

UNIVERSIDADE DO ESTADO DO PARÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS NATURAIS E TECNOLOGIA  
CURSO DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS  
TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO



Tomy Aska Kubota  
Thiago Henrique Barbosa de Souza

**CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E  
AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DO  
TOFU ELABORADO A PARTIR DE DIFERENTES  
COAGULANTES E SOJAS**

BELÉM  
2019

Tomy Aska Kubota

Thiago Henrique Barbosa de Souza

# **CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DO TOFU ELABORADO A PARTIR DE DIFERENTES COAGULANTES E SOJAS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado  
como requisito para obtenção de grau de  
Tecnólogo de Alimentos, da Universidade do  
Estado do Pará.

Orientador (a): Maricely Janette Uría Toro

Data de aprovação: 25 / 10 / 2019

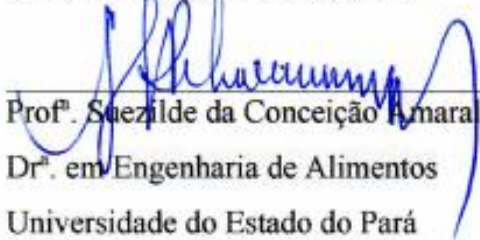
Banca examinadora:

 Orientadora

Profª. Maricely Janette Uría Toro

Drª. em Química Analítica

Universidade do Estado do Pará

 - Membro  
Profª. Suezilde da Conceição Amara Ribeiro

Drª. em Engenharia de Alimentos

Universidade do Estado do Pará

 - Membro  
Profª. Luiza Helena Martins da Silva

Drª. em Engenharia Química

Universidade Federal do Pará

BELÉM

2019

## **AGRADECIMENTOS**

Agradecemos a Professora. Maricely Janette Uría Toro e pela orientação deste trabalho, pesquisa, sobretudo pelo aprendizado. Muito obrigado por toda a dedicação.

A Universidade Estadual do Pará e aos técnicos de laboratório e professores da banca examinadora pela atenção e contribuição dedicadas a este estudo.

A nossa família que nos ofereceu apoio e paciência durante todo o percurso da vida universitária.

## RESUMO

KUBOTA, T. A. SOUZA, T. H. B. **Caracterização físico-química e avaliação da capacidade antioxidante do tofu elaborado a partir de diferentes coagulantes e sojas.** 2019. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Tecnologia de Alimentos) – Universidade do Estado do Pará, Belém, 2019.

O *tofu* é um alimento obtido por meio da coagulação do extrato hidrossolúvel de soja através da precipitação de suas proteínas. Ele pode variar suas características de acordo com o modo como é produzido e a forma que se deseja consumi-lo. Este trabalho teve como objetivo elaborar *tofu* a partir da utilização de diferentes tipos de coagulantes e sojas a fim de avaliar a interação entre estes parâmetros e suas características físico-químicas e microbiológicas, assim como, avaliar sua capacidade antioxidante e determinar a partir de qual formulação o produto obtém maior rendimento. As sojas utilizadas na elaboração foram obtidas nas cidades de Belém, Paragominas e Tomé-Açu. Realizaram-se testes preliminares utilizando-se quatro tipos de coagulantes: cloreto de magnésio ( $MgCl_2$ ), cloreto de cálcio ( $CaCl_2$ ), sulfato de magnésio ( $MgSO_4$ ) e sulfato de cálcio ( $CaSO_4$ ). Após os testes optou-se por utilizar nas elaborações os sais  $CaSO_4$  e  $MgCl_2$ , por eles apresentarem melhores características em relação ao rendimento e aspectos sensoriais comparados com o produto comercial. Dentre os parâmetros físico-químicos, exceto para lipídios, as amostras elaboradas com o coagulante  $CaSO_4$  obtiveram melhores resultados em comparação às amostras elaboradas com  $MgCl_2$ . A formulação que continha a variedade proveniente de Tomé-Açu com o coagulante  $CaSO_4$  destacou-se tanto nos parâmetros físico-químicos, acidez e proteínas, quanto em relação ao teor de compostos fenólicos totais e flavonoides, além de ter obtido o maior rendimento. Todos os *tofus* elaborados apresentaram capacidade antioxidante, destacando-se o elaborado com soja do comércio (Cca). As análises microbiológicas de todos os *tofus* elaborados demonstraram-se satisfatórias em relação à ausência de coliformes a 45°C, *Salmonella* sp e Estafilococos coagulase positiva, para todas as formulações indicando que os produtos elaborados estão atendendo aos padrões de qualidade em conformidade com a RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001.

**Palavras-chave:** rendimento, interação, fenólico, flavonoides, microbiológico.

## ABSTRACT

*Tofu* is a food obtained through the coagulation of water-soluble soy extract by the precipitation of their proteins. It can vary its characteristics from according to the way it is produced and the way it is intended to be consumed this one. The objective of this work was to elaborate *tofu* based on the use of different types of coagulants and soy in order to evaluate the interaction between these parameters and their physico-chemical and microbiological characteristics, as well as to evaluate their antioxidant and determine from which formulation the product gets the highest Yield. The soybeans used in the elaboration were obtained in the cities of Belém, Paragominas and Tomé-Açu. Preliminary tests were performed using four types coagulants: magnesium chloride ( $MgCl_2$ ), calcium chloride ( $CaCl_2$ ), magnesium ( $MgSO_4$ ) and calcium sulfate ( $CaSO_4$ ). After the tests it was decided to use in the  $CaSO_4$  and  $MgCl_2$  salts, as they have better regarding yield and sensory aspects. Among the physicochemical parameters, except for lipids, samples prepared with  $CaSO_4$  coagulant obtained better results compared to samples made with  $MgCl_2$ . The formulation contained the Tomé-Açu variety with the  $CaSO_4$  coagulant physicochemical, acidity and protein parameters, as of total phenolic compounds and flavonoids, besides obtaining the highest yield. All elaborated *tofus* have antioxidant capacity, especially the one elaborated with commercial soybean (Cca). The microbiological analyzes proved satisfactory in relation to the absence of coliforms at 45°C, *Salmonella* sp and coagulase positive Staphylococci for all formulations indicating that the products produced are meeting the standards of quality in accordance with RDC nº. 12 of January 2, 2001.

**Keywords:** yield, interaction, phenolic, flavonoid, microbiological.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - Formação do gel resultante da coagulação proteica. .... 19
- Figura 2** - Redução do radical ABTS por um antioxidante. .... 27
- Figura 3** - Principais substâncias fenólicas derivadas da via do ácido chiquímico. **Erro! Indicador não definido.**
- Figura 4** - Estrutura básica de um flavonóide. .... 22
- Figura 5** - Rota metabólica do ácido chiquímico em flavonóides. .... 23
- Figura 6** - Estrutura química dos flavonóides. .... **Erro! Indicador não definido.**
- Figura 7** - Formação do complexo Flavonóide - Al. .... 25
- Figura 8** - Fluxograma de elaboração do tofu. .... **Erro! Indicador não definido.**

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> – Análises físico-químicos dos Tofus elaborados, no Laboratório de Tecnologia de Alimentos da UEPA/CCNT, com os diferentes tipos de soja e coagulantes. ....	40
<b>Tabela 2</b> – Comparação literária das análises físico-químicos dos Tofus elaborados com os diferentes tipos de soja e coagulantes. ....	44
<b>Tabela 3</b> – Avaliação rendimento dos tofus elaborados, no Laboratório de Tecnologia de Alimentos da UEPA/CCNT, com os diferentes tipos de soja e coagulantes. ....	52
<b>Tabela 4</b> – Comparação literária de rendimento dos Tofus elaborados com os diferentes tipos de soja e coagulantes. ....	52
<b>Tabela 5</b> – Análises de compostos fenólicos totais dos tofus elaborados, no Laboratório de Tecnologia de Alimentos da UEPA/CCNT, com os diferentes tipos de soja e coagulantes, expresso em base seca (b.s) e base úmida (b.u). ....	54
<b>Tabela 6</b> – Comparação com a literatura dos compostos fenólicos totais dos Tofus elaborados com os diferentes tipos de soja e coagulantes, expresso em base úmida (b.u). ....	55
<b>Tabela 7</b> – Comparação literária dos compostos fenólicos totais dos Tofus elaborados com os diferentes tipos de soja e coagulantes, expresso em base seca (b.s). ....	55
<b>Tabela 8</b> – Análises de flavonoides totais e capacidade antioxidantes ABTS nos Tofus elaborados, no Laboratório de Tecnologia de Alimentos da UEPA/CCNT, com os diferentes tipos de soja e coagulantes, expresso em base seca (b.s) e base úmida (b.u). ....	<b>Erro! Indicador não definido.</b>
<b>Tabela 9</b> – Comparação literária dos flavonoides totais nos Tofus elaborados com os diferentes tipos de soja e coagulantes, expresso em base seca (b.s) e base úmida (b.u). 57	
<b>Tabela 10</b> – Comparação com a literatura à capacidade antioxidante dos Tofus elaborados com os diferentes tipos de soja e coagulantes, expresso em base seca. ....	59

**Tabela 11** – Avaliação microbiológica dos Tofus elaborados no Laboratório de Tecnologia de Alimentos da UEPA/CCNT, com os diferentes tipos de soja e coagulantes.

..... 60

### LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<b>ABTS</b>	- 2,2-azino-bis-(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)
<b>AOAC</b>	- Association of Official Analytical Chemists
<b>BHA</b>	- Hidroxianisol de Butila
<b>BHT</b>	- Hidroxitolueno de Butila
<b>Cca</b>	- <i>Tofu</i> com a soja do comércio e sulfato de cálcio
<b>CCNT</b>	- Centro de Ciências Naturais e Tecnologia
<b>CFT</b>	- Compostos Fenólicos Totais
<b>CLAE</b>	- Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
<b>Cmg</b>	- <i>Tofu</i> com a soja do comércio e cloreto de magnésio
<b>CRA</b>	- Capacidade de Retenção de Água
<b>EHS</b>	- Extrato Hidrossolúvel de Soja
<b>EAG</b>	- Equivalente Ácido Gálico
<b>EQ</b>	- Equivalente Quercetina
<b>FDA</b>	- Food and Drug Administration
<b>GDL</b>	- Glucona-Delta- Lactona
<b>IAL</b>	- Instituto Adolfo Lutz
<b>IBGE</b>	- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
<b>LDL</b>	- lipoproteínas de baixa densidade
<b>LOX</b>	- Lipoxigenase
<b>Pca</b>	- <i>Tofu</i> com a soja de Paragominas e sulfato de cálcio

- Pmg** - *Tofu* com a soja de paragoninas e cloreto de magnésio
- Tca** - *Tofu* com a soja de Tomé-açu e sulfato de cálcio
- Tmg** - *Tofu* com a soja de Tomé-açu e cloreto de magnésio
- Trolox** - 6-Hidroxi-2,5,7,8-tetrametilchroman-2-ácido carboxílico
- UEPA** - Universidade do Estado do Pará

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>12</b>
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	<b>14</b>
<b>2.1. OBJETIVO GERAL</b> .....	<b>14</b>
<b>2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS</b> .....	<b>14</b>
<b>3. REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	<b>15</b>
<b>3.1. SOJA</b> .....	<b>15</b>
<b>3.2. A SOJA NO BRASIL</b> .....	<b>16</b>
<b>3.3. A SOJA NO PARÁ</b> .....	<b>17</b>
<b>3.4. TOFU</b> .....	<b>18</b>
<b>3.5. CAPACIDADE ANTIOXIDANTES</b> .....	<b>25</b>
<b>3.6. COMPOSTOS BIOATIVOS</b> .....	<b>20</b>
3.6.1. COMPOSTOS FENÓLICOS .....	20
3.6.2. FLAVONÓIDES .....	21
<b>3.7. COMPOSTOS ANTINUTRICIONAIS</b> .....	<b>27</b>
3.7.1. INIBIDORES DE TRIPSINA .....	27
3.7.2. LIPOXIGENASE .....	28
<b>4. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>30</b>
<b>4.1. MATERIAL</b> .....	<b>30</b>
<b>4.2. ELABORAÇÃO DE TOFU</b> .....	<b>30</b>
<b>4.3. CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA</b> .....	<b>34</b>
4.3.1. DETERMINAÇÃO DE ACIDEZ TOTAL .....	34
4.3.2. DETERMINAÇÃO DE UNIDADE .....	34

4.3.3. DETERMINAÇÃO DE PROTEÍNAS .....	34
4.3.4. DETERMINAÇÃO DE LIPÍDIOS A QUENTE .....	34
4.3.5. DETERMINAÇÃO DE LIPÍDIOS A FRIO .....	<b>Erro! Indicador não definido.</b>
4.3.6. DETERMINAÇÃO DE CINZAS .....	34
4.3.7. DETERMINAÇÃO DE CARBOIDRATOS .....	34
<b>4.4. AVALIAÇÃO DE RENDIMENTO .....</b>	<b>35</b>
<b>4.5. DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS .....</b>	<b>35</b>
<b>4.6. DETERMINAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE ABTS E FLAVONOIDES TOTAIS .....</b>	<b>35</b>
4.6.1. PREPARO DO EXTRATO .....	35
4.6.2. DETERMINAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE ABTS .....	37
4.6.3. DETERMINAÇÃO DE FLAVONOIDES TOTAIS .....	36
<b>4.7. AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA .....</b>	<b>37</b>
<b>4.8. ANÁLISE ESTATÍSTICA .....</b>	<b>38</b>
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>15</b>
5.1. ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICOS .....	39
5.2. AVALIAÇÃO DE RENDIMENTO .....	51
5.3. DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS .....	54
5.4. DETERMINAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE ABTS E FLAVONOIDES TOTAIS .....	56
5.5. AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA .....	60
<b>6. CONCLUSÃO .....</b>	<b>62</b>
<b>7. REFERÊNCIAS .....</b>	<b>63</b>

## 1. INTRODUÇÃO

No Pará, as microrregiões de Santarém e Paragominas possuem um grande destaque em relação ao cultivo de soja, pois possuem respectivamente, 48 % e 27 % da área plantada, com aproximadamente 207 mil toneladas de soja produzida. Isso se deve às condições de solo e clima dos cerrados, dando plenas condições técnicas de incorporação dessas áreas ao processo produtivo, áreas que antes eram preteridas para agricultura em razão de condições desfavoráveis desses dois fatores, principalmente em relação à fertilidade dos solos (EL HUSNY et al., 2006). Em 2017 o município de Paragominas obteve uma safra de, aproximadamente, 440 mil toneladas de soja em 122 mil hectares de área plantada (DOL, 2017).

Em virtude de seu teor proteico, da qualidade das suas proteínas, este grão é considerado como um alimento funcional por possuir a capacidade de capturar radicais livres presentes no corpo humano (GÓES-FAVONI et al., 2004).

Além das propriedades funcionais das isoflavonas presentes na soja, outros compostos constituintes do grão (proteínas, ácidos graxos e minerais, entre outros) também favorecem sua utilização na alimentação humana. Normalmente são utilizados hipocótilos no processamento de alimentos derivados deste vegetal devido à alta concentração de isoflavonas neles. O grão de soja é o que possui o maior teor de isoflavonas entre todos os grãos já estudados, e isso pode estar relacionado com fatores genéticos e ambientais como já demonstrado em estudos realizados no Brasil a respeito do teor deste flavonoide em cultivares de soja (CARRÃO-PANIZZI et al., 2009).

Este vegetal possui compostos bioativos que estão sendo amplamente estudados, pois visam a prevenção e a redução dos riscos de desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis como diabetes, colesterol, hipertensão arterial, câncer entre outros (KIRINUS et al., 2010).

Apesar da qualidade nutricional do grão, ele possui características antinutricionais que afetam a digestibilidade de suas proteínas, pois elas afetam a atividade das proteases para degradá-las. As ações dos inibidores de tripsina podem ser alteradas pela utilização de tratamentos térmicos adequados que inibem ou inativam os mesmos (ALVES et al., 2012). Entretanto, o baixo consumo de derivados de soja é justificado pelo sabor e odor desagradável, que são caracterizados pela presença da enzima lipoxigenase. Esta é responsável pela oxidação dos ácidos graxos poli-insaturados, hidroperóxidos e a indução de flatulência gerada por

oligossacarídeos e seus compostos antinutricionais (DANIELS, 2015).

