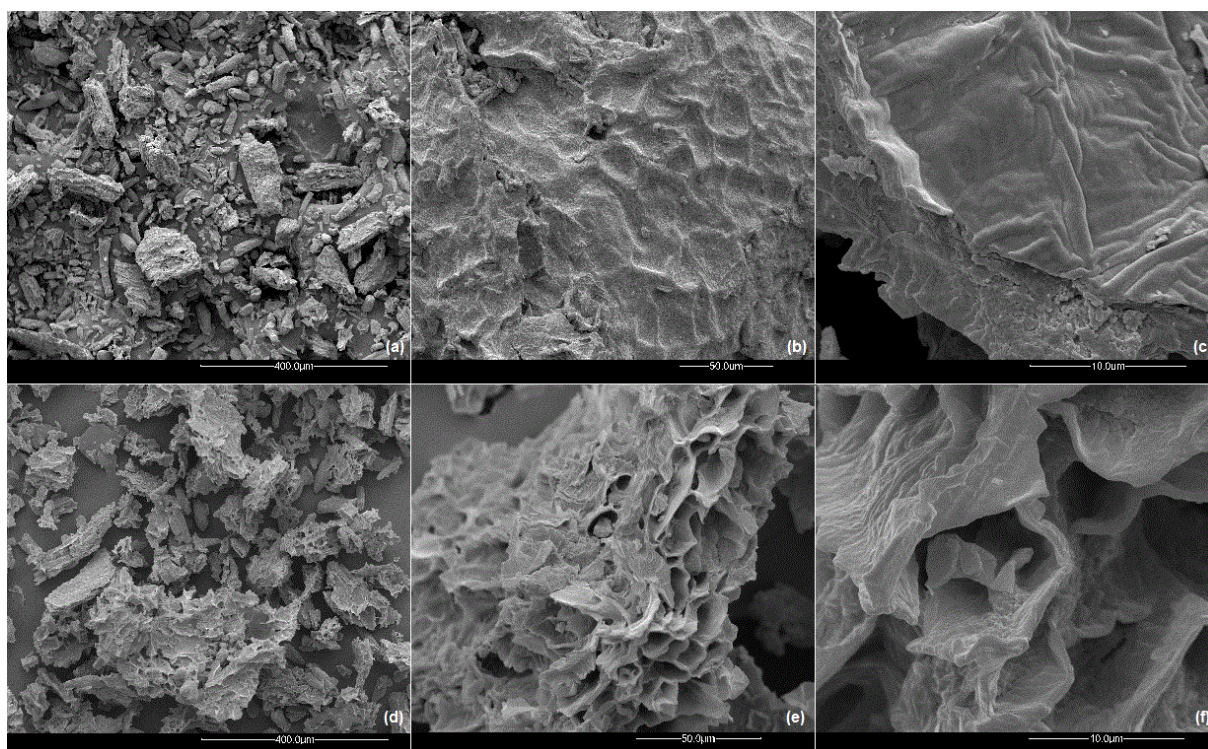
Nesta mesma condição, observa-se que as respostas previstas de todas as funções resposta não difeririam das experimentais ($p > 0,05$) (Tabela 3), portanto estes modelos podem ser utilizados para fins preditivos.

3.3 CARACTERIZAÇÃO FÍSICA, QUÍMICA E TECNOLÓGICA DO OKARA MODIFICADO OTIMIZADO

O tratamento do okara, na condição otimizada, provocou alterações na microestrutura de suas partículas, tornando-a mais fragmentada e porosa e menos densa (Figura 2d, e e f) que o controle (Figura 2a, b e c). Figueiredo et al. (2018) observaram, por meio de microscopia óptica de fluorescência, que a parede celular íntegra presente no okara após o tratamento com o complexo multi-enzimático de

carboidrases (Viscozyme® L) se tornou danificada e desorganizada, porém com algumas regiões não alteradas, configurando uma hidrólise enzimática parcial.

Figura 2 – Microscopia eletrônica de varredura dos okaras controle (a, b e c) e hidrolisado¹ (d, e e f)



Barras (a) e (d) = 400 μm ; (b) e (e) = 50 μm ; (c) e (f) = 10 μm . ¹Okara tratado com 0,8% de complexo enzimático a 46 °C por 3 horas.

Desta forma, as micrografias permitiram observar alterações morfológicas do okara (Figura 2) importantes e que contribuem para a compreensão de outras propriedades influenciadas por este tratamento (Tabelas 3 e 4).

A cor do okara foi alterada com o tratamento, tornando-se ligeiramente mais escura, vermelha e amarela do que o controle (Tabela 4). Estas alterações podem estar relacionadas à reação de Maillard durante a hidrólise e posterior inativação das enzimas, visto que a amostra foi submetida a elevadas temperaturas (Muliterno, Rodrigues, Lima, Ida & Kurozawa, 2017).

A densidade aparente do okara diminuiu (1,7 vezes) após a hidrólise (Tabela 4). O mesmo comportamento foi observado por Villanueva-Suárez et al. (2013) em okara tratado com xilanase e celulase. Esta alteração pode estar relacionada com as novas características estruturais do okara modificado, onde se

observa uma estrutura menos densa e mais porosa que o controle (Figura 2). O pH da amostra modificada corresponde à condição empregada para a hidrólise enzimática (pH $5,5 \pm 0,1$) e, portanto, se difere do pH da amostra controle, próximo da neutralidade (Tabela 4).

Tabela 4 – Parâmetros de cor, densidade aparente, pH, composição química, capacidade de absorção e retenção de óleo, estabilidade dos sólidos em água e solubilidade proteica em água dos okaras controle e hidrolisado¹

	Okara	
	Controle	Hidrolisado
L*	90,80 ± 0,67 ^a	87,01 ± 0,70 ^b
a*	0,22 ± 0,10 ^b	0,99 ± 0,17 ^a
b*	12,00 ± 0,39 ^b	16,57 ± 0,58 ^a
h*	88,90 ± 0,49 ^a	86,58 ± 0,47 ^b
Densidade aparente	0,52 ± 0,01 ^a	0,30 ± 0,01 ^b
pH	7,14 ± 0,04 ^a	5,60 ± 0,02 ^b
Umidade	10,06 ± 0,17 ^a	5,76 ± 0,50 ^b
Proteínas	43,90 ± 0,25 ^a	42,97 ± 0,58 ^b
Lipídeos	2,72 ± 0,26 ^a	2,26 ± 0,22 ^b
Cinzas	3,46 ± 0,06 ^a	3,14 ± 0,20 ^b
Fibras solúveis	1,33 ± 0,11 ^b	2,73 ± 0,58 ^a
Fibras insolúveis	50,27 ± 0,99 ^a	45,41 ± 1,71 ^b
Açúcares totais	6,97 ± 0,51 ^b	9,59 ± 0,91 ^a
Capacidade de absorção e retenção de óleo	3,20 ± 0,23 ^b	5,54 ± 0,56 ^a
Estabilidade dos sólidos em água	9,32 ± 0,02 ^a	9,44 ± 0,62 ^a
Solubilidade proteica em água	12,09 ± 0,95 ^a	11,31 ± 1,81 ^a

¹Okara tratado com 0,8% de complexo enzimático a 46 °C por 3 horas.

Médias de duas repetições e triplicata para cada repetição das análises, exceto fibras solúveis e insolúveis, médias de duas repetições e duplicata para cada repetição ± desvio padrão.

Parâmetros de cor: L* = luminosidade (0 = preto; 100 = branco); a* (- a = verde; + a = vermelho); b* (- b = azul; + b = amarelo); h* (tonalidade cromática): 0° = vermelho puro; 90° = amarelo puro; 180° = verde puro; 270° = azul puro.

Densidade aparente expressa em g/mL.

Resultados de umidade, proteínas, lipídeos, cinzas, fibras e açúcares totais expressos em g/100 g de amostra em base seca, exceto umidade.

Capacidade de absorção e retenção de óleo, expressa em g de óleo absorvido e retido/g de amostra.

Estabilidade dos sólidos em água, expressa em volume (mL) do sedimento úmido/g de amostra.

Solubilidade proteica em água expressa em g de proteína solúvel/100 g de proteínas totais.

Letras iguais na mesma linha não são significativamente diferentes ($p > 0,05$).

Após a hidrólise, houve alteração na composição química do okara ($p < 0,05$) (Tabela 4). Os teores de proteínas, lipídeos e cinzas foram apenas ligeiramente menores que o controle. A redução do conteúdo de fibras insolúveis da amostra hidrolisada pode estar relacionada à conversão dessas fibras para as

solúveis e açúcares, que aumentaram com o tratamento (Tabela 4). Estes resultados mostram que a hidrólise enzimática, além de provocar a modificação de fibras insolúveis para solúveis, resulta na liberação de açúcares. O mesmo comportamento foi observado por Vong e Liu (2019), onde, além do aumento do teor de fibras solúveis, obtiveram um incremento de açúcares simples, principalmente glicose e galactose de okara tratado com a mesma mistura de carboidrases deste estudo.

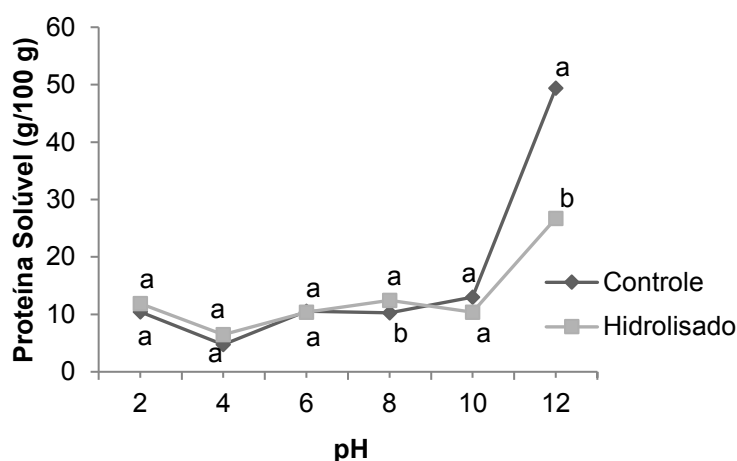
A capacidade de absorção e retenção de óleo do okara aumentou 73% após o tratamento (Tabela 4). Este aumento pode ter ocorrido devido à menor densidade e à maior porosidade da amostra modificada (Figura 2), uma vez que esta propriedade está relacionada, principalmente, ao aprisionamento físico do óleo pela matriz. Villanueva-Suárez et al. (2013) obtiveram um aumento superior para a capacidade de retenção de óleo, de 0,27 g/g para 6,94 g/g em okara hidrolisado por Ultraflo L[®] (β -glucanase e xilase). Enquanto Seibel e Beléia (2009b) não observaram a influência da hidrólise enzimática por carboidrases para esta propriedade em fibras de soja.

O tratamento enzimático não provocou alterações na estabilidade dos sólidos em água e na solubilidade das proteínas do okara em água (Tabela 4). O okara controle apresentou baixa solubilidade proteica em água e em diferentes pHs (Tabela 4 e Figura 3) porque a maior parte das proteínas solúveis dos grãos é extraída para o extrato de soja, remanescendo, portanto, majoritariamente as proteínas insolúveis no okara (Figueiredo et al., 2018). Ademais, a posterior secagem do okara pode ter ocasionado a desnaturação e redução na solubilidade proteica. Somente em pH 12 ambas as amostras apresentaram maior solubilidade proteica (Figura 3). Isto pode estar relacionado à forte repulsão eletrostática intramolecular provocada pela alta carga líquida, o que resulta na expansão e desdobramento da molécula proteica. Especialmente em valores extremos de pH alcalino, ocorre a ionização dos grupos carboxílicos, sulfidril e fenólico, parcialmente inseridos, que levam a cadeia polipeptídica a desenovelar-se (Damodaran, 2008).

O uso de carboidrases, que provoca a ruptura dos polissacarídeos da parede celular, pode aumentar a solubilidade/extração das proteínas, uma vez que os corpos proteicos estão no interior da célula (Figueiredo et al., 2018). No entanto, considerando esta hipótese, o tratamento térmico aplicado após a hidrólise para inativação da enzima pode ter resultado na desnaturação das proteínas, eventualmente, solubilizadas pelo tratamento e, por isso, a solubilidade proteica se

apresentou baixa após a modificação (Tabela 4 e Figura 3). Esta também pode ser a razão pela qual a solubilidade proteica em pH 12 do okara reduziu após o tratamento enzimático (Figura 3).

Figura 3 – Perfil de solubilidade proteica em diferentes pHs dos okaras controle e hidrolisado¹



¹Okara tratado com 0,8% de complexo enzimático a 46 °C por 3 horas. Letras diferentes entre os okaras para um mesmo pH indicam diferença significativa ($p \leq 0,05$).

4 CONCLUSÕES

A hidrólise enzimática, utilizando a mistura de carboidrases, aumenta as propriedades de hidratação e o teor fibras solúveis do okara. Sendo que, dentro da faixa experimental estudada, a concentração do complexo multi-enzimático e temperatura de reação provocam diferentes efeitos sobre as funções resposta.

A condição ótima para modificação é de 0,8% do complexo multi-enzimático, 46 °C por 3 horas. O tratamento com o complexo multi-enzimático na condição ótima resulta em partículas de okara com microestrutura mais fragmentada e menos densa, altera a composição química e promove aumento de 73% na capacidade de absorção e retenção de óleo.

A hidrólise por complexo multi-enzimático mostra-se um método apropriado para melhorar propriedades físico-químicas importantes para futura aplicação do okara, o que pode representar uma alternativa para a valorização e o aproveitamento deste resíduo. No entanto, estudos futuros, relacionados à

associação de métodos, são necessários para verificar se pré-tratamentos podem facilitar a posterior hidrólise da rígida estrutura da parede celular presente no okara, aumentando ainda mais o conteúdo de fibras solúveis e as propriedades de hidratação.

REFERÊNCIAS

- Al Loman, A. & Ju, L. (2017). Enzyme-based processing of soybean carbohydrate: Recent developments and future prospects. *Enzyme and Microbial Technology*, 106, 35-47. <http://dx.doi.org/doi:10.1016/j.enzmictec.2017.06.013>.
- AOAC International. (2012). *Official Methods of Analysis of AOAC International*. Gaithersburg, MD: AOAC International.
- Auffret, A., Ralet, M. C., Guillon, F., Barry, J. L. & Thibault, J. F. (1994). Effect of grinding and experimental conditions on the measurement of hydration properties of dietary fibres. *LWT - Food Science and Technology*, 27, 166-172. <https://doi.org/10.1006/fstl.1994.1033>.
- Charunuch, C., Boonyasirikool, P. & Tiengpook, C. (2003). Using extrusion process for preparation of instant cereal beverage based on corn and soybean. *Kasetsart Journal (Natural Science)*, 37, 72-83.
- Damodaran, S. (2008). *Fennema's Food Chemistry*. (4^a ed.). Boca Raton: CRC PRESS, (Capítulo 5).
- Dang, T. T. & Vasanthan, T. (2019). Modification of rice bran dietary fiber concentrates using enzyme and extrusion cooking. *Food Hydrocolloids*, 89, 773-782. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.11.024>
- Dhingra, D., Michael, M., Rajput, H. & Patil, R. T. (2012). Dietary fibre in foods: a review. *Journal of Food Science and Technology*, 49, 255-266. doi: 10.1007/s13197-011-0365-5.
- Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A. & Smith, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*, 28, 350-356. <http://dx.doi.org/10.1021/ac60111a017>.
- Elleuch, M., Bedigian, D., Roiseux, O., Besbes, S., Blecker, C. & Attia, H. (2011). Dietary fibre and fibre-rich by-products of food processing: Characterisation, technological functionality and commercial applications: A review. *Food Chemistry*, 124, 411- 421. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.06.077>.
- Figueiredo, V. R. G., Yamashita, F., Vanzela, A. L. L., Ida, E. I. & Kurozawa, L. E. (2018). Action of multi-enzyme complex on protein extraction to obtain a protein concentrate from okara. *Journal of Food Science and Technology*, 55, 1508-1517. <https://doi.org/10.1007/s13197-018-3067-4>.

