



# **ESTABILIDADE FÍSICO-QUÍMICA DE BISCOITOS ELABORADOS COM FARELO DE SOJA**

**Diego Sandôra Lopes**

## **Monografia em Engenharia de Alimentos**

Orientadores

Professor Daniel Perrone Moreira, *D. Sc*

Nathália Martins Bomfim Barreto, *M. Sc*

Rio de Janeiro

Março de 2021

# **ESTABILIDADE FÍSICO-QUÍMICA DE BISCOITOS ELABORADOS COM FARELO DE SOJA**

*Diego Sandôra Lopes*

Monografia em Engenharia de Alimentos submetida ao Corpo Docente da Escola de Química, como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de bacharel em engenharia de alimentos.

Aprovado por:

---

Karen Signori Pereira, *D. Sc*

---

Ellen Cristina Quirino Lacerda, *D. Sc*

---

Lauro Luís Martins Medeiros de Melo, *D. Sc*

Orientado por:

---

Daniel Perrone Moreira, *D. Sc*

---

Nathália Martins Bomfim Barreto, *M. Sc*

Rio de Janeiro, RJ - Brasil

Março de 202

Lopes, Diego Sandôra

Estabilidade físico-química de biscoitos elaborados com farelo de soja/Diego Sandôra Lopes Rio de Janeiro: UFRJ/EQ, 2021.

ix, 44 p.; il. (Monografia) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Escola de Química, 2021.

Orientadores: Daniel Perrone Moreira e Nathália Martins Bomfim Barreto

1. Estabilidade. 2. Farelo de soja. 3. Isoflavonas. 4.

Monografia. (Graduação – UFRJ/EQ). 5. Daniel Perrone Moreira e Nathália Martins Bomfim Barreto. I. Título.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço à Universidade Federal do Rio de Janeiro, por toda a infraestrutura disponível durante a graduação.

Agradeço aos meus pais Marilsa Sandôra e Claudio Lopes, por todo suporte e ajuda para não desistir do meu sonho.

Agradeço à minha irmã Gabrielle Sandôra, por permanecer ao meu lado oferecendo suporte e conselhos.

Agradeço aos meus orientadores Daniel Perrone e Nathália Martins, por acreditarem em mim durante o período de iniciação científica, por me incentivarem a busca por conhecimento e por estarem sempre dispostos e a me aconselharem.

Agradeço ao LBNA e toda equipe, por todos os momentos e risadas proporcionados.

Agradeço a todos os meus amigos, por todos os momentos de alegria durante a graduação, sem vocês o caminho seria árduo. Agradeço em especial a Amanda Menescal, por ser a minha colega de iniciação científica, trabalhos e estágio e por todos os conselhos durante a nossa caminhada.

Agradeço à Thauane dos Santos, por permanecer ao meu lado durante a graduação, por todo apoio, amor, carinho e conselhos durante muitos anos. Por mais que seguimos por caminhos diferentes, você tem todo o meu carinho. Muito obrigado!

Resumo da Monografia apresentada à Escola de Química como parte dos requisitos necessários para obtenção do grau de bacharel em engenharia de alimentos.

## **ESTABILIDADE FÍSICO-QUÍMICA DE BISCOITOS ELABORADOS COM FARELO DE SOJA**

Diego Sandôra Lopes

Março, 2021

Orientadores: Prof. Daniel Perrone Moreira, *D. Sc*

Prof. Nathália Martins Bomfim Barreto, *M. Sc*

O farelo de soja é um co-produto da indústria de óleo de soja rico em componentes bioativos, tais como as isoflavonas, que podem ter seu perfil modificado de acordo com o processamento, o que o torna um potencial ingrediente em biscoitos dado as suas características funcionais. O objetivo deste trabalho foi investigar a estabilidade físico-química dos biscoitos elaborados com farelo de soja não processado (BNP) e farelo de soja bioprocessado por fermentação (BF) e hidrólise enzimática (BH). Os biscoitos foram desenvolvidos substituindo a farinha de trigo em 95% e foram armazenados em embalagens à vácuo, protegidos da luz e em temperatura ambiente durante 6 meses. Foram realizadas em cada mês análises de umidade, atividade de água, determinação de atividade antioxidante (FRAP e TEAC) e as isoflavonas foram caracterizadas por CLAE-DAD-EM. A cada 2 meses foram realizadas as análises de índice *p*-anisidina, índice de peróxido e índice de acidez e análise sensorial no início e no final do armazenamento. Todas as amostras apresentaram atividade de água menor que 0,5 ao longo do armazenamento e o teor de umidade aumentou significativamente em todos os biscoitos analisados, exceto para o biscoito BF na estabilidade 1. O índice de peróxido e o índice *p*-anisidina apresentaram redução significativa ao final do armazenamento para todas as amostras analisadas, enquanto que o índice de acidez apresentou pequenas variações. Os biscoitos elaborados com os farelos bioprocessados apresentaram maiores teores de isoflavonas agliconas e os teores totais de isoflavonas não apresentaram variação significativa ao longo do armazenamento. O BF apresentou maior atividade antioxidante em ambos os ensaios enquanto que os demais biscoitos apresentaram valores semelhantes. O biscoito com farelo fermentado foi menos aceito em comparação com o biscoito com farelo hidrolisado e com farelo não processado que não diferiram entre si. Os resultados mostram que durante o período de armazenamento aconteceram pequenas variações na composição físico-química dos biscoitos, porém as isoflavonas permaneceram estáveis. Os biscoitos são quimicamente estáveis e potencialmente bioativos sendo o biscoito elaborado com farelo hidrolisado mais aceito quando comparado com o biscoito com farelo fermentado.

**Palavras-chave:** Estabilidade, farelo de soja, biscoito.

## ÍNDICE

<b>1. INTRODUÇÃO</b>	10
1.1 Aplicações do farelo de soja em biscoitos	14
1.2 Isoflavonas na soja e derivados	16
<b>2. Justificativa e objetivos</b>	20
2.1 Objetivo	20
2.2 Objetivos específicos	20
<b>3. Materiais e métodos</b>	21
3.1 Origem da matéria prima	21
3.1.1 Fermentação do farelo de soja	21
3.1.2 Hidrólise enzimática do farelo de soja	21
3.2 Formulação dos biscoitos	22
3.3 Condições da estabilidade	22
3.3.1 Extração de compostos bioativos	23
3.3.2 Extração da fração lipídica	23
3.4 Análise instrumental	23
3.4.1 Atividade de água	23
3.4.2 Umidade	24
3.4.3 Índice de peróxido	24
3.4.4 Índice de acidez	24
3.4.5 Índice de <i>p</i> -anisidina	25
3.4.6 Perfil de isoflavonas por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a detector de arranjo de diodos e espectrometria de massas (CLAE-DAD-EM)	25
3.4.7 Atividade antioxidante	25
3.5 Análise sensorial	26
3.6 Análise estatística	27
<b>4. Resultados e discussão</b>	28
4.1 Atividade de água	28
4.1.1 Umidade	29
4.1.2 Índice de peróxido	30
4.1.3 <i>P</i> -anisidina	31
4.1.4 Índice de acidez	32
4.1.5 Atividade antioxidante	33
4.1.6 Isoflavonas	34
4.1.7 Análise sensorial	37
<b>5. Conclusão</b>	41
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	42

## INDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b> Principais estados produtores de soja. Adaptado CONAB	10
<b>Figura 2:</b> Emprego do óleo no Brasil. Adaptado Embrapa	11
<b>Figura 3:</b> Fluxograma da cadeia produtiva da soja e seus coprodutos (MANDARINO et al., 2015)	12
<b>Figura 4:</b> Consumo per capita de biscoitos. Adaptado ABIMAPI	15
<b>Figura 5:</b> Estrutura química das isoflavonas da soja	17
<b>Figura 6:</b> Influência do processamento no perfil de isoflavonas da soja e deriva	18
<b>Figura 7:</b> Oxidação lipídica	31

## INDICE DE TABELAS

<b>Tabela 1:</b> Principais ingredientes proteicos obtidos a partir da torta de soja e seu uso na indústria alimentícia (SEIBEL e BELÉIA, 2009)	13
<b>Tabela 2:</b> Formulação dos biscoitos com farelo de soja, farelo de soja fermentado e farelo de soja hidrolisado	22
<b>Tabela 3:</b> Análises realizadas nas estabilidades	23

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

<b>Gráfico 1:</b> Atividade de água nos biscoitos	28
<b>Gráfico 2:</b> Atividade de água nos biscoitos	28
<b>Gráfico 3:</b> Estabilidade 1 da umidade dos biscoitos	29
<b>Gráfico 4:</b> Estabilidade 2 da umidade dos biscoitos	30
<b>Gráfico 5:</b> Estabilidade do peróxido dos biscoitos	30
<b>Gráfico 6:</b> Índice de p-anisidina dos biscoitos	32
<b>Gráfico 7:</b> Índice de acidez	32
<b>Gráfico 8:</b> Atividade antioxidante (FRAP) da estabilidade 2	33
<b>Gráfico 9:</b> Atividade antioxidante (TEAC) da estabilidade 2	34
<b>Gráfico 10:</b> Teor relativo das formas de isoflavonas no tempo inicial e final do armazenamento	35
<b>Gráfico 11:</b> Teor relativo das formas de isoflavonas no tempo inicial e final do armazenamento	36
<b>Gráfico 12:</b> Teste de aceitação dos biscoitos na estabilidade 1 (comparação global no tempo final, n = 96)	37
<b>Gráfico 13:</b> Teste de aceitação dos biscoitos na estabilidade 1 (comparação entre o tempo final e inicial, n = 96)	38
<b>Gráfico 14:</b> Teste de aceitação dos biscoitos na estabilidade 2 (comparação global no tempo final, n = 101)	39
<b>Gráfico 15:</b> Teste de aceitação dos biscoitos na estabilidade 2 (comparação entre o tempo final e inicial do teste de aceitação, n = 101)	40

## 1 INTRODUÇÃO

A soja (*Glycine Max. (L.) Merrill*) é uma leguminosa da família *Fabaceae*, subfamília *Papilionoideae* e gênero *Glycine*. A composição da soja, em base seca, é equivalente a: 35% de proteínas, 19% de lipídios, 28% de carboidratos, 17% de fibra alimentar, 5% de minerais e algumas vitaminas. A composição da soja pode ser alterada dada a condições climáticas e composição do solo. Wijewardana (2019) observou que a composição do solo durante o estágio de crescimento da soja influencia, significativamente, na composição centesimal da leguminosa. O controle sobre o estágio de reprodução é importante para um aumento dos fatores nutricionais da soja, pois existe um grande interesse econômico nacional e internacional por ter uma alta aplicabilidade na indústria alimentícia de humanos e animais (SILVA *et al.*, 2006).

Segundo dados divulgados pela Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB, 2020), o Brasil é o maior produtor de soja do mundo, com uma produção de 125 milhões de toneladas, sendo a leguminosa a principal cultura cultivada representando 50% de todos os grãos cultivados no país. A figura 1 apresenta os principais estados produtores da soja.

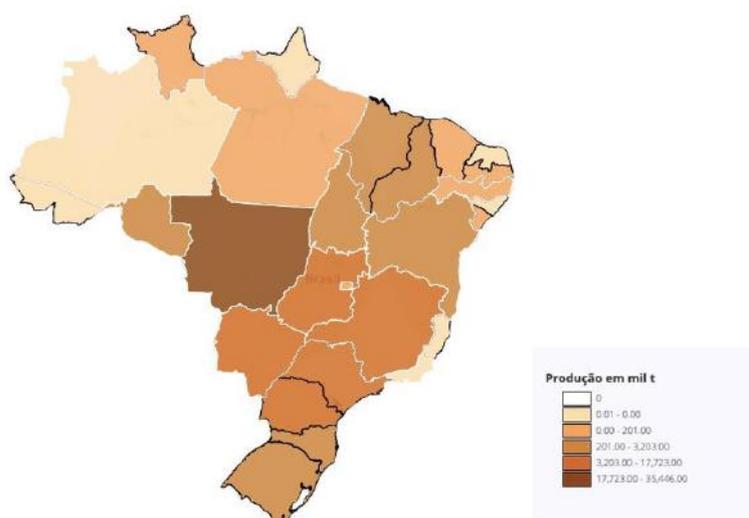


Figura 1 – Principais estados produtores de soja. Adaptado CONAB

A estimativa para a safra 2020/2021 é um aumento de 7% na produção de soja do país, equivalente a 134 milhões de toneladas, o que demonstra um contínuo investimento na produção de soja. Entretanto, a maior parte da produção da soja é

destinada à exportação (65%), equivalente 82 milhões de toneladas, o que coloca o país como um dos principais players no comércio internacional de soja.

A soja possui aplicações em diversos fins além da exportação tais como: alimentação humana, alimentação animal, geração de energia e bens de consumo, porém a soja é largamente utilizada na obtenção de produtos derivados como óleo e farelo para utilização como biocombustível e na alimentação.

A principal aplicação do óleo de soja é na alimentação (figura 2), entretanto a produção ao longo dos anos foi superior a demanda, sendo o excedente utilizado na indústria ou exportação. Novas tecnologias permitiram o uso do óleo de soja como biocombustível. Segundo dados da Agência Nacional de Petróleo (ANP), em 2018, 70% da matéria prima utilizada na produção do biocombustível é correspondente a óleo de soja.