O *tofu* é um gel obtido pela coagulação do extrato de soja através da precipitação da proteína que pode ocorrer por meio da adição de ácidos ou sais. Ele possui cerca de 27% de proteínas e boas quantidades de vitaminas e minerais. Alguns fatores podem influenciar diretamente o rendimento do *tofu* como tipo de cultivar de soja, a quantidade de água utilizada para obter o extrato de soja e principalmente a etapa de coagulação pois essa irá depender de diversos outros fatores tais como temperatura química da soja, temperatura de cozimento do extrato, volume processado, quantidade de sólidos, pH, tipo de coagulante além do tempo e temperatura de coagulação (APLEVICZ & DEMIATE, 2007; CIABOTTI et al., 2009).

O *tofu* é um alimento consumido a mais de 2000 anos nos países do oriente, onde este é produzido à partir da coagulação do extrato hidrossolúvel de soja (EHS) (SCHMIDT, 2016), onde, o processo de coagulação do EHS para a formação do gel está ligada diretamente em dois fatores: o ponto isoelétrico das proteínas da soja e da interação hidrofóbica das moléculas de proteínas (KOHYAMA et al., 1995).

De acordo com Sgarbieri (1996) a solubilidade das proteínas de soja está relacionada com o pH, onde, em pH entre 4 - 5 possuem a menor solubilidade, pois é a faixa de pH do ponto isoelétrico, por outro lado, o aumento do pH faz com que a sua solubilidade seja elevada. Isso se deve, principalmente pelas características eletrostáticas das proteínas da soja, que podem agregar e precipitar-las por meio das interações hidrofóbicas em seu ponto isoelétrico ou o inverso com o aumento do pH (DAMODARAN et al., 2010).

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. OBJETIVO GERAL**

Avaliar as interações entre a utilização de diferentes tipos de sojas e coagulantes na elaboração de *tofu* com as suas características específicas.

### **2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Elaborar e determinar o melhor rendimento do *tofu*, em função da concentração de soja, água e coagulante;
- Avaliar as características físico-químicas dos produtos elaborados;
- Determinar os compostos fenólicos totais dos produtos elaborados;
- Determinar os flavonoides totais dos produtos elaborados;
- Determinar a capacidade antioxidante ABTS dos produtos elaborados;
- Determinar a qualidade microbiológica do produto final.

### 3. REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1. SOJA

A sua primeira referência no continente americano está por volta do ano de 1804, onde foi notada a presença de cultivares no Estado da Pensilvânia, USA. Contudo o interesse pela sua produção aconteceu somente cerca de 76 anos depois, no ano de 1880 (PIPER & MORSE, 1923). Já em terras brasileiras sua presença data sobre o ano de 1882, na região nordeste, no estado da Bahia. (D'UTRA, 1882).

No contexto mundial e nacional a soja está inserida economicamente como um dos principais produtos agrícolas. No Brasil, ela é a principal cultura em extensão de área e volume de produção. A produção brasileira de soja alcançou 95.434,6 mil toneladas na safra 2015/16 (CONAB, 2017).

Dentre as características que chamam a atenção do mercado produtor e consumidor, está o grande aproveitamento das partes componentes dos grãos além da utilização da mesma para a obtenção de diversos derivados. (ARANTES & SOUZA, 1993).

Nos países orientais é bastante comum o consumo de produtos de origem vegetais, fermentados. Diferentemente do modo como é consumido nos países ocidentais a soja faz parte da dieta dessa população, porém não é usada como um substituto das proteínas de origem animal, mas sim, como um complemento da dieta (ROSA et al., 2009).

Ela é ainda bastante consumida, na forma de alimentos tradicionais, para a cultura oriental tais como *nimame* (soja integral cozida), *edaname* (soja verde e fresca), leite de soja, *tofu*, *kori-tofu* (*tofu* desidratado à frio), *abura-age* (*tofu* frito), *sufu* ou *tofu-yo* (*tofu* fermentado), molho de soja ou *shoyu*, *misso*, *natto* e *tempeh* (FUKUSHIMA & HASHIMOTO, 1980).

Em embutidos, a soja é utilizada por possuir características importantes para esse tipo de tecnologia. As suas propriedades funcionais como a retenção de líquidos e o fato de agir como um agente emulsionante são benéficas para a utilização nessa indústria, além de, a proteína texturizada de soja possuir um custo de aproximadamente 13 % do custo da carne industrial (UFRGS, 2019).

A soja contribui significativamente para uma boa alimentação humana devido o seu alto valor nutritivo além de ser uma boa fonte de proteínas e por ser uma fonte

moderada de vitaminas e minerais (DUTRA DE OLIVEIRA, 1981). Possui em sua composição minerais como magnésio, fósforo, ferro, cobre, zinco e quando ainda não está madura apresenta alto conteúdo de vitamina b3 (niacina) e de vitamina C (ácido ascórbico). Após a maturação, torna-se fonte das vitaminas E, K, tiamina, riboflavina e ácido fólico (MORAIS & SILVA, 1996). Sua proteína apresenta bons perfis de aminoácidos onde somente os aminoácidos sulfurados são limitantes.

O grão de soja possui percentuais em sua composição de, cerca de, 40% de proteínas, 35% de carboidratos e 20% de lipídios (LIU, 1997). As suas principais proteínas correspondem de 65% a 80% dos totais de proteínas presentes no grão (MEIJA & LUMEN, 2006).

### **3.2. A SOJA NO BRASIL**

O valor da produção agrícola brasileira bateu recorde em 2018, atingindo R\$ 343,5 bilhões, uma alta de 8,3% em relação a 2017. Esse cenário se deu pelo aumento nos preços de produtos como soja (13,6%), algodão (52,3%) e café (22%), mesmo com a queda na safra de grãos de 4,7% e redução de 0,5% da área colhida (IBGE, 2019).

De acordo com informações do IBGE (2019), através de membros da Pesquisa Agrícola Industrial (PAM), às relações internacionais estremecidas entre países chaves no mercado agrícola, foi um fator determinante para o aumento da exportação no Brasil. Devido um aumento tarifário concedido pelo governo Chinês na soja que era importada dos Estados Unidos, os compradores chineses aderiram a compra da soja proveniente de outros países produtores. Além disso houve uma quebra na safra da Argentina, a qual é, a segundo maior economia de soja na América do Sul, concorrente direta do Brasil, que é o maior produtor.

A soja é o principal produto em 4 das 5 regiões brasileiras sendo superada somente pela cana-de-açúcar na região sudeste. O estado de São Paulo é o seu principal produtor com 15,5% do valor da produção agrícola e o município de São Desidério (BA) obtém o maior valor de produção com 3,6 bilhões (IBGE, 2019).

Diversos fatores do território brasileiro fizeram com que a soja tivesse uma boa adaptação em relação ao seu cultivo e comercialização. Tais fatores podem ser evidenciados, como: fácil adaptação das variedades e das técnicas de cultivo,

provenientes da região sul dos Estados Unidos; cultivo dos grãos em áreas utilizadas também para a produção de trigo, dessa forma pode-se aproveitar e fazer uso dos mesmos equipamentos, área e mão de obra para ambas as culturas, reduzindo-se assim a necessidade de constante procura de novos latifúndios e máquinas para uma mesma produção; condições favoráveis do mercado, enfatizando-se o mercado externo; carência de óleos de origem vegetal comestíveis para substituição da gordura animal e rápido desenvolvimento dos parques que fazem o processamento da soja, dessa forma, evita-se perdas da matéria prima (BONATO & BONATO, 1987; MISSÃO, 2006).

### **3.3. A SOJA NO PARÁ**

A partir da segunda metade do ano de 1990, a soja foi introduzida no Estado do Pará, sendo as cidades de Paragominas e Santarém como as principais microrregiões produtoras de soja. Tendo como Paragominas a principal microrregião a produzir e expandir a soja no Estado (HIRAKURI et al., 2018).

De janeiro a novembro do ano de 2018, de acordo com o Ministério da Indústria, Comércio Exterior e Serviços (MDIC), o Pará exportou 566,8 milhões de dólares em soja, gerando grande receita ao estado, fomentando a economia (IBGE, 2017).

O Pará tem 29 municípios que produzem soja, sendo que Paragominas é o maior produtor do grão no estado, com 122 mil hectares destinados ao cultivo gerando para a economia cerca de R\$ 414 milhões. Dom Eliseu, vizinho a Paragominas, vem em segundo lugar, com 84 mil hectares ocupados para soja e movimentação de R\$ 261 milhões (IBGE, 2017).

Na microrregião de Tomé-Açu, onde a cultura se encontra em período inicial de expansão é necessário ter um domínio do cultivo de soja, com um pacote tecnológico mais adaptado às realidades locais.

Com o incentivo dos produtores rurais e do Governo do Estado do Pará a produção de soja vem aumentando, graças à demanda e as pesquisas em andamento da Embrapa Amazônia Oriental e a Embrapa Soja. De acordo com os dados obtidos no período de 1997 a 2004 os municípios de Paragominas, Santarém e Redenção obtiveram um rendimento médio de 18.293 Kg/ha, 16.082 Kg/ha e 9.383 Kg/ha de soja, respectivamente (EL HUSNY et al., 2004).

No Pará, em 2018, há um crescente ritmo de expansão das lavouras de soja, contribuindo com cerca de 25% da produção de soja do País. Em comparação, a área de cultivo de soja no Estado passou de 85,4 mil para 500,4 mil hectares, no período de 2010 a 2017, onde, os principais polos de cultivo e produção de soja são os municípios de Paragominas, Santarém e Santana do Araguaia. A principal característica da produção de soja no Estado é a sua efetivação em campos naturais e áreas alteradas pela pastagem, não causando o desmatamento nas florestas nativas da região (FEAPA, 2019).

### 3.4. TOFU

*Tofu* é um dos principais componentes da cultura alimentar asiática, onde ele é um produto tradicional de soja composto principalmente de proteínas e gorduras. Recentemente, o consumo e popularidade do *tofu* está aumentando rapidamente nos países ocidentais devido ao aumento de imigrantes asiáticos. No entanto, mesmo no mundo atual de automação e produção em massa, a maioria dos *tofus* ainda é feito à mão na Ásia, usando tecnologia tradicional. (Chen, et al., 2014; Liu, Lin, & Lin, 2010)

De acordo com Poysa e Woodrow (2004) diferentes coagulantes produzem *tofu* com diferentes texturas e propriedades de sabor. O sulfato de cálcio cria uma ponte pela qual as proteínas do leite de soja podem agregar-se. Ele também pode interagir com proteínas para melhorar a reticulação de polímeros (Poysa & Woodrow, 2004).

Para Ciabotti et al. (2009), apesar de a etapa de coagulação ser uma etapa bastante simples é a etapa mais importante na produção do *tofu* pois nessa etapa vão ocorrer processos importantes para determinação da qualidade sensorial e tecnológica do produto final. Alguns fatores determinantes nessa etapa são: temperatura de cozimento do extrato, volume processado, quantidade de sólidos, pH, tipo de coagulante e sua concentração além do tempo e da temperatura de coagulação.

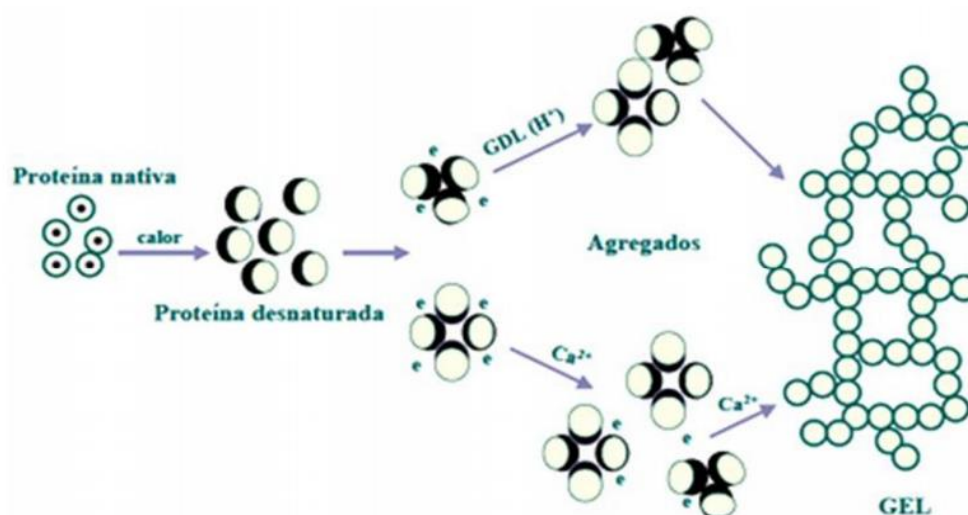
Segundo Watanabe (1996), os coagulantes podem ser divididos em 2 grupos, quanto ao tempo de coagulação: a lenta ( $\text{CaSO}_4$  e GDL) e a rápida ( $\text{CaCl}_2$ ,  $\text{MgCl}_2$  e  $\text{MgSO}_4$ ). Além disso, o tipo do coagulante influencia na textura do *tofu*, como os de ação rápida que são responsáveis pela característica lisa, e os de ação lenta que são responsáveis pelas características firme, rugosa, elástica e rugosa (OBATOLU, 2008).

Comumente os tipos de coagulantes mais utilizados na elaboração de *tofu* são: sulfato de cálcio, Glucon-Delta-Lactona (GDL) e cloreto de magnésio. Dependendo para

qual cultura ou finalidade, deseja-se elaborar o produto, escolhe-se o coagulante mais adequado, pois eles vão possuir algumas características particulares que vão diferenciá-los. Devido a sua baixa solubilidade o sulfato de cálcio dissolve-se lentamente, fazendo com que a coagulação leve um maior tempo para ocorrer totalmente. O produto oriundo dessa formulação possui característica macia e apresenta alta capacidade de retenção de água (CRA). A GDL possui alta solubilidade, o que favorece a formação de ácido glucônico, que por sua vez, ocasiona a queda de pH do meio, fazendo com que haja a formação dos coágulos devido a precipitação das proteínas de soja, contudo, o *tofu* adquire sabor azedo (Li et al., 2013).

Dentre os três tipos de coagulantes o cloreto de magnésio é o que mais aproxima o sabor do produto ao sabor natural da soja. Esse tipo de coagulante é o mais utilizado na China pois, nesta região, há a preferência pelo consumo de *tofu* com sabor amargo, que é uma das características do cloreto de magnésio. A coagulação resultante da utilização desse sal, acontece de forma rápida e por esse motivo é mais difícil de se controlar em relação às demais, o que faz com que o produto final possua característica rígida, não uniforme e com baixa CRA, o processo de formação do gel da coagulação proteica da soja pode ser visualizada pela ilustração da figura 1 (Li et al., 2013).

**Figura 1** - Formação do gel resultante da coagulação proteica.



**Fonte:** Kohyama et al., 1995.

A coagulação proteica pelos sais de cálcio e magnésio ocorre pela repulsão das cargas elétricas que proporcionam a agregação das proteínas. Estes sais permitem a

formação de um aglomerado de proteínas de soja a partir de pontes de ligações, fazendo aumentar as ligações cruzadas dos polímeros (BEDDOW & WONG, 1987; MULLIN et al., 2001).

Já o coagulante GDL apresenta uma forte ligação química, pois possui 4 grupos hidroxilas que ao serem dissolvidos em água, são hidrolisados a ácido glucônico. Por este motivo, ele é muitas vezes utilizado para a produção de *tofu*, devido a sua alta capacidade de reter toda a água do extrato hidrossolúvel de soja em sua rede proteica, podendo possuir um rendimento 3 vezes maior que os outros coagulantes (CAI & CHANG, 1997).

