



UNIVERSIDADE  
ESTADUAL DE LONDRINA

---

NATÁLIA CENEDESI VICENTIM BOM

**ENVELHECIMENTO DA SOJA:  
EFEITOS NAS PROPRIEDADES QUÍMICAS E FUNCIONAIS  
DAS PROTEÍNAS.**

---

Londrina  
2013

NATÁLIA CENEDESI VICENTIM BOM

**ENVELHECIMENTO DA SOJA:  
EFEITOS NAS PROPRIEDADES QUÍMICAS E FUNCIONAIS  
DAS PROTEÍNAS.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, nível Mestrado, da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência de Alimentos.

Orientadora: Profa. Dra. Sandra Helena Prudencio.

Londrina  
2013

**Catálogo elaborado pela Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central da  
Universidade Estadual de Londrina**

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

B695e Bom, Natália Cenedesi Vicentim.  
Envelhecimento da soja : efeitos nas propriedades químicas e funcionais das  
proteínas / Natália Cenedesi Vicentim Bom. – Londrina, 2013.  
72 f. : il.

Orientador: Sandra Helena Prudencio.  
Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual de  
Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência de  
Alimentos, 2013.

Inclui bibliografia.

1. Soja – Processamento – Teses. 2. Proteínas de soja – Teses. 3. Soja – Produtos  
– Teses. 4. Alimentos funcionais – Teses. 5. Farinha de soja – Teses. I. Prudencio,  
Sandra Helena. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias.  
Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos. III. Título.

CDU 664.6/7

NATÁLIA CENEDESI VICENTIM BOM

**ENVELHECIMENTO DA SOJA: EFEITOS NAS PROPRIEDADES  
QUÍMICAS E FUNCIONAIS DAS PROTEÍNAS.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, nível Mestrado, da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência de Alimentos.

**BANCA EXAMINADORA**

---

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

---

Dra. Priscila Zaczuk Bassinello  
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária  
– Embrapa

---

Profa. Dra. Mara Lucia Luiz Ribeiro  
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Londrina, 24 de setembro de 2013.

## AGRADECIMENTOS

A Deus por ter me dado amparo e força de vontade para atingir minhas aspirações e para superar os momentos difíceis. Agradeço por minha vida e pelas bênçãos que recebo todos os dias.

À Prof. Dra. Sandra Helena Prudencio por toda a ajuda, conselhos, amizade e compreensão, fundamentais para a conclusão deste trabalho.

À Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo auxílio financeiro.

Aos Professores e Funcionários do Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, especialmente a Neusa, a Patrícia, a Célia, a Maria Alice, a Alessandra, a Elza Youssef e a Sandra Rezende, por todos os conhecimentos passados, por toda a ajuda, convivência e amizade durante todo este tempo.

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

À estagiária Lilian Catarini Pereira da Silva, por sua ajuda e dedicação, sem a qual minha tarefa teria sido muito mais difícil.

À Prof. Dra. Neide Kiyoko Kondo Kamizake, por ter me permitido continuar seu projeto e utilizar os grãos já envelhecidos e principalmente por toda orientação, conselhos e ajuda que me deram confiança para continuar minha tarefa.

A todos os meus amigos e colegas do Departamento de ciência e Tecnologia de Alimentos, pela convivência, amizade e pelos conselhos. Agradeço em especial à Gleice Rocha S. Almeida, pela ajuda na utilização do fluorímetro, à Luciane Y. Yoshiara e à Daiana Rosso.

À minha amiga Tatiane das Neves Burgos, por ter me incentivado a fazer o mestrado e por toda a ajuda e conselhos que foram muito importantes nesta jornada.

Aos meus pais e irmãos, agradeço o apoio, compreensão e ajuda. Agradeço por estarem sempre dispostos a ouvir e a incentivar. Agradeço pelas oportunidades que me ofereceram nesta vida.

BOM, Natália Cenedesi Vicentim. **Envelhecimento da Soja:** Efeitos nas propriedades químicas e funcionais das proteínas. 2013. 72 f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2013.

## RESUMO

Este trabalho teve como objetivo analisar o efeito do envelhecimento da soja sobre as características físico-químicas dos grãos, das proteínas e sobre as propriedades funcionais das proteínas das farinhas desengorduradas de soja das cultivares Coodetec 214 e BRS 267. Os grãos foram armazenados nas condições: EN (Envelhecimento Natural): 18 meses, temperatura e UR ambiente, EA (Envelhecimento Acelerado): 9 meses, 30 °C e 84 % UR e Controle: -18 °C e 47 % UR. Os grãos foram moídos e desengordurados com hexano. As proteínas das farinhas desengorduradas foram analisadas quanto à solubilidade nos pHs 2 a 12, hidrofobicidade de superfície, grupos sulfidrila livres totais e pontes dissulfeto e as interações não covalentes (ligações de hidrogênio e interações hidrofóbicas) foram avaliadas indiretamente por meio de medidas de solubilidade em tampão fosfato contendo ou não ureia e/ou SDS. As propriedades funcionais avaliadas foram solubilidade proteica em água, capacidade de absorção de água e óleo, propriedades de gel, emulsificantes e espumantes, além de cor. Os dados foram tratados por ANOVA e teste de Tukey ( $p = 0,05$ ). O EA causou declínio da solubilidade proteica nos pHs avaliados, da hidrofobicidade de superfície, e do teor de sulfidrila livres totais, e aumento das interações não covalentes e das pontes dissulfeto, nas duas cultivares. O EN causou redução de solubilidade nos diferentes pHs e hidrofobicidade de superfície (somente BRS 267), porém não foi constatada alteração no conteúdo de grupos sulfidrila livres totais e pontes dissulfeto. Houve aumento das interações não covalentes. Quanto às propriedades funcionais, a solubilidade proteica em água foi reduzida com o envelhecimento EN e EA, e não houve mudança na capacidade de absorção de óleo ou água, exceto para a BRS 267 do EN que mostrou menor absorção de água. Foi necessária maior concentração de amostra para a formação de gel no EA. As amostras do EA apresentaram maior capacidade de retenção de água do gel. O EN causou redução na capacidade emulsificante somente para Coodetec 214, enquanto que o EA causou redução nesta propriedade nas duas cultivares, porém levou ao aumento da estabilidade da emulsão. Foi constatada redução na capacidade espumante com o EN e EA, somente para BRS 267. O EA causou redução na estabilidade da espuma, enquanto o EN causou redução somente aos 30 minutos de repouso para BRS 267 e aos 120 minutos para a Coodetec 214. O envelhecimento nas condições EN e EA causou escurecimento das farinhas desengorduradas.

**Palavras-chave:** *Glycine max*. Armazenamento. Alterações moleculares. Proteínas. Propriedades funcionais.

Bom, Natália Cenedesi Vicentim. **Soy aging:** Effects on the chemical and functional properties of proteins. 2013. 72 p. Dissertation (Master's Degree in Food Science) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2013.

## ABSTRACT

This study aimed to analyze the aging effect on the soybean physical and chemical characteristics of the grains, proteins and functional properties of proteins from defatted soy flour from cultivars Coodetec 214 and BRS 267. The grains were stored under the conditions: NA (Natural Aging): 18 months, room temperature and RH, AA (Accelerated Aging): 9 months, 30 °C and 84% RH and Control: -18 °C and 47% RH. The soybeans were grounded and defatted with hexane. The proteins of defatted flours were analyzed for protein solubility at pH 2-12, surface hydrophobicity, total free sulfhydryl groups and disulfide bonds, and non-covalent interactions (hydrogen bonds and hydrophobic interactions) were assessed indirectly by measuring the solubility on phosphate buffer containing or not urea and/or SDS. The functional properties evaluated were protein solubility in water, water and oil absorption capacity, gel properties, emulsifying and foaming capacity, and color. The data were treated by ANOVA and Tukey test ( $p = 0,05$ ). AA caused a decline in protein solubility at the pHs evaluated and in the surface hydrophobicity, in the content of total free sulfhydryl, and increased non-covalent interactions and disulfide bridges in both cultivars. The NA caused reduction in solubility in the different pHs and in the surface hydrophobicity (only BRS 267), but no alterations were found in the total free sulfhydryl groups and disulfide bonds content. There was an increase of non-covalent interactions. Regarding the functional properties, the protein solubility in water was reduced with aging NA and AA, and there was no change in the water or oil absorption capacity, except for the NA of BRS 267, which showed low water absorption. A higher sample concentration was required for the gel formation of the AA. The AA samples had higher gel water holding capacity. The NA caused reduction in emulsifying capacity only for Coodetec 214, while the AA caused a reduction in this property in both cultivars, but led to an increase of the emulsion stability. Reduction in the foaming capacity was observed with NA and AA, only for BRS 267. The AA caused a reduction in foam stability, while the NA caused reduction only in 30 minutes of rest for BRS 267 and 120 minutes for Coodetec 214. The aging conditions NA and AA caused reddening of the defatted flours.

**Key words:** *Glycine max.* Storage. Molecular changes. Proteins. Functional properties.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** – Gráfico de Intensidade de Fluorescência versus concentração de proteína para determinação do índice de hidrofobicidade de superfície.....34
- Figura 2** – Curva de solubilidade proteica em diferentes pHs de farinha desengordurada de grãos de soja cultivar Coodetec 214, armazenados em diferentes condições.....45
- Figura 3** – Curva de solubilidade proteica em diferentes pHs de farinha desengordurada de grãos de soja cultivar BRS 267, armazenados em diferentes condições .....46
- Figura 4** – Estabilidade das espumas de farinha desengordurada de grãos de soja cultivar Coodetec 214, armazenados em diferentes condições.....59
- Figura 5** – Estabilidade das espumas de farinha desengordurada de grãos de soja cultivar BRS 267, armazenados em diferentes condições.....60

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> – Composição centesimal e pH de grãos de soja Coodetec 214 e BRS 267 armazenados em diferentes condições .....	42
<b>Tabela 2</b> – Composição centesimal das farinhas desengorduradas de grãos de soja Coodetec 214 e BRS 267 armazenados em diferentes condições .....	44
<b>Tabela 3</b> – pH das farinhas desengorduradas de grãos de soja Coodetec 214 e BRS 267 armazenados em diferentes condições .....	47
<b>Tabela 4</b> – Solubilidade proteica em tampão fosfato pH 7,6 com e sem uréia e/ou SDS das farinhas desengorduradas de grãos de soja Coodetec 214 e BRS 267 armazenados em diferentes condições .....	49
<b>Tabela 5</b> – Hidrofobicidade de superfície farinhas desengorduradas de grãos de soja Coodetec 214 e BRS 267 armazenados em diferentes condições .....	50
<b>Tabela 6</b> – Conteúdo de grupos Sulfidríla (SH) e Dissulfeto das proteínas das farinhas desengorduradas de grãos de soja Coodetec 214 e BRS 267 armazenados em diferentes condições .....	52
<b>Tabela 7</b> – Solubilidade proteica em água e capacidade de absorção de água e óleo das farinhas desengorduradas de grãos de soja Coodetec 214 e BRS 267 armazenados em diferentes condições .....	54
<b>Tabela 8</b> – Concentração mínima de formação e capacidade de retenção de água (CRA) dos géis das farinhas desengorduradas de grãos de soja Coodetec 214 e BRS 267 armazenados em diferentes condições .....	56
<b>Tabela 9</b> – Capacidade emulsificante, estabilidade da emulsão e capacidade espumante das farinhas desengorduradas de grãos de soja Coodetec 214 e BRS 267 armazenados em diferentes condições .....	57
<b>Tabela 10</b> – Parâmetros de cor das farinhas desengorduradas de grãos de soja Coodetec 214 e BRS 267 armazenados em diferentes condições .....	62

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>12</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>14</b>
2.1	OBJETIVO GERAL .....	14
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	14
<b>3</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	<b>15</b>
3.1	CARACTERÍSTICAS DA SOJA .....	15
3.2	ENVELHECIMENTO DOS GRÃOS DE SOJA .....	16
3.3	PROPRIEDADES FUNCIONAIS DAS PROTEÍNAS.....	20
3.3.1	Emulsificação .....	21
3.3.2	Formação de Gel.....	22
3.3.3	Espuma .....	25
3.3.4	Capacidade de Absorção de Água e Óleo.....	26
3.4	ENVELHECIMENTO DA SOJA E PROPRIEDADES FUNCIONAIS DAS PROTEÍNAS .....	27
<b>4</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>30</b>
4.1	MATÉRIA PRIMA .....	30
4.2	CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO DOS GRÃOS DE SOJA .....	30
4.3	COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO GRÃO DE SOJA .....	31
4.4	PH DOS GRÃOS.....	31
4.5	PREPARO DA FARINHA DESENGORDURADA DE SOJA .....	31
4.6	PROPRIEDADES MOLECULARES DAS PROTEÍNAS DE SOJA ENVELHECIDA .....	32
4.6.1	Solubilidade das Proteínas em Diferentes pHs .....	32
4.6.2	Solubilidade das Proteínas em Soluções de Uréia e SDS.....	32
4.6.3	Hidrofobicidade de Superfície das Proteínas.....	33
4.6.4	Teores de Grupos Sulfidril e Dissulfeto das Proteínas .....	34
4.7	PROPRIEDADES FUNCIONAIS DAS FARINHAS DESENGORDURADAS OBTIDAS DE SOJA CONTROLE E ENVELHECIDA.....	36
4.7.1	Solubilidade das Proteínas em Água.....	36

4.7.2	Capacidade de Absorção de Água (CAA) .....	36
4.7.3	Capacidade de Absorção de Óleo (CAO).....	37
4.7.4	Capacidade de Formação de Gel.....	37
4.7.4.1	Preparo dos géis .....	37
4.7.4.2	Capacidade de retenção de água dos géis .....	38
4.7.5	Propriedades Emulsificantes .....	38
4.7.5.1	Capacidade emulsificante.....	38
4.7.5.2	Estabilidade da emulsão.....	38
4.7.6	Propriedades Espumantes .....	39
4.7.6.1	Capacidade espumante.....	39
4.7.6.2	Estabilidade da espuma .....	39
4.8	ANÁLISE DE COR DAS FARINHAS DESENGORDURADAS .....	39
4.9	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL .....	40
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>41</b>
5.1	COMPOSIÇÃO QUÍMICA E PH DOS GRÃOS.....	41
5.2	COMPOSIÇÃO QUÍMICA DA FARINHA DESENGORDURADA DE SOJA.....	44
5.3	SOLUBILIDADE DAS PROTEÍNAS DAS FARINHAS DESENGORDURADAS DE SOJA EM DIFERENTES PHS .....	45
5.4	ALTERAÇÕES MOLECULARES NAS PROTEÍNAS DEVIDO AO ENVELHECIMENTO DOS GRÃOS.....	47
5.4.1	Solubilidade das Proteínas em Uréia e SDS e Interações Não Covalentes.....	47
5.4.2	Hidrofobicidade de Superfície das Moléculas de Proteínas.....	50
5.4.3	Teor de Grupos Sulfidril e Dissulfeto das Moléculas de Proteínas .....	51
5.5	EFEITO DO ENVELHECIMENTO DA SOJA NAS PROPRIEDADES FUNCIONAIS DAS PROTEÍNAS DA FARINHA DESENGORDURADA .....	53
5.5.1	Solubilidade das Proteínas em Água.....	53
5.5.2	Capacidade de Absorção de Água (CAA) e Óleo (CAO).....	54
5.5.3	Capacidade de Formação e Retenção de Água (CRA) dos Géis.....	55
5.5.4	Propriedades Emulsificantes .....	57
5.5.5	Propriedades Espumantes .....	59

5.5.6 Cor das Farinhas Desengorduradas de Soja.....61

**CONCLUSÕES** .....63

**REFERÊNCIAS**.....65

## 1 INTRODUÇÃO

A soja (*Glycine max* (L.) Merrill) é uma leguminosa que se originou na Ásia, onde tem grande importância na dieta deste continente. A soja é utilizada na China e demais países asiáticos há cinco mil anos, porém, somente no início do século vinte os países ocidentais reconheceram seus usos. No Brasil, o grão começou a ser introduzido no final do século 19. Entretanto, somente adquiriu importância econômica na década de 1960, e se tornou nas décadas seguintes uma das principais culturas agrícolas do país (EMBRAPA, 2004).

O grão de soja é rico em proteínas, e seu teor varia de 35 a 45 % de proteínas em base seca. Estas proteínas apresentam bom balanço de aminoácidos essenciais, porém apresentam baixo teor de cisteína e metionina, como as demais proteínas de leguminosas. A proteína de soja pode ser utilizada na alimentação humana, sem modificar as características físicas e o sabor dos alimentos em que é inserida (HOU; CHANG, 2004a; CARRÃO-PANIZZI; MANDARINO, 1998).

A soja pode ser processada para dar origem a farinhas integrais, farinhas desengorduradas, e concentrados e isolados proteicos de soja. Cada um destes produtos pode ser adicionado em diferentes alimentos, por exemplo, as farinhas podem ser empregadas em produtos de panificação como bolos, pães e massas. Já o isolado proteico, por possuir maior teor de proteína, pode ser usado para o preparo de suplementos nutricionais, produtos cárneos, formulações infantis, sopas e molhos (KINSELLA, 1979; DEAK; JOHNSON, 2007).

As proteínas de soja podem ser aplicadas em diversos alimentos por apresentarem propriedades funcionais desejáveis como solubilidade, capacidade de absorção e retenção de água, capacidade de absorção de óleo, emulsificação, formação de espuma e formação de gel (KINSELLA, 1979).

Sabe-se que a soja pode permanecer armazenada por longos períodos até ser utilizada. Diversos autores têm relatado que o armazenamento dos grãos de soja por longos períodos pode levar a mudanças nas características físico-químicas dos grãos e de seus componentes. Entre outros efeitos, o envelhecimento causa aumento da acidez (diminuição do pH), mudanças na composição química e escurecimento dos grãos, além de diminuição da solubilidade e da extração das proteínas (SAIO; KOBAYAKAWA; KITO, 1982; NARAYAN; CHAUHAN; VERMA,

1988; KONG et al., 2008; HOU; CHANG, 2004a, 2004b, 2004c; SAIO et al., 1980; HOU; CHANG, 2003).

Além disso, alguns autores apontam que podem ocorrer alterações nas moléculas proteicas com o armazenamento dos grãos, como a desnaturação e agregação das moléculas, aumento no conteúdo de pontes dissulfeto das frações proteicas 7S e 11S, e redução de hidrofobicidade de superfície da fração 7S, principalmente se os grãos forem armazenados em condições de alta umidade relativa e temperatura (KONG; CHANG, 2013; HOU; CHANG, 2004a, 2004c).

Diversos autores estudaram a influência do envelhecimento dos grãos nas propriedades do extrato de soja e do tofu, que são importantes produtos tradicionais de soja (KONG et al., 2008; HOU; CHANG, 1998; HOU; CHANG, 2003; KONG; CHANG, 2013; KAMIZAKE, 2012). Como o tofu é um gel formado pelas proteínas de soja, a formação de gel é a principal propriedade funcional estudada relacionada ao envelhecimento. Entretanto, há poucos estudos sobre os efeitos do envelhecimento nas demais propriedades funcionais das proteínas de soja (LIU et al. 2008).

As propriedades funcionais tecnológicas das proteínas estão relacionadas com a sua estrutura molecular. As alterações que podem ocorrer nas moléculas proteicas, como desnaturação ou oxidação, possivelmente irão alterar o comportamento da proteína como ingrediente funcional, e causar diferença no resultado final do produto onde está sendo empregada (HETTIARACHCHY; KALAPATHY, 1997).

Uma vez que existem poucos estudos relacionando o envelhecimento dos grãos às alterações nas propriedades físico-químicas das proteínas, assim como em suas propriedades funcionais, é importante estudar tais alterações, pois estas podem afetar a aplicação das proteínas de soja envelhecida como ingrediente alimentar.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Analisar o efeito do envelhecimento natural (EN) e acelerado (EA) dos grãos de soja nas características físico-químicas dos grãos, das proteínas e nas propriedades funcionais da farinha desengordurada de soja, das cultivares de soja Coodetec 214 e BRS 267.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar alterações na composição química e na acidez dos grãos devido ao envelhecimento;
- Obter farinhas desengorduradas de soja, a partir dos grãos armazenados;
- Avaliar o efeito do envelhecimento dos grãos nas propriedades físico-químicas das moléculas de proteínas por meio das análises de solubilidade em diferentes pHs, solubilidade em soluções de uréia e/ou dodecil sulfato de sódio (SDS), hidrofobicidade de superfície e teor de grupos sulfidril e dissulfeto;
- Estudar o efeito do envelhecimento nas seguintes propriedades funcionais das proteínas de soja: solubilidade em água, capacidade de absorção de água e óleo, formação de gel e capacidade de retenção de água dos géis, capacidade emulsificante e estabilidade da emulsão, capacidade espumante e estabilidade da espuma;
- Avaliar o efeito do envelhecimento sobre a cor das farinhas desengorduradas de soja.

