



**BRUNA VIEIRA NUNES**

**AVALIAÇÃO DA TERMOSSONICAÇÃO NA INATIVAÇÃO  
DA LIPOXIGENASE DO EXTRATO HIDROSSOLÚVEL DE  
SOJA**

**LAVRAS-MG  
2021**

**BRUNA VIEIRA NUNES**

**AVALIAÇÃO DA TERMOSSONICAÇÃO NA INATIVAÇÃO DA LIPOXIGENASE  
DO EXTRATO HIDROSSOLÚVEL DE SOJA**

Dissertação apresentada ao Departamento de Ciência dos Alimentos da Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós Graduação em Engenharia de Alimentos, área de concentração Ciência e Tecnologia de Alimentos, para a obtenção do título de Mestre.

Profa. Dra. Lizzy Ayra Alcântara Veríssimo  
Orientadora  
Profa. Dra. Vanessa Rios de Souza  
Coorientadora

**LAVRAS – MG  
2021**

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

NUNES, BRUNA VIEIRA.

Avaliação da termossonicação na inativação da lipoxigenase do extrato hidrossolúvel de soja / BRUNA VIEIRA NUNES. - 2021.  
82p.:il.

Orientador(a): LIZZY AYRA ALCÂNTARA VERÍSSIMO.

Coorientador(a): VANESSA RIOS DE SOUZA.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de Lavras, 2021.

Bibliografia.

1. Lipoxigenase. 2. Extrato Hidrossolúvel de Soja. 3. Termossonicação. I. ALCÂNTARA VERÍSSIMO, LIZZY AYRA. II. SOUZA, VANESSA RIOS DE. III. Título.

**BRUNA VIEIRA NUNES**

**AVALIAÇÃO DA TERMOSSONICAÇÃO NA INATIVAÇÃO DA LIPOXIGENASE  
DO EXTRATO HIDROSSOLÚVEL DE SOJA  
EVALUATION OF TERMOSSONICATION IN THE INACTIVATION OF  
LIPOXYGENASE OF SOYMILK**

Dissertação apresentada ao Departamento de Ciência dos Alimentos da Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós Graduação em Engenharia de Alimentos, área de concentração Ciência e Tecnologia de Alimentos, para a obtenção do título de Mestre.

**APROVADA em 21 de julho de 2021**  
**Dra. Isabelle Cristina Oliveira Neves - IFMG**  
**Dra. Vanessa Rios de Souza - UFLA**

Profa. Dra. Lizzy Ayra Alcântara Veríssimo  
Orientadora  
Profa. Dra. Vanessa Rios de Souza  
Coorientadora

**LAVRAS-MG**  
**2021**

*A mim, que optei por persistir, embora muitas vezes, não soubesse como, nem tivesse forças.*

**Dedico**

## AGRADECIMENTOS

À minha mãe, por ser exatamente como é e pelo amor incondicional.

Ao meu pai, por me incentivar e pelo suporte de sempre.

Aos demais familiares, em especial Tia Lucinha, que sempre sonhou em ver algum membro da família Nunes no posto de mestre.

Ao Nando, meu amor, pela parceria e por tornar tudo mais leve.

À Silvana, pelo apoio irrestrito, pela família acolhedora e por tanto carinho.

À Kiara, minha companheira de lar, meu presente de Lavras.

Às minhas companheiras de laboratório: Amanda, por ter sido tão paciente comigo e à Cristiane, minha companhia diária.

Às minhas anjas orientadoras: Vanessa, por ter me acolhido e, com toda paciência e dedicação, ter me ensinado tanto; Lizzy, pela disposição, incentivo e tantas contribuições importantes. Sem vocês, meu caminho seria mais árduo.

Ao pessoal dos Laboratório de Química e Conservação de Alimentos e de Nanotecnologia Florestal no Complexo UEPAM que colaboraram comigo para a conclusão desse projeto.

Ao programa de pós-graduação em Engenharia de Alimentos.

À UFLA, que para além de sua ótima estrutura, contribuiu para meu acesso e permanência no programa de pós.

*“Embora o exílio não seja algo que se deseje por diversão, há um ganho inesperado nele: são muitos os presentes do exílio. Tira a fraqueza a tapas, faz desaparecer as lamúrias, habilita a percepção interna aguda, aumenta a intuição...”*

*(Mulheres que correm com os lobos - Clarissa Pinkola Estés)*

## RESUMO

O extrato hidrossolúvel de soja (EHS), bebida resultante da hidratação dos grãos de soja, possui grande importância nutricional e se constitui como uma alternativa entre consumidores intolerantes à lactose e/ou que buscam dietas mais saudáveis. Por ser altamente perecível, este produto necessita passar por um método de conservação, a fim de garantir a segurança alimentar e extensão de sua vida útil. Comumente, o tratamento térmico aplicado ao EHS é definido em função da capacidade de promover a inativação da enzima lipoxigenase (LOX), devido a seus efeitos indesejáveis ao produto. Embora a termossonicação (combinação do ultrassom com calor) apresente potencial para reduzir a rigorosidade do tratamento térmico convencional, ainda não há estudos que investiguem seu efeito no EHS. Assim, este trabalho teve como objetivo avaliar a termossonicação na inativação da enzima lipoxigenase em EHS sob diferentes amplitudes ultrassônicas (70% e 90%). Para isso, empregou-se um delineamento composto central rotacional (DCCR), avaliando-se o efeito dos parâmetros temperatura (62 °C a 83 °C) e tempo de termossonicação (2 a 4 min) na atividade residual (AR, %) da lipoxigenase. Os resultados foram submetidos à análise de regressão, ao nível de 5% de significância, e posteriormente foram gerados gráficos de contorno para avaliar a melhor condição experimental de inativação da LOX. Verificou-se que a variável que mais influenciou o processo de termossonicação foi a temperatura, sendo que, independente da amplitude, para alcançar níveis de redução da LOX superiores a 70%, foi necessário empregar temperaturas acima de 70 °C. A condição experimental de maior redução da LOX (AR = 2,35%) na amplitude de 70% foi na temperatura de 80 °C/2min, enquanto para a amplitude de 90%, ocorreu na temperatura de 83 °C/3min (AR=2,14%). Em temperaturas elevadas, observou-se que a termossonicação não apresentou efeito sinérgico na inativação da LOX no EHS. O EHS fresco (sem passar por tratamento térmico), tratado com a termossonicação a 70% e 90% de amplitude, bem como o EHS submetido a um tratamento térmico convencional (83 °C/3min) foram submetidos a análises de cor ( $L^*$  a  $b^*$ ), pH, teor de sólidos solúveis (°Brix) e de conteúdo fenólico total. Os resultados obtidos para as análises físico-químicas dos diferentes tratamentos foram comparados entre si através do teste t e teste de Dunnett ao nível de 5% de significância. Dentre os parâmetros de cor avaliados, a variável  $a^*$  apresentou diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre as amostras de EHS fresco e a termossonicada na amplitude de 70%. O teor de sólidos solúveis do EHS fresco em comparação aos demais tratamentos apresentou diferenças significativas ( $p < 0,05$ ). O uso do ultrassom combinado com o calor apresentou potencial em disponibilizar o conteúdo fenólico total, quando comparado ao tratamento térmico convencional. Este trabalho abre novas perspectivas para o estudo da inativação da LOX em outras matérias primas, empregando a termossonicação em condições diferenciadas.

**Palavras-chave:** Extrato Hidrossolúvel de soja. Inativação enzimática. Lipoxigenase Termossonicação.

## ABSTRACT

The soymilk (SM), a drink resulting from the hydration of soybeans, has great nutritional importance and is an alternative among lactose-intolerant consumers and/or those seeking healthier diets. As it is highly perishable, this product needs to undergo a conservation method to ensure food safety and extension of its shelf life. Commonly, the heat treatment applied to SM is defined as a function of its ability to inactivate the lipoxygenase enzyme (LOX), due to its undesirable effects on the product. Although thermosonication (combination of ultrasound and heat) has the potential to reduce the conventional heat treatment intensity, there are still no studies investigating its effect on SM. Thus, this work aimed to evaluate the thermosonication process on the inactivation of the lipoxygenase enzyme in SM, varying ultrasonic amplitudes (70% and 90%). For this, a central composite design (CCD) was used, evaluating the effect of parameters as temperature (62 °C to 83 °C) and thermosonication time (2 to 4 min) on the LOX residual activity (RA, %). The results were submitted to regression analysis, at 5% significance level, and then contour curves were generated to assess the best experimental condition for LOX inactivation. It was found that the variable that most influenced the thermosonication process was temperature, and, regardless of the amplitude, to reach levels of LOX reduction above 70%, it was necessary to use temperatures above 70 °C. The experimental condition with the greatest reduction in LOX (RA = 2.35%) in the amplitude of 70% was at the temperature of 80 °C/2min, while for the amplitude of 90%, it was at the temperature of 83 °C/3min (RA = 2.14%). At elevated temperatures, it was observed that thermosonication did not have a synergistic effect on LOX inactivation in the EHS. Fresh SM (without undergoing heat treatment), treated with thermosonication at 70% and 90% amplitude, as well as EHS subjected to a conventional heat treatment (83 °C/3min) were subjected to color analysis ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ), pH, total soluble solids (°Brix) and total phenolic content. The results obtained for the physical and chemical analyzes of the different treatments were compared to each other using the t-test and Dunnett's test, at a 5% significance level. Among the color parameters evaluated, the variable  $a^*$  showed significant difference ( $p < 0,05$ ) between fresh and thermosonicated SM samples in the amplitude of 70%. The soluble solids content of fresh EHS compared to other treatments showed statistical significant difference ( $p < 0,05$ ). The use of thermosonication showed a low loss of total phenolic content in the EHS compared to conventional heat treatment. This work opens new perspectives for the study of LOX inactivation in other raw materials, using thermosonication under different conditions.

**Keywords:** Enzyme inactivation. Lipoxygenase. Thermosonication. Soymilk.

## LISTA DE FIGURAS

### PRIMEIRO CAPÍTULO

<b>Figura 1</b> – Produção global de soja.....	14
<b>Figura 2</b> – Produção nacional de soja em 2019/2020.....	15
<b>Figura 3</b> – Consumo Global de Soja em comparação à produção de grãos de soja e insumos.....	16
<b>Figura 4</b> – Participação do extrato de soja no mercado mundial, por segmento, 2018 (%).....	19
<b>Figura 5</b> – Fluxograma do processo de obtenção do extrato de soja.....	20
<b>Figura 6</b> – Estrutura tridimensional da LOX.....	25
<b>Figura 7</b> – Formação de hidroperóxidos do ácido linoleico.....	26
<b>Figura 8</b> – Espectro sonoro.....	29
<b>Figura 9</b> – Tipos de aplicação ultrassônica.....	30
<b>Figura 10</b> – Cavitação das ondas ultrassônicas.....	31
<b>Figura 11</b> – Mecanismo de rompimento de células submetidas ao ultrassom.....	32

### SEGUNDO CAPÍTULO

<b>Figura 1</b> – Fluxograma do processo de obtenção do extrato hidrossolúvel de soja.....	52
<b>Figura 2</b> – Gráfico de contorno da atividade residual (%) da LOX em função do tempo (min) e temperatura (°C) aplicados na termossonicação nas amplitudes a) 70% e b) 90%.....	59
<b>Figura 3</b> - Gráfico de contorno da atividade residual (%) da LOX, em função do tempo (min) e da temperatura (°C) aplicados no tratamento térmico convencional.....	60

## LISTA DE TABELAS

### PRIMEIRO CAPÍTULO

<b>Tabela 1</b> – Composição média da soja, a cada 100g.....	16
<b>Tabela 2</b> – Composição química do leite de vaca e do “leite de soja”, a cada 100g.....	19

### SEGUNDO CAPÍTULO

<b>Tabela 1</b> – Variáveis reais e codificadas de acordo com DCCR 2 <sup>2</sup> .....	66
<b>Tabela 2</b> – Resultados dos ensaios preliminares.....	69
<b>Tabela 3</b> – Modelos matemáticos para inativação da LOX.....	71
<b>Tabela 4</b> – Energia acústica específica (SAE) das amostras termossonicadas.....	75
<b>Tabela 5</b> – Características físico-químicas do EHS fresco (controle), submetidos a um tratamento térmico convencional e termossonicação, ambos na temperatura de 83 °C por 3 min.....	77

## **LISTA DE ABREVIATURAS**

EHS – Extrato Hidrossolúvel de Soja

LOX – Lipoxigenase

DCCR – Delineamento Central Composto Rotacional

SAE – Energia Acústica Específica

TPC – Conteúdo fenólico total

POD – Peroxidase

PPO – Polifenoloxidase

PME – Pectina metilesterase

PG – Poligalactunorase

## SUMÁRIO

PRIMEIRO CAPÍTULO .....	27
1 INTRODUÇÃO .....	28
2 REFERENCIAL TEÓRICO .....	30
2.1. Soja.....	30
2.2 Extrato Hidrossolúvel de Soja.....	34
2.2.1 Processo de obtenção do Extrato Hidrossolúvel de Soja .....	36
2.3 Conservação do extrato hidrossolúvel de soja .....	38
2.4 Lipoxigenases.....	40
2.5 Tecnologias emergentes de conservação de alimentos .....	43
2.6 Tecnologia de Ultrassom .....	45
3 CONCLUSÃO .....	51
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	51
SEGUNDO CAPÍTULO: ARTIGO .....	59
1 INTRODUÇÃO .....	62
2 MATERIAL E MÉTODOS .....	65
2.1 Materiais.....	65
2.2 Preparo do Extrato Hidrossolúvel de Soja .....	65
2.3 Ensaios preliminares .....	66
2.4 Atividade enzimática da lipoxigenase.....	66
2.5 Otimização das condições operacionais da termossonicação .....	67
2.6.1 Cálculo da potência ultrassônica e energia acústica específica.....	69
2.7 Análises físico-químicas .....	70
2.8 Conteúdo fenólico total.....	71
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	71
3.1 Otimização das condições operacionais da termossonicação .....	72
3.2 Efeito da termossonicação nas características físico-químicas e conteúdo fenólico do EHS.....	78
4 CONCLUSÃO .....	81
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	82

## **PRIMEIRO CAPÍTULO**

## 1 INTRODUÇÃO

O extrato hidrossolúvel de soja (EHS), ou vulgarmente conhecido como leite de soja, é um produto obtido a partir da emulsão aquosa resultante da hidratação dos grãos de soja. Este alimento é reconhecido por sua riqueza nutricional, em especial, por suas proteínas de alta qualidade nutricional e tecnológica, se destacando ainda por apresentar quantidades significativas de carboidratos, lipídios, vitaminas e minerais (JASTI; LAVANYA; FADNAVIS, 2015; LAKSHMANAN; DE LAMBALLERIE; JUNG, 2006). Além disso, este produto se destaca pelo baixo teor de gordura, bem como ausência de lactose e colesterol. Nos últimos anos, o consumo desta bebida vem aumentando significativamente, principalmente entre consumidores intolerantes à lactose, vegetarianos, veganos e/ou que buscam dietas mais saudáveis (AYDAR; TUTUNCU; OZCELIK, 2020). A crescente popularidade do EHS como bebida em todo o mundo é creditada aos benefícios à saúde, incluindo sua capacidade de reduzir a perda óssea e sintomas da menopausa, prevenção e redução de doenças cardíacas e certos tipos de câncer, redução do peso corporal e lipídios no sangue (KOHLI *et al.*, 2017).

Devido à susceptibilidade ao crescimento microbiológico e ação enzimática, em especial da enzima lipoxigenase (LOX), o extrato hidrossolúvel de soja é naturalmente um produto perecível, requerendo dessa forma, a aplicação de métodos de conservação imediatamente após a sua obtenção (KWOK & NIRANJAN, 1995). Atualmente, o calor é o método mais amplamente utilizado e, apesar de se mostrar altamente eficiente, pode levar à depreciação da qualidade sensorial e nutricional da bebida (AMITABH *et al.*, 2017; SUN, 2014). Na maioria das vezes, o tratamento térmico aplicado ao EHS é definido em função da capacidade de promover a inativação da LOX (indicador biológico), devido aos efeitos indesejáveis que causa ao produto aliada ainda à sua alta resistência térmica. As reações indesejáveis que a lipoxigenase (E.C. 1.13.11.) causa nos alimentos são originadas a partir da hidroperoxidação sobre os ácidos graxos que, ao se degradarem, originam compostos voláteis e não voláteis responsáveis pelos sabores indesejáveis (BORDINGNON; MANDARINO, 1994).

Dessa forma, diante dos efeitos indesejáveis causados pelas altas temperaturas, aliada a nova tendência dos consumidores que anseiam cada vez mais por alimentos de mais alta qualidade, surge a clara necessidade de técnicas de conservação alternativas, que minimizem os danos causados pelo tratamento térmico convencional. Neste contexto, várias tecnologias emergentes, tanto térmicas quanto não térmicas, já vindo sendo investigadas no extrato hidrossolúvel de soja, incluindo o aquecimento ôhmico (LI, Fa De *et al.*, 2015; SASTRY; SALENGKE, 1998), microondas (VAGADIA *et al.*, 2018), alta pressão (ANDRÉS *et al.*, 2016;

POLISELI-SCOPEL, Fábio H. *et al.*, 2012), ultravioleta (BANDLA *et al.*, 2012) e luz pulsada (ALHENDI *et al.*, 2017).

Dentre as tecnologias não térmicas, pode-se destacar o ultrassom como sendo uma técnica promissora, sendo que, embora se tenha resultados satisfatórios em diversos produtos, ainda não foi investigado o uso desta técnica para o extrato hidrossolúvel de soja. O ultrassom consiste em ondas sonoras que possuem frequência acima de 16 kHz não sendo detectada pelo ouvido humano (CHEMAT; ZILL-E-HUMA; KHAN, 2011). É uma tecnologia emergente que garante a qualidade e a preservação dos alimentos devido ao processamento mínimo, geralmente em temperatura ambiente ou amenas (AWAD *et al.*, 2012).