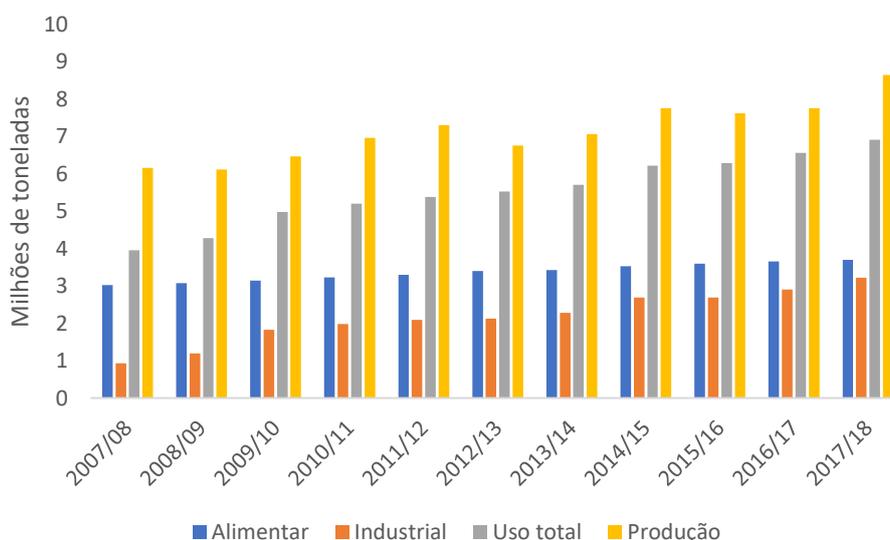
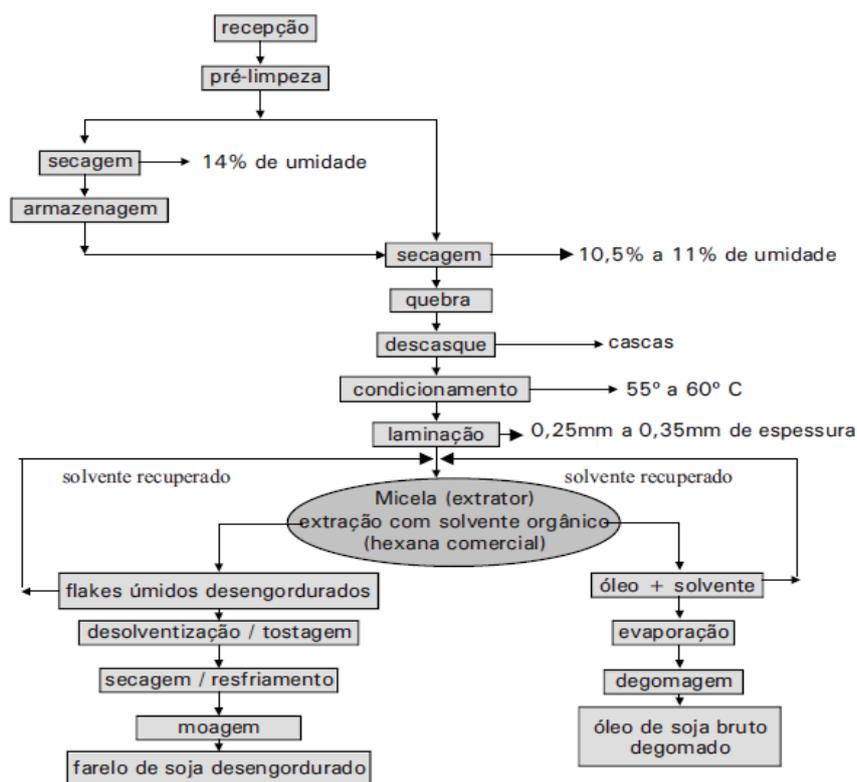


Figura 2 – Emprego do óleo no Brasil. Adaptado Embrapa

A extração do óleo é realizada com solvente orgânico ou por prensagem, sendo a extração com solvente a mais utilizada na indústria (**Figura 3**). No processo de extração com solvente orgânico utiliza-se geralmente o hexano, que tem ponto de ebulição próximo a 70°C. A soja é laminada, até apresentar textura de flocos, que são introduzidos no extrator após passarem por um processo de limpeza e secagem. Ao final do processo obtém-se o óleo e um resíduo proteico, conhecido como farelo de soja (SNYDER & WILSON, 2003; MANDARINO, 2001).



**Figura 3.** Fluxograma da cadeia produtiva da soja e seus coprodutos (MANDARINO *et al.*, 2015).

O farelo de soja é o principal coproduto da indústria de óleo de soja usualmente utilizado na produção de rações animais (GRIESHOP & FAHEY JR, 2001). O Brasil ocupa, atualmente, a posição de segundo maior produtor de carne bovina, terceiro produtor de frango e o quarto produtor de carne suína. Essa demanda crescente de alimentação animal com fontes de qualidade gerou um aumento na quantidade de farelo de soja produzido, de 2007 até 2017. A produção brasileira passou de 24 milhões de toneladas para 32,6 milhões de toneladas de farelo de soja, um aumento de 32% em 10 anos, sendo parte desse farelo utilizado no mercado doméstico 51,6 %, 45,5 % destinado à exportação e o restante destinado ao mercado interno para agregação de valor (Embrapa, 2018)

Estima-se que esta produção deva aumentar 26,4% e o consumo interno do mesmo terá um crescimento mais forte (cerca de 42%) quando comparado ao óleo de soja (cerca de 37%), segundo dados estatísticos para o ano de 2029 (CONTINI *et al.*, 2018).

Logo após o processo de extração do óleo dos grãos de soja, o farelo passa pelo processo de desolventização e torra. O farelo é então encaminhado a peletizadoras, compactando o material em pequenos cilindros para posterior transporte do produto

(PEREIRA & CASTRO, 2015). O farelo de soja pode ser exportado ou vendido internamente para ser utilizado como matéria-prima na elaboração de outros derivados. Geralmente é utilizado em conjunto com outros materiais para a elaboração de ração, mas pode também ser usado diretamente como ração devido seu baixo custo e composição nutricional (HASSAAN *et al.*, 2015).

O farelo de soja possui, em média, 48% de proteínas, 2% de lipídios, 7% de cinzas, 17% de fibra dietética total e 26% de carboidratos totais em base seca (SILVA & PERRONE, 2015; SILVA *et al.*, 2018). Além do elevado teor proteico, possui um excelente perfil de aminoácidos, com digestibilidade variando de 82 a 93%. Isso justifica seu uso principalmente na produção de rações animais (HASSAAN *et al.*, 2015). A composição nutricional do farelo de soja indica que o mesmo pode ser um produto com alto poder para aplicação no mercado consumidor da área alimentícia (SILVA *et al.*, 2018).

Atualmente no Brasil apenas uma pequena porcentagem (2,9 %) do farelo de soja é processada em produtos proteicos de soja para consumo humano. Geralmente esses produtos não são consumidos diretamente, mas incorporados como ingredientes em vários tipos de alimentos incluindo bebidas, barras nutricionais, produtos de panificação, cereais matinais, sopas, produtos cárneos, sobremesas, fórmulas infantis e análogos do leite e da carne. Os principais ingredientes provenientes do farelo de soja são a farinha de soja, concentrado e isolado proteico e proteína texturizada de soja (**Tabela 1**) (BOYE & RIBEREAU, 2011).

**Tabela 1.** Principais ingredientes proteicos obtidos a partir da torta de soja e seu uso na indústria alimentícia (SEIBEL e BELÉIA, 2009).

<b>Produto</b>	<b>Obtenção a partir da torta</b>	<b>Principal uso</b>
Farelo	Moagem. Pode ser utilizado processo de torra para inativação de enzimas	Produtos de panificação
Concentrado proteico	Desnaturação e precipitação com solução alcoólica ou de ácido diluído (pH 4,5)	Fortificação de produtos e análogos da carne
Isolado proteico	Extração alcalina (pH 7-10) seguida de precipitação ácida (pH 4,5)	Sopas, base de molhos, bebidas, fórmulas infantis, análogos do leite e carne
Proteína texturizada	Extrusão termoplástica	Análogos da carne

Estes ingredientes provenientes do farelo não agregam somente conteúdo proteico ao alimento, mas também possuem diversas propriedades funcionais. Essas propriedades incluem solubilidade, absorção e ligação de água, controle da viscosidade, gelatinização, coesão, adesão, elasticidade, emulsificação, absorção ou repulsão de

gordura, efeito flavorizante, formação de espuma e controle da coloração (LIU & LIMPert, 2004).

### **1.1 Aplicações do farelo de soja em biscoitos**

O farelo de soja possui potencial para ser utilizado na produção de novos produtos devido a sua composição nutricional e funcional em especial a presença das isoflavonas, e sua elevada produção e disponibilidade no mercado brasileiro. Segundo Zhao 2016, o farelo de soja possui potencial para substituir polímeros PVA (poliacetato de vinila) utilizados na indústria têxtil, além disso, Oduntan 2017, demonstrou o potencial no desenvolvimento de novos produtos integrais utilizando farelo de soja como um dos principais ingredientes.

Silva *et al.* (2018) demonstraram a utilização do farelo de soja não processado e bioprocessado por fermentação na substituição da farinha de trigo em uma formulação padrão de biscoitos. Os biscoitos produzidos com ambos os tipos de farelo de soja apresentaram propriedades tecnológicas adequadas, baixo teor de carboidratos, alto teor de proteínas, fibras e isoflavonas, contribuindo para melhora da qualidade nutricional e potencial funcional dos biscoitos.

Segundo definido em legislação (RDC 263/2005), biscoitos são os produtos obtidos pela mistura de farinha (s), amido (s) e ou fécula (s) com outros ingredientes, submetidos a processos de amassamento e cocção, fermentados ou não. Podem apresentar cobertura, recheio, formato e textura diversos. De acordo com o padrão de identidade e qualidade estabelecido em legislação, o biscoito é um alimento versátil que pode incluir em sua composição uma diversidade de ingredientes tornando-o um potencial alimento para a inclusão de farelo de soja.

Segundo a POF (Pesquisa de orçamentos familiares 2017-2018), a categoria de biscoito, dividido na pesquisa em doce, salgado e recheado, apresentou uma média de frequência de consumo de 9,2%; 17,1% e 2,8% respectivamente. Essa frequência de consumo, principalmente para biscoito salgado, ficou à frente de outros alimentos e bebidas que estão presentes no perfil de consumo tais como: ovos e refrigerante com respectivamente 13,6% e 16,6%. Os adolescentes são os principais consumidores na categoria biscoito, seguido por idosos e adultos.

De acordo com o guia alimentar para a população brasileira (2014), biscoitos e outros produtos de panificação, tais como pães, são classificados como alimentos

ultraprocessados, que segundo a definição do mesmo *são formulações industriais feitas inteiramente ou majoritariamente de substâncias extraídas de alimentos, derivados de constituintes de alimentos ou sintetizadas em laboratório*. Segundo POF, os alimentos ultraprocessados foram correspondentes por 19,7% das calorias consumidas em uma dieta e os biscoitos salgados e doces foram responsáveis por, respectivamente; 2,5 % e 1,7% do total de calorias consumidas. Sendo a categoria de biscoitos salgados, responsável por um consumo maior de calorias que alguns tipos de pães (2,1%) e ambos os biscoitos responsáveis por um consumo maior de calorias do que refrigerantes (1,3%). Esses dados indicam que existe um potencial para a utilização do farelo de soja em biscoitos, substituindo parte da farinha de trigo por farinha de soja, conforme descrito por Silva *et al.* (2018), melhorando as características nutricionais dos biscoitos que apesar de não ser recomendado o consumo está presente na dieta brasileira, dado a alta participação calórica dos biscoitos.

De acordo com a Associação Brasileira das Indústrias de Biscoitos, Massas Alimentícias e Pães & Bolos Industrializados (ABIMAPI), o consumo de biscoitos por habitante vem caindo ao longo dos anos (Figura 4), com uma redução de 4% em dois anos.

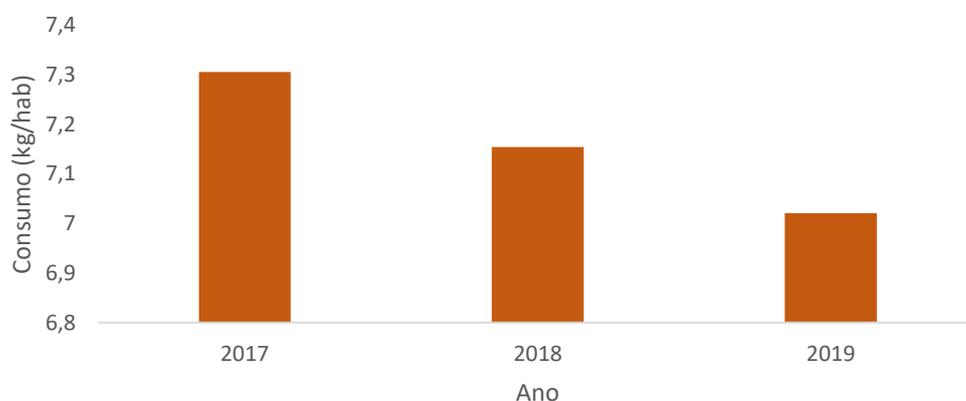


Figura 4 – Consumo *per capita* de biscoitos. Adaptado ABIMAPI

Essa redução no consumo de biscoitos pode estar correlacionada ao guia alimentar e políticas internacionais (*World Health Organization, 2013*) que orientam um menor consumo de alimentos ultraprocessados. Tais políticas culminaram no acordo em novembro de 2018 onde a ABIMAPI e outras associações assinaram junto ao Ministério da Saúde, um acordo para a redução de açúcar em alimentos, onde as

indústrias se comprometeram a uma redução para menos de 10% do total de calorias diárias ingeridas, sendo o prazo estabelecido no acordo é até 2022.