### 3 REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 CARACTERÍSTICAS DA SOJA

A soja é um vegetal pertencente à família *Leguminosae*, subfamília *Papilionoidae*, gênero *Glycine*, L. A planta cultivada anualmente é denominada *Glycine max* (L.) Merrill. A planta é originária da China, e sua altura varia de 75 cm a 1,25 m. Existem diversos cultivares, os quais exibem variações nos grãos, como formato (oval ou redondo) e coloração. Com relação à cor, a casca do grão pode apresentar coloração amarela, verde, preta ou tons de marrom (LIU, 1997a).

A produção mundial de soja na safra 2010/2011 chegou a 263,7 milhões de toneladas. O Brasil, que é o segundo produtor mundial, atrás apenas dos Estados Unidos, teve uma produção de 75,0 milhões de toneladas nesta safra, com uma área plantada de 24,2 milhões de hectares (EMBRAPA, 2012).

Devido à seca observada nas áreas produtoras de soja dos Estados Unidos, projeções de produtividade apontam que o Brasil irá superar os EUA na safra de 2012/2013 (USDA, 2013). De acordo com projeções de safra até 2022, o Brasil se tornará o maior produtor mundial de soja, produzindo 105,39 milhões de toneladas de soja (USDA, 2012).

Estima-se que 60 % dos produtos alimentícios processados contêm ingredientes derivados de soja. As proteínas de soja possuem boa qualidade nutricional e podem ser aplicadas em diversos alimentos. O grão de soja contém em média 35 a 45 % de proteína em base seca (HOU; CHANG, 2004a).

As proteínas de soja são, em sua maioria, proteínas de reserva, sintetizadas durante o desenvolvimento da semente para que na germinação possam prover uma fonte de nitrogênio e carbono para o crescimento da plântula. O grão de soja é composto por quatro frações proteicas principais: 2S, 7S, 11S e 15S. Estas são classificadas de acordo com suas propriedades de sedimentação. As proteínas de reserva mais importantes são 7S ( $\beta$ -conglucina) e 11S (Glicina). A glicina, segundo estimativas, constitui entre 60-70 % das globulinas da soja (LIU, 1997a; KINSELLA, 1979).

A glicina é um hexâmero, com massa molecular de 300 – 380 kDa, com polipeptídios ácidos e básicos. As subunidades estão unidas por pontes dissulfeto entre os peptídeos ácidos e básicos. A  $\beta$ -conglucina é um trímero com

tamanho molecular de 150 – 200 kDa, sendo uma glicoproteína (LAMPART – SZCZAPA, 2001).

Os grupos sulfidril e pontes dissulfeto das proteínas desempenham um papel importante para as propriedades funcionais de proteínas em alimentos, e também na formação de estruturas relativamente rígidas como géis e massas. A fração 7S possui quatro grupos sulfidril, que participam em duas pontes dissulfeto intramoleculares, e a fração 11S possui 48 grupos sulfidril, sendo que muitos deles participam de ligações dissulfeto entre os polipeptídios ácidos e básicos (SHIMADA; CHEFTEL, 1988; HERMANSSON, 1978 apud CRAMP; KWANYUEN; DAUBERT, 2008).

Kinsella (1979) afirma que as ligações de hidrogênio desempenham um papel importante nas estruturas secundária e terciária das proteínas de soja, assim como as interações eletrostáticas entre grupamentos laterais de aminoácidos carregados. Segundo o autor, as interações hidrofóbicas são forças importantes na estabilização da estrutura terciária nativa das moléculas. As interações não covalentes (interações hidrofóbicas, ligação de hidrogênio, interações eletrostáticas) também estão relacionadas com as propriedades funcionais das proteínas de soja.

### 3.2 ENVELHECIMENTO DOS GRÃOS DE SOJA

O processo pelo qual ocorrem mudanças bioquímicas nos grãos, induzidas pelo armazenamento por longos períodos é denominado envelhecimento. As principais condições de armazenamento que aceleram o envelhecimento são alta umidade relativa e temperatura (LIU, 1997b); além da umidade do grão, que deve se manter entre 8 e 10 % (KONG et al., 2008).

O grão de soja por ser tecido vivo, respira durante o armazenamento. A taxa de respiração do grão é influenciada tanto pela temperatura quanto pela umidade relativa à qual está exposto. Quanto maior a temperatura e UR do ambiente ou mesmo a umidade do grão, maior será a taxa de respiração e, portanto, maior será a velocidade das reações bioquímicas que levam ao envelhecimento (LIU, 1997a).

O armazenamento prolongado dos grãos de soja em diversas condições (temperatura e umidade relativa do ar) pode causar efeitos negativos em algumas propriedades físicas e químicas dos grãos. Narayan, Chauhan e Verma

(1988) relataram que após armazenamento prolongado da soja, em condição ambiente sem controle de temperatura e umidade, a cor do grão inteiro se tornou mais escura provavelmente devido às reações de escurecimento enzimática e não enzimáticas (ocorrência de reação de Maillard, envolvendo açúcares e proteínas dos grãos). Ocorreria também mudança na composição química do grão (aumento do nitrogênio não proteico, dos ácidos graxos livres e do teor de cinzas, além de redução dos açúcares livres e pigmentos) queda na solubilidade proteica, deterioração oxidativa, formação de peróxidos, diminuição na atividade das lipoxigenases e dos inibidores de tripsina. Segundo Hou e Chang (1998) a reação de escurecimento enzimático envolve reações entre substratos fenólicos da soja e o oxigênio.

Alencar et al. (2010) constataram aumento no conteúdo de ácidos graxos livres e no valor de peróxido do óleo de soja extraído após armazenamento dos grãos de soja por até seis meses, principalmente a altas temperaturas e umidades relativas, além de escurecimento do grão. Sharma et al., (2013) observaram aumento na peroxidação lipídica durante o armazenamento de soja, com correspondente redução na atividade de enzimas antioxidantes, como a catalase e a peroxidase.

Os grãos de soja podem permanecer armazenados após a colheita por longos períodos de tempo, que podem chegar a mais de um ano. Os efeitos do armazenamento prolongado na qualidade dos grãos de soja podem ser investigados empregando-se condições naturais de envelhecimento ou condições aceleradas, entre as quais a umidade relativa maior que 80 % e temperaturas superiores a 30 °C são as mais usadas (HOU; CHANG, 2004b).

Acredita-se que o envelhecimento inicia-se com a peroxidação lipídica nas membranas celulares das sementes, o que causa a perda de compartimentalização das células e leva ao descontrole do metabolismo nos grãos. Com o envelhecimento ocorre redução na atividade de enzimas antioxidantes no grão de soja, desnaturação de proteínas e acúmulo de compostos tóxicos (CHIU; SUNG, 1995; LIU, 1997b; MARCOS FILHO, 1999). A hidrólise de lipídeos para ácidos graxos e o aumento de ácidos orgânicos podem ser resultado da oxidação dos ácidos graxos ou outros processos biológicos durante o armazenamento. Esses ácidos contribuem para o aumento da acidez nos grãos, a qual pode causar o decréscimo de solubilidade das proteínas 11S e 7S da soja (SAIO et al., 1980).

Com o armazenamento prolongado dos grãos de soja, ocorre diminuição no índice de solubilidade de nitrogênio (ISN) e conseqüentemente dificuldade para a extração das proteínas dos grãos (SAIO; KOBAYAKAWA; KITO, 1982). Segundo Kong et al. (2008), o armazenamento dos grãos de soja por mais de um ano a temperaturas acima de 22 °C e umidades relativas superiores a 55 % causa redução no pH e no conteúdo proteico do extrato de soja com o aumento do tempo de armazenamento. De acordo com os autores, durante o armazenamento há alterações moleculares nas proteínas como o decréscimo na hidrofobicidade de superfície das proteínas. Sendo esta desnaturação responsável pela menor extração de proteína.

Hou e Chang (2004b) encontraram após 18 meses de armazenamento a 30 °C e 84 % de umidade relativa, significativa queda no conteúdo de açúcares livres e escurecimento dos grãos.

Saio et al. (1980) conduziram um experimento no qual a soja foi armazenada por 2, 4 e 6 meses a 25 °C e 60 % de umidade relativa e também a 35 °C e 90 % de umidade relativa. Os resultados demonstraram que houve mudança na cor dos grãos, que ficaram mais escuros, houve aumento em mais de dez vezes na acidez titulável dos grãos quando comparados ao controle (15 °C e 60 % UR), e o índice de solubilidade de nitrogênio (ISN) e a extractabilidade de sólidos e constituintes com nitrogênio decresceram nos grãos da condição com alta temperatura e umidade relativa. Houve também aumento no conteúdo de cinzas. Segundo os autores, o aumento da acidez pode ser resultado da hidrólise de ácidos graxos, e a diminuição na extractabilidade de sólidos e constituintes com nitrogênio podem ter sido causadas primeiramente pelo aumento da acidez, sendo a fração 11S mais sensível à redução de pH.

Saio, Kobayakawa e Kito (1982) estudaram o efeito do armazenamento da soja na extração das proteínas dos grãos inteiros e de farinha desengordurada de soja, utilizando diferentes solventes (água, tampão fosfato com NaCl 1,2 M e DTT). Nos isolados proteicos obtidos a partir da farinha desengordurada, a proporção relativa da fração 11S extraída decresceu, enquanto houve aumento na extração da fração 2S, com o tempo de armazenamento dos grãos. Com o envelhecimento em altas temperaturas e umidades relativas, os componentes 11S e 7S tornaram-se mais difíceis de serem extraídos. Analisando os resultados de solubilidade das proteínas em diferentes solventes, os autores

concluíram que uma parte da fração 11S parece ter se agregado em um estado insolúvel, envolvendo pontes dissulfeto.

A redução na extração de proteínas de grãos armazenados por longos períodos também foi observada por Hou e Chang (2004a, 2004c). Estes autores observaram diminuição no rendimento de extração da glicinina (11S), após armazenamento em condições adversas (84 % UR e 30 °C), de 14,6 % ao tempo zero (controle) para 0,05 % após oito meses. Além disso, a extractabilidade da  $\beta$ -conglucina (7S) de grãos armazenados em condições adversas caiu drasticamente depois de 2 e 6 meses de armazenamento. Aos seis meses, quase toda a  $\beta$ -conglucina não pôde ser extraída devido a mudanças estruturais. Isto indica que as proteínas desnaturaram durante o armazenamento.

O armazenamento dos grãos pode alterar os teores de grupos sulfidril e dissulfeto das proteínas. Em soja armazenada por cinco meses em umidade relativa de 80 % a 30 °C, o conteúdo de pontes dissulfeto das proteínas aumentou (HONG, 1994 apud HOU; CHANG, 1998).

Pesquisas indicam redução no teor de grupos sulfidril livre e aumento no conteúdo de grupos sulfidril total e pontes dissulfeto na fração de  $\beta$ -conglucina da soja armazenada em condições adversas (30 °C, 84 % UR), e condições brandas de armazenamento (57 % UR e 20 °C). Por outro lado, com relação à glicinina, os conteúdos de grupos sulfidril livres na superfície da molécula permaneceram estáveis, porém, observou-se redução no teor de sulfidril livre na região interna da molécula de proteína, juntamente com aumento no conteúdo de grupos sulfidril totais e pontes dissulfeto, para os grãos armazenados em condições adversas. O aumento no teor de pontes dissulfeto indica tendência à agregação destas proteínas (HOU; CHANG, 2004a, 2004c).

Kong e Chang (2013) constataram que a deterioração da qualidade das proteínas dos grãos de soja armazenada em diferentes condições por até um ano afeta a formação de tofu, produto obtido pela coagulação de proteínas da soja. Estes autores encontraram evidências de agregação das proteínas durante o armazenamento dos grãos, que levaram à insolubilização das proteínas. Os autores investigaram as forças envolvidas nesta agregação, e concluíram que interações hidrofóbicas, seguidas de pontes dissulfeto são as mais importantes neste processo durante o armazenamento do grão.

Hou e Chang (2003) observaram declínio do teor de fitato, juntamente com elevação da acidez titulável de extrato de soja com o tempo de armazenamento dos grãos em condições adversas. O aumento de acidez e a redução na extração de proteínas durante o armazenamento reduziram o rendimento do tofu e alteraram a sua textura.

Sathe et al. (2009), após um período de armazenamento de 20 anos a -20 °C, não encontraram mudanças significativas na digestibilidade *in vitro* das proteínas de soja. Pinto, Lajolo e Genovese (2005), da mesma forma, após um ano de armazenamento em temperaturas de -18 a 42 °C não obtiveram alterações na digestibilidade *in vitro* das proteínas de soja, entretanto, observaram mudanças no perfil de isoflavonas, com redução dos malonilglucosídeos e aumento nas formas agliconas. A solubilidade das proteínas também foi negativamente afetada pelo armazenamento prolongado a altas temperaturas.

Kim et al. (2005) também observaram queda no conteúdo de isoflavonas do grão de soja com o tempo de armazenamento, em particular dos malonilglucosídeos e glucosídeos.

### 3.3 PROPRIEDADES FUNCIONAIS DAS PROTEÍNAS

As proteínas de soja são usadas para a produção de muitos itens alimentícios. O isolado proteico de soja (IPS) contém mais de 90 % de proteínas, sendo empregado para o preparo de produtos lácteos, suplementos nutricionais, sopas, lanches e bebidas nutricionais. As proteínas da soja têm propriedades funcionais desejáveis, como solubilidade, emulsificação, formação de espuma, absorção de água e óleo e formação de gel. A capacidade de formar géis e espumas depende principalmente da fração de proteína de soja solúvel em água. A solubilidade das proteínas de soja é menor em seu ponto isoelétrico, que está entre o pH 4,2 a 4,6 e aumenta acima e abaixo desta faixa de pH (DEAK; JOHNSON, 2007; SORGENTINI; WAGNER; AÑON, 1995; HETTIARACHCHY; KALAPATHY, 1997).

As globulinas são pouco solúveis em água no pH isoelétrico, porém solúveis neste pH quando sais são adicionados. Esta característica de insolubilidade no ponto isoelétrico permite que se prepare isolados proteicos (WOLF; COWAN, 1975).

As propriedades funcionais das proteínas são dependentes da estrutura das moléculas, das interações não covalentes (ligações de hidrogênio, interações hidrofóbicas e interações eletrostáticas) e de ligações covalentes (ligação dissulfeto). Portanto, qualquer mudança na estrutura das moléculas pode levar a mudanças nas propriedades físico-químicas e funcionais das proteínas (HETTIARACHCHY; KALAPATHY, 1997).

Entretanto, as propriedades funcionais não são somente dependentes da estrutura das proteínas, como citado anteriormente, mas também são afetadas por interações das proteínas com outros componentes do alimento, tais como a água, íons, lipídeos e carboidratos, sendo também influenciados pelas características do ambiente, como temperatura, pH e força iônica (KINSELLA, 1979).

### 3.3.1 Emulsificação

As proteínas de soja têm aplicação como agentes emulsificantes em alimentos, porque auxiliam na formação de emulsões diminuindo a tensão interfacial entre água e óleo, e estabilizam a emulsão por formar uma barreira física na interface (DICKINSON; STAINSBY, 1988 apud MOLINA; PAPADOUPOULOU; LEDWARD, 2001).

O índice de atividade emulsificante de uma proteína está relacionado com a capacidade desta em adsorver rapidamente à interface água/óleo durante a formação da emulsão, e prevenir a floculação e coalescência. Já o índice de estabilidade da emulsão está relacionado à capacidade da proteína em manter a emulsão estável por certo período, prevenindo a coalescência dos glóbulos de óleo (WEBB; NAEEM; SHIMIDT, 2002).

A capacidade emulsificante e a estabilidade das emulsões preparadas com  $\beta$ -conglucina de soja mostram diferentes valores em relação aos observados com glicina. Isto pode ser explicado pela menor massa molecular e maior hidrofobicidade da  $\beta$ -conglucina, que lhe permitem adsorver mais rapidamente à interface (LAMPART-SZCZAPA, 2001).

Mitidieri e Wagner (2002) formularam emulsões com suspensões de isolado de proteína nativa de soja e estas se mostraram estáveis contra a coalescência, mesmo a baixas concentrações (1 mg/ mL). A desnaturação destas

proteínas levou a um aumento na coalescência, diminuindo a estabilidade das emulsões.

Chove, Grandison e Lewis (2001) fracionaram as proteínas de soja por precipitação isoelétrica e investigaram as propriedades funcionais de cada fração. Encontraram melhor índice de atividade emulsificante e estabilidade das emulsões para as proteínas com ponto isoelétrico entre o pH 5,1 e 5,6 que corresponde à fração da proteína 7S ( $\beta$ -conglucina).

Webb, Naeem e Shimidt (2002) compararam as propriedades funcionais das proteínas de isolado proteico de soro de leite (IPL), isolado proteico de soja (IPS), caseinato de sódio (CS) e isolado proteico de trigo (IPT). Quanto à solubilidade de proteínas, o IPS obteve menor valor. Com relação ao índice de atividade emulsificante (IAE) e ao índice de estabilidade da emulsão (IEE) foi constatado que o IPS alcançou melhores resultados e, para adsorção de proteína na interface, foi melhor que CS e IPT. Segundo os autores, uma vez que proteínas com maior hidrofobicidade de superfície apresentam mais regiões expostas que podem interagir com moléculas lipídicas, os melhores resultados de propriedades emulsificantes do IPS podem ser devido à maior hidrofobicidade de superfície encontrada em suas proteínas.

### 3.3.2 Formação de Gel

Os géis são caracterizados pela presença de uma matriz contínua de material interligado, e a predominância de uma fase líquida, que preenche a matriz contínua. Os géis de proteína podem ser formados por aquecimento acima de sua temperatura de desnaturação, desde que a concentração de proteína esteja acima de um valor crítico que é variável para cada proteína (WALSTRA; vanVLIET, 2010).

Durante a formação de gel por aquecimento, o estado sol é convertido em progel, que se torna gel ainda durante o aquecimento (gel tipo coágulo) ou ao resfriar (gel translúcido). Enquanto o estado sol está se convertendo a progel, a viscosidade aumenta com a elevação da temperatura, até que um limite é alcançado. Em temperaturas superiores, a viscosidade diminui e não haverá formação de gel ao resfriar, pois há conversão para um estado de metasol (WOLF; COWAN, 1975). A proteína isolada de soja é um exemplo de proteína que forma gel

por aquecimento, do tipo coágulo. Este tipo de gel ocorre nas proteínas com altas quantidades de resíduos de aminoácidos não polares, as quais sofrem agregação hidrofóbica durante o aquecimento, formando gel irreversível (WALSTRA; vanVLIET, 2010; DAMODARAN, 2010).

A formação de gel é uma propriedade funcional importante das proteínas de soja. A glicinina e a  $\beta$ -conglucina apresentam diferentes propriedades de formação de gel, uma vez que sob aquecimento, a glicinina é capaz de formar géis mais fortes que a  $\beta$ -conglucina (NAKAMURA; UTSUMI; MORI, 1986 apud KUIPERS et al., 2006).

A formação de gel pela glicinina (11S) está relacionada com a associação/dissociação das subunidades que difere conforme as condições de temperatura. A 80 °C, por exemplo, podem ser formados géis reversíveis, enquanto a 100 °C não. Em temperaturas mais baixas, as ligações de hidrogênio são as forças predominantes na formação de gel, enquanto a altas temperaturas, há desnaturação mais acentuada, com maior número de interações hidrofóbicas. As pontes dissulfeto também estão relacionadas com a formação de gel pela glicinina. A  $\beta$ -conglucina forma géis a temperaturas mais baixas do que a glicinina, e como não há grande participação de pontes dissulfeto na formação de gel desta proteína, as interações hidrofóbicas e ligações de hidrogênio são as interações mais importantes para a formação do gel. Quando há presença das duas proteínas, as propriedades do gel dependem da proporção de glicinina:  $\beta$ -conglucina, e da temperatura de aquecimento. Sabe-se que a glicinina está relacionada com a firmeza e fraturabilidade, e a  $\beta$ -conglucina contribui para a elasticidade (LAMPART-SZCZAPA, 2001).

Hou e Chang (1998) relataram que a quantidade relativa de 11S no gel tem correlação negativa com o rendimento do gel, e positiva com a firmeza.

Fiora, Pilosof e Bartholomai (1990) relacionaram positivamente capacidade de absorção de água com maior firmeza e fraturabilidade dos géis de proteína de soja. As proteínas capazes de absorver maior quantidade de água também foram capazes de retê-la contra uma força centrífuga. Já a elasticidade dos géis foi relacionada com a capacidade de absorção de óleo. Como a capacidade de absorção de óleo é uma medida do caráter hidrofóbico das proteínas, o aumento na hidrofobicidade pode aumentar a elasticidade do gel. Assim, o mecanismo de formação de gel pelas proteínas de soja pode ser o resultado da imobilização de

água por adsorção e esta pode estar associada com a formação de uma rede tridimensional através da desnaturação e ligação das proteínas.