### **3.5. COMPOSTOS BIOATIVOS**

#### **3.5.1. COMPOSTOS FENÓLICOS**

Os compostos fenólicos são um grupo de compostos que possuem em sua composição a presença de pelo menos um anel aromático juntamente com hidroxilas na forma simples ou de polímeros (MENDONÇA et al., 2003). Estas substâncias são biossintetizadas pelas plantas pela rota metabólica do ácido chiquímico e do ácido mevalônico. Esse grupo pode se subdividir em: compostos fenólicos simples, ácidos fenólicos, flavonóides, taninos hidrolisáveis e condensados, cumarinas, estilbenos, lignanas e ligninas (NACZK & SHAHIDI, 2004).

Eles são substâncias presentes em abundância na natureza onde em vegetais já são conhecidos mais de 8000 tipos, no qual a maior parte possui a propriedade de conferir aparência colorida em alimentos ou produtos do metabolismo secundário. Esses compostos possuem características que os conferem propriedades antioxidantes, tais características são: habilidade em doar hidrogênios ou elétrons e presença de radicais intermediários estáveis, que agem no impedimento da oxidação de lipídios em alimentos (SILVA et al., 2010).

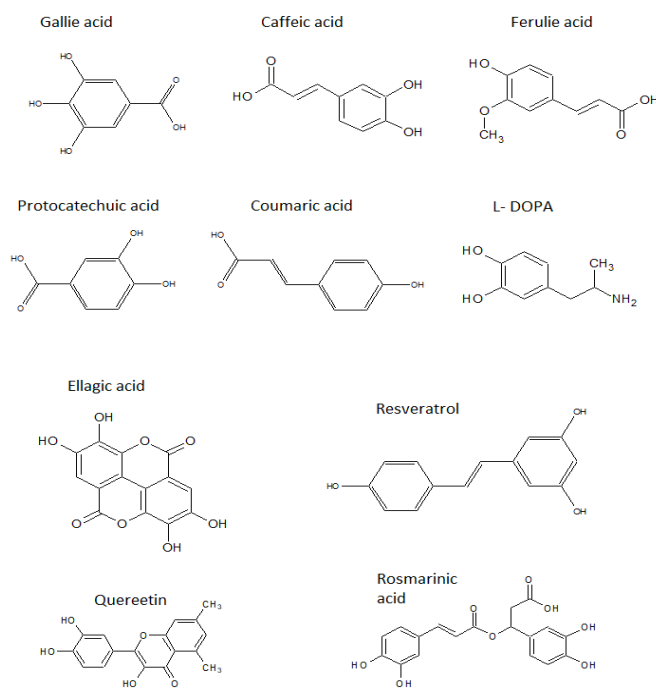
Por muito tempo os polifenóis foram considerados como substâncias maléficas à saúde, devido a alguns efeitos adversos que eles provocam no organismo humano, principalmente no que se refere a classe dos taninos, onde, para Van Hoven (1984) e Getachew (1999), eles em sua forma condensada influem negativamente na digestibilidade de matéria seca, devido causarem a inibição de enzimas digestivas.

Contudo com o passar dos anos foram sendo desenvolvidos estudos que verificaram as propriedades benéficas presentes nesses compostos.

Os compostos fenólicos passaram a ser apreciados pelo homem devido ao seu sabor, odor e cor, após a observação da utilização desses compostos em animais, para a realização da polinização, dispersão de sementes, proteção contra os raios UV, insetos, fungos, vírus e bactérias. Além disso, algumas plantas utilizam os compostos fenólicos para inibir o crescimento de outras plantas competidoras (SANTOS, 2010).

A partir da formação do ácido chiquímico podem ser formados outros compostos metabólicos pela via das pentoses fosfatos, que podem ser formados a partir de um anel benzóico com grupos hidroxílicos, como pode ser mostrado na figura 3 (ALMEIDA, 2010).

**Figura 2** - Principais substâncias fenólicas derivadas da via do ácido chiquímico.

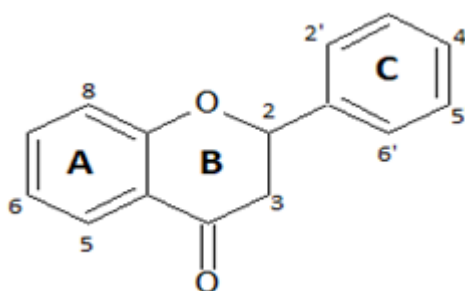


**Fonte:** Adaptado de Almeida, 2017.

### 3.5.2. FLAVONOIDES

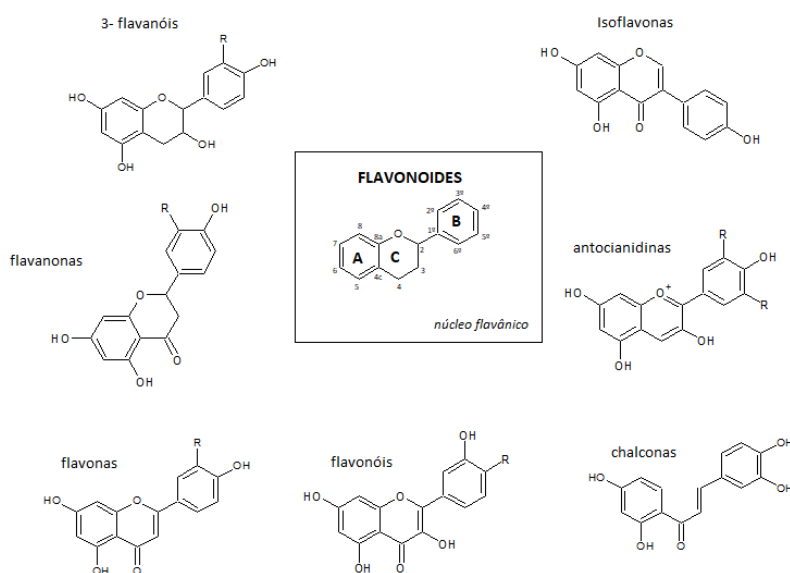
Os flavonoides são polifenóis que apresentam baixo peso molecular que são naturalmente encontrados em plantas, conferindo características coloridas em folhas e flores além de estarem presentes também em outras partes dos vegetais (Volp et al., 2008). Sua estrutura química constitui-se de quinze átomos de carbono arranjados em três anéis (C6-C3-C6) onde dois anéis fenólicos são substituídos e um pirano é acoplado em um dos anéis, assim como pode ser verificado na figura 2 (DI CARLO et al., 1999).

**Figura 3** - Estrutura básica de um flavonoide.



**Fonte:** Adaptado de Dornas, 2007.

Os flavonoides estão presentes em vários tipos de alimentos vegetais, podendo ser classificados em sete grupos: flavonas, flavononas, flavonolóis, isoflavonas, flavonóis e antocianinas. Como pode ser visualizado na figura 4. Entre eles, quase todos possuem características biológicas e químicas em comum, como a atividade antioxidante, capacidade de sequestrar espécies reativas de oxigênio, capacidade de sequestrar eletrófilos, capacidade de inibir a nitrosação, capacidade de quelar metais, potencial de produzir peróxidos de hidrogênio na presença de alguns metais e a capacidade de modular a atividade de algumas enzimas celulares (DAMODARAN, 2010).

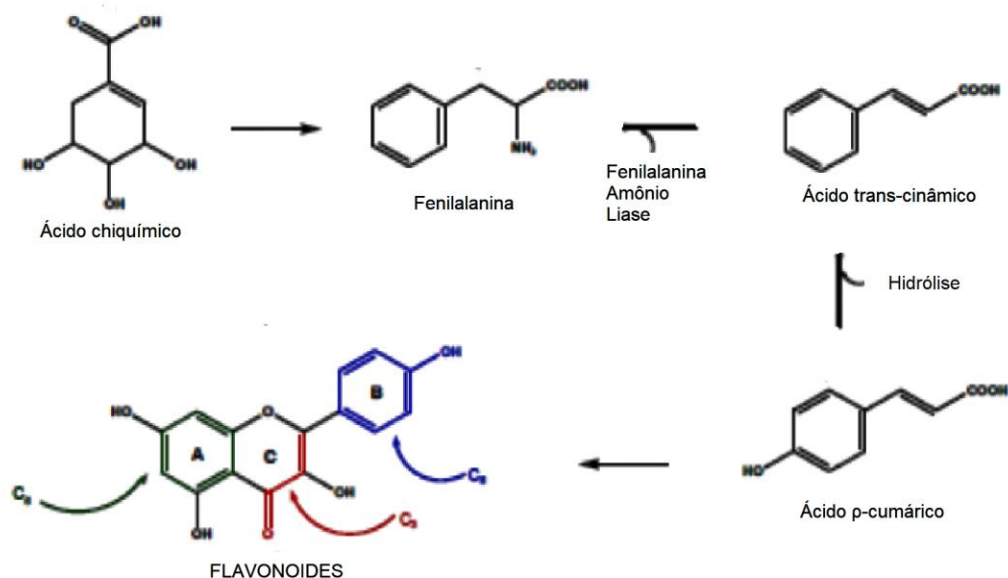
**Figura 4** - Estrutura química dos flavonóides

**Fonte:** Adaptado de Gama, 2011.

Devido ao grande número de hidroxilas fenólicas, capazes de realizar quelação com o ferro, presentes em sua estrutura eles apresentam grande capacidade antioxidante desempenhando papel fundamental contra agentes oxidantes presentes no dia a dia como, por exemplo, o raio ultravioleta, a poluição ambiental, substâncias químicas presentes nos alimentos entre outras além de atuar também no combate a doenças como aterosclerose, câncer e doenças cardíacas (HAVSTEEN, 1983; PERES, 1994).

Eles são compostos sintetizados por meio da formação de derivados da fenilalanina, que é a via metabólica do ácido chiquímico, combinados com ácido acético. A síntese acontece da seguinte forma: a fenilalanina é transformada em ácido cinâmico pela ação da enzima fenilalanina amônio liase, onde essa enzima faz a ligação dos metabolitos primários (via do ácido chiquímico) aos secundários (fenilpropanóides). Dessa forma o ácido cinâmico sofre hidrólise dando origem ao ácido cumárico (C9) sendo condensado a unidades de malonil-CoA (C2) que formam uma cetona aromática, que dá origem a todos os flavonoides, como pode ser verificado na figura 5 (KÜHNAU, 1976).

**Figura 5** - Rota metabólica do ácido chiquímico em flavonoides.

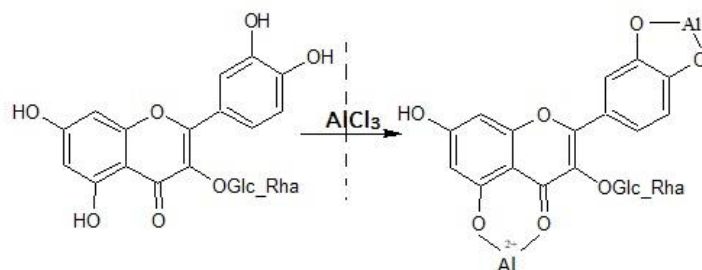


**Fonte:** Adaptada de Santos, 2010.

Podem ocorrer substituições que modificam a estrutura química dos flavonoides tais como: hidrogenação, hidroxilações, metilações, malonilações, sulfatações e glicosilações. Eles aparecem normalmente na forma de ésteres, éteres ou derivados glicosídicos. Com exceção do grupo das leucoantocianinas, os demais flavonoides normalmente estão presentes em plantas juntos a estruturas glicídicas, onde passam a ser chamados de glico-flavonoides ou flavonoides glicosilados (BIRT et al., 2001). Quando eles não estão unidos a glicídios recebem o nome de aglicona. O suposto principal fator determinante da absorção dessas estruturas pelo organismo é o resíduo de açúcar da sua molécula (NIELSEN et al., 2006).

O método de determinação de flavonoides se baseia na utilização do cloreto de alumínio, que se forma em um complexo estável com os flavonoides, como pode ser visto na figura 6. O complexo flavonoide-Al absorve o em comprimentos de onda bem maior do que o flavonoide sem a presença do agente complexante.

**Figura 6** - Formação do complexo flavonoide - Al.



**Fonte:** Adaptado Santos, 2010.

### 3.6. CAPACIDADE ANTIOXIDANTES

Os antioxidantes são substâncias que têm a capacidade de inibir radicais livres e causar a complexação de metais, dessa forma são capazes de retardar a oxidação de algumas estruturas (Pietta, 2000). Com relação a sua natureza eles podem ser sintéticos ou naturais, onde os antioxidantes sintéticos mais importantes são hidroxianisol de butila (BHA) e o hidroxitolueno de butila (BHT). Dentre os naturais os mais encontrados são ácido ascórbico, Vitamina E e  $\beta$ - caroteno (RICE-EVANS et al., 1996).

Eles também podem ser divididos em duas classes de acordo com a ausência ou presença de atividade enzimática. Os do tipo que não apresentam atividade enzimática são caracterizados por moléculas que interagem com espécies radiculares e são consumidos durante a reação, dentro dessa classe estão inclusos os antioxidantes naturais e sintéticos. Os que apresentam atividade enzimática são capazes de bloquear a ação das enzimas que removem as espécies reativas de oxigênio dessa forma, inibindo a iniciação da oxidação (MOREIRA, 2004)

Evidências científicas através de estudos em humanos, animais e sistemas de culturas de células demonstram que as isoflavonas presentes na soja, especificamente a genisteína e a daidzeína possuem um papel fundamental na prevenção de doenças crônicas, apresentando um efeito anticancerígeno e atividade antioxidante, com isso, este componente pode trazer benefícios no controle e prevenção de doenças como câncer, diabetes mellitus, osteoporose e doenças cardiovasculares devido a mecanismos como diminuição nos níveis de colesterol total decorrente do aumento na atividade de receptores das lipoproteínas de baixa densidade (LDL) (ZAFRA-GÓMEZ et al., 2010).

Apesar de a maior parte das isoflavonas encontradas na soja serem de isoflavonas glicosiladas e isoflavonas agliconas, genistina e daidzina são os principais isoflavonóides e constituem de 50 a 90% dos flavonoides presentes na farinha de soja (ELDRIDGE, 1982; FUKUTAKE et al., 1996).

De acordo com Park et al. (2001), as agliconas como a daidzeína e genisteína, que são formadas por meio de processos enzimáticos dos isoflavonóides glicosilados, possuem atividade antioxidante superiores às da sua forma base, sem sofrer transformações.

A ingestão de isoflavonas pode provocar efeitos antiangiogênico e inibição da DNA topoisomerase e seus efeitos antioxidantes em lipídios. Além disso, elas agem sobre lipoproteínas e DNA, bem como no transporte de glicose e em vários sistemas de transporte iônico. Podem atuar tanto com função agonistas quanto antagonistas do estrógeno ou como moduladores dos receptores seletivos de estrógeno. Seu efeito pode variar dependendo do órgão do corpo humano, do tipo de célula, da concentração de isoflavonas, da condição hormonal, idade, etc. (BARNES et al., 2002).

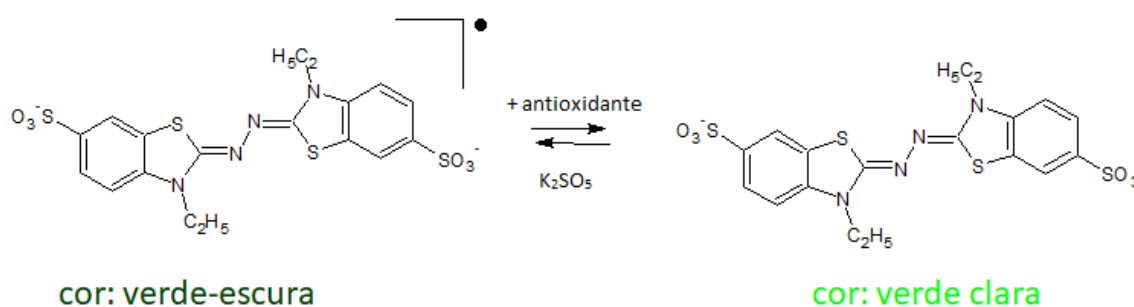
O consumo de soja promove a melhora no metabolismo lipídico devido ação de fitoestrógenos nos adipócitos e hepatócitos por isso ela pode se relacionar com o processo fisiopatológico da obesidade. Além disso, ela é uma importante fonte de aminoácidos essenciais como arginina e glicina, os quais têm papel importante na síntese de glucagon, que possui ação hiperglicemiante e termogênica, além de contribuir para o aumento da oxidação dos ácidos graxos, por meio da glicogenólise hepática (PEIXOTO et al., 2011).