Fischer, M., Kofod, L. V., Schols, H. A., Piersma, S. R., Gruppen, H. & Voragen, A. G. (2001). Enzymatic extractability of soybean meal proteins and carbohydrates: heat and humidity effects. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 4463-4469. <https://doi.org/10.1021/jf010061w>.

Gama, R., Van Dyk, J. S. & Pletschke, B. I. (2015). Optimisation of enzymatic hydrolysis of apple pomace for production of biofuel and biorefinery chemicals using commercial enzymes. *3 Biotech*, 5, 1075-1087. <http://dx.doi.org/10.1007/s13205-015-0312-7>.

Huang, S., He, Y., Zou, Y. & Liu, Z. (2015). Modification of insoluble dietary fiber in soya bean okara and their physicochemical properties. *International Journal of Food Science and Technology*, 50, 2606-2613. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12929>.

Kamizake, N. K. K., Varéa, G. S. & Prudencio, S. H. (2014). Physicochemical properties of aged soybean components. *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 12, 263-268. <https://doi.org/10.1234/4.2014.4449>.

Lehninger, D. N. & Cox M. M. (2017). *Principles of biochemistry*. (7^a ed.). Nova lorque: W. H. Freeman.

Li, H., Long, D., Peng, J., Ming, J. & Zhao, G. (2012). A novel in-situ enhanced blasting extrusion technique - Extrudate analysis and optimization of processing conditions with okara. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 16, 80-88. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2012.04.009>.

Li, B., Qiao, M. & Lu, F. (2012). Composition, nutrition, and utilization of okara (Soybean Residue). *Food Reviews International*, 28, 231-252. <https://doi.org/10.1080/87559129.2011.595023>.

Mateos-Aparicio, I., Mateos-Peinado, C. & Rupérez, P. (2010). High hydrostatic pressure improves the functionality of dietary fiber in okara by-product from soybean. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 11, 445-450. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2010.02.003>.

Muliterno, M. M., Rodrigues, D., Lima, F. S., Ida, E. I. & Kurozawa, L. E. (2017). Conversion/degradation of isoflavones and color alterations during the drying of okara. *Food Science and Technology*, 75, 512-519. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.09.031>.

Ogunwolu, S. O., Henshaw, F. O., Mock, H., Santos, A. & Awonorin, S. O. (2009). Functional properties of protein concentrates and isolates produced from cashew (*Anacardium occidentale* L.) nut. *Food Chemistry*, 115, 852-858. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.01.011>.

Pérez-López, E., Mateos-Aparicio, I. & Rupérez, P. (2017). High hydrostatic pressure aided by food-grade enzymes as a novel approach for Okara valorization. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 42, 197-203. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2017.07.012>.

Rosset, M., Acquaro Júnior, V. R. & Beléia, A. D. P. (2014). Protein extraction from defatted soybean flour with Viscozyme L pretreatment. *Journal of Food Processing and Preservation*, 38, 784-790. <https://doi.org/10.1111/jfpp.12030>.

Seibel, N. F. & Beléia, A. D. P. (2009a). The chemical characteristics and technological functionality of soybean based ingredients [Glycine Max (L.) Merrill]: carbohydrates and proteins. *Brazilian Journal of Food Technology*, 12, 113-122. <https://doi.org/10.4260/BJFT20093607>.

Seibel, N. F. & Beléia, A. D. P. (2009b). Hidrólise enzimática de fibras de cotilédones de soja e caracterização das frações sólidas e solúveis. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 44, 1336-1345. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-204X2009001000018>.

Spotti, M. J. & Campanella, O. H. (2017). Functional modifications by physical treatments of dietary fibers used in food formulations. *Current Opinion in Food Science*, 15, 70-78. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2017.10.003>.

StatSoft, Inc. (2011). STATISTICA (data analysis software system), version 10. www.statsoft.com.

Villanueva-Suárez, M. J., Pérez-Cózar, M. & Redondo-Cuenca, A. (2013). Sequential extraction of polysaccharides from enzymatically hydrolyzed okara byproduct: Physicochemical properties and *in vitro* fermentability. *Food Chemistry*, 141, 1114-1119. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.03.066>.

Vong, W. C., Lim, X. Y. & Liu, S. Q. (2017). Biotransformation with cellulase, hemicellulase and *Yarrowia lipolytica* boosts health benefits of okara. *Biotechnological products and process engineering*, 101, 7129-7140. <https://doi.org/10.1007/s00253-017-8431-1>.

Vong, W. C. & Liu, S. (2016). Biovalorisation of okara (soybean residue) for food and nutrition. *Trends in Food Science & Technology*, 52, 139-147. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.04.011>.

Vong, W. C. & Liu, S. (2019). The effects of carbohydrase, probiotic *Lactobacillus paracasei* and yeast *Lindnera saturnus* on the composition of a novel okara (soybean residue) functional beverage. *Food Science and Technology*, 100, 196-204. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.10.059>.

Zhou, J., Wang, Y. H., Chu, J., Luo, L., Zhuang, Y. P. & Zhang, S. L. (2009). Optimization of cellulase mixture for efficient hydrolysis of steam-exploded corn stover by statistically designed experiments. *Bioresource Technology*, 100, 819-825. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.06.068>.

5.3 ARTIGO CIENTÍFICO 3

Propriedades físicas, químicas e tecnofuncionais do okara: efeito da umidade da amostra no processo de extrusão

RESUMO

Com o objetivo de aumentar as propriedades de hidratação e o conteúdo de fibras solúveis, okara com diferentes teores de umidade (30, 35 e 40%) foi extrusado em equipamento mono-rosca, mantendo-se fixadas a temperatura (120 °C) e a velocidade da rosca (115 rpm). Foram avaliadas as propriedades físicas, químicas e tecnofuncionais de okaras extrusados e não extrusado (controle). Microestrutura, cor, composição química e propriedades tecnofuncionais dos okaras foram alteradas após a extrusão. Dentre as amostras modificadas, o okara extrusado com 30% de umidade apresentou alterações muito intensas, em relação às amostras extrusadas com 35 e 40% de umidade. A partir dos resultados, pode-se inferir que o okara extrusado com 35% de umidade é o mais adequado. Nesta condição, houve um aumento de 80% no conteúdo de fibras solúveis, 45% na capacidade de absorção e retenção de água e 11% na estabilidade dos sólidos em água, a manutenção da capacidade de intumescimento e de absorção e retenção de óleo e a redução da solubilidade proteica em água.

Palavras-chave: Alteração física. Fibras modificadas. Fibras solúveis. Capacidade de absorção e retenção de água. Microestrutura.

1 INTRODUÇÃO

Okara é o resíduo da produção do extrato de soja e tofu. É composto, principalmente, por proteínas (15,2 – 33,4 g/100 g, base seca) e fibras alimentares (42,4 – 58,1 g/100 g, base seca), sendo estas fibras constituídas, sobretudo, pelas insolúveis (40,2 – 50,8 g/100 g, base seca) (VONG; LIU, 2016).

Considerando que para cada quilo soja utilizado na produção de tofu, de 1,1 – 1,2 kg de okara fresco ou úmido são obtidos, uma grande quantidade deste resíduo é gerada, principalmente, em países asiáticos, onde o consumo de produtos à base de soja é elevado. Na China, por exemplo, são gerados 2,8 milhões de toneladas anualmente. Grande parte deste volume é destinada à alimentação animal ou tratada como resíduo. Seu descarte representa um problema ambiental, em decorrência da alta suscetibilidade à putrefação. Entretanto, nos últimos anos, um crescente interesse em seu aproveitamento foi notado (LI *et al.*, 2012; LI *et al.*, 2013; VONG; LIU, 2016).

A utilização de subprodutos ricos em fibras insolúveis representa um grande desafio para a indústria alimentícia. Adicionalmente, embora muitos deles promovam aporte funcional para saúde em alimentos, muitas vezes, a limitação de suas aplicações está associada a características sensoriais indesejáveis do produto final, como textura granulosa e grosseira (GALDEANO; GROSSMANN, 2005; LI *et al.*, 2012).

Neste sentido, tratamentos químicos das fibras alimentares têm sido praticados há anos com o intuito de modificar a sua estrutura e, conseqüentemente, melhorar suas propriedades tecnofuncionais, o que poderia facilitar sua incorporação em alimentos. Não obstante, a preocupação em reduzir o uso de produtos químicos durante a produção de alimentos tem movido a indústria e a comunidade científica para estudar modificações físicas e alcançar uma melhor funcionalidade. Processamentos físicos, como a extrusão, o ultrassom e a tecnologia de alta pressão, podem alterar as propriedades físico-químicas da fibra nativa e facilitar a sua aplicação como ingrediente alimentar (SPOTTI; CAMPANELLA, 2017).

Dentre as modificações alcançadas, destaca-se o aumento do conteúdo de fibras solúveis e das propriedades de hidratação. O aumento de fibras solúveis é vantajoso, pois o seu consumo está relacionado a mais benefícios à saúde do que as insolúveis. Além disso, a sua obtenção se torna importante, uma vez que os alimentos fontes de fibras mais comuns são compostos, principalmente, pelas insolúveis. De forma geral, as fibras solúveis, como pectinas, β -glucanas e algumas hemiceluloses, apresentam potencial prebiótico e o seu consumo está mais associado aos efeitos hipocolesterolêmicos. Enquanto o das insolúveis está relacionado à regulação do funcionamento intestinal, fazendo parte deste grupo, celulose, hemiceluloses e lignina (LI *et al.*, 2012; MATEOS-APARICIO; MATEOS-PEINADO; RUPÉREZ, 2010).

A extrusão é um processo físico de alta temperatura e curto tempo que transforma matérias-primas e ingredientes crus em produtos intermediários ou finais (STEEL *et al.*, 2012), sem gerar efluentes. Esta técnica desencadeia diversas modificações, incluindo a composição química do material e suas propriedades tecnofuncionais (HUANG; MA, 2016). Isto ocorre devido à quebra de ligações covalentes e não covalentes dos polissacarídeos e entre carboidratos e proteínas associados às fibras (LI *et al.*, 2012; SPOTTI; CAMPANELLA, 2017). As transformações dependem das características do material, tipo de equipamento e

condições de processamento, como umidade da amostra, velocidade da rosca e temperatura (CHEN *et al.*, 2014; HONCU *et al.*, 2016). A umidade da amostra influencia na drasticidade do processamento. Quanto menor a umidade, menor a lubrificação do sistema, o que provoca um maior atrito e modificação do produto. Normalmente, uma amostra com menor umidade resulta em produto mais expandido. Portanto, a umidade da amostra é uma variável importante de estudo, pois pode controlar a intensidade das modificações (CHEN *et al.*, 2018; GHUMMAN *et al.*, 2016; STEEL *et al.*, 2012; SETH; BADWAIK; GANAPATHY, 2015).

Neste contexto, o objetivo deste estudo foi modificar o okara por extrusão, utilizando amostras com diferentes conteúdos de umidade, com o intuito de aumentar as propriedades de hidratação e o conteúdo de fibras solúveis, além de avaliar alterações das propriedades físicas, químicas e funcionais tecnológicas.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 MATERIAL

O okara, proveniente da cultivar de soja TMG 7062 IPRO, foi doado por uma indústria processadora de tofu da cidade de Londrina, PR. Os reagentes utilizados foram de grau analítico.

2.2 PREPARO DO OKARA

O okara foi seco a 60 °C por 12 h (Estufa TE - 394/2, Tecnal, Piracicaba, Brasil), moído e desengordurado duas vezes com hexano na proporção de 1:10 (m/v) sob agitação (300 rpm) a temperatura ambiente por 1 hora. Em seguida, filtrado a vácuo e seco a temperatura ambiente por 12 horas (OGUNWOLU *et al.*, 2009). Sendo sua composição: 10,06 g/100 g de umidade, 43,90 g/100 g de proteínas, 2,72 g/100 g de lipídeos, 3,46 g/100 g de cinzas, 1,33 g/100 g de fibras solúveis, 50,27 g/100 g de fibras alimentares e 6,97 g/100 g de açúcares totais, em base seca, exceto umidade.

2.3 MODIFICAÇÃO DO OKARA POR EXTRUSÃO

A extrusão foi executada no Laboratório de Tecnologia do Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Estadual de Londrina. Foram estudados três níveis de umidade da amostra para a modificação do okara por extrusão. Para isso, ao okara foi adicionado o volume de água necessário para que a amostra atingisse a umidade final de 30, 35 ou 40% (v/m). O material foi mantido sob refrigeração ($\approx 2\text{ }^{\circ}\text{C}$) por 24 horas e, em seguida, retirado da geladeira e deixado a temperatura ambiente por 1 hora antes de ser extrusado.

As amostras, com diferentes níveis de umidade, foram extrusadas em ordem aleatória em um extrusor de parafuso único (AX Plásticos, Diadema, Brasil), com $D = 1,6\text{ cm}$ e $L/D = 40$. Os seguintes parâmetros de extrusão foram mantidos fixos: velocidade da rosca (115 rpm), temperatura ($120\text{ }^{\circ}\text{C}$) e velocidade de alimentação constante. Estas condições de extrusão foram determinadas em testes preliminares com as amostras. Após a extrusão, as amostras foram secas em estufa com circulação de ar (Estufa TE - 394/2, Tecnal, Piracicaba, Brasil), para reduzir o conteúdo de umidade para $< 12\%$ e moídas (IKA A11 Basic, São Paulo, Brasil) para realização das análises. As amostras (okara controle/não extrusado e extrusados) foram mantidas sob refrigeração ($\approx 2\text{ }^{\circ}\text{C}$), em sacos de polietileno selados, até a realização das análises.

2.4 PROCEDIMENTOS ANALÍTICOS

2.4.1 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As amostras foram previamente mantidas em um dessecador com cloreto de cálcio por 10 dias, para retirar a umidade, e, em seguida, metalizadas com ouro (grau de pureza de 99,6%; Sputter Coater SCD 050, BAL-TEC, Alemanha). A microestrutura das amostras foi analisada em microscópio eletrônico de varredura (Quanta 200, FEI, Estados Unidos).

2.4.2 Medidas de Cor

A cor das amostras foi medida em um colorímetro (CR400, Konica

Minolta, Osaka, Japão) empregando-se iluminante padrão D65 e geometria 45/0. Foram obtidos os valores de L^* (luminosidade), onde 0 = preto e 100 = branco, a^* (componente vermelho - verde), b^* (componente amarelo - azul) e h^* (tonalidade cromática), onde 0° = vermelho puro, 90° = amarelo puro, 180° = verde puro e 270° = azul puro.

2.4.3 Densidade Aparente

Em uma proveta graduada foram acomodados 10 g de amostra. A densidade aparente das amostras foi determinada pela razão da massa e volume da amostra, expressa em g/mL (SEIBEL; BELÉIA, 2009).

2.4.4 Medidas de pH

Uma mistura de amostra e água destilada (1:10, m/v) foi homogeneizada e o pH medido em potenciômetro digital (HI 3221, HANNA, Romênia), previamente calibrado com soluções tampão de pH 4,0 e 7,0 (KAMIZAKE; VARÉA; PRUDENCIO, 2014).

2.4.5 Composição Química

Os teores de proteínas, lipídeos, cinzas e umidade foram determinados segundo a AOAC (2012). O nitrogênio foi determinado por Kjeldahl e o fator de conversão de 6,25 empregado para calcular as proteínas. As fibras solúveis e insolúveis foram determinadas pelo método enzimático-gravimétrico 991.43 da AOAC (2012), utilizando as enzimas α -amilase, amiloglicosidase e protease da marca Sigma. Os açúcares totais foram determinados pelo método colorimétrico de fenol-sulfúrico (DUBOIS *et al.*, 1956), sendo a absorbância lida a 490 nm em espectrofotômetro (S22 UV-Visível, Biochrom Libra, Inglaterra). Os resultados foram expressos em base seca, exceto umidade, em g/100 g de amostra.