Contudo, quando utilizado isoladamente, o ultrassom pode não ser tão eficiente, de forma que para se alcançar resultados satisfatórios seja conveniente a combinação com outras técnicas de conservação, como calor e pressão (CHEMAT; ZILL-E-HUMA; KHAN (2011). A termossonicação, foco de estudo deste trabalho, envolve o uso simultâneo de ondas de ultrassom de baixa frequência associado a temperaturas mais amenas que o processamento térmico convencional (ABDULLAH; CHIN, 2014; GHOSH, 2017). Quando combinado ao calor, o ultrassom apresenta geralmente um efeito sinérgico, acelerando as taxas de inativação microbológica e enzimática e, conseqüentemente, reduzindo a rigorosidade dos tradicionais tratamentos térmicos. Com isso, esta técnica, além de diminuir a temperatura e/ou o tempo de processamento, torna-se promissora pelo seu potencial de minimizar alterações indesejáveis no que tange à qualidade nutricional e sensorial do alimento (AADIL *et al.*, 2015; ILLERA *et al.*, 2018; ZHANG *et al.*, 2017). Vários estudos elucidaram o potencial da termossonicação na inativação enzimática em produtos como água de coco (RIBEIRO *et al.*, 2017), cogumelo (CHENG; ZHANG; ADHIKARI, 2013), agrião (CRUZ, Rui M.S.; VIEIRA; SILVA, 2006), sucos de toranja (AADIL *et al.*, 2015), maçã (ILLERA *et al.*, 2018), laranja (KOSHANI *et al.*, 2015), tomate (TEREFE *et al.*, 2009) e purês de pêra, maçã e morango (SULAIMAN *et al.*, 2015).

Neste sentido, este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da termossonicação na inativação da enzima lipoxigenase em extrato hidrossolúvel de soja. Teve-se como enfoque investigar o efeito das variáveis do processo de termossonicação (temperatura e tempo) em duas condições de amplitude ultrassônica (média e alta) sobre a atividade enzimática do extrato hidrossolúvel de soja, por meio do delineamento composto central rotacional (DCCR). Ao final, foram realizados ensaios de análises físico-químicas no EHS fresco e tratado, a fim de avaliar o efeito do tipo tratamento térmico nos parâmetros de cor, pH, sólidos solúveis totais e conteúdo fenólico total.

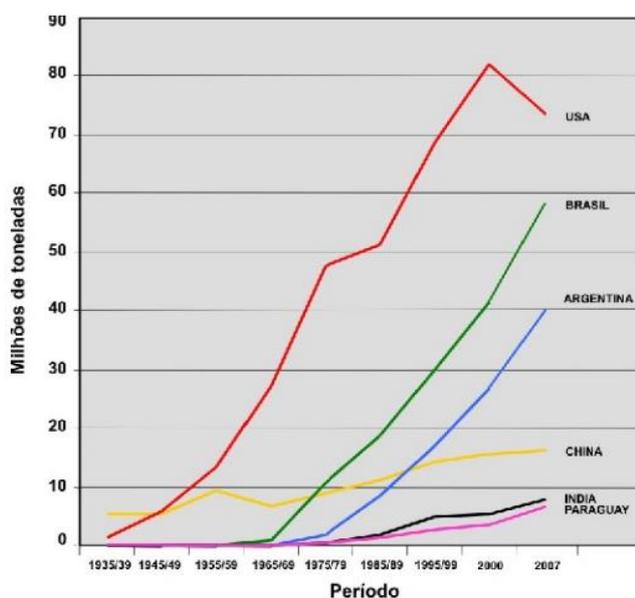
## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1. Soja

A soja (*Glycine Max*) é uma planta pertencente à família das leguminosas ou seja, do feijão, ervilha, lentilha, grão-de-bico e é também conhecida como feijão soja, ervilha chinesa ou feijão de Manchúria (GUERREIRO, 2006). Este grão é de extrema importância no Brasil e no mundo, fazendo parte não só da alimentação humana, como animal (KWOK, Kin Chor; LIANG; NIRAJAN, 2002).

A soja cultivada hoje é muito diferente de cinco mil anos atrás, em que eram plantas rasteiras que se desenvolviam na costa leste da Ásia. Sua evolução iniciou-se, aparentemente, a partir de plantas oriundas de cruzamentos naturais entre duas espécies de soja selvagem, cujo produto foi domesticado e melhorado por cientistas da antiga China por volta do século 11 A.C., resultando nas plantas eretas que hoje são cultivadas (EMBRAPA SOJA, 2007). A partir de 1941, a área destinada para a sua produção cresceu de forma exponencial, não apenas nos EUA, como também, no Brasil e na Argentina (Figura 1).

Figura 1- Produção global de soja de 1935 a 2007



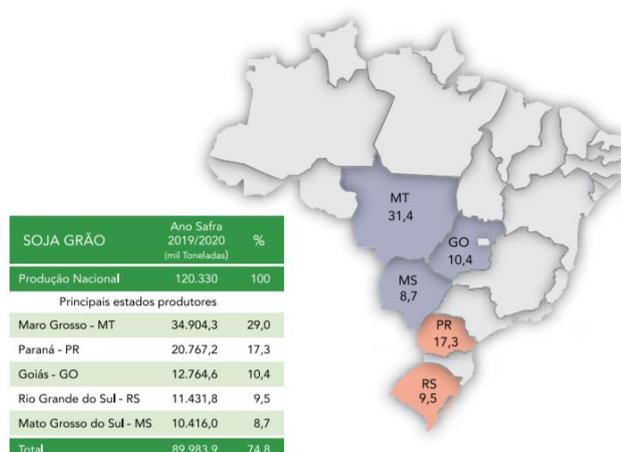
Fonte: Hakuri *et al.* (2006)

A primeira referência sobre o cultivo de soja no Brasil data de 1882, na Bahia (APROSOJA, 2020). As primeiras exportações de soja ocorreram em 1949 pelo Rio Grande do Sul, quando o país já produzia 25.000 toneladas por ano da oleaginosa (Dall'Agnol, 2020). Nos

últimos 50 anos a produção mundial de soja multiplicou-se por dez e chegou a 269 milhões de toneladas (Instituto de Estudos do Agronegócio, 2015). Até 2050, a FAO (Food and Agriculture Organization) prevê que a produção irá quase dobrar, chegando a 515 milhões de toneladas.

A produção de 134.953,2 milhões de toneladas da soja em grão na safra 2019/2020, consolida o Brasil como maior produtor mundial de soja (CONAB, 2020). Assim, em conjunto com a Argentina e os Estados Unidos, corresponde a 82,1% da produção mundial (SEAPAMG, 2020). Em 2019, o consumo interno de soja em grãos foi de 43,4 milhões de toneladas – sendo o processamento voltado para produção de óleo, farelo animal e biodiesel. No Brasil, o Mato Grosso se destaca como maior produtor nacional (MAPA, 2020), possuindo uma área plantada de cerca de 10,0 milhões de hectares. Os estados do Centro-Oeste são a principal região produtora de soja no país devido ao preço de suas terras serem atrativos, clima correspondente ao do Cerrado e relevo favorável (Figura 2).

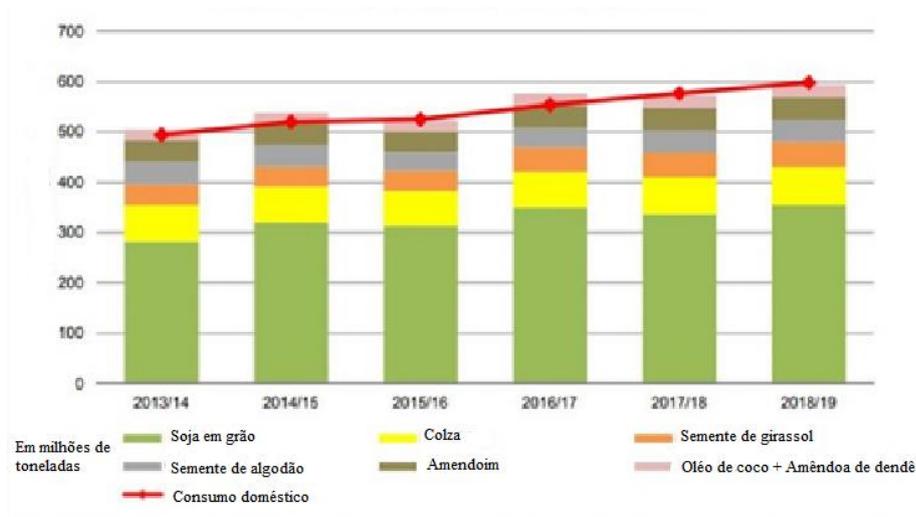
Figura 2- Produção Nacional da Soja em 2019/2020 nos principais estados produtores



Fonte: Ministério da Agricultura (2020)

A exportação brasileira de soja apresentou crescimento de 175% desde 2010, passando de 30 para 82,7 milhões de toneladas em 2019, sendo a China o maior mercado consumidor (CONAB, 2020). A China e a União Europeia são responsáveis por 69,6% das importações mundiais (SEAPAMG, 2020). Segundo a projeção do Ministério da Agricultura, as exportações do grão de soja deverão atingir 103,4 milhões de toneladas em 2029/30, um aumento de 23,1% em relação à safra 2019/2020 (MAPA, 2020). A Figura 3 demonstra o aumento do consumo global desta oleaginosa nos últimos anos.

Figura 3 - Consumo Global de Soja em comparação à produção de grãos de soja e insumos de 2013 a 2018



Fonte: Mendes (2018)

Do ponto de vista nutricional, a soja representa um alimento que contém componentes essenciais para a alimentação humana, constituindo-se em excelente fonte de proteína (AHSAN *et al.*, 2015; CAMACHO *et al.*, 1981). Segundo Pereira *et al.* (2017), a semente de soja contém em média 40% de proteínas, 20% de lipídios e, aproximadamente, 35% de carboidratos e 5% de minerais. A soja ainda é rica em magnésio, fósforo, zinco, cobre e ferro. Além de conter esses minerais, é fonte de vitaminas E, K, tiamina, riboflavina e ácido fólico. Na Tabela 1 são apresentados os principais componentes nutricionais da soja.

Tabela 1 - Composição centesimal média da soja, a cada 100 g

<b>Composição Centesimal</b>	<b>g/100 g</b>
Umidade	11,0
Proteína	38,0
Lipídios	19,0
Energia (kcal)	417,0
Carboidratos	23,0
Fibras	4,0
Cinzas	5,0
<b>Minerais</b>	<b>mg/100 g</b>
Ca	0,2
Cu	0,9
Na	1,0
Zn	3,2
Fe	9,4
Mg	220,0
P	580,0
K	1900,0
<b>Vitaminas</b>	<b>mg/100 g</b>
A	0,0
E	0,0
B <sub>1</sub>	0,8
B <sub>2</sub>	0,3
Niacina	0,2
<b>Fibra alimentar</b>	<b>g/100 g</b>
Solúveis	1,8
Não solúveis	15,3
Totais	17,1

Fonte: Soja : História , Tendências E Virtudes (2004)

Devido a uma composição nutricional rica em minerais, vitaminas e proteínas de alta qualidade, a soja foi reconhecida como alimento funcional, com potencial em auxiliar na redução de doenças cardiovasculares quando ingerida (ODENATH PENHA *et al.*, 2007). A soja contém isoflavonas, fito hormônios de origem vegetal que atuam como antioxidantes ao reduzir as taxas das lipoproteínas de baixa densidade (LDL-colesterol, considerado como “colesterol ruim”) no sangue, além de exercerem atividade hormonal, equilibrando a quantidade do hormônio estrógeno no organismo feminino. Os açúcares complexos da soja estão incluídos entre os alimentos prebióticos capazes de melhorar a função do cólon e exercer efeitos benéficos em vários tipos de câncer e na absorção do cálcio (AHSAN *et al.*, 2015).

O alto consumo da soja ocorre devido à sua riqueza nutricional, versatilidade de consumo e variabilidade de produtos obtidos a partir dessa oleaginosa, além de ser um dos principais alimentos para alimentação animal. Dentre os produtos provenientes dessa matéria-

prima se destacam o óleo, farelo, farinha, extrato, tofu e ingredientes da culinária oriental (shoyu, missô, etc.). Tem-se, também, a proteína texturizada que pode substituir a carne; as proteínas concentrada e isolada, usadas na indústria de embutidos e como ingredientes funcionais, respectivamente; a lecitina, um aditivo alimentar, e a isoflavona, componente de alimento funcional (CHIARELLO, 2002).

Dentre os produtos oriundos a partir da soja, destaque-se o extrato hidrossolúvel de soja, o qual vem tendo um aumento considerável em seu consumo, principalmente entre consumidores intolerantes à lactose, vegetarianos, veganos e/ou que buscam dietas saudáveis. Nos países em desenvolvimento, este produto é usado como substituto de baixo custo do leite de vaca em muitas preparações alimentares (CRUZ, N. *et al.*, 2007; REILLY *et al.*, 2006). O aumento da demanda pelo extrato hidrossolúvel de soja pode ainda ser atribuído pela sua composição, especialmente à presença de proteínas de alta qualidade e baixo teor de gordura (LAKSHMANAN; DE LAMBALLERIE; JUNG, 2006).

## **2.2 Extrato Hidrossolúvel de Soja**

O Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de Alimento com Soja, a Resolução RDC nº 91 de 18 de outubro de 2000 (ANVISA), define o Extrato Hidrossolúvel de Soja como sendo o produto obtido a partir da emulsão aquosa resultante da hidratação dos grãos de soja, convenientemente limpos, seguido de processamento tecnológico adequado, adicionado ou não de ingredientes opcionais permitidos, podendo ser submetido à desidratação, total ou parcial (BRASIL, 2000).

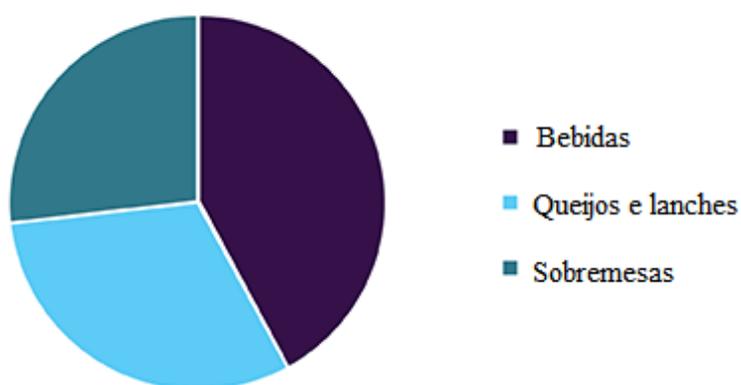
Embora o EHS seja vulgarmente conhecido como "leite" de soja, esta designação é vedada pela referida legislação, uma vez que, a designação leite remete à secreção mamária produzida por mamíferos. Por ser uma bebida de baixo custo, de alto valor nutritivo e de fácil obtenção, representa uma importante alternativa para a alimentação humana em geral, principalmente para pessoas impossibilitadas de consumirem produtos de origem animal e/ou deficientes da enzima lactase (CASÉ; DELIZA; ROSENTHAL, 2005).

O consumo de extrato de soja tem crescido desde 1996, graças à versatilidade das formulações enriquecidas com cálcio, vitaminas, minerais e sabores, o que representa uma nova forma de demanda desses produtos no Brasil (ZAKIR; FREITAS, 2015). Em 2018, as bebidas à base de soja responderam por 90% do mercado de bebidas vegetais e 95,7% do volume total de litros comercializados (EUROMONITOR INTERNACIONAL, 2018). O paladar brasileiro é pouco habituado com o sabor acentuado da soja e as variedades de extrato de soja enriquecido

com nutrientes e sabores é o que vem impulsionando o produto a ganhar popularidade entre crianças e adultos (ABRAS, 2010).

A Figura 4 demonstra que a soja é consumida mundialmente predominantemente na forma de bebidas como extrato hidrossolúvel de soja (cerca de 40% da participação do mercado). Além disso, de acordo com as expectativas, o mercado global do extrato de soja deve chegar a US\$ 28,40 bilhões em 2026 (CARRO, 2018).

Figura 4 - Participação da soja no mercado mundial (%), por segmento, 2018



Fonte: Grand View Research (2017)

Conforme observado na Figura 4, o extrato hidrossolúvel de soja é a alternativa de bebida vegetal mais consumida no mundo. Em 2018, demandou mais da metade da participação total de mercado, o equivalente a US\$ 7,30 bilhões. Do total de 127,7 milhões de litros das chamadas "bebidas alternativas ao leite tradicional" comercializados em 2017 no Brasil, quase 98% foram de produtos feitos de soja (CARRO, 2018). A composição química do EHS oscila muito em função da variedade da matéria-prima utilizada e do processamento empregado. Embora apresente baixo teor de cálcio comparado ao leite de vaca, este alimento apresenta um teor proteico equivalente, conforme demonstra a Tabela 2 (TASHIMA & CARDELLO, 2003).