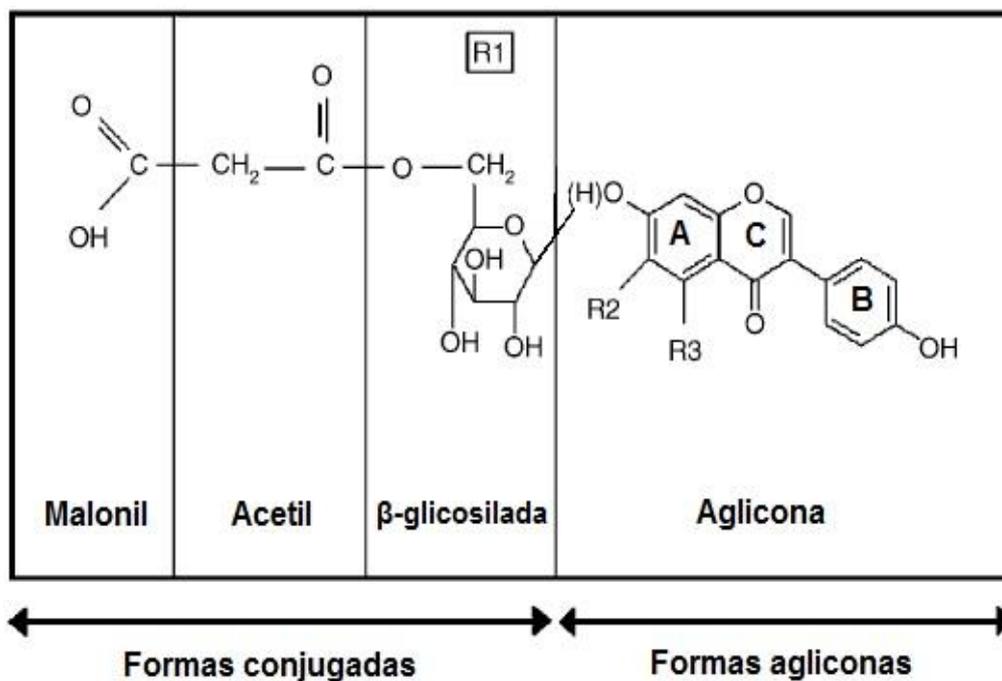
As novas políticas de consumo de alimentos saudáveis ocasionaram em mudanças legais e no perfil de consumo das pessoas. A mudança na legislação de rotulagem, RDC nº 429/2020, visa, além de outras funções, informar ao consumidor sobre o conteúdo dos nutrientes que possuem relevância para a saúde. A mudança no perfil de consumo, segundo a consultoria *Grand View Research* (GVR), no mercado de alimentos funcionais acontece, principalmente, em países com economias maduras, dado o enfoque em produtos com maior qualidade e mudanças no hábito de consumo. A GVR prevê para os próximos anos um aumento no consumo de biscoitos funcionais devido ao estilo de vida dos consumidores dado a conscientização da saúde, procura por lanches mais saudáveis e praticidade.

Nesse contexto, a substituição da farinha de trigo por farelo de soja torna-se viável, pois além do elevado conteúdo proteico, o farelo de soja também apresenta quantidades significativas de compostos bioativos, como as isoflavonas (SILVA & PERRONE, 2015). Portanto, seria de grande vantagem para a indústria alimentícia, em especial a de alimentos funcionais, a incorporação destes componentes funcionais nos alimentos através do farelo de soja. Por ser um coproduto da indústria do óleo de soja, essa matéria prima também possui a vantagem do baixo custo.

## 1.2 Isoflavonas na soja e derivados

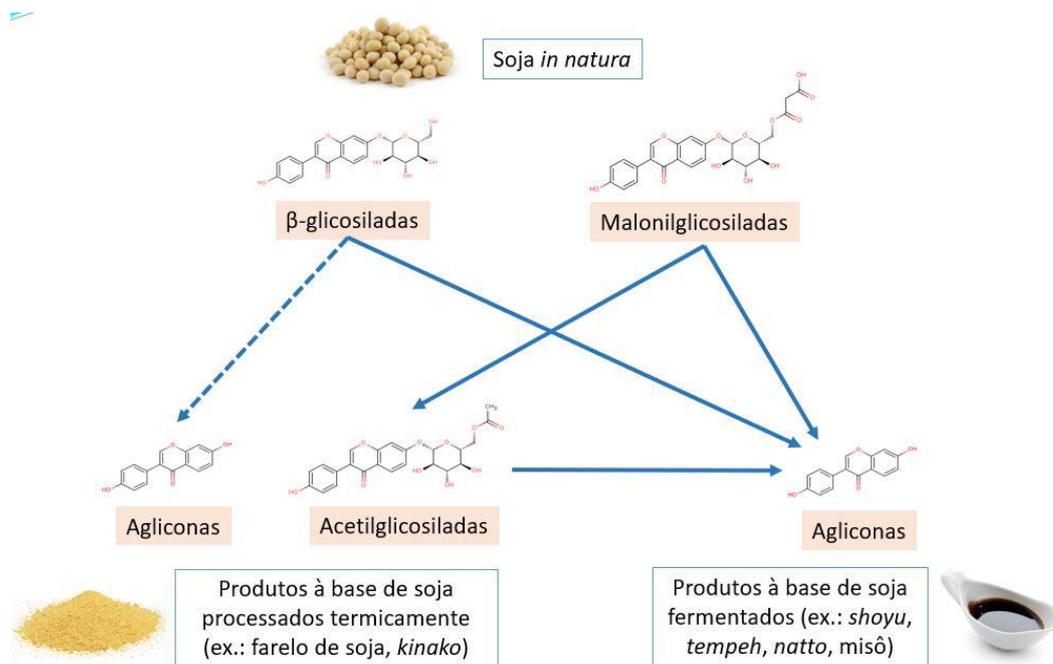
As isoflavonas são substâncias de origem vegetal, provenientes do metabolismo secundário de plantas, e pertencem à classe dos flavonoides. Apesar dos flavonoides serem encontrados amplamente distribuídos em diversos alimentos, as isoflavonas estão presentes apenas em poucas famílias botânicas, como a das leguminosas. A soja é a leguminosa que contém as maiores quantidades de isoflavonas no reino vegetal (COWARD *et al.*, 1993).

As isoflavonas na soja e seus derivados apresentam-se como 3 compostos principais: genisteína, daidzeína e gliciteína. Cada uma destas formas, denominadas agliconas, também pode existir na forma  $\beta$ -glicosilada e derivados, como acetil e malonil glicosilados (**Figura 5**), totalizando 12 isoflavonas presentes neste grupo de alimentos (GENOVESE & LAJOLO, 2002)



**Figura 5.** Estrutura química das isoflavonas da soja.

O conteúdo e perfil de isoflavonas na soja e seus derivados varia de acordo com fatores genéticos, ambientais e de processamento tecnológico (**Figura 6**). O farelo de soja possui perfil de isoflavonas similar ao grão *in natura*, com predominância das formas β-glicosiladas e malonilglicosiladas. O processo de aquecimento da soja e do farelo, utilizado na produção de alguns derivados tradicionais como a farinha de soja, gera conversão entre as formas, levando a um aumento das isoflavonas acetilglicosiladas e redução das formas malonilglicosiladas. A produção de produtos fermentados a base de soja ocasiona conversão das formas glicosiladas a suas respectivas formas agliconas. Desta forma, o perfil de isoflavonas na soja e seus derivados é influenciado pelas condições de processamento (SILVA & PERRONE, 2015; SILVA *et al.*, 2018).



**Figura 6.** Influência do processamento no perfil de isoflavonas da soja e derivados.

Outros processamentos podem ser utilizados para melhorar o perfil de isoflavonas na soja, como o uso de enzimas isoladas. De acordo com Kano *et al.*, 2006, o uso de enzimas com funções β-glicosidase aumentou o teor de isoflavonas agliconas em leite de soja. Nesse estudo foi avaliado o perfil de isoflavonas agliconas através de fermentação e foi observado que em ambos os processamentos a conversão das diferentes formas de isoflavonas para as formas agliconas foram superiores a 90%.

Estudos demonstram que a ingestão regular de isoflavonas é responsável por diversos efeitos benéficos à saúde. Dentre estes efeitos podemos citar o menor risco no desenvolvimento de câncer de próstata e mama e doenças cardiovasculares (STEINER *et al.*, 2008), melhoras nos sintomas da menopausa (CHENG *et al.*, 2007) e na saúde óssea (TAKU *et al.*, 2011).

Os efeitos bioativos observados no organismo dependem da biodisponibilidade das isoflavonas. A biodisponibilidade compreende a absorção, metabolismo, distribuição aos tecidos alvo e excreção destes componentes no organismo humano (LARKIN *et al.*, 2008). A biodisponibilidade das isoflavonas sofre influência de diversos fatores como idade, sexo, trânsito intestinal, frequência de ingestão de soja e derivados, matriz do alimento, dose de isoflavonas ingerida e também a forma química na qual as isoflavonas estão presentes no alimento (NIELSEN & WILLIAMSON, 2007).

Estudos demonstram que as isoflavonas agliconas são absorvidas de maneira mais rápida e em maiores quantidades no intestino humano em comparação as formas glicosiladas, provavelmente, por não necessitarem de hidrólise pelas enzimas do epitélio intestinal para serem absorvidas (OKABE *et al.*, 2011). Em estudo realizado por Silva *et al.* (2020), foi demonstrado que a fermentação com *Saccharomyces cerevisiae* aumentou os teores de isoflavonas agliconas em farelo de soja e que os biscoitos produzidos a partir do farelo de soja fermentado tinham melhores propriedades funcional e nutricional do que aquele produzido com o farelo não-fermentado e revelou que a excreção urinária de isoflavonas foi maior após o consumo do biscoito com farelo fermentado em relação ao biscoito com farelo não bioprocessado (Silva *et al.*, 2020).

Portanto, a utilização de processos que aumentem o teor de isoflavonas agliconas na soja e seus derivados poderia potencialmente aumentar a biodisponibilidade de isoflavonas no organismo humano (KANO *et al.*, 2006).

## **2 Justificativa e objetivos**

O farelo de soja é um coproduto da indústria de óleo de soja que possui elevados teores de proteína e isoflavonas, as quais apresentam potenciais efeitos bioativos na saúde humana. Portanto torna-se relevante verificar se as isoflavonas possuem estabilidade ao longo prazo em produtos de panificação elaborados com farelo de soja.

### **2.1. Objetivo geral**

Investigar a estabilidade físico-química de biscoitos elaborados contendo farelo de soja.

### **2.2. Objetivos específicos**

- Realizar o bioprocessamento do farelo de soja por fermentação e hidrólise enzimática;
- Elaborar biscoitos contendo farelo de trigo, farelo de soja, farelo de soja fermentado, e farelo de soja hidrolisado;
- Realizar a extração das isoflavonas e dos óleos nos biscoitos;
- Avaliar a estabilidade físico-química e sensorial dos biscoitos;
- Avaliar o perfil de isoflavonas por CLAE-DAD-EM

### **3 Materiais e métodos**

#### **3.1. Origem da matéria prima**

O farelo de soja foi obtido através de uma indústria de óleo de soja. No farelo de soja foram realizadas análises de composição centesimal que foram incluídos em um trabalho de conclusão de curso de outro projeto.

##### **3.1.1. Fermentação do farelo de soja**

O farelo de soja foi moído e aquecido a uma temperatura de 70 °C durante 20 minutos e em seguida foi adicionado 0,5 g de fermento biológico seco (*Saccharomyces cerevisiae*) para cada 75 g de farelo de soja aquecido. Em seguida, foram adicionados 150 mL de água (Milli-Q) no farelo e homogeneizado até obter uma mistura completa dos componentes. Posteriormente a mistura foi vedada e acondicionada em um *shaker* orbital, para agitação e controle de temperatura, a 40 °C por 48 horas. Após a fermentação, o farelo fermentado foi seco em uma estufa de convecção de ar (DE OLIVEIRA SILVA; PERRONE, 2015) a 55 °C por 24 horas, moído e armazenado sob refrigeração até a utilização.

##### **3.1.2. Hidrólise enzimática do farelo de soja**

O farelo de soja foi moído e aquecido a uma temperatura de 70 °C durante 20 minutos e em seguida a enzima, de grau alimentício e atividade principal de celulase, *Cellumax*<sup>®</sup> foi adicionada em uma proporção de 0,1g de enzima para 100 g de farelo de soja aquecido. Em seguida, foram adicionados 300 mL de água (Milli-Q), como meio, para cada 100 g da mistura de farelo e enzima e homogeneizado até obter uma mistura completa dos componentes. Posteriormente a mistura foi vedada e acondicionada em um *shaker* orbital a 25 °C por 30 minutos com agitação de 140 rpm. Após a hidrólise, foi realizada uma pré-secagem do farelo hidrolisado a 105 °C por 1 hora. Em seguida, o farelo hidrolisado foi seco em uma estufa de convecção de ar (DE OLIVEIRA SILVA; PERRONE, 2015) a 55 °C por 24 horas, moído e armazenado sob refrigeração até a utilização.

### 3.2. Formulação dos biscoitos

Os biscoitos foram preparados de acordo com o método AACC 10-54 com modificações (Tabela 2). Para preparar os biscoitos, os ingredientes secos foram misturados completamente e depois foram adicionados água e essência-extrato de baunilha. A massa foi homogeneizada e desenrolada em discos com 4,5 cm de diâmetro. Os biscoitos foram assados em forno a 180 °C por 15 min, resfriados até a temperatura ambiente e armazenados a vácuo até análises. Os biscoitos foram nomeados de: Biscoito de trigo (BT), Biscoito farelo de soja não processado (BNP), Biscoito farelo hidrolisado (BH) e Biscoito farelo fermentado (BF).