Com relação à formação de gel, Arrese et al. (1991) concluíram que o aquecimento causou dissociação das globulinas 7S e 11S da soja. Estas posteriormente interagiram entre si para formar macrocomplexos que levaram à formação do gel. As maiores habilidades de formação de gel ocorreram em isolados que continham altas proporções das proteínas 7S e 11S, que são solúveis em água.

Babajimopoulos et al. (1983) estudaram a formação de gel pelas proteínas 7S e 11S separadas e pelo isolado proteico de soja (IPS). Foi observado que o aumento na viscosidade do progel para o IPS foi maior do que nas frações individuais, com a mesma concentração de proteína, o que pode comprovar que há interações entre as frações proteicas durante o aquecimento. As ligações de hidrogênio e interações hidrofóbicas e eletrostáticas estão entre as forças envolvidas na formação da rede do gel.

As proteínas 7S e 11S da soja podem se dissociar e se reassociar de diferentes maneiras para formar géis sob aquecimento, formando macrocomplexos que chegam a massa molecular de mais de um milhão de KDa. Investigações feitas com géis formados em diferentes condições demonstram que as forças moleculares envolvidas na formação de gel a partir de isolados proteicos de soja são ligações de hidrogênio e interações hidrofóbicas. Já a manutenção da estrutura do gel se deve a ligações de hidrogênio e também a pontes dissulfeto (UTSUMI; KINSELLA, 1985).

Shimada e Cheftel (1988) ao investigarem grupos sulfidril e pontes dissulfeto em géis de proteínas de soja, sugeriram que 10 % das proteínas são insolubilizadas em tampão durante aquecimento devido à formação de pontes dissulfeto intra ou intermoleculares. Segundo os autores, a firmeza do gel é relacionada com a concentração de proteína (mínimo de 12 a 13 % de proteína) para formação do gel a 80 °C por 30 minutos, e esta característica é pouco dependente da formação de pontes dissulfeto, porém, podem ser mais dependentes de interações hidrofóbicas, ligações de hidrogênio e do conteúdo de grupos sulfidril livres.

Hidrolisados de proteína de soja, quando comparados com o isolado proteico de soja, são capazes de formar gel, entretanto a força do gel é menor do que a do IPS. De modo geral, uma proteína de alto peso molecular é mais adequada

para a formação de gel. A hidrólise da proteína pode diminuir a hidrofobicidade nos hidrolisados e assim, diminuir a capacidade de interação entre os peptídeos. Durante a hidrólise pode haver supressão da oxidação dos grupos sulfidríla na formação de gel, e causar menor força neste (FAN et al., 2005).

Renkema, Gruppen e van Vliet (2002) encontraram diferenças nos mecanismos de desnaturação das proteínas de soja para a formação de gel relacionado com o pH. Foram encontradas variações no comportamento de dissociação/associação das proteínas de soja sob aquecimento, em função do pH, pois em pHs próximos ao ponto isoelétrico das proteínas, a temperatura de desnaturação foi mais alta do que em pHs distantes do pH isoelétrico. Além disso, em pHs abaixo de 5,0 as pontes dissulfeto permanecem intactas durante a formação do gel, enquanto em pH acima de 5,0 houve redução nas pontes dissulfeto. Estes resultados demonstraram a influência do pH na formação de gel pelas proteínas de soja.

### 3.3.3 Espuma

Espumas são compostas de gás encapsulado por um fino filme líquido contendo proteína. As propriedades espumantes de proteína de soja estão, como nas demais proteínas, relacionadas com a solubilidade em água. Para a formação de espuma, a proteína deve ser solúvel em água e flexível, a fim de formar um filme coeso na interface ar-água. Uma vez que as proteínas de soja são superfície-ativas, elas são capazes de formar espumas quando submetidas à agitação (WOLF; COWAN, 1975; HETTIARACHCHY; KALAPATHY, 1997).

Nas espumas, as bolhas de gás são separadas por membranas, compostas por dois filmes de proteína adsorvidos na interface entre um par de bolhas, com uma fina camada de líquido entre elas. O sistema é estabilizado porque a proteína diminui a tensão interfacial e forma filmes viscoelásticos e resistentes à ruptura envolvendo as bolhas (SIKORSKI, 2001).

O aumento gradual da força iônica pode favorecer a incorporação de ar durante a formação de espuma. Altas forças iônicas podem causar aumento na hidrofobicidade de superfície, e levar ao aumento das interações hidrofóbicas. Estas são importantes para estabilizar a espuma pelo aumento da rigidez do filme proteico formado (WAGNER; GUÉGUEN, 1999).

A desnaturação térmica parcial, em alguns casos, pode melhorar as propriedades espumantes das proteínas de soja, pois a desnaturação causa o desdobramento da molécula e aumenta a hidrofobicidade de superfície, o que eleva as interações na interface ar/água e a flexibilidade da molécula de proteína (WERE; HETTIARACHCHY; KALAPATHY, 1997).

Hu et al. (2010) concluíram que a capacidade de formação e estabilidade de espuma foi menor nas amostras de isolado proteico de soja com maior conteúdo de pontes dissulfeto, pois as proteínas apresentam menor flexibilidade molecular. Portanto, a redução das pontes dissulfeto aumentaria a flexibilidade da cadeia polipeptídica e, como consequência, as propriedades de formação de espuma.

#### 3.3.4 Capacidade de Absorção de Água e Óleo

Como as proteínas de soja possuem muitos resíduos de aminoácidos polares em sua cadeia polipeptídica, estas absorvem água e tendem a retê-la. Grupos carboxila e amino são ionizáveis, e por isso, a polaridade pode ser alterada por mudanças no pH, afetando as propriedades de absorção e retenção de água (WOLF; COWAN, 1975).

Wagner e Añon (1990) estudaram a influência da hidrofobicidade de superfície, do conteúdo de grupos sulfidríla e da desnaturação sobre a capacidade de absorção de água (CAA) de isolados proteicos de soja. Os autores relataram que a presença de pontes dissulfeto é importante para a capacidade de absorção de água, uma vez que, quando estas são rompidas, a absorção de água diminui.

Segundo Fiora, Pilosof e Bartholomai (1990) as proteínas de soja são solúveis, mas não demonstram absorção de água espontânea; porém, quando submetidas a aquecimento em concentrações que permitem a formação de uma rede, a absorção de água aumenta muito.

Arrese et al. (1991) estudaram as propriedades funcionais de isolados proteicos de soja comerciais e, de acordo com os resultados, sugeriram que é necessário pequeno grau de desnaturação das proteínas para que haja uma boa capacidade de absorção de água, porém extremos de desnaturação (nenhuma desnaturação ou desnaturação total das proteínas) prejudicam esta propriedade.

Várias propriedades funcionais importantes dos alimentos incluem a interação das proteínas com lipídeos. Por esta razão, é importante conhecer a capacidade da proteína de interagir com lipídeos, na formulação e processamento dos alimentos (KINSELLA, 1979).

A quantidade de gordura que uma proteína pode ligar é uma propriedade funcional importante, especialmente em produtos cárneos. É sabido que as proteínas de soja possuem boa capacidade de ligar gordura livre (NAZARETH; DEAK; JOHNSON, 2009).

#### 3.4 ENVELHECIMENTO DA SOJA E PROPRIEDADES FUNCIONAIS DAS PROTEÍNAS

O efeito do envelhecimento da soja na funcionalidade de suas proteínas é estudado principalmente nos extratos de soja e tofus.

O efeito do envelhecimento dos grãos na cor de tofu foi observado por Hou e Chang (1998). Após 60 dias de armazenamento dos grãos a 30 °C, a cor do tofu obtido mudou de amarelo creme para ligeiramente marrom. Esta mudança pode estar relacionada a reações de escurecimento no grão, tanto enzimáticas quanto não enzimáticas. Foram reportadas também mudanças nas propriedades de textura dos tofus preparados com os grãos armazenados. Houve aumento na fragilidade do gel em 30 dias de armazenamento, provavelmente devido à redução na capacidade de retenção de água das proteínas extraídas dos grãos armazenados. Além disso, a quantidade relativa de proteína 11S aumentou com o tempo de armazenamento e após 45 dias, houve aumento na dureza do gel o qual tornou-se menos suave, com aumento de sabor residual.

Em estudo com condições de armazenamento diferentes por 18 meses, Hou e Chang (2004b) constataram que o rendimento do tofu para os grãos da condição adversa (84 % UR e 30°C) reduziu com o aumento do tempo de armazenamento. A matriz do gel tornou-se mais grosseira com o tempo, fato que pode ser atribuído a uma menor capacidade de retenção de água pelas proteínas após o armazenamento. A cor do tofu preparado a partir dos grãos armazenados em condições adversas foi alterada, porém, nos demais tratamentos (20 °C, 57 % UR e 4 °C, 86 % UR) não houve mudanças. O tofu preparado a partir dos grãos armazenados sem controle de temperatura e umidade relativa por 18 meses não

apresentou diferenças significativas quando comparado ao controle (-18 °C, 47 % UR).

A redução no rendimento do tofu com o tempo de armazenamento dos grãos em condições adversas também foi encontrada por Kong et al. (2008). Foi observada uma relação entre a perda de rendimento e o decréscimo na extração das proteínas, com o armazenamento dos grãos por um ano. Neste estudo, o armazenamento também parece ter alterado as estruturas das proteínas como o enfraquecimento das interações hidrofóbicas com consequente redução na extensão da formação da rede de gel. As características de firmeza, fragilidade e elasticidade do gel aumentaram com o aumento do tempo de armazenamento dos grãos.

Kamizake (2012) constatou que o armazenamento prolongado da soja, tanto em condições ambientais quanto de envelhecimento acelerado (30 °C, 84 % UR, 9 meses) levou a alterações na composição química tanto do extrato quanto do tofu. Foi constatada a redução do conteúdo de sólidos totais, proteínas, lipídeos, carboidratos e minerais com o aumento do tempo de armazenamento. Além disso, obteve-se menor rendimento do tofu na condição de envelhecimento acelerado.

Liu (1997b) analisou estudos realizados sobre os efeitos do envelhecimento nas propriedades funcionais das proteínas de soja e ressaltou que, em geral, a redução do rendimento e propriedades funcionais das proteínas é uma função do tempo de armazenamento e se torna mais acentuada quando a umidade relativa e a temperatura são altas.

Quanto aos atributos sensoriais, Kamizake (2012) verificou que os tofus preparados a partir dos grãos de soja armazenados nas condições de envelhecimento natural (18 meses) e envelhecimento acelerado (30 °C, 84 % UR por 6 meses) apresentaram menor elasticidade, coesividade e gomosidade comparados aos tofus provenientes de grãos não envelhecidos. Estes tofus também apresentaram gosto amargo, sabor adstringente e ranço mais intenso com o envelhecimento, e a aceitação dos tofus envelhecidos foi menor do que aquela dos tofus não envelhecidos.

Na literatura verificou-se que apenas Liu et al. (2008) investigaram o efeito do envelhecimento da soja sobre as propriedades funcionais das proteínas de soja. Observaram que as propriedades funcionais dos isolados proteicos (ISN, índice de dispersibilidade de nitrogênio, atividade emulsificante), de soja armazenada em alta temperatura e umidade relativa mostraram decréscimo significativo, seguido de

degradação de subunidades proteicas. Porém este estudo não encontrou mudanças nestas propriedades funcionais quando o armazenamento dos grãos foi feito em condições sem controle de temperatura ou no freezer, durante 12 meses.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 MATÉRIA PRIMA

Para a realização deste estudo, duas cultivares de soja (*Glycine max* (L.) Merrill) foram utilizadas: BRS 267 (grãos grandes e cor amarelo claro) e Coodetec 214 (grãos pequenos e cor amarelo escuro). A cultivar BRS 267 foi cultivada no campo experimental da Embrapa-Soja Londrina – PR, na safra de 2008/2009 e a cultivar Coodetec 214, foi cultivada no Município de Nova Fátima, região Norte do Paraná, na safra de 2008/2009.

### 4.2 CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO DOS GRÃOS DE SOJA

Os grãos de soja para as análises foram obtidos de três condições de armazenamento realizados em trabalho preliminar (KAMIZAKE, 2012), sendo elas:

Envelhecimento Acelerado (EA): 84 % UR e 30 °C, Envelhecimento Natural (EN): UR e temperatura ambiente (variação no período = 17,3 °C a 24,5 °C e 59 a 93 % UR) e Controle: -18 °C e 47 % UR (HOU; CHANG, 2004a, 2004b, 2004c).

O EA dos grãos de soja teve duração de 9 meses, e para obtenção de umidade relativa de 84 %, uma solução saturada de cloreto de potássio foi depositada no fundo de caixas de plástico com tampa. Amostras de 650 g de soja foram empacotadas em sacos de tecido (filó) e colocadas sobre um suporte com base de metal perfurada que separou a amostra da solução. As caixas de plástico foram colocadas em estufas a 30 °C ± 0,5 (FREEZETEC, D1004). A temperatura e a umidade nas caixas foram monitoradas com um termo-higrômetro (INCOTERM, 7663.02.0.00).

O EN dos grãos teve duração de 18 meses. Os grãos de soja foram armazenados em sacos de tecido de algodão e colocados em ambiente sem controle de temperatura e umidade, na cidade de Londrina, região Norte do Paraná.

Os grãos do Controle, que foi considerado tempo zero, foram armazenados em pacotes de plástico à temperatura de -18 °C e UR 47 % (HOU; CHANG, 2004a, 2004b, 2004c). Os tempos de armazenamento EA e EN foram escolhidos para o estudo a partir dos resultados obtidos por Kamizake (2012).

Todos os grãos do EA e EN, após o tempo de armazenamento, foram armazenados nas mesmas condições do Controle, para a realização das análises posteriores.

#### 4.3 COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO GRÃO DE SOJA

Os conteúdos de umidade, proteína, lipídeos e cinzas foram determinados de acordo com as metodologias padrão da AOAC (1995). Para a obtenção do conteúdo de proteínas, determinou-se nitrogênio por Kjeldahl e o fator de conversão utilizado foi 6,25. O conteúdo de carboidratos foi determinado por diferença. Os resultados foram expressos em g/100 g de amostra.

#### 4.4 PH DOS GRÃOS

Para a determinação do pH, 10 g dos grãos moídos em moinho de facas (IKA, A11 Basic) foram colocados em béquer de 250 mL com 100 mL de água destilada. O conteúdo do béquer foi agitado em agitador magnético (IKA, C-MAG HS7) por 2 minutos. O pH foi determinado com um potenciômetro digital (HANNA, HI 3220) previamente calibrado com soluções tampão fosfato de pH 4,0 e 7,0.

#### 4.5 PREPARO DA FARINHA DESENGORDURADA DE SOJA

A farinha desengordurada de soja (FDS) foi obtida conforme metodologia descrita por Ávilla et al. (2007).

Os grãos de soja com a casca foram moídos em moinho de facas (IKA, A11 Basic) a 25000 rpm. Esta farinha integral foi desengordurada com hexano (50 mL de hexano para cada 15 g de farinha), sob agitação constante por 24 horas, à temperatura ambiente, a 300 rpm em mesa agitadora orbital (MARCONI, MA 140). A seguir, a farinha foi filtrada a vácuo com papel de filtro comum e após secagem por 6 horas à temperatura ambiente, obteve-se a farinha desengordurada de soja, que foi armazenada a 20 °C até sua utilização.

As farinhas desengorduradas de soja também foram submetidas às análises de composição química e pH, conforme descrito nos itens 4.3 e 4.4.

Todas as determinações a seguir foram realizadas utilizando como amostras as farinhas desengorduradas de soja (FDS).

## 4.6 PROPRIEDADES MOLECULARES DAS PROTEÍNAS DE SOJA ENVELHECIDA

### 4.6.1 Solubilidade das Proteínas em Diferentes pHs

Para avaliar a solubilidade das proteínas de soja em diferentes pHs, empregou-se a metodologia descrita por Okezie e Bello (1988). A análise foi realizada pesando-se 0,5 g de amostra e adicionando-se 25 mL de água destilada. O pH foi ajustado com HCl ou NaOH 1,0 M para os pHs 2, 4, 5, 6, 8, 10 e 12.

As amostras foram agitadas em homogeneizador mecânico (MARCONI, MA 102) por 2 minutos a 8.000 rpm e a seguir foram centrifugadas a 1.300 g durante 20 minutos (Centrífuga HARRIER, 15/80 MSE).

Do sobrenadante, uma alíquota foi retirada e o teor de proteína solúvel foi obtido através da metodologia de Kjeldahl, utilizando o fator de conversão 6,25. O conteúdo de proteínas solúveis em cada pH foi obtido pela equação 1.

(Equação 1)

$$\text{proteína solúvel (\%)} = \left( \frac{\text{proteína solúvel no sobrenadante}}{\text{proteína total da amostra}} \right) 100$$

### 4.6.2 Solubilidade das Proteínas em Soluções de Uréia e SDS

A determinação das interações não covalentes (ligações de hidrogênio e interações hidrofóbicas) nas proteínas das farinhas desengorduradas de soja foi realizada de acordo com a metodologia de Burgess e Stanley (1976), com modificações, empregando-se reagentes de mecanismos de ação conhecidos.

Para identificar a importância das interações não covalentes responsáveis pela redução de solubilidade das proteínas, a solubilidade foi avaliada em tampão fosfato (pH 7,6), na presença ou não dos seguintes reagentes: uréia 8 M e SDS (Dodecil Sulfato de Sódio) 1,5 %. Combinando-se o tampão com os reagentes citados acima, quatro solventes foram preparados como descrito a seguir:

**Solvente I :** tampão fosfato pH 7,6 (2,6 mM Na<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> e 32,5 mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>)

**Solvente II:** tampão fosfato pH 7,6 + Uréia 8 M

**Solvente III:** tampão fosfato pH 7,6 + SDS 1,5 %

**Solvente IV:** tampão fosfato pH 7,6 + Uréia 8 M + SDS 1,5 %

Para o ensaio 0,2 g de amostra foi homogeneizada com 10 mL de cada solvente, em homogenizador de tubos (IKA, Lab Dancer), a 8.000 rpm por 2 minutos. Estas misturas foram centrifugadas por 20 minutos a 1.300 g (Centrífuga HARRIER, 15/80 MSE) e os sobrenadantes filtrados em papel de filtro comum. Do sobrenadante, uma alíquota foi retirada e o teor de proteína determinado pelo método de Lowry et al. (1951).

O cálculo da solubilidade da proteína nos diferentes solventes foi feito de acordo com a equação 1.

#### 4.6.3 Hidrofobicidade de Superfície das Proteínas

A hidrofobicidade de superfície das proteínas foi determinada através do método de fluorescência com ANS (1-anilino-8-naftaleno-sulfonato), segundo descrito por Kato e Nakai (1980) e modificado por Wagner e Añon (1990).

Foram preparadas dispersões de amostras em tampão fosfato de sódio 0,01 M, pH 7,0 (em concentração suficiente para diluir as amostras em soluções de concentrações de proteína de 0,5; 0,05 e 0,005 mg/mL posteriormente). Estas dispersões foram agitadas por 30 minutos, em mesa agitadora orbital (MARCONI, MA 140) e a seguir, centrifugadas a 6.000 g por 20 minutos (Centrífuga HARRIER, 15/80 MSE).

A seguir, foi determinada a concentração de proteína no sobrenadante pelo método de Lowry et al. (1951).

O sobrenadante foi diluído no tampão mencionado acima, a fim de obter soluções com concentrações de proteína de 0,5, 0,05 e 0,005 mg/mL. Um volume de 20 µL de ANS (8 mM de ANS em tampão fosfato de sódio 0,1 M, pH 7,0) foi adicionado a 2 mL de cada solução diluída.

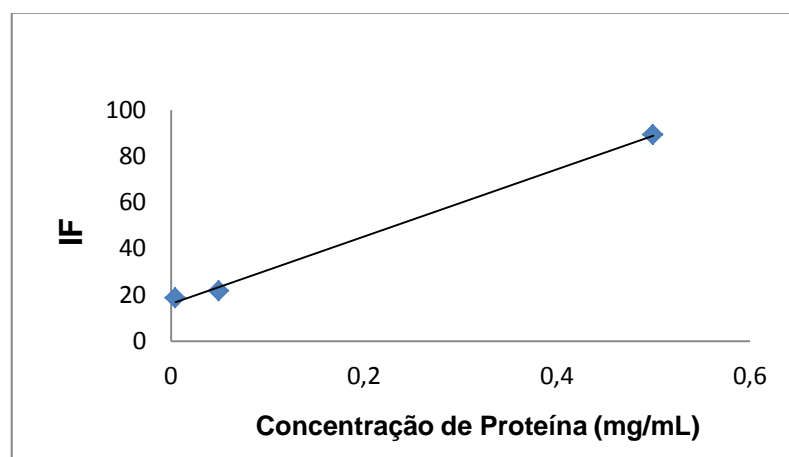
A intensidade de fluorescência (IF) foi medida nos comprimentos de onda de 374 nm (excitação) e 485 nm (emissão) em espectrofotômetro de fluorescência (Thermo Scientific Lumina Fluorescence Spectrometer – Lumina Software).