Tabela 2 – Comparação da composição química do extrato hidrossolúvel de soja (EHS) e leite de vaca, a cada 100 g de produto

Componente	EHS	Leite de Vaca
Água	91,8	88,0
Proteína	3,0	3,6
Gordura	1,4	3,0
Carboidrato	3,8	4,9
Fibras	0,0	0,0
Calorias	38,0	61,0
Cálcio (mg)	36,0	123,0

Fósforo (mg)	30,0	96,0
Ferro (mg)	0,4	0,1
Sódio (mg)	--	--
Vitamina A (mg)	10,0	Traços
Vitamina B <sub>1</sub> (mcg)	0,0	0,0
Vitamina B <sub>2</sub> (mcg)	0,0	0,2
Niacina (mcg)	0,2	0,1
Vitamina C (mg)	0,0	1,0

Fonte: Mercaldi (2006)

### 2.2.1 Processo de obtenção do Extrato Hidrossolúvel de Soja

O EHS é obtido a partir da hidratação dos grãos de soja, convenientemente limpos, seguido de processamento tecnológico adequado (GUERREIRO, 2006). A produção de extrato hidrossolúvel de soja é descrita de forma artesanal e, portanto, o fluxograma de produção, apresentado na Figura 5, foi adaptado e descreve as etapas gerais do processo, baseado em Guerreiro (2006) e Kwok e Niranjana (1995).

Figura 5 - Fluxograma do processo de obtenção do extrato hidrossolúvel de soja



Fonte: Autor (2020)

Cada uma das etapas apresentadas será brevemente descrita.

- Seleção e limpeza dos grãos

Quando os grãos de soja atingem sua maturidade, cerca de 5 meses após o plantio, eles são colhidos. Os grãos inteiros de soja são lavados em água, sem esfregar e com cuidado para não os danificar. A seleção, por meio de escolha ou colheita manual, é realizada caso haja grãos

estragados, impurezas diversas e outros, que possam afetar as características e qualidade do extrato.

- Maceração

A maceração é a etapa em que o grão absorve água. A utilização da maceração à quente pode auxiliar na inativação da lipoxigenase, enzima disponibilizada a partir do rompimento de estruturas internas dos grãos, de forma parcial na maceração e total na trituração. Os grãos podem ser colocados de molho em água à temperatura ambiente ou fervente por um período que pode variar de poucas até 12-20 horas. A proporção de soja e água potável é muito variável, mas pode seguir uma relação de 1:3 ou 1:10, por exemplo. Durante a maceração, os grãos absorvem água e aumentam de tamanho. Ao final dessa etapa, os grãos de soja são escorridos e lavados em água potável corrente.

- Moagem

Os grãos são homogeneizados em liquidificador na mesma proporção da etapa anterior, de diversas formas, dentre elas: moagem com água fria (temperatura ambiente) por 3 minutos e moagem com água fervente (80-100 °C) por 10 minutos.

- Filtração

Após a trituração, o extrato é então filtrado para se retirar o resíduo sólido, conhecido como *okara*. Tal resíduo pode ser utilizado em várias receitas, desde que seja submetido a altas temperaturas. O filtrado obtido é o extrato hidrossolúvel de soja.

- Cozimento

Após a separação, ocorre o cozimento do filtrado a fim de reduzir sabores desagradáveis ao paladar, bem como reduzir a flora microbiana e estender a vida útil da bebida. Nesta etapa, o extrato pode ser aquecido a 90 °C por 30 minutos ou cozido em alta temperatura (154 °C) por 30-40 segundos.

- Formulação

Nesta etapa, podem ser adicionado aditivos, aromatizantes e conservantes de acordo com resolução RDC nº 25, de 15 de fevereiro de 2005 (BRASIL, 2005).

- **Homogeneização**

O extrato de soja também é homogeneizado em centrífuga para evitar que as gorduras e os óleos se separem após a envasamento. Esta etapa é complementar ao cozimento por promover a extensão adequada da vida útil do produto.

- **Tratamento térmico**

Após a obtenção do produto final, a bebida pode sofrer dois tipos de tratamento térmico para prolongar sua vida útil: pasteurização (por exemplo: 75 °C/15 s) ou esterilização (por exemplo: 135-150 °C/1-2 s) (KWOK, KIN CHOR; LIANG; NIRAJAN, 2002). O rigor do tratamento térmico é definido a partir da inativação de fatores antinutricionais, tal como a lipoxigenase e inibidor de tripsina.

- **Envase**

O extrato de soja tratado é envasado assepticamente, apresentando geralmente vida útil de até 3 meses. O produto pode ser embalado em recipiente Tetra Pak, papel Kraft revestido internamente com polietileno ou em embalagens PEBD (polietileno de baixa densidade). Geralmente é comercializado em embalagens de 1,5 L e 750 mL.

### **2.3 Conservação do extrato hidrossolúvel de soja**

Devido à natureza da sua constituição como a riqueza nutricional, pH neutro, alta atividade de água e presença de diversas enzimas deterioradoras como a lipoxigenase, o EHS é naturalmente susceptível à degradação enzimática e microbiológica, sendo portanto um produto altamente perecível (CHEMAT; ZILL-E-HUMA; KHAN, 2011; KWOK, KIN-CHOR -C; NIRANJAN, 1995). Dessa forma, com o intuito de garantir a segurança alimentar e estender a vida útil, este alimento deve ser submetido a processos de conservação adequados, sendo a aplicação de calor a técnica mais comumente empregada.

Temperaturas elevadas são tradicionalmente utilizadas na conservação dos alimentos devido ao seu efeito destruidor sobre os microrganismos, tanto patogênicos quanto deterioradores, além da inativação de enzimas indesejáveis (VASCONCELOS, 2010). A rigorosidade do tratamento térmico, expressa pelo binômio de tempo/temperatura, é definida de acordo com a resistência térmica do microrganismo ou enzima de interesse mais resistente (ARTUR, 2004). Além disso, a definição do tratamento térmico depende de vários outros fatores, como as características do produto em questão, possíveis efeitos indesejáveis, entre

outros. De modo geral, os tratamentos térmicos de maior importância e aplicação na indústria de alimentos são a pasteurização e a esterilização (FELLOWS, 2000).

A pasteurização é um tratamento térmico no qual o alimento é aquecido em temperaturas inferiores a 100 °C, por um período de tempo que varia de segundos a alguns minutos. Este método tem como objetivo principal a eliminação da flora microbiana deterioradora e patogênica que se encontra na forma vegetativa, além da inativação de enzimas indesejáveis, prolongando a vida útil dos alimentos (FELLOWS, 2000). Como a pasteurização não é capaz de eliminar a forma mais resistente dos microrganismos (forma esporulada), os produtos particularmente não ácidos ( $\text{pH} > 4,5$ ) acabam tendo uma limitação da vida útil, sendo necessário outros métodos de conservação como refrigeração, acidificação, adição de aditivos, entre outros (VASCONCELOS, 2010).

Já a esterilização refere-se ao tratamento térmico mais rigoroso que se tem hoje na indústria, onde os alimentos são submetidos a temperaturas altas, acima de 100 °C por poucos segundos. É um tratamento térmico capaz de inativar, além das enzimas indesejáveis, todos os microrganismos patogênicos e deteriorados que possam crescer sob condições normais de armazenamento (VASCONCELOS, 2010). Isso significa dizer que, diferentemente da pasteurização, toda flora microbiana patogênica ou deterioradora, inclusive as formas esporuladas, serão destruídas e/ou inativadas (FELLOWS, 2000). O binômio tempo/temperatura a ser empregado na esterilização deve ser aquele capaz de destruir a forma vegetativa e esporulada do *Clostridium Botulinum*, que é conhecido como o microrganismo patogênico de maior importância e resistência térmica ao calor relacionado aos alimentos (KWOK & NIRANJAN, 1995; SUN, 2014).

O aquecimento do extrato hidrossolúvel de soja pode ocorrer ao longo de todo o processo, desde a moagem, cozimento até o tratamento térmico final. O calor tem como objetivo não só estender a vida útil eliminando microrganismos e enzimas indesejáveis como também melhorar as características sensoriais, aumentar o rendimento, maximizar a extração de sólidos, proteínas e a qualidade nutricional do produto, destruindo fatores antinutricionais e aumentando sua digestibilidade (KWOK & NIRANJAN, 1995).

Conforme mencionado acima, além da exposição ao calor durante a etapa de obtenção do extrato de soja, o mesmo sofre um tratamento térmico final, que pode ser a pasteurização ou esterilização. No geral, o binômio utilizado pode ser muito variável, mas de acordo com Kwok e Niranjana (1995), comercialmente, aplica-se binômios para a pasteurização na faixa de 75 °C por 15 segundos, semelhante ao do leite de vaca. Já em relação a esterilização, comercialmente

é aplicado temperaturas de 143 °C por 60 s ou 154 °C por 29 segundos (KWOK, Kin Chor; LIANG; NIRAJAN, 2002).

Muitos estudos vêm ainda investigando e sugerindo outros binômios. Kohli *et al.* (2017), por exemplo, utilizaram em seu estudo o binômio 71 °C/15 s; já Khodke, Shinde e Yenge (2015) mencionaram que o tratamento de 121 °C por 15 minutos é o mais indicado para conservar o extrato de soja por até 170 dias sob refrigeração. Yuan *et al.* (2008) por sua vez relataram que 80 °C/2 min foi o suficiente para produzir extrato de soja sem hexanal, indicando uma completa inativação das lipoxigenases; enquanto Polisel-Scopel *et al.* (2014) concluíram que o extrato de soja tratado a 142 °C/6 s e armazenado a temperatura ambiente (18-25°), embalado assepticamente em caixa de papelão revestida (recipiente Tetra Brik – 200mL), durante 6 meses, não apresentou crescimento microbiológico.

Por outro lado, o tratamento térmico pode dissociar, desnaturar e agregar proteínas da soja, o que afeta negativamente a qualidade sensorial do extrato de soja (SORGENTINI; WAGNER; AÑÓN, 1995). O calor, ao desnaturar as proteínas essenciais da soja, resulta em degradação de aminoácidos, reações de escurecimento e outras reações deteriorativas (KWOK & NIRANJAN, 1995; VAGADIA *et al.*, 2018). O processamento térmico pode ainda afetar o teor de vitaminas e o desenvolvimento do sabor de cozido devido à alta temperatura e longo tempo de processamento (AMITABH *et al.*, 2017; POLISELI-SCOPEL, Fábio H. *et al.*, 2012).

## 2.4 Lipoxigenases

O tratamento térmico no extrato hidrossolúvel de soja é calculado e avaliado com base na inativação da enzima lipoxigenase. Esta enzima é utilizada como indicadora de eficiência do tratamento térmico devido aos efeitos indesejáveis que causa ao produto, aliada à sua alta resistência ao calor. Além de alterar o sabor da soja, ela provoca a rancificação do óleo e diminui a vida útil dos derivados (ROSENTHAL *et al.*, 2003).

As lipoxigenases (LOXs) estão presentes em grande variedade de tecidos animais, como de aves, peixes e mamíferos e estão envolvidas no passo inicial da biossíntese do ácido araquidônico e de compostos ativos fisiologicamente, como leucotrienos e lipoxinas. Encontra-se também em tecidos vegetais tais como folhas, sementes, frutos e tubérculos (SILVA, 2004). No caso da soja, essa enzima é particularmente importante, correspondendo a 2% das proteínas totais do grão (DAVIES E NIELSEN APUD SILVA, 2004).

As isoenzimas lipoxigenases são proteínas globulares (Figura 6), que possuem um átomo de ferro não-heme em sua molécula, constituído como grupamento prostético, sem o

qual não desempenhariam seu papel enzimático (FOX APUD CIABOTTI, 2004). As lipoxigenases podem ser classificadas ainda como 9 lipoxigenase (9-LOXs) ou 13 lipoxigenase (13-LOXs), de acordo com a posição na qual o oxigênio é incorporado ao substrato produzido.

Figura 6 - Estrutura tridimensional da LOX



Fonte: Bruno e Silva (2004)

As LOXs vegetais são proteínas monoméricas de cerca de 95–100 kDa (mil daltons) que consistem em dois domínios: o domínio amino-terminal de cerca de 25-30 kDa e o domínio carboxi-terminal de cerca de 55-65 kDa, sendo que este último consiste principalmente em alfa hélices e abriga o sítio catalítico da enzima. As enzimas LOX contêm um átomo de ferro por molécula de proteína. O metal do sítio ativo é um ferro não heme que é octaedricamente coordenado por 5 cadeias laterais de cinco aminoácidos, mais um ligante de água ou hidroxila. No caso de LOXs de plantas, esses resíduos são sempre três histidinas, uma asparagina e uma isoleucina (ANDREOU; FEUSSNER, 2009).

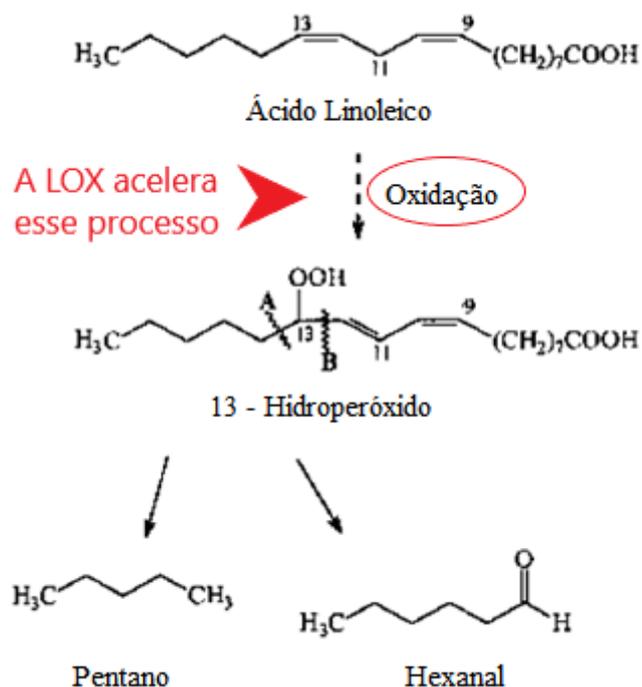
A LOX (linoleato: oxigênio oxidoreductase E.C. 1.13.11.12) é classificada como EC1, grupo das enzimas oxidoreductase, e somente atua sobre os ácidos graxos que possuem um sistema pentadieno (C=C-C-C=C). Desta forma, a lipoxigenase catalisa a adição de oxigênio molecular às moléculas de ácidos graxos poliinsaturados contendo o *cis*, *cis*-1,4-pentadieno (GUERRERO-BELTRÁN, ESTRADA-GIRÓN, SWANSON, & BARBOSA-CÁNOVAS, 2009).

Ao catalisar a adição de oxigênio ao ácido linolênico e linoleico por exemplo, há formação de peróxidos e hidroperóxidos (Figura 7) com duplas ligações conjugadas, os quais podem envolver-se em diferentes reações degradativas, resultando na formação de produtos voláteis como hexanal, hexanol, pentanol e heptanol. A principal consequência é a modificação do *flavor* original e o aparecimento de odores e gostos característicos do ranço (SILVA, 2004).

O defeito de rancidez oxidativa causado pelas lipoxigenase pode ser atribuído a dois fenômenos. Um deles é a oxidação dos ácidos linoleico e linolênico e a consequente decomposição química em vários aldeídos e cetonas aromáticos. O segundo é a produção enzimática direta de radicais de ácidos graxos liberados na matriz alimentar que iniciam e propagam reações de co-oxidação e auto oxidação mediada por radicais livres (BAYSAL; DEMIRDÖVEN, 2007).

Esta enzima tem sido associada à deterioração da qualidade do extrato de soja devido a seus efeitos negativos em pigmentos e ácidos graxos essenciais, como carotenoides, durante o armazenamento e seu papel na produção de sabores e odores indesejáveis (AGUILÓ-AGUAYO *et al.*, 2008). Os compostos responsáveis pelo sabor e odor desagradáveis não estão presentes no grão intacto, mas aparecem quando os grãos são rompidos e absorvem água, colocando a enzima em contato com o substrato.

Figura 7 - Formação de Hidroperóxidos a partir de Ácido Linoleico.



Fonte: Silva; Borges; Ferreira (1999)

A temperatura ideal para a atividade das lipoxigenases está em torno de 30 °C. Em temperaturas superiores, há o decréscimo acentuado da sua atividade, embora não signifique sua inativação (BORDINGNON; MANDARINO, 1994). No geral, as lipoxigenases podem ser inativadas termicamente acima de 60 °C (BAYSAL; DEMIRDÖVEN, 2007).

Esta enzima ocorre em uma variedade de isoenzimas, que geralmente variam em pH ideal, assim como na especificidade do produto e do substrato. Segundo Baysal e Demirdöven (2007) e Ciabotti (2004), as três isoenzimas já isoladas da soja são comumente classificadas como tipo 1, que possuem um pH ótimo na região alcalina e são específicas para ácidos graxos livres; do tipo 2, que possui atividade ideal em pH neutro e causam oxidação de carotenoides; e a terceira que é semelhante à isoenzima 2, mas sua atividade é inibida pelos íons cálcio. Kwok e Niranjana (1995) observaram que entre 65-70 °C a energia de ativação necessária para inativar a atividade desta enzima é maior em ambiente básico (pH ~ 7) se comparado ao meio ácido (pH ~ 4).

## **2.5 Tecnologias emergentes de conservação de alimentos**

O tratamento térmico é um método amplamente utilizado para estender a vida útil e garantir a segurança alimentar do extrato hidrossolúvel de soja, além de contribuir eliminando fatores antinutricionais e melhorando características sensoriais da bebida (CULLEN, 2012). Entretanto, devido aos efeitos indesejáveis causados como escurecimento não enzimático, danos nutricional e sensorial, tem-se a clara necessidade por métodos de conservação alternativos, que cumpram com os mesmos objetivos dos métodos tradicionais, mas que minimizem os efeitos indesejáveis.