**Tabela 2** – Formulação dos biscoitos com farelo de soja, farelo de soja fermentado e farelo de soja hidrolisado

Ingredientes	Biscoitos com farelo de soja (não processado, fermentado e hidrolisado)	Biscoito trigo
Farelo de soja (Não processado, fermentado ou hidrolisado) (g)	95,0	0,0
Farinha de trigo (g)	5,0	100,0
Açúcar refinado (g)	30,0	30,0
Margarina (g)	30,0	30,0
Água (mL)	20,0	20,0
Fermento químico (g)	2,0	2,0
Sal (g)	1,0	1,0
Sucralose (g)	6,0	0,0
Essência de baunilha (mL)	10,0	0,0

### 3.3. Condições da estabilidade

A análise de estabilidade foi conduzida por 6 meses e os biscoitos foram armazenados seguindo as instruções indicadas pelo mercado e realizadas no uso doméstico, ou seja, armazenar em local fechado, seco e fresco. Adicionalmente, os biscoitos foram acondicionados em sacos plásticos selados à vácuo e a temperatura do local do armazenamento foi monitorada.

Os resultados obtidos estão classificados como estabilidade 1 e 2, pois avaliando os resultados obtidos para a estabilidade 1 consideramos uma nova formulação do biscoito para ser estudada, dessa forma foi necessário realizar uma segunda estabilidade. As análises realizadas em cada estabilidade estão inseridas de acordo com a tabela 3.

**Tabela 3** – Análises realizadas nas estabilidades.

Análises	Estabilidade 1	Estabilidade 2
Atividade de água	✓	✓
Umidade	✓	✓
Índice de Peróxido	✓	x
Índice de <i>p</i> -anisidina	✓	X
Índice de acidez	✓	X
TEAC	X	✓
FRAP	x	✓
Isoflavonas	✓	✓
Sensorial	✓	✓

### 3.3.1. Extração de compostos bioativos

A extração de compostos bioativos das amostras foi realizada conforme Silva & Perrone (2015). Cerca de 2 g de cada amostra foi pesada em um tubo Falcon e 10 mL de uma mistura de solventes composta por água: etanol: acetato de etila (40:40:20 – v/v/v) foram adicionados. As amostras foram homogeneizadas em vórtex por 2 minutos na velocidade máxima e depois centrifugadas por 10 minutos (3000 rpm). O sobrenadante foi recolhido e filtrado em um balão de 25mL. O procedimento foi repetido por mais 2 vezes, os sobrenadantes recolhidos e avolumados a 25 mL. Os extratos foram armazenados a -20°C até as análises do perfil de isoflavonas e atividade antioxidante.

### 3.3.2. Extração da fração lipídica

A extração dos óleos das amostras foi feita utilizando metanol na proporção de 3 mL para cada 1 g de biscoito. As amostras foram homogeneizadas em um *shaker* orbital por 40 min. O sobrenadante foi filtrado a vácuo e o óleo armazenado em um Erlenmeyer até completa evaporação do solvente. O procedimento foi repetido por mais 2 vezes e óleo armazenado. Não foram utilizadas fontes de calor de modo a evitar uma possível degradação do óleo.

## 3.4. Análise instrumental

### 3.4.1. Atividade de água ( $a_w$ )

Para realizar a análise de atividade de água foi utilizado o equipamento Labmaster em temperatura ambiente de acordo as condições de funcionamento do próprio equipamento.

### **3.4.2. Umidade**

Para determinação do teor de umidade, pesa-filtros de alumínio foram secos em estufa a temperatura de 105°C por 1 hora e depois resfriados em dessecador para posterior pesagem. Aproximadamente 2g de cada amostra moída foi adicionada ao pesa-filtro e secas em estufa a 105°C até peso constante. A análise foi realizada em triplicata e as massas residuais após secagem foram utilizadas para calcular o teor de umidade das amostras.

### **3.4.3. Índice de peróxido**

Para a determinação do índice de peróxido, aproximadamente 1 g do óleo de cada amostra foi adicionado em um frasco de Erlenmeyer de 125 mL. Posteriormente, 30 mL de solução de ácido acético e clorofórmio (3:2) foram adicionados ao frasco até dissolver a amostra e 0,5 mL de solução de iodeto de potássio foi adicionado na amostra, em um local com nenhuma luminosidade por 1 minuto. Após o tempo decorrido, foi adicionado 30 mL de água deionizada. A solução foi titulada com tiosulfato de sódio 0,01 N em agitação constante até que a coloração amarela da fase aquosa tenha desaparecido. Após a perda da coloração amarela foi adicionado 0,5 mL de solução indicado de amido e a titulação continuou até o desaparecimento da coloração violeta. As amostras foram realizadas em triplicatas e os resultados foram expressos em miliequivalentes de O<sub>2</sub>/kg óleo.

### **3.4.4. Índice de acidez**

Para a determinação do índice de acidez (Instituto Adolfo Lutz, 2008) aproximadamente 2 mL da amostra foram adicionados em um frasco Erlenmeyer de 125 mL, junto com 25 mL de uma solução de éter:álcool (2:1) e 3 gotas do indicador fenolftaleína. A amostra foi titulada com uma solução de NaOH 0,01 M até o

aparecimento de uma coloração rósea. As análises foram realizadas em triplicatas e os resultados foram expressos em miligramas de NaOH por grama de óleo.

#### 3.4.5. Índice de *p*-anisidina

Para determinação do índice de *p*-anisidina (AOAC, 2005), aproximadamente 1,5 g do óleo de cada amostra foi adicionado em um balão volumétrico de 25 mL e dissolvido n-hexano até completar o volume. A absorvância ( $\lambda = 350$  nm) da amostra foi lida em um espectrofotômetro utilizando uma cubeta de quartzo com a solução, tendo como referência o solvente n-hexano. Após a leitura, 5 mL da solução da amostra em n-hexano e 5 mL de solvente foram transferidos para um tubo de ensaio onde foi adicionado 1 mL da solução de *p*-anisidina em cada tubo de ensaio. Após 10 minutos a absorvância foi lida em  $\lambda = 350$  nm.

Para obter o valor de *p*-anisidina foi utilizada a seguinte equação:

$$\text{IPA} = 25 \times (1,2 \text{ Aa} - \text{Ab}) / m$$

Onde:

IPA = Índice de *p*-anisidina

Aa = Absorvância da solução da amostra que reagiu com *p*-anisidina

Ab = Aa = Absorvância da solução da amostra que não reagiu com *p*-anisidina

m = Massa da amostra (g)

#### 3.4.6. Perfil de isoflavonas por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a detector de arranjo de diodos e espectrometria de massas (CLAE-DAD-EM)

A análise de quantificação e perfil de isoflavonas das amostras por CLAE-DAD-EM foi realizada baseado em Fonseca *et al.* (2014). O sistema cromatográfico (Shimadzu, Kioto, Japão) utilizado compreendeu uma bomba quaternária (LC-20AT), um injetor automático (SIL-20AC), um detector de arranjo de diodos (SPD-M20A), o sistema controlador foi o CBM-20A e o degasseificador foi o DGU-20A5 e um espectrômetro de massas (LCMS-2020).

Para a separação cromatográfica foi utilizada uma coluna C18-5 $\mu$ m, Kimetex<sup>®</sup> (50mm x 2,1 mm). A fase móvel foi constituída de água (eluente A) e acetonitrila (eluente B), ambos adicionados de 0,3% de ácido fórmico, com fluxo de 0,6 mL/min.

Antes da injeção, a coluna cromatográfica foi equilibrada com a mistura inicial do eluente A de 90% e do eluente B de 10%. Imediatamente após a injeção, essa proporção foi modificada para 17% do eluente B em 6 min, após 12min, aumentou-se a proporção para 21% do eluente B e em 15 min, mudou-se para 10%. Entre as corridas, a coluna foi reequilibrada com 10% do eluente B por 5 min. Antes da injeção, os extratos foram filtrados através do filtro PTFE 0,45µm.

A detecção por DAD foi realizada entre 190 e 370 nm. Para a detecção por EM utilizou-se a fonte de ionização por electrospray no modo negativo, com fluxo de nitrogênio de 3,0 L/min e monitoramento seletivo de íons (SIM). Os compostos foram identificados com base na comparação com o tempo de retenção e a razão massa-carga (m/z) do íon pseudomolecular de seus respectivos padrões analíticos comerciais adquiridos (daidzina, glicitina, genistina, daidzeína, gliciteína e genisteína).

A quantificação das isoflavonas foi realizada por padronização externa utilizando o valor de absorbância do DAD a 254 nm. Os teores de isoflavonas malonilglicosiladas e acetilglicosiladas foram determinados a partir da curva de calibração do padrão da isoflavona β-glicosilada correspondente, fazendo-se o ajuste para as diferenças de peso molecular. Os resultados foram expressos em miligramas de isoflavonas por 100 gramas de amostra.

### **3.4.7. Atividade antioxidante**

A atividade antioxidante das amostras foi avaliada pelos métodos espectrofotométricos de FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) e TEAC (*Trolox Equivalent Antioxidant Capacity*), utilizando-se os extratos obtidos anteriormente.

O ensaio de FRAP foi realizado de acordo com Benzie & Strain (1996), com algumas modificações. O reagente de FRAP foi preparado pela mistura de 2 mL de solução de 10 mM de TPTZ (diluída em HCl 6N), 2 mL de solução de FeCl<sub>3</sub> a 20 mM e 20 mL de tampão acetado a 300 mM (pH 3,6). O reagente foi mantido à 37°C até a análise. Em microplaca de 96 poços foram adicionados 20 µL de extrato de cada amostra e 180 µL do reagente de FRAP, em triplicata. A placa foi acondicionada no leitor de microplacas Vitor3 1420 (PerkinElmer, Turku, Finland), agitada, aquecida a 37 °C por 6 minutos e a leitura das absorbâncias foi realizada a 595 nm. Os valores de FRAP foram calculados através de curva de calibração utilizando FeSO<sub>4</sub> e os resultados expressos como equivalentes de Fe<sup>+2</sup> (µmol) para cada amostra.

O ensaio de TEAC foi realizado de acordo com Re *et al.*, (1999), com algumas modificações. O radical ABTS<sup>+</sup> foi preparado no dia anterior à análise com a mistura de persulfato de potássio (K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>) a 2,45mM e do ABTS a 7mM em um balão volumétrico de 10mL. A mistura foi diluída em água, avolumada e armazenada a temperatura ambiente e protegida da luz por pelo menos 12 a 16 h até as análises. No dia da análise, a solução do radical ABTS foi diluída em água até atingir um valor de absorvância de  $0,70 \pm 0,02$  a 720 nm. Em microplaca de 96 poços foram adicionados 10 µL de cada extrato e 190 µL da solução de ABTS diluída. A placa foi acondicionada no leitor de microplacas Vitor3 1420 (PerkinElmer, Turku, Finland), agitada, aquecida a 37°C por 6 minutos e a leitura das absorvâncias foi realizada a 720 nm. A leitura da absorvância das amostras foi subtraída da leitura da absorvância do branco (realizado utilizando-se água Milli-Q no lugar do extrato) e utilizada para o cálculo dos valores de TEAC a partir de uma curva de calibração utilizando-se padrão de Trolox. Os resultados foram expressos em µmol de equivalentes de Trolox para cada amostra.

### **3.5. Análise sensorial**

A avaliação sensorial dos biscoitos foi realizada utilizando o teste de aceitação com escala hedônica de 9 pontos e teste de intenção de compra utilizando escala hedônica de 5 pontos. O teste de aceitação conduzido na estabilidade 1 ( $n=96$ ) e estabilidade 2 ( $n=101$ ) foram realizados na Universidade Federal do Rio de Janeiro, recrutando estudantes de graduação e funcionários. Os biscoitos foram codificados com 3 números aleatórios e oferecidos aos avaliadores em ordem aleatória. Durante a avaliação de cada biscoito foi realizada o teste de intenção de compra dos biscoitos.

### **3.6. Análise estatística**

As análises estatísticas foram realizadas usando o software GraphPad Prism para Windows (versão 5.04). Para as análises físico-químicas e tecnológicas dos biscoitos foi realizada análise de variância simples (ANOVA) seguido pelo teste de Dunnet, em amostras que apresentaram variação significativa. Para a análise sensorial foi realizado um teste de Kruskal-Wallis seguido pelo teste de Dunn. As diferenças foram consideradas significativas quando  $p < 0,05$ .

## 4 Resultados e discussão

### 4.1. Atividade de água

Conforme observado no gráfico 1, os valores de atividade de água ( $A_w$ ) não apresentaram variação significativa para o biscoito BF, entretanto foi observado uma variação significativa na atividade de água para os biscoitos BNP e BT com um aumento de 58% e 90%, respectivamente, entre o tempo inicial e final da estabilidade.

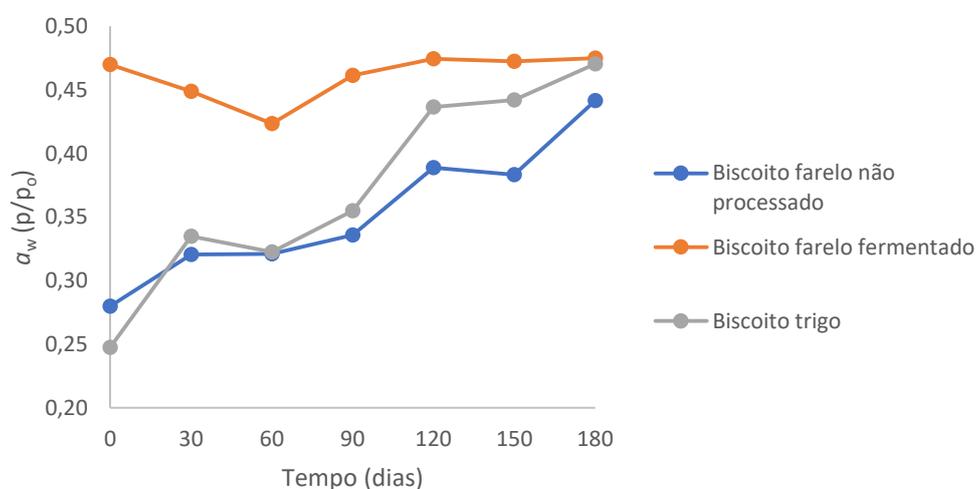


Gráfico 1 – Atividade de água nos biscoitos

O comportamento foi similar para o segundo teste onde foi observada uma variação significativa para os biscoitos BH e BNP com um aumento de 20% e 33% respectivamente e não foi observado variação para o biscoito BF (Gráfico 2).