A concentração de isoflavonas na soja pode variar dependendo de alguns fatores ambientais e da temperatura do local no qual ela está sendo armazenada (CARRÃO-PANIZZI et al., 1998). Dentre os fatores determinantes para essa concentração pode-se destacar a variedade e condições de cultivo e condições de processamento da soja. Um fator bastante importante também para a quantificação da concentração de isoflavonas está na própria metodologia utilizada para a sua quantificação, pois levam-se em conta tanto a eficiência do método de extração quanto a da própria análise, sendo que esse processo ocorre principalmente por meio da cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) (GENOVESE & LAJOLO, 2001).

O método ABTS é um método que se baseia na captura do radical formado, oriundo da reação do ABTS com o persulfato de potássio, que após a sua adição adquire

coloração verde escuro, como pode ser visualizado de acordo com a figura 7. Esse método monitora o decaimento do cátion radical ABTS\*<sup>+</sup>, onde na ausência de fenóis esse radical apresenta estabilidade, porém, devido ao fato de ele reagir energeticamente com doadores de átomos de hidrogênio, na presença de fenóis, ele é convertido em uma forma não colorimétrica do ABTS (RICE-EVANS, 1999). A sua leitura ocorre de acordo com sua absorbância em espectro de absorção de UV-Vis máxima em 734 nm, e em contraponto a captura do radical, ocorre a diminuição da absorbância (PEREIRA, 2009).

**Figura 7** - Redução do radical ABTS por um antioxidante.



**Fonte:** Adaptada de Rufino, 2007.

### 3.7. COMPOSTOS ANTINUTRICIONAIS

#### 3.7.1. INIBIDORES DE TRIPSINA

Apesar de sua boa composição nutricional, a soja apresenta alguns fatores que conferem características indesejáveis, de acordo com o subproduto ao qual for destinada. Além disso possui a presença de oligossacarídeos que não são metabolizados pelo homem como estaquiose e rafinose (FRANCO et al., 1996).

A inibição da proteólise intestinal, causada pelos inibidores de proteases, provoca um aumento na secreção das enzimas digestivas tripsina, quimotripsina e elastase, sendo elas eliminadas nas fezes, acarretando em uma perda de importantes aminoácidos sulfurados, além disso, causam inibição no crescimento, hipertrofia e hiperplasia pancreáticas. Os produtos comerciais de soja normalmente apresentam menos de 20% de atividade de inibidores de tripsina devido ao eficiente tratamento térmico no qual a soja crua é submetida (LIENER, 1994).

Os inibidores de tripsina estão naturalmente presentes nos grãos de soja, podendo estar presente em 0,2 a 0,3% do conteúdo total de proteínas. Este composto tem a função fisiológica de manutenção da dormência, controle de proteínas endógenas, prevenção a ataques de microrganismos e pragas (LIENER & KAKADE, 1980).

Dentre os inibidores proteolíticos, existem dois tipos, os inibidores de kunitz e o inibidor de Bowman-Birk. Os inibidores de Kunitz agem diretamente nas tripsinas, devido às suas duas pontes dissulfídicas, já os inibidores de Bowman-Birk agem diretamente nas tripsinas e quimotripsina devido às suas sete pontes dissulfídicas, que são formadas por dois polipeptídeos que podem inibir duas moléculas de enzima ao mesmo tempo. Estes agentes possuem a capacidade de reduzir a digestão proteica de alimentos, causando a diminuição de peso e crescimento dos animais (ESKIN & SHAHIDI, 2015; MIURA et al., 2001).

Esta relação também é dada por Al-Wesali et al. (1995) e Nitsan & Liener (1976), ao estudarem a dieta de ratos, animais monogástricos, com soja crua e aquecida, onde foi observado um aumento da secreção enzimática pancreática, hipertrofia e hiperplastia, além de retardar o crescimento, sendo que, os ratos que se alimentaram da soja cozida tiveram um efeito contrário.

Churella et al. (1976) também sugere que a realização de tratamentos térmicos em alimentos à base de soja seja realizada, pois ao alimentar ratos sob estas condições, não foi possível observar uma hipertrofia ou hiperplasia pancreática neles. Dessa forma, o tratamento térmico tem mostrado-se eficiente na inativação desses fatores antinutricionais, aumentando a digestibilidade dos nutrientes pela mudança na estrutura das proteínas (CARVALHO et al., 2002).

Além disso, Farag (1998) encontrou uma redução de cerca de 72,5% dos inibidores de tripsina nos grãos de soja quando submetidos a um tratamento com radiação gama a uma dose de 60kGy.

Com isso, o processo de radiação tem sido promissor na redução de oligossacarídeos, inibidores de tripsina e quimiotripsina, melhorando a produção de leite de soja e *tofu*, além de conseguir aumentar a atividade antioxidante dos compostos fenólicos neles (BARROS, 2012).

### **3.7.2. LIPOXIGENASE**

A soja e seus derivados não vêm sendo bem aceito no Ocidente, os principais fatores de sua rejeição são as suas características sensoriais, como o seu sabor adstringente e amargo e o seu odor de cru, conhecido normalmente como *beany flavor* ou *off flavor*. Estes fatores são resultantes da ação da lipoxigenase (BARROS, 2012).

A lipoxigenase é uma enzima monomérica com ferro, que catalisa a dioxigenação dos ácidos graxos que contêm sistemas de pentadieno. Ela constitui uma quantidade de 1% do total de proteínas enzimáticas, que agem através da reação de catálise da hidroperoxidação de ácidos graxos poliinsaturados, originando compostos carbonílicos de cadeia curta com a fração protéica, além de, também serem capazes de oxidar os pigmentos, como os carotenóides e clorofilas (ESKIN & SHAHIDI, 2015; MONTEIRO et al., 2004).

As lipoxigenases estão presentes em 3 formas nos grãos de soja, que são classificadas nas isoenzimas 1, 2 e 3. Elas se diferem pelos aspectos de atuação, como o pH ótimo, especificidade para o substrato, produtos formados e valor de  $K_m$ . Estes são os responsáveis pela oxidação da posição 13 da cadeia carbonílica de um ácido graxo, levando a produção de hidroperóxidos que resultam na formação de aldeídos e cetonas de cadeia curta (BISCARO, 2009).

A ativação das enzimas lipoxigenases é iniciada pelo aumento da umidade, origina a oxidação dos ácidos graxos poliinsaturados com o sistema pentadieno e o ácido linolênico, formando o sabor e odor desagradável. Estes fatores podem ser eliminados pela realização de tratamentos térmicos, extração com solventes orgânicos e melhoramentos genéticos, o que pode aumentar a aceitação dos derivados de soja. (SAWAZAKI et al., 1987; CIABOTTI et al., 2007).

A utilização de tratamentos térmicos, como a realização do branqueamento próximos a 100°C durante 5 a 10 minutos para a eliminação das lipoxigenases, têm sido promissores para a sua eliminação. Entretanto, estes tipos de tratamentos térmicos podem não serem efetivos para algumas isoenzimas, pois cada um possui uma particularidade específica. Para suprir estas necessidades, existem também as técnicas de irradiação, que além de poder diminuir os inibidores de proteolíticos, conseguem reduzir as atividades das lipoxigenases (BARROS, 2012; DELAFRONTTE, 2014).

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1. MATERIAL

As análises foram realizadas no laboratório de química e no laboratório de alimentos, do campus Centro de Ciências Naturais e Tecnologia (CCNT) da UEPA.

As sojas foram obtidas de três localidades diferentes, onde duas variedades são procedentes dos municípios de Paragominas e Tomé-Açu, respectivamente localizados no sudeste e nordeste paraense, e a outra variedade é oriunda de um centro comercial de Belém.

### 4.2. ELABORAÇÃO DE TOFU

O *tofu* foi elaborado praticando-se as boas práticas de fabricação.

Para se iniciar o processo de elaboração dos *tofus*, foram realizados testes preliminares para verificar qual a melhor proporção entre água:soja, extrato hidrossolúvel de soja (EHS):coagulante.

Foram encontradas em literaturas proporções de soja e água, a partir de, 1:5 até 1:10, baseando-se pelos métodos descritos por Pansani (2008) que utilizou uma proporção de 1:5, Zaki et al. (2018), Yakubu et al. (2013), Yang & James (2013), Li et al. (2013) e Shimada et al. (1998) que utilizaram uma proporção de 1:6, Kamikaze et al. (2016) que utilizou uma proporção de 1:7 e, por fim, Brigadão (2014), Ciabotti et al. (2007), Damásio (2013), Daniels (2015) e Gonçalves (2014) utilizaram uma proporção de 1:10.

Para as proporções de EHS:coagulante, foram encontrados em literaturas as proporções, a partir de 1:1,5 a 1:15 baseando-se pelos métodos descritos pelos mesmo que das proporções de soja e água e também por Benassi et al. (2011), Rosset et al. (2014) e Lee et al. (2014).

Já para a escolha dos coagulantes, tomou-se como base as metodologias descritas por Li et al. (2013), Pauletto & Fogassa (2012) e Prabhakaran et al. (2006), a fim de, avaliar-se, quais formulações obtinham melhores resultados em relação à parâmetros sensoriais e de rendimento. Quatro tipos de coagulantes foram utilizados nesse processo em diferentes proporções, sendo eles: cloreto de magnésio, cloreto de cálcio, sulfato de magnésio e sulfato de cálcio nas proporções 1:5, 1:10, 1:15. As elaborações foram

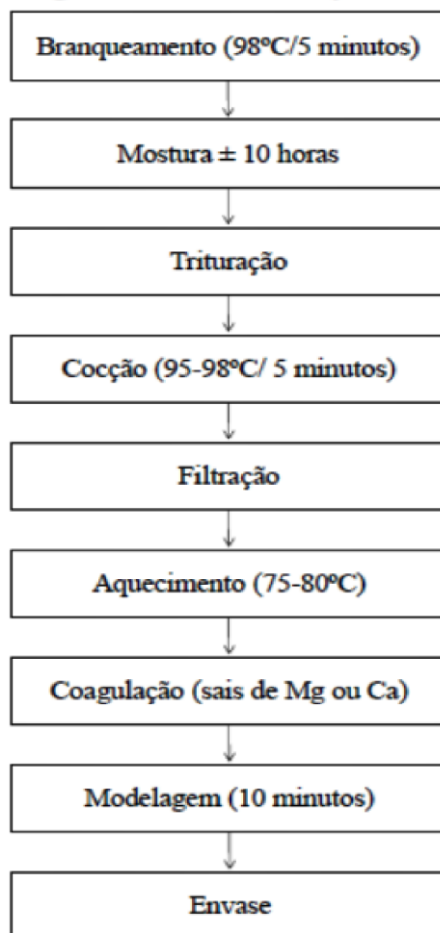
comparadas com *Tofu* comercial, obtido em supermercado e os parâmetros sensoriais foram avaliados por pessoas que obtinham afinidade com o produto.

Após a realização dos testes com as diferentes proporções de água:soja, EHS:coagulante e o tipo de coagulante, foram verificados que os *tofus* elaborados na proporção 1:6 de soja e água, 1:5 de EHS:coagulante e os coagulantes sulfato de cálcio e cloreto de magnésio na proporção de 1:5 e tempo de coagulação de, respectivamente, 5 minutos e 15 minutos. Pois obtiveram as melhores coagulação, textura e sabor, quando comparado com o tofu comercializado. Pois, as outras proporções e o tipo de coagulante deixavam o *tofu* com uma característica muito frágil, muito rígido, não ocorria a reação de coagulação ou possui um gosto forte dos coagulantes, mesmo após dias em armazenamento.

O produto será elaborado conforme a Figura 8.

**Figura 8** - Fluxograma de elaboração do tofu.

**Fluxograma de elaboração de *tofu***



Fonte - Autores, 2019.

### **Branqueamento**

Para inativação enzimática da lipoxigenase e dos inibidores de tripsina, presente na soja, onde os grãos foram selecionados, pesados e branqueados durante 5 minutos a uma temperatura de 98 °C sendo resfriados imediatamente após o processo, conforme a metodologia descrita por Ciabotti et al. (2006).

### **Mostura**

Os grãos foram hidratados, na proporção de 1:3 de soja e água, durante aproximadamente 10 horas, de acordo com o método adaptado de Pauletto & Fogassa (2012), para obter o extrato de soja.

### **Trituração**

A água utilizada na mostura foi escoada, e após, os grãos foram novamente hidratados em uma proporção para elaboração do extrato hidrossolúvel de soja de 1:6 (m/v), para então serem triturados por aproximadamente 1 minuto, conforme metodologia adaptada de Pauletto & Fogassa (2012).

### **Cocção**

A mistura homogeneizada foi aquecida sobre uma faixa de temperatura de 95 a 98°C por 5 minutos, para contribuir com o processo de inativação dos inibidores de tripsina, conforme a metodologia Kamikaze et al. (2016).

### **Filtração**

Imediatamente após o aquecimento, a mistura foi filtrada em tecido fino, obtendo-se o extrato hidrossolúvel de soja (EHS).

### **Aquecimento**

O EHS foi aquecido novamente, sob banho maria, conforme a metodologia de Pauletto & Fogassa (2012), estabilizando-se sua temperatura em 75 a 80°C.

### **Coagulação**

Coagulação do EHS utilizando cloreto de magnésio e sulfato de cálcio foi respectivamente de 5 minutos e 15 minutos.

### **Modelamento**

Finalizado o processo de coagulação, os EHS coagulados foram modelados e drenados em recipiente cilíndrico perfurado e prensado durante 10 minutos, com um peso de 300 gramas utilizado como prensa.

### **Envasamento**

Por fim, os produtos elaborados foram envasados em recipientes plásticos com água mineral esterilizada, e armazenados sob refrigeração em temperaturas inferiores a 10°C.

### **4.3. CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA**

A determinação da caracterização físico-química foi realizada aplicando a metodologia de INSTITUTO ADOLFO LUTZ (2008), com adaptações para cada método.

#### **4.3.1. DETERMINAÇÃO DE ACIDEZ TOTAL**

A determinação de acidez total foi realizada a partir da titulação ácido-base com hidróxido de sódio 0,01N, fenolftaleína 1%, a amostra bem triturada e água morna (50°C).

#### **4.3.2. DETERMINAÇÃO DE UMIDADE**

A determinação de umidade foi realizada pela retirada de água livre da amostra em estufa a 105°C, até peso constante.

#### **4.3.3. DETERMINAÇÃO DE PROTEÍNAS**

A quantificação de proteína foi realizada pelo método de kjeldahl modificado, onde as amostras foram pesadas, digeridas, destiladas, tituladas com ácido clorídrico e fator de correção de 6,25, que corresponde às leguminosas.

#### **4.3.4. DETERMINAÇÃO DE LIPÍDIOS**

A determinação de lipídios a quente foi realizada pelo método de extração direta de Soxhlet, utilizando-se o éter de petróleo como solvente extrator.

#### **4.3.5. DETERMINAÇÃO DE CINZAS**

As cinzas foram determinadas pela calcinação da amostra em forno mufla a uma temperatura de 580°C, até peso constante.

#### **4.3.6. DETERMINAÇÃO DE CARBOIDRATOS**

A determinação de carboidratos foi realizada através da diferença entre as porcentagens de umidade, proteínas, gorduras e cinzas.

#### **4.4. AVALIAÇÃO DE RENDIMENTO**

O rendimento do produto foi determinado pelo método descrito por Daniels (2015), onde, foi calculado através da relação entre o peso inicial da matéria-prima (grãos de soja) e do peso do produto *tofu* x 100.

#### **4.5. DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS**

A extração para compostos fenólicos foi realizada em conformidade com os métodos descritos por Alezandro (2009) e Rufino (2007), pesando-se 1g da amostra e medindo-se 20 ml de acetona 70%. Agitou-se a solução durante 1 minuto em agitador vortex e deixou-se a mesma em repouso durante 30 minutos, após isso, a solução foi centrifugada durante 15 minutos, retirado o sobrenadante e, por fim, filtrado em papel de filtro. Todo o processo foi realizado em ambiente escuro e o extrato armazenado em congelador doméstico ( $\pm -18^{\circ}\text{C}$ ).