Dessa forma, diante da demanda dos consumidores por produtos de alta qualidade, a indústria vem buscando métodos de conservação alternativos de modo a minimizar as depreciações causadas pelo tratamento térmico tradicional. No geral, os novos métodos de conservação, conhecidos como métodos emergentes, são classificados em térmicos e não térmicos. As tecnologias emergentes térmicas utilizam fundamentalmente o calor, entretanto diferenciam-se dos métodos tradicionais porque o calor é gerado no interior do produto, de maneira mais efetiva e eficiente. Isso reduz o tempo em que o alimento fica exposto ao calor e, conseqüentemente reduz as degradações causadas pelo tratamento térmico convencional. Dentre as tecnologias térmicas emergentes pode-se citar o microondas, radiofrequência, infravermelho e aquecimento ôhmico (CULLEN, 2012; SUN, 2014).

Especificamente no extrato hidrossolúvel de soja, encontram-se na literatura investigações envolvendo a aplicação do microondas e aquecimento ôhmico como tratamentos utilizados para conservar este produto. Vagadia *et al.* (2018) investigaram as condições de processamento de EHS por microondas na frequência de 2,45 GHz e temperaturas de 70 °C, 85 °C e 100 °C por 2, 5 e 8 min, e compararam com tratamentos térmicos convencionais na mesma

temperatura por 10, 20 e 30 min. Neste estudo, concluiu-se que a atividade inibidora da tripsina reduziu para 1% no processamento por microondas e 3% no processamento convencional, aumentando a digestibilidade da bebida e eliminando fatores antinutricionais. A atividade inibidora da tripsina (TIA) e do inibidor de quimotripsina (CIA) foram estudados por Lu *et al.* (2015) em que avaliou-se os efeitos do aquecimento ôhmico (220 V, 50 Hz) na inativação de TIA e CIA no EHS, em comparação com o aquecimento induzido e fogão elétrico. Este estudo concluiu que o aquecimento ôhmico aumentou ligeiramente a formação de agregados de proteína e mais rápido na inativação de TIA e CIA.

Já as tecnologias emergentes não térmicas, tais como alta pressão hidrostática, ultrassom e radiação ionizante, utilizam outro princípio que não o calor para promover a inativação enzimática e microbiológica, de forma que, essas técnicas levam a um menor tempo de processamento, maior rendimento e melhor retenção de parâmetros nutricionais e de qualidade. Além de preservar as características do alimento, as novas tendências em tecnologia costumam buscar seguridade para o meio ambiente, revelando preocupação com o equilíbrio entre a produção e o consumo de alimentos (VEGA-MERCADO *et al.*, 1997; CULLEN, 2012). As técnicas de alta pressão (GUERRERO-BELTRÁN *et al.*, 2009), campo elétrico pulsado (MORALES-DE LA PEÑA *et al.*, 2010; POLISELI-SCOPEL *et al.*, 2012; POLISELI-SCOPEL *et al.*, 2013), luz ultravioleta (UV) (BANDLA *et al.*, 2012; POSSAS *et al.*, 2018) e luz pulsada (CHENG; ZHANG; ADHIKARI, 2013) já vem sendo utilizadas para conservação do extrato de soja como alternativa ao tratamento térmico convencional.

Segundo Cruz *et al.* (2007) os tratamentos por alta pressão a 200 e 300 MPa em extrato de soja reduziram a contagem total de bactérias em 2,42 e 4,24 logs UFC/mL, respectivamente. Os esporos foram reduzidos em cerca de 2 log UFC/mL e as enterobactérias ficaram abaixo do nível de detecção. Já em relação ao campo elétrico pulsado, Li *et al.* (2008) observaram que as atividades relativas da lipoxigenase de soja diminuíram com o tempo. Neste tempo, ocorreu inativação máxima da lipoxigenase de soja atingindo 88% a 42 kV/cm com 400 Hz de frequência a 25 °C. Esses autores também demonstraram que o campo elétrico pulsado pode inativar eficientemente *E. coli*, *S. aureus* e LOX sem afetar as características de qualidade do extrato de soja. O ultravioleta na faixa do UV-C (200 – 280 nm) foi utilizada por Bandla *et al.* (2012) para investigar a atividade antimicrobiana do extrato de soja cru com tempo de permanência constante de 11,3 s com dose de 11,18 mJ/cm<sup>2</sup>. Neste estudo, foram alcançadas reduções de até 5,6 log UFC/mL de *E. coli* e 3,29 log UFC/mL de esporos de *B. cereus*. Em contrapartida, Alhendi *et al.* (2017) concluíram que o tratamento com luz pulsada alcançou a inativação completa do LOX com uma distância de 7 cm e 90 s com 340,2 J/cm<sup>2</sup>.

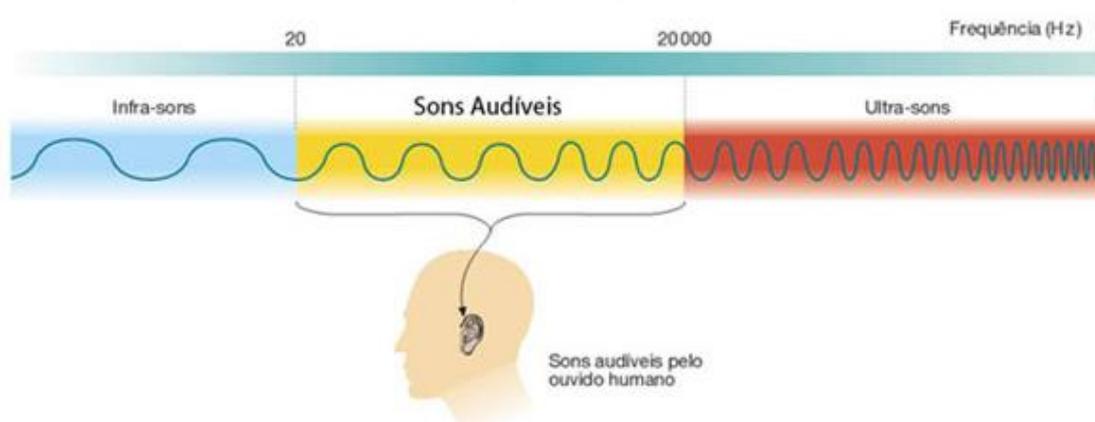
O ultrassom, técnica emergente não térmica, embora já muito estudado nos mais diversos tipos de produtos com comprovada efetividade da redução microbiológica (D'AMICO *et al.*, 2006; GABRIEL, 2014; PALA; ZORBA; ÖZCAN, 2015) e enzimática, não foi ainda investigado em extrato hidrossolúvel de soja, ou seja, não há relatos na literatura até o momento sobre o potencial de aplicação dessa tecnologia para aumento de vida útil da referida bebida.

## 2.6 Tecnologia de Ultrassom

O ultrassom é definido como uma onda sonora que excede o limite de audição humano (~20 kHz) (Figura 8). Por possuir propriedades de ondas sonoras, como reflexão, interferência, adsorção e dispersão, pode então propagar-se através de sólidos, líquidos e gases. Quando aplicado no tratamento de alimentos, o ultrassom compreende ondas com frequências entre 20 e 100 kHz e intensidade sonora de 10 a 1000 W·cm<sup>-2</sup> (FENG; YANG; HIELSCHER, 2008; PIYASENA *et al.*, 2003). Com base na faixa de frequência/intensidade, as aplicações do ultrassom podem ser divididas em duas categorias: avaliação não destrutiva (baixa intensidade) e fonte de energia (alta intensidade) (ORTEGA RIVAS, 2013; POVEY; MCCLEMENTS, 1988).

O ultrassom de baixa intensidade (1 W·cm<sup>-2</sup>), que utiliza altas frequências (5 – 10 MHz), é usado como método não destrutivo ou invasivo de análise e monitoramento de vários alimentos em relação à sua composição, estrutura, por exemplo. Já o ultrassom de alta intensidade (10 – 1.000 W·cm<sup>-2</sup>), que utiliza baixas frequências (20 – 100 kHz), tem a capacidade de causar perturbações no alimento, induzindo efeitos nas propriedades físicas, mecânicas e/ou bioquímicas nos alimentos. Esses efeitos são promissores no processamento, preservação e segurança de alimentos (MULET *et al.*, 2002; POVEY; MCCLEMENTS, 1988).

Figura 8 - Espectro Sonoro



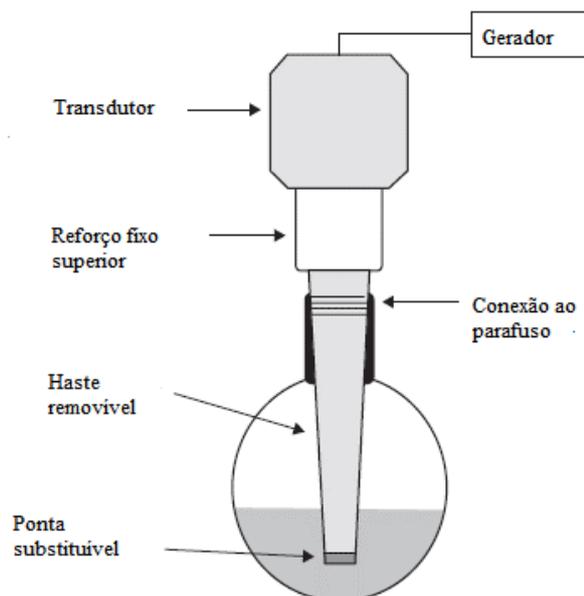
Fonte: Santana (2020)

O uso do ultrassom oferece vantagens em termos de produtividade, rendimento e seletividade, com menor tempo de processamento, melhor qualidade nutricional e sensorial, menor uso de produtos químicos, riscos químicos e físicos reduzidos, além de ser ecologicamente correto. Dentre outros benefícios está sua fácil aplicação, baixo custo, estabilidade do produto e segurança alimentar, seja por meio da redução do tempo de reação, aumento de seu rendimento ou no uso de condições de temperatura e pressão mais brandas em comparação com as rotas convencionais (CHEMAT; ZILL-E-HUMA; KHAN, 2011).

A conversão de energia elétrica ou mecânica em som de baixa potência se dá por meio de transdutores. Estes transdutores podem ser utilizados através de equipamentos como banho ultrassônico ou sistema de sonda. Os banhos têm uma gama de frequências ultrassônicas que variam de 20 kHz a mais de 1 MHz, enquanto as sondas existem predominantemente na faixa de frequências de 20 e 40 kHz e, como resultado, são capazes de emitir maior poder ultrassônico. As sondas, ou probes, são mais versáteis, apresentam maior flexibilidade de ajuste da amplitude da onda e do tipo de probe acoplada. Por estes motivos, são as mais utilizadas a nível industrial para gerar o ultrassom (SUN, 2014).

Os sistemas de sonda consistem em uma probe de metal acoplada a um transdutor ultrassônico (Figura 9). A probe é usada para amplificar a vibração produzida pelo material eletrostritivo, interação reversível mostrada por alguns materiais cristalinos entre uma deformação elástica e um campo elétrico no transdutor. Entre suas desvantagens estão a erosão da ponta por cavitação, formação de radicais livres e aquecimento do material exposto ao ultrassom (ORTEGA-RIVAS, 2012).

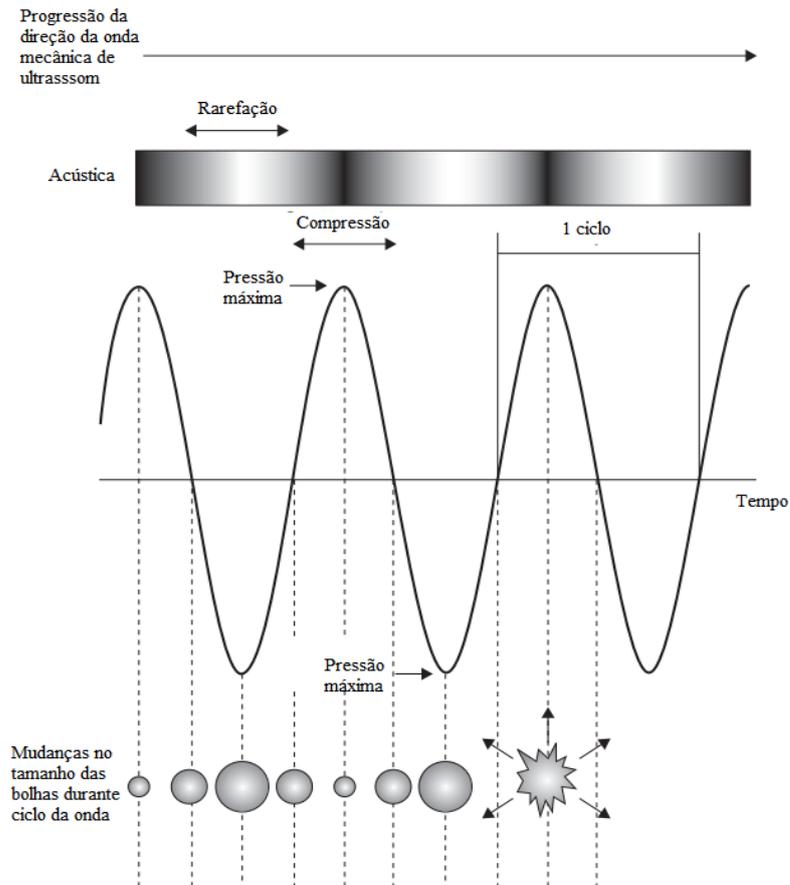
Figura 9- Sistema de sonda ultrassônica



Fonte: Sun (2005)

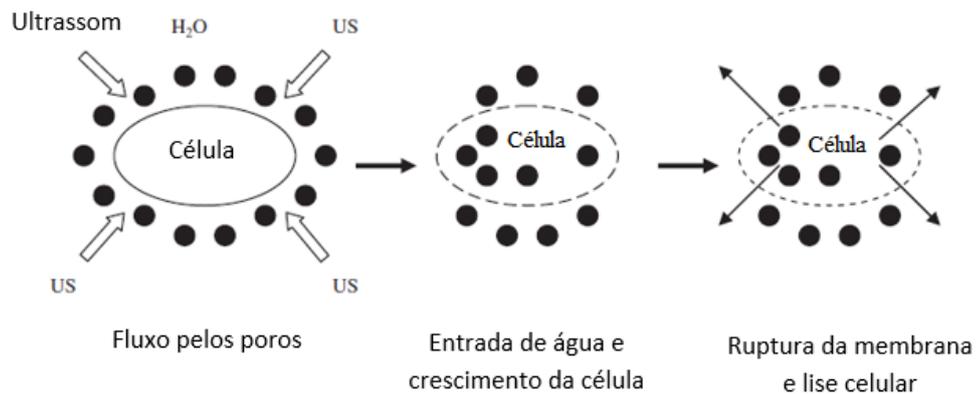
Os efeitos das ondas ultrassônicas nos alimentos ocorrem a partir do fenômeno conhecido como cavitação acústica. De forma resumida, o som é propagado através de uma série de ondas de compressão e rarefação as quais, com energia suficiente, podem exceder as forças de atração entre as moléculas, levando a formação de pequenas bolhas, conhecidas como bolhas de cavitação. Tais bolhas crescem por um processo conhecido como difusão retificada - pequenas quantidades de vapor d'água (ou gás) do meio são incorporados na bolha durante a sua fase de expansão, não sendo, portanto, totalmente expelido durante a compressão. As bolhas então crescem durante o processo e em um determinado momento se tornam inevitavelmente instáveis, rompendo-se violentamente e produzindo efeitos químicos e mecânicos no meio circundante (Figura 10 e Figura 11) (SUN, 2014). Localmente, a temperatura pode alcançar cerca de 5.000 K e a pressão níveis superiores a 1.000 atm (PIYASENA *et al.*, 2003; VOLLMER *et al.*, 1998). As mudanças de pressão que ocorrem com essas implosões são o principal mecanismo de ruptura das células microbianas (GOGATE; TAYAL; PANDIT, 2006).

Figura 10 - Cavitação das ondas ultrassônicas



Fonte: Adaptado de Cullen (2012)

Figura 11 - Mecanismo de rompimento de células submetidas ao ultrassom



Fonte: Adaptado de Chemat, Huma e Khan (2011)

A cavitação acústica resulta na desnaturação das enzimas devido aos efeitos químicos provocados por radicais livres gerados na quebra de moléculas de água, ou também por forças de cisalhamento geradas na formação ou colapso de bolhas de cavitação, o que leva a alterações conformacionais e consequentemente modificações do sítio ativo da enzima (KADKHODAEI;

POVEY, 2008). Vale ressaltar que, os mecanismos de inativação ultrassônica são específicos para cada enzima em particular, e dependem de sua composição de aminoácidos e estrutura conformacional. Por exemplo, a lipoxigenase aparenta ser inativada por um mecanismo mediado por radicais livres e possivelmente por desnaturação (CULLEN, 2012).

Awad *et al.* (2012) afirmaram que a inativação enzimática é um processo importante para melhorar a estabilidade, prazo de validade e qualidade de muitos alimentos. Entretanto, para se alcançar uma inativação enzimática significativa, podem ser necessários longos períodos de exposição ao ultrassom, pois caso contrário, as ondas ultrassônicas pode atuar de maneira a aumentar a atividade enzimática, quebrando grandes estruturas moleculares e tornando as enzimas mais acessíveis para reação com substratos (SUN, 2014).

Além da composição e estrutura das enzimas, a efetividade e o mecanismo de inativação enzimático é influenciado por fatores relacionados ao processo, como a natureza das ondas ultrassônicas e suas amplitudes, o tempo de exposição, o volume do alimento processado, a composição do alimento processado e, por fim, a temperatura de processamento (CULLEN, 2012). A resistência da maioria das enzimas ao ultrassom costuma ser relativamente alta, sendo portanto necessário tratamentos mais rigorosos do que aqueles necessários para destruir os microrganismos indesejáveis (RIVAS, 2012).