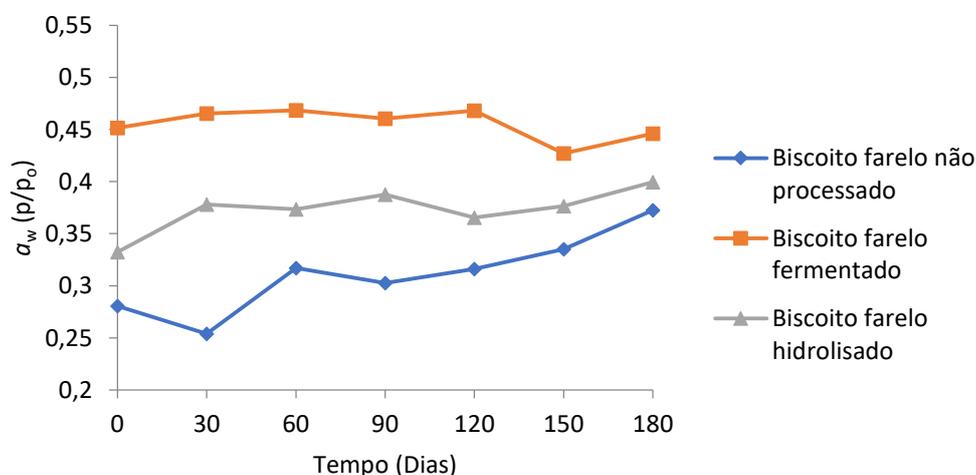


Gráfico 2 – Atividade de água nos biscoitos.

A atividade de água é definida na literatura (Coultate, 2009) como a pressão de vapor da água em um alimento com a pressão de vapor de água pura a mesma temperatura. A  $a_w$  influencia a velocidade de alguns eventos tais como: hidrólise enzimática, oxidação não enzimática e o crescimento microbiano, sendo esse último evento importante para garantir a segurança alimentar dos alimentos. Durante o período de estudo da estabilidade os valores observados em ambas as estabilidades são adequados para manter a estabilidade microbiológica do produto, pois segundo a literatura a  $a_w$  mínima para o crescimento microbiológico é 0,6 e segundo *Arimi et al.*, 2010 a atividade crítica para o amolecimento da textura dos biscoitos é 0,5. Esses valores não foram verificados durante os períodos de armazenamento.

#### 4.1.2. Umidade

Conforme a gráfico 3, o teor de umidade não apresentou variação significativa para o biscoito BF, entretanto foi observado um aumento de 93% e 110% para os biscoitos BT e BNP, respectivamente após o armazenamento. Na segunda estabilidade (gráfico 4) o biscoito BNP apresentou comportamento similar com um aumento de 64% no teor de umidade. Os demais biscoitos também apresentaram variações significativas com aumento de 6% e 37% para os biscoitos BF e BH, respectivamente.

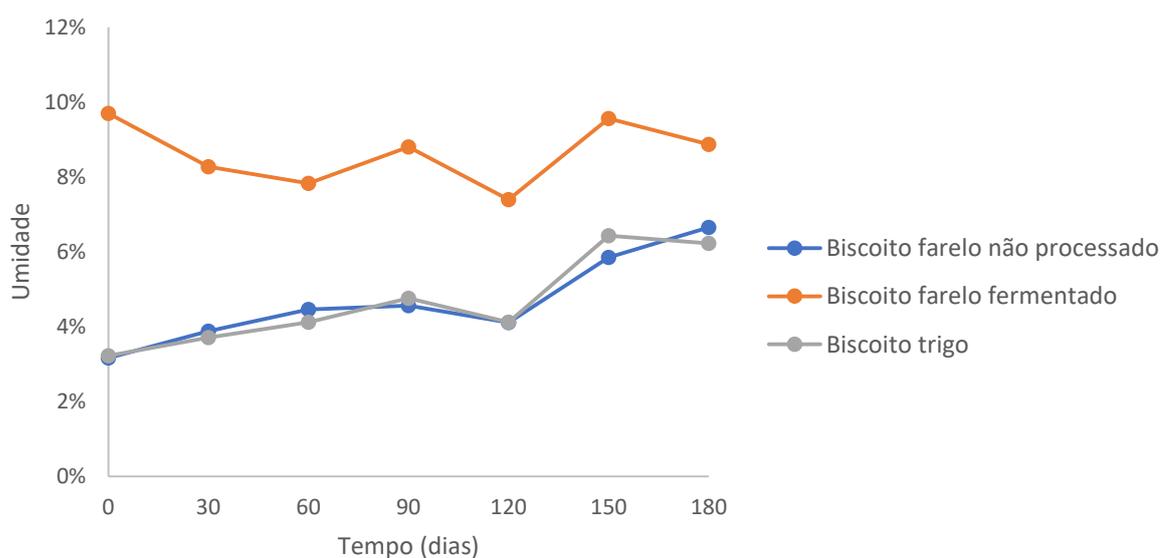


Gráfico 3 – Gráfico da estabilidade 1 da umidade dos biscoitos

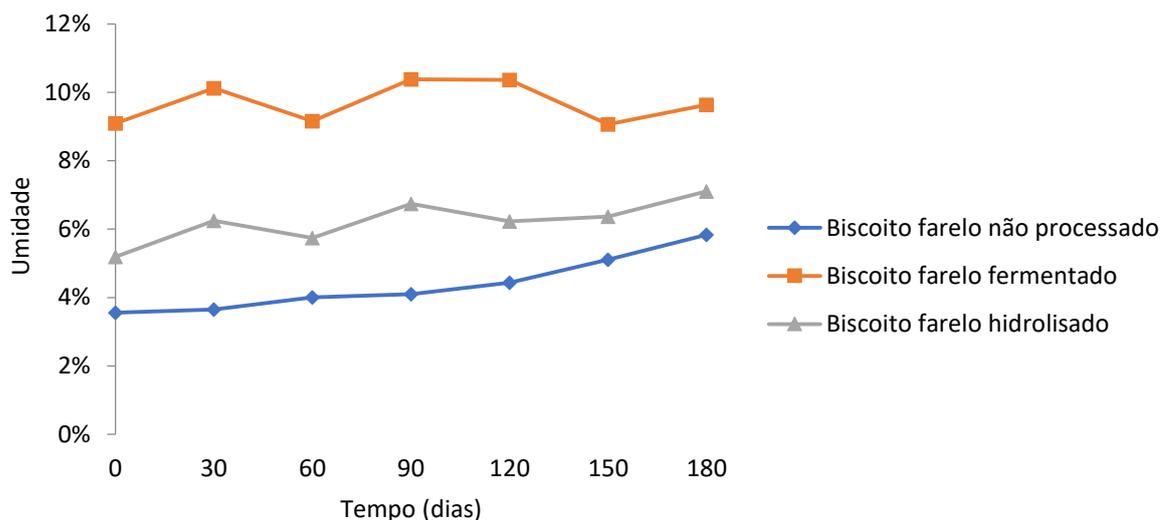


Gráfico 4 – Gráfico da estabilidade 2 da umidade dos biscoitos

Segundo a RDC 263/2005, que define o regulamento técnico para produtos de cereais, amidos, farinhas e farelo, a umidade máxima especificada é 15% para farinhas, amido de cereais e farelos. Apesar dos aumentos observados para a maioria das amostras em ambos os testes o valor máximo não foi observado durante o período de estabilidade.

#### 4.1.3. Índice de Peróxido

Conforme o gráfico 5, os biscoitos BF e BT apresentaram redução significativa de 20% e 14% respectivamente, enquanto o biscoito BNP não apresentou variação após o tempo final de armazenamento. O menor e o maior valor observado ao longo da estabilidade foi 3,5 e 11,3 meq O<sub>2</sub>/kg óleo para o biscoito com farelo fermentado.

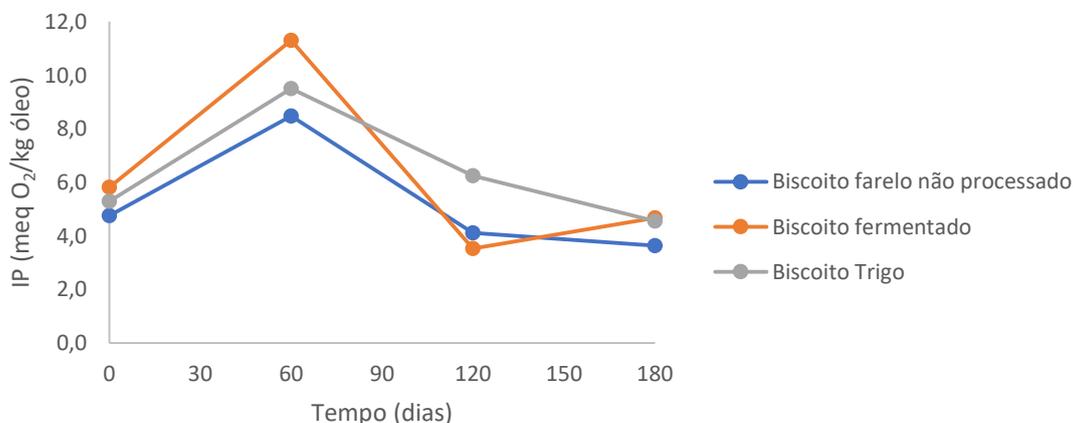


Gráfico 5 – Estabilidade do peróxido dos biscoitos

Todos os biscoitos (BNP, BF e BT) apresentaram um pico no teor de hidroperóxidos no tempo de 60 dias. Esse pico observado era esperado, de acordo com a teoria de oxidação lipídica. Conforme a figura 7, o caminho descrito pela literatura é a formação do hidroperóxido como produto de oxidação primário dos ácidos graxos. Esse produto é oxidado uma segunda vez formando o radical alcoxila que é instável e logo se converte em outros produtos (aldeídos, álcoois e cetonas). Os resultados da segunda oxidação lipídica podem ser observados através de análises como *p*-anisidina.

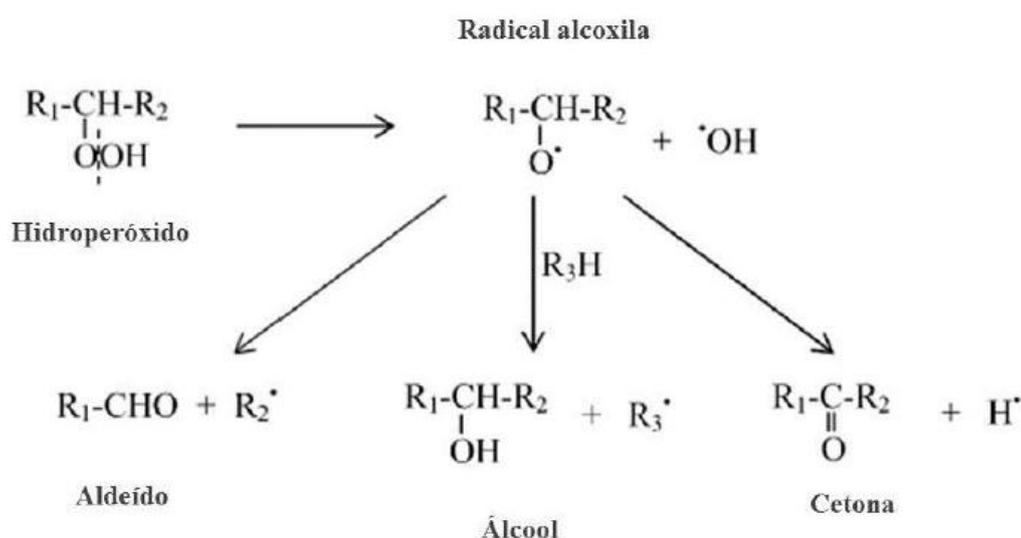


Figura 7 - Oxidação lipídica

Segundo a RDC 270/05 o limite máximo para o índice de peróxido para óleos vegetais refinados é 10 meq O<sub>2</sub>/ kg óleo. Durante o período de estabilidade o biscoito com farelo fermentado apresentou um valor superior ao estabelecido na legislação (11,3 meq O<sub>2</sub>/kg óleo), contudo o valor observado na legislação para o índice de peróxido é valido para óleos frescos, ou seja, o valor máximo observado para o biscoito BF atendeu ao requisito estabelecido em lei.

#### 4.1.4. Índice de *p*-anisidina

Conforme gráfico 6, todos os biscoitos apresentaram variação significativa, onde foi observado uma redução de 50% e 44% para os biscoitos BNP e BF, respectivamente, e um aumento de 98% para o biscoito BT.