As intensidades de fluorescência de cada concentração das amostras diluídas sem a presença do reagente ANS também foram determinadas. Desta forma, a IF em cada concentração para cada amostra foi determinada

subtraindo-se a IF de cada solução com o reagente ANS da IF de cada solução sem o reagente.

Para determinar o índice de hidrofobicidade de superfície da proteína foi construído um gráfico de IF versus a concentração de proteína (Figura 1) e a análise de regressão linear foi empregada para obter o índice de hidrofobicidade de superfície.

**Figura 1** – Gráfico de Intensidade de Fluorescência versus concentração de proteína para determinação do índice de hidrofobicidade de superfície.



#### 4.6.4 Teores de Grupos Sulfidril e Dissulfeto das Proteínas

Para a determinação do conteúdo de grupos sulfidril livre, sulfidril livre total, sulfidril total e pontes dissulfeto das proteínas, a metodologia de Beveridge, Toma e Nakai (1974), com modificações realizadas por Prudencio-Ferreira e Arêas (1993) foi adotada.

A fim de determinar o conteúdo de grupos sulfidril livres (sem a ação de agentes desnaturantes, ou seja, os grupamentos sulfidril localizados na superfície das moléculas), adicionou-se 30 mg de amostra em tubo de ensaio juntamente com 5 mL de tampão Tris-Glicina pH 8,0 (0,086 M Tris + 0,09 M Glicina + 4 mM de Na<sub>2</sub>EDTA). Esta mistura foi agitada em agitador de tubos (IKA, Lab Dancer) por 2 minutos e deixada em repouso por 3 horas, em temperatura ambiente. Após este tempo, adicionou-se 100 µL de DTNB (ácido 5,5 ditiobis (2-nitrobenzóico)) (4 mg/mL de tampão), e a mistura foi deixada em repouso por 15 minutos. Logo após, centrifugou-se a 1.300 g por 20 minutos (Centrífuga HARRIER, 15/80 MSE). A

absorbância do sobrenadante foi lida em espectrofotômetro (BIOCHROM, Libra S22), em comprimento de onda de 412 nm, juntamente com o branco.

Para a determinação do conteúdo de grupos sulfidril livres totais (após desdobramento das moléculas com uréia e SDS), foi adotado o procedimento descrito acima, porém utilizando o tampão Tris-Glicina pH 8,0 adicionado de uréia 8 M e SDS 0,5 % (m/v). A absorbância do sobrenadante foi lida em espectrofotômetro (BIOCHROM, Libra S22) a 412 nm com o branco.

Para a análise de grupos sulfidril totais (após desdobramento das moléculas com uréia e SDS e redução das pontes dissulfeto com 2-Mercaptoetanol), adicionou-se 20 mg de amostra em tubo de ensaio, juntamente com 5 mL de tampão Tris-Glicina pH 8,0 contendo também uréia 8 M, SDS 0,5 % (m/v) e 2-mercaptoetanol 1 % (v/v). Esta mistura foi agitada em agitador de tubos (IKA, Lab Dancer) por 2 minutos, e deixado em repouso por 3 horas à temperatura ambiente. Após o período de repouso, adicionaram-se 3 mL de ácido tricloroacético 16 % e a seguir centrifugou-se a mistura a 1.300 g por 20 minutos. O sobrenadante foi descartado, e o precipitado lavado e centrifugado a 1.300 g por 20 minutos três vezes com ácido tricloroacético 8 % (Centrífuga HARRIER, 15/80 MSE). O precipitado foi ressuspendido em tampão Tris-Glicina pH 8,0 contendo uréia 8 M e SDS 0,5 % (m/v), e deixado por 3 horas em repouso à temperatura ambiente. Após este tempo adicionou-se 100 µL de DTNB (4 mg/mL de tampão), a mistura permaneceu em repouso por 15 minutos e então foi centrifugada a 1.300 g por 20 minutos (Centrífuga HARRIER, 15/80 MSE). A absorbância do sobrenadante foi lida em espectrofotômetro (BIOCHROM, Libra S22) a 412 nm com o branco. O branco consistiu do tampão utilizado em cada análise adicionado do reagente DTNB.

Para o cálculo de µMol de sulfidril por g de proteína foi empregada a equação 2 (HU et al., 2010).

(Equação 2)

$$SH_L; SH_{LT} \text{ ou } SH_T = [73,53 \times (Abs_{am} - Abs_{bco}) \times D] / C$$

Onde  $SH_L$ ;  $SH_{LT}$  e  $SH_T$  correspondem, respectivamente, à concentração de grupos sulfidril livres, sulfidril livres totais e sulfidril totais (incluindo as pontes dissulfeto reduzidas) nas amostras;  $Abs_{am}$  corresponde à absorbância a 412 nm das amostras contendo o reagente DTNB;  $Abs_{bco}$  corresponde à absorbância a 412 nm para o branco; D é o fator de diluição utilizado

e C é a concentração de proteína da amostra (mg/mL), determinado pelo método de Kjeldahl. O número 73,53 é um coeficiente derivado de  $10^6 / (1,36 \times 10^4)$ , sendo que  $1,36 \times 10^4$  é a absorvidade molar do DTNB segundo Ellman (1959) e  $10^6$  foi usado na conversão de mol para  $\mu\text{mol/mL}$  e de mg de proteína para g de proteína.

Obteve-se o conteúdo de pontes dissulfeto pela equação 3.

(Equação 3)

$$SS = (SH_T - SH_{LT}) / 2$$

Os resultados foram expressos em  $\mu\text{mol SH/g}$  proteína total na amostra.

#### 4.7 PROPRIEDADES FUNCIONAIS DAS FARINHAS DESENGORDURADAS OBTIDAS DE SOJA CONTROLE E ENVELHECIDA

##### 4.7.1 Solubilidade das Proteínas em Água

A solubilidade das proteínas de soja em água foi determinada de acordo com o procedimento descrito por Liu, McWatters e Phillips (1992) com modificações.

Para a análise, 1,25 g da amostra foram pesados e adicionados a 25 mL de água destilada. Esta mistura foi agitada por 45 minutos a temperatura ambiente em agitadora orbital (MARCONI, MA 140). O pH desta solução foi determinado com um potenciômetro digital (HANNA, HI 3220) e, a seguir, a mistura foi centrifugada a 9.800 g por 15 minutos (Centrífuga HARRIER, 15/80 MSE).

Do sobrenadante, uma alíquota foi retirada e o teor de nitrogênio solúvel foi determinado pelo método de Kjeldahl e a proteína foi calculada utilizando-se o fator de conversão de 6,25. O teor de proteínas solúveis em água foi obtido através da equação 1.

##### 4.7.2 Capacidade de Absorção de Água (CAA)

A capacidade de absorção de água foi determinada pelo método descrito por Beuchat (1977) modificado por Yu, Ahmedna e Goktepe (2007). Adicionou-se 1 g de amostra a 10 mL de água destilada. Agitou-se esta mistura por 2 minutos em agitador de tubos (IKA, Lab Dancer) e a seguir, esta foi deixada em

repouso por 30 minutos e então foi centrifugada a 3.000 g durante 20 minutos (Centrífuga HARRIER, 15/80 MSE).

O sobrenadante foi descartado e o tubo de centrífuga contendo os sedimentos foi pesado. A capacidade de absorção de água foi calculada com base na diferença entre a massa após a centrifugação e a massa de amostra inicial. Os resultados foram expressos em grama de água por grama de amostra.

#### 4.7.3 Capacidade de Absorção de Óleo (CAO)

A determinação da capacidade de absorção de óleo foi realizada como descrito para a capacidade de absorção de água (item 4.7.2), substituindo-se a água por óleo de milho (marca Suavit). Porém, ao invés de descartar o sobrenadante após centrifugação, o volume deste foi aferido em proveta graduada. A capacidade de absorção de óleo foi obtida conforme a equação 4. Os resultados foram expressos em grama de óleo por grama de amostra.

(Equação 4)

$$CAO = \frac{(\text{volume inicial de óleo} - \text{volume final de óleo}) \text{densidade do óleo}}{\text{massa da amostra seca}}$$

#### 4.7.4 Capacidade de Formação de Gel

##### 4.7.4.1 Preparo dos géis

Os géis de farinha desengordurada de soja foram preparados seguindo o procedimento descrito por Sathe e Salunkhe (1981) modificado por Chaud e Sgarbieri (2006), em que dispersões de 8, 10, 12, 14 e 16 % de amostra foram preparadas em 10 mL de tampão fosfato 20 mM, pH 7,0 e colocadas em tubos de ensaio. Estes foram aquecidos por 1 hora a 90 °C em banho-maria (MARCONI, MA 127). Os tubos foram resfriados rapidamente em água e a seguir deixados a 4 °C por 2 h.

A menor concentração de amostra capaz de promover formação de gel foi aquela em que não houve queda ou deslizamento das amostras pela parede do tubo ao invertê-lo.

#### 4.7.4.2 Capacidade de retenção de água dos géis

A capacidade de retenção de água (CRA) dos géis de farinha desengordurada de soja foi determinada centrifugando-se aproximadamente 8,5 g do gel, preparado conforme descrito no item 4.7.4.1, em sua concentração mínima de formação de gel. Os géis foram centrifugados a 790 g, por 30 minutos (Centrífuga HARRIER, 15/80 MSE). A capacidade de retenção de água dos géis foi calculada conforme equação 5 (HERMANSSON; LUCISANO, 1982). Os resultados foram expressos em porcentagem de retenção de água.

(Equação 5)

$$CRA (\%) = \left( \frac{\text{massa do gel após a centrifugação}}{\text{massa do gel anterior à centrifugação}} \right) 100$$

#### 4.7.5 Propriedades Emulsificantes

##### 4.7.5.1 Capacidade emulsificante

A análise da capacidade emulsificante foi feita de acordo com a metodologia descrita por Seibel e Beléia (2009), com modificações.

Foram adicionados 1,5 g de amostra a 75 mL de água destilada, em liquidificador (BRITÂNIA, modelo Diamante) à velocidade máxima. A seguir, adicionou-se óleo de milho (Suavit) através de uma bureta, à vazão de 10 mL/minuto sob agitação constante. O ponto de inversão de fase foi registrado visualmente, com a liquefação da emulsão. A capacidade emulsificante foi calculada como a quantidade de óleo (mL) emulsificada por grama de amostra.

##### 4.7.5.2 Estabilidade da emulsão

A estabilidade da emulsão foi determinada de acordo com a metodologia de Yasumatsu et al. (1972).

Um grama de amostra, 10 mL de água e 10 mL de óleo de milho (Suavit) foram emulsificados em béquer de 50 mL, em agitador de haste (MARCONI, MA 102) por 1 minuto a 7000 rpm. Esta emulsão foi colocada em tubos de centrífuga graduados, aquecida em banho-maria (MARCONI, MA 127) a 80 °C por 30 minutos

e resfriada em água corrente por 15 minutos. A emulsão foi então centrifugada a 2200 g por 5 minutos. A estabilidade da emulsão foi obtida segundo a equação 6.

(Equação 6)

$$\text{Estabilidade da emulsão (\%)} = \left( \frac{\text{Volume de emulsão remanescente no tubo}}{\text{volume de emulsão inicial no tubo}} \right) 100$$

#### 4.7.6 Propriedades Espumantes

##### 4.7.6.1 Capacidade espumante

A espuma foi preparada por dispersão de ar com um agitador mecânico (MARCONI, MA 102) a 7000 rpm, por 5 minutos, em 100 mL de solução contendo 1,0 % (p/v) de farinha desengordurada de soja em pH 7,0 (MAKRI; PAPALAMPROU; DOXASTAKIS, 2005).

A espuma foi colocada em uma proveta graduada de 250 mL, e o volume de espuma foi medido (YU; AHMEDNA; GOKTEPE, 2007). Para determinar a capacidade espumante, a equação 7 foi utilizada.

(Equação 7)

$$\text{Capacidade Espumante} = \left( \frac{\text{volume de espuma formada}}{\text{volume de suspensão inicial}} \right)$$

##### 4.7.6.2 Estabilidade da espuma

A estabilidade da espuma foi determinada pelo método descrito por Ribeiro et al. (2009). A espuma obtida no item 4.7.6.1 foi mantida em temperatura ambiente em uma proveta e a estabilidade da espuma foi medida por meio da redução percentual do volume de espuma (mL) em intervalos de 30, 60, 90 e 120 minutos.

#### 4.8 ANÁLISE DE COR DAS FARINHAS DESENGORDURADAS

A análise de cor foi realizada com o colorímetro Konica Minolta CR 400. As especificações do aparelho foram: área de leitura 11 mm, iluminante CIE D 65, iluminação em ângulo de 45°, ângulo de observação de 0° e observador padrão CIE 10°. As amostras foram colocadas no recipiente apropriado para leitura

colorimétrica de sólidos do aparelho. Este forneceu os parâmetros  $L^*$  (luminosidade),  $a^*$  (vermelho-verde) e  $b^*$  (amarelo-azul). A partir dos parâmetros  $a^*$  e  $b^*$  foi calculada a tonalidade cromática ( $h^\circ = \arctan (b^*/a^*)$ ).

#### 4.9 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O experimento foi conduzido de acordo com delineamento experimental inteiramente casualizado, empregando-se o esquema de tratamentos em parcelas subdivididas, sendo as condições de envelhecimento (EN e EA) o tratamento principal e as cultivares o tratamento secundário. A condição Controle (C) para cada cultivar foi considerada o tempo zero. O experimento foi repetido duas vezes. As análises foram realizadas em duplicata para cada repetição do experimento, exceto para a análise de hidrofobicidade de superfície, a qual foi realizada apenas duplicata, uma análise para cada repetição do experimento.

Os dados obtidos foram submetidos à ANOVA e teste de comparação de médias de Tukey ( $p \leq 0,05$ ), utilizando-se o programa STATISTICA 7.0 (STATSOFT, 2004).

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 COMPOSIÇÃO QUÍMICA E PH DOS GRÃOS

A composição centesimal e o pH dos grãos de soja das cultivares Coodetec 214 e BRS 267 nas diferentes condições de armazenamento está apresentada na Tabela 1.

Para a cultivar Coodetec 214, não houve variação no conteúdo de umidade dos grãos em relação às condições de armazenamento, porém, para a BRS 267 os grãos do EA mostraram umidade superior aos do EN, sendo estes últimos semelhantes ao Controle. O aumento da umidade pode ser uma consequência da alta umidade a que os grãos foram submetidos durante o armazenamento EA, conforme justificado por Kamizake (2012) em seu estudo. Não houve diferença entre as cultivares para o conteúdo de umidade dos grãos em todas as condições de armazenamento.

Quanto às proteínas, notou-se um comportamento diferente entre as cultivares em relação às condições de armazenamento. O EA resultou em grãos Coodetec 214 com maior conteúdo do que o Controle, enquanto que o EN não causou diferença (o teor de proteína dos grãos EN foi igual ao do controle). Os grãos BRS 267 não apresentaram diferença em relação às condições de armazenamento, no nível de significância de 5 %. Hou e Chang (2004b) observaram diferença no conteúdo de proteína do primeiro ao nono mês de armazenamento em condição adversa (30 °C, 84 % UR), embora não tenha sido constatada uma tendência de aumento ou redução. Liu et al. (2008) da mesma forma, somente obtiveram diferença significativa no teor de proteínas para o tratamento condição adversa (30 °C, 88 % UR), onde foi constatada diminuição do conteúdo de proteínas do 6° mês até o 8° mês de armazenamento, o oposto do observado neste trabalho.

Comparando-se as cultivares, o teor de proteínas da BRS 267 foi maior ( $p \leq 0,05$ ) do que o da Coodetec 214 nas condições Controle e EN. Não foi observada diferença entre as cultivares no envelhecimento acelerado ( $p > 0,05$ ).

**Tabela 1** - Composição centesimal e pH de grãos de soja Coodetec 214 e BRS 267 armazenados em diferentes condições

<b>Umidade</b>			
<b>Cultivares</b>	<b>Condições de armazenamento</b>		
	Controle	Envelhecimento Natural	Envelhecimento Acelerado
Coodetec 214	7,52 ± 0,38 <sup>aA</sup>	7,81 ± 0,30 <sup>aA</sup>	8,20 ± 0,30 <sup>aA</sup>
BRS 267	7,85 ± 0,29 <sup>abA</sup>	7,27 ± 0,48 <sup>bA</sup>	8,38 ± 0,52 <sup>aA</sup>
<b>Proteínas</b>			
<b>Cultivares</b>	<b>Condições de armazenamento</b>		
	Controle	Envelhecimento Natural	Envelhecimento Acelerado
Coodetec 214	38,98 ± 0,71 <sup>cb</sup>	40,76 ± 0,28 <sup>bcB</sup>	41,36 ± 0,35 <sup>abA</sup>
BRS 267	41,83 ± 0,21 <sup>aA</sup>	42,20 ± 0,37 <sup>aA</sup>	42,02 ± 0,16 <sup>aA</sup>
<b>Lipídeos</b>			
<b>Cultivares</b>	<b>Condições de armazenamento</b>		
	Controle	Envelhecimento Natural	Envelhecimento Acelerado
Coodetec 214	20,59 ± 0,23 <sup>bA</sup>	21,60 ± 0,48 <sup>aA</sup>	20,57 ± 0,52 <sup>bA</sup>
BRS 267	20,59 ± 0,46 <sup>aA</sup>	19,45 ± 0,30 <sup>bB</sup>	18,94 ± 0,08 <sup>bB</sup>
<b>Cinzas</b>			
<b>Cultivares</b>	<b>Condições de armazenamento</b>		
	Controle	Envelhecimento Natural	Envelhecimento Acelerado
Coodetec 214	4,85 ± 0,33 <sup>ab</sup>	4,51 ± 0,38 <sup>ab</sup>	4,84 ± 0,17 <sup>ab</sup>
BRS 267	5,70 ± 0,24 <sup>aA</sup>	5,50 ± 0,24 <sup>aA</sup>	5,54 ± 0,15 <sup>aA</sup>
<b>Carboidratos</b>			
<b>Cultivares</b>	<b>Condições de armazenamento</b>		
	Controle	Envelhecimento Natural	Envelhecimento Acelerado
Coodetec 214	34,58 ± 1,04 <sup>aA</sup>	33,13 ± 0,94 <sup>aA</sup>	33,23 ± 0,77 <sup>aA</sup>
BRS 267	31,88 ± 0,79 <sup>ab</sup>	32,85 ± 0,47 <sup>aA</sup>	33,50 ± 0,22 <sup>aA</sup>
<b>pH dos Grãos</b>			
<b>Cultivares</b>	<b>Condições de armazenamento</b>		
	Controle	Envelhecimento Natural	Envelhecimento Acelerado
Coodetec 214	6,65 ± 0,04 <sup>aA</sup>	6,50 ± 0,03 <sup>bA</sup>	5,91 ± 0,01 <sup>cb</sup>
BRS 267	6,64 ± 0,03 <sup>aA</sup>	6,48 ± 0,01 <sup>bA</sup>	6,00 ± 0,02 <sup>ca</sup>

Valores representam média de duas determinações em cada repetição ± desvio padrão.

Médias na mesma coluna, seguidas de letras maiúsculas diferentes e na linha, acompanhadas de letras minúsculas diferentes, indicam diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ).

Valores expressos em base seca, exceto umidade. Os resultados foram expressos em g/100 g amostra.

Controle= (Tempo zero de armazenamento): -18 °C e 47 % UR. Envelhecimento Natural (EN): 18 meses, temperatura e UR ambiente (variação no período = 17,3 a 24,5 °C e 59 a 93 % UR). Envelhecimento Acelerado (EA): 9 meses, 30 °C e 84 % UR.

Observou-se que o EN resultou em aumento no conteúdo de lipídeos para a cultivar Coodetec 214. Hou e Chang (2004b), por outro lado, constataram aumento no conteúdo de lipídeos com o armazenamento em condição adversa após nove meses (30 °C, 84 % UR), embora os autores não tenham explicado a causa deste aumento. Porém, no armazenamento em condições naturais (sem controle de UR e temperatura) e amenas (20 °C, 57 % UR), os autores não encontraram alterações. Para cultivar BRS 267 houve redução no teor de

lipídeos com o armazenamento nas condições EN e EA. Resultados similares foram obtidos por Narayan, Chauhan e Verma (1988), onde foi observado diminuição de lipídeos com o tempo de armazenamento, em condição ambiente, até 9 anos. O conteúdo de lipídeos das duas cultivares na condição controle foi idêntico, porém nas condições de EN e EA, a cultivar Coodetec 214 apresentou maior teor ( $p \leq 0,05$ ).