Vale ressaltar que quando utilizado isoladamente, o ultrassom pode não apresentar grande efetividade na inativação microbiológica e enzimática, possuindo assim aplicações limitadas quando utilizado como técnica única. Entretanto, quando combinado com outros métodos (calor ou pressão) conforme listado abaixo, pode se tornar uma técnica extremamente eficiente e de grande potencial para aplicação na área de conservação de alimentos (CHEMAT; ZILL-E-HUMA; KHAN, 2011; SUN, 2005).

- Manossonificação: combinação de ultrassom com pressão;
- Termossonificação: combinação de ultrassom com calor;
- Manotermossonificação: combinação de ultrassom com calor e pressão.

A termossonificação, técnica foco deste trabalho, consiste na combinação do ultrassom com o calor, no qual o produto é submetido a condições de temperatura moderada (50-70 °C) sendo concomitantemente submetido a ondas ultrassônicas. Quando combinado com o calor, o ultrassom apresenta um efeito sinérgico, tendo a capacidade de acelerar as taxas de inativação enzimática e microbiológica, reduzindo assim o tempo e intensidade do tratamento térmico necessário, conseqüentemente minimizando as degradações nutricionais e sensoriais (CHEMAT; ZILL-E-HUMA; KHAN, 2011).

A termossonicação tem de fato se mostrado eficiente na inativação enzimática e diversos estudos revelam suas aplicações. Gamboa-Santos *et al.* (2012) concluíram que cenouras branqueadas pela sonda ultrassônica durante 10 minutos apresentaram características semelhantes às tratadas convencionalmente por 40 minutos, ambas a 60 °C, se mostrando uma alternativa vantajosa em relação ao tempo. Cheng, Zhang e Adhikari (2013) estudaram a cinética de inativação dos tratamentos térmico e termossonico da polifenoloxidase (PPO) em cogumelos (*Agaricus bisporuse*) e verificaram que os valores D de PPO diminuíram 1,3 a 3 vezes mais durante a inativação termossonica em comparação com os valores D de PPO durante a inativação térmica.

Ribeiro *et al.* (2017) mostraram que o ultrassom apresentou efeito aditivo ao tratamento térmico na inativação da PPO e peroxidase (POD), atingindo a inativação completa da PPO e POD na água de coco em 665,8 mW/mL, na amplitude de 66 % /13 min. Terefe *et al.* (2009) examinaram a cinética de inativação ultrassônica da poligalacturonase (PG) e pectina metilesterase (PME) em suco de tomate e determinaram que o efeito termossonico aumentou as taxas de inativação de PME e PG em 1,5 a 6 vezes e 2,3 a 4 vezes, respectivamente, em comparação ao tratamento controle. Aadil *et al.* (2015) investigaram o tratamento com termossonicação em amostras de suco de toranja fresca submetidas a um banho ultrassônico com diferentes variáveis de processamento, incluindo temperatura (20, 30, 40, 50 e 60 °C), frequência (28 kHz), potência (70%, 420 W) e tempo de processamento (30 e 60 min). Os autores atingiram inativação completa dos microrganismos a 60 °C por 60 min, aumento significativo nos atributos de cor e compostos bioativos, assim como houve também redução da atividade de PME, PPO e POD em 91%, 90% e 89%, respectivamente.

O tratamento por termossonicação também foi realizado por Illera *et al.* (2018), em que amostras de suco de maçã foram aquecidas por 18 min a 67 °C, na amplitude de 100%. Foi observado que o conteúdo de compostos fenólicos totais aumentou após a termossonicação e houve melhoria significativa na distribuição do tamanho de partícula em comparação com o suco não tratado. Para a enzima PPO foi alcançado quase que sua completa inativação e para a enzima PME foi alcançado 50% de redução da atividade enzimática na temperatura mais alta (67 °C). Para o tratamento térmico convencional, foi observado que nas temperaturas de 52 e 60 °C não houve redução da atividade enzimática, sendo observado inclusive um aumento na atividade das enzimas. O tratamento na temperatura mais alta (67 °C), embora tenha propiciado uma redução enzimática (24% para a PPO e 9% para a PME), foi bem inferior à redução encontrada para o tratamento por termossonicação. Estes resultados comprovaram que a termossonicação melhorou significativamente a inativação de PPO e PME em suco de maçã.

A inativação térmica convencional da PME em suco de laranja foi realizada por Koshani *et al.* (2015) em temperaturas entre 40 e 80 °C por 5 a 25 min. No processo por termossonicação, foi utilizada intensidade de ultrassom de 60 a 100 W, nas mesmas condições de tempo e temperatura do tratamento térmico. Neste estudo, foi demonstrado que as condições ótimas que promoveram uma completa inativação da enzima PME pelo tratamento térmico convencional foram 75 °C por 21,8 min, já por termossonicação as condições foram bem mais amenas, 63 °C por 9,8 min. Este resultado confirmou o efeito sinérgico do ultrassom com o calor, o que levou ao aumento da inativação enzimática e redução da rigorosidade do tratamento térmico tradicional.

### 3 CONCLUSÃO

O extrato hidrossolúvel de soja é altamente perecível e requer um método de conservação adequado. Nos últimos anos, o consumo desta bebida tem aumentado consideravelmente e, considerando seu baixo custo e alta disponibilidade comercial, é urgente a necessidade de avaliar técnicas alternativas ao tratamento térmico convencional. Além de ser cada vez mais recorrente o interesse das indústrias alimentícias por métodos de processamento que minimizem as perdas sensoriais e nutricionais, esta também é uma demanda dos consumidores. O ultrassom é uma tecnologia emergente que garante a qualidade e a preservação dos alimentos e, quando combinado com calor, pode apresentar um efeito sinérgico, acelerando as taxas de inativação microbiológica e enzimática e, conseqüentemente, reduzindo a rigorosidade do tradicional tratamento térmico. É, portanto, fundamental avaliar o efeito da termossonicação no tratamento do extrato hidrossolúvel de soja a fim de estender sua vida útil.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AADIL, Rana Muhammad et al. Thermosonication: A potential technique that influences the quality of grapefruit juice. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 50, n. 5, p. 1275–1282, 2015.

ABATH, Thaís naves. Substitutos De Leite Animal para intolerantes à lactose. 2013.

ABDULLAH, Norazlin; CHIN, Nyuk Ling. Application of Thermosonication Treatment in Processing and Production of High Quality and Safe-to-Drink Fruit Juices. **Agriculture and Agricultural Science Procedia**, v. 2, p. 320–327, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.aaspro.2014.11.045>>.

ABID, Muhammad et al. Effect of ultrasound on different quality parameters of apple juice. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 20, n. 5, p. 1182–1187, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ultsonch.2013.02.010>>.

\_\_\_\_\_. Thermosonication as a potential quality enhancement technique of apple juice.

**Ultrasonics Sonochemistry**, v. 21, n. 3, p. 984–990, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ultsonch.2013.12.003>>.

AGUILÓ-AGUAYO, Ingrid et al. Influence of high-intensity pulsed electric field processing on lipoxygenase and  $\beta$ -glucosidase activities in strawberry juice. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 9, n. 4, p. 455–462, 2008.

AHSAN, Samreen et al. Preparation and quality characterization of soy milk based non-dairy ice cream. **International Journal of Food and Allied Sciences**, v. 1, n. 1, p. 25, 2015.

ALCÁNTARA-ZAVALA, Alejandra Elizabeth et al. Thermosonication as an alternative method for processing, extending the shelf life, and conserving the quality of pulque: A non-dairy Mexican fermented beverage. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 70, n. April 2020, p. 105290, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2020.105290>>.

ALHENDI, Abeer et al. Inactivation of Lipoxygenase in Soymilk by Pulsed Light. **International Journal of Food Engineering**, v. 13, n. 12, p. 1–12, 2017.

AMITABH, Anupam et al. Effect of Ohmic Heating on Processing of Soymilk in Comparison to Conventional Process. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v. 6, n. 12, p. 2918–2926, 2017.

ANAYA-ESPARZA, Luis M. et al. Effect of thermosonication on pathogenic bacteria, quality attributes and stability of sour soup nectar during cold storage. **Trends in Food Science and Technology**, v. 61, p. 26–37, 2017.

ANDREOU, Alexandra; FEUSSNER, Ivo. Lipoxygenases - Structure and reaction mechanism. **Phytochemistry**, v. 70, n. 13–14, p. 1504–1510, 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.phytochem.2009.05.008>>.

ANDRÉS, V. et al. High hydrostatic pressure treatment and storage of soy-smoothies: Colour, bioactive compounds and antioxidant capacity. **LWT - Food Science and Technology**, v. 69, p. 123–130, 1 jun. 2016.

ARTUR, Patrícia Oliveira. Aplicação Do Binômio Tempo / Temperatura Em Alimentos. 2004.

ASHOKKUMAR, Muthupandian et al. Modification of food ingredients by ultrasound to improve functionality: A preliminary study on a model system. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 9, n. 2, p. 155–160, 2008.

ATALAR, Ilyas et al. Influence of thermosonication (TS) process on the quality parameters of high pressure homogenized hazelnut milk from hazelnut oil by-products. **Journal of Food Science and Technology**, v. 56, n. 3, p. 1405–1415, 2019.

AWAD, T. S. et al. Applications of ultrasound in analysis, processing and quality control of food: A review. **Food Research International**, v. 48, n. 2, p. 410–427, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2012.05.004>>.

AYDAR, Elif Feyza; TUTUNCU, Sena; OZCELIK, Beraat. Plant-based milk substitutes: Bioactive compounds, conventional and novel processes, bioavailability studies, and health effects. **Journal of Functional Foods**, v. 70, n. December 2019, p. 103975, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.103975>>.

BANDLA, Srinivasarao et al. UV-C treatment of soymilk in coiled tube UV reactors for inactivation of *Escherichia coli* W1485 and *Bacillus cereus* endospores. **LWT - Food Science and Technology**, v. 46, n. 1, p. 71–76, abr. 2012.

BAUMANN, Adam R.; MARTIN, Scott E.; FENG, Hao. Removal of *Listeria monocytogenes* biofilms from stainless steel by use of ultrasound and Ozone. **Journal of Food Protection**, v. 72, n. 6, p. 1306–1309, 2009.

BAYSAL, Taner; DEMIRDÖVEN, Aslihan. Lipoxygenase in fruits and vegetables: A review. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 40, n. 4, p. 491–496, 2007.

BHAT, Rajeev et al. Sonication improves kasturi lime (*Citrus microcarpa*) juice quality. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 18, n. 6, p. 1295–1300, 2011. Disponível em:

<<http://dx.doi.org/10.1016/j.ultsonch.2011.04.002>>.

BHAT, Rajeev; GOH, Kok Ming. Sonication treatment convalesce the overall quality of hand-pressed strawberry juice. **Food Chemistry**, v. 215, p. 470–476, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.07.160>>.

BORDINGNON, José Renato; MANDARINO, José Marcos Goniiio. Soja: composição química, valor nutricional e sabor. **Soja: composição química, valor nutricional e sabor.**, p. 32, 1994.

BRUNO, Luciano; SILVA, De Carvalho. IDENTIFICAÇÃO DE LIPOXIGENASES EM SEMENTES DE SOJA DE DIFERENTES LINHAGENS. 2004.

CAMACHO, J. L. et al. Direct consumption of the soybean. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 58, n. 3, p. 362–366, 1981.

CAMERON, Michelle; MCMASTER, Lynn D.; BRITZ, Trevor J. Erratum: Impact of ultrasound on dairy spoilage microbes and milk components (Dairy Science and Technology (2009) 89 (83-98)). **Dairy Science and Technology**, v. 90, n. 1, p. 119, 2010.

CARRILLO-LOPEZ, L. M. et al. Modification of food systems by ultrasound. **Journal of Food Quality**, v. 2017, 2017.

CASÉ, Fabiana; DELIZA, Rosires; ROSENTHAL, Amauri. Produção de “leite” de soja enriquecido com cálcio. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 1, p. 86–91, 2005.

CHEMAT, Farid; ZILL-E-HUMA; KHAN, Muhammed Kamran. Applications of ultrasound in food technology: Processing, preservation and extraction. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 18, n. 4, p. 813–835, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ultsonch.2010.11.023>>.

CHENG, X. F.; ZHANG, M.; ADHIKARI, B. The inactivation kinetics of polyphenol oxidase in mushroom (*Agaricus bisporus*) during thermal and thermosonic treatments. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 20, n. 2, p. 674–679, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ultsonch.2012.09.012>>.

CHIARELLO, Marileusa D. A soja e os alimentos funcionais: oportunidades de parcerias em P & D para os setores público e privado. 2002.

CIABOTTI, Sueli. Aspectos químico, físico-químico e sensorial de extratos de soja e tofus obtidos dos cultivares de soja convencional e livre de lipoxigenase. p. 135, 2004.

CONAB. Acompanhamento da safra brasileira 2019/2020. **Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos 2019/2020**, v. 8, p. 1–29, 2020.

CRUZ-CANSINO, Nelly del Socorro et al. Effect of ultrasound on survival and growth of *Escherichia coli* in cactus pear juice during storage. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 47, n. 2, p. 431–437, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.bjm.2016.01.014>>.

CRUZ, N. et al. Ultra high pressure homogenization of soymilk: Microbiological, physicochemical and microstructural characteristics. **Food Research International**, v. 40, n. 6, p. 725–732, 2007.

CRUZ, Rui M.S.; VIEIRA, Margarida C.; SILVA, Cristina L.M. Effect of heat and thermosonication treatments on peroxidase inactivation kinetics in watercress (*Nasturtium officinale*). **Journal of Food Engineering**, v. 72, n. 1, p. 8–15, 2006.

CUI, Hai Yan et al. Comparison of conventional and ultrasound-assisted methods for extraction of nutraceutical compounds from *Dendrobium candidum*. **CYTA - Journal of Food**, v. 12, n. 4, p. 355–359, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1080/19476337.2014.888482>>.

CULLEN, BRIJESH K. TIWARI AND VASILIS P. VALDRAMIDIS. **NOVEL THERMAL AND NON-THERMAL TECHNOLOGIES FOR FLUID FOODS**. [S.l.: s.n.], 2012. Disponível em: <[http://www.ghbook.ir/index.php?name=فرهنگ و های رسانه و نوین&option=com\\_dbook&task=readonline&book\\_id=13650&page=73&chkhask=ED9C9491B4&Itemid=218&lang=fa&tmpl=component](http://www.ghbook.ir/index.php?name=فرهنگ و های رسانه و نوین&option=com_dbook&task=readonline&book_id=13650&page=73&chkhask=ED9C9491B4&Itemid=218&lang=fa&tmpl=component)>.

D'AMICO, Dennis J. et al. Inactivation of microorganisms in milk and apple cider treated with ultrasound. **Journal of Food Protection**, v. 69, n. 3, p. 556–563, 2006.

DOLAS, Rupali; SARAVANAN, Chakkaravarthi; KAUR, Barjinder Pal. Emergence and era of ultrasonic's in fruit juice preservation: A review. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 58, n. May, p. 104609, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2019.05.026>>.

EMBRAPA SOJA, Brazilian Agricultural Research Corporation. **O complexo agroindustrial da soja**. [S.l: s.n.], 2007

FAHMI, Ronak et al. Effect of ultrasound assisted extraction upon the Genistin and Daidzin contents of resultant soymilk. **Journal of Food Science and Technology**, v. 51, n. 10, p. 2857–2861, 2014.

FELLOWS, P. Food processing technology. **Engineers Australia**, v. 72, n. 12, p. 64, 2000.

FENG, H.; YANG, W.; HIELSCHER, T. Power ultrasound. **Food Science and Technology International**, v. 14, n. 5, p. 433–436, 2008.

GABRIEL, Alonzo A. Inactivation behaviors of foodborne microorganisms in multi-frequency power ultrasound-treated orange juice. **Food Control**, v. 46, p. 189–196, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.05.012>>.

GAMBOA-SANTOS, Juliana et al. Effects of conventional and ultrasound blanching on enzyme inactivation and carbohydrate content of carrots. **European Food Research and Technology**, v. 234, n. 6, p. 1071–1079, 2012.

GHOSH, Sunandita. Thermosonication as an Upcoming Technology in the Dairy Industry: An Overview. **Advances in Dairy Research**, v. 05, n. 03, p. 20–21, 2017.

GOGATE, Parag R.; TAYAL, Rajiv K.; PANDIT, Aniruddha B. Cavitation: A technology on the horizon. **Current Science**, v. 91, n. 1, p. 35–46, 2006.

GUERREIRO, Lilian. Dossiê técnico: Produtos de soja. **SBRT - Serviço Brasileiro de Respostas Técnicas**, p. 1–26, 2006. Disponível em: <<http://www.sbrt.ibict.br>>.

GUERRERO-BELTRÁN, JOSÉ A. et al. INACTIVATION KINETICS OF LIPOXYGENASE IN PRESSURIZED RAW SOYMILK AND SOYMILK FROM HIGH-PRESSURE TREATED SOYBEANS. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 33, n. 2, p. 143–158, abr. 2009. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/j.1745-4549.2008.00234.x>>. Acesso em: 12 nov. 2019.

IEAG. INSTITUTO DE ESTUDOS DO AGRONEGÓCIO. O Futuro da Soja Nacional – Impactos Sócioeconômicos da Ferrugem Asiática na Cadeia da Soja nos próximos dez anos. p. 28, 2015. Disponível em: <<http://www.abag.com.br/media/images/0-futuro-da-soja-nacional---ieag---abag.pdf>>.

ILLERA, A. E. et al. Effect of thermosonication batch treatment on enzyme inactivation kinetics and other quality parameters of cloudy apple juice. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 47, n. February, p. 71–80, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ifset.2018.02.001>>.