A determinação de compostos fenólicos totais foi feita em espectrofotômetro e lendo as absorvâncias a 760 nm, utilizando como solução extratora, carbonato de sódio 7,5% e o reagente de Folin-Ciocalteu, seguindo o método de Singleton (1999).

Por conseguinte, foi realizada uma curva padrão de ácido gálico elaborada com as seguintes concentrações 20, 40, 60, 80 e 100 mg/L, sendo em seguida lidas as absorvâncias a 760 nm em espectrofotômetro, utilizando-se cubetas de 1 cm de largura. O conteúdo de compostos fenólicos totais, então foi calculado utilizando-se a equação linear, baseada na curva padrão de calibração, onde o eixo Y equivale a absorvância, e o eixo X a concentração de ácido gálico (mg/L) e calculado de acordo com a equação:  $FT = CEB \times (DEB/m) \times 100$ , onde: C EB é a concentração de ácido gálico na solução de amostra (mg/L) referente ao Extrato Bruto (EB); D EB é a diluição da amostra, em litros, referente ao Extrato Bruto (EB); “m” é a massa da amostra utilizada na extração, expressa em gramas.

#### **4.6. DETERMINAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE ABTS E FLAVONOIDES TOTAIS**

##### **4.6.1. PREPARO DO EXTRATO**

Para o processo de extração da capacidade antioxidante ABTS e flavonoides totais, foi verificado que durante o processo de leitura, não foi observada uma variação significativa entre as absorvâncias, além de apresentar valores negativos para as leituras, utilizando-se os mesmos extratos da análise de CFT. Então, foram realizados testes preliminares para a realização das leituras, onde foram utilizados 3 tipos de solventes: acetona, etanol, e metanol, a uma concentração de 70% para cada uma. Além disso, foram realizados métodos diferentes de extração, seguindo-se metodologia adaptada de Ruffino (2007) e Alezandro (2009).

Inicialmente, foram realizadas leituras para flavonoides totais utilizando-se água como branco, e foi observado absorvâncias nas extrações realizadas para acetona de 0,041 e 0,042, etanol de 0,096 e 0,086 e metanol de 0,041 e 0,047. Para o branco com água mais cloreto de alumínio foi observado uma média de absorvância nas extrações realizadas para acetona de 0,082 e 0,082, etanol de 0,065 e 0,073 e metanol de 0,063 e 0,060.

Dessa forma, o método mais adequado para a leitura em espectrofotometria de tofu, foi como está descrito na área de metodologia deste tópico, pois não houve alterações nos valores das absorvâncias analisadas utilizando-se a água mais cloreto de alumínio como branco e metanol 70% como agente extrator.

A extração dos compostos foi realizada macerando-se 10g da amostra e misturando-se 20 ml de metanol 70%, como agente extrator, em seguida a mistura foi agitada durante 1 hora em agitador magnético e banho de gelo ( $\pm 3^{\circ}\text{C}$ ). Após isso, a solução foi centrifugada durante 15 minutos, retirado o sobrenadante e, por fim, filtrado em papel de filtro. Todo o processo foi realizado em ambiente escuro e o extrato armazenado em congelador doméstico ( $\pm -18^{\circ}\text{C}$ ) (ALEZANDRO, 2009; RUFINO, 2007).

#### **4.6.2. DETERMINAÇÃO DE FLAVONOÍDES TOTAIS**

A análise de flavonóides totais foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Chang et al. (2002), onde o método se baseia no preparo de cloreto de alumínio pentahidratada ( $\text{AlCl}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ) a 5% com etanol, sendo dissolvido pelo auxílio de ultrassom, até a completa dissolução e formar uma solução límpida. Para o preparo da solução padrão de quercetina, foi preparada uma solução etanólica a 50 ppm e suas diluições (5, 10, 20, 30 e 40) para poder obter a equação da curva padrão. Onde, para isso, foi necessário misturar uma quantidade de 1,5 mL das diluições de quercetina e 1,5 mL

da solução de  $\text{AlCl}_3$  5% para se determinar os pontos da curva e para o branco foi utilizado 1,5 mL de água e 1,5 mL de  $\text{AlCl}_3$  5%. Já para a leitura das amostras são preparadas as soluções de 1,5 mL do extrato e 1,5 mL de  $\text{AlCl}_3$  5%. Para estes procedimentos, após a mistura das soluções elas são agitadas durante 30 segundos e deixadas em repouso durante 15 minutos, após isso, é realizada a leitura em espectrofotômetro a 425 nm. Por fim, foi calculado a quantidade de flavonoides em EQ mg/100g.

#### **4.6.3. DETERMINAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE ABTS**

A análise de ABTS foi realizada seguindo-se o método de Rufino (2007), onde essa metodologia consiste em medir a atividade antioxidante através da captura do radical 2,2-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico), que pode ser gerado através de uma reação química. Partindo-se desse princípio, a determinação dos compostos antioxidantes ABTS é realizado pela leitura em espectrofotômetro lendo a absorbância a 734 nm, utilizando a solução padrão de trolox  $2.000\mu\text{M}$  para o preparo da curva-padrão com concentrações de 100, 500, 1000, 1500 e 2000  $\mu\text{M}$  mais 3 ml da solução do radical ABTS, para cada solução e realizado a análise em espectrofotômetro com absorbância a 734 nm, utilizando cubetas de 1 cm de largura. Após o preparo da curva-padrão é realizado a leitura das amostras a partir do procedimento foi adaptado de Larrauri et al. (1997). Por fim, é calculada a quantidade do antioxidante expresso em  $\mu\text{M}$  trolox/g.

#### **4.7. AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA**

A avaliação microbiológica foi realizada no laboratório de microbiologia do Centro de Ciências Naturais e Tecnologia da Universidade do Estado do Pará. Para realizar as determinações qualitativa e quantitativa dos microrganismos que estão resolução da ANVISA - RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001, especificamente para o *tofu*. Foi realizada a análise para Coliformes a 45°C, *Salmonella* sp e Estafilococos coagulase positiva.

As análises foram realizadas de acordo com a metodologia descrita por Silva et al. (2017) para verificar se as elaborações estiveram em condições higiênico-sanitárias de preparo.

##### **Coliformes a 45°C**

A determinação de coliformes a 45° C foi realizada pela técnica de tubos múltiplos, na qual a quantidade decrescente da amostra (diluições decimais consecutivas: 10 mL, 1 mL e 0,1 mL) são inoculadas no meio de cultura, caldo lauril sulfato triptose, adequado em uma série de 3 tubos, que são incubados a 35° C por 24 horas. a formação de gases é a prova presuntiva para a presença de coliformes, mas se não apresentar formação de gases, os tubos são deixados incubados por mais 24 horas. Uma vez formado os gases, as culturas dos tubos positivos do caldo lauril são transferidas para tubos contendo de caldo *E. coli* (E.C.), que são incubados durante 24 horas a 45° C em banho maria com agitação. Quando os tubos apresentarem uma característica turva e produzirem gases, os resultados são considerados positivos para coliformes fecais.

### ***Salmonella* sp**

A determinação de salmonella foi realizada através de pré-enriquecimento da amostra em água salina peptonada a 1% tamponada, incubando à 37° C por 24 horas. Após o pré-enriquecimento, a amostra foi transferida para dois diferentes caldos de enriquecimento seletivo, Selenito Cistina (SC) e tetracionato (TT), sendo incubados a 37° C por 24 horas. para o isolamento das colônias foi feita a semeadura da amostra em placas de petri, contendo agar salmonella shigella (SS) e agar verde brilhante vermelho de fenol - lactose - sacarose (BPLS), incubadas por 24 horas a 37° C. As colônias típicas obtidas nas placas foram confirmadas através de provas bioquímicas e sorológicas.

### **Estafilococos coagulase positiva**

A determinação de Estafilococos coagulase positiva foi realizada empregando-se a semeadura de superfície em ágar Baird-Parker (BP) com incubação a 37° C por 24 a 48 horas. os resultados foram considerados positivos, quando as colônias típicas apresentarem coloração negra, com aspecto brilhante e rodeada por um halo opaco.

## **4.8. ANÁLISE ESTATÍSTICA**

Os resultados das análises foram avaliados através da Análise de Variância (ANOVA) e os cálculos das médias pelo Teste de Tukey a 5 % de probabilidade ( $p \leq 0,05$ ) com o auxílio do *software* estatístico *Past* (HAMMER et al., 2001).

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1. ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICOS

Na Tabela 1 é possível encontrar as quantificações físico-químicas dos *tofus* elaborados, expresso em porcentagem.

A partir dos dados obtidos apresentados na Tabela 1 foi observado que o *tofu* Tca obteve a maior quantidade de acidez total, mostrando que ele possui uma barreira física um pouco maior que os outros. Além disso, foi notado que os *tofus* elaborados com sulfato de cálcio apresentaram uma acidez maior em comparação aos elaborados com cloreto de magnésio. Entretanto os *tofus* elaborados com as sojas do comércio, para ambos os coagulantes não diferiram significativamente entre eles, demonstrando que possivelmente, o processo de coagulação não alterou tanto a concentração de íons  $H^+$  para essa variedade de soja.

**Tabela 1** – Análises físico-químicos dos Tofus elaborados, no Laboratório de Tecnologia de Alimentos da UEPA/CCNT, com os diferentes tipos de soja e coagulantes, expresso em base úmida (b.u).

	<b>Pca</b>	<b>Tca</b>	<b>Cca</b>	<b>Pmg</b>	<b>Tmg</b>	<b>Cmg</b>
<b>Acidez total (%)</b>	2,34 ± 0,16 <sup>a</sup>	2,45 ± 0,16 <sup>a</sup>	2,17 ± 0,08 <sup>ac</sup>	1,32 ± 0,10 <sup>b</sup>	1,50 ± 0,05 <sup>b</sup>	1,92 ± 0,10 <sup>c</sup>
<b>Umidade (%)</b>	86,83 ± 0,65 <sup>a</sup>	85,79 ± 0,53 <sup>ad</sup>	84,47 ± 0,85 <sup>bcd</sup>	83,05 ± 0,20 <sup>b</sup>	85,54 ± 0,66 <sup>ac</sup>	84,05 ± 0,69 <sup>bc</sup>
<b>Sólidos totais (%)</b>	13,17 ± 0,65 <sup>a</sup>	14,21 ± 0,53 <sup>ad</sup>	15,53 ± 0,85 <sup>bcd</sup>	16,95 ± 0,20 <sup>b</sup>	14,46 ± 0,66 <sup>ac</sup>	15,95 ± 0,69 <sup>bc</sup>
<b>Proteína (%)</b>	7,98±0,09 <sup>a</sup>	9,84 ± 0,02 <sup>b</sup>	8,96 ± 0,02 <sup>c</sup>	9,2±0,03 <sup>d</sup>	8,9 ± 0,01 <sup>c</sup>	9,58 ± 0,02 <sup>e</sup>
<b>Lipídios (%)</b>	2,95 ± 0,01 <sup>a</sup>	1,68 ± 0,10 <sup>b</sup>	4,59 ± 0,03 <sup>c</sup>	4,70 ± 0,02 <sup>c</sup>	2,09 ± 0,05 <sup>d</sup>	4,95 ± 0,03 <sup>e</sup>
<b>Cinzas (%)</b>	1,62±0,01 <sup>a</sup>	1,49 ± 0,005 <sup>ab</sup>	1,3 ± 0,03 <sup>b</sup>	0,27 ± 0,03 <sup>c</sup>	0,65 ± 0,05 <sup>d</sup>	0,4 ± 0,02 <sup>cd</sup>
<b>Carboidratos (%)</b>	0,62	1,2	0,68	2,78	2,82	1,02

Médias seguidas da mesma letra na mesma linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ). Pca: soja de Paragominas com sulfato de cálcio; Tca: soja de Tomé-Açu com sulfato de cálcio; Cca: soja do comércio com sulfato de cálcio; Pmg: soja de Paragominas com cloreto de magnésio; Tmg: soja de Tomé-açu com cloreto de magnésio; Cmg: soja do comércio com cloreto de magnésio.

Quanto a análise de umidade, não houve tantas diferenças entre as amostras, porém, foi observado que as elaborações com sulfato de cálcio obtiveram maiores percentuais, contudo somente a amostra do tipo Pca diferiu significativamente das três amostras elaboradas com cloreto de magnésio, devido ela ter sido a que conseguiu reter uma maior quantidade de umidade. Em contrapartida a amostra do tipo Pmg foi a única que diferiu simultaneamente das três amostras elaboradas com sulfato de cálcio, sendo ela a que obteve os menores percentuais.

Já na determinação de proteínas, foi observado que todos os *tofus* apresentaram altos teores de proteína, os *tofus* elaborados com cloreto de magnésio apresentaram uma maior quantidade, exceto o de Tomé-Açu. Entretanto, o *tofu* que obteve a maior quantidade de proteína foi o de Tomé-Açu com o sulfato de magnésio. Nessa determinação somente as amostras do tipo Cca e Tmg não diferiram entre si.

Em relação à quantidade de lipídios, Foi possível observar que os *tofus* elaborados com cloreto de magnésio apresentaram uma maior quantidade de lipídios, com exceção das de Tomé-Açu que obtiveram os menores percentuais, em ambos os métodos utilizados. A variedade de soja, do comércio obteve uma maior quantidade na extração por soxhlet, em especial a do tipo Cmg que diferiu significativamente de todas as outras, assim como, na extração por bligh dyer a do tipo Pmg apresentou a maior quantidade diferindo de três elaborações que foram as do tipo Pca, Tmg e Tca.

Foi possível observar que os *tofus* elaborados com cloreto de magnésio apresentaram uma maior quantidade de lipídios, com exceção das de Tomé-Açu que obtiveram os menores percentuais, em ambos os métodos utilizados. A variedade de soja, do comércio obteve uma maior quantidade na extração por soxhlet, em especial a do tipo Cmg que diferiu significativamente de todas as outras, assim como, na extração por bligh dyer a do tipo Pmg apresentou a maior quantidade diferindo de três elaborações que foram as do tipo Pca, Tmg e Tca.

Por fim, em relação à quantidade de cinzas, foi observado que os *tofus* elaborados com sulfato de cálcio obtiveram uma maior quantidade. Isso pode ser dado devido à diferença entre as massas atômica de cada coagulante, onde o cálcio possui aproximadamente 40u e o magnésio 24u.

Na tabela 2 é possível encontrar as quantificações físico-químicas dos *tofus* elaborados, expresso em porcentagem, encontrado nos *tofus* analisados por outros autores.

**Tabela 2** – Comparação literária das análises físico-químicos dos Tofus elaborados com os diferentes tipos de soja e coagulantes.

	<b>Gonçalves (2014)</b>		<b>Ciabotti et al. (2006)</b>			<b>Daniels (2015)</b>		<b>Shimada (1998)</b>		
	<b>CaSO<sub>4</sub></b>		<b>GDL</b>			<b>CaSO<sub>4</sub></b>		<b>GDL/MgSO<sub>4</sub></b>		
<b>Umidade (%)</b>	76,64 ± 0,39	78,49 ± 0,45	82,82	82,42	83,49	77,66 ± 0,41	77,68 ± 0,26	87,80 ± 0,19	88,04 ± 0,29	87,88 ± 0,18
<b>Sólidos totais (%)</b>	23,36 ± 0,39	21,51 ± 0,45	17,18	17,58	16,51	22,34 ± 0,41	22,32 ± 0,26	12,2 ± 0,19	11,96 ± 0,29	12,12 ± 0,18
<b>Proteína (%)</b>	9,21 ± 0,35	11,16 ± 1,35	9,19	9,84	9,54	10,37 ± 0,44	10,81 ± 0,09	5,87 ± 0,09	5,75 ± 0,12	5,99 ± 0,08
<b>Lipídios (Soxhlet) (%)</b>	5,26 ± 0,55	4,38 ± 0,21	-	-	-	5,85 ± 0,50	8,01 ± 0,4	-	-	-
<b>Lipídios (Gerber) (%)</b>	-	-	5,65	5,98	4,97	-	-	-	-	-
<b>Lipídios BlighDyer (%)</b>	-	-	-	-	-	-	-	3,08 ± 0,09	2,99	3,30 ± 0,10
<b>Cinzas (%)</b>	3,13 ± 0,09	2,71 ± 0,04	0,86	0,76	0,76	2,79 ± 0,11	2,53 ± 0,13	-	-	-
<b>Carboidratos (%)</b>	5,76	3,26	1,48	1	1,24	4,34	0,97	-	-	-

No presente estudo, os produtos elaborados apresentaram maiores valores em relação a umidade nas comparações com a literatura, sendo que, somente o de Shimada (1998) apresentou uma quantidade superior a todas as elaborações. Isso pode ser causado devido 2 fatores, ao tempo de modelagem e o peso aplicado, pois Gonçalves (2014) e Daniels (2015) deixaram em um tempo de 1 hora com 2,66 KN, Ciabotti et al. (2006) durante 1 hora e 30 minutos com 0,14 KN e Shimada (1998) durante 40 min e sem peso.