Para as duas cultivares, não houve diferença no conteúdo de cinzas ( $p > 0,05$ ) nas condições de armazenamento estudadas, de forma semelhante aos resultados encontrados por Narayan, Chauhan e Verma (1988). A cultivar BRS 267 apresentou maior teor de cinzas que a cultivar Coodetec 214 em todas as condições de armazenamento.

O conteúdo de carboidratos não foi alterado com as condições de armazenamento, nas duas cultivares estudadas. A cultivar Coodetec 214 continha maior conteúdo de carboidratos do que a cultivar BRS 267 somente para o Controle.

O conteúdo, em base seca, de proteína, cinzas, lipídeos e carboidratos encontrados nas amostras em todas as condições de armazenamento estão próximos aos valores obtidos por outros autores (SAIO et al., 1980; SAIO; KOBIAKAWA; KITO, 1982; HOU; CHANG, 1998; VIEIRA; CABRAL; DE PAULA, 1999; SILVA; CARRÃO-PANIZZI; PRUDENCIO, 2009).

Foi observado declínio no pH dos grãos de soja com as condições de envelhecimento em ambas as cultivares, sendo esta diminuição mais acentuada na condição EA. Outra observação foi que somente o pH dos grãos da cultivar Coodetec 214 do tratamento EA mostraram-se inferiores ao da cultivar BRS 267.

Saio et al. (1980), Hou e Chang (1998) e Kamizake (2012) também constataram aumento na acidez de grãos de soja após armazenamento, em diferentes tempos, em condições de 25 °C e 35 °C, UR de 60 e 90 %, 30 °C e 85 % UR e 30 °C e 84 % UR, respectivamente. Kong et al. (2008) observaram que o pH (5,98) do extrato de soja de grãos armazenados por 12 meses em diferentes condições (22 °C a 50 °C e UR 55 % a 80 %) era inferior ao extrato de soja controle (6,58).

O aumento na acidez ou a redução do pH tem sido relacionado à hidrólise de lipídeos e ao aumento de ácidos orgânicos como resultado da oxidação de ácidos graxos durante o armazenamento da soja (SAIO et al., 1980). O que pode ser corroborado pelo aumento no valor de peróxido e do conteúdo de ácidos graxos

livres encontrado por Narayan, Chauhan e Verma (1988), em soja após 2 e 9 anos de armazenamento.

## 5.2 COMPOSIÇÃO QUÍMICA DA FARINHA DESENGORDURADA DE SOJA

As farinhas desengorduradas de soja obtidas dos grãos armazenados em diferentes condições apresentaram, em base seca, conteúdo de proteína entre 47,93 e 52,15 g/100 g de amostra, e teor de lipídeos entre 0,81 g/100 g e 1,30 g/100 g de amostra (Tabela 2). Estes valores foram inferiores aos relatados para farinha desengordurada por Saio, Kobaiakawa e Kito (1982) (proteína de 56,19 % e 1,70 % de lipídeos).

**Tabela 2** - Composição centesimal das farinhas desengorduradas de grãos de soja Coodetec 214 e BRS 267 armazenados em diferentes condições

<b>Umidade</b>			
<b>Cultivares</b>	<b>Condições de armazenamento</b>		
	Controle	Envelhecimento Natural	Envelhecimento Acelerado
Coodetec 214	10,28 ± 0,60 <sup>aA</sup>	10,19 ± 0,27 <sup>aA</sup>	9,26 ± 0,38 <sup>aA</sup>
BRS 267	9,79 ± 0,42 <sup>aA</sup>	9,36 ± 0,20 <sup>aA</sup>	9,94 ± 0,90 <sup>aA</sup>
<b>Proteínas</b>			
<b>Cultivares</b>	<b>Condições de armazenamento</b>		
	Controle	Envelhecimento Natural	Envelhecimento Acelerado
Coodetec 214	47,93 ± 0,90 <sup>bA</sup>	51,95 ± 0,50 <sup>aA</sup>	51,23 ± 0,43 <sup>aA</sup>
BRS 267	48,94 ± 0,62 <sup>bA</sup>	52,15 ± 0,40 <sup>aA</sup>	48,01 ± 0,82 <sup>bB</sup>
<b>Lipídeos</b>			
<b>Cultivares</b>	<b>Condições de armazenamento</b>		
	Controle	Envelhecimento Natural	Envelhecimento Acelerado
Coodetec 214	0,97 ± 0,35 <sup>aA</sup>	1,03 ± 0,39 <sup>aA</sup>	1,30 ± 0,27 <sup>aA</sup>
BRS 267	0,99 ± 0,59 <sup>aA</sup>	0,81 ± 0,31 <sup>aA</sup>	0,95 ± 0,26 <sup>aA</sup>
<b>Cinzas</b>			
<b>Cultivares</b>	<b>Condições de armazenamento</b>		
	Controle	Envelhecimento Natural	Envelhecimento Acelerado
Coodetec 214	6,43 ± 0,55 <sup>aB</sup>	6,67 ± 0,17 <sup>aA</sup>	6,33 ± 0,19 <sup>aA</sup>
BRS 267	7,61 ± 0,10 <sup>aA</sup>	7,50 ± 0,42 <sup>aA</sup>	7,23 ± 0,63 <sup>aA</sup>
<b>Carboidratos</b>			
<b>Cultivares</b>	<b>Condições de armazenamento</b>		
	Controle	Envelhecimento Natural	Envelhecimento Acelerado
Coodetec 214	44,67 ± 0,84 <sup>aA</sup>	40,35 ± 0,87 <sup>bA</sup>	40,96 ± 0,40 <sup>bB</sup>
BRS 267	42,46 ± 0,45 <sup>aB</sup>	39,53 ± 0,74 <sup>bA</sup>	43,81 ± 1,20 <sup>aA</sup>

Valores representam média de duas determinações em cada repetição ± desvio padrão.

Médias na mesma coluna, seguidas de letras maiúsculas diferentes e na linha, acompanhadas de letras minúsculas diferentes, indicam diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ).

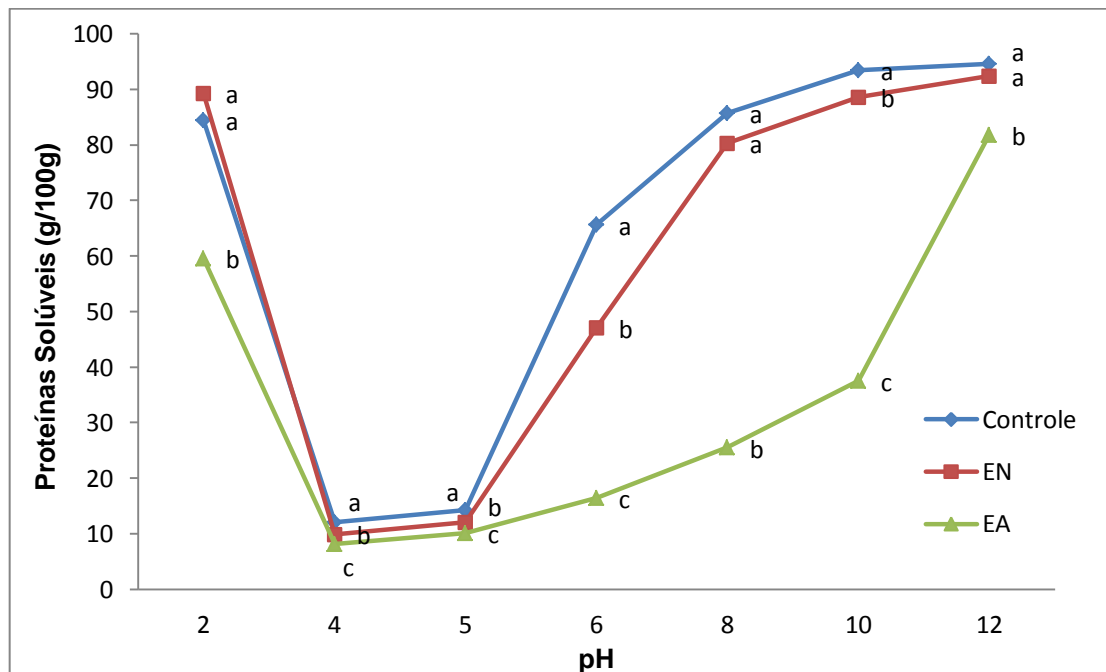
Valores expressos em base seca, exceto umidade. Os resultados foram expressos em g/100 g amostra. Controle= (Tempo zero de armazenamento): -18 °C e 47 % UR. Envelhecimento Natural (EN): 18 meses, temperatura e UR ambiente (variação no período = 17,3 a 24,5 °C e 59 a 93 % UR). Envelhecimento Acelerado (EA): 9 meses, 30 °C e 84 % UR.

### 5.3 SOLUBILIDADE DAS PROTEÍNAS DAS FARINHAS DESENGORDURADAS DE SOJA EM DIFERENTES PHs

As curvas de solubilidade das proteínas em diferentes pHs para as cultivares Coodetec 214 e BRS 267 estão mostradas nas figuras 2 e 3 respectivamente. Observou-se maior solubilidade das proteínas em valores de pHs extremos (pH 2,0 e 12,0), enquanto a menor solubilidade foi encontrada na faixa de pH de 4,0 a 5,0, estando de acordo com relatos na literatura para proteína de soja (SEIBEL; BELÉIA, 2009; KAMIZAKE, 2012).

Para as duas cultivares, as proteínas das farinhas de grãos EA e EN apresentaram menor solubilidade, em qualquer pH, do que as proteínas da condição Controle, sendo que na condição EA a redução de solubilidade proteica foi mais acentuada em todos os pHs. Pode-se observar nas figuras 2 e 3 que o formato da curva da amostra EA apresenta-se diferente das demais, devido a esta maior redução de solubilidade.

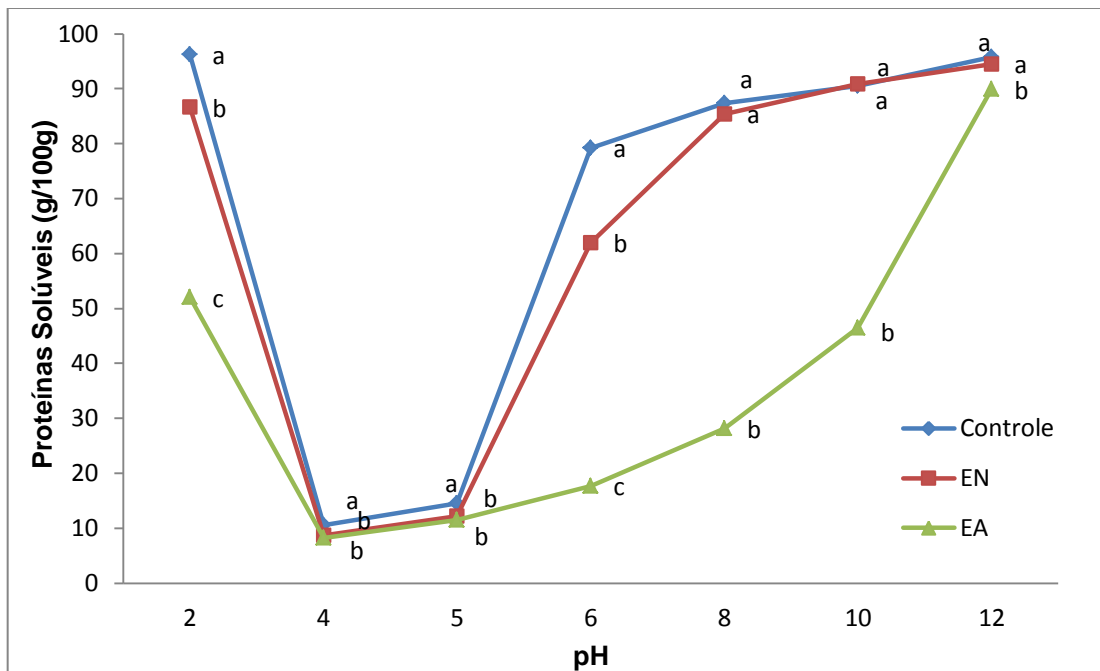
**Figura 2** - Curva de solubilidade proteica em diferentes pHs de farinha desengordurada de grãos de soja cultivar Coodetec 214 armazenados em diferentes condições



Letras diferentes em cada pH indicam diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ).

Controle= (Tempo zero de armazenamento): -18 °C e 47 % UR. Envelhecimento Natural (EN): 18 meses, temperatura e UR ambiente (variação no período = 17,3 a 24,5 °C e 59 a 93 % UR). Envelhecimento Acelerado (EA): 9 meses, 30 °C e 84 % UR.

**Figura 3** - Curva de solubilidade proteica em diferentes pHs de farinha desengordurada de grãos de soja cultivar BRS 267 armazenados em diferentes condições



Letras diferentes em cada pH indicam diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ).

Controle= (Tempo zero de armazenamento):  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$  e 47 % UR. Envelhecimento Natural (EN): 18 meses, temperatura e UR ambiente (variação no período = 17,3 a 24,5  $^{\circ}\text{C}$  e 59 a 93 % UR). Envelhecimento Acelerado (EA): 9 meses, 30  $^{\circ}\text{C}$  e 84 % UR.

Segundo Saio, Kobaiakawa e Kito (1982) com o envelhecimento do grão de soja, as principais frações proteicas da soja tornam-se mais difíceis de serem extraídas, e isto pode ocorrer devido à agregação, envolvendo pontes dissulfeto, da fração glicinina para um estado insolúvel. Da mesma forma, Hou e Chang (2004a, 2004c) encontraram redução na extração de glicinina e  $\beta$ -conglucina após armazenamento por 8 meses em condições adversas (30  $^{\circ}\text{C}$  e 84 % UR), o que foi justificado pela desnaturação destas proteínas, tornando-as mais difíceis de serem extraídas.

A redução da extração das proteínas e de sua solubilidade após o armazenamento tem sido justificada pelo aumento na acidez dos grãos durante o armazenamento (SAIO et al., 1980; HOU; CHANG, 1998; KONG et al., 2008). No presente estudo, o aumento da acidez também foi observado por meio da redução do pH nos grãos após armazenamento nas condições EN e EA (Tabela 1) e de suas respectivas farinhas (Tabela 3). O aumento da acidez durante o armazenamento dos grãos pode ocasionar alterações na estrutura das moléculas das proteínas

(desnaturação) que conduzem à redução de solubilidade (HOU; CHANG, 2004a, 2004c).

Kamizake (2012) também observou redução de solubilidade proteica com o tempo de armazenamento EN (temperatura e UR ambientes, 0 a 18 meses) e EA (30 °C, 84 % UR, 0 a 9 meses) das mesmas cultivares aqui estudadas. Quando comparou o perfil eletroforético em SDS-PAGE das frações proteicas constatou que no EN com 3, 12 e 18 meses não houve diferença em relação ao controle, mas nos tempos de 8 e 9 meses de EA notou um decréscimo das frações proteicas 11S e 7S e relacionou esta observação à redução de solubilidade proteica devido à uma possível desnaturação proteica.

**Tabela 3** – pH das farinhas desengorduradas de grãos de soja Coodetec 214 e BRS 267 armazenados em diferentes condições

Cultivares	pH da Farinha Desengordurada		
	Condições de armazenamento		
	Controle	Envelhecimento Natural	Envelhecimento Acelerado
Coodetec 214	6,61 ± 0,005 <sup>aa</sup>	6,49 ± 0,01 <sup>ba</sup>	5,88 ± 0,005 <sup>cb</sup>
BRS 267	6,61 ± 0,005 <sup>aa</sup>	6,50 ± 0,001 <sup>ba</sup>	6,01 ± 0,02 <sup>ca</sup>

Valores representam média de duas determinações em cada repetição ± desvio padrão.

Médias na mesma coluna, seguidas de letras maiúsculas diferentes e na linha, acompanhadas de letras minúsculas diferentes, indicam diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ).

Controle= (Tempo zero de armazenamento): -18 °C e 47 % UR. Envelhecimento Natural (EN): 18 meses, temperatura e UR ambiente (variação no período = 17,3 a 24,5 °C e 59 a 93 % UR). Envelhecimento Acelerado (EA): 9 meses, 30 °C e 84 % UR.

## 5.4 ALTERAÇÕES MOLECULARES NAS PROTEÍNAS DEVIDO AO ENVELHECIMENTO DOS GRÃOS

### 5.4.1 Solubilidade das Proteínas em Uréia e SDS e Interações Não Covalentes

Na Tabela 4 estão os resultados da solubilidade das proteínas de soja armazenada em diferentes condições, em tampão fosfato (pH 7,6) contendo ou não uréia 8 M e/ou SDS 1,5 %. Nota-se que a solubilidade das proteínas de grãos envelhecidos nas duas condições (EN e EA) foi menor que das proteínas dos grãos da amostra Controle ( $p \leq 0,05$ ), sendo esta alteração mais acentuada nas amostras do EA para as duas cultivares. Quando as farinhas foram tratadas com tampão contendo uréia houve uma solubilização adicional das proteínas dos grãos Controle

(cerca de 24 % para a BRS 267 e de 43 % para a Coodetec 214) e envelhecidos. Para grãos EN, verifica-se que as proteínas da BRS 267 tiveram a solubilidade igualada à dos grãos Controle (aumento de 35 %) e na Coodetec 214, apesar do aumento de solubilidade de 30 %, esta ainda não alcançou um valor semelhante à da condição Controle. Para grãos EA, apesar da solubilidade adicional de aproximadamente 33 %, o valor permaneceu bem menor do que das proteínas dos grãos Controle para as duas cultivares. Com a adição de SDS ao tampão também verifica-se uma solubilização adicional das proteínas de 10 a 19 % nos grãos Controle, e de aproximadamente 25 % nos grãos EN, assim a solubilidade assemelhou-se a dos Controles, e de cerca de 40 % dos grãos EA, que continuou menor que a solubilidade das proteínas do Controle ( $p \leq 0,05$ ). O tratamento com os reagentes uréia e SDS combinados também acarretou solubilidade adicional das proteínas, que apesar de não ser a soma dos valores nos reagentes isolados, mostrou o mesmo comportamento quando se comparam as condições de armazenamento Controle, EN e EA.

Uma forma de tentar esclarecer os tipos de interações não covalentes que contribuíram para a insolubilização das proteínas devido ao envelhecimento da soja é a comparação das solubilidades em tampão contendo reagentes de mecanismos de ação conhecidos, como a uréia e o SDS, com a solubilidade em solução tampão sem a presença destes reagentes. O tampão sozinho dissolve proteínas no estado nativo. A uréia causa uma solubilização adicional das proteínas por romper ligações de hidrogênio e também interações hidrofóbicas, assim dissolvendo proteínas desnaturadas e pequenos agregados proteicos estabilizados por estes tipos de interações (BURGESS; STANLEY, 1976; HAGER, 1984; LI; LEE, 1996; RANGAVAJHYALA; GHORPADE; HANNA, 1997; CHEN; WEI; ZHANG, 2011). O SDS rompe interações hidrofóbicas das proteínas e também aumenta sua solubilidade (BURGESS; STANLEY, 1976; LI; LEE, 1996; CHEN; WEI; ZHANG, 2011; KONG; CHANG, 2013).

Os resultados encontrados indicam que a redução na solubilidade proteica após o EN provavelmente é causado por alterações moleculares nas proteínas, como um maior dobramento das moléculas, que foram estabilizadas, principalmente, por interações não covalentes (ligações de hidrogênio e interações hidrofóbicas). Após o EA, além dessas interações, deve haver outras interações que diminuem a solubilidade, pois apesar da solubilização adicional das proteínas na

presença de uréia e SDS, o valor ainda não se igualou a solubilidade dos grãos Controle.