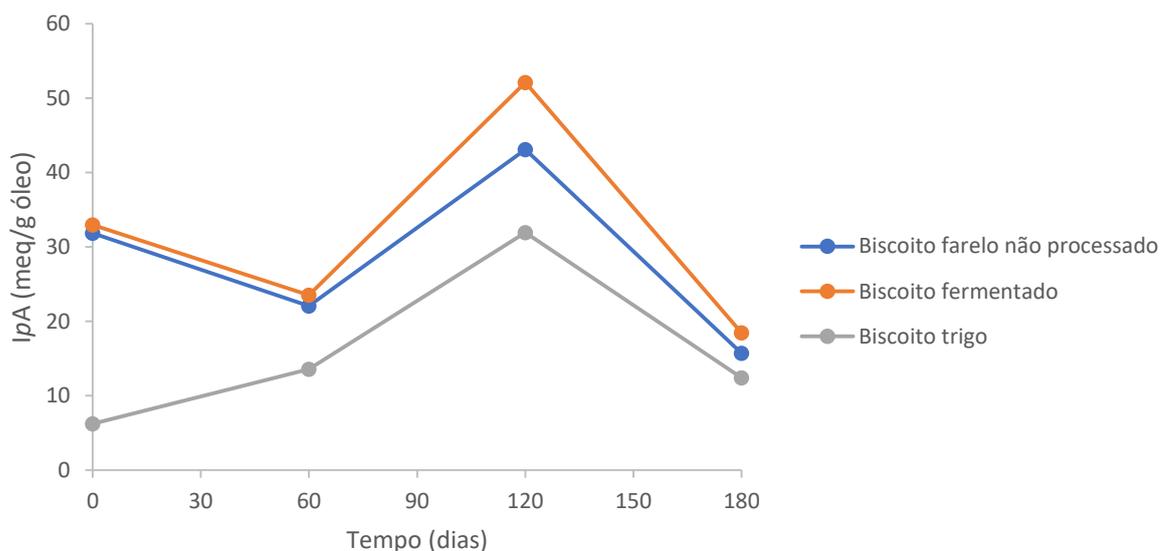


Gráfico 6 – Índice de *p*-anisidina dos biscoitos

Todos os biscoitos apresentaram um pico no tempo de 120 dias. Esse pico observado confirma o resultado esperado para a teoria de oxidação lipídica de ácidos graxos.

#### 4.1.5. Índice de acidez

Conforme o gráfico 7, não foi observada uma variação na acidez para o biscoito BNP, porém houve um aumento de 21% para o biscoito BF e uma redução de 24% para o biscoito BT, comparando o tempo inicial e final da estabilidade.

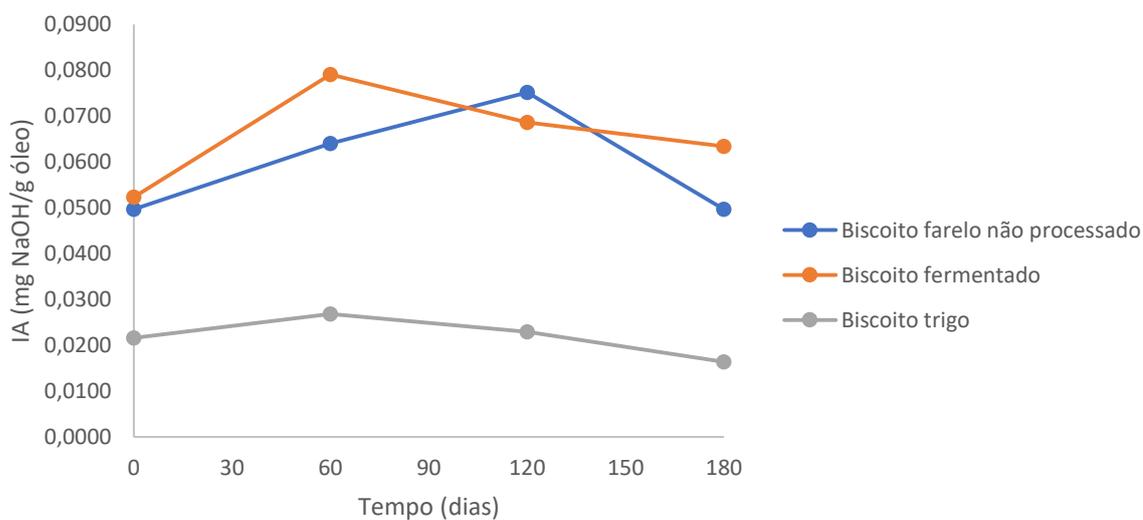


Gráfico 7 – Índice de acidez

Segundo a legislação RDC 270/2005, o teor de acidez máximo em óleos refinados é 0,6 mg de KOH/g, logo o teor de acidez permaneceu do limite estabelecido por legislação. Os resultados obtidos para o índice de acidez, indicam que o biscoito é estável para o atributo acidez.

#### 4.1.6. Atividade Antioxidante

A atividade antioxidante (AA) dos biscoitos nos tempos inicial e final pode ser observada nos gráficos 8 e 9.

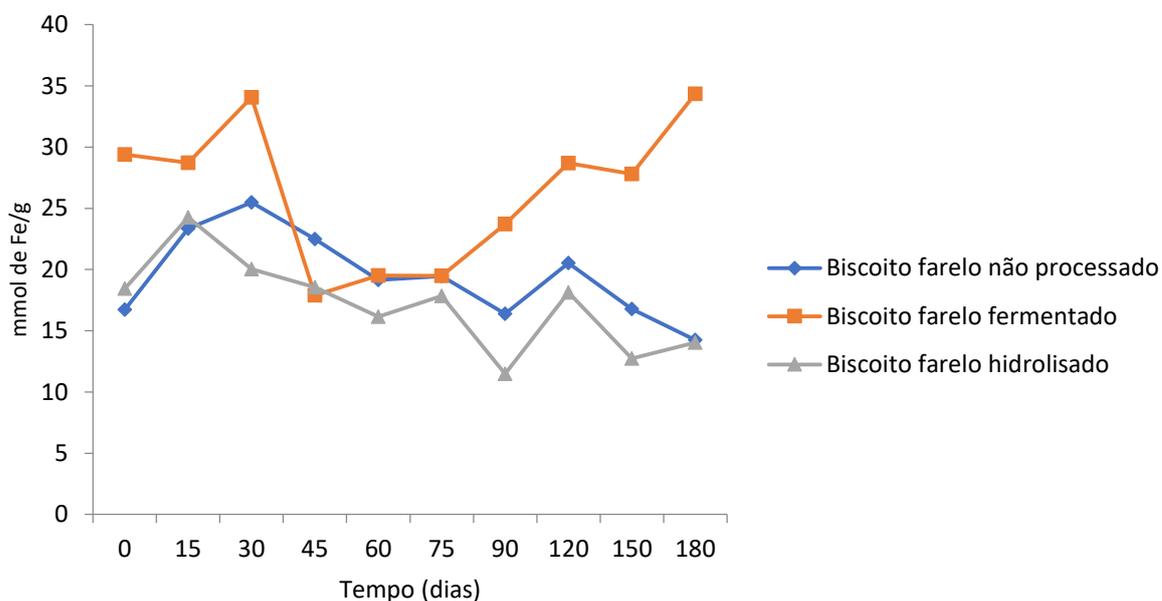


Gráfico 8 – Atividade antioxidante (FRAP) da estabilidade 2

Para o ensaio de FRAP os valores variaram, significativamente, ao longo do armazenamento para os biscoitos BNP e BH e a amplitude observada foi entre 14,2 e 25,5 mmol Fe<sup>2+</sup>/g para o biscoito BNP e 11,5 e 24,3 mmol Fe<sup>2+</sup>/g para o biscoito BH. Não foi observada uma variação significativa para o biscoito BF e a amplitude observada foi entre 7,9 e 34,3 mmol Fe<sup>2+</sup>/g para o biscoito BF.

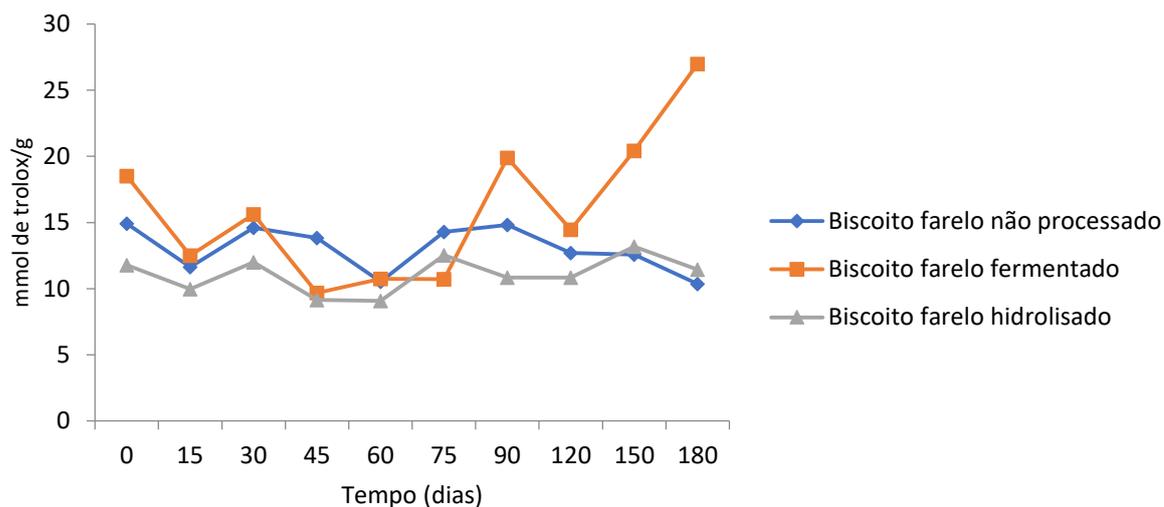


Gráfico 9 – Atividade antioxidante (TEAC) da estabilidade 2

Os valores de AA pelo método de Trolox dos biscoitos variaram, significativamente, para todos os biscoitos ao longo do armazenamento e a amplitude observada foi entre 10,4 e 14,9 mmol de Trolox/g para o biscoito BNP, 9,7 e 26,9 mmol de Trolox/g para o biscoito BF e 9,1 e 13,2 mmol de Trolox/g para o biscoito FSH no ensaio de TEAC.

O resultado esperado era os biscoitos BF e BH, apresentarem uma atividade antioxidante maior quando comparado ao biscoito BNP pelo fato de o processamento aumentar o teor de isoflavonas agliconas, pois segundo a literatura apresentam maior atividade antioxidante. Tal resultado foi observado no biscoito BF, entretanto não foi possível verificar tal expectativa no biscoito BH.

O biscoito BF apresentou maiores valores de atividade antioxidante avaliada pelos métodos de FRAP e TEAC quando comparado aos demais. Este comportamento pode ser devido ao processo de fermentação gera compostos ácidos e peptídeos que podem interferir nos ensaios de atividade antioxidante, além das isoflavonas que possuem atividade antioxidante já observada na literatura (Jayachandran & Xu, 2019). O biscoito BH apresentou valores de atividade antioxidantes semelhantes ao biscoito BNP em ambos os ensaios.

#### 4.1.7. Isoflavonas

A seguir observamos os resultados obtidos para o perfil das isoflavonas, para os testes de estabilidade 1 e 2.

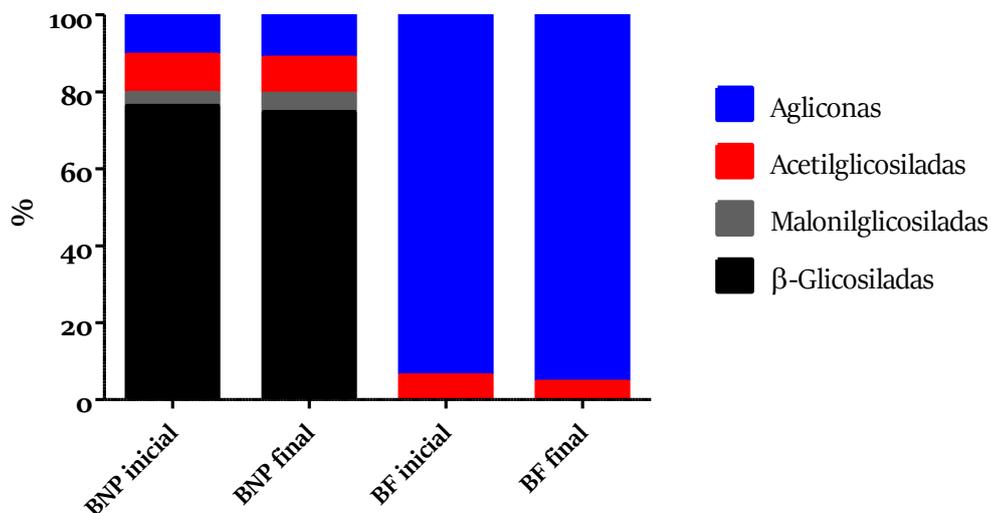


Gráfico 10 – Teor relativo das formas de isoflavonas no tempo inicial e final do armazenamento

O teor de isoflavonas totais realizados na estabilidade 1 (Gráfico 10) nos biscoitos foram de 113,9 e 110,18 mg/100 g nas amostras dos biscoitos BNP e BF, respectivamente. Conforme observamos no gráfico y.6, o processamento realizado no farelo alterou o perfil de isoflavonas na soja consideravelmente. O biscoito BNP apresenta o seguinte perfil de isoflavonas: 76% B-glicosiladas, 4% malonilglicosiladas, 10% acetilglicosiladas e 10% agliconas e o biscoito com farelo fermentado apresentou o seguinte perfil de isoflavonas: 6% acetilglicosiladas e 94% agliconas. As formas β-glicosiladas e malonilglicosiladas não foram encontradas no biscoito com farelo fermentado. Durante o período de avaliação da estabilidade observamos um aumento de 28% no teor de agliconas no biscoito não processado, indicando dessa forma que a temperatura constante e ambiente e o tempo de armazenamento do biscoito é um fator a ser considerado, pois altera significativamente o perfil das isoflavonas. O perfil de isoflavonas no biscoito BF não sofreu variação significativa durante o período analisado, indicando estabilidade dos compostos e que a temperatura não interfere no perfil das isoflavonas no farelo processado.

O teor de isoflavonas totais nos farelos para o 2º teste de estabilidade foram de 164,7, 127,7 e 108,0 mg/100g nas amostras dos farelos não processado, farelo fermentado e farelo hidrolisado. Com relação ao perfil o teor de isoflavonas agliconas foi 7,7 e 6,1 vezes maior no farelo fermentado e farelo hidrolisado, respectivamente,

quando comparado ao farelo de soja não processado (16,0 mg de isoflavonas agliconas por 100 g).