Em relação à quantidade de proteínas, os *tofus* elaborados são similares a de Ciabotti et al. (2006), superiores a Shimada (1998) e inferiores em relação a Gonçalves (2014) e Daniels (2015), estas características podem estar relacionadas a proporção de EHS com coagulante, pois os dois autores que obtiveram a maior porcentagem proteínas, utilizaram uma proporção de 1:13 e o autor que apresentou a menor porcentagem, utilizou uma proporção de 1:2.

Já em relação à quantidade de lipídios, pode-se notar que o tofu pode ser determinado pelas 3 formas de extração (soxhlet, gerber e bligh dyer ), pode-se observar que o teor de lipídios dos *tofus* Cca, Pmg e Cmg foram similares a Gonçalves (2014) que também realizou a determinação por Soxhlet , já os tofus Pca, Tca e Tmg apresentaram valores inferiores ao referido autor. Mas foi observado que Daniel (2015) que também utilizou a mesma metodologia apresentou a maior quantidade de lipídios em comparação a este trabalho.

Em relação a cinzas, os tofus elaborados nesta pesquisa foram superiores aos Ciabotti et al (2006) e inferiores aos de Gonçalves (2014) e Daniels (2005). Isso pode estar relacionado a quantidade de coagulante utilizado, estas características podem estar relacionadas a proporção de EHS com coagulante, pois os dois autores que obtiveram a maior porcentagem proteínas, utilizaram uma proporção de 1:13 e o autor que apresentou a menor porcentagem, utilizou uma proporção de 1:2.

Estas diferenças podem estar relacionadas com os cultivares de soja, clima, solo, ao tipo de extração e do coagulante.

## 5.2. AVALIAÇÃO DE RENDIMENTO

Na tabela 3, é possível encontrar os valores de rendimento, expresso em gramas de tofu por 100 gramas de grãos de soja, encontrado nos *tofus* elaborado:

**Tabela 3** – Avaliação rendimento dos *tofus* elaborados, no Laboratório de Tecnologia de Alimentos da UEPA/CCNT, com os diferentes tipos de soja e coagulantes.

g/ 100g de soja	
<b>Pca</b>	141,66 ± 2,88 <sup>a</sup>
<b>Tca</b>	143,33 ± 10,40 <sup>a</sup>
<b>Cca</b>	138,33 ± 10,40 <sup>ab</sup>
<b>Pmg</b>	121,66 ± 2,88 <sup>b</sup>
<b>Tmg</b>	128,33 ± 7,64 <sup>ab</sup>
<b>Cmg</b>	126,66 ± 2,88 <sup>ab</sup>

Médias de 5 repetições ± desvio padrão; médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ). Pca: soja de Paragominas com sulfato de cálcio; Tca: soja de Tomé-Açu com sulfato de cálcio; Cca: soja do comércio com sulfato de cálcio; Pmg: soja de Paragominas com cloreto de magnésio; Tmg: soja de Tomé-açu com cloreto de magnésio; Cmg: soja do comércio com cloreto de magnésio.

De acordo com a Tabela 3 os *tofus* Pca e Tca diferiam significativamente a 5% com o *tofu* Pmg. Dessa forma para o presente estudo, ambas as formulações se mostraram satisfatórias em relação a esse parâmetro. Para a diferença significativa pode-se supor que a força de interação das proteínas de soja com os cátions cálcio ou magnésio contribuíram com esse fator.

Na Tabela 4, é possível encontrar os valores de rendimento, expresso em gramas de tofu por 100 gramas de grãos de soja, encontrado nos *tofus* analisados por outros autores.

**Tabela 4** – Comparação literária de rendimento dos Tofus elaborados com os diferentes tipos de soja e coagulantes.

Rendimento	DANIELS (2015)		BRIGAGÃO et al. (2014)	
	CaSO <sub>4</sub>	MgCl <sub>2</sub>	MgSO <sub>4</sub>	
<b>g/ 100g de soja</b>	119,32 ± 11,58	122,54 ± 3,46	256,16	267,96

Rendimento	BENASSI et al. (2011)		PANSANI et al. (2008)	
	CaSO <sub>4</sub>	MgSO <sub>4</sub>	MgSO <sub>4</sub>	
<b>g/ 100g de soja</b>	281,98 ± 16,64	263,05 ± 5,80	135	169

Ao se comparar com outras literaturas, o *tofu* elaborado obteve um valor próximo ao de Daniels (2015) e Pansani et al. (2008), mas ao se comparar com Brigagão et al. (2014) e Benassi et al. (2011), foi notado um rendimento menor.

De acordo com Yang & James (2013) a diferença no rendimento dos *tofus* estão relacionadas com os cultivares de soja. Isso é possível notar ao se comparar os diferentes tipos de soja com a mesma proporção do EHS com o coagulante.

Entretanto, de acordo com Rekha & Vijayalakshmi (2013) a quantidade de água utilizada para o preparo dos EHS está relacionada com o rendimento do *tofu*. Este parâmetro é mais notável ao se comparar o produto elaborado neste estudo com os de Brigagão (2014) e Benassi (2011), pois os dois autores utilizaram uma proporção de 1:10 de soja e água, e no presente trabalho foi utilizado uma proporção de 1:6 de soja e água. Mas o *tofu* elaborado por Daniels (2015) apresentou um rendimento próximo ao presente estudo, mesmo ele tendo uma proporção de 1:10 de soja e água

Também é notável a diferença quando Pansani et al. (2008) realiza o seu experimento com diferentes proporções de soja e água, onde o *tofu* elaborado na proporção de 1:5 apresentou um rendimento de 135 gramas por 100 gramas de soja e de 1:10, que apresentou um rendimento de 169 gramas por 100 gramas de soja.

Para se ter uma justificativa para essa relação, Li et al. (2013) ressalta os coagulantes utilizados para o processo afetam diretamente nas características do *tofu*. Isso é evidente quando é mostrado as proporções do volume de EHS com o coagulante (v/m), onde Daniels (2015), Benassi et al. (2011), Brigagão et al. (2014) e Pansani et al. (2008) utilizam uma proporção de 1:13, 1:2,5, aproximadamente 1:3,95, 1:5 e 1:1,5 respectivamente.

De acordo com os dados mostrados, foi possível notar que os 3 fatores apresentados (cultivares da soja, proporção de soja com água e proporção do EHS com o coagulante), foram os que mais interferiram no rendimento do *tofu*. Entretanto, segundo Li et al. (2013), existem outros fatores que alteram o resultado, como a qualidade dos grãos, condições de cultivo da planta, armazenamento do grão e condições de processamento.



**Tabela 6** – Comparação com a literatura dos compostos fenólicos totais dos Tofus elaborados com os diferentes tipos de soja e coagulantes, expresso em base úmida (b.u).

	ZAKI et al. (2018) CaCl <sub>2</sub>	DAMÁSIO et al. (2013) MgSO <sub>4</sub>	
<b>CFT (mg EAG/100g de <i>tofu</i>)</b>	2,527	9,60 ± 3,60	18,30 ± 3,60

**Tabela 7** – Comparação literária dos compostos fenólicos totais dos Tofus elaborados com os diferentes tipos de soja e coagulantes, expresso em base seca (b.s).

	ROSSET et al. (2012) GDL	BOLANHO & BELÉIA (2011) <i>Tofu comercial 1</i>		KIN et al. (2014)	
				Com LOX 1 Amarela	Sem LOX Amarela
<b>CFT (mg EAG/100g de <i>tofu</i>)</b>	161,50 ± 8,68	104,3 0 ± 6,30	171,30 ± 4,40	45,91 ± 0,86	52.43 ± 0.29

A partir dos dados literários da Tabela 6 e 7, foi possível observar que a quantidade de compostos fenólicos, em base úmida, obtidos por Zaki et al. (2018) e Damásio et al. (2013) apresentaram uma baixa quantidade em comparação ao obtido neste trabalho, onde, o menor valor obtido foi no *tofu* com a soja de Tomé-Açu com cloreto de magnésio em base úmida.

Além disso, quando se comparado os compostos fenólicos em base seca foi possível observar que os *tofus* analisados por Rosset et al. (2012) e Bolanho & Beléia (2011) e Kin et al. (2014) apresentaram quantidades inferiores ao encontrado nesta pesquisa

Estas diferenças de quantidade podem estar relacionadas com o tipo de soja, o método de extração, o agente extrator ou o estado do *tofu* utilizado, úmido ou seco. Pois, Rosset et al. (2012) e Bolanho & Beléia (2011) utilizaram o etanol 80%, Damásio et al. (2013) e Kin et al. (2014) utilizaram o metanol 80%, Zaki et al. (2018) utilizou etanol ou metanol e neste trabalho foi utilizado acetona 70% para realizar as extrações dos compostos para esta análise.



Para essa determinação, as variedades de Paragominas não foram significativamente diferentes entre elas, entretanto as elaborações contendo uma mesma variedade, com diferentes coagulantes, diferiram entre si, de modo semelhante à análise de CFT.

Também foi possível notar que a partir dos dados obtidos em base úmida, o Pca e o Pmg não apresentaram diferença, pois obtiveram uma média de 3,29 mg EQ/100g de *tofu*. Entretanto, ao ser expresso em base seca, foi notado que o Pca apresenta uma quantidade superior ao Pmg, onde obtiveram uma quantidade de 24,96 e 19,39 mg EQ/100g de *tofu*, respectivamente.

Com isso, ficou notável que essa diferença dos flavonoides totais se deu devido ao rendimento de cada *tofu*, onde o Pca obteve um rendimento de 128,33 g/100 g de *tofu* e o Pmg um rendimento de 120 g/100 g de *tofu*. Entretanto, não foi possível verificar uma relação entre os tipos de coagulantes utilizados, visto que, o Pca e o Tca obtiveram um valor superior ao Pmg e Tmg, mas o Cca obteve um valor inferior ao Cmg.

Na Tabela 9, é possível encontrar os valores dos flavonoides totais, expresso em miligramas equivalente a quercetina por 100 gramas de *tofu* (mg EQ/100g de *tofu*) encontrados no produto analisado por outros autores:

**Tabela 9** – Comparação literária dos flavonoides totais nos Tofus elaborados com os diferentes tipos de soja e coagulantes, expresso em base seca (b.s) e base úmida (b.u).

	ZAKI et al. (2018) CaCl <sub>2</sub>	BOLANHO & BELÉIA (2011)* <i>Tofu comercial 1</i>		KIN et al. (2014) Com LOX 1    Sem LOX Amarela       Amarela	
		<b>Flavonoides totais (mg EQ/100g de <i>tofu</i>)</b>	3,53	27,9 ± 2,6	62,2 ± 3,1

\*Valor calculado em base seca. LOX: Lipoxigenase

De acordo com estes dados obtidos de outros trabalhos, que estão na Tabela 9, foi possível notar que os *tofus* elaborados neste trabalho, apresentaram uma quantidade superior de flavonoides totais, entretanto, somente um *tofu* analisado por Bolanho & Beléia (2011) obteve uma quantidade superior.

Estas diferenças podem estar relacionadas, assim como foi descrito nos compostos fenólicos totais ao tipo de soja, o método de extração, o agente extrator ou o estado do *tofu* utilizado, úmido ou seco.

#### 5.4.2. DETERMINAÇÃO DE CAPACIDADE ANTIOXIDANTE ABTS

Na Tabela 10, é possível encontrar os valores capacidade antioxidante ABTS, expresso em micromol Trolox por grama de *tofu* ( $\mu\text{mol Trolox/g}$ ) encontrados no produto elaborado:

**Tabela 10** – Análises de flavonoides totais e capacidade antioxidantes ABTS nos Tofus elaborados, no Laboratório de Tecnologia de Alimentos da UEPA/CCNT, com os diferentes tipos de soja e coagulantes, expresso em base seca.

ABTS ( $\mu\text{mol Trolox/g}$ )	
<b>Pca</b>	$45,63 \pm 4,33^{\text{ac}}$
<b>Tca</b>	$51,42 \pm 3,94^{\text{a}}$
<b>Cca</b>	$77,66 \pm 3,22^{\text{b}}$
<b>Pmg</b>	$28,26 \pm 1,00^{\text{c}}$
<b>Tmg</b>	$35,61 \pm 2,07^{\text{c}}$
<b>Cmg</b>	$32,35 \pm 2,57^{\text{c}}$

Médias seguidas da mesma letra na mesma linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ). Pca: soja de Paragominas com sulfato de cálcio; Tca: soja de Tomé-Açu com sulfato de cálcio; Cca: soja do comércio com sulfato de cálcio; Pmg: soja de Paragominas com cloreto de magnésio; Tmg: soja de Tomé-açu com cloreto de magnésio; Cmg: soja do comércio com cloreto de magnésio.

Já em relação a capacidade antioxidante ABTS, foi possível observar que as amostras não diferiram significativamente entre si.

Além disso, também foi notado que os *tofus* elaborados com sulfato de cálcio apresentaram uma quantidade superior aos elaborados com cloreto de magnésio. Com isso, é possível afirmar, que de acordo com os dados obtidos, os *tofus* elaborados a partir do sulfato de cálcio apresentam uma capacidade antioxidante superior aos elaborados com cloreto de magnésio.

Na Tabela 11, é possível encontrar os valores da capacidade antioxidante ABTS, expresso em  $\mu\text{mol Trolox}$  por grama de tofu ( $\mu\text{mol Trolox/g}$ ) encontrados no produto analisado por outros autores:

**Tabela 11** – Comparação com a literatura à capacidade antioxidante dos Tofus elaborados com os diferentes tipos de soja e coagulantes, expresso em base seca.

	<b>ROSSET et al. (2012) GDL</b>	<b>BOLANHO &amp; BELÉIA (2011) <i>Tofu comercial</i></b>	
<b>ABTS (<math>\mu\text{mol Trolox/g}</math>)</b>	$5,86 \pm 0,27$	$0,80 \pm 0,10$	$3,40 \pm 0,20$

	<b>CAI et al. (2016) <i>Tofu comercial</i></b>	<b>KIN et al. (2014)</b>	
		<b>Sem LOX Amarelo</b>	<b>Com LOX 1 Amarelo</b>
<b>ABTS (<math>\mu\text{mol Trolox/g}</math>)</b>	$23,83 \pm 0,53$	$129,89 \pm 3,24$	$68,41 \pm 2,80$

De acordo com estes dados obtidos de outros trabalhos, que estão na tabela 10, foi possível notar que os *tofus* elaborados com o sulfato de cálcio obtiveram um valor inferior aos *tofus* analisados por Kin et al. (2014), isso pode ser dado devido à ausência inicial das lipoxigenases nas sementes de soja. Já em comparação a Cai et al. (2016), somente o Pmg obteve um valor inferior ao *tofu* analisado por ele.

Entretanto, em comparação a Rosset et al. (2012) e Bolanho & Beléia (2011), foi observado que a capacidade antioxidante dos *tofus* elaborados nesta pesquisa foram muito superiores em comparação ao *tofu* analisados por estes autores.