**Tabela 4** – Solubilidade proteica em tampão fosfato pH 7,6 com e sem uréia e/ou SDS das farinhas desengorduradas de grãos de soja Coodetec 214 e BRS 267 armazenados em diferentes condições

<b>Tampão Fosfato pH 7,6</b>			
<b>Condições de armazenamento</b>			
<b>Cultivares</b>	<b>Controle</b>	<b>Envelhecimento Natural</b>	<b>Envelhecimento Acelerado</b>
Coodetec 214	52,24 ± 2,80 <sup>aB</sup>	45,74 ± 2,40 <sup>bB</sup>	15,33 ± 1,06 <sup>cA</sup>
BRS 267	68,34 ± 3,24 <sup>aA</sup>	52,42 ± 1,07 <sup>bA</sup>	18,35 ± 1,21 <sup>cA</sup>
<b>Tampão Fosfato pH 7,6 + Uréia 8 M</b>			
<b>Condições de armazenamento</b>			
<b>Cultivares</b>	<b>Controle</b>	<b>Envelhecimento Natural</b>	<b>Envelhecimento Acelerado</b>
Coodetec 214	94,99 ± 4,22 <sup>aA</sup>	76,52 ± 4,30 <sup>bB</sup>	48,61 ± 5,16 <sup>cA</sup>
BRS 267	92,56 ± 4,47 <sup>aA</sup>	87,01 ± 2,63 <sup>aA</sup>	53,18 ± 3,05 <sup>bA</sup>
<b>Tampão Fosfato pH 7,6 + SDS 1,5%</b>			
<b>Condições de armazenamento</b>			
<b>Cultivares</b>	<b>Controle</b>	<b>Envelhecimento Natural</b>	<b>Envelhecimento Acelerado</b>
Coodetec 214	71,31 ± 6,00 <sup>aA</sup>	72,96 ± 0,43 <sup>aA</sup>	57,81 ± 5,27 <sup>bA</sup>
BRS 267	78,37 ± 6,32 <sup>aA</sup>	77,11 ± 4,32 <sup>aA</sup>	58,28 ± 4,24 <sup>bA</sup>
<b>Tampão Fosfato pH 7,6 + Uréia 8 M + SDS 1,5%</b>			
<b>Condições de armazenamento</b>			
<b>Cultivares</b>	<b>Controle</b>	<b>Envelhecimento Natural</b>	<b>Envelhecimento Acelerado</b>
Coodetec 214	88,15 ± 5,57 <sup>aA</sup>	73,81 ± 4,55 <sup>bB</sup>	70,72 ± 2,09 <sup>bB</sup>
BRS 267	95,11 ± 3,11 <sup>aA</sup>	90,76 ± 3,27 <sup>abA</sup>	81,82 ± 5,29 <sup>bA</sup>

Valores representam média de duas determinações em cada repetição ± desvio padrão.

Médias na mesma coluna, seguidas de letras maiúsculas diferentes e na linha, acompanhadas de letras minúsculas diferentes, indicam diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ).

Os resultados foram expressos em g proteína solúvel/100 g proteína total.

Controle= (Tempo zero de armazenamento): -18 °C e 47 % UR. Envelhecimento Natural (EN): 18 meses, temperatura e UR ambiente (variação no período = 17,3 a 24,5 °C e 59 a 93 % UR). Envelhecimento Acelerado (EA): 9 meses, 30 °C e 84 % UR.

Kong e Chang (2013) encontraram, após armazenamento da soja durante 12 meses a 40 °C e 65 % de UR, solubilidade das proteínas de soja em água de 15,2 % e, em solução aquosa com SDS (1 % v/v), de 43,6 %, demonstrando a importância das interações hidrofóbicas na insolubilização.

#### 5.4.2 Hidrofobicidade de Superfície das Moléculas de Proteínas

A hidrofobicidade de superfície de uma proteína é uma das características estruturais usadas para avaliar mudanças na conformação proteica (DAMODARAN, 2010; HOU; CHANG, 2004a). Os valores da hidrofobicidade de superfície das proteínas das cultivares Coodetec 214 e BRS 267 Controles e envelhecidas nas diferentes condições encontram-se na Tabela 5.

O EA ocasionou declínio da hidrofobicidade de superfície das proteínas nas duas cultivares de soja estudadas; enquanto que o EN resultou neste efeito somente para a cultivar BRS 267 ( $p \leq 0,05$ ) e para Coodetec 214 não foi observada diferença em relação ao Controle ( $p > 0,05$ ). Comparando-se as cultivares, a hidrofobicidade de superfície das proteínas da BRS 267 foi menor do que a da Coodetec 214 armazenadas nas duas condições de envelhecimento.

**Tabela 5** – Hidrofobicidade de superfície das proteínas das farinhas desengorduradas de grãos de soja Coodetec 214 e BRS 267 armazenados em diferentes condições

Cultivares	Hidrofobicidade de Superfície*		
	Condições de armazenamento		
	Controle	Envelhecimento Natural	Envelhecimento Acelerado
Coodetec 214	186,41 ± 1,89 <sup>aa</sup>	209,81 ± 3,82 <sup>aa</sup>	144,09 ± 1,96 <sup>ba</sup>
BRS 267	191,33 ± 7,07 <sup>aa</sup>	157,96 ± 4,81 <sup>bb</sup>	113,75 ± 16,44 <sup>ca</sup>

Valores representam média de duas determinações em cada repetição ± desvio padrão.

Médias na mesma coluna, seguidas de letras maiúsculas diferentes e na linha, acompanhadas de letras minúsculas diferentes, indicam diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ).

\*Sem unidade.

Controle= (Tempo zero de armazenamento): -18 °C e 47 % UR. Envelhecimento Natural (EN): 18 meses, temperatura e UR ambiente (variação no período = 17,3 a 24,5 °C e 59 a 93 % UR). Envelhecimento Acelerado (EA): 9 meses, 30 °C e 84 % UR.

Hou e Chang (2004a, 2004c) observaram redução significativa na hidrofobicidade de superfície da glicinina (11S) e da  $\beta$ -conglucina (7S) de soja armazenada em condições adversas (30 °C, 84 % UR) por 8 meses. Estes resultados são semelhantes aos obtidos neste estudo. Porém, estes autores não observaram mudanças na hidrofobicidade de superfície das proteínas para as demais condições de armazenamento testadas (20 °C e 57 % UR e condições ambientes por 18 meses). Também constataram que o armazenamento da soja nas condições já citadas não causou alteração na massa molecular das proteínas 11S e

7S, apesar da redução da hidrofobicidade de superfície e do aumento das pontes dissulfeto das proteínas e que na condição adversa (30 °C, 84 % UR) também havia aumento da estrutura  $\alpha$ -hélice das proteínas. A partir destes resultados deduziu-se que em condições adversas de armazenamento, as moléculas de proteínas apresentam uma tendência a um maior dobramento ou encolhimento.

Desta forma, pode-se considerar que a redução de hidrofobicidade de superfície das proteínas dos grãos envelhecidos ocorre devido à mudança conformacional das moléculas, como dobramento ou encolhimento, que levaria à menor exposição de grupos hidrofóbicos na superfície, o que pode ser apoiado pelo aumento das interações hidrofóbicas nas moléculas proteicas (intra ou intermoleculares) (Tabela 4) e a redução na solubilidade destas proteínas (Figuras 2 e 3; Tabela 7).

#### 5.4.3 Teor de Grupos Sulfidril e Dissulfeto das Moléculas de Proteínas

O teor de grupos sulfidril (SH) e pontes dissulfeto (SS) são importantes para a conformação das moléculas de proteínas, pois dão rigidez estrutural e estabilidade à molécula (SCILINGO; AÑON, 2004). Os teores de grupos sulfidril livres, sulfidril livres totais e pontes dissulfeto das proteínas das farinhas desengorduradas obtidas de grãos armazenados em diferentes condições estão apresentados na Tabela 6.

Os teores de sulfidril livre observados (1,75 a 5,38  $\mu$ Mol SH/g proteína) estão em conformidade com os resultados apresentados na literatura, que variam de 0,26 a 9,13  $\mu$ Mol SH/ g proteína de soja (HU et al., 2013; WU; WU; HUA, 2010; FAN et. al., 2005; SOUZA; NETTO, 2006).

Foi verificada redução no teor de grupos sulfidril livres e sulfidril livres totais das proteínas, em ambas as cultivares ( $p \leq 0,05$ ), após o armazenamento nas condições EN e EA, sendo a diminuição mais acentuada nesta última condição. Comparando-se as cultivares em relação ao conteúdo de grupos sulfidril livres, nota-se que as proteínas da Coodetec 214 continham maior valor do que a BRS 267 somente na condição Controle ( $p \leq 0,05$ ); já em relação aos grupos sulfidril livres totais, a BRS 267 possuía maior conteúdo que Coodetec 214 nas condições EN e EA.

O conteúdo de pontes dissulfeto das proteínas foram superiores nas amostras da condição EA (30 °C, 84 % UR), quando comparado à condição EN e Controle ( $p \leq 0,05$ ), os quais não apresentaram diferença entre si, nas duas cultivares analisadas ( $p \leq 0,05$ ). Em todas as condições de armazenamento, as proteínas da cultivar Coodetec 214 apresentaram maior conteúdo de pontes dissulfeto que as da BRS 267.

Os resultados indicam que ocorreram mudanças conformacionais nas proteínas das cultivares devido ao envelhecimento da soja, principalmente na condição de EA. Também indicam que houve formação de pontes dissulfeto a partir de grupos sulfidrilas livres e/ou sulfidrilas livres totais provavelmente devido a um maior dobramento ou agregação das moléculas das proteínas, conforme sugerido por Hou e Chang (2004a, 2004c).

**Tabela 6** – Conteúdo de grupos Sulfidrilas (SH) e Dissulfeto das proteínas das farinhas desengorduradas de grãos de soja Coodetec 214 e BRS 267 armazenados em diferentes condições

<b>SH Livre (<math>\mu\text{Mol SH/g}</math> proteína)</b>			
<b>Cultivares</b>	<b>Condições de armazenamento</b>		
	Controle	Envelhecimento Natural	Envelhecimento Acelerado
Coodetec 214	5,38 $\pm$ 0,34 <sup>aA</sup>	3,94 $\pm$ 0,07 <sup>bA</sup>	1,75 $\pm$ 0,12 <sup>cA</sup>
BRS 267	4,74 $\pm$ 0,19 <sup>aB</sup>	3,59 $\pm$ 0,15 <sup>bA</sup>	1,78 $\pm$ 0,12 <sup>cA</sup>
<b>SH Livre Total (<math>\mu\text{Mol SH/g}</math> proteína)</b>			
<b>Cultivares</b>	<b>Condições de armazenamento</b>		
	Controle	Envelhecimento Natural	Envelhecimento Acelerado
Coodetec 214	9,78 $\pm$ 0,37 <sup>aA</sup>	6,92 $\pm$ 0,13 <sup>bB</sup>	5,75 $\pm$ 0,29 <sup>cB</sup>
BRS 267	10,10 $\pm$ 0,20 <sup>aA</sup>	8,30 $\pm$ 0,15 <sup>bA</sup>	8,74 $\pm$ 0,24 <sup>bA</sup>
<b>Dissulfeto (<math>\mu\text{Mol SH/g}</math> proteína)</b>			
<b>Cultivares</b>	<b>Condições de armazenamento</b>		
	Controle	Envelhecimento Natural	Envelhecimento Acelerado
Coodetec 214	7,08 $\pm$ 1,73 <sup>bA</sup>	7,82 $\pm$ 0,42 <sup>bA</sup>	31,81 $\pm$ 1,91 <sup>aA</sup>
BRS 267	1,82 $\pm$ 0,43 <sup>bB</sup>	3,31 $\pm$ 1,51 <sup>bB</sup>	18,64 $\pm$ 1,49 <sup>aB</sup>

Valores representam média de duas determinações em cada repetição  $\pm$  desvio padrão.

Médias na mesma coluna, seguidas de letras maiúsculas diferentes e na linha, acompanhadas de letras minúsculas diferentes, indicam diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ).

Controle= (Tempo zero de armazenamento): -18 °C e 47 % UR. Envelhecimento Natural (EN): 18 meses, temperatura e UR ambiente (variação no período = 17,3 a 24,5 °C e 59 a 93 % UR). Envelhecimento Acelerado (EA): 9 meses, 30 °C e 84 % UR.

Hou e Chang (2004a, 2004c) encontraram aumento no conteúdo de grupos sulfidrilas livres nas moléculas de glicinina e  $\beta$ -conglucina de soja

armazenada em condição adversa (84 % UR, 30 °C) e ambiente (sem controle de temperatura e UR), por 9 e 18 meses, respectivamente. Quanto ao conteúdo de sulfidrilas livres totais, para a soja da condição adversa observaram aumento na fração  $\beta$ -conglucina, e o oposto na fração glicina. Notaram aumento no teor de sulfidrilas totais e de pontes dissulfeto na glicina das sojas armazenadas nas duas condições, porém não encontraram alteração para a  $\beta$ -conglucina da soja na condição ambiente de armazenamento.

A partir dos resultados da solubilidade proteica em tampão fosfato (pH 7,6) contendo ou não uréia e/ou SDS, hidrofobicidade de superfície e teores de grupamentos sulfidrilas livres e de pontes dissulfeto, pode-se inferir que a redução de solubilidade das proteínas após o envelhecimento da soja é causada pelo maior dobramento das moléculas e ou até mesmo por uma maior interação entre as subunidades das proteínas glicina e  $\beta$ -conglucina. Sendo que no caso das proteínas dos grãos EN as principais interações que estabilizam a nova estrutura proteica são as não covalentes (ligação de hidrogênio e interações hidrofóbicas) e nas proteínas dos grãos EA, além das interações não covalentes as pontes dissulfeto também apresentam um papel importante.

## 5.5 EFEITO DO ENVELHECIMENTO DA SOJA NAS PROPRIEDADES FUNCIONAIS DAS PROTEÍNAS DA FARINHA DESENGORDURADA

### 5.5.1 Solubilidade das Proteínas em Água

Para as duas cultivares, constatou-se que houve diminuição na solubilidade das proteínas em água após o armazenamento dos grãos nas condições EN e EA ( $p \leq 0,05$ ), sendo a mais acentuada na condição EA. A solubilidade das proteínas em água da cultivar BRS 267 foi maior que da cultivar Coodetec 214 em todos os tratamentos ( $p \leq 0,05$ ) (Tabela 7). Este resultado é coerente ao observado nas avaliações de solubilidade das proteínas em diferentes pHs e em tampão fosfato pH 7,6 (Figuras 2 e 3, Tabela 4).

Resultados semelhantes foram obtidos por Liu et al. (2008), em soja armazenada em condições adversas (88 % UR, 30 °C) por 8 meses, onde a solubilidade proteica da farinha desengordurada caiu de aproximadamente 75 % (controle) para 20 %. Redução no índice de solubilidade de nitrogênio com o tempo

de armazenamento da soja também foi observada por outros autores (KONG et al., 2008; PINTO; LAJOLO; GENOVESE, 2005).

### 5.5.2 Capacidade de Absorção de Água (CAA) e Óleo (CAO)

A CAA das amostras envelhecidas não foi drasticamente diferente do Controle e observou-se comportamento distinto para a farinha desengordurada de cada cultivar (Tabela 7). Para Coodetec 214, houve aumento de cerca de 13 % da CAA com o envelhecimento dos grãos nas duas condições ( $p \leq 0,05$ ). Para a BRS 267, somente a condição EN resultou em farinha com menor CAA do que a do Controle (cerca de 12 %) e da obtida de grãos do EA ( $p \leq 0,05$ ). Estes resultados diferem daqueles obtidos por Kamizake (2012), que observou redução na CAA para a farinha integral de soja submetida à condição EA (30 °C e 84 % UR).

**Tabela 7** – Solubilidade proteica em água e capacidade de absorção de água e óleo das farinhas desengorduradas de grãos de soja Coodetec 214 e BRS 267 armazenados em diferentes condições

<b>Proteínas Solúveis em Água*</b>			
<b>Condições de armazenamento</b>			
<b>Cultivares</b>	Controle	Envelhecimento Natural	Envelhecimento Acelerado
Coodetec 214	59,44 ± 1,39 <sup>aB</sup>	50,49 ± 0,64 <sup>bB</sup>	12,05 ± 0,56 <sup>cB</sup>
BRS 267	67,32 ± 0,34 <sup>aA</sup>	58,59 ± 2,57 <sup>bA</sup>	15,34 ± 0,35 <sup>cA</sup>
<b>Capacidade de Absorção de Água**</b>			
<b>Condições de armazenamento</b>			
<b>Cultivares</b>	Controle	Envelhecimento Natural	Envelhecimento Acelerado
Coodetec 214	1,91 ± 0,04 <sup>bA</sup>	2,17 ± 0,18 <sup>aA</sup>	2,15 ± 0,05 <sup>aA</sup>
BRS 267	2,00 ± 0,11 <sup>aA</sup>	1,76 ± 0,05 <sup>bB</sup>	2,11 ± 0,01 <sup>aA</sup>
<b>Capacidade de Absorção de Óleo***</b>			
<b>Condições de armazenamento</b>			
<b>Cultivares</b>	Controle	Envelhecimento Natural	Envelhecimento Acelerado
Coodetec 214	1,72 ± 0,14 <sup>aA</sup>	1,79 ± 0,05 <sup>aA</sup>	1,83 ± 0,07 <sup>aA</sup>
BRS 267	1,77 ± 0,12 <sup>aA</sup>	1,77 ± 0,16 <sup>aA</sup>	1,88 ± 0,12 <sup>aA</sup>

Valores representam média de duas determinações em cada repetição ± desvio padrão.

Médias na mesma coluna, seguidas de letras maiúsculas diferentes e na linha, acompanhadas de letras minúsculas diferentes, indicam diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ).

\*Resultados expressos em g proteína solúvel/ 100 g proteína total.

\*\*Resultados expressos em g água/ g de amostra.

\*\*\*Resultados expressos em g óleo/ g de amostra.

Controle= (Tempo zero de armazenamento): -18 °C e 47 % UR. Envelhecimento Natural (EN): 18 meses, temperatura e UR ambiente (variação no período = 17,3 a 24,5 °C e 59 a 93 % UR). Envelhecimento Acelerado (EA): 9 meses, 30 °C e 84 % UR.

A variação da CAA observada deve estar relacionada às mudanças estruturais das proteínas durante o envelhecimento dos grãos, havendo em cada cultivar e condição de armazenamento, uma maior ou menor exposição de grupos capazes de interagir com a água (principalmente os carregados) que estavam escondidos.

Segundo Acuña, Gonzáles e Torres (2012), a conformação das moléculas de proteína, a proporção de aminoácidos hidrofílicos/ hidrofóbicos na superfície das moléculas e também a presença de lipídeos e carboidratos na farinha influem na sua capacidade de absorção de água. Assim, os carboidratos presentes na farinha desengordurada de soja ou outro fator desconhecido pode ter influenciado os resultados obtidos neste estudo para a CAA.

Entre as cultivares notou-se que a Coodetec 214 apresentou maior CAA do que a cultivar BRS 267 da condição EN ( $p \leq 0,05$ ).

Como pode ser observada na Tabela 7, a CAO das farinhas desengorduradas não se alterou com as condições de armazenamento dos grãos, e também não houve diferença entre as cultivares. Apesar das alterações moleculares nas moléculas das proteínas não houve variação na CAO. Ribeiro et al. (2009) também não obtiveram diferença na CAO para os concentrados proteicos obtidos de feijão novo e armazenado por 60 dias a 41 °C e 75 % UR.

### 5.5.3 Capacidade de Formação e Retenção de Água (CRA) dos Géis

A concentração mínima para formação de gel da farinha dos grãos da condição EA foi de 14 %, para as duas cultivares, enquanto que para os demais tratamentos, a concentração foi de 10 % de FDS (Tabela 8). Paz e Netto (2006), para soja não envelhecida, obtiveram formação de gel somente em concentrações de proteína acima de 12 % para isolado proteico, enquanto Acuña, González e Torres (2012) observaram formação de gel de isolado proteico de soja somente em concentração acima de 14 %. A maior concentração mínima de amostra para a formação de gel para a farinha obtida da condição EA pode ser devido a alterações moleculares mais acentuadas que as proteínas desta condição sofreram, conforme demonstrado no item 5.4.

Para formação de gel as cadeias polipeptídicas devem ser interconectadas em diversos pontos via interações não covalentes (ligação de

hidrogênio e interação hidrofóbica) ou covalentes (pontes dissulfeto) para formar a rede tridimensional proteica que prenderá a água (DAMODARAN, 2010). Dessa forma, a proteína da condição EA que sofreu alterações moleculares mais intensas, como demonstradas anteriormente (item 5.4), provavelmente possui menor número de grupos disponíveis para essas interações proteína-proteína, necessitando assim de uma concentração proteica mínima maior para formação de rede, mas que reteve uma maior quantidade de água, (atrações eletrostáticas entre a água e grupos carregados da proteína), ou seja, apresentou maior CRA (Tabela 8).

**Tabela 8** – Concentração mínima de formação e capacidade de retenção de água (CRA) dos géis das farinhas desengorduradas de grãos de soja Coodetec 214 e BRS 267 armazenados em diferentes condições

<b>Concentração Mínima de Formação de Gel</b>			
<b>Cultivares</b>	<b>Condições de armazenamento</b>		
	Controle	Envelhecimento Natural	Envelhecimento Acelerado
Coodetec 214	10 %	10 %	14 %
BRS 267	10 %	10 %	14 %

<b>Capacidade de Retenção de Água (%)</b>			
<b>Cultivares</b>	<b>Condições de armazenamento</b>		
	Controle	Envelhecimento Natural	Envelhecimento Acelerado
Coodetec 214	61,18 ± 3,11 <sup>bA</sup>	65,81 ± 1,25 <sup>bA</sup>	83,30 ± 2,01 <sup>aA</sup>
BRS 267	64,13 ± 3,52 <sup>bA</sup>	59,82 ± 1,96 <sup>bA</sup>	84,14 ± 4,74 <sup>aA</sup>

Valores representam média de duas determinações em cada repetição ± desvio padrão.