ISLAM, Md Nahidul; ZHANG, Min; ADHIKARI, Benu. The Inactivation of Enzymes by Ultrasound—A Review of Potential Mechanisms. **Food Reviews International**, v. 30, n. 1, p. 1–21, 2014.

JABBAR, Saqib et al. Exploring the potential of thermosonication in carrot juice processing. **Journal of Food Science and Technology**, v. 52, n. 11, p. 7002–7013, 2015.

JASTI, Lakshmi Swarnalatha; LAVANYA, Kuna; FADNAVIS, Nitin W. Adsorption induced denaturation: application to denaturation of soybean trypsin inhibitor (SBTI) and lipoxygenase (LOX) in soymilk. **Biotechnology Letters**, v. 37, n. 1, p. 147–151, 2015.

JIANG, Lianzhou et al. Effects of ultrasound on the structure and physical properties of black bean protein isolates. **Food Research International**, v. 62, p. 595–601, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2014.04.022>>.

JIANG, Yiming et al. Inactivation of lipoxygenase in soybean by radio frequency treatment. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 53, n. 12, p. 2738–2747, 2018.

KADKHODAEI, Rassoul; POVEY, Malcolm J.W. Ultrasonic inactivation of *Bacillus*  $\alpha$ -amylase. I. effect of gas content and emitting face of probe. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 15, n. 2, p. 133–142, 2008.

KHANDPUR, Paramjeet; GOGATE, Parag R. Effect of novel ultrasound based processing on the nutrition quality of different fruit and vegetable juices. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 27, p. 125–136, 2015.

KOHLI, Deepika et al. Preservation and processing of soymilk: A review. **International Journal of Food Science and Nutrition**, v. 2, n. 6, p. 66–70, 2017.

KOSHANI, Roya et al. Optimization of Thermal and Thermosonication Treatments on Pectin Methyl Esterase Inactivation of Sour Orange Juice (*Citrus aurantium*). **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 39, n. 6, p. 567–573, 2015.

KWOK, Kin-Chor; NIRANJAN, KESHAVAN. Review: Effect of thermal processing on soymilk. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 30, n. 3, p. 263–295, 1995.

KWOK, Kin Chor; LIANG, Han Hua; NIRAJAN, Keshavan. Optimizing conditions for thermal processes of soy milk. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 17, p. 4834–4838, 2002.

LAKSHMANAN, Ramamoorthi; DE LAMBALLERIE, Marie; JUNG, Stephanie. Effect of soybean-to-water ratio and pH on pressurized soymilk properties. **Journal of Food Science**, v. 71, n. 9, 2006.

LI, Fa De et al. Effect of Ohmic Heating of Soymilk on Urease Inactivation and Kinetic Analysis in Holding Time. **Journal of Food Science**, v. 80, n. 2, p. E307–E315, 2015.

LI, Ying-Qiu et al. Inactivation of soybean lipoxygenase in soymilk by pulsed electric fields. **Food Chemistry**, v. 109, n. 2, p. 408–414, 15 jul. 2008. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814608000204>>. Acesso em: 31 out. 2019.

LI, Ying Qiu et al. Effects of Pulsed Electric Field Processing on Quality Characteristics and Microbial Inactivation of Soymilk. **Food and Bioprocess Technology**, v. 6, n. 8, p. 1907–1916, 2013.

LU, Lu et al. Comparative Effects of Ohmic, Induction Cooker, and Electric Stove Heating on Soymilk Trypsin Inhibitor Inactivation. **Journal of Food Science**, v. 80, n. 3, p. C495–C503, mar. 2015. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/1750-3841.12773>>. Acesso em: 3 fev. 2020.

LU, Xu et al. Effect of high-intensity ultrasound irradiation on the stability and structural features of coconut-grain milk composite systems utilizing maize kernels and starch with different amylose contents. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 55, n. March, p. 135–148, 2019.

LUDI KHUYZE, L. R. et al. High pressure and thermal denaturation kinetics of soybean lipoxygenase: A study based on gel electrophoresis. **LWT - Food Science and Technology**, v. 31, n. 7–8, p. 680–686, 1998.

MA, Yurong; HUANG, Huihua. Characterisation and comparison of phenols, flavonoids and isoflavones of soymilk and their correlations with antioxidant activity. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 49, n. 10, p. 2290–2298, 2014.

MAGHSOUDLOU, Yahya et al. Optimization of Ultrasound-Assisted Stabilization and Formulation of Almond Milk. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 40, n. 5, p. 828–839, 2016.

MAJID, Ishrat; NAYIK, Gulzar Ahmad; NANDA, Vikas. Ultrasonication and food technology: A review. **Cogent Food & Agriculture**, v. 1, n. 1, 2015. Disponível em:

<<http://dx.doi.org/10.1080/23311932.2015.1071022>>.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, Pecuária e Abastecimento Secretaria de Política Agrícola. PROJEÇÕES DO AGRONEGÓCIO Brasil 2019 / 20 a 2029 / 30 Projeções de Longo Prazo. **Mapa**, 2020.

MORALES-DE LA PEÑA, M. et al. Impact of high intensity pulsed electric field on antioxidant properties and quality parameters of a fruit juice-soymilk beverage in chilled storage. **LWT - Food Science and Technology**, v. 43, n. 6, p. 872–881, 2010.

MULET, Antonio et al. Noninvasive ultrasonic measurements in the food industry. **Food Reviews International**, v. 18, n. 2–3, p. 123–133, 2002.

NUNES, Cleiton A. et al. Chemoface: A novel free user-friendly interface for chemometrics. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 23, n. 11, p. 2003–2010, 2012.

O'DONNELL, C. P. et al. Effect of ultrasonic processing on food enzymes of industrial importance. **Trends in Food Science and Technology**, v. 21, n. 7, p. 358–367, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2010.04.007>>.

ODENATH PENHA, Luiz Antonio et al. 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.

OLADUNJOYE, Adebola O. et al. Effect of thermosonication on quality attributes of hog plum (*Spondias mombin* L.) juice. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 70, 1 jan. 2021.

PALA, Çiğdem Uysal; ZORBA, Nükhet Nilüfer Demirel; ÖZCAN, Gulçin. Microbial inactivation and physicochemical properties of ultrasound processed pomegranate juice. **Journal of Food Protection**, v. 78, n. 3, p. 531–539, 2015.

PAULA PEREIRA, Fabiana et al. Avaliação Comparativa Da Composição Nutricional Do Leite De Soja Em Relação Ao Leite De Vaca Com E Sem Lactose. **Revista Acadêmica Conecta FASF**, v. 2, n. 1, p. 378–392, 2017.

PIYASENA, Punidadas et al. Radio Frequency Heating of Foods: Principles, Applications and Related Properties - A Review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 43, n. 6, p. 587–606, 2003.

POLISELI-SCOPEL, Fábio H. et al. Characterisation of volatile profile in soymilk treated by ultra high pressure homogenisation. **Food Chemistry**, v. 141, n. 3, p. 2541–2548, 2013.

\_\_\_\_\_. Comparison of ultra high pressure homogenization and conventional thermal treatments on the microbiological, physical and chemical quality of soymilk. **LWT - Food Science and Technology**, v. 46, n. 1, p. 42–48, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2011.11.004>>.

POLISELI-SCOPEL, Fábio Henrique et al. Characteristics of soymilk pasteurized by ultra high pressure homogenization (UHPH). **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 20, p. 73–80, 1 out. 2013. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S146685641300091X>>. Acesso em: 5 nov. 2019.

\_\_\_\_\_. Sterilization and aseptic packaging of soymilk treated by ultra high pressure homogenization. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 22, p. 81–88, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ifset.2014.01.001>>.

POSSAS, Arícia et al. Influence of temperature on the inactivation kinetics of Salmonella Enteritidis by the application of UV-C technology in soymilk. **Food Control**, v. 94, p. 132–139, 1 dez. 2018. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956713518303232>>. Acesso em: 31 out. 2019.

POVEY, M. J.W.; MCCLEMENTS, D. J. Ultrasonics in food engineering. Part I: Introduction and experimental methods. **Journal of Food Engineering**, v. 8, n. 4, p. 217–245,

1988.

RASO, Javier et al. Influence of different factors on the output power transferred into medium by ultrasound. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 5, n. 4, p. 157–162, 1999.

RAVIYAN, P.; ZHANG, Z.; FENG, H. Ultrasonication for tomato pectinmethylesterase inactivation: Effect of cavitation intensity and temperature on inactivation. **Journal of Food Engineering**, v. 70, n. 2, p. 189–196, 2005.

RAWSON, A. et al. Effect of thermosonication on bioactive compounds in watermelon juice. **Food Research International**, v. 44, n. 5, p. 1168–1173, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2010.07.005>>.

REILLY, Jennifer K. et al. Acceptability of soymilk as a calcium-rich beverage in elementary school children. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 106, n. 4, p. 590–593, 2006.

RIBEIRO, Mariana de Matos et al. Synergistic effect of thermosonication to reduce enzymatic activity in coconut water. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 41, n. April, p. 404–410, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ifset.2017.04.013>>.

RIVAS, Enrique Ortega-. **NON-THERMAL FOOD ENGINEERING OPERATIONS**. [S.l: s.n.], 2012. v. 53.

RODRÍGUEZ-ROQUE, María Janeth et al. Soymilk phenolic compounds, isoflavones and antioxidant activity as affected by in vitro gastrointestinal digestion. **Food Chemistry**, v. 136, n. 1, p. 206–212, 1 jan. 2013.

ROSENTHAL, Amauri et al. Effect of Enzymatic treatment and filtration on sensory characteristics and physical stability of soymilk. **Food Control**, v. 14, n. 3, p. 187–192, 2003.

SALA, F. J. et al. Effect of heat and ultrasound on microorganisms and enzymes. **New Methods of Food Preservation**, p. 176–204, 1995.

SALVE, Akshata R.; PEGU, Kakoli; ARYA, Shalini S. Comparative assessment of high-intensity ultrasound and hydrodynamic cavitation processing on physico-chemical properties and microbial inactivation of peanut milk. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 59, n. August, p. 104728, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2019.104728>>.

SASTRY, Sudhir K.; SALENGKE, S. Ohmic heating of solid-liquid mixtures: A comparison of mathematical models under worst-case heating conditions. **Journal of Food Process Engineering**, v. 21, n. 6, p. 441–458, 1998.

SECRETARIA DE ESTADO DE AGRICULTURA, Pecuária e Abastecimento De Minas Gerais. Perfil Mundial. **SUPEA, SIEA**, p. 88, 2020.

SILVA, Francisco A.M.; BORGES, M. Fernanda M.; FERREIRA, Margarida A. Métodos para avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante. **Química Nova**, v. 22, n. 1, p. 94–103, 1999.

SMITA U KHODKE, KIRAN S SHINDE, Govind B yenge. A Study on the Storage of sterilized soymilk. **International Journal of farm sciences**, v. 61, n. 2, p. 166–179, 2015.

Soja a Soja : História , Tendências E Virtudes. p. 28–40, 2004.

SORGENTINI, Delia A.; WAGNER, Jorge R.; AÑÓN, María Cristina. Effects of Thermal Treatment of Soy Protein Isolate on the Characteristics and Structure-Function Relationship of Soluble and Insoluble Fractions. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 43, n. 9, p. 2471–2479, 1995.

SULAIMAN, Alifdalino et al. Thermosonication for polyphenoloxidase inactivation in fruits: Modeling the ultrasound and thermal kinetics in pear, apple and strawberry purees at different temperatures. **Journal of Food Engineering**, v. 165, p. 133–140, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2015.06.020>>.

SUN, Da Wen. **Emerg. Technol. Food Process**. [S.l: s.n.], 2014.

TASHIMA, EDUARDO HIDEKI; CARDELLO, HELENA MARIA ANDRÉ BOLINI. PERFIL SENSORIAL DE EXTRATO HIDROSSOLÚVEL DE SOJA ( Glicine Max L. Merrill)

COMERCIAL ADOÇADO COM SACAROSE E COM SUCRALOSE. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 21, n. 2, p. 409–428, 2003.

TEREFE, Netsanet Shiferaw et al. The kinetics of inactivation of pectin methylesterase and polygalacturonase in tomato juice by thermosonication. **Food Chemistry**, v. 117, n. 1, p. 20–27, 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.03.067>>.

TIAN, Zhong Min et al. Effects of ultrasound and additives on the function and structure of trypsin. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 11, n. 6, p. 399–404, 2004.

TIWARI, B. K. et al. Inactivation kinetics of pectin methylesterase and cloud retention in sonicated orange juice. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 10, n. 2, p. 166–171, 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ifset.2008.11.006>>.

VAGADIA, Brinda Harish et al. Comparison of conventional and microwave treatment on soymilk for inactivation of trypsin inhibitors and in vitro protein digestibility. **Foods**, v. 7, n. 1, p. 1–14, 2018.

VASCONCELOS, M. A. S. **Conserv. Aliment.** [S.l: s.n.], 2010. Disponível em: <[http://redeotec.mec.gov.br/images/stories/pdf/eixo\\_prod\\_alim/tec\\_alim/181012\\_con\\_alim.pdf](http://redeotec.mec.gov.br/images/stories/pdf/eixo_prod_alim/tec_alim/181012_con_alim.pdf)>.

VEGA-MERCADO, Humberto et al. Non-thermal food preservation: Pulsed electric fields. **Trends in Food Science & Technology**, v. 8, n. 5, p. 151–157, 1 maio 1997. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0924224497010169>>. Acesso em: 14 dez. 2019.

VERCET, Antonio et al. The effects of manothermosonication on tomato pectic enzymes and tomato paste rheological properties. **Journal of Food Engineering**, v. 53, n. 3, p. 273–278, 2002.

VOLLMER, Amy C. et al. Bacterial stress responses to 1-megahertz pulsed ultrasound in the presence of microbubbles. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 64, n. 10, p. 3927–3931, 1998.

WU, J. et al. Effect of thermosonication on quality improvement of tomato juice. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 9, n. 2, p. 186–195, 2008.

YUAN, Shaohong et al. Elimination of trypsin inhibitor activity and beany flavor in soy milk by consecutive blanching and ultrahigh-temperature (UHT) processing. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, n. 17, p. 7957–7963, 2008.

ZAFRA-ROJAS, Quinatzin Yadira et al. Effects of ultrasound treatment in purple cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) juice. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 20, n. 5, p. 1283–1288, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ultsonch.2013.01.021>>.

ZAKIR, Mayara Miranda; FREITAS, Irene Rodrigues. Benefícios à saúde humana do consumo de isoflavonas presentes em produtos derivados da soja. **Journal of Bioenergy and Food Science**, v. 2, n. 3, p. 107–116, 2015.

ZHANG, Zhongyuan et al. Low intensity ultrasound as a pretreatment to drying of daylilies: Impact on enzyme inactivation, color changes and nutrition quality parameters. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 36, p. 50–58, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.11.007>>.

**SEGUNDO CAPÍTULO: ARTIGO**

**AVALIAÇÃO DA TERMOSSONICAÇÃO NA INATIVAÇÃO DA LIPOXIGENASE  
DO EXTRATO HIDROSSOLÚVEL DE SOJA**

*Normas da Revista Innovative Food Science and Emerging Technologies –  
ISSN: 1466-8564 (versão preliminar)*

**Bruna Vieira Nunes<sup>1</sup>; Lizzy Ayra Alcântara Veríssimo<sup>2</sup>; Vanessa Rios de Souza<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Federal University of Lavras, Food Science Department  
Lavras, Minas Gerais, 37200-000, Brazil  
Email: bruna.nunes3@estudante.ufla.br

<sup>2</sup>Federal University of Lavras, Food Science Department  
Lavras, Minas Gerais, 37200-000, Brazil  
Email: lizzy.alcantara@ufla.br  
Phone: (+55)35-3829-4643

<sup>3</sup>Federal University of Lavras, Food Science Department  
Lavras, Minas Gerais, 37200-000, Brazil  
Email: vanessa.souza@ufla.br  
Phone: +5535-3829-4615

**Corresponding author:**

Lizzy Ayra Alcântara Veríssimo  
Federal University of Lavras, Food Science Department  
Lavras, Minas Gerais, 37200-000, Brazil  
E-mail: [lizzy.alcantara@ufla.br](mailto:lizzy.alcantara@ufla.br)

**ABSTRACT:** O extrato hidrossolúvel de soja (EHS) é nutritivo e altamente perecível, sendo necessário ser submetido a um método de conservação adequado. O ultrassom combinado com o calor (termossonicação) pode ser uma alternativa capaz de reduzir os efeitos indesejáveis causados pelo tratamento térmico convencional a este produto. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da termossonicação na inativação da enzima lipoxigenase do EHS em duas condições de amplitudes ultrassônicas (70% e 90%). Para tanto, empregou-se um delineamento compostos central rotacional (DCCR) a fim de avaliar o efeito da temperatura (62 °C a 83 °C) e do tempo (2 a 4 minutos) de termossonicação na inativação da lipoxigenase (LOX). Amostras de EHS fresco e submetidas a termossonicação na amplitude de 70% (80 °C/2 min) e 90% (83 °C/3 min) e a um tratamento térmico convencional (83 °C/3 min) foram caracterizadas quanto aos parâmetros de cor ( $L^*$   $a^*$   $b^*$ ), pH, sólidos solúveis totais (°Brix) e conteúdo fenólico total. Nas condições experimentais avaliadas, não foi observado um efeito sinérgico do ultrassom e calor na inativação da LOX. Embora não tenha sido observado um efeito expressivo do ultrassom com a temperatura, foi observado um efeito desejável em relação ao teor nutricional, visto que a termossonicação minimizou a perda do conteúdo fenólico total.