Estas diferenças podem estar relacionadas, ao solvente e ao método de extração assim como foi descrito nos compostos fenólicos totais ao tipo de soja, o método de extração, o agente extrator ou o estado do *tofu* utilizado, úmido ou seco.

## 5.5. AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA

Na Tabela 12, é possível encontrar as condições microbiológicas dos *tofu* elaborados no Laboratório de Tecnologia de Alimentos da UEPA/CCNT.

**Tabela 12** – Avaliação microbiológica dos Tofus elaborados no Laboratório de Tecnologia de Alimentos da UEPA/CCNT, com os diferentes tipos de soja e coagulantes.

Tipo	Pca	Tca	Cca	Pmg	Tmg	Cmg	Padrão (BRASIL, 2001)
<b>Coliformes a 45°C/g</b>	Au	Au	Au	Au	Au	Au	10 <sup>-2</sup> UFC
<b>Salmonella sp/25g</b>	Au	Au	Au	Au	Au	Au	Au UFC
<b>Estaf. coag. positiva/g</b>	Au	Au	Au	Au	Au	Au	5 x 10 <sup>3</sup> UFC

Pca: soja de Paragominas com sulfato de cálcio; Tca: soja de Tomé-Açu com sulfato de cálcio; Cca: soja do comércio com sulfato de cálcio; Pmg: soja de Paragominas com cloreto de magnésio; Tmg: soja de Tomé-açu com cloreto de magnésio; Cmg: soja do comércio com cloreto de magnésio. Au: Ausente.

De acordo com os dados obtidos na qualidade microbiológica dos *tofus* elaborados, eles não apresentaram nenhum microrganismo analisado, dentro dos padrões de qualidade da RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Indicando que houve um excelente tratamento em todo o processo de elaboração e armazenamento dos produtos e também uma excelente condição higiênico-sanitária durante processo de produção dos *tofus*.

Isso pode ser possível, também, devido ao processamento do *tofu* apresentar dois tratamentos térmicos, como o branqueamento dos grãos, no início do processo e a uma possível pasteurização do EHS durante a cocção e também da sanitização dos equipamentos e embalagens.

Para realizar a vida da prateleira, seriam necessárias novas análises para este fim, o que não foi a finalidade deste trabalho, assim, não foram realizadas novas análises microbiológicas em função de tempo de vida útil do produto.

Entretanto, Góes-Favoni et al. (2019) mostra, também, um resultado similar a este, indicando uma possível confirmação da análise realizada, pois na análise realizado por ele, não apresentou a presença dos microrganismos mesmo depois de 15 dias de produção. Além disso, o mesmo mostra a presença de mesófilos e leveduras, indicando que o *tofu* sofreu degradação por estes microrganismos.

Por este motivo e pelas características do produto como elevada umidade e pH propício ao crescimento de microrganismos mesófilos, o *tofu* deve ser armazenado sob refrigeração, para poder retardar o processo deteriorativo por estes microrganismos.

## 6. CONCLUSÃO

As elaborações utilizando sulfato de cálcio, como coagulante, demonstraram obter percentuais superiores aos utilizados pelo cloreto de magnésio. Porém as elaborações que continham cloreto de magnésio obtiveram melhores resultados em relação ao percentual de gordura.

A elaboração utilizando a variedade de soja proveniente de Tomé-Açu com sulfato de cálcio obteve os maiores resultados em relação aos parâmetros: acidez, proteínas, compostos fenólicos totais, flavonoides e rendimento, demonstrando-se ser uma elaboração favorável para possíveis consumidores que desejam consumir não somente *tofu* com bons perfis de compostos antioxidantes, mas também por ser nutritivo. Além disso, pode ser uma opção eficiente para o produtor que desejar aumentar o rendimento de sua produção, utilizando como matéria prima, componentes de baixo valor econômico e fácil acessibilidade.

As análises microbiológicas demonstraram que se podem obter produtos dentro dos padrões, efetuando-se as boas práticas de manipulação durante todo o processo de elaboração do produto. Entretanto, há a necessidade de ser aplicados outros padrões de análise, como de mesófilos, bolores e leveduras.

De acordo com a comparação, com o produto comercial os produtos não possuíram características adstringentes e odor de cru, que é um dos principais efeitos causados pelos inibidores de Kunitz, Bowman-Birk e pela lipoxigenase, demonstrando-se assim, que a inativação enzimática ocorreu de forma satisfatória.

A interação entre os diferentes tipos de coagulantes e sojas causou diferenças significativas na maioria das análises realizadas, demonstrando-se a importância de estudos, que visem avaliar estas características.

## 7. REFERÊNCIAS

ALEZANDRO, M. R. **Determinação de isoflavonas e capacidade antioxidante de alimentos industrializados à base de soja e produtos derivados.** Dissertação de mestrado, USP, 2009.

ALMEIDA, D. F. L. S. **Estudo das Vias Metabólicas das Plantas na Síntese de Pigmentos Naturais.** Dissertação de mestrado, Universidade Fernando Pessoa, 2017.

ALVES, F. P. et al. Composição centesimal, teores de isoflavonas e inibidor de tripsina em cultivares de soja especiais para a alimentação humana. **VI Congresso Brasileiro de Soja - 2012**, anais, 6p, Cuiabá, 2012.

AL-WESALI, M., LAMBERT, N., WELHAM, T., DOMONEY, C. The influence of pea seed trypsin inhibitors on the *in vitro* digestibility of casein. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Oxford, v.68, n.4, p.431-437, 1995.

APLEVICZ, K. S.; DEMIATE, I. M. Análises físico-químicas de pré-misturas de pães de queijo e produção de pães de queijo com adição de okara. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 31, n. 5, p. 1416-1422, 2007.

ARANTES, N. E.; SOUZA, P. I. M. Cultura da soja nos cerrados. Simposio sobre Cultura da Soja nos Cerrados, Uberaba, 1992. **Anais**. Piracicaba: POTAFOS, p. 209-227, 1993

BARNES, S.; KIM, H.; XU, J. Soy in the prevention and treatment of chronic diseases. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SOJA, 2, 2002, Foz do Iguaçu. **Anais**. Londrina: Embrapa, p. 295-308, 2002.

BARROS, E. A. **Estudo de lipoxigenases em extrato hidrossolúvel de soja (*Glycine max* (L.) Merr.) submetido a diferentes tratamentos.** Dissertação de mestrado, Universidade Estadual Paulista, 2012.

BEDDOWS, C. G.; WONG, J. Optimization of yield and properties of silken tofu from soybean: III. Coagulant concentration, mixing and filtration pressure. **International Journal of Food Science and Technology**, Oxford, v. 22, p. 29-34, 1987.

BENASSI, V. T.; BENASSI, M. T.; PRUDENCIO, S. H. Cultivares brasileiras de soja: características para a produção de tofu e aceitação pelo mercado consumidor. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 32, n. 1, p. 1901–1914, 2011.

BIRT, D. F.; HENDRICH, S.; WANG, W. Dietary agents in cancer prevention: flavonoids and isoflavonoids. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 90, p. 157-77, 2001.

BISCARO, L. M. E. **Efeitos da irradiação gama e da cocção sobre aspectos físicos, químicos e sensoriais de cultivares de soja ( Glycine max ) com e sem lipoxigenase**. Dissertação de mestrado, USP, 2009.

BOLANHO, B. C.; BELÉIA, A. D. P. Bioactive Compounds and Antioxidant Potential of Soy Products. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v. 22, n. 4, p. 539–546, 2011.

BONATO, E. R.; BONATO, A. L.V. **A soja no Brasil: história e estatística**. Londrina, EMBRAPA-CNPSo, p. 61. (EMBRAPA-CNPSo. Documentos, 21), 1987.

CAHILL, V. R. C. Curso “princípios de processamento da carne”. **Centro de pesquisa e treinamento de tecnologia em carnes**. São Paulo: ITAL/ EMBRAPA, 1980.

CAI, R. C.; LI, L.; YANG, M.; CHEUNG, H. Y.; FU, L. Changes in bioactive compounds and their relationship to antioxidant activity in white sufu during manufacturing. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 51, n. 7, p. 1721–1730, 2016.

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

CARRÃO-PANIZZI, M. C.; KITAMURA, K.; BELEIA, A. D.; OLIVEIRA, M. C. N. Influence of growth locations on isoflavone contents in Brazilian soybeans cultivars. **Breeding Science**, v. 48, p. 409-413, 1998.

CARRÃO PANIZZI, M. C.; PIPOLO, A. E.; MANDARINO, J. M. G.; et al. Breeding specialty soybean cultivars for processing and value-added utilization at Embrapa in Brazil. In: **World Soybean Research Conference - WSRC**, 8., 2009, Beijing. Developing a global soy blueprint for a safe secure and sustainable supply: proceedings. Beijing. Proceedings. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences: Institute of Crop Science, 2009.

CARVALHO, M. R. B.; KIRSCHNIK, P. G.; PAIVA, K. C.; AIURA, F. S. Avaliação da atividade dos inibidores de tripsina após digestão enzimática em grãos de soja tratados termicamente. **Revista de Nutrição**, v. 15, n. 3, p. 267–272, 2002.

CHANG, C. C.; YANG, M. H.; WEN, H. M.; CHERN, J. C. Estimation of Total Flavonoid Content in Propolis by Two Complementary Colorimetric Methods. **Journal of Food and Drug Analysis**, v. 10, n. 3, p. 178–182, 2002.

CHEN, C., RUI, X., LU, Z., LI, W., & DONG, M. S. Enhanced shelf-life of tofu by using bacteriocinogenic *Weissella hellenica* D1501 as bioprotective cultures. **Food Control**, 46, 203e209, 2014.

CHURELLA, H. R., YAO, B. C., THOMSON, W. A. B. Soybean trypsin inhibitor activity of soy infant formulas and its nutritional significance for the rat. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington DC, v.24, n.2, p.393-397, 1976.

CIABOTTI, S.; BARCELLOS, M. F. P.; MANDARINO, J. M. G.; TARONE, A. G. Avaliações químicas e bioquímicas dos grãos, extratos e tofus de soja comum e de soja livre de Lipoxigenase. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 30, n. 5, p. 920–929, 2006.

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

CIABOTTI, S.; BARCELOS, M. F. P.; CIRILLO, M. A.; PINHEIRO, A. C. M. Propriedades tecnológicas e sensoriais de produto similar ao tofu obtido pela adição de soro de leite ao extrato de soja. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.29, n.2, p.346-353, 2009.

CONAB. Compêndio de Estudos. **A produtividade da soja: análise e perspectivas**. v. 1., Brasília, 2016.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. **Química de alimentos de Fennema**. 4ª ed., Porto Alegre: Artmed, 900p, 2010.

DANIELS, J. **Desenvolvimento e caracterização de tofu defumado**. Dissertação de mestrado, UTFPR, 2015.

DELAFRONTE, B. **Determinação da atividade das enzimas lipoxigenases (L1 e L3) em oito genótipos de soja desenvolvidos pela embrapa soja**. Dissertação de mestrado, Universidade Tecnológica Federal Do Paraná, 2014.

DI CARLO, G.; MASCOLO, N.; IZZO, A. A.; CAPASSO, F. Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. **Life Sci.** 1999; 65(4):337-53.

DOL, Diário online. **Pará terá safra de grãos 20% maior este ano.** Disponível em: <<http://www.diarioonline.com.br/noticias/para/noticia-423232-.html>>. Acesso em: 21/10/2018.

DORNAS, W.C; OLIVEIRA, T.T; RODRIGUES-DAS-DORES, R.G; SANTOS, A.F; NAGEM, T.J. Flavonóides: potencial terapêutico no estresse oxidativo. **Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.:** Journal of Basic and Applied Pharmaceutical Sciences, Ouro Preto, v. 28, ed. 3, p. 241-249, 2007.

D'UTRA, G. Soja. **Jornal do Agricultor**, 4(168):185-6, 1882.

DUTRA DE OLIVEIRA, J. E.; SCATENA, L.; OLIVEIRA NETO, N.; DUATRE, G. G. The nutritive value of soy milk in malnourished children: a comparative study. **J. Pediatr**, v. 69, p. 670-5, 1996.

EL HUSNY, J. C.; ANDRADE, E. B.; CORREA, J. R. V.; ALMEIDA, L. A.; MONTALVÁN, R. A.; KLEPKER, D.; MEYER, M. C.; SILVEIRA FILHO, A. **Comportamento de cultivares de soja no Estado do Pará.** XXVI reunião de pesquisa de soja da região central do Brasil. Ribeirão Preto, SP, 2004.

EL-HUSNY, J. C.; FILHO, A. S.; ANDRADE, E. B. DE; et al. **Soja BRS Candeia: Comportamento e Recomendação para Plantio nas Microrregiões de Paragominas e Santarém, PA.** EMBRAPA, 2006.

ELDRIDGE, A. C. Determination of isoflavones in soybean flours, protein-concentrates, and isolates. **Journal of the American Chemical Society**, v. 183, p. 90, 1982.

ESKIN, M.; SHAHIDI, F. **Bioquímica de alimentos.** 3ª ed., Rio de Janeiro: Elsevier, 2015

FARAG, M. D. E. H. The nutritive value for chicks of full-fat soybeans irradiated at up to 60kGy. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 73, n. 3, p. 319 - 328, 1998.

FEAPA. **Agronegócio Paraense.** Federação da Agricultura e Pecuária do Pará. 2019. Disponível em: <<http://sistemafeapa.com.br/faepa/agronegocio-paraense/>>. Acesso em: 20/09/2019.

- FRANCO, T. T.; RODRIGUES, N. R.; SERRA, G. E.; PANEGASSI, V. R.; BUCKERIDGE, M. S. Characterization of storage cell wall polysaccharides from Brazilian legume seeds and the formation of aqueous two-phase systems. **Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications**, v. 680, n. 1–2, p. 255–261, 1996.
- FUKUSHIMA, D.; HASHIMOTO, H. Oriental soybean foods. In: **Processing of World Soybean Research Conference**, Colorado: Westview Press, p. 729-743, 1980.
- FUKUTAKE, M.; TAKAHASHI, M.; ISHIDA, K.; KAWAMURA, H.; SUGIMURA, T.; WAKABAYASHI, K. Quantification of genistein and genistin in soybeans and soybean products. **Food and Chemical Toxicology**, v. 34, n. 5, p. 457-461, 1996.
- GAMA, A. P. **Flavonóides**. Disponível em: <<http://adamogama.blogspot.com/2012/01/flavonoides.html>>. Acesso em: 13/10/2019.
- GENOVESE, M. I.; LAJOLO, F. M. Isoflavonas da soja: fatores que influem nos tipos e teores em alimentos. **Food Ingredients**, v. 11, p. 62-64, 2001.
- GETACHEW, G. **Tannins in tropical multipurpose tree species: localization and quantification of tannins using histochemical approaches and the effect of tannins on in vitro rumen fermentation**. Stuttgart: Verlag Ulrich E. Grauer, 186p. 1999.
- GÓES-FAVONI, S. P. DE; BELÉIA, A. D. P.; CARRÃO-PANIZZI, M. C.; MANDARINO, J. M. G. Isoflavonas em produtos comerciais de soja. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 24, n. 4, p. 582–586, 2004.
- GÓES-FAVONI, S. P.; DORTA, C.; SHIGEMATSU, E.; TANAKA, A. Y.; HINTER, M. H.; CARDOSO, J. R. Tofu estruturado com transglutaminase microbiana e com adição de lactobacillus reuteri DSM 17938. **Rev. Alimentus - Ciências e Tecnologias**, Marília, SP, n. 6, jan. 2019.
- GONÇALVES, L. C. **Avaliação química e tecnológica de grãos de soja para elaboração e caracterização de tofus**. Dissertação de mestrado, Londrina: UTFPR, 2014.
- HAMMER, Ø, HARPER, D. A., & RYAN, P. D. PAST: paleontological statistics software package for education and data analysis. **Palaeontologia electronica**, v. 4(1), n. 9, 2001.

HAVSTEEN, B. (1983) Flavonoids. A class of natural products of high pharmacological potency. **Pharmacology Biochemistry**, 32:1141-1148.