O biscoito BF apresentou os maiores teores de isoflavonas totais (em equivalentes de aglicona) (74,7mg/100g), seguido dos biscoitos BNP (65,4mg/100g) e BH (61,9mg/100g) que não apresentaram diferença estatística entre si. O biscoito BNP apresentou o seguinte perfil de isoflavonas: 77% B-glicosiladas, 2% malonilglicosiladas, 10% acetilglicosiladas e 11 % agliconas, o biscoito BF apresentou o seguinte perfil de isoflavonas: 3% malonilglicosiladas e 97% agliconas, não foram encontradas formas B-glicosiladas e acetilglicosiladas na amostra e o biscoito hidrolisado apresentou o seguinte perfil de isoflavonas: 6% B-glicosiladas, 2% malonilglicosiladas, 2% acetilglicosiladas e 90% agliconas. Os biscoitos BF e BH apresentaram maiores teores de isoflavonas na forma aglicona em relação ao biscoito BNP (6,5 e 5,1 vezes mais, respectivamente). O gráfico 11 mostra o perfil de isoflavonas de cada biscoito no tempo inicial e final de armazenamento. O perfil e o teor total de isoflavonas não sofreram alterações significativas durante o armazenamento para todas as amostras. O teor de isoflavonas dos biscoitos é, portanto, estável quando estes são armazenados por até 180 dias à temperatura ambiente e protegidos da luz.

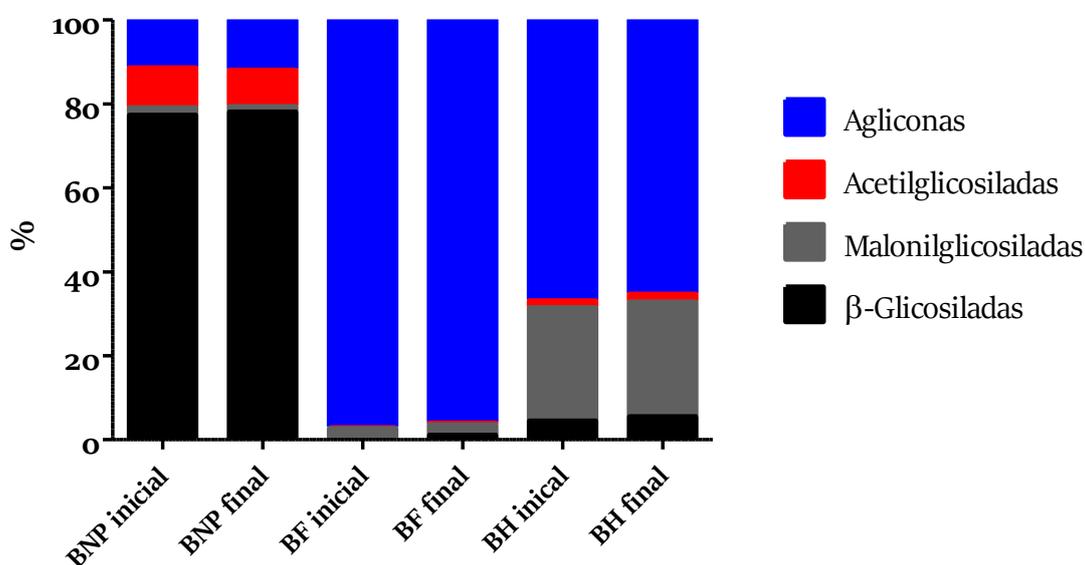


Gráfico 11- Teor relativo das formas de isoflavonas no tempo inicial e final do armazenamento.

Os resultados das estabilidades indicam que o perfil de isoflavonas nos biscoitos é constante durante o período avaliado, obtendo o mesmo resultado observado por, Silva & Perrone 2015, onde em um período de 180 dias as isoflavonas totais

permaneceram estáveis no extrato etanoico (água-etanol-acetato de etila). Além disso, os biscoitos com farelo de soja bioprocessado apresentaram maior teor de agliconas que são as formas mais biodisponíveis e potencialmente mais bioativas que as formas conjugadas.

#### 4.1.8. Análise Sensorial

Os resultados das notas atribuídas pelos avaliadores segundo os atributos sensoriais das estabilidades 1 e 2 nos dois períodos de avaliação estão apresentados no Gráfico 12, 13, 14 e 15.

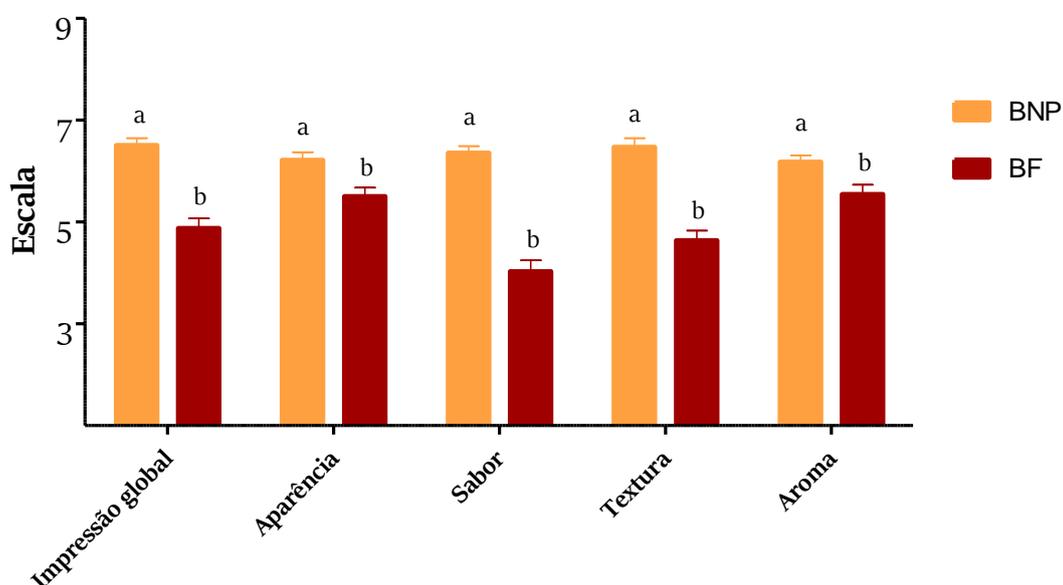


Gráfico 12 – Teste de aceitação dos biscoitos na estabilidade 1 (comparação global no tempo final,  $n = 96$ )

O biscoito BF apresentou as menores médias quando comparado com o biscoito BNP no tempo inicial da estabilidade 1. A baixa aceitação do biscoito pode estar relacionada com os compostos gerados durante a fermentação do farelo, de acordo com Jayachandran *et al.*, 2019, durante a fermentação do farelo de soja outros compostos são gerados tais como peptídeos e ácidos graxos que podem contribuir com um sabor desagradável. Essa baixa aceitação do biscoito fermentado levantou a hipótese de elaborar um novo biscoito utilizando outro método de processamento no farelo de soja que não gerasse esses compostos. Dessa forma foi desenvolvido o biscoito BH.

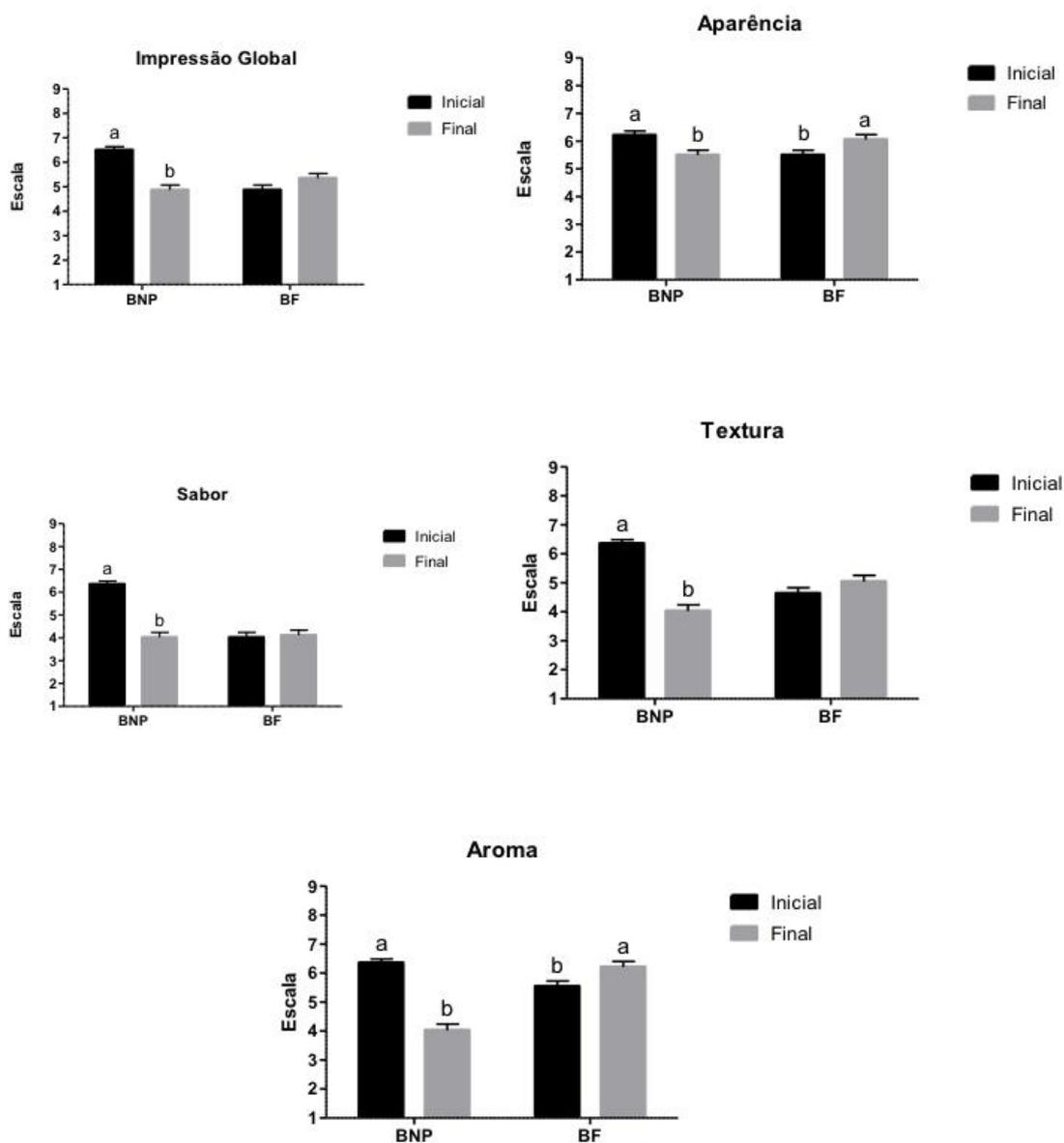


Gráfico 13 – Teste de aceitação dos biscoitos na estabilidade 1 (comparação entre o tempo final e inicial,  $n = 96$ )

Foram observadas diferenças significativas durante o período de estabilidade para o biscoito BNP e BF. A aceitação do biscoito BNP diminuiu após o período de armazenamento dos biscoitos para todos os atributos avaliados e a aceitação do biscoito BF aumentou para os atributos aparência e aroma. Esse resultado pode ser explicado pela diferença de localização onde foram realizadas a análise sensorial. O público estudado composto majoritariamente por estudantes universitários permaneceu constante em ambas as análises, porém o primeiro estudo foi conduzido no Centro de Ciências da Saúde (CCS) e o segundo estudo foi conduzido no Centro de Tecnologia

(CT). Segundo estudo feito por Meiselman *et al.*, 2000, amostras de um alimento preparado previamente foram servidas em diferentes ambientes apresentaram diferenças na aceitação do produto. Dessa forma, a diferença obtida nos atributos pode ser atribuída ao local onde foi realizada a análise sensorial.

O biscoito BNP e o biscoito BF apresentaram diferenças significativas para a intenção de compra. O biscoito BNP apresentou média equivalente a “Compraria/Não compraria” e o biscoito BF apresentou média equivalente a “Não compraria”.

Na segunda estabilidade, o biscoito BF apresentou as menores médias em comparação com os outros biscoitos no tempo inicial e final, confirmando o resultado obtido na estabilidade 1. O resultado obtido pelo biscoito BH não apresentou variação significativa quando comparado com o biscoito BNP para quase todos os atributos avaliados, confirmando que o processamento utilizado para na elaboração do biscoito BH é uma alternativa com maior aceitação quando comparada com o biscoito BF.

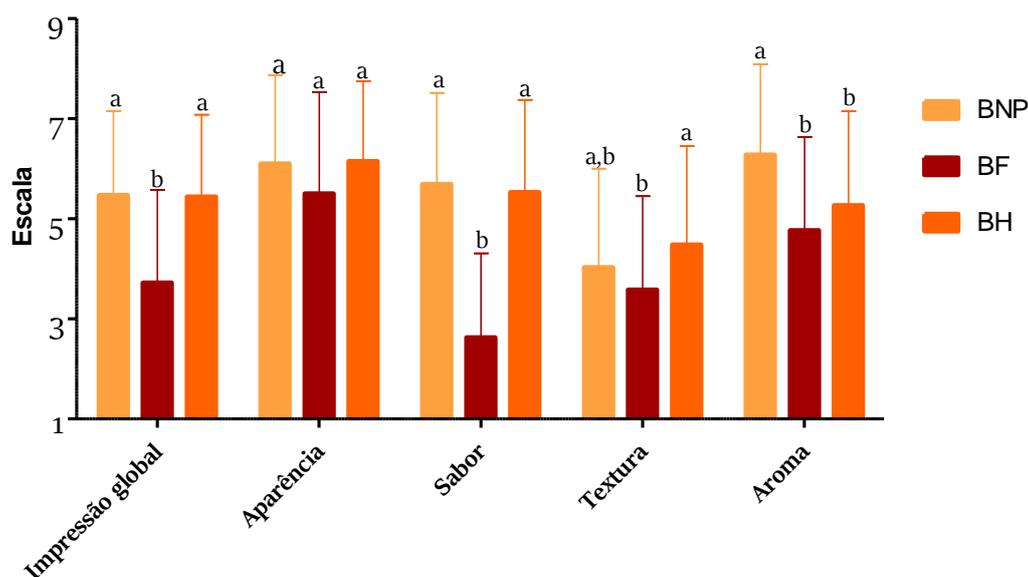


Gráfico 14 – Teste de aceitação dos biscoitos na estabilidade 2 (comparação global no tempo final,  $n = 101$ )

Poucas diferenças significativas foram observadas entre os biscoitos BNP e BH, sendo estes considerados semelhantemente aceitos em ambos os momentos em que o teste foi realizado e com notas de impressão global entre não gostei/nem desgostei e gostei ligeiramente. Ao comparar as amostras entre o tempo inicial e o tempo final, gráfico 15, de armazenamento para cada atributo, apenas o biscoito BH apresentou diferenças significativas para os atributos aparência e o aroma.