*Industrial relevance text:* Ao investigar o efeito da termossonicação no processamento do extrato hidrossolúvel de soja, este trabalho demonstrou que o efeito sinérgico da temperatura e ultrassom é altamente dependente da matriz alimentícia e isoformas da enzima lipoxigenase. Nas condições experimentais estudadas, a termossonicação não apresentou um potencial claro para reduzir a rigidez do tratamento térmico convencional.

**KEYWORDS:** Extrato Hidrossolúvel de soja. Inativação enzimática. Lipoxigenase. Termossonicação. Ultrassom.

## 1 INTRODUÇÃO

O extrato hidrossolúvel de soja (EHS), emulsão aquosa resultante da hidratação dos grãos de soja, é um alimento reconhecido por sua riqueza nutricional, pelo baixo teor de gordura, bem como ausência de lactose e colesterol (JASTI; LAVANYA; FADNAVIS, 2015; POSSAS *et al.*, 2018). Nos últimos anos, o consumo desta bebida vem aumentando significativamente, principalmente entre consumidores intolerantes à lactose, vegetarianos, veganos e/ou por aqueles que buscam dietas mais saudáveis (ABATH, 2013; KOHLI *et al.*, 2017; MA; HUANG, 2014).

Devido à natureza da sua constituição como a riqueza nutricional, pH neutro, alta atividade de água e presença de diversas enzimas deterioradoras como a lipoxigenase, o EHS é naturalmente susceptível à degradação enzimática e microbiológica, sendo portanto um produto altamente perecível (CHEMAT; ZILL-E-HUMA; KHAN, 2011; KWOK, KIN-CHOR -C; NIRANJAN, 1995). Dessa forma, com o intuito de garantir a segurança alimentar e estender a vida útil, este alimento deve ser submetido a processos de conservação adequados, imediatamente após sua obtenção (KWOK, KIN-CHOR -C; NIRANJAN, 1995; POSSAS *et al.*, 2018). Usualmente, o tratamento térmico aplicado ao EHS é definido em função da capacidade de promover a inativação da enzima lipoxigenase (indicador biológico), devido a seus efeitos indesejáveis no produto, como a rancificação, e à sua alta resistência térmica. A LOX (linoleato: oxigênio oxidoreductase E.C. 1.13.11.12) catalisa a reação de hidroperoxidação, ou seja, a adição de oxigênio molecular às moléculas de ácidos graxos poliinsaturados contendo o *cis*, *cis*-1,4-pentadieno (GUERRERO-BELTRÁN, ESTRADA-GIRÓN, SWANSON, & BARBOSA-CÁNOVAS, 2009). Essas reações indesejáveis sobre os ácidos graxos promovem sua degradação e liberação de compostos voláteis e não voláteis responsáveis pelos sabores indesejáveis (BORDINGNON; MANDARINO, 1994; POLISELI-SCOPEL, Fábio H. *et al.*, 2013).

As LOXs vegetais são proteínas monoméricas de cerca de 95–100 kDa (mil daltons), sendo que o metal do sítio é octaedricamente coordenado por 5 cadeias laterais de cinco aminoácidos e um ligante de água ou hidroxila. No caso de LOXs de plantas, esses resíduos são sempre três histidinas, uma asparagina e uma isoleucina (ANDREOU; FEUSSNER, 2009). As isoenzimas da LOX são proteínas globulares que possuem um átomo de ferro não-heme em sua molécula, constituindo-se como grupamento prostético, imprescindível para desempenho da função de catálise enzimática (FOX APUD CIABOTTI, 2004). Ao catalisar a adição de oxigênio ao ácido linolênico e linoleico, ácidos graxos presentes no EHS, há formação de

hidroperóxidos que se envolvem em reações deteriorativas, resultando na formação de produtos voláteis que levam à modificação do *flavor* original e o aparecimento de odores e gostos característicos do ranço (SILVA, 2004).

O calor é o método de conservação comumente empregado na conservação do EHS, garantindo sua segurança alimentar e extensão da vida útil (KWOK & NIRANJAN, 1995; KWOK *et al.*, 2002). Entretanto, o calor também pode ocasionar alterações indesejáveis, como desnaturação de proteínas, deterioração de aminoácidos e reações que culminam na depreciação da qualidade sensorial e valor nutricional da bebida (AMITABH *et al.*, 2017; ANAYA-ESPARZA *et al.*, 2017; FELLOWS, 2000; SUN, 2014).

Dessa forma, diante dos efeitos indesejáveis e da ânsia dos consumidores por alimentos de qualidade, surge a necessidade de técnicas de conservação alternativas, que minimizem os danos causados pelo tradicional tratamento térmico. Neste contexto, várias tecnologias emergentes, tanto térmicas quanto não térmicas, já vindo sendo investigadas no extrato hidrossolúvel de soja, incluindo o aquecimento ôhmico (AMITABH *et al.*, 2017; LI, Fa De *et al.*, 2015; SASTRY; SALENGKE, 1998), microondas (VAGADIA *et al.*, 2018), alta pressão (ANDRÉS *et al.*, 2016; POLISELI-SCOPEL, FÁBIO H. *et al.*, 2012), ultravioleta (BANDLA *et al.*, 2012) e luz pulsada (ALHENDI *et al.*, 2017). Dentre as tecnologias não térmicas, pode-se destacar o ultrassom como uma técnica promissora, que apesar de apresentar resultados satisfatórios em diversos produtos, ainda não foi investigada para o extrato hidrossolúvel de soja.

O ultrassom consiste em ondas sonoras que possuem frequência acima de 16 kHz não sendo detectadas pelo ouvido humano (CHEMAT; ZILL-E-HUMA; KHAN, 2011). É uma tecnologia emergente que garante a qualidade e a preservação dos alimentos devido ao processamento mínimo, geralmente em temperatura ambiente ou amenas (AWAD *et al.*, 2012; CARRILLO-LOPEZ *et al.*, 2017; MAJID; NAYIK; NANDA, 2015; O'DONNELL *et al.*, 2010; SUN, 2014). A inativação enzimática através do ultrassom está relacionada ao fenômeno de cavitação, que envolve a formação, crescimento e implosão de bolhas quando o meio líquido é submetido a ondas sonoras (PIYASENA *et al.*, 2003). O colapso das bolhas de cavitação leva a efeitos mecânicos e químicos relacionados a ações locais (temperaturas de até 5.000K e pressões de até 50.000 kPa) (KOSHANI *et al.*, 2015), que acarretam na inativação enzimática (ANAYA-ESPARZA *et al.*, 2017). Já as mudanças de pressão que ocorrem com essas implosões são o principal mecanismo de ruptura das células microbianas (GOGATE; TAYAL; PANDIT, 2006).

Quando utilizado isoladamente, o ultrassom pode não ser tão eficiente, de forma que para se alcançar resultados significativos, seja conveniente a combinação com outras técnicas de conservação, como calor e pressão (AADIL *et al.*, 2015; CHEMAT; ZILL-E-HUMA; KHAN, 2011; DOLAS; SARAVANAN; KAUR, 2019). A termossonicação envolve o uso simultâneo de ondas de ultrassom de baixa frequência associado a temperaturas mais amenas do que aquelas utilizadas no processamento térmico convencional (AADIL *et al.*, 2015; ABDULLAH; CHIN, 2014; DOLAS; SARAVANAN; KAUR, 2019; GHOSH, 2017). Quando combinado com calor, o ultrassom pode apresentar um efeito sinérgico, acelerando as taxas de inativação microbiológica e enzimática e, conseqüentemente, reduzindo a rigorosidade dos tradicionais tratamentos térmicos. Com isso, além de diminuir a temperatura e/ou o tempo de processamento, esta técnica apresenta um potencial de minimizar alterações indesejáveis na qualidade nutricional e sensorial do alimento tratado (AADIL *et al.*, 2015; ILLERA *et al.*, 2018; ZHANG *et al.*, 2017). Vários estudos vêm elucidando o potencial da termossonicação na inativação enzimática em produtos como água de coco (RIBEIRO *et al.*, 2017), cogumelo (CHENG; ZHANG; ADHIKARI, 2013), agrião (CRUZ, Rui M.S.; VIEIRA; SILVA, 2006), sucos de toranja (AADIL *et al.*, 2015), maçã (ILLERA *et al.*, 2018), laranja (KOSHANI *et al.*, 2015), tomate (TEREFE *et al.*, 2009) e purês de pêra, maçã e morango (SULAIMAN *et al.*, 2015), leite de avelã (ATALAR *et al.*, 2019) e bebida fermentada (ALCÁNTARA-ZAVALA *et al.*, 2021).

Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da termossonicação na inativação da enzima lipoxigenase em extrato hidrossolúvel de soja, sob diferentes amplitudes ultrassônicas. Um delineamento composto central rotacional (DCCR) foi empregado a fim de estudar a influência dos parâmetros independentes temperatura e tempo de termossonicação na atividade residual da LOX em EHS. Posteriormente, o efeito sinérgico do ultrassom e calor na inativação da LOX foi avaliado e comparado a condições de tratamentos térmicos convencionais. Por fim, amostras de EHS foram caracterizadas por análises físico-químicas e conteúdo fenólico total.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Materiais

Ácido bórico, cloreto de potássio, álcool etílico, ácido linoleico, listar os materiais usados ao longo dos experimentos, citando o nome do reagente, pureza/concentração, marca, país de origem. Exemplo: ácido linoleico, álcool etílico, borato (de que?), etc

### 2.2 Preparo do Extrato Hidrossolúvel de Soja

O extrato hidrossolúvel de soja foi obtido conforme as etapas descritas na Figura 1. Os grãos de soja, adquiridos no comércio local de Lavras (Minas Gerais, Brasil), foram pesados e embebidos em água destilada, durante 20 horas, na proporção de 1:3 (m/v) (GUERREIRO, 2006). Após este período, a água remanescente foi descartada e os grãos foram lavados com água destilada. Em seguida, os grãos intumescidos foram moídos em liquidificador industrial (63 SHOP, Alta rotação 2L, Brasil) por 2 minutos, com adição de água seguindo a mesma proporção da etapa anterior. Para remoção do material insolúvel, o extrato obtido foi filtrado manualmente em tecido de nylon e em seguida, centrifugado (THERMO CIENTIFIC, SL16/16R, EUA) a 4 °C por 20 minutos na velocidade 10.000 × g. Por fim, o sobrenadante foi recolhido e configurou-se como o extrato hidrossolúvel de soja utilizado nos experimentos. Este foi acondicionado em frascos de vidro âmbar e conservado sob refrigeração (~5 °C) até o momento do tratamento por termossonicação e tratamento térmico convencional.

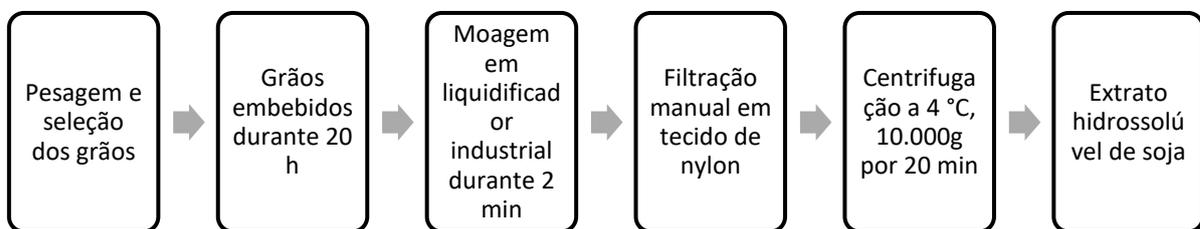


Figura 1 - Processo de obtenção do Extrato Hidrossolúvel de Soja  
Fonte: Autor (2020)

### 2.3 Ensaio preliminares

Baseado em trabalhos de Kwok & Niranjana (1995), Kwok *et al.* (2002) e Vagadia *et al.* (2018), foi definida a faixa de estudo para avaliar a influência das variáveis independentes temperatura (°C) e tempo (min) de tratamento térmico sobre a inativação da LOX do EHS. Os experimentos preliminares foram conduzidos em um delineamento fatorial completo 3×3, com 3 níveis de temperatura (70 °C, 80 °C e 90 °C) e 3 níveis de tempo (3, 5 e 8 min), totalizando 9 tratamentos. Todos os experimentos foram realizados em 3 repetições para cálculo da média e desvio padrão.

Inicialmente as amostras foram pré-aquecidas até a temperatura definida pelo delineamento fatorial para cada tratamento, por meio da imersão de 50 mL de extrato hidrossolúvel de soja (acondicionado em béquer de vidro) em um banho-maria (Modelo Q215S2 – QUIMIS, BRASIL) a 90 °C (TEREFE *et al.*, 2009). A temperatura foi controlada por meio de um termômetro (KASVI, CHINA) imerso no líquido. Após ser atingida a temperatura de trabalho, o béquer contendo a amostra foi transferido para um banho-maria (Modelo Q215S2 – QUIMIS, BRASIL) ajustado com a temperatura de teste, onde permaneceu durante o período de tempo pré-estabelecido (3, 5 e 8 min). Após cada tratamento, as amostras foram imediatamente resfriadas em banho de gelo até 4°C e a atividade enzimática da LOX foi determinada conforme descrito no item 2.3.

Os resultados experimentais obtidos no delineamento fatorial 3×3 foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA), ao nível de significância de 5% probabilidade. Todas as análises estatísticas foram realizadas no pacote estatístico SAS<sup>®</sup> University Edition (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA).

### 2.4 Atividade enzimática da lipoxigenase

A atividade da enzima lipoxigenase no EHS previamente termossonicado foi determinada de acordo com a metodologia descrita por Li *et al.* (2008, 2013). Inicialmente, 0,1 mL de cada amostra foram pipetados em tubos de ensaio de 25 mL e diluídos com a adição de 19 mL de água destilada. A solução diluída foi armazenada para uso posterior.

A solução substrato foi preparada imediatamente antes da realização das análises de atividade enzimática. Essa solução foi composta de ácido linoleico: álcool etílico: tampão borato (pH 9,0) 0,2 mol/L (1: 1: 1.000 v/v), totalizando 5 mL, que foram misturados em 20 mL de tampão borato (pH 9,0) 0,2 mol/L e 5 mL de água destilada. Em seguida, 2 mL desta solução substrato e 0,95 mL do tampão borato (pH 9,0) 0,2 mol/L foram pipetados em uma cubeta de quartzo, misturados por inversão a 25 °C. Após, 0,05 mL da amostra diluída foram adicionados

à cubeta de quartzo e imediatamente misturada por inversão. O decréscimo da absorvância foi observado em espectrofotômetro VIS 190-1100nm (DRAWELL, DU-8200, CHINA) ajustado no comprimento de onda de 234 nm (Li *et al.* (2008), durante 3 minutos, para a obtenção da velocidade máxima da atividade enzimática  $(\Delta A_{234}/min)_{enzima}$ . Uma unidade de atividade (U) foi definida como a quantidade de enzima necessária para produzir um decréscimo de 0,001 na densidade óptica por minuto (JIANG, *et al.*, 2018). A cada leitura, o equipamento foi zerado com o branco, substituindo o extrato de soja por água destilada. Os ensaios foram realizados em triplicata.

A atividade enzimática foi calculada a partir da Equação (1).

$$AE = \frac{(\Delta A_{234}/min)_{enzima}}{0,001 \times 0,1} \times f \quad (1)$$

em que  $AE$  é a atividade enzimática (U/mL) da lipoxigenase no EHS;  $f$  é o fator de diluição da amostra de EHS;  $(\Delta A_{234}/min)_{enzima}$  é a velocidade máxima da atividade enzimática (U)

A inativação da LOX foi avaliada por meio da determinação da atividade residual ( $AR$ , %) da lipoxigenase no EHS, definida de acordo com a Equação (2):

$$AR = \frac{AE}{AE_0} \times 100 \quad (2)$$

em que  $AE$  é a atividade enzimática (U/mL) da lipoxigenase na amostra de EHS após ser submetida ao processo de termossonicação e  $AE_0$  é a atividade enzimática (U/mL) inicial de lipoxigenase na amostra de EHS antes de ser submetida ao processamento térmico, ambas calculadas conforme a Equação (1).

## 2.5 Otimização das condições operacionais da termossonicação

Foi empregado o Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR)  $2^2 + 5$  pontos centrais + 2 pontos axiais (-1,41 e +1,41) a fim de otimizar as variáveis independentes temperatura ( $X_1$ ) e tempo ( $X_2$ ) quanto à minimização da atividade residual da lipoxigenase em EHS, conforme Tabela 1. Os experimentos do DCCR  $2^2$  foram realizados nas condições de amplitude ultrassônica de 70 e 90%. Todos os ensaios foram realizados em triplicata.

Tabela 1 – Variáveis codificadas e reais estudadas no DCCR 2<sup>2</sup>

Tratamentos	Variáveis codificadas		Variáveis reais	
	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>
1	-1	-1	65,0	2,0
2	-1	+1	65,0	4,0
3	+1	-1	80,0	2,0
4	+1	+1	80,0	4,0
5	1,41	0	61,9	3,0
6	+1,41	0	83,1	3,0
7	0	-1,41	72,5	1,6
8	0	+1,41	72,5	4,4
9	0	0	72,5	3,0
10	0	0	72,5	3,0
11	0	0	72,5	3,0
12	0	0	72,5	3,0
13	0	0	72,5	3,0

Inicialmente as amostras foram pré-aquecidas até a temperatura definida pelo delineamento experimental para cada tratamento por meio da imersão de 50 mL de extrato hidrossolúvel de soja (acondicionado em béquer de vidro) em um banho-maria (Modelo Q215S2 – QUIMIS, BRASIL) a 90 °C (TEREFE *et al.*, 2009). A temperatura foi controlada por meio de um termômetro (KASVI, CHINA) imerso no líquido. Após ser atingida a temperatura de trabalho, o béquer contendo a amostra foi transferido para o ultrassom QSonica (Ultronique, BRASIL) operando com frequência de 20 Hz e equipado com probe de titânio de 0,3 cm de diâmetro. A termossonicação ocorreu mediante a imersão de 0,5 cm da sonda em 50 mL de extrato hidrossolúvel de soja previamente aquecido. O tratamento foi conduzido durante o período de tempo pré-estabelecido no delineamento. A temperatura da amostra foi mantida durante todo o processo de termossonicação por meio de um béquer encamisado com circulação de água à temperatura de trabalho. A temperatura da amostra foi monitorada durante todo o processo (aquecimento da solução de EHS e tratamento por termossonicação) com auxílio de um termômetro (KASVI, CHINA). Após cada tratamento, as amostras foram imediatamente resfriadas em banho de gelo até 4 °C e a atividade enzimática da LOX foi determinada conforme descrito no item 2.3.