2.4.6 Capacidade de Absorção e Retenção de Água ou Óleo

Uma mistura de amostra e água destilada ou óleo de soja (1:30, m/v)

foi mantida sob agitação (250 rpm) por 30 minutos. Em seguida, o material foi centrifugado a 1000 x g por 10 minutos (Centrífuga 5804 R, Eppendorf, Alemanha). Após o descarte do sobrenadante, o sedimento úmido foi pesado. A capacidade de absorção e retenção de água ou óleo foi expressa em massa (g) de água ou óleo absorvida e retida/g de amostra (SEIBEL; BELÉIA, 2009).

2.4.7 Capacidade de Intumescimento

Em uma proveta graduada, uma mistura de amostra (250 mg) e água destilada (5 mL) foi agitada (125 rpm) por 30 min para a remoção das bolhas de ar e deixada em repouso *overnight*. O volume (mL) ocupado pela amostra foi medido e a capacidade de intumescimento expressa em mL/g de amostra (MATEOS-APARICIO; MATEOS-PEINADO; RUPÉREZ, 2010).

2.4.8 Estabilidade de Sólidos em Água

A estabilidade de sólidos em água foi determinada misturando-se amostra e água destilada (6%, m/v) em uma proveta graduada durante 1,5 minutos sobre uma chapa com agitação. A mistura foi deixada em repouso por 10 minutos e o volume do sedimento foi medido. O volume ocupado pelo sedimento correspondeu à estabilidade dos sólidos em água, que foi expressa como mL/g de amostra (CHARUNUCH; BOONYASIRIKOOL; TIENGPOOK, 2003).

2.4.9 Solubilidade das Proteínas em Água

Para a determinação de solubilidade proteica em água, uma mistura de amostra e água destilada (1:50, m/v) foi agitada em haste agitadora (TE 102, Tecnal, Brasil) a 12000 rpm por 2 minutos e, em seguida, centrifugada a 3700 x g por 25 minutos (Centrífuga 5804 R, Eppendorf, Alemanha). Proteínas foram determinadas pelo método Kjeldahl ($N \times 6,25$). A relação entre a proteína no sobrenadante e a proteína total na amostra indicou a solubilidade proteica. O resultado foi expresso em gramas de proteínas solúveis por 100 g de proteínas totais na amostra (KAMIZAKE; VARÉA; PRUDENCIO, 2014).

2.5 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E ANÁLISE ESTATÍSTICA

O experimento seguiu o delineamento inteiramente casualizado com duas repetições. As análises das amostras controle e extrusadas, para cada repetição do experimento, foram realizadas em triplicata ($n = 2 \times 3 = 6$), exceto as fibras solúveis e insolúveis que foram medidas em duplicata para cada repetição do experimento ($n = 2 \times 2 = 4$).

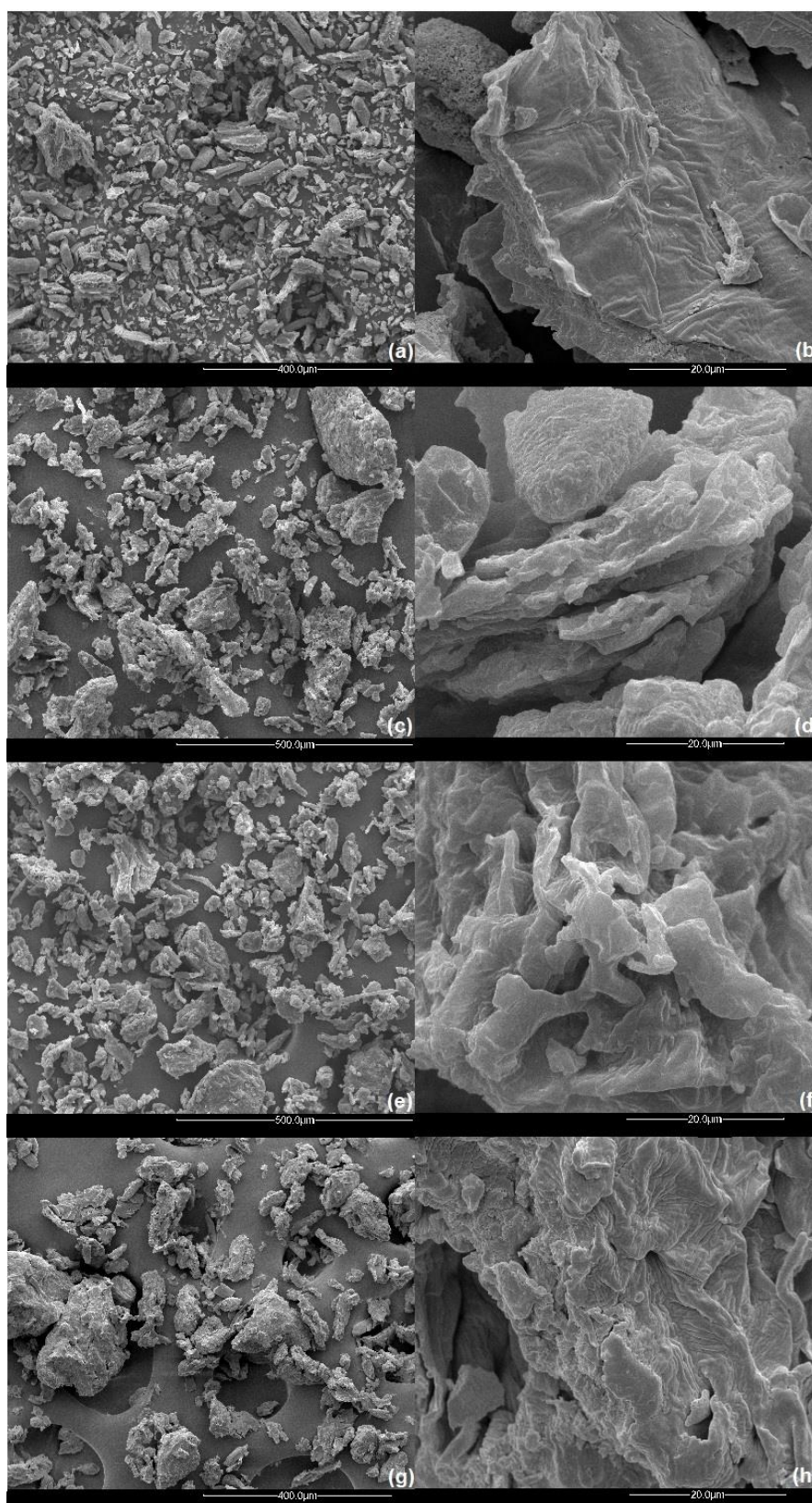
Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) de um fator e teste de comparação de médias de Tukey no nível de 5% de significância. O programa estatístico utilizado foi o Statistica 10.0 (STATSOFT, INC., 2011).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As micrografias mostram diferenças morfológicas entre os okaras controle e extrusados em todas as condições de modificação (Figura 1).

Os okaras extrusados apresentaram aspectos gerais de microestrutura semelhantes entre si, com superfície irregular e rugosa, partes estriadas, orifícios, provavelmente formados pelas bolhas de vapor, como resultado da rápida evaporação de água interna do produto na saída da extrusora devido à liberação de pressão (DAMODARAN, 2008). Além disso, notam-se algumas partículas aglomeradas, além da aparência distorcida, compacta e amorfa, que não foram tão evidentes na amostra controle. Outros pesquisadores observaram alterações estruturais similares em okara após a extrusão, como a rugosidade superficial, presença de orifícios e partículas distorcidas, como consequência da perda de cristalinidade e da quebra da cadeia polissacarídica. Estas modificações estruturais podem ter um impacto sobre as propriedades de hidratação e solubilidade em água do okara extrusado (CHEN *et al.*, 2014; LI *et al.*, 2012).

Figura 1 – Microscopia eletrônica de varredura de okaras controle (a, b), E30% (c, d), E35% (e, f) e E40% (g, h)



E30% = okara extrusado com 30% de umidade. E35% = okara extrusado com 35% de umidade. E40% = okara extrusado com 40% de umidade. Barras (a) e (g) = 400 μm ; (c) e (e) = 500 μm ; (b), (d), (f) e (h) = 20 μm .

Os parâmetros de cor foram alterados após a extrusão do okara com diferentes conteúdos de umidade, se tornando mais escuros (redução de L*), vermelhos (aumento de a*) e amarelos (aumento de b*) em relação ao controle (Tabela 1). As alterações de cor de produtos extrusados estão relacionadas, principalmente, com a reação de Maillard durante o processo (FANG; ZHANG; WEI, 2014; STEEL *et al.*, 2012).

Tabela 1 – Cor de okaras controle e extrusados com diferentes concentrações de umidade

	Okara			
	Controle (não extrusado)	E30%	E35%	E40%
L*	90,80 ± 0,67 ^a	80,96 ± 0,21 ^c	80,09 ± 0,92 ^c	83,57 ± 0,25 ^b
a*	0,22 ± 0,10 ^c	1,33 ± 0,06 ^b	1,52 ± 0,09 ^a	1,62 ± 0,07 ^a
b*	12,00 ± 0,39 ^d	14,98 ± 0,30 ^c	16,38 ± 0,72 ^b	17,38 ± 0,40 ^a
h*	88,90 ± 0,49 ^a	84,92 ± 0,17 ^b	84,70 ± 0,19 ^b	84,69 ± 0,22 ^b

E30% = okara extrusado com 30% de umidade. E35% = okara extrusado com 35% de umidade. E40% = okara extrusado com 40% de umidade. Médias de duas repetições e triplicata para cada repetição ± desvio padrão. L* = luminosidade (0 = preto; 100 = branco); a* (- a = verde; + a = vermelho); b* (- b = azul; + b = amarelo); h* = tonalidade cromática (0° = vermelho puro; 90° = amarelo puro; 180° = verde puro; 270° = azul puro). Letras iguais na mesma linha não são significativamente diferentes ($p > 0,05$).

Dentre as amostras modificadas, o okara extrusado com 40% de umidade se apresentou mais claro do que os demais, indicando que, na extrusão, o aumento de umidade da amostra inicial resulta em um produto final mais claro. Por outro lado, a utilização de menores umidades da amostra durante a extrusão pode ter favorecido a reação de Maillard (SINGH; GAMLATH; WAKELING, 2007).

Os extrusados apresentaram diferenças entre si para os parâmetros a* e b*, sendo que quanto maior o conteúdo de umidade na amostra inicial, mais vermelhos e amarelos se tornaram após a extrusão. A redução do parâmetro h* dos extrusados indicou a mudança da tonalidade amarela para vermelha, em função da extrusão (Tabela 1). Alterações de cor pela extrusão podem ser um indicador da importância da umidade na intensidade do processo, como alterações químicas e nutricionais.

A composição química do okara foi alterada com a extrusão (Tabela 2). No geral, os teores de proteínas, cinzas e açúcares totais diminuíram, enquanto os conteúdos de lipídeos e fibras solúveis aumentaram. A alteração no teor de lipídeos pode ser consequência da formação de um complexo proteína-lipídeo durante a

extrusão (HONCU *et al.*, 2016; LI *et al.*, 2012). Isto pode ter influenciado a sua quantificação por meio do método empregado neste estudo. Já a redução no conteúdo de proteínas do okara após a extrusão pode ser decorrente do balanço químico entre os componentes. Dust *et al.* (2004) também observaram redução do conteúdo de proteínas em farinhas de cevada e milho após a extrusão.

Tabela 2 – Composição química de okaras controle e extrusados com diferentes concentrações de umidade

	Okara			
	Controle (não extrusado)	E30%	E35%	E40%
Umidade	10,06 ± 0,17 ^a	6,61 ± 0,54 ^b	7,81 ± 0,73 ^b	9,64 ± 1,34 ^a
Proteínas	43,90 ± 0,25 ^a	38,02 ± 0,77 ^c	41,49 ± 0,61 ^b	40,26 ± 1,10 ^b
Lipídeos	2,72 ± 0,26 ^b	4,54 ± 1,11 ^a	3,81 ± 0,73 ^a	3,81 ± 1,06 ^a
Cinzas	3,46 ± 0,06 ^a	3,11 ± 0,11 ^b	3,44 ± 0,23 ^a	2,65 ± 0,24 ^c
Fibras solúveis	1,33 ± 0,11 ^b	2,19 ± 0,24 ^a	2,40 ± 0,23 ^a	2,18 ± 0,26 ^a
Fibras insolúveis	50,27 ± 0,99 ^a	50,01 ± 1,07 ^a	48,15 ± 1,12 ^a	49,62 ± 0,88 ^a
Açúcares totais	6,97 ± 0,51 ^a	5,21 ± 0,49 ^b	6,09 ± 0,43 ^{ab}	6,66 ± 0,59 ^a

E30% = okara extrusado com 30% de umidade. E35% = okara extrusado com 35% de umidade. E40% = okara extrusado com 40% de umidade. Médias de duas repetições e triplicata para cada repetição, exceto fibras solúveis e insolúveis, médias de duas repetições e duplicata para cada repetição ± desvio padrão. Resultados expressos em g/100 g de amostra em base seca, exceto umidade. Letras iguais na mesma linha não são significativamente diferentes ($p > 0,05$).

Em relação às fibras alimentares, as amostras extrusadas apresentaram maior conteúdo de fibras solúveis do que o controle (Tabela 2), sendo o incremento médio de 70%. Este comportamento foi relatado por diversos pesquisadores e foi justificado pela conversão das fibras insolúveis para solúveis, como resultado da quebra das ligações covalentes e não covalentes dos polissacarídeos e entre carboidratos e proteínas associados às fibras, liberando fragmentos menores e mais solúveis durante a extrusão (CHEN *et al.*, 2014; DUST *et al.*, 2004; GAJULA *et al.*, 2008; HONCU *et al.*, 2016; LI *et al.*, 2012; SPOTTI; CAMPANELLA, 2017). No entanto, nota-se que o conteúdo de fibras insolúveis não diminuiu em nenhuma condição de extrusão (Tabela 2). Observa-se também que quando okara foi extrusado com 30% de umidade, o conteúdo de açúcares totais reduziu em relação ao controle. A extrusão pode modificar os carboidratos em novos compostos que podem ser tão insolúveis e resistentes à digestão enzimática, como os produtos da reação de Maillard, que podem ser quantificados como compostos insolúveis (LI *et al.*, 2012). Provavelmente, este foi o motivo pelo qual os teores de

fibras insolúveis não diminuíram e os açúcares reduziram na amostra extrusada com 30% de umidade.

Dentre os extrusados, as diferenças na umidade da amostra inicial resultaram em okaras com diferentes composições químicas (Tabela 2). Porém, nota-se que, no geral, a maior diferença é encontrada entre os okaras extrusados com 30% de umidade *versus* 35 e 40% de umidade, enquanto estes dois últimos mostraram composições semelhantes entre si, com exceção do teor de cinzas.

O pH da amostra extrusada com 30% de umidade apresentou-se ligeiramente maior do que as demais, o que pode estar relacionado com a maior decomposição de aminoácidos e liberação de amônia em alimentos extrusados com menores conteúdos de umidade (STANLEY, 1989; STEEL *et al.*, 2012), mas todas mantiveram-se próximas da neutralidade (Tabela 3).