HIRAKURI, M. H.; CONTE, O.; PRANDO, A. M.; CASTRO, C.; JUNIOR, A. A. **B.Diagnóstico da produção de soja na macrorregião sojícola 5.** – Londrina: Embrapa Soja, 2018.

HYMOWITZ, T. On the domestication of the soybean. **Economic Botany**, v. 24, p 408-21, 1970.

IBGE. **Valor da produção agrícola bate recorde com safra e área colhida menores em 2018.** 5 set. 2019. Disponível em: <<https://agenciadenoticias.ibge.gov.br/agencia-noticias/2012-agencia-de-noticias/noticias/25372-valor-da-producao-agricola-bate-recorde-com-safra-e-area-colhida-menores-em-2018>>. Acesso em: 19/09/2019

IBGE. **Censo agro 2017 – Indicadores municipais.** 2017. Disponível em: <<https://mapasinterativos.ibge.gov.br/agrocompara/>> . Acesso em: 27/10/2019

KAMIZAKE, N. K. K.; SILVA, L. C. P.; PRUDENCIO, S. H. Effect of soybean aging on the quality of soymilk, firmness of tofu and optimum coagulant concentration. **Food Chemistry**, v. 190, p. 90–96, 2016. Elsevier Ltd.

KIM, I.; LEE, S.; LEE, H.; et al. Quality characteristics and antioxidant activity of tofu made from lipoxygenase-free genotypes. **The Korean Society of Food Preservation**, v. 21, n. 2, p. 215–223, 2014.

KIRINUS, P.; COPETTI, C.; OLIVEIRA, V.R. Utilização de farinha de soja (Glycine Max) e de Quinoa (Chenopodium Quinoa) no preparo de macarrão caseiro sem glúten. **Alimentos e Nutrição**, v.21, p.555-561, 2010.

KOBYAMA, K.; SANO, Y.; DOI, E. Rheological characteristics and gelation mechanism of tofu (soybean curd). **Agric. Food Chem.**, v. 43, n. 7, p. 1808-1812, 1995.

KÜHNAU, J. The flavonoids, a class of semi-essential food components: Their role in human nutrition. **World Review of Nutrition and Dietetics**, v. 24, p. 117-191, 1976.

LARRAURI, J.A.; RUPÉREZ, P.; SAURA-CALIXTO, F. Effect of drying temperature on the stability of polyphenols and antioxidant activity of red grape pomace peels. **J. Agric. Food Chem.** v. 45, p.1390-1393, 1997.

- LEE, J. E.; JIN, S. Y.; HAN, Y. S. Antioxidant Activities and Quality Characteristics of Tofu Supplemented with Chinese Artichoke Powder. **The Korean Journal of Food And Nutrition**, v. 27, n. 1, p. 10–21, 2014.
- LI, J.; QIAO, Z.; TATSUMI, E.; TATSUMI, E.; et al. A Novel Approach to Improving the Quality of Bittern-Solidified Tofu by W/O Controlled-Release Coagulant. 2: Using the Improved Coagulant in Tofu Processing and Product Evaluation. **Food and Bioprocess Technology**, v. 6, n. 7, p. 1801–1808, 2013. Springer-Verlag.
- LIU, J. G., LIN, T. S., & LIN, W. Y. Evaluating the growth of *Listeria monocytogenes* that has been inoculated into tofu containing background microflora. **Food Control**, 21, 1764e1768, 2010.
- LIENER, I. E. Implications of antinutritional components in soybean foods. **Crit. Rev. Food Sci. Nutr.**, v. 34: p. 31-67, 1994.
- LIENER, I.E.; KAKADE, M.L. Protease inhibitors. In: LIENER, I.E. **Toxic constituents of plant foodstuffs**. 2. ed. New York: Academic Press, 1980. p.7-71.
- LIU, K. **Soybeans: chemistry, technology, and utilization**. New York: Chapman & Hall, 1997. 532 p.
- LUTZ, I. A. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 1020p, 2008.
- MEIJA, E.; LUMEN, B. O. Soybean bioactive peptides: A new horizon in preventing chronic diseases. **Sexuality, Reproduction & Menopause**, v. 4, n. 2, 2006.
- MENDONÇA, C. V. C. E.; ABREU, C. M. P.; CORRÊA, A. D.; SANTOS, C. D.; MORAIS, A. R. Quantificação de polifenóis e digestibilidade protéica de famílias de feijoeiro comum. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 27, n. 4, p. 858-864, 2003.
- MISSÃO, M. R. Soja: Origem, classificação, utilização e uma visão abrangente do mercado. Maringá Management: **Revista de Ciências Empresariais**, v. 3, n.1, p.7-15, jan./jun. 2006.
- MIURA, E. M. Y.; BINOTTI, M. A. R.; CAMARGO, D. S.; MIZUBUTI, I. Y.; IDA, E. I. Avaliação biológica de soja com baixas atividades de inibidores de tripsina e ausência do inibidor Kunitz. **Arch Latinoam Nutr**, v. 51, n. 2, p.1-8, 2001.

MONTEIRO, M. R. P. et al. Qualidade protéica de linhagens de soja com ausência do inibidor de tripsina Kunitz e das isoenzimas lipoxigenases. **Revista de Nutrição**, v. 17, n. 2, p. 195-205, 2004.

MORAIS, A. A.; SILVA, A. L. **A soja: suas aplicações**. Rio de Janeiro: Medsi, 259p., 1996.

MOREIRA A. V. B., MANCINI-FILHO. J. Influência dos compostos fenólicos de especiarias sobre a lipoperoxidação e o perfil lipídico de tecidos de ratos. **Rev Nutr** 2004; 17 (4): 411-24.

MORSE, W. J. History of soybean production. In: **MARKLEY, K. S. Soybeans and soy bean products**. New York, Interscience. p.3-59, 1950.

MULLIN, W. J.; FREGEAU-REID, J. A.; BUTLER, M.; POYSA, V.; WOODROW, L.; JESSOP, D. B.; RAYMOND, D. An interlaboratory test of a procedure to assess soybean quality for soymilk and tofu production. **Food Research International**, Ottawa, v. 34, n. 8, p. 669-677, 2001.

NACZK, M.; SHAHIDI, F. Review: extraction and analysis of phenolics in food. **Journal of Chromatography A**, v. 1054, p. 95–111, 2004.

NAGAOKA, S.; AWANO, T.; NAGATA, N.; MASAOKA, M.; HORI, G.; HASHIMOTO, K. Serum Cholesterol Reduction and Cholesterol Absorption Inhibition in CaCo-2 Cells by a Soyprotein Peptic Hydrolyzate. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v. 61, n. 2, p. 354-356, 1997.

NIELSEN, I. L. F.; CHEE, W. S. S.; POULSEN, L.; OFFORD-CAVIN, E.; RASMUSSEN, S. E.; FREDERIKSEN, H.; ENSLEN, M.; BARRON, D.; HORCAJADA, M-N.; WILLIAMSON, G. Bioavailability is improved by enzymatic modification of the citrus flavonoid hesperidin in 89 humans: a randomized, double-blind, crossover trial. **Journal of Nutrition**, v. 136, p. 404-408, 2006.

NITSAN, Z., LIENER, I. E. Enzymatic activities in the pancreas, digestive tract and feces of rats fed raw or heated soy flour. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v.106, n.2, p.300305, 1976.

OBATOLU, V. A. Effective of different coagulant on yield and quality of tofu from soymilk. **European Food of Biotechnology**, Naiorobi, v. 5, n. 3. 9. 290-294, 2006.

- PANSANI, M. C.; ARAGON, C. C.; VIEITES, R. L. Efeito da proporção soja: água e do aquecimento sobre rendimento, qualidade protéica e sensorial do tofu orgânico. **Higiene Alimentar**. v. 22, n. 161, p. 81-87, 2008
- PARK, Y. K.; AGUIAR, C.; ALENCAR, S. M; et al. Biotransformação de isoflavonas de soja. **Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento**, v. 20, n. 5-6, p. 12- 14, 2001.
- PAULETTO, F. B.; FOGAÇA, A. O. Avaliação da composição centesimal de *Tofu* e *Okara*. **Disc. Scientia. Série: Ciências da Saúde**, Santa Maria, v. 13, n. 1, p. 85-95, 2012.
- PEIXOTO, J. C.; FEIJÓ, A. P.; SANTANA, A. B. Benefícios da soja no controle da Obesidade. **Revista Eletrônica Novo Enfoque**, v.12, p.47-67, 2011.
- PENHA, L. A. O.; FONSECA, I. C. DE B.; MANDARINO, J. M.; BENASSI, V. D. T. A Soja Como Alimento: Valor Nutricional, Benefícios Para a Saúde e Cultivo Orgânico. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 25, n. 1, p. 91–102, 2007.
- PEREIRA, A. C. S. **Qualidade, compostos bioativos e atividade antioxidante total de frutas tropicais e cítricas produzidas no Ceará**. 2009. 120 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Ceará, 2009.
- PERES, W. **Radicais Livres em níveis biológicos**. Ed. Universidade Católica de Pelotas, Brasil, 49-81, 1994.
- PIETTA, P. G. Flavonoids as antioxidants. **J. Nat. Prod.** v. 63, n. 7, p. 1035- 1042. 2000.
- PIPER, C. V.; MORSE, W. J. **The soybean**. New York, McGraw Hill, p. 320, 1923.
- PRABHAKARAN, M. P.; PERERA, C. O.; VALIYAVEETIL, S. Effect of different coagulants on the isoflavone levels and physical properties of prepared firm tofu. **Food Chemistry**, v. 99, p. 492-499. 2006.
- POYSA V, WOODROW L. Stability of soybean composition and its effects on soymilk and tofu yield and quality. **Food Res Int** 35:337–345, 2004.
- RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; REKHA, C. R.; VIJAYALAKSHMI, G. Influence of processing parameters on the quality of soycurd (tofu). **Journal of Food Science and Technology**, v. 50, n. 1, p. 176–180, 2013.

RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biol. Med.** V.26, p.1231-1237, 1999.

RICE-EVANS, C.; MILLER, N. J.; PAGANGA, G. Structure antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. **Free Rad. Biol. Med.**, New York, v. 20, n. 7, p. 933-956, 1996.

ROSA, A. M.; CLAVISO, J.; PASSOS, L. M.; AGUIAR, C. L. Alimentos fermentados à base de soja (*Glycine max* (Merril) L.): importância econômica, impactos na saúde e efeitos associados às isoflavonas e seus açúcares. **Revista Brasileira de Biociências**, v.7, p.454-462, 2009.

ROSSET, M.; PRUDENCIO, S. H.; BELÉIA, A. D. P. Viscozyme L action on soy slurry affects carbohydrates and antioxidant properties of silken tofu. **Food Science and Technology International**, v. 18, n. 6, p. 531–538, 2012.

RUFINO, M.S.M. et al. **Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre ABTS +**. Comunicado técnico 128, EMBRAPA, 2007.

SANTOS, L. M. B. **Caracterização química das substâncias fenólicas de diferentes coberturas florestais**. Dissertação de mestrado - Universidade Estadual do Norte Fluminense, Rio de Janeiro, 2010.

SAWAZAKI, H. E.; TEIXEIRA, J. P. F.; MIRANDA, M. A. C. Avaliação da atividade da lipoxigenase em linhagens de soja. **Bragantia**, v. 46, n. 2, p. 371–380, 1987.

SCHLESINGER, S. **Soja: o grão que segue crescendo**. Documento de discussão n. 21, 2008.

SCHMIDT, J. T. **Desenvolvimento e caracterização de queijo tipo tofu utilizando coagulantes vegetais**. Dissertação de mestrado - Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, URI, Erechin, 2016.

SGARBIERI, V. C. **Proteínas em alimentos protéicos; propriedades, degradações, modificações**. 1. ed. São Paulo: Varela, 1996. 517 p.

SHIMADA, K.; NOMURA, H.; HARA, Y.; FUJIMOTO, F.; KITAMURA, K. Effect of Soybean Lipoxigenase on Sensory Taste of Tofu. **Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi**, v. 45, n. 2, p. 122–128, 1998.

- SHURTLEFF, W. **Soyfoods Industry Directory & Databook 1982**. The Soyfoods Center, 1982.
- SILVA, C. E.; CARRÃO-PANIZZI, M. C.; MANDARINO, J. M. G.; LEITE, R. S.; MÔNACO, A. P. DO A. Teores de isoflavonas em grãos inteiros e nos componentes dos grãos de diferentes cultivares de soja (*Glycine max* (L.) Merrill). **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 15, n. 2, p. 150–156, 2012.
- SILVA, M. L. C.; COSTA, R. S.; SANTANA, A. S.; KOBLITZ, M. G. B. Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.31, n. 3, p.669- 682, jul/set. 2010.
- SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M. H.; GOMES, R. A. R.; OKAZAKI, M. M. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água**. 5ª ed., São Paulo: Bluncher, 560p, 2017.
- SINGH, B. P.; VIJ, S.; HATI, S. Functional significance of bioactive peptides derived from soybean. **Peptides**, v. 54, p. 171–179, 2014.
- SINGLETON, V.L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTOS, R.M. Analisis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-ciocalteaus reagente. **Methods enzymol**, v. 299, 152-178p, 1999.
- SMITH, A. K.; WATANABE, T.; NASH, A. M. Tofu from Japanese and United States soybeans. **Food Technol.**, v. 14, p. 332, 1960.
- TAVARES, A. A. S. et al. **Estatística Municipal Paragominas**. 2016. Disponível em: <<http://www.parasustentavel.pa.gov.br/wp-content/uploads/2017/04/Paragominas.pdf>>. Acesso em: 20 out. 2018.
- TSAI, S. J.; LAN, C. Y.; KAO, C. S.; CHEN, S. C. Studies on the yield and quality characteristics of tofu. **J. Food Sci**, v. 46, p.1734-1740, 1981.
- UFRGS. Alimentus - Alimentos e novas tecnologias. **Proteína vegetal texturizada da soja**. Rio Grande do Sul, 2019. Disponível em: <<http://www.ufrgs.br/alimentus/objetos-de-aprendizagem/soja/proteina-vegetal-texturizada>>. Acesso em: 3 out. 2019.
- VAN HOVEN, W. Tannins and digestibility in greater kudu. **Canadian Journal of Animal Science**, v.64, p. 177-178, 1984.

VOLP, A. C. P.; RENHE, I. R. T.; BARRA, K.; STRINGUETA, P. C. Flavonóides antocianinas: características e propriedades na nutrição e saúde. **Revista Brasileira Nutr. Cin.** v. 23, n. 3, p.141-149. 2008.

WANG, W.; MEJIA, E. G. A new frontier in soy bioactive peptides that may prevent agerelated chronic diseases. **Comprehensive reviews in food science and food safety.** Wiley Online Library. vol. 4, 2005.

WATANABE, T. Material soybean. in: Watanabe, T. (Ed.). **Science of tofu.** 2nd. Kyoto: **Food Journal**; Shimogio-ku, p. 67-76, 1996.

YAKUBU, N.; OBOH, G.; OLALEKAN, A. A. Antioxidant and Hepatoprotective Properties of Tofu (Curdle Soymilk) against Acetaminophen-Induced Liver Damage in Rats. **Biotechnology Research International**, v. 2013, p. 1–7, 2013.

YANG, A.; JAMES, A. T. Effects of soybean protein composition and processing conditions on silken tofu properties. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 93, n. 12, p. 3065–3071, 2013.

ZAFRA-GÓMEZ, A.; GARBALLO, A.; GARCÍA-AYUSO, L. E.; MORALES, J. C. Improved sample treatment and chromatographic method for the determination of isoflavones in supplemented foods. **Food Chemistry**, v.123, p.872-877, 2010.

ZHONG, F.; LIU, J.; MA, J.; SHOEMAKER, C. F. Preparation of hypocholesterol peptides from soy protein and their hypocholesterolemic effect in mice. **Food Research International**, v. 40, n. 6, p. 661–666, 2007.



Universidade do Estado do Pará  
Centro de Ciências Naturais e Tecnologia  
Curso de Tecnologia de Alimentos  
Travessa Enéas Pinheiro, 2626 – Marco  
66095-490. Belém – PA  
[www.uepa.br](http://www.uepa.br)