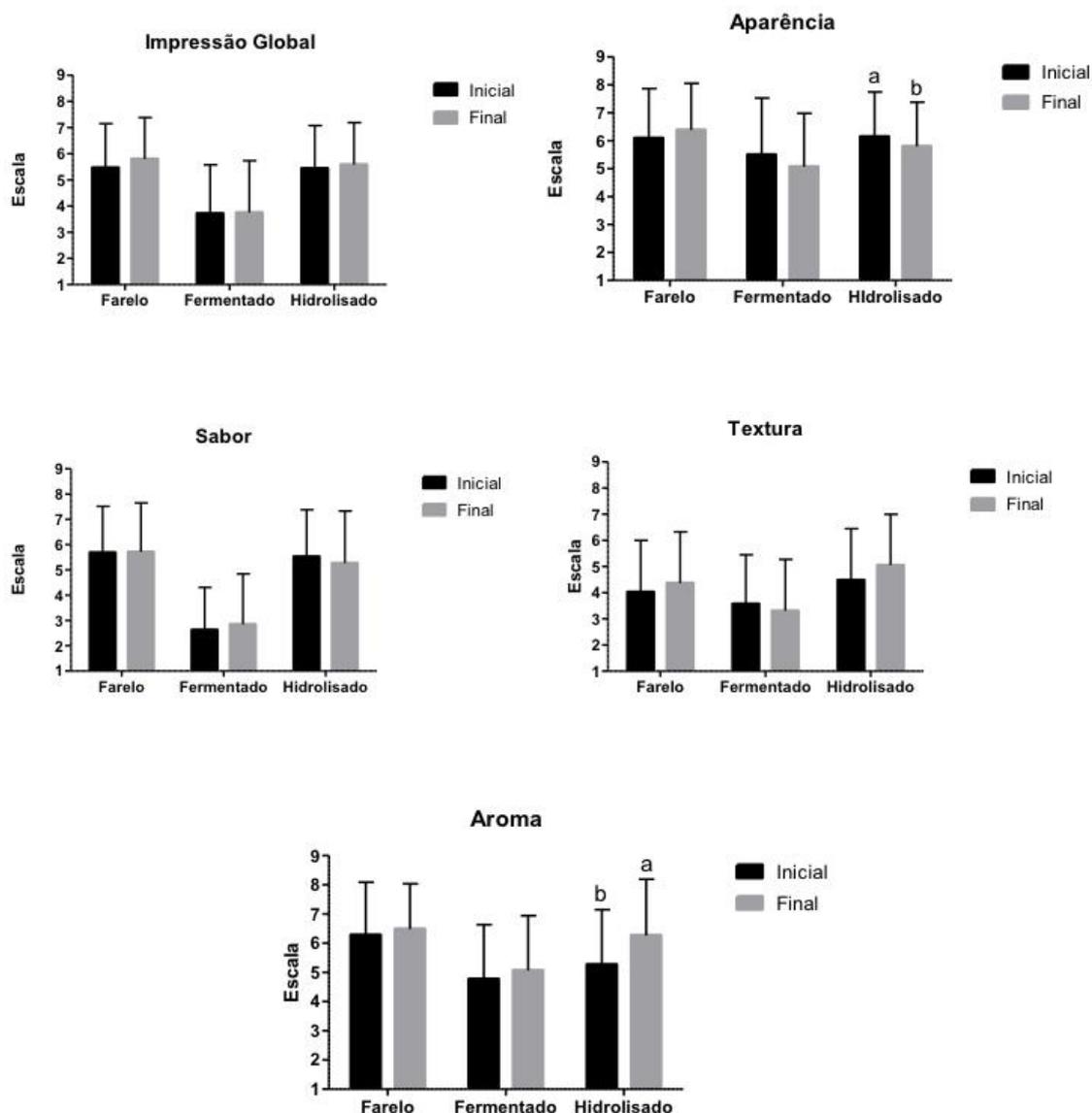


Gráfico 15 – Teste de aceitação dos biscoitos na estabilidade 2 (comparação entre o tempo final e inicial do teste de aceitação,  $n = 101$ )

Em relação à intenção de compra das amostras não houve diferença significativa entre os biscoitos BNP e BH com média equivalente a “provavelmente não compraria”. O biscoito BF apresentou valores de média de intenção de compra equivalente a “certamente não compraria”. Não houve diferença significativa na intenção de compra entre o tempo inicial e final de armazenamento. Portanto, podemos concluir que, em geral, a aceitação sensorial dos biscoitos foi similar no tempo inicial e final de armazenamento.

## 5 CONCLUSÃO

O farelo de soja apresenta um grande potencial para enriquecimento de alimentos dado as suas características nutricionais, disponibilidade e baixo custo. O bioprocessamento alterou o perfil de isoflavonas dos biscoitos elaborados com farelo fermentado e farelo hidrolisado, onde esses biscoitos apresentaram um maior teor de isoflavonas agliconas quando comparado com o biscoito elaborado com farelo de soja. Os biscoitos apresentam estabilidade em todos os atributos analisados, exceto na atividade antioxidante onde foram observadas variações durante o período de estabilidade. Os biscoitos com farelo de soja e farelo de soja hidrolisado apresentaram uma melhor aceitação sensorial, quando comparados com o biscoito de farelo fermentado. Os biscoitos são quimicamente estáveis, sendo o biscoito elaborado com farelo hidrolisado mais aceito quando comparado com o biscoito fermentado.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDEL-MOEZ, M. Ahmed; HASSAAN, S. Mohamed; SOLTAN, A. Magdy. **Nutritive value of soybean meal after solid state fermentation with *Saccharomyces cerevisiae* for Nile tilapia, *Oreochromis niloticus***. Elsevier: Amino Acid Feed Science and Technology, 2015.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Resolução de diretoria colegiada – RDC número 270**. Setembro, 2005.

---

\_\_\_\_\_. **Resolução de diretoria colegiada – RDC número 263**. Setembro, 2005.

---

\_\_\_\_\_. **Resolução de diretoria colegiada – RDC número 429**. Outubro, 2020.

BELLALLOUI, Nacer; REDDY, K. Raja; WIJEWARDANA, Chathurika. **Soybean seed physiology, quality, and chemical composition under soil moisture stress**. Elsevier: Food Chemistry, 2019.

BOYE, Joyce; RIBÉREAU, Sabine. **Assessing Compositional Differences in Soy Products and Impacts on Health Claims**. Vol. 23. Canadá: Food Research and Development Centre.

CHENG, Ai-Xia *et al.* **Plant Terpenoids: Biosynthesis and Ecological Functions**. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2007.

CONTINI, Elisio *et al.* **Série de desafios do agronegócio brasileiro: Complexo soja – caracterização e desafios tecnológicos**. Embrapa, 2018.

COWARD, Lori *et al.* **Genistein, Daidzein, and Their /9-Glycoside Conjugates: Antitumor Isoflavones in Soybean Foods from American and Asian Diets**. *J. Agric. Food Chem.*, vol. 41, 1993.

FONSECA, D. Nívea *et al.* **Isoflavones and soyasaponins in soy infant formulas in Brazil: Profile and estimated consumption**. Elsevier: Food Chemistry, 2014.

**Food, the chemistry of its components**. Ed. 5. T. P. Coultate, 2009.

GENOVESE, I. Maria e LAJOLO, M. Franco. **Isoflavones in Soy-Based Foods Consumed in Brazil: Levels, Distribution, and Estimated Intake**. *J. Agric. Food Chem.*, vol. 50, 2002.

GRAAF, Cees *et al.* **A comparison between liking ratings obtained under laboratory and field conditions: the role of choice**. Elsevier Appetite, 2003.

GRIESHOP, M. Christine e FAHEY, Jr. C. George. **Comparison of Quality Characteristics of Soybeans from Brazil, China, and the United States**. Vol. 49. *J. Agric. Food Chem.*, 2001.

**Healthy Snacks Market Size, Share & Trends Analysis Report By Product, By Region, Vendor Landscape, And Segment Forecasts, 2019 – 2025**. Grand View Research. Disponível em: <[Healthy Snacks Market Size, Share | Industry Growth Report, 2019-2025 \(grandviewresearch.com\)](https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/Healthy-Snacks-Market)>. Acesso em: 20/02/2021.

HIRAKURI, H. Marcelo *et al.* **A Cultura da Soja no Brasil e metodologia utilizada para o diagnóstico.** Embrapa Documentos 412.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Pesquisa de Orçamentos Familiares 2017-2018: Análise do consumo alimentar pessoal no Brasil.** Rio de Janeiro: IBGE, 2020.

JAYACHANDRAN, Muthukumaran e XU, Baojun. **An insight into the health benefits of fermented soy products.** Elsevier Food Chemistry, vol. 271, 2019.

JUNIOR, O. Adilson *et al.* **Diagnóstico da produção de soja na macrorregião sojícola 5.** Londrina, PR: Embrapa Documentos 405, 2018.

KANO, Mitsuyoshi *et al.* **Bioavailability of Isoflavones after Ingestion of Soy Beverages in Healthy Adults.** The Journal of Nutrition, 2006.

KURZER, S. Mindy *et al.* **Soy isoflavones for osteoporosis: An evidence-based approach.** Elsevier: Maturitas, 2011.

LANTE, Anna *et al.* **An ecofriendly procedure to extract isoflavones from soybean seeds.** Elsevier: Journal of Cleaner Production, 2018.

LARKIN, T. A.; WILLIAM, E. Price; ASTHEIMER, L. **The key importance of soy isoflavone bioavailability to understanding health benefits.** University of Wollongong, faculty of Science - Papers, 2008.

MANDARINO, G. M. José; HIRAKURI, H. Marcelo; ROESSING, C. Antonio. **Tecnologia para produção do óleo de soja: descrição das etapas, equipamentos, produtos e subprodutos.** Ed. 2. Londrina, PR: Embrapa Documentos 171, 2015.

MEISELMAN, H. L. *et al.* **Demonstrations of the influence of the eating environment on food acceptance.** Appetite, 2000.

NIELSEN, L. F. Inge e WILLIAMSON, Gary. **Review of the Factors Affecting Bioavailability of Soy Isoflavones in Humans.** Nutrition and Cancer, vol. 57, 2007.

**Official Methods of Analysis.** Ed. 18. Maryland, EUA: AOAC International, 2005.

PEREIRA, A. Marco. **Cadeia Produtiva do Farelo de Soja: Um enfoque na produção nacional.** Universidade do Rio Verde, 2015.

**Perspectives for the brazilian grain harvest 2020/21.** Conab, 2020.

R, E. Roberta *et al.* **Antioxidant activity applying na improved ABTS radical cation decolorization assay.** Elsevier: Free Radical Biology & Medicine, Vol. 26, pp. 1231–1237, 1999.

**Relatório de Exportações – Complexo Soja e Milho.** São Paulo: Associação Brasileira de Indústrias de Óleos Vegetais, 2020.

SEIBEL, N. Fátima e BELÉIA, D. P. Adelaide. **Características químicas e funcionalidade tecnológica de ingredientes de soja [Glycine Max (L.) Merrill]: carboidratos e proteínas.** Vol. 12. Brazilian Journal of Food Technology, 2009.

SILVA, O. Fabrício *et al.* **Soybean meal and fermented soybean meal as functional ingredients for the production of low-carb, high-protein, high-fiber and high isoflavones biscuits.** LWT – Food Science and Technology, 2018.

\_\_\_\_\_. **Soybean meal and fermented soybean meal as functional ingredients for the production of low-carb, high-protein, high-fiber and high isoflavones biscuits.** Elsevier LWT - Food Science and Technology, 2018.

\_\_\_\_\_. **Fermentation of soybean meal improves isoflavones metabolism after soy biscuits consumption by adults.** Rio de Janeiro: Laboratório de Bioquímica Nutricional e de Alimentos, UFRJ.

SILVA, O. Fabrício e PERRONE, Daniel. **Characterization and stability of bioactive compounds from soybean meal.** Elsevier LWT - Food Science and Technology, vol. 63, 2015.

SILVA, S. Marta *et al.* **Composição química e valor proteico do resíduo de soja em relação ao grão de soja.** Campinas: Ciênc. Tecnol. Aliment., 2006.

STEINER, Claudia *et al.* **Isoflavones and the prevention of breast and prostate cancer: new perspectives opened by nutrigenomics.** British Journal of Nutrition, 2008.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Global Action Plan for the prevention and control of noncommunicable diseases 2013 – 2020.** WHO, 2013.

ZENEON, Odair; PASCUET, S. Neus e TIGLEA, Paulo. **Métodos Físico-químicos para análise de alimentos.** Ed. 4. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008.

ZHAO, H. Yuz; ZHAO, Yi; YANG, Yiqi. **Modified soy protein to substitute non degradable petrochemicals for slashing industry.** Elsevier: Industrial Crops and Products, 2015.

ZHAO, Yi *et al.* **Functions of soymeal compositions in textile sizing.** Elsevier: Industrial Crops and Products, 2016.