Médias na mesma coluna, seguidas de letras maiúsculas diferentes e na linha, acompanhadas de letras minúsculas diferentes, indicam diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ).

Controle= (Tempo zero de armazenamento): -18 °C e 47 % UR. Envelhecimento Natural (EN): 18 meses, temperatura e UR ambiente (variação no período = 17,3 a 24,5 °C e 59 a 93 % UR). Envelhecimento Acelerado (EA): 9 meses, 30 °C e 84 % UR.

A CRA foi determinada no gel formado com a concentração mínima de cada amostra, e foi maior para as amostras do tratamento EA do que para os demais tratamentos ( $p \leq 0,05$ ), provavelmente devido a maior concentração de proteína e maior número de grupamentos carregados. Não foi constatada diferença na capacidade de retenção de água entre as cultivares em nenhum dos tratamentos.

### 5.5.4 Propriedades Emulsificantes

As propriedades emulsificantes das farinhas desengorduradas estão apresentadas na Tabela 9. O EA da soja resultou numa redução acentuada (> 50 %) da capacidade emulsificante (CE) das proteínas das duas cultivares estudadas enquanto que o EN não mostrou este efeito nas proteínas da cultivar BRS 267, e apenas ligeira redução nesta capacidade da proteína da cultivar Coodetec 214 ( $p \leq 0,05$ ).

**Tabela 9** – Capacidade emulsificante, estabilidade da emulsão e capacidade espumante das farinhas desengorduradas de grãos de soja Coodetec 214 e BRS 267 armazenados em diferentes condições

<b>Capacidade Emulsificante*</b>			
<b>Cultivares</b>	<b>Condições de armazenamento</b>		
	Controle	Envelhecimento Natural	Envelhecimento Acelerado
Coodetec 214	136,82 ± 1,64 <sup>aA</sup>	131,85 ± 0,92 <sup>bA</sup>	51,45 ± 0,30 <sup>cA</sup>
BRS 267	122,35 ± 2,12 <sup>aB</sup>	124,64 ± 3,70 <sup>aB</sup>	53,05 ± 1,16 <sup>bA</sup>
<b>Estabilidade da Emulsão**</b>			
<b>Cultivares</b>	<b>Condições de armazenamento</b>		
	Controle	Envelhecimento Natural	Envelhecimento Acelerado
Coodetec 214	60,55 ± 4,58 <sup>bA</sup>	59,16 ± 6,87 <sup>bA</sup>	84,72 ± 6,51 <sup>aA</sup>
BRS 267	49,72 ± 4,93 <sup>bA</sup>	59,17 ± 6,87 <sup>bA</sup>	84,25 ± 5,61 <sup>aA</sup>
<b>Capacidade Espumante***</b>			
<b>Cultivares</b>	<b>Condições de armazenamento</b>		
	Controle	Envelhecimento Natural	Envelhecimento Acelerado
Coodetec 214	137 ± 6,21 <sup>aA</sup>	133,5 ± 2,51 <sup>aA</sup>	129,5 ± 4,43 <sup>aA</sup>
BRS 267	116,5 ± 5,74 <sup>aB</sup>	94 ± 8,71 <sup>bB</sup>	89,5 ± 7,00 <sup>bB</sup>

Valores representam média de duas determinações em cada repetição ± desvio padrão.

Médias na mesma coluna, seguidas de letras maiúsculas diferentes e na linha, acompanhadas de letras minúsculas diferentes, indicam diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ).

\*Resultados expressos em ml de óleo emulsificado/g amostra.

\*\* Resultados expressos em % de emulsão remanescente.

\*\*\*Resultados expressos em volume de espuma formada (mL).

Controle= (Tempo zero de armazenamento): -18 °C e 47 % UR. Envelhecimento Natural (EN): 18 meses, temperatura e UR ambiente (variação no período = 17,3 a 24,5 °C e 59 a 93 % UR). Envelhecimento Acelerado (EA): 9 meses, 30 °C e 84 % UR.

A farinha da cultivar BRS 267 apresentou menor capacidade emulsificante ( $p \leq 0,05$ ) do que da Coodetec 214 nas condições Controle e EN, sendo que na condição EA não foi encontrada diferença.

Apesar das farinhas das duas cultivares do EA apresentarem menor CE, resultaram em maior capacidade de estabilizar emulsão do que os demais tratamentos, os quais não diferiram entre si. Não houve diferenças entre as cultivares para estabilidade da emulsão em todas as condições de armazenamento.

Estes resultados estão de acordo com aqueles obtidos por Liu et al. (2008), que observaram menor capacidade emulsificante para os isolados proteicos dos grãos armazenados em condições adversas (88 % UR, 30 °C). Já a estabilidade da emulsão para estas amostras foi menor do que as demais estudadas, em pH 7,0, 7,6 e 8,0. Estudando o efeito do armazenamento prolongado de feijão, Donadel e Prudencio-Ferreira (1999) constataram queda na CE do concentrado proteico obtido de grão com 40 dias de armazenamento a 41 °C.

Para desempenhar o papel de agente emulsificante, é necessário que a proteína tenha a capacidade de adsorver-se à interface óleo/água, desdobrar-se, rearranjar-se e interagir com as moléculas adjacentes, a fim de formar uma película ao redor da gotícula de óleo. Para isso, a molécula proteica precisa ser relativamente flexível e solúvel. A solubilidade tem papel importante para a capacidade emulsificante de uma proteína, pois quanto mais proteína estiver solubilizada, maiores são as chances das proteínas migrarem para a interface durante a emulsificação (DAMODARAN, 2010; PEDNEKAR et al., 2010).

Deste modo, a menor capacidade emulsificante da condição EA pode estar relacionada tanto à sua menor solubilidade (Figuras 2 e 3, Tabela 7) quanto ao alto teor de pontes dissulfeto encontradas nestas amostras (Tabela 6), as quais podem ter contribuído para diminuir a flexibilidade destas moléculas, além de sua menor hidrofobicidade de superfície (Tabela 5), que pode ter prejudicado a migração das proteínas para a interface água/óleo.

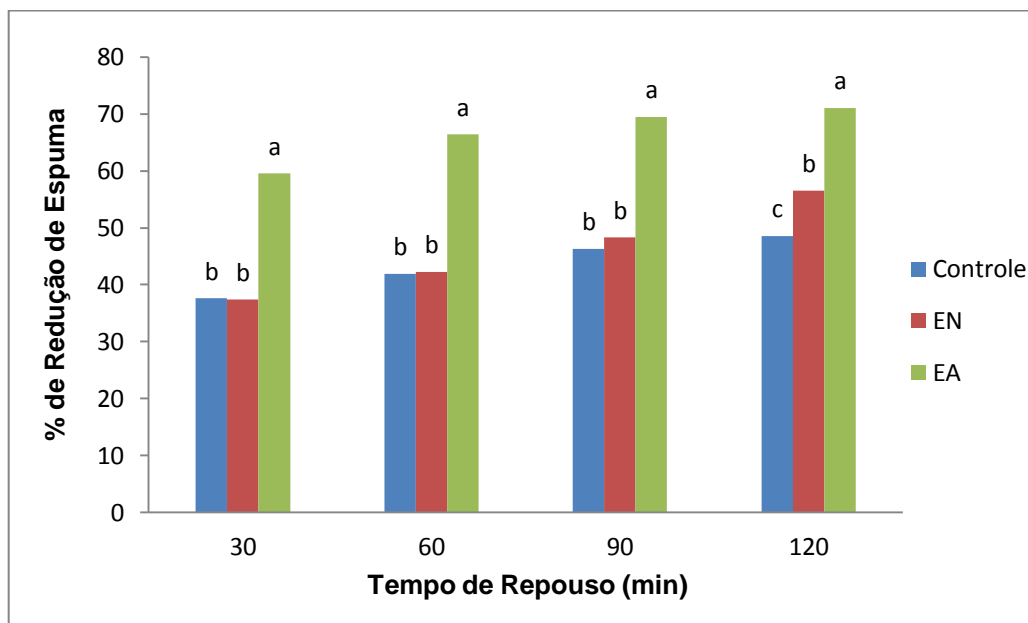
Por outro lado, a estabilização das gotas emulsionadas é alcançada pela formação de um filme de proteína ao redor dos glóbulos de óleo, que diminui a tensão interfacial e fisicamente impede a coalescência (KINSELLA, 1979). A maior estabilidade da emulsão para as amostras da condição EA provavelmente ocorreu devido à formação de um filme proteico na interface com interações favoráveis com as duas fases (óleo/água), apesar de menor solubilidade de suas proteínas.

### 5.5.5 Propriedades Espumantes

Não houve diferença significativa na capacidade espumante entre a farinha dos grãos Controle e aquelas das demais condições de armazenamento para a cultivar Coodetec 214. Porém, para a cultivar BRS 267 houve redução nesta propriedade após armazenamento nas condições EN e EA ( $p \leq 0,05$ ) (Tabela 9). A cultivar Coodetec 214 obteve maior capacidade espumante para todos os tratamentos, quando comparada com a cultivar BRS 267.

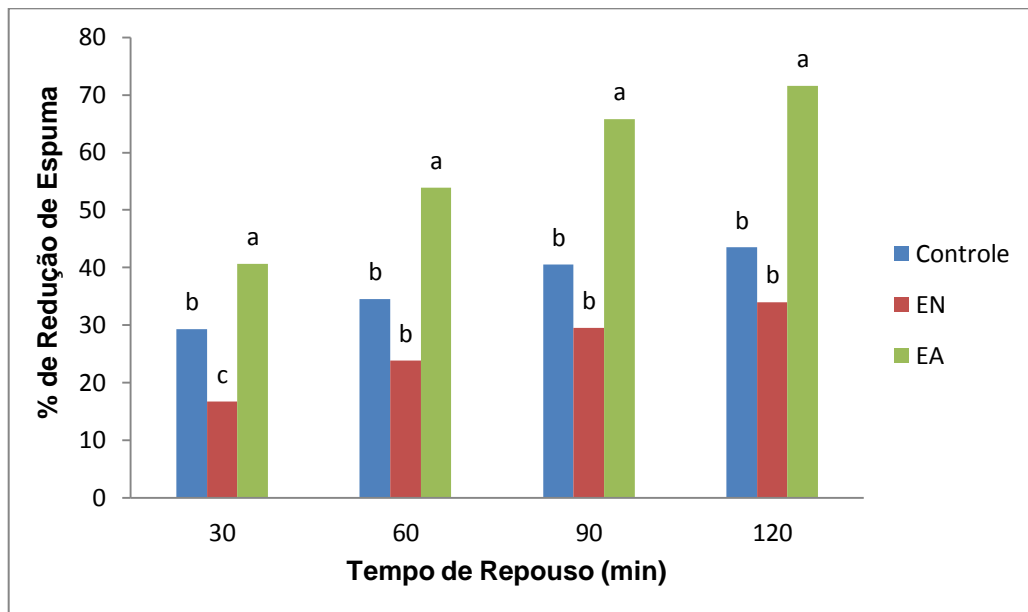
Nota-se que a porcentagem de redução de espuma durante o repouso aumentou para farinhas da condição EA, significando que houve redução na estabilidade. A porcentagem de redução de espuma para amostra da condição EA foi significativamente maior ( $p \leq 0,05$ ) do que para as demais condições, em todos os tempos de repouso. Para a Coodetec 214 a espuma mais estável aos 120 minutos de repouso foi obtida para o Controle ( $p \leq 0,05$ ). Entretanto, para BRS 267, não houve diferença entre o controle e a condição EN, como pode ser observado nas Figuras 4 e 5.

**Figura 4** – Estabilidade das espumas da farinha desengordurada de grãos de soja cultivar Coodetec 214, armazenados em diferentes condições



Letras diferentes em cada tempo indicam diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ).  
 Controle= (Tempo zero de armazenamento): -18 °C e 47 % UR. Envelhecimento Natural (EN): 18 meses, temperatura e UR ambiente (variação no período = 17,3 a 24,5 °C e 59 a 93 % UR).  
 Envelhecimento Acelerado (EA): 9 meses, 30 °C e 84 % UR.

**Figura 5** – Estabilidade das espumas da farinha desengordurada de grãos de soja cultivar BRS 267, armazenados em diferentes condições



Letras diferentes em cada tempo indicam diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ).

Controle= (Tempo zero de armazenamento): -18 °C e 47 % UR. Envelhecimento Natural (EN): 18 meses, temperatura e UR ambiente (variação no período = 17,3 a 24,5 °C e 59 a 93 % UR). Envelhecimento Acelerado (EA): 9 meses, 30 °C e 84 % UR.

As espumas consistem em bolhas de gás encapsuladas por filmes líquidos, contendo proteínas solúveis. Para servir como agente espumante, a proteína deve ser solúvel na fase aquosa, se concentrar na interface, se desdobrar e rearranjar-se para formar um filme coeso na interface, e não ter a tendência de associar-se com outras moléculas proteicas excessivamente, o que resulta em instabilidade da espuma (KINSELLA, 1979).

Proteínas com maior hidrofobicidade de superfície podem migrar com mais eficiência para a interface, e formar espumas mais estáveis, porém a hidrofobicidade de superfície pode não ser o único fator envolvido. O grau de desnaturação (quanto mais próximo ao estado nativo melhor) e a solubilidade são importantes também, pois as proteínas devem migrar com facilidade para a interface, mas também precisam se manter lá para conseguir a estabilidade (DEAK; JOHNSON, 2007).

A menor capacidade espumante e estabilidade das espumas apresentadas pelas farinhas dos grãos da condição EA pode estar relacionada à baixa solubilidade e hidrofobicidade de superfície de suas proteínas (Figuras 2 e 3, Tabelas 5, 6 e 7), que dificultou sua migração até a interface ar/água, resultando em

menor expansão de espuma formada, e possivelmente a concentração de proteína não foi suficiente para formar um filme que desse estabilidade à emulsão.

#### 5.5.6 Cor das Farinhas Desengorduradas de Soja

A cor de um ingrediente é importante para seu emprego em um produto alimentício.

Os parâmetros de cor das farinhas desengorduradas de soja encontram-se na Tabela 10. As farinhas provenientes dos grãos envelhecidos na condição EA (30 °C, 84 % UR) apresentaram menor valor de L\* (luminosidade) que da condição EN, porém, não diferiram do Controle ( $p > 0,05$ ). Os valores de a\* (componente vermelho-verde) indicam que as farinhas apresentaram-se mais avermelhadas com o envelhecimento dos grãos ( $p \leq 0,05$ ), sendo as farinhas dos grãos do EA as mais vermelhas. As farinhas dos grãos do EA foram as mais amarelas, uma vez que mostraram maior valor do parâmetro b\* (componente amarelo-azul).

Quando a tonalidade cromática ( $h^\circ$ ) foi calculada, notaram-se menores valores para as farinhas dos grãos envelhecidos, sendo em maior grau na condição EA, nas duas cultivares, confirmando a acentuação mais pronunciada da cor vermelha do que o aumento da cor amarela com o armazenamento dos grãos. Observou-se que as cultivares não apresentaram diferença entre si nos parâmetros de cor estudados, exceto para o parâmetro  $h^\circ$ , dos Controles, e b\* do EN, em que a Coodetec 214 apresentou maiores valores que a BRS 267 ( $p \leq 0,05$ ).

Tem sido relatado que grãos de soja envelhecidos e seus produtos (farinha, extrato aquoso e tofu) apresentam coloração mais escura e avermelhada que os correspondentes recém-colhidos (SAIO et al, 1980; NARAYAN; CHAUHAN; VERMA, 1988; HOU; CHANG, 2004b; KONG et al, 2008; KAMIZAKE, 2012).

**Tabela 10** – Parâmetros de cor das farinhas desengorduradas de grãos de soja Coodetec 214 e BRS 267 armazenados em diferentes condições

<b>Parâmetro L*</b>			
<b>Cultivares</b>	<b>Condições de armazenamento</b>		
	Controle	Envelhecimento Natural	Envelhecimento Acelerado
Coodetec 214	34,30 ± 0,81 <sup>abA</sup>	36,59 ± 0,42 <sup>aA</sup>	32,26 ± 2,08 <sup>bA</sup>
BRS 267	35,06 ± 0,46 <sup>aA</sup>	34,42 ± 1,86 <sup>aA</sup>	32,47 ± 0,44 <sup>aA</sup>
<b>Parâmetro a*</b>			
<b>Cultivares</b>	<b>Condições de armazenamento</b>		
	Controle	Envelhecimento Natural	Envelhecimento Acelerado
Coodetec 214	0,18 ± 0,04 <sup>cA</sup>	0,47 ± 0,05 <sup>bA</sup>	1,22 ± 0,06 <sup>aA</sup>
BRS 267	0,30 ± 0,06 <sup>cA</sup>	0,46 ± 0,03 <sup>bA</sup>	1,21 ± 0,07 <sup>aA</sup>
<b>Parâmetro b*</b>			
<b>Cultivares</b>	<b>Condições de armazenamento</b>		
	Controle	Envelhecimento Natural	Envelhecimento Acelerado
Coodetec 214	6,51 ± 0,08 <sup>bA</sup>	6,65 ± 0,09 <sup>bA</sup>	8,73 ± 0,21 <sup>aA</sup>
BRS 267	6,17 ± 0,17 <sup>bA</sup>	6,07 ± 0,17 <sup>bB</sup>	8,83 ± 0,30 <sup>aA</sup>
<b>Parâmetro h°</b>			
<b>Cultivares</b>	<b>Condições de armazenamento</b>		
	Controle	Envelhecimento Natural	Envelhecimento Acelerado
Coodetec 214	88,37 ± 0,40 <sup>aA</sup>	85,94 ± 0,37 <sup>bA</sup>	82,03 ± 0,24 <sup>cA</sup>
BRS 267	87,25 ± 0,46 <sup>aB</sup>	85,69 ± 0,27 <sup>bA</sup>	82,18 ± 0,20 <sup>cA</sup>

Valores representam média de duas determinações em cada repetição ± desvio padrão.

Médias na mesma coluna, seguidas de letras maiúsculas diferentes e na linha, acompanhadas de letras minúsculas diferentes, indicam diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ).

L\* = luminosidade (0=preto; 100=branco); a\* (-a= verde; +a= vermelho); b\* (-b=azul; +b=amarelo).

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

Controle= (Tempo zero de armazenamento): -18 °C e 47 % UR. Envelhecimento Natural (EN): 18 meses, temperatura e UR ambiente (variação no período = 17,3 a 24,5 °C e 59 a 93 % UR). Envelhecimento Acelerado (EA): 9 meses, 30 °C e 84 % UR

O escurecimento pode ser o resultado de reações enzimáticas envolvendo substratos fenólicos da soja e o oxigênio e de reações não enzimáticas como a reação de Maillard entre proteínas e açúcares que ocorrem durante o envelhecimento dos grãos (NARAYAN; CHAUHAN; VERMA, 1988; HOU; CHANG, 1998).

## CONCLUSÕES

Para as duas cultivares de soja e condições de envelhecimento (natural e acelerado) estudadas:

- a composição centesimal dos grãos varia pouco com o envelhecimento,

- os grãos tornam-se mais ácidos com o envelhecimento. As farinhas desengorduradas de grãos envelhecidos também são mais ácidas que as de grãos novos,

- as proteínas tornam-se menos solúveis com o envelhecimento dos grãos. A redução da solubilidade proteica pode estar relacionada a alterações moleculares, como uma desnaturação parcial, provocadas pelo aumento de acidez nos grãos. Com o envelhecimento, as moléculas de proteínas podem assumir uma nova conformação mais dobrada e agregada. O grau de dobramento/agregação varia com o tempo e condições de temperatura e umidade relativa do armazenamento. Após o EN (temperatura e UR ambiente) por 18 meses essa nova conformação proteica provavelmente está estabilizada principalmente por ligações de hidrogênio e interações hidrofóbicas e após o EA (30 °C e 84 % UR) por 9 meses, além das interações não covalentes, as pontes dissulfeto também representam papel estabilizante na nova conformação das proteínas.

As farinhas desengorduradas obtidas de grãos envelhecidos, das duas cultivares, são mais avermelhadas que as de grãos mais novos.