Os resultados obtidos no DCCR 2<sup>2</sup> foram submetidos à análise de regressão linear múltipla por meio do software SAS® University Edition (2016) e um modelo polinomial quadrático (Equação 3) foi ajustado aos dados.

$$\hat{y} = \beta_0 - \beta_i X_i - \beta_{ii} X_i^2 + \beta_{ij} X_i X_j + e \quad (3)$$

onde  $\hat{y}$  é a atividade residual da enzima (%),  $\beta_0$  é a intercessão do modelo,  $X_i$  e  $X_j$  são os níveis das variáveis independentes,  $e$  é o erro e  $\beta_i, \beta_{ii}, \beta_{ij}$  são os coeficientes linear, quadrático e de interação, respectivamente.

A acuidade dos modelos foi avaliada por meio de coeficiente de determinação múltipla ( $R^2$ ), significância do modelo matemático ( $p < 0,05$ ), falta de ajuste do modelo ( $p > 0,05$ ) e significância dos coeficientes da regressão ( $p < 0,05$ ). Coeficientes não significativos ( $p > 0,05$ ) foram agrupados no erro  $e$ . Para facilitar a visualização e identificação da condição experimental de minimização da atividade residual da LOX em EHS, foram gerados gráficos de contorno a partir dos valores preditos pelo modelo matemático obtido. Todas as análises estatísticas foram realizadas por meio do pacote estatístico Sigmaplot (versão 14.5 Systat Software).

## 2.6 Comparação com tratamento térmico convencional

A fim de comparar o efeito sinérgico do ultrassom e calor na inativação da LOX em relação ao tratamento térmico convencional, o extrato hidrossolúvel de soja foi submetido a um tratamento térmico tradicional (somente efeito do calor) seguindo as condições de temperatura e tempo avaliadas no DCCR 2<sup>2</sup>. Para isto, 50 mL de extrato hidrossolúvel de soja foram previamente pré-aquecidos em um banho-maria (Modelo Q215S2 – QUIMIS) a 90 °C, até a condição experimental estabelecida (Tabela 1). Após cada tratamento, as amostras foram resfriadas em banho de gelo e a atividade enzimática e atividade residual da LOX foram determinadas.

Os resultados de *AR* obtidos para o tratamento térmico convencional foram submetidos à análise de regressão e um modelo polinomial quadrático (Equação 3) foi ajustado. Todos os ensaios foram realizados em triplicata.

## 2.7 Cálculo da potência ultrassônica e energia acústica específica

Para se calcular a potência ultrassônica aplicada nas amostras, 50 mL do extrato hidrossolúvel de soja à temperatura ambiente (25 °C), contido em um béquer de vidro, foram submetidos ao tratamento ultrassônico nas duas condições de amplitude propostas (70% e 90%), pelos tempos de 2,3 e 4 min. Com o auxílio de um termômetro (KASVI, CHINA) e um cronômetro, o aumento da temperatura em função do tempo de sonicação foi registrado em intervalos de 30 segundos. Com estes dados, foi determinada inicialmente a potência (W) e

consequentemente a energia acústica específica (mW/mL) para cada condição de tempo e amplitude testadas (RIBEIRO *et al.*, 2017).

A potência de cada tratamento foi determinada por método calorimétrico através da Equação (4) proposta por Baumann; Martin e Feng (2009).

$$\text{Potência (W)} = m \times c_p \times \left(\frac{dT}{dt}\right) \quad (4)$$

onde  $m$  é a massa de 50mL do extrato hidrossolúvel de soja;  $c_p$  é o calor específico do extrato hidrossolúvel de soja (4649,6 J/kg. °C) e  $\frac{dT}{dt}$  é a taxa de variação da temperatura durante a sonicação (°C/s).

A energia acústica específica (SAE, mW/mL) em cada condição foi obtida por meio da razão da potência ( $P$ , W) pelo volume de EHS da amostra ( $V$ , mL), conforme Equação (5).

$$SAE \left(\frac{mW}{mL}\right) = \frac{P}{V} \quad (5)$$

## 2.8 Análises físico-químicas

As características físico-químicas e o conteúdo fenólico total da condição experimental ótima obtida no DCCR foram determinadas. A amostra submetida apenas ao tratamento térmico convencional foi considerada como controle.

O pH das amostras de EHS foi determinado em medidor de pH de bancada (modelo MPA-210A, marca, país). O teor de sólidos solúveis (°Brix) foi determinado pela medição do índice de refração usando um refratômetro digital (modelo ATAGO PAL-1, marca, país). Os parâmetros colorimétricos  $L^*$  (luminosidade),  $a^*$  (coordenada do eixo vermelho-verde) e  $b^*$  (coordenada do eixo azul-amarelo) foram medidos em um colorímetro (modelo Konica Minolta CR-10, marca, país). A diferença de cor total ( $E^*$ ) foi obtida de acordo com a Equação (6) (OLADUNJOYE *et al.*, 2021).

$$\Delta E^* = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} \quad (6)$$

onde  $\Delta$  indica a variação dos parâmetros, ou seja,  $\Delta L^* = (L^* - L_0^*)$  é a diferença entre a luminosidade das amostras termossonicadas e o controle;  $\Delta a^* = a^* - a_0^*$  são as intensidades da cor vermelha (valor positivo) e verde (valor negativo) das amostras termossonicadas e o

controle;  $\Delta b^* = b^* - b^*_0$  são as intensidades das cores amarela (valor positivo) e azul (valor negativo) das amostras termossonicadas e o controle.

### 2.8 Conteúdo fenólico total

O conteúdo fenólico total foi determinado usando o método colorimétrico descrito por Morales-de la Peña *et al.* (2010) e Rodríguez-Roque, Rojas-Graü, Elez-Martínez, & Martín-Belloso (2013). Uma alíquota de 0,5 mL de EHS (sem tratamento térmico, submetida a termossonicação ou ao tratamento térmico convencional) foi misturada com 0,5 mL do reagente Folin-Ciocalteu e 10 mL de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (20 % m/v). O volume da mistura foi completado até 25 mL com água destilada com uso de um balão volumétrico. A solução resultante foi mantida no escuro em temperatura ambiente (25 °C) por 1 h. Em seguida, a absorbância das amostras foi medida a 725 nm. A curva de calibração para determinação do conteúdo fenólico total foi construída utilizando o ácido gálico (GAE) como padrão, nas concentrações de 20 a 75 mg/100 mL. Os resultados foram expressos em mg de ácido gálico por 100 mL de bebida.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados médios obtidos nos ensaios preliminares empregando o delineamento fatorial 3×3 são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2 – Resultados dos ensaios preliminares	
Temperatura (°C) /Tempo(min)	AR (%)
70/3	87,75 ± 1,62
70/5	75,64 ± 1,11
70/8	22,42 ± 1,68
80/3	3,14 ± 0,44
80/5	3,09 ± 0,50
80/8	2,13 ± 0,64
90/3	2,85 ± 0,55
90/5	2,14 ± 0,33
90/8	0,95 ± 0,28

Esses resultados foram submetidos à ANOVA, seguido de análise de regressão, e o modelo matemático obtido para a inativação da LOX do EHS em função do tempo e temperatura de termossonicação é apresentado na Equação 7.

$$\hat{y} = 2450,4852 - 54,0057 x_1 - 59,0509x_2 + 0,6821x_1x_2 + 0,2963x_1^2 \quad \text{Eq. (7)}$$

O modelo matemático ajustado foi significativo ( $p < 0,05$ ), apresentou coeficientes significativos ( $p < 0,05$ ), falta de ajuste não significativa ( $p > 0,05$ ) e  $R^2$  superior a 0,94.

Verificou-se os tratamentos que utilizaram temperaturas iguais ou superiores a 80 °C foram capazes de inativar quase totalmente a LOX no EHS, sendo que a 80 °C/8 min a enzima apresentou atividade residual semelhante à encontrada para 90 °C/5 min. Também foi possível observar que a 70 °C, no menor tempo (3 min), a LOX apresentava alta resistência à inativação e sua atividade residual permaneceu muito elevada. Embora as lipoxigenases possam ser inativadas acima de 60 °C ((BAYSAL; DEMIRDÖVEN, 2007), a redução efetiva de sua atividade está relacionada às condições de processamento e suas isoformas (MORALES-DE LA PEÑA *et al.*, 2010).

Para a etapa subsequente, selecionou-se a faixa de temperatura de 62-83 °C e tempo de 2-4 min, para otimizar as condições operacionais da termossonicação, visando a minimização da atividade residual da LOX. É importante ressaltar que a seleção da temperatura visou abranger desde a baixa redução até a alta redução da LOX, a fim de avaliar o potencial sinérgico do ultrassom na inativação desta enzima.

### **3.1 Otimização das condições operacionais da termossonicação**

Nesta etapa de otimização, o critério empregado para a escolha das condições ultrassônicas ótimas foi a maior inativação da LOX no EHS, ou seja, os tratamentos selecionados foram aqueles que proporcionaram a minimização da atividade residual da LOX. Adicionalmente, as condições experimentais avaliadas no DCCR 2<sup>2</sup> para a inativação da LOX em EHS foram reproduzidas a fim de aplicar um tratamento térmico convencional (somente efeito do calor) ao EHS. Com isso, foi possível avaliar o efeito sinérgico do ultrassom e calor na inativação da LOX em relação a um tratamento térmico tradicional.

Os resultados experimentais de AR obtidos no DCCR 2<sup>2</sup> para as amplitudes ultrassônicas de 70%, 90% e tratamento térmico convencional são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 - Atividade residual da LOX (%) em EHS obtida para os tratamentos submetidos ao tratamento térmico convencional ou à termossonicação nas amplitudes de 70 e 90%

Temperatura (°C) /Tempo (min)	Tratamento		
	Térmico	70%	90%
65/2	72,5 ± 8,7	74,2 ± 5,6	63,6 ± 9,1
65/4	54,8 ± 5,6	64,5 ± 14,8	60,0 ± 17,3
80/2	7,0 ± 3,0	2,4 ± 0,8	3,9 ± 0,0
80/4	3,5 ± 1,2	3,1 ± 0,7	2,9 ± 0,9
62/3	55,0 ± 4,3	76,7 ± 5,8	70,0 ± 10,0
83/3	3,1 ± 0,8	3,8 ± 1,2	2,1 ± 0,7
72,5/2	44,1 ± 14,8	43,1 ± 6,8	24,2 ± 0,0
72,5/3	11,8 ± 2,5	11,8 ± 3,9	6,36 ± 0,6
72,5/3	33,8 ± 2,5	17,3 ± 5,7	16,1 ± 0,6
72,5/3	35,3 ± 7,6	19,2 ± 4,1	16,7 ± 5,8
72,5/3	23,5 ± 2,5	21,2 ± 7,0	20,0 ± 7,0
72,5/3	28,6 ± 0,0	15,4 ± 3,3	15,2 ± 5,2
72,5/4	35,7 ± 6,2	23,5 ± 8,3	15,2 ± 5,2

Os resultados de atividade residual da lipoxigenase obtidos no DCCR 2<sup>2</sup> para as amplitudes ultrassônicas de 70% e 90%, bem como no tratamento térmico tradicional, foram submetidos a Análise de Regressão (Tabela 1 do Apêndice A). Os modelos matemáticos apresentados na Tabela 4 descrevem a relação entre as variáveis independentes (tempo e temperatura) somente considerando os termos significativos (p<0,05).

Tabela 4 - Modelos de predição da atividade residual da LOX em função da temperatura ( $X_1$ , °C) e tempo ( $X_2$ , min) do tratamento térmico avaliado.

Atributo	Modelo gráfico de contorno
Tratamento térmico convencional	$\hat{y} = 1111,2807 - 25,0259 x_1 - 6,6117x_2 + 0,1433x_1^2$
Amplitude 70%	$\hat{y} = 1319,8373 - 31,2767 x_1 - 6,6597x_2 + 0,1884x_1^2$
Amplitude 90%	$\hat{y} = 1365,3930 - 33,3117 x_1 - 3,7483x_2 + 0,2051x_1^2$

De acordo com a Tabela 4, tanto para a termossonicação em ambas as amplitudes testadas quanto para o tratamento térmico convencional, os parâmetros tempo e temperatura influenciaram significativamente a atividade residual da lipoxigenase, sendo que a temperatura ( $X_1$ ) apresentou efeito quadrático e linear, enquanto o tempo ( $X_2$ ) apresentou somente efeito

linear. A partir dos modelos obtidos para predição da atividade residual da LOX, foram construídos gráficos de contorno (Figuras 2 e Figura 3) para todos os tratamentos térmicos avaliados.

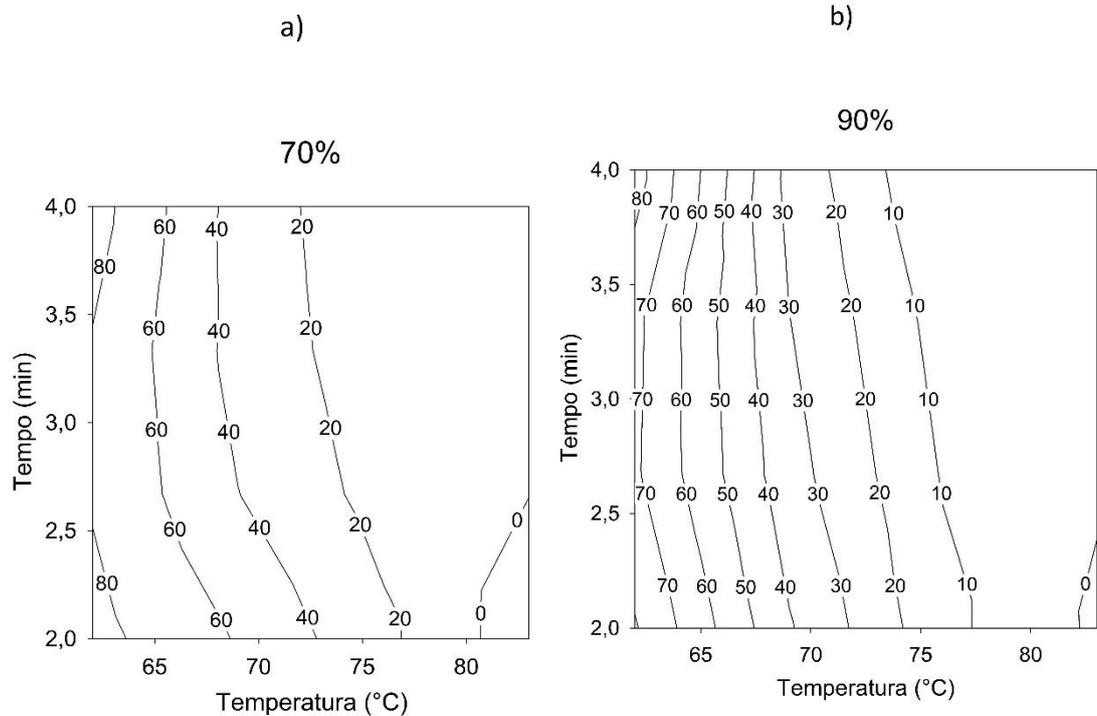


Figura 2 – Gráfico de contorno da atividade residual (%) da LOX, em função do tempo (min) e da temperatura (°C) de termossoneação nas amplitudes de a) 70% e b) 90%.

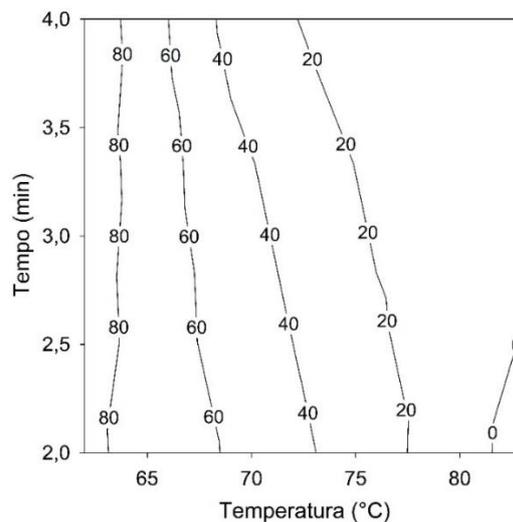


Figura 3 – Gráfico de contorno da atividade residual (%) da LOX, em função do tempo (min) e da temperatura (°C) aplicados no tratamento térmico convencional.

Pela análise das curvas da termossoneação e do tratamento térmico convencional (Figuras 2 e 3), pode-se verificar que o calor parece ser o fator mais importante na redução da

atividade enzimática. Em temperaturas mais altas, foi observado efeito sinérgico entre o calor e a sonicação para a inativação da enzima, pois na temperatura em torno de 77 °C, por exemplo, a redução alcançada pelo tratamento convencional foi de 80%, enquanto na termossonicação, na amplitude de 90%, a inativação foi de 90%.

A partir da análise das figuras 2 e 3, foi possível