A densidade aparente aumentou após a extrusão do okara, sendo que as amostras com maiores conteúdos de umidade inicial (35 e 40%) apresentaram maiores densidades após a extrusão (Tabela 3). Resultados semelhantes foram encontrados por Ghumman *et al.* (2016) e Seth, Badwaik e Ganapathy (2015), cujo aumento de umidade da amostra, durante a extrusão, resultou em extrusados mais compactos e densos. Segundo Damodaran (2008), quando o produto sai da extrusora, a liberação de pressão faz com que a água evapore instantaneamente, ocasionando a formação de bolhas de vapor e consequente expansão do produto. No entanto, no processo de extrusão, o emprego de umidades elevadas na amostra inicial resulta em baixa expansão dos produtos. Isto ocorre porque a água atua como plasticizante, reduzindo a viscosidade e a dissipação de energia mecânica dentro do extrusor e, assim o produto se torna mais denso e o crescimento de bolhas de vapor é reprimido, diminuindo a expansão do produto. Ainda segundo Seth, Badwaik e Ganapathy (2015), elevados teores de fibras e proteínas da matéria-prima podem ocasionar interações entre estes componentes, formando um complexo que impede a expansão do extrusado na saída da matriz, sendo que ingredientes com elevado teor de fibras alimentares resultam em baixa expansão de extrusados.

A capacidade de absorção e retenção de água aumentou 40, 45 e 41% após o okara ser extrusado com 30, 35 e 40% de umidade, respectivamente (Tabela 3). Este aumento pode ter ocorrido devido às alterações estruturais no okara, provocadas pela extrusão, como a rugosidade superficial e os poros, observados nas micrografias (Figura 1), que facilitaram a penetração de água na matriz. Além

disso, o maior conteúdo de fibras solúveis dos okaras extrusados (Tabela 2) pode ter contribuído para o aumento desta propriedade. Um incremento similar (42%) foi observado por Chen *et al.* (2014) em okara extrusado.

Tabela 3 – pH e propriedades tecnofuncionais de okaras controle e extrusados com diferentes concentrações de umidade

	Amostras			
	Controle (não extrusado)	E30%	E35%	E40%
pH	7,14 ± 0,04 ^b	7,33 ± 0,13 ^a	7,21 ± 0,02 ^b	7,17 ± 0,06 ^b
Densidade aparente	0,52 ± 0,01 ^c	0,64 ± 0,01 ^b	0,67 ± 0,00 ^a	0,67 ± 0,02 ^a
Capacidade de absorção e retenção de água	7,66 ± 0,18 ^b	10,73 ± 0,63 ^a	11,09 ± 0,73 ^a	10,77 ± 0,36 ^a
Capacidade de intumescimento	7,32 ± 0,21 ^a	6,47 ± 0,35 ^b	7,51 ± 0,30 ^a	7,53 ± 0,41 ^a
Capacidade de absorção e retenção de óleo	3,20 ± 0,23 ^a	2,51 ± 0,26 ^b	2,89 ± 0,17 ^a	2,87 ± 0,20 ^a
Estabilidade dos sólidos em água	9,32 ± 0,02 ^a	7,92 ± 0,20 ^c	8,33 ± 0,26 ^b	8,10 ± 0,16 ^b
Solubilidade proteica em água	12,09 ± 0,95 ^a	6,10 ± 0,84 ^c	9,80 ± 0,94 ^b	9,27 ± 1,11 ^b

E30% = okara extrusado com 30% de umidade. E35% = okara extrusado com 35% de umidade. E40% = okara extrusado com 40% de umidade.

Médias de duas repetições e triplicata para cada repetição ± desvio padrão.

Densidade aparente expressa em g/mL.

Capacidade de absorção e retenção de água/óleo, expressa em g de água/óleo absorvido e retido/g de amostra.

Capacidade de intumescimento, expressa em mL/g de amostra.

Estabilidade dos sólidos em água, expressa em volume (mL) do sedimento úmido/g de amostra.

Solubilidade proteica em água expressa em g de proteína solúvel/100 g de proteínas totais.

Letras iguais na mesma linha não são significativamente diferentes ($p > 0,05$).

As capacidades de intumescimento e de absorção e retenção de óleo não sofreram alteração quando okara foi extrusado com umidade inicial de 35 e 40% (Tabela 3). Já com 30% de umidade, estas propriedades foram reduzidas. Nesta última condição, pode ter ocorrido o rompimento da estrutura da fibra, visto que o colapso da matriz fibrosa diminui o espaço intersticial e destrói as estruturas responsáveis pela interação com a água ou pelo aprisionamento de óleo. Ademais, a extrusão pode ter provocado alterações estruturais nas moléculas proteicas. Pois, durante este processo, as proteínas são desnaturadas e reestruturadas, podendo

formar agregados proteicos insolúveis e com menor área disponível para retenção de água. Desta forma, pode diminuir a exposição e disponibilidade de sítios hidrofílicos e não polares que poderiam interagir com a água e óleo (MURATE; PRUDENCIO-FERREIRA, 1999). Outros pesquisadores obtiveram incremento das propriedades de intumescimento (CHEN *et al.*, 2014; LI *et al.*, 2012) e absorção e retenção de óleo (LI *et al.*, 2012) em okara extrusado com diferentes teores de umidade, 80% (fresco, sem pré-tratamento) (CHEN *et al.*, 2014) e 35% (LI *et al.*, 2012). Li *et al.* (2012) atribuíram o aumento da capacidade de intumescimento à expansão do resíduo com o processo de extrusão.

A estabilidade dos sólidos em água do okara melhorou após a extrusão em todos os conteúdos de umidade (Tabela 3), o que pode estar relacionado com o aumento do conteúdo de fibras solúveis das amostras extrusadas (Tabela 2). O okara extrusado com 30% de umidade apresentou o melhor resultado dentre os demais, pois resultou em um menor volume de sedimento úmido. A menor densidade desta amostra (Tabela 3) pode ter contribuído para esta propriedade.

A solubilidade proteica em água do okara reduziu após a extrusão (Tabela 3), sendo que a amostra extrusada com 30% de umidade apresentou a menor solubilidade dentre as demais. As alterações estruturais nas moléculas proteicas e a formação de agregados proteicos insolúveis, resultantes da ação da alta temperatura e compressão da rosca na extrusão, além de influenciarem as propriedades de intumescimento e absorção e retenção de óleo dos extrusados, como mencionado anteriormente, também podem causar a redução ou perda da solubilidade proteica (FANG; ZHANG; WEI, 2014; PIETSCH *et al.*, 2019; PRUDÊNCIO-FERREIRA; ARÊAS, 1993; STEEL *et al.*, 2012). Neste contexto, estes efeitos foram menos evidenciados para o okara extrusado com teores de umidade mais elevados (35 e 40%), pois quanto maior a umidade da amostra, menor será a ação de cisalhamento na extrusora e, portanto, menor dano à matriz proteica.

É importante notar que os okaras extrusados com 35 e 40% de umidade resultaram em produtos com as funcionalidades tecnológicas idênticas (Tabela 3), indicando que o aumento de umidade inicial da amostra de 35 para 40% não possuiu efeito sobre estas propriedades. A extrusão da amostra com 30% de umidade resultou em uma modificação mais intensa do que as demais. No processo de extrusão, uma menor umidade inicial da amostra faz com que haja aumento do atrito e da drasticidade do processo no cilindro e, conseqüentemente, as

transformações químicas dos produtos são mais drásticas; a maior umidade da amostra confere menor ação de cisalhamento, devido ao efeito plasticizante da água, causando menor mudança à matéria-prima (GHUMMAN *et al.*, 2016; SETH; BADWAIK; GANAPATHY, 2015). Por isso, a amostra extrusada com 30% de umidade apresentou alterações mais intensas, conforme indicadas pelas propriedades estudadas. Porém, para algumas propriedades a intensidade destas alterações foi prejudicial.

Deve-se considerar que as amostras extrusadas passaram por um processo de moagem, uma vez que o material era muito rígido. Isto pode ter contribuído para as alterações observadas nas propriedades estudadas.

4 CONCLUSÕES

A extrusão altera a microestrutura, a composição química, a cor e as propriedades tecnofuncionais do okara. Os extrusados, nas três umidades iniciais estudadas, podem ser novas opções de ingredientes com maior conteúdo de fibras solúveis e maior capacidade de absorção e retenção de água. O tratamento realizado com 35 e 40% de umidade da amostra resulta em okaras com propriedades similares, porém, o uso de 35% de umidade reduziria a quantidade necessária de um ingrediente (água) para o processamento. A extrusão com 30% de umidade da amostra provoca uma modificação mais drástica, resultando, inclusive, na redução da capacidade de intumescimento e capacidade de absorção e retenção de óleo. Portanto, pode-se inferir que o tratamento com 35% de umidade da amostra é o mais adequado para a modificação do okara. Nesta condição, ocorre um aumento do conteúdo de fibras solúveis, da capacidade de absorção e retenção de água e da estabilidade dos sólidos em água, a manutenção da capacidade de intumescimento e de absorção e retenção de óleo e a redução da solubilidade proteica em água do okara, após a extrusão. Este tratamento poderia ser uma alternativa para o aproveitamento e agregação de valor do okara.

REFERÊNCIAS

- AOAC INTERNATIONAL. **Official Methods of Analysis of AOAC International**. 19. ed. Gaithersburg, MD: AOAC International, 2012.
- CHARUNUCH, C.; BOONYASIRIKOOL, P.; TIENGPOOK, C. Using extrusion process for preparation of instant cereal beverage based on corn and soybean. **Kasetsart Journal (Natural Science)**, v. 37, p. 72-83, 2003.
- CHEN, L.; CHEN, J.; YU, L.; WU, K.; ZHAO, M. Emulsification performance and interfacial properties of enzymically hydrolyzed peanut protein isolate pretreated by extrusion cooking. **Food Hydrocolloids**, v. 77, p. 607-616, abr. 2018.
- CHEN, Y.; YE, R.; YIN, L.; ZHANG, N. Novel blasting extrusion processing improved the physicochemical properties of soluble dietary fiber from soybean residue and *in vivo* evaluation. **Journal of Food Engineering**, v. 120, p. 1-8, jan. 2014.
- DAMODARAN, S. Amino acids, peptides, and proteins. *In*: DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. **Fennema's Food Chemistry**. 4. ed. Boca Raton: CRC PRESS, 2008. p. 217-330.
- DUBOIS, M.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A.; SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry**, v. 28, n. 3, p. 350-356, mar. 1956.
- DUST, J. M.; GAJDA, A. M.; FLICKINGER, E. A.; BURKHALTER, T. M.; MERCHEN, N. R.; FAHEY, G. Extrusion conditions affect chemical composition and *in vitro* digestion of select food ingredients. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, p. 2989-2996, abr. 2004.
- FANG, J. M.; SUN, R. C.; SALISBURY, D.; FOWLER, P.; TOMKINSON, J. Comparative study of hemicelluloses from wheat straw by alkali and hydrogen peroxide extractions. **Polymer Degradation and Stability**, v. 66, n. 3, p. 423-432, dez. 1999.
- GAJULA, H.; ALAVI, S.; ADHIKARI, K.; HERALD, T. Precooked bran-enriched wheat flour using extrusion: dietary fiber profile and sensory characteristics. **Journal of Food Science**, v. 73, n. 4, p. 173-179, maio 2008.
- GALDEANO, M. C.; GROSSMANN, M. V. E. Effect of treatment with alkaline hydrogen peroxide associated with extrusion on color and hydration properties of oat hulls. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 48, n. 1, p. 63-72, jan. 2005.
- GHUMMAN, A.; KAUR, A.; SINGH, N.; SINGH, B. Effect of feed moisture and extrusion temperature on protein digestibility and extrusion behavior of lentil and horsegram. **LWT - Food Science and Technology**, v. 70, p. 349-357, jul. 2016.
- HONCU, I.; SLUKOVÁ, M.; VACULOVÁ, K.; SEDLÁCKOVÁ, I.; WIEGE, B.; FEHLING, E. The effects of extrusion on the content and properties of dietary fibre

components in various barley cultivars. **Journal of Cereal Science**, v. 68, p. 132-139, mar. 2016.

HUANG, Y.; MA, Y. The effect of extrusion processing on the physiochemical properties of extruded orange pomace. **Food Chemistry**, v. 192, p. 363-369, fev. 2016.

KAMIZAKE, N. K. K.; VARÉA, G. S.; PRUDENCIO, S. H. Physicochemical properties of aged soybean components. **Journal of Food, Agriculture & Environment**, v. 12, n. 2, p. 263-268, abr. 2014.

LI, H.; LONG, D.; PENG, J.; MING, J.; ZHAO, G. A novel in-situ enhanced blasting extrusion technique - Extrudate analysis and optimization of processing conditions with okara. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 16, p. 80-88, out. 2012.

LI, S.; ZHU, D.; LI, K.; YANG, Y.; LEI, Z.; ZHANG, Z. Soybean curd residue: composition, utilization and related limiting factors. **ISRN Industrial Engineering**, v. 2013, p. 1-8. set. 2013.

MATEOS-APARICIO, I.; MATEOS-PEINADO, C.; RUPÉREZ, P. High hydrostatic pressure improves the functionality of dietary fibre in okara by-product from soybean. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 11, n. 3, p. 445-450, jul. 2010.

MURATE, E. H.; PRUDENCIO-FERREIRA, S. H. Propriedades funcionais de concentrado protéico extrusado de sementes de girassol. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 42, n. 2, 1999.

OGUNWOLU, S. O.; HENSHAW, F. O.; MOCK, H.; SANTROS, A.; AWONORIN, S. O. Functional properties of protein concentrates and isolates produced from cashew (*Anacardium occidentale* L.) nut. **Food Chemistry**, v. 115, n. 3, p. 852-858, ago. 2009.

PIETSCH, V. L.; BÜHLER, J. M.; KARBSTEIN, H. P.; EMIN, M. A. High moisture extrusion of soy protein concentrate: Influence of thermomechanical treatment on protein-protein interactions and rheological properties. **Journal of Food Engineering**, v. 251, p. 11-18, jun. 2019.

PRUDÊNCIO-FERREIRA, S. H.; ARÊAS, J. A. G. Protein-protein interactions in the extrusion of soya at various temperatures and moisture contents. **Journal of Food Science**, v. 58, n. 2, p. 378-381, mar. 1993.

SEIBEL, N. F.; BELÉIA, A. D. P. Características químicas e funcionalidade tecnológica de ingredientes de soja [*Glycine Max* (L.) Merrill]: carboidratos e proteínas. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 12, n. 2, p. 113-122, jul. 2009.

SETH, D.; BADWAIK, L. S.; GANAPATHY, V. Effect of feed composition, moisture content and extrusion temperature on extrudate characteristics of yam-corn-rice

based snack food. **Journal of Food Science and Technology**, v. 52, n. 3, p. 1830-1838, mar. 2015.

SINGH, S.; GAMLATH, S.; WAKELING, L. Nutritional aspects of food extrusion: a review. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 42, n. 8, p. 916-929, ago. 2007.

SPOTTI, M. J.; CAMPANELLA, O. H. Functional modifications by physical treatments of dietary fibers used in food formulations. **Current Opinion in Food Science**, v. 15, p. 70-78, out. 2017.

STATSOFT, INC. STATISTICA (data analysis software system), version 10, 2011. www.statsoft.com.

STANLEY, D. W. Protein reactions during extrusion cooking. *In*: MERCIER, C.; LINKO, P.; HARPER, J. M. **Extrusion Cooking**. Saint Paul: American Association of Cereal Chemists, 1989. p. 321-342.

STEEL, C. J.; LEORO, M. G. V.; SCHMIELE, M.; FERREIRA, R. E.; CHANG, Y. K. Thermoplastic extrusion in food processing. *In*: EL-SONBATI, A. Z. **Thermoplastic Elastomers**. Croatia: Intech Open, 2012. p. 265-290.

VONG, W. C.; LIU, S. Biovalorisation of okara (soybean residue) for food and nutrition. **Trends in Food Science & Technology**, v. 52, p. 139-147, jun. 2016.

5.4 ARTIGO CIENTÍFICO 4

Tratamento com solução de peróxido de hidrogênio alcalino ou extrusão anterior à hidrólise enzimática por mistura de carboidrases alteram as propriedades físico-químicas de okara

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi verificar o efeito da associação de métodos de modificação do okara sobre o conteúdo de fibras solúveis e propriedades funcionais. Para isto, o okara foi previamente tratado por extrusão ou solução de peróxido de hidrogênio alcalino e, em seguida, cada amostra modificada foi hidrolisada empregando-se um complexo multi-enzimático composto por uma mistura de carboidrases (celulase, hemicelulase, arabanase, beta-glucanase e xilanase). O impacto da associação dos tratamentos sobre a microestrutura, cristalinidade, cor, composição química, pH e propriedades tecnofuncionais do okara também foi estudado. A associação de extrusão e hidrólise enzimática provocou um aumento do conteúdo de fibras de baixa massa molecular e da capacidade de absorção e retenção de óleo, redução da capacidade de absorção e retenção de água e da densidade aparente e manutenção da capacidade de intumescimento, estabilidade dos sólidos em água e solubilidade proteica em água, em relação aos métodos não associados. O tratamento com a solução de peróxido de hidrogênio alcalino seguido de hidrólise enzimática ocasionou aumento de açúcares e da capacidade de intumescimento, manutenção da capacidade de absorção e retenção de água e da estabilidade dos sólidos em água e redução da capacidade de absorção e retenção de óleo e solubilidade proteica, em comparação aos métodos individuais. Ambas as associações provocaram alterações na microestrutura, cristalinidade, cor e composição química do okara. As associações de métodos para modificação do okara resultaram em alterações favoráveis para algumas propriedades tecnofuncionais, como uma forma de agregar valor a este resíduo e ampliar o seu aproveitamento.

Palavras-chave: Fibras modificadas. Resíduo fibroso. Microscopia eletrônica de varredura. Difração de raios X. Propriedades funcionais tecnológicas.

1 INTRODUÇÃO

O okara é o resíduo gerado durante a produção do extrato de soja e do tofu. Para cada quilo de soja utilizado na produção de tofu, em torno de 1,2 kg de okara fresco ou úmido são gerados. Seu uso é pouco expressivo, sendo destinado para alimentação animal ou tratado como resíduo. Em base seca, é constituído de 42 – 58% de fibras alimentares, sobretudo pelas insolúveis (40 – 51%), e de 15 – 33% de proteínas (LI *et al.*, 2019; VONG; LIU, 2016).

As fibras alimentares podem ser classificadas pela solubilidade em água, em insolúveis ou solúveis. Os dois grupos apresentam diferentes funções no organismo humano. As fibras insolúveis aceleram o trânsito intestinal e aumentam o volume do bolo fecal, contribuindo para a redução de doenças gastrointestinais. Celulose, hemiceluloses e lignina fazem parte deste grupo. Já o consumo de fibras solúveis está associado a ainda mais benefícios à saúde do que as insolúveis, retardam o esvaziamento gástrico e o ritmo de absorção de glicose e colesterol, apresentam potencial prebiótico, dentre outros. Pectinas e algumas hemiceluloses são exemplos de fibras solúveis (LI *et al.*, 2012; LI *et al.*, 2019; MATEOS-APARICIO; MATEOS-PEINADO; RUPÉREZ, 2010). Neste contexto, considerando a baixa proporção de fibras solúveis do okara (< 5% do total de fibras alimentares), a sua obtenção, por meio de tratamentos, é importante para a valorização e aproveitamento deste resíduo.

Apesar disso, do ponto de vista tecnológico, ingredientes com elevado conteúdo de fibras insolúveis, quando aplicados em formulações alimentícias, apresentam características indesejáveis no produto final, como a textura granulosa e grosseira, tornando importante a modificação desses materiais (GALDEANO; GROSSMANN, 2005; WANG *et al.*, 2019).

Tratamentos químicos, físicos e enzimáticos têm sido empregados para aumentar o conteúdo de fibras solúveis e/ou melhorar as propriedades funcionais tecnológicas de resíduos agroindustriais com elevado conteúdo de fibras, resultando em ingredientes com maiores possibilidades de aplicação (DANG; VASANTHAN, 2019; FAYAZ *et al.*, 2019; GALDEANO; GROSSMANN, 2005; HUANG; MA, 2016; ULLAH *et al.*, 2017; ULLAH *et al.*, 2018). Dentre estes tratamentos, a hidrólise enzimática, por carboidrases, utilizada para degradar os polissacarídeos da parede celular vegetal, pode tornar a estrutura do material mais porosa, melhorando as propriedades de hidratação, e liberar fragmentos mais solúveis, como resultado da conversão de fibras insolúveis para solúveis.

No entanto, a complexa estrutura e a rigidez da parede celular presente nestes resíduos, atribuídas, principalmente, à cristalinidade da celulose e da íntima associação entre a celulose, hemicelulose e lignina (AL LOMAN; JU, 2017; FUNG; YUEN; LIONG, 2010), os tornam resistentes à digestibilidade enzimática. Em vista disto, tratamentos prévios destes materiais podem ser meios promissores para facilitar o acesso das enzimas a seus substratos (DANG; VASANTHAN, 2019; YU;

YANG, 2019). Tratamentos químicos, como o uso de solução de peróxido de hidrogênio alcalino, são efetivos para a solubilização de lignina e hemiceluloses e para a redução da cristalinidade da celulose, por meio da ruptura das ligações de hidrogênio intra e intermoleculares (GALDEANO; GROSSMANN, 2005; GOULD; FREER, 1984). Métodos físicos, como a extrusão, que utiliza alta temperatura e pressão e curto tempo, podem modificar a estrutura nativa das fibras, devido à quebra de ligações covalentes e não covalentes dos polissacarídeos e entre carboidratos e proteínas associados às fibras (LI *et al.*, 2012; SPOTTI; CAMPANELLA, 2017). Ambos os métodos podem desintegrar a estrutura rígida da parede celular presente no okara, permitindo que as enzimas penetrem com maior facilidade (DANG; VASANTHAN, 2019).

Portanto, o objetivo deste estudo foi modificar o okara por meio de associações de métodos, extrusão ou solução de peróxido de hidrogênio alcalino anterior à hidrólise enzimática, por um complexo multi-enzimático composto por carboidrases, visando o aumento de fibras solúveis e das propriedades de hidratação, e estudar seus efeitos sobre as propriedades físicas, químicas e tecnofuncionais.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 MATERIAL

O okara, proveniente da produção de tofu, foi doado por uma indústria local (Londrina – PR). Para produção de tofu, a soja utilizada era da cultivar TMG 7062 IPRO. Para a hidrólise dos polissacarídeos da parede celular do okara foi utilizado o complexo multi-enzimático Viscozyme® L (Novozymes, Dinamarca), composto pelas enzimas celulase, hemicelulase, arabanase, beta-glucanase e xilanase, gentilmente concedido pela empresa Tovani Benzaquen, São Paulo – SP. As enzimas eram oriundas de *Aspergillus aculeatus* com atividade 100 unidades de Fungal Beta-Glucanase (FBG)/g. Os reagentes eram de grau analítico.

2.2 PREPARO DO OKARA

O okara foi desidratado em estufa com circulação de ar (Estufa TE - 394/2, Tecnal, Piracicaba, Brasil) a 60 °C por 12 h. Em seguida, foi moído e desengordurado com hexano (1:10, m/v), sob agitação (300 rpm) a temperatura ambiente por uma hora, filtrado a vácuo e seco a temperatura ambiente por 12 horas. O desengorduramento foi realizado duas vezes (OGUNWOLU *et al.*, 2009).

2.3 MODIFICAÇÕES DO OKARA

Em nossos estudos anteriores, o okara foi modificado por extrusão (ET) (Yoshida e Prudencio/Artigo 3), solução de peróxido de hidrogênio alcalino (PHA) (Yoshida e Prudencio/Artigo 1) ou hidrólise enzimática (HE) (Yoshida e Prudencio/Artigo 2), separadamente, e as melhores condições para cada tratamento foram estabelecidas, visando à maximização de fibras solúveis e propriedades de hidratação. No presente estudo, estes métodos foram associados, resultando em novas amostras modificadas: okara previamente extrusado e então hidrolisado enzimaticamente (ET + HE) e okara previamente tratado com a solução de peróxido de hidrogênio alcalino e então hidrolisado enzimaticamente (PHA + HE).

2.3.1 Extrusão

Inicialmente, o okara foi condicionado a 35% de umidade, adicionando-se o volume de água requerido, e mantido sob refrigeração (≈ 2 °C) por 24 horas. Em seguida, a amostra foi processada em um extrusor mono-rosca (AX Plásticos, Diadema, Brasil), com $D = 1,6$ cm e $L/D = 40$, fixando a velocidade da rosca em 115 rpm e a temperatura a 120 °C, com alimentação constante. Após a extrusão, o okara foi seco em estufa com circulação de ar (Estufa TE - 394/2, Tecnal, Piracicaba, Brasil), para a redução do conteúdo de umidade a $< 12\%$, e moído (IKA A11 Basic, São Paulo, Brasil) (Yoshida e Prudencio/Artigo 3).

2.3.2 Peróxido de Hidrogênio Alcalino

O okara foi tratado com solução de peróxido de hidrogênio alcalino conforme Gould (1984) e Galdeano e Grossmann (2005), com modificações. A amostra e a solução de 2% (m/v) de peróxido de hidrogênio alcalino ($\text{pH} = 11,5 \pm 0,1$) foram adicionadas em um erlenmeyer, na proporção de 1:12,5 (m/v). Em seguida, a mistura foi colocada em banho térmico (Dubnoff TE - 0538, Tecnal, Brasil) a 42 °C sob agitação a 120 rpm por cinco horas. Após o tratamento, a mistura foi neutralizada com solução de HCl 5 M, congelada, liofilizada e triturada (Yoshida e Prudencio/Artigo 1).

2.3.3 Hidrólise Enzimática

O okara controle (não modificado) e os pré-modificados (ET ou PHA) foram hidrolisados pelo complexo multi-enzimático. Para isto, amostra e água destilada (pH ajustado para $5,5 \pm 0,1$) foram adicionadas em um erlenmeyer, na proporção 1:10 (m/v), o qual foi mantido em banho-maria sob agitação a 46 °C (Dubnoff TE - 0538, Tecnal, Piracicaba, Brasil). Em seguida, o complexo multi-enzimático foi adicionado na concentração de 0,8% (m/m), mantendo-se a agitação por três horas. Para a interrupção da hidrólise, a mistura foi submetida a 90 °C/10 min. As amostras foram congeladas, liofilizadas (Christ Alpha 2-4 LD Plus, Osterode am Harz, Alemanha), trituradas e mantidas em refrigerador (≈ 2 °C) até a realização das análises.

2.4 PROCEDIMENTOS ANALÍTICOS

2.4.1 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As amostras foram acondicionadas em dessecador com cloreto de cálcio por 10 dias, para retirar a umidade, fixadas sobre a superfície de um stub e recobertas com uma camada de ouro (grau de pureza de 99,6%; Sputter Coater SCD 050, BAL-TEC, Alemanha). A microestrutura das amostras foi visualizada por meio do microscópio eletrônico de varredura (Quanta 200, FEI, Estados Unidos).

2.4.2 Difração de Raios X

Para avaliar a cristalinidade da celulose, foram empregadas as medidas de Difração de Raios X (DRX). As medidas foram realizadas no Laboratório de Difração de Raios X do LARX (Laboratório Multiusuário da Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação) da Universidade Estadual de Londrina (UEL), em um difratômetro da marca PANalytical modelo X'Pert PRO MPD, com radiação $\text{CuK}\alpha$, na técnica conhecida como θ - 2θ . A tensão e a corrente usadas foram, respectivamente, 40 KV e 30 mA. O intervalo de varredura 2θ utilizado foi de 2 a 60° com passo angular de $0,04^\circ$. O tempo de contagem por ponto foi de 6,0 s. Para poder desprezar possíveis orientações preferenciais no processo de preparação das amostras e homogeneizar a medida na superfície das amostras, estas foram giradas ciclicamente durante o processo de medida com um período de 1 segundo.

2.4.3 Medidas de Cor

O colorímetro CR400 (Konica Minolta, Osaka, Japão) foi utilizado para a avaliação de cor das amostras. Empregaram-se iluminante padrão D65 e geometria 45/0. A cor foi expressa em L^* (luminosidade), onde 0 = preto e 100 = branco, a^* (componente vermelho - verde), b^* (componente amarelo - azul) e h^* (tonalidade cromática), onde 0° = vermelho puro, 90° = amarelo puro, 180° = verde puro e 270° = azul puro.

2.4.4 Densidade Aparente

A densidade aparente foi determinada acomodando-se 10 g de amostra em uma proveta graduada, calculada pela razão da massa e volume da amostra e expressa em g/mL (SEIBEL; BELÉIA, 2009).

2.4.5 Medidas de pH

O pH foi determinado em potenciômetro digital (HI 3221, HANNA, Romênia), previamente calibrado com soluções tampão de pH 4,0 e 7,0 (KAMIZAKE; VARÉA; PRUDENCIO, 2014).

2.4.6 Composição Química

Os conteúdos de proteínas, lipídeos, cinzas e umidade foram determinados conforme descrito pela AOAC (2012). O nitrogênio foi determinado por Kjeldahl (N x 6,25). As fibras solúveis e insolúveis foram determinadas pelo método enzimático-gravimétrico 991.43 da AOAC (2012), utilizando as enzimas α -amilase, amiloglicosidase e protease (Sigma). Os açúcares totais foram determinados pelo método colorimétrico de fenol-sulfúrico (DUBOIS *et al.*, 1956), por espectrofotometria (S22 UV-Visível, Biochrom Libra, Inglaterra), a um comprimento de onda de 490 nm. Os resultados foram expressos em g/100 g de amostra (em base seca, exceto umidade).

2.4.7 Capacidade de Absorção e Retenção de Água ou Óleo

Amostra e água destilada ou óleo de soja (1:30, m/v) foram mantidos sob agitação (250 rpm) por 30 minutos e, em seguida, centrifugados a 1000 x g por 10 minutos (Centrífuga 5804 R, Eppendorf, Alemanha). O sobrenadante foi descartado e o sedimento úmido registrado. A capacidade de absorção e retenção de água ou óleo foi expressa em massa (g) de água ou óleo absorvida e retida/g de amostra (SEIBEL; BELÉIA, 2009).

2.4.8 Capacidade de Intumescimento

Em uma proveta, a amostra (250 mg) foi misturada com água destilada (5 mL), agitada a 125 rpm por 30 min e deixada em repouso *overnight*. Em seguida, o volume (mL) ocupado pela amostra foi registrado e a capacidade de intumescimento expressa em mL/g de amostra (MATEOS-APARICIO; MATEOS-PEINADO; RUPÉREZ, 2010).

2.4.9 Estabilidade de Sólidos em Água

Em uma proveta graduada, amostra e água destilada (6%, m/v) foram misturadas por 1,5 minutos sobre uma chapa com agitação. Em seguida, foi deixada em repouso por 10 minutos e o volume do sedimento foi medido. A estabilidade dos

sólidos em água foi expressa pelo volume (mL) ocupado pelo sedimento/g de amostra (CHARUNUCH; BOONYASIRIKOOL; TIENGPOOK, 2003).

2.4.10 Solubilidade das Proteínas em Água

Uma mistura de amostra e água destilada (1:50, m/v) foi agitada (TE 102, Tecnal, Brasil) a 12000 rpm por 2 minutos e centrifugada a 3700 x g por 25 minutos (Centrífuga 5804 R, Eppendorf, Alemanha). As proteínas solúveis no sobrenadante foram determinadas por Kjeldahl ($N \times 6,25$). O resultado foi expresso em gramas de proteínas solúveis por 100 g de proteínas totais na amostra (KAMIZAKE; VARÉA; PRUDENCIO, 2014).

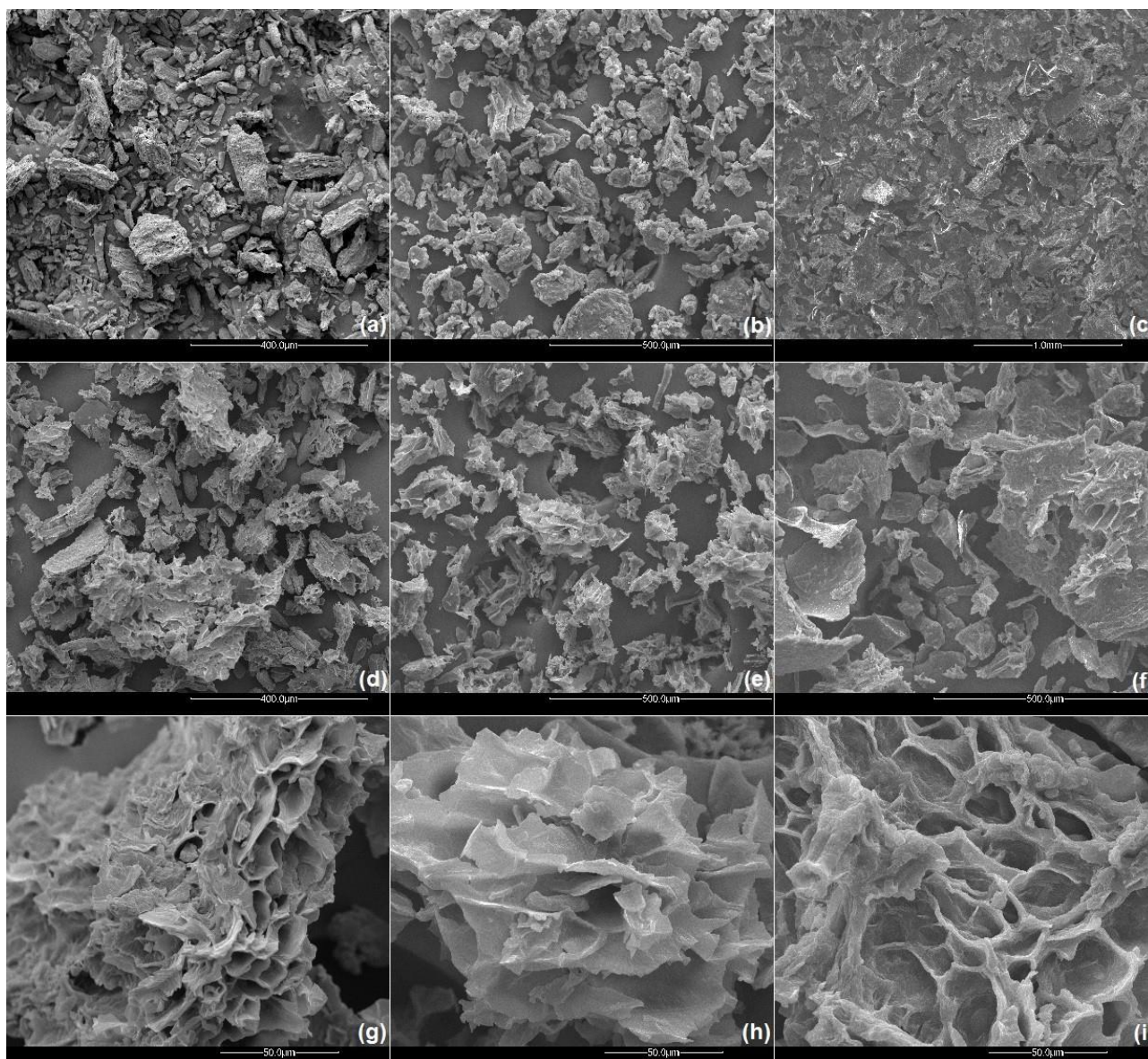
2.5 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E ANÁLISE ESTATÍSTICA

O experimento seguiu o delineamento inteiramente casualizado repetido duas vezes, cujos tratamentos foram: controle, ET, PHA, HE, ET + HE e PHA + HE. As avaliações, em cada repetição, foram realizadas em triplicata ($n = 2 \times 3 = 6$), exceto para as fibras insolúveis e solúveis, em duplicata ($n = 2 \times 2 = 4$). Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e teste de comparação de médias de Tukey. O nível de significância foi de 5%. O programa estatístico utilizado foi o Statistica 10.0 (STATSOFT, INC., 2011). Os dados das amostras controle, ET, PHA e HE são oriundos de nossos estudos anteriores (Yoshida e Prudencio/Artigos 1, 2 e 3).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A microscopia eletrônica de varredura mostrou que os okaras apresentaram diferenças microestruturais entre os tratamentos (Figura 1).

Figura 1 – Microscopia eletrônica de varredura de okaras controle e modificados por diferentes métodos



a = controle (400 μm); b = ET (500 μm); c = PHA (1 mm); d = HE (400 μm); e = ET + HE (500 μm); f = PHA + HE (500 μm); g = HE (50 μm); h = ET + HE (50 μm); i = PHA + HE (50 μm). ET = okara modificado por extrusão. PHA = okara modificado com solução de peróxido de hidrogênio alcalino. HE = okara modificado por complexo multi-enzimático. ET + HE = okara modificado sequencialmente por extrusão e complexo multi-enzimático. PHA + HE = okara modificado sequencialmente com solução de peróxido de hidrogênio alcalino e complexo multi-enzimático. Micrografias (a), (b), (c), (d) e (g) são de nossos estudos anteriores (Yoshida e Prudencio/Artigos 1, 2 e 3).

A amostra ET + HE (Figura 1e e Figura 1h) mostrou as mesmas características microestruturais observadas nos okaras modificados por estes métodos separadamente (Figura 1b e Figura 1d, respectivamente), ou seja, a aparência distorcida do ET (Figura 1b), fragmentada e porosa do HE (Figura 1d) e

superfície rugosa, mas com aparência menos densa do que o ET (Figura 1b). O okara PHA + HE (Figura 1f e Figura 1i), apresentou-se mais fragmentado, poroso e menos denso do que o controle (Figura 1a). Dentre os okaras modificados por métodos associados, a rugosidade superficial do modificado previamente com a solução de peróxido de hidrogênio alcalino foi mais acentuada (Figura 1h *versus* Figura 1i).

As alterações microestruturais observadas em todos okaras modificados foram consistentes com resultados encontrados em outras pesquisas com okara e outros resíduos tratados por diferentes métodos (DANG; VASANTHAN, 2019; FIGUEIREDO *et al.*, 2018; NIU *et al.*, 2018; YU; YANG, 2019) e são importantes para as propriedades de hidratação, pois as novas estruturas podem facilitar a entrada de água (GALDEANO; GROSSMANN, 2005; ULLAH *et al.*, 2018).

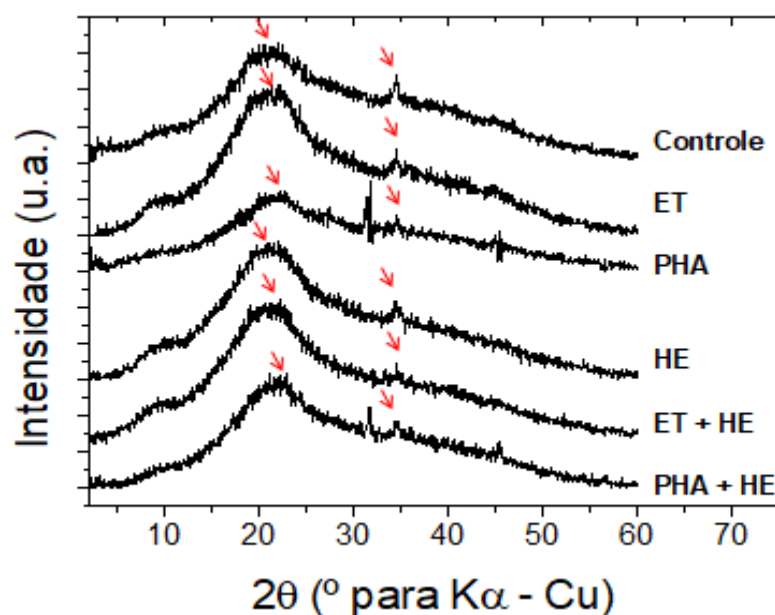
Os difratogramas de raios X dos okaras estão apresentados na Figura 2. Todas as amostras apresentaram um pico proeminente entorno de 21° e outro menor entorno de 35° (2θ - CuK α). Estes perfis são similares aos observados por Ullah *et al.* (2017), em fibras insolúveis de okara, Yang *et al.* (2019), em polissacarídeos insolúveis de okara, e Wang *et al.* (2019), em fibras de okara, sendo atribuídos à presença de celulose cristalina na amostra. Os picos observados entorno de $31,5^\circ$ e 45° nas amostras tratadas com a solução de peróxido de hidrogênio alcalino (PHA e PHA + HE), se referem à fase de cloreto de sódio que se formam nestas amostras devido ao processo de neutralização.

No geral, não houve diferença entre os perfis dos difratogramas dos okaras (Figura 2). Entretanto, após o tratamento do resíduo com a solução de peróxido de hidrogênio alcalino (PHA), houve redução da intensidade e aumento da largura do pico proeminente ($2\theta \approx 21^\circ$). Além disso, a intensidade do pico $2\theta \approx 35^\circ$ se apresentou menor para todas as amostras modificadas, em relação ao controle, indicando que a fase cristalina foi parcialmente afetada por estes tratamentos.

No entanto, quando a amostra PHA foi, posteriormente, modificada pela mistura de carboidrases (PHA + HE), a intensidade do pico $2\theta \approx 21^\circ$ se apresentou maior que da amostra tratada somente com o peróxido (PHA). No mesmo sentido, os okaras HE, ET e ET + HE apresentaram a intensidade deste mesmo pico maior que a do controle. Um comportamento similar foi notado por Wang *et al.* (2019), em fibras de okara isoladas de uma suspensão de soja tratada por método físico (cisalhamento de alta velocidade). Estes aumentos podem ser

explicados como sendo aumentos relativos, ocasionados, possivelmente, pela maior exposição da celulose, devido às alterações na estrutura das partículas do okara (Figura 1) em função dos tratamentos de modificação. Isto indica que a área amorfa foi preferencialmente afetada por estes tratamentos.

Figura 2 – Difratoogramas dos okaras controle e modificados por diferentes métodos



ET = okara modificado por extrusão. PHA = okara modificado com solução de peróxido de hidrogênio alcalino. HE = okara modificado por complexo multi-enzimático. ET + HE = okara modificado sequencialmente por extrusão e complexo multi-enzimático. PHA + HE = okara modificado sequencialmente com solução de peróxido de hidrogênio alcalino e complexo multi-enzimático.

Embora não existam relatos sobre o efeito do complexo multi-enzimático na cor de alimentos, os resultados mostraram que este tratamento apresentou efeito sobre a luminosidade (L^*) do okara previamente extrusado (Tabela 1). Enquanto a posterior hidrólise enzimática do okara tratado com a solução de peróxido de hidrogênio alcalino não alterou a luminosidade desta amostra (PHA *versus* PHA + HE).

Em relação ao parâmetro h^* , pequenas variações foram observadas entre as amostras e somente os parâmetros a^* e b^* sofreram alterações mais evidentes, sendo as amostras tratadas com a solução de peróxido de hidrogênio alcalino as mais amarelas.

Alterações de cor nas amostras tratadas por hidrólise enzimática e extrusão podem estar relacionadas à reação de Maillard, devido às elevadas temperaturas empregadas (MULITERNO *et al.*, 2017; STEEL *et al.*, 2012). Enquanto o peróxido de hidrogênio alcalino altera a cor de matérias-primas, provavelmente, devido à oxidação de proteínas e pigmentos (AIDER *et al.*, 2012).

Tabela 1 – Cor de okaras controle e modificados por diferentes métodos

Okara	L*	a*	b*	h*
Controle	90,80 ± 0,67 ^a	0,22 ± 0,10 ^d	12,00 ± 0,39 ^d	88,90 ± 0,49 ^a
ET	80,09 ± 0,92 ^e	1,52 ± 0,09 ^a	16,38 ± 0,72 ^c	84,70 ± 0,19 ^c
PHA	89,79 ± 1,39 ^{ab}	0,32 ± 0,79 ^{cd}	24,83 ± 3,82 ^a	89,49 ± 1,74 ^a
HE	87,01 ± 0,70 ^d	0,99 ± 0,17 ^{ab}	16,57 ± 0,58 ^c	86,58 ± 0,47 ^b
ET + HE	87,42 ± 0,48 ^{cd}	0,83 ± 0,08 ^{bc}	13,26 ± 0,42 ^d	86,47 ± 0,32 ^b
PHA + HE	88,48 ± 0,26 ^{bc}	0,48 ± 0,12 ^{bcd}	19,67 ± 0,36 ^b	88,55 ± 0,29 ^a

ET = okara modificado por extrusão. PHA = okara modificado com solução de peróxido de hidrogênio alcalino. HE = okara modificado por complexo multi-enzimático. ET + HE = okara modificado sequencialmente por extrusão e complexo multi-enzimático. PHA + HE = okara modificado sequencialmente com solução de peróxido de hidrogênio alcalino e complexo multi-enzimático. Médias de duas repetições e triplicata para cada repetição ± desvio padrão. L* = luminosidade (0 = preto; 100 = branco); a* (- a = verde; + a = vermelho); b* (- b = azul; + b = amarelo); h* = tonalidade cromática (0° = vermelho puro; 90° = amarelo puro; 180° = verde puro; 270° = azul puro). Letras iguais na mesma coluna não são significativamente diferentes ($p > 0,05$). Dados de controle, ET, PHA e HE são oriundos de nossos estudos anteriores (Yoshida e Prudencio/Artigos 1, 2 e 3).

De forma geral, os tratamentos, associados ou não, provocaram alterações na composição química do okara (Tabela 2). Em relação ao controle, os menores conteúdos de proteínas e lipídeos do okara PHA se mantiveram após a hidrólise enzimática (PHA + HE). Isto pode ter ocorrido devido à oxidação destas moléculas no primeiro tratamento a compostos não quantificados pelos métodos utilizados no presente estudo. Estas alterações também podem ser relativas, devido ao balanço químico entre os componentes (GALDEANO; GROSSMANN, 2005; LARREA *et al.*, 1997). Da mesma forma, esta pode ser a razão para o menor conteúdo de proteínas observado no extrusado após o tratamento enzimático. Os maiores conteúdos de cinzas das amostras tratadas com a solução de peróxido de hidrogênio alcalino podem decorrer da etapa de neutralização da amostra após a modificação, onde há formação de sal.

A posterior hidrólise enzimática do okara ET provocou redução do conteúdo de fibras insolúveis, com pequeno aumento de açúcares totais, mas sem alterar o conteúdo de fibras solúveis (Tabela 2). Desta forma, pressupõe-se que

houve a formação de fibras de baixa massa molecular, uma vez que estas não são quantificadas em sua totalidade pelo método empregado neste estudo (TOBARUELA *et al.*, 2018). Dang e Vasanthan (2019) obtiveram maior conteúdo da fração solúvel de fibras em farelo de arroz modificado sequencialmente por extrusão e hidrólise enzimática (xilanase), em relação ao controle e às amostras modificadas unicamente por extrusão e por ambos os métodos simultaneamente.

O tratamento com a solução de peróxido de hidrogênio alcalino aumentou sete vezes o conteúdo de fibras solúveis do okara controle e, possivelmente, houve também a formação de fibras de baixa massa molecular, não quantificadas pelo método empregado neste estudo, uma vez que a redução das fibras insolúveis não foi proporcional ao aumento de fibras solúveis (Tabela 2). A posterior hidrólise do okara PHA pelo complexo multi-enzimático provocou redução de fibras solúveis e aumento substancial de açúcares totais. As fibras solúveis e as de baixa massa molecular obtidas, primeiramente, com o tratamento pelo peróxido, podem ter sido novos substratos para ação das enzimas do complexo, resultando em fragmentos ainda menores, ou seja, moléculas de açúcares. Li *et al.* (2019) observaram um aumento gradual no conteúdo de fibras solúveis de okara tratado por explosão à vapor, conforme as condições de pressão e tempo aumentaram. No entanto, em condições mais drásticas, os polissacarídeos do okara foram excessivamente degradados a oligossacarídeos, resultando na redução do conteúdo de fibras solúveis.

O conteúdo de fibras insolúveis da amostra PHA aumentou após a hidrólise enzimática (Tabela 2). Isto pode ser resultado da formação de um complexo entre polissacarídeos e outros compostos, como proteínas e compostos fenólicos, os quais podem ser quantificados como fibras (HUANG; MA, 2016).

Alterações na composição química de diversos resíduos agroindustriais modificados com solução de peróxido de hidrogênio alcalino (GALDEANO; GROSSMANN, 2005; SORONJA-SIMOVIC *et al.*, 2016; VILELA *et al.*, 2016), hidrólise enzimática por carboidrases (VONG; LIU, 2019) e extrusão (DUST *et al.*, 2004; LI *et al.*, 2012) também foram observadas em outros estudos.

Os pH das amostras se encontraram próximo da neutralidade; somente os okaras modificados pela mistura de carboidrases apresentaram pH inferior ($\approx 5,6$), em relação às demais amostras (Tabela 3), e correspondem à condição empregada para a hidrólise enzimática ($\text{pH ajustado } 5,5 \pm 0,1$).

As amostras tratadas por hidrólise enzimática e peróxido de hidrogênio, associados ou não, apresentaram os menores valores de densidade aparente (Tabela 3). A posterior hidrólise enzimática do okara extrusado resultou na redução de 2,6 vezes desta propriedade. Estas reduções podem estar relacionadas com as alterações estruturais, observadas na Figura 1, onde é possível notar maior porosidade e menor densidade para as amostras que sofreram hidrólise enzimática e tratamento com o peróxido, associado ou não com outro método.

A capacidade de absorção e retenção de água do okara ET, 45% maior que do controle, diminuiu após ser tratado pela mistura de enzimas, mantendo-se igual à amostra unicamente hidrolisada pelas enzimas (Tabela 3). Inicialmente, o aumento desta propriedade pode ter ocorrido devido às novas características estruturais do okara ET (Figura 1b), como a rugosidade superficial e a presença de poros que podem ter facilitado a entrada de água na matriz. Enquanto o tratamento enzimático posterior (Figura 1e e Figura 1h) do okara extrusado pode ter provocado a destruição desta estrutura em fragmentos menores que perderam a capacidade de reter água. Rosa-Sibakov *et al.* (2015) também observaram que a associação de moagem úmida, microfluidização e hidrólise enzimática (xilanasase) diminuiu a capacidade de absorção de água de farelo de trigo.

A capacidade de intumescimento do okara ET + HE se manteve igual a das amostras tratadas por estes métodos separadamente. Entretanto, suas associações resultaram na maior capacidade de absorção e retenção de óleo pelo okara, sendo 2,3 vezes maior que do extrusado. A maior porosidade (Figura 1e e Figura 1h) e a menor densidade (Tabela 3) desta amostra podem ter facilitado o aprisionamento físico do óleo pela matriz.

A capacidade de absorção e retenção de água do okara PHA aumentou após ser hidrolisado enzimaticamente (PHA + HE), mas, também, se manteve igual ao apenas hidrolisado (HE). Entretanto, a capacidade de intumescimento aumentou com a associação destes dois métodos (PHA + HE). Alterações estruturais dos componentes do okara podem ter resultado na exposição de grupos hidrofílicos, favorecendo a interação com a água e, conseqüentemente, aumentando a hidratação (ULLAH *et al.*, 2017). A associação destes métodos levou à redução da capacidade de absorção e retenção de óleo. Provavelmente, nesta condição, ocorreram modificações excessivas que levaram à destruição da estrutura responsável pelo aprisionamento de óleo na estrutura.

Tabela 2 – Composição química de okaras controle e modificados por diferentes métodos

Okara	Umidade	Proteínas	Lipídeos	Cinzas	Fibras solúveis	Fibras insolúveis	Açúcares totais
Controle	10,06 ± 0,17 ^a	43,90 ± 0,25 ^a	2,72 ± 0,26 ^b	3,46 ± 0,06 ^b	1,33 ± 0,11 ^d	50,27 ± 0,99 ^a	6,97 ± 0,51 ^d
ET	7,81 ± 0,73 ^b	41,49 ± 0,61 ^b	3,81 ± 0,73 ^a	3,44 ± 0,23 ^b	2,40 ± 0,23 ^{cd}	48,15 ± 1,12 ^{ab}	6,09 ± 0,43 ^d
PHA	7,76 ± 0,55 ^b	37,60 ± 0,88 ^d	1,33 ± 0,14 ^c	6,03 ± 0,31 ^a	9,32 ± 0,99 ^a	26,09 ± 0,52 ^e	7,68 ± 0,44 ^{cd}
HE	5,76 ± 0,50 ^c	42,97 ± 0,58 ^a	2,26 ± 0,22 ^{bc}	3,14 ± 0,20 ^b	2,73 ± 0,58 ^c	45,41 ± 1,71 ^b	9,59 ± 0,91 ^b
ET + HE	5,27 ± 0,61 ^c	38,83 ± 0,42 ^c	2,94 ± 0,77 ^{ab}	3,87 ± 0,15 ^b	2,87 ± 0,14 ^c	39,18 ± 2,70 ^c	8,84 ± 1,22 ^{bc}
PHA + HE	7,08 ± 0,20 ^b	38,02 ± 0,37 ^{cd}	1,95 ± 0,41 ^{bc}	6,31 ± 1,36 ^a	5,88 ± 0,38 ^b	30,00 ± 0,59 ^d	23,66 ± 1,75 ^a

ET = okara modificado por extrusão. PHA = okara modificado com solução de peróxido de hidrogênio alcalino. HE = okara modificado por complexo multi-enzimático. ET + HE = okara modificado sequencialmente por extrusão e complexo multi-enzimático. PHA + HE = okara modificado sequencialmente com solução de peróxido de hidrogênio alcalino e complexo multi-enzimático.

Médias de duas repetições e triplicata para cada repetição, exceto fibras solúveis e insolúveis, médias de duas repetições e duplicata para cada repetição ± desvio padrão.

Resultados expressos em g/100 g de amostra em base seca, exceto umidade.

Letras iguais na mesma coluna não são significativamente diferentes ($p > 0,05$).

Dados de controle, ET, PHA e HE são oriundos de nossos estudos anteriores (Yoshida e Prudencio/Artigos 1, 2 e 3).

Tabela 3 – pH e propriedades tecnofuncionais de okaras controle e modificados por diferentes métodos

Okara	pH	Densidade aparente	Capacidade de absorção e retenção de água	Capacidade de intumescimento	Capacidade de absorção e retenção de óleo	Estabilidade dos sólidos em água	Solubilidade proteica em água
Controle	7,14 ± 0,04 ^b	0,52 ± 0,01 ^b	7,66 ± 0,18 ^c	7,32 ± 0,21 ^d	3,20 ± 0,23 ^d	9,32 ± 0,02 ^b	12,09 ± 0,95 ^c
ET	7,21 ± 0,02 ^b	0,67 ± 0,00 ^a	11,09 ± 0,73 ^a	7,51 ± 0,30 ^d	2,89 ± 0,17 ^d	8,33 ± 0,26 ^c	9,80 ± 0,94 ^c
PHA	7,73 ± 0,11 ^a	0,22 ± 0,01 ^f	9,65 ± 0,81 ^b	9,23 ± 0,15 ^b	5,63 ± 0,30 ^b	11,58 ± 0,59 ^a	85,71 ± 4,17 ^a
HE	5,60 ± 0,02 ^c	0,30 ± 0,01 ^d	10,30 ± 0,42 ^{ab}	8,29 ± 0,59 ^c	5,54 ± 0,56 ^b	9,44 ± 0,62 ^b	11,31 ± 1,81 ^c
ET + HE	5,64 ± 0,09 ^c	0,26 ± 0,02 ^e	9,41 ± 0,26 ^b	7,70 ± 0,31 ^{cd}	6,62 ± 0,91 ^a	9,88 ± 0,42 ^b	9,79 ± 0,65 ^c
PHA + HE	5,64 ± 0,08 ^c	0,32 ± 0,00 ^c	10,95 ± 0,39 ^a	10,02 ± 0,47 ^a	4,11 ± 0,14 ^c	11,13 ± 0,50 ^a	34,04 ± 2,17 ^b

ET = okara modificado por extrusão. PHA = okara modificado com solução de peróxido de hidrogênio alcalino. HE = okara modificado por complexo multi-enzimático. ET + HE = okara modificado sequencialmente por extrusão e complexo multi-enzimático. PHA + HE = okara modificado sequencialmente com solução de peróxido de hidrogênio alcalino e complexo multi-enzimático.

Médias de duas repetições e triplicata para cada repetição ± desvio padrão.

Densidade aparente expressa em g/mL.

Capacidade de absorção e retenção de água/óleo, expressa em g de água/óleo absorvido e retido/g de amostra.

Capacidade de intumescimento, expressa em mL/g de amostra.

Estabilidade dos sólidos em água, expressa em volume (mL) do sedimento úmido/g de amostra.

Solubilidade proteica em água expressa em g de proteína solúvel/100 g de proteínas totais.

Letras iguais na mesma coluna não são significativamente diferentes ($p > 0,05$).

Dados de controle, ET, PHA e HE são oriundos de nossos estudos anteriores (Yoshida e Prudencio/Artigos 1, 2 e 3).

A estabilidade dos sólidos em água do okara sofreu poucas alterações com os tratamentos (Tabela 3). Nota-se que os okaras PHA e PHA + HE obtiveram maior volume de sólido sedimentado em relação aos demais. Porém, ao observar todas as amostras, notou-se que a cor dos sobrenadantes dos modificados pelo peróxido apresentou-se mais turva, e das demais amostras, mais límpida. Sendo assim, o maior volume de sólido sedimentado pode estar associado ao aumento das propriedades de hidratação, bem como ao maior conteúdo de proteínas solúveis (Tabela 3). Ressalta-se que dentre amostras modificadas pelo peróxido, o sobrenadante daquela apenas tratada pelo reagente químico apresentou-se mais turvo do que da posteriormente hidrolisada pela mistura de enzimas.

A baixa solubilidade das proteínas do okara controle foi mantida após extrusão e hidrólise enzimática, associados ou não (Tabela 3). O tratamento com a solução de peróxido de hidrogênio alcalino aumentou acentuadamente a solubilidade das proteínas do okara e quando a hidrólise enzimática foi empregada posteriormente, esta propriedade diminuiu, mas se manteve superior a dos demais tratamentos e ao controle. Primeiramente, o aumento desta propriedade com o tratamento químico pode estar associado a diversos fatores. A desestruturação da parede celular presente no okara com o tratamento pode ter facilitado o acesso de solvente às proteínas. O pH elevado do meio pode ter favorecido o desdobramento das moléculas de proteínas. Além do efeito “*salting in*”, devido à presença de sal no meio, formado na etapa de neutralização (DAMODARAN, 2008). Todos esses fatores podem ter contribuído para a elevação da solubilidade das proteínas dos okaras modificados. O posterior tratamento do okara PHA com as enzimas pode ter reduzido esta propriedade devido ao tratamento térmico realizado para a interrupção da hidrólise enzimática, que pode ter ocasionado a desnaturação.

4 CONCLUSÕES

Os tratamentos prévios, extrusão ou peróxido de hidrogênio alcalino, resultam em um okara com novos substratos para ação da mistura de carboidrases, liberando, principalmente, fibras de baixa massa molecular e açúcares simples, respectivamente, sem aumentar o conteúdo de fibras solúveis quantificáveis pelo método empregado neste estudo. Em relação às propriedades de hidratação, realmente o tratamento sequencial com solução de peróxido de hidrogênio alcalino e

hidrólise enzimática aumenta a capacidade de intumescimento, porém a capacidade de absorção e retenção de água se mantém. Já com a extrusão e posterior uso de enzimas não foi possível aumentar a capacidade de absorção e retenção de água e de intumescimento do okara.

Alterações gerais na cor, microestrutura, cristalinidade e composição química do okara podem ser observadas com as associações de métodos de modificação. A posterior hidrólise enzimática do okara extrusado provoca aumento da capacidade de absorção e retenção de óleo, redução da densidade aparente e mantém a estabilidade dos sólidos em água e a solubilidade proteica em água. Enquanto o tratamento sequencial com a solução de peróxido de hidrogênio alcalino e hidrólise enzimática reduz a capacidade de absorção e retenção de óleo e a solubilidade proteica em água e mantém a estabilidade dos sólidos em água.

Portanto, as associações de métodos para modificação do okara ocasionaram alterações favoráveis para algumas propriedades tecnofuncionais. Neste sentido, pode ser uma alternativa para agregar valor a este resíduo e ampliar o seu aproveitamento.

REFERÊNCIAS

- AIDER, M.; MARTEL, A.; FERRACCI, J.; HALLEUX, D. Purification of whole brown flaxseed meal from coloring pigments by treatment in hydrogen peroxide solutions: impact on meal color. **Food and Bioprocess Technology**, v. 5, n. 8, p. 3051-3065, nov. 2012.
- AL LOMAN, A.; JU, L. Enzyme-based processing of soybean carbohydrate: Recent developments and future prospects. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 106, p. 35-47. Nov. 2017.
- AOAC INTERNATIONAL. **Official Methods of Analysis of AOAC International**. 19. ed. Gaithersburg, MD: AOAC International, 2012.
- CHARUNUCH, C.; BOONYASIRIKOOL, P.; TIENGPOOK, C. Using extrusion process for preparation of instant cereal beverage based on corn and soybean. **Kasetsart Journal (Natural Science)**, v. 37, p. 72-83, 2003.
- DANG, T.; VASANTHAN, T. Modification of rice bran dietary fiber concentrates using enzyme and extrusion cooking. **Food Hydrocolloids**, v. 89, p. 773-782, abr. 2019.
- DAMODARAN, S. Amino acids, peptides, and proteins. *In*: DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. **Fennema's Food Chemistry**. 4. ed. Boca Raton: CRC PRESS, 2008. p. 217-330

- DUBOIS, M.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A.; SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry**, v. 28, n. 3, p. 350-356, mar. 1956.
- DUST, J. M.; GAJDA, A. M.; FLICKINGER, E. A.; BURKHALTER, T. M.; MERCHEN, N. R.; FAHEY, G. Extrusion conditions affect chemical composition and in vitro digestion of select food ingredients. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, p. 2989-2996, abr. 2004.
- FAYAZ, G.; PLAZZOTTA, S.; CALLIGARIS, S.; MANZOCCO, L.; NICOLI, M. C. Impact of high pressure homogenization on physical properties, extraction yield and biopolymer structure of soybean okara. **LWT – Food Science and Technology**, v. 113, p. 1-6, out. 2019.
- FIGUEIREDO, V. R. G.; YAMASHITA, F.; VANZELA, A. L. L.; IDA, E. I.; KUROZAWA, L. E. Action of multi-enzyme complex on protein extraction to obtain a protein concentrate from okara. **Journal of Food Science and Technology**, v. 55, n. 4, p. 1508-1517, abr. 2018.
- FUNG, W.; YUEN, K.; LIONG, M. Characterization of fibrous residues from agrowastes and the production of nanofibers. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, n. 13, p. 8077-8084, jul. 2010.
- GALDEANO, M. C.; GROSSMANN, M. V. E. Effect of treatment with alkaline hydrogen peroxide associated with extrusion on color and hydration properties of oat hulls. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 48, n. 1, p. 63-72, jan. 2005.
- GOULD, J. M. Alkaline peroxide delignification of agricultural residues to enhance enzymatic saccharification. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 26, n. 1, p. 46-52, jan. 1984.
- GOULD, J. M.; FREER, S. N. High-efficiency ethanol production from lignocellulosic residues pretreated with alkaline H₂O₂. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 26, n. 6, p. 628-631, jun. 1984.
- HUANG, Y.; MA, Y. The effect of extrusion processing on the physiochemical properties of extruded orange pomace. **Food Chemistry**, v. 192, p. 363-369, fev. 2016.
- KAMIZAKE, N. K. K.; VARÉA, G. S.; PRUDENCIO, S. H. Physicochemical properties of aged soybean components. **Journal of Food, Agriculture & Environment**, v. 12, n. 2, p. 263-268, abr. 2014.
- LARREA, M. A.; GROSSMANN, M. V. E.; BELÉIA, A. P.; TAVARES, D. Q. Changes in water absorption and swollen volume in extruded alkaline peroxide pretreated rice hulls. **Cereal Chemistry**, v. 74, n. 2, p. 98-101, mar./abr. 1997.

LI, B.; YANG, W.; NIE, Y.; KANG, F.; GOFF, H. D.; CUI, S. W. Effect of steam explosion on dietary fiber, polysaccharide, protein and physicochemical properties of okara. **Food Hydrocolloids**, v. 94, p. 48-56, set. 2019.

LI, H.; LONG, D.; PENG, J.; MING, J.; ZHAO, G. A novel in-situ enhanced blasting extrusion technique - Extrudate analysis and optimization of processing conditions with okara. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 16, p. 80-88, out. 2012.

MATEOS-APARICIO, I.; MATEOS-PEINADO, C.; RUPÉREZ, P. High hydrostatic pressure improves the functionality of dietary fibre in okara by-product from soybean. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 11, n. 3, p. 445-450, jul. 2010.

MULITERNO, M. M.; RODRIGUES, D.; LIMA, F. S.; IDA, E. I.; KUROZAWA, L. E. Conversion/degradation of isoflavones and color alterations during the drying of okara. **Food Science and Technology**, v. 75, p. 512-519, jan. 2017.

NIU, Y.; LI, N.; XIA, Q.; HOU, Y.; XU, G. Comparison of three modifications on structural, rheological and functional properties of soluble dietary fibers from tomato peels. **LWT - Food Science and Technology**, v. 88, p. 56-63, fev. 2018.

OGUNWOLU, S. O.; HENSHAW, F. O.; MOCK, H.; SANTROS, A.; AWONORIN, S. O. Functional properties of protein concentrates and isolates produced from cashew (*Anacardium occidentale* L.) nut. **Food Chemistry**, v. 115, n. 3, p. 852-858, ago. 2009.

ROSA-SIBAKOV, N.; SIBAKOV, J.; LAHTINEN, P.; POUTANEN, K. Wet grinding and microfluidization of wheat bran preparations: Improvement of dispersion stability by structural disintegration. **Journal of Cereal Science**, v. 64, p. 1-10, jul. 2015.

SEIBEL, N. F.; BELÉIA, A. D. P. Características químicas e funcionalidade tecnológica de ingredientes de soja [*Glycine Max* (L.) Merrill]: carboidratos e proteínas. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 12, n. 2, p. 113-122, jul. 2009.

SORONJA-SIMOVIC, D.; SERES, Z.; MARAVIC, N.; DJORDJEVIC, M.; DJORDJEVIC, M.; LUKOVIC, J.; TEPIC, A. Enhancement of physicochemical properties of sugar beet fibers affected by chemical modification and vacuum drying. **Food and Bioproducts Processing**, v. 100, p. 432-439, out. 2016.

SPOTTI, M. J.; CAMPANELLA, O. H. Functional modifications by physical treatments of dietary fibers used in food formulations. **Current Opinion in Food Science**, v. 15, p. 70-78, out. 2017.

STATSOFT, INC. STATISTICA (data analysis software system), version 10, 2011. www.statsoft.com.

STEEL, C. J.; LEORO, M. G. V.; SCHMIELE, M.; FERREIRA, R. E.; CHANG, Y. K. Thermoplastic extrusion in food processing. In: EL-SONBATI, A. Z. **Thermoplastic Elastomers**. Croatia: Intech Open, 2012. p. 265-290.

TOBARUELA, E. C.; SANTOS, A. O.; ALMEIDA-MURADIAN, L. B.; ARAÚJO, E. S.; LAJOLO, F. M.; MENEZES, E. W. Application of dietary fiber method AOAC 2011.25 in fruit and comparison with AOAC 991.43 method. **Food Chemistry**, v. 238, p. 87-93, jan. 2018.

ULLAH, I.; YIN, T.; XIONG, S.; ZHANG, J.; DIN, Z.; ZHANG, M. Structural characteristics and physicochemical properties of okara (soybean residue) insoluble dietary fiber modified by high-energy wet media milling. **LWT – Food Science and Technology**, v. 82, p. 15-22, set. 2017.

ULLAH, I.; YIN, T.; XIONG, S.; HUANG, Q.; DIN, Z.; ZHANG, J.; JAVAID, A. B. Effects of thermal pre-treatment on physicochemical properties of nanosized okara (soybean residue) insoluble dietary fiber prepared by wet media milling. **Journal of Food Engineering**, v. 237, p. 18-26, nov. 2018.

VILELA, W. F.; LEÃO, D. P.; FRANCA, A. S.; OLIVEIRA, L. S. Effect of peroxide treatment of functional and technological properties of fiber-rich powders based on spent coffee grounds. **International Journal of Food Engineering**, v. 2, n. 1, p. 42-47, jun. 2016.

VONG, W. C.; LIU, S. Biovalorisation of okara (soybean residue) for food and nutrition. **Trends in Food Science & Technology**, v. 52, p. 139-147, jun. 2016.

VONG, W. C.; LIU, S. The effects of carbohydrase, probiotic *Lactobacillus paracasei* and yeast *Lindnera saturnus* on the composition of a novel okara (soybean residue) functional beverage. **Food Science and Technology**, v. 100, p. 196-204, fev. 2019.

WANG, C.; LI, L.; SUN, X.; QIN, W.; WU, D.; HU, B.; RAHEEM, D.; YANG, W.; DONG, H.; VASANTHAN, T.; ZHANG, Q. High-speed shearing of soybean flour suspension disintegrates the component cell layers and modifies the hydration properties of okara fibers. **LWT – Food Science and Technology**, v. 116, p. 1-5, dez. 2019.

YANG, T.; LIU, T.; LI, X.; TANG, C. Novel nanoparticles from insoluble soybean polysaccharides of okara as unique pickering stabilizers for oil-in-water emulsions. **Food Hydrocolloids**, v. 94, p. 255-267, set. 2019.

YU, C.; YANG, C. Bio-ionic liquid pretreatment and ultrasound-promoted enzymatic hydrolysis of black soybean okara. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 127, n. 6, p. 767-773, jun. 2019.

6 CONCLUSÕES

- O tratamento com solução de peróxido de hidrogênio alcalino aumenta o conteúdo de fibras e proteínas solúveis e melhora as propriedades de hidratação do okara, sendo que a concentração de H_2O_2 e temperatura de reação provocam diferentes efeitos sobre as funções resposta;
- Para um aumento simultâneo desejável do conteúdo de fibras solúveis, capacidade de absorção e retenção de água e capacidade de intumescimento do okara deve-se utilizar 2% de H_2O_2 a 42 °C por 5 horas. Nessa condição é possível um incremento de 601% do conteúdo de fibras solúveis, 26% da capacidade de absorção e retenção de água e da capacidade de intumescimento e 609% da solubilidade proteica em água;
- O tratamento químico, na condição desejável, provoca alterações na estrutura, composição química e estabilidade dos sólidos em água, eleva a capacidade de absorção e retenção de óleo e a solubilidade das proteínas em diferentes pHs e diminui a densidade aparente do okara;
- A modificação do okara por hidrólise enzimática, utilizando a mistura de carboidrases, aumenta as propriedades de hidratação e o teor fibras solúveis, sendo que a concentração do complexo multi-enzimático e temperatura de reação provocam diferentes efeitos sobre as funções resposta;
- A condição ótima para a hidrólise enzimática é de 0,8% do complexo multi-enzimático, 46 °C por 3 horas. Nesta condição é possível aumentar 105% do conteúdo de fibras solúveis, 34% da capacidade de absorção e retenção de água e 13% da capacidade de intumescimento do okara;
- A hidrólise enzimática, na condição ótima, resulta em partículas de okara com microestrutura mais fragmentada e menos densa, altera a composição química e provoca aumento de 73% na capacidade de absorção e retenção de óleo;
- A extrusão altera a microestrutura, a composição química, a cor e as propriedades tecnofuncionais do okara;
- A extrusão com 30% de umidade da amostra provoca uma modificação mais drástica, resultando, inclusive, na redução de algumas propriedades tecnofuncionais;

- A extrusão com 35% de umidade da amostra é a mais adequada para a modificação do okara. Nesta condição, ocorre um aumento do conteúdo de fibras solúveis, da capacidade de absorção e retenção de água e da estabilidade dos sólidos em água, a manutenção da capacidade de intumescimento e de absorção e retenção de óleo e a redução da solubilidade proteica em água;
- Os tratamentos prévios, extrusão ou com solução de peróxido de hidrogênio alcalino, resultam em um okara com novos substratos para ação da mistura de carboidrases, liberando, principalmente, fibras de baixa massa molecular e açúcares simples, respectivamente, sem aumentar o conteúdo de fibras solúveis quantificáveis pelo método empregado neste estudo;
- O tratamento sequencial com solução de peróxido de hidrogênio alcalino e hidrólise enzimática aumenta a capacidade de intumescimento, porém a capacidade de absorção e retenção de água do okara se mantém;
- Com a extrusão e posterior uso de enzimas não foi possível aumentar a capacidade de absorção e retenção de água e de intumescimento do okara;
- Alterações gerais na cor, microestrutura, cristalinidade e composição química do okara podem ser observadas com as associações de métodos de modificação (extrusão ou solução de peróxido de hidrogênio alcalino seguido de hidrólise enzimática);
- A posterior hidrólise enzimática do okara extrusado provoca aumento da capacidade de absorção e retenção de óleo, redução da densidade aparente e mantém a estabilidade dos sólidos em água e a solubilidade proteica em água;
- O tratamento sequencial com solução de peróxido de hidrogênio alcalino e hidrólise enzimática reduz a capacidade de absorção e retenção de óleo e a solubilidade proteica em água e mantém a estabilidade dos sólidos em água do okara;
- O presente estudo abre novas perspectivas para o aproveitamento e agregação de valor do okara como um ingrediente alimentar, contribuindo para redução de resíduos agroindustriais.

ANEXOS

Alimentos / 2002-20060-01.pdf

Ficha técnica

Página 1:2



Viscozyme® L

Descrição

Viscozyme L é um complexo multi-enzimático contendo uma ampla faixa de carboidrases, incluindo arabanase, celulase, beta-glucanase, hemicelulase e xilanase. A enzima também possui atividade contra substâncias similares à pectina com cadeias ramificadas encontradas nas paredes celulares da soja. O produto é produzido de uma cepa selecionada de *Aspergillus aculeatus*.

Propriedades dos produtos

Aparência

Viscozyme L é um líquido límpido, marrom, com densidade de aproximadamente 1.2 g/ml.

Atividade

Viscozyme..... 100 FBG/g.

FBG = Fungal-Beta-Glucanase Units.

Veja nos Métodos Analíticos para maiores informações.

Características do produto

A habilidade da Viscozyme L em trabalhar a baixas temperaturas resulta na diminuição do consumo de energia na extração de materiais das células de vegetais. Adicionalmente, a ausência de níveis significantes de amilase e lipase significam que estes componentes principais não serão afetados durante o processo de extração.

As condições ótimas para a Viscozyme L com suas atividades são: faixa de pH de 3.3-5.5 e temperatura de 25-55°C.

Status de grau alimentício

O produto está de acordo com as especificações de pureza recomendadas para as enzimas de grau alimentício definidas pelo Joint FAO/WHO – Expert Committee on Food Additives (JECFA) e o Food Chemicals Codex (FCC), com limites máximos de 10²/g para fungos.

Embalagem

Veja na Lista de Embalagens para maiores informações.

Aplicação

Viscozyme L é um produto especial, usado para degradar as paredes celulares para a extração de componentes úteis do tecido vegetal e no processamento de materiais vegetais e cereais.

A natureza multi-componente da Viscozyme é de particular utilidade no processamento de materiais vegetais nas indústrias do álcool, cervejaria, amido e outras relacionadas. A habilidade da enzima de liberar materiais ligados e de degradar polissacarídeos que não o amido pode ser usada para melhorar a eficácia da fermentação do amido e para reduzir a viscosidade em geral e ajudar a melhorar a capacidade extrativa.

Para a redução de beta-glucanos e da viscosidade, a dosagem de 0.02-0.1% do grits recomendada. Para outras aplicações, uma recomendação geral é a dosagem de 0.05-0.1%.

Segurança

Enzimas são proteínas e a inalação de pó ou aerossóis podem provocar sensibilização e causar reações alérgicas em pessoas sensibilizadas. Algumas enzimas podem irritar a pele, olhos e membranas mucosas após contato prolongado.

Este produto pode gerar aerossóis facilmente inaláveis se for derramado ou agitado vigorosamente. Se derramado este produto pode secar e gerar pó. Material derramado deve ser enxaguado com água (evite usar água sob pressão) evitando a formação de aerossóis. Use roupas de proteção adequadas, luvas e proteção ocular e facial, tal como está orientado na etiqueta de aviso. Lave as roupas contaminadas.

Todos os produtos vêm acompanhados de uma Ficha de Segurança. Mais informações sobre como manipular este produto com segurança podem, ser obtidas mediante solicitação.

Precauções de manuseio

Viscozyme não é inflamável, é completamente miscível com água e seguro quando utilizado de acordo com as orientações. Observe as precauções de manuseio padronizadas para evitar o contato direto com o produto ou a inalação de poeira derivada de produto que secou. No caso de contato acidental com a pele ou olhos, lave imediatamente com água.

Armazenamento

Condições de armazenamento recomendadas: 10°C/0-25°C em embalagens intactas e protegidas do sol. Este produto foi formulado para ter uma estabilidade ótima. No entanto, com o tempo, as enzimas perdem gradativamente a atividade.

Armazenamento prolongado ou condições inadequadas, como temperatura elevada, podem exigir dosagens enzimáticas mais altas.



Página 2:2

Novozymes Latin America Limited
Rua professor Francisco Ribeiro 683
CEP 83707-660 - Araucária – Paraná
Brazil

Tel. +55 41 641 1000
Fax +55 41 643 1443

Tel. +45 8824 9999
Fax +45 8824 9998
 info@novozymes.com
 www.novozymes.com

Novozymes A/S
Krogshøjvej 36
 2880 Bagsvaerd
 Denmark

As leis, os regulamentos e os direitos de terceiros podem constituir um impedimento para que os clientes importem, processem, apliquem e/ou revendam certos produtos de uma forma determinada. É da responsabilidade dos clientes que o seu uso específico de produtos da Novozymes não infrinja leis e regulamentos pertinentes e, além disso, não infrinja patentes ou outros direitos de terceiros. O conteúdo deste documento está sujeito a alterações sem aviso prévio.

2002-20060-01 07 15 2002 © Novozymes A/S

ANEXO B – Desejabilidade global