O envelhecimento da soja leva à alterações nas propriedades funcionais das proteínas de suas farinhas desengorduradas, que variam conforme o tempo e as condições (temperatura e umidade relativa) de armazenamento e cultivares:

- o armazenamento prolongado dos grãos EN e EA causou redução na solubilidade das proteínas em água, de forma mais acentuada na condição EA,

- o armazenamento prolongado EN e EA causou aumento na CAA na Coodetec 214. Já na BRS 267, foi observada redução nesta propriedade

somente para o EN. Não foi constatada alteração na CAO com o envelhecimento, nas duas cultivares,

- as propriedades de formação e CRA dos géis investigadas foram afetadas pelo EA, causando aumento na concentração proteica mínima de formação de gel e aumento na CRA. Já na condição EN estas propriedades não foram afetadas,

- a capacidade emulsificante diminuiu com o envelhecimento nas condições EN e EA, porém, a estabilidade da emulsão aumentou com o EA,

- de modo geral a espuma da farinha obtida da condição EA apresentou menor estabilidade que das condições EN e Controle.

## REFERÊNCIAS

- ACUÑA, S.P.C.; GONZÁLEZ, J.H.G.; TORRES, I.D.A. Physicochemical characteristics and functional properties of vitabosa (*Mucuna deeringiana*) and soybean (*Glycine max*). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 32, p. 98 – 105, 2012.
- ALENCAR, E.R.; FARONI, L.R.D.; PETERNELLI, L.A.; SILVA, M.T.C.; COSTA, A.R. Influence of soybean storage conditions on crude oil quality. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**. v. 14, n. 3, p. 303 – 308, 2010.
- AOAC. **Official Methods of Analysis**. 16<sup>th</sup> ed. Washington, D.C.: Association of Official Analytical Chemists International, 1995.
- ARRESE, E.L.; SORGENTINI, D.A.; WAGNER, J.R.; AÑON, M.C. Electrophoretic, solubility, and functional properties of commercial Soy Protein Isolates. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 39, p. 1029 – 1032, 1991.
- ÁVILLA, M.R.; BRACCINI, A.L.; SCAPIM, C.A.; MANDARINO, J.M.G.; VIDIGAL FILHO, P.S. Componentes do rendimento, teores de isoflavonas, proteínas, óleo e qualidade de sementes de soja. **Revista Brasileira de Sementes**. v. 29, n. 3, p. 111 – 127, 2007.
- BABAJIMOPOULOS, M., DAMODARAN, S.; RIZVI, S.S.H; KINSELLA, J.E. Effects of various anions on the rheological and gelling behavior of Soy Proteins: thermodynamic observations. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 31, n. 6, p. 1270 – 1275, 1983.
- BEUCHAT, L.R. Functional and electrophoretic characteristics of succinylated peanut flour protein. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 25, n. 2, p. 258 – 261, 1977.
- BEVERIDGE, T.; TOMA, S. J.; NAKAI, S. Determination of SH- and –SS groups in some food protein using Ellman's reagent. **Journal of Food Science**. v. 39, n. 1, p. 49 – 51, 1974.
- BURGESS, L.D.; STANLEY, D.W. A possible mechanism for thermal texturization of soybean protein. **Canadian Institute of Food Science and Technology Journal**. v. 9, p. 228 – 231, 1976.
- CARRÃO-PANIZZI, M.C.; MANDARINO, J.M.G. **Soja: potencial de uso na dieta brasileira**. Londrina: EMBRAPA-CNPSo, 1998. 16p.
- CHAUD, S.G.; SGARBIERI, V. C. Propriedades funcionais (tecnológicas) da parede celular de leveduras de fermentação alcoólica e das frações de glicana, manana e glicoproteína. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 26, n. 2, p. 369 – 379, 2006.
- CHEN, F.L.; WEI, Y.M.; ZHANG, B. Chemical cross-linking and molecular aggregation of soybean protein during extrusion cooking at low and high moisture content. **LWT- Food Science and technology**. v. 44, p. 957 – 962, 2011.

CHIU, C.C.; SUNG, J.M. Lipid peroxidation and peroxide-scavenging enzymes of naturally aged soybean seed. **Plant Science**. v. 110, p. 45 – 52, 1995.

CHOVE, B.E.; GRANDISON, A.S.; LEWIS, M.J. Emulsifying properties of soy protein isolate fractions obtained by isoelectric precipitation. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. v. 81, p. 759 – 763, 2001.

CRAMP, G.L.; KWANYUEN, P.; DAUBERT, C.R. Molecular interactions and functionality of a cold-gelling soy protein isolate. **Journal of Food Science**. v. 73, n. 1, p. 16 – 24, 2008.

DAMODARAN, S. Aminoácidos, Peptídeos e Proteínas. In: DAMODARAN, S.; PARKIN, K.L.; FENNEMA, O.R. **Química de Alimentos de Fennema**. 4ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2010. p. 169 – 262.

DEAK, N.A.; JOHNSON, L.A. Effects of extraction temperature and preservation method on functionality of soy protein. **Journal of American Oil Chemists Society**. v. 84, p. 259 – 268, 2007.

DONADEL, M. E.; PRUDENCIO-FERREIRA, S. H. Propriedades funcionais de concentrado proteico de feijão envelhecido. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas, v. 19, n. 3, set/dez 1999. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0101-20611999000300015&script=sci\\_arttext&lng=es](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0101-20611999000300015&script=sci_arttext&lng=es)>. Acesso em: 04 Jul. 2013.

ELLMAN, G.L. Tissue sulfhydryl groups. **Archives of Biochemistry and Biophysics**. v. 82, p. 70 – 77, 1959.

EMBRAPA. **Soja em números**. 2012. Disponível em: <[http://www.cnpso.embrapa.br/index.php?op\\_page=294&cod\\_pai=17](http://www.cnpso.embrapa.br/index.php?op_page=294&cod_pai=17)>. Acesso em: 04 jul. 2013.

EMBRAPA. **A Soja no Brasil**. 2004. Disponível em: <http://www.cnpso.embrapa.br/producaosoja/SojanoBrasil.htm>. Acesso em: 11 mar. 2013.

FAN, J.; SAITO, M.; YANYAN, Z.; SZESZE, T.; WANG, L.; TATSUMI, E.; LI, L. Gel-forming ability and radical scavenging activity of soy protein hydrolysates treated with transglutaminase. **Journal of Food Science**. v. 70, n. 1, p. 87 – 92, 2005.

FIORA, F.A.; PILOSO, A.M.R.; BARTHOLOMAI, G.B. Physicochemical properties of soybean proteins related to flow, viscoelastic, mechanical and water-holding characteristics of gels. **Journal of Food Science**. v. 55, n. 1, p. 133 – 136, 1990.

HAGER, D.F. Effects of extrusion upon soy concentrate solubility. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 32, p. 293 – 296, 1984.

HERMANSSON, A.M.; LUCISANO, M. Gel characteristics – Water binding properties of blood plasma gels and methodological aspects on the water binding of gel systems. **Journal of Food Science**. v. 47, p. 1955-1959, 1982.

- HETTIARACHCHY, N.; KALAPATHY, U. Soybean protein products. In: LIU, K. **Soybeans: Chemistry, technology and utilization**. New York: Chapman e Hall, 1997. Cap 8, p. 379 – 411.
- HOU, H.J.; CHANG, S.K.C. Yield and quality of soft Tofu as affected by soybean physical damage and storage. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 46, p. 4798 – 4805, 1998.
- HOU, H.J.; CHANG, S.K.C. Yield and textural properties of Tofu as affected by the changes of phytate content during soybean storage. **Journal of Food Science**. v. 68, n. 4, p. 1185 – 1191, 2003.
- HOU, H.J.; CHANG, S.K.C. Structural characteristics of purified Glycinin from soybeans stored under various conditions. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 52, p. 3792 – 3800, 2004a.
- HOU, H.J.; CHANG, S.K.C. Storage conditions affect soybean color, chemical composition and tofu qualities. **Journal of Food Processing and Preservation**. v. 28, p. 473 – 488, 2004b.
- HOU, H.J.; CHANG, S.K.C. Structural characteristics of purified  $\beta$ -Conglycinin from soybeans stored under various conditions. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 52, p. 7931 – 7937, 2004c.
- HU, H., WU, J.; LI-CHAN, E.C.Y.; ZHU, L.; ZHANG, F.; XU, X.; FAN, G.; WANG, L.; HUANG, X.; PAN, S. Effects of ultrasound on structural and physical properties of soy protein isolate (SPI) dispersions. **Food Hydrocolloids**. v. 30, p. 647 – 655, 2013.
- HU, X-Z.; CHENG, Y.Q.; FAN, J.F.; LU, Z.H.; YAMAKI, K.; LI, L.T. Effects of drying method on physicochemical and functional properties of soy protein isolates. **Journal of Food Processing and Preservation**. v. 34, p. 520 – 540, 2010.
- KAMIZAKE, N.K.K. **Efeito do envelhecimento de soja (*Glycine max*) sobre as propriedades físicas e químicas dos grãos, extratos e tofus e características sensoriais dos tofus**. Londrina, 2012. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual de Londrina.
- KATO, A. NAKAI, S. Hydrophobicity determined by a fluorescence probe method and its correlation with surface properties of proteins. **Biochimica et Biophysica Acta**. v. 624, p. 13 – 20, 1980.
- KIM, J.J.; KIM, S.H.; HAHN, S.J.; CHUNG, I.M. Changing soybean isoflavone composition and concentrations under two different storage conditions over three years. **Food Research International**. v. 38, p. 435 – 444, 2005.
- KINSELLA, J. E. Functional properties of soy proteins. **Journal of American Oil Chemists Society**. v. 56, p. 242 – 258, 1979.

KONG, F.; CHANG, S.K.C.; LIU, Z.; WILSON, L.A. Changes of soybean quality during storage as related to soymilk and tofu making. **Journal of Food Science**. v. 73, n. 3, p. 134 – 144, 2008.

KONG, F.; CHANG, S.K.C. Changes in protein characteristics during soybean storage under adverse conditions as related to tofu making. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 61, p. 387 – 393, 2013.

KUIPERS, B.J.H.; van KONINGSVELD, G.A.; ALTING, A.C.; DRIEHUIS, F.; VORAGEN, A.G.J.; GRUPPEN, H. Opposite contributions of Glycinin- and  $\beta$ -Conglicinin- derived peptides to aggregation behavior of soy protein isolate hydrolysates. **Food Biophysics**. v. 1, n. 4, p. 178 – 188, 2006.

LAMPART-SZCZAPA, E. Legume and oilseed proteins. In: SIKORSKI, Z.E. (Ed) **Chemical and functional properties of food proteins**. Boca Raton: CRC Press, 2001. cap. 14, p. 407 – 436.

LI, M.; LEE, T.C. Effect of extrusion temperature on solubility and molecular weight distribution of wheat flour proteins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 44, p. 763 – 768, 1996.

LIU, K.; McWATTERS, K.H.; PHILLIPS, R.D. Protein insolubilization and thermal destabilization during storage as related to hard-to-cook defect in cowpeas. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 40, p. 2483 – 2487, 1992.

LIU, K. Agronomic characteristics, production and marketing. In: \_\_\_\_\_. **Soybeans: Chemistry, technology and utilization**. New York: Chapman and Hall, 1997a. Cap. 1, p. 1 – 22.

LIU, K. Biological and compositional changes during Soybean maturation, storage, and germination. In: \_\_\_\_\_. **Soybeans: Chemistry, technology and utilization**. New York: Chapman and Hall, 1997b. cap. 3, p. 114 – 136.

LIU, C., WANG, X.; MA, H.; ZHANG, Z.; GAO, W.; XIAO, LI. Functional properties of protein isolates from soybeans stored under various conditions. **Food Chemistry**. v. 111, p. 29 – 37, 2008.

LOWRY, O.H. et al. Protein measurement with the Folin Phenol reagent. **J. Biol. Chem.** v. 193, p. 265 – 275, 1951.

MAKRI, E.; PAPALAMPROU, E.; DOXASTAKIS, G. Study of functional properties of seed storage proteins from indigenous European legume crops (lupin, pea, broad bean) in admixture with polysaccharides. **Food Hydrocolloids**. v. 19, p. 583 – 594, 2005.

MARCOS FILHO, J. Teste de envelhecimento acelerado. In: KRZYZANOWSKY, F.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA-NETO, J.B. (Ed.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, cap. 3, p. 1-24, 1999.

MITIDIERI, F.E.; WAGNER, J.R. Coalescence of o/w emulsions stabilized by whey and isolate soybean proteins. Influence of thermal denaturation, salt addition and competitive interfacial adsorption. **Food Research International**. v. 35, p. 547 – 557, 2002.

MOLINA, E.; PAPADOUPOULOU, A.; LEDWARD, D.A. Emulsifying properties of high pressure treated soy protein isolate and 7S and 11S globulins. **Food Hydrocolloids**. v. 15, p. 263 – 269, 2001.

NARAYAN, R.; CHAUHAN, G.S.; VERMA, N.S. Changes in the quality of Soybean during storage. Part 1 - Effect of storage on some physico-chemical properties of Soybean. **Food Chemistry**. v. 27, p. 13 – 23, 1988.

NAZARETH, Z.M.; DEAK, N.A.; JOHNSON, L.A. Functional properties of Soy Protein Isolates prepared from gas-supported screw-pressed Soybean Meal. **Journal of American Oil Chemists Society**. v. 86, p. 315 – 321, 2009.

OKEZIE, B. O.; BELLO, A. B. Physicochemical and functional properties of Winged bean flour and isolate compared with soy isolate. **Journal of Food Science**, v. 53, n. 2, p. 450 – 454, 1988.

PAZ, J.C.S.N.; NETTO, F.M. Caracterização Estrutural e Funcional de Géis Simples e Mistos de Isolados Proteicos de Soja e de Soro de Leite. **Brazilian Journal of Food Technology**. III JIPCA, Jan, 2006.

PEDNEKAR, M.; DAS, A.K; RAJALAKSHMI, V.; SHARMA, A. Radiation processing and functional properties of soybean (*Glicine max*). **Radiation Physics and Chemistry**. v. 79, p. 490 – 494, 2010.

PINTO, M.S.; LAJOLO, F.M.; GENOVESE, M.I. Effect of storage temperature and water activity on the content and profile of isoflavones, antioxidant activity, and *in vitro* protein digestibility of soy protein isolates and defatted soy flours. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 53, p. 6340 – 6346, 2005.

PRUDENCIO-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, 1993.

RANGAVAJHYALA, N.; GHORPADE, V.; HANNA, M. Solubility and molecular properties of heat-cured soy protein films. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 45, p. 4204 – 4208, 1997.

RENKEMA, J.M.S.; GRUPPEN, H.; van VLIET, T. Influence of pH and Ionic Strength on heat-induced formation and rheological properties of Soy Protein Gels in relation to denaturation and their protein compositions. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 50, p. 6064 – 6071, 2002.

RIBEIRO, H.J.S.S.; PRUDENCIO, S.H.; MIYAGUI, D.T.; RIBEIRO, E.L.A. Caracterização de concentrado proteico de feijão comum preto, cultivar lapar 44,

novo e envelhecido. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 29, n. 3. p. 571-580, 2009.

SAIO, K., NIKKUNI, I.; ANDO, Y.; OTSURU, M.; TERAUCHI, Y.; KITO, M. Soybean quality changes during model storage studies. **Cereal Chemistry**. v. 57, n. 2, p. 77 – 82, 1980.

SAIO, K.; KOBAYAKAWA, K.; KITO, M. Protein denaturation during model storage studies of soybeans and meals. **Cereal Chemistry**. v. 59, n. 5, p. 408 – 412, 1982.

SATHE, S.K., SALUNKHE, D.K. Functional properties of the great northern bean (*Phaseolus vulgaris*, L.). Proteins: emulsion, foaming, viscosity and gelation properties. **Journal of Food Science**. v. 46, n. 1, p. 71 – 74, 1981.

SATHE, S.H.; SHARMA, G.M.; KSHIRSAGAR, H.H.; SU, M.; ROUX, K.H. Effects of long term frozen storage on electrophoretic patterns, immunoreactivity, and pepsin *in vitro* digestibility of soybean (*Glycine max* L.) proteins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 57, p. 1312 – 1318, 2009.

SCILINGO, A.A.; AÑON, M.C. Characterization of soybean protein isolates. The effect of calcium presence. **Journal of American Oil Chemists Society**. v. 81, n. 1, p. 63 – 69, 2004.

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, 2009.

SHARMA, S.; KAUR, A.; BANSAL, A.; GILL, B.S. Positional effects on soybean seed composition during storage. **Journal of Food Science and Technology**. v. 50, p. 353 – 359, 2013,

SHIMADA, K.; CHEFTEL, J.C. Determination of Sulfhydryl groups and Disulfide Bonds in heat-induced Gels of Soy Protein Isolate. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 36, p. 147 – 153, 1988.

SIKORSKI, Z.E. (Ed) **Chemical and functional properties of food proteins**. Boca Raton: CRC Press, 2001.

SILVA, J.B.; CARRÃO-PANIZZI, M.C.; PRUDENCIO, S.H. Chemical and physical composition of grain-type and food-type soybean for food processing. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v. 44, n. 7, p. 777 – 784, 2009.

SORGENTINI, D.A.; WAGNER, J.R.; AÑON, M.C. Effects of thermal treatment of Soy Protein Isolate on the characteristics and structure-function relationship of soluble and insoluble fractions. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 43, p. 2471 – 2479, 1995.

SOUZA, A.S.; NETTO, F.M. Influência da irradiação e do armazenamento nas características estruturais da proteína de soja. **Brazilian Journal of Food Technology**. III JIPCA, p. 36 – 43, Jan, 2006.

USDA, **Commodity Markets and the USDA Agricultural Projections to 2020**. 2012. Disponível em: <[http://ciat.cgiar.org/work/latinamerica/Documents/Commodity\\_Markets\\_and\\_the\\_USDA\\_Agricultural\\_projections\\_to\\_2020.pdf](http://ciat.cgiar.org/work/latinamerica/Documents/Commodity_Markets_and_the_USDA_Agricultural_projections_to_2020.pdf)> Acesso em: 24 mai 2013.

USDA, **World Agricultural Production: Circular Series, Mar, 2013**. Disponível em: <<http://www.fas.usda.gov/psdonline/psdreport.aspx?hidReportRetrievalName=BVS&hidReportRetrievalID=906&hidReportRetrievalTemplateID=1>>. Acesso em: 24 mai 2013.

UTSUMI, S.; KINSELLA, J.E. Structure-Function relationships in food proteins: subunit interactions in Heat-Induced Gelation of 7S, 11S, and Soy Isolate Proteins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 33, p. 297 – 303, 1985.

VIEIRA, C.R.; CABRAL, L.C.; DE PAULA, A.C.O. Composição centesimal e conteúdo de aminoácidos, ácidos graxos e minerais de seis cultivares de soja destinadas à alimentação humana. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v. 34, n. 7, p. 1277 – 1283, 1999.

WAGNER, J.R.; AÑÓN, M.C. Influence of denaturation, hydrophobicity and sulfhydryl content on solubility and water absorbing capacity of soy protein isolates. **Journal of Food Science**. v. 55, n. 3, p. 765 – 770, 1990.

WAGNER, J.R.; GUÉGUEN, J. Surface Functional Properties of Native, Acid-Treated, and Reduced Soy Glycinin. 1. Foaming Properties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 47, n. 6, p. 2173 – 2180, 1999.

WALSTRA, P.; van VLIET, T. Sistemas Dispersos: Considerações Básicas. In: DAMODARAN, S. PARKIN, K.L.; FENNEMA, O.R. **Química de Alimentos de Fennema**. 4 Ed. Porto Alegre: Artmed, 2010. p. 611 – 660.

WEBB, M.F.; NAEEM, H.A; SCHMIDT, K.A. Food protein functionality in a liquid system: a comparison of delaminated wheat protein with dairy and soy proteins. **Journal of Food Science**. v. 67, n. 8, p. 2896 – 2902, 2002.

WERE, L.; HETTIARACHCHY, N.S.; KALAPATHY, U. Modified soy proteins with Improved Foaming and Water Hydration Properties. **Journal of Food Science**. v. 62, n. 4, p. 821 – 824, 1997.

WOLF, W.J.; COWAN, J.C. **Soybeans as a Food Source**. Cleveland: CRC Press, 1975.

WU, W.; WU, X.; HUA, Y. Structural modification of soy protein by the lipid peroxidation product acrolein. **LWT - Food Science and Technology**. v. 43, p. 133 – 140, 2010.

YASUMATSU, K.; SAWADA, L.; MORITAKA, S., MIKASI, M.; TODA, J.; WADA, T.; ISHI, K. Whipping and emulsifying properties of soy bean products. **Journal of Agriculture and Biology Chemistry**. v. 36, n. 5, p. 719 – 727, 1972.

YU, J.; AHMEDNA, M.; GOKTEPE, I. Peanut protein concentrate: Production and functional properties as affected by processing. **Food Chemistry**. v. 103, p. 121 – 129, 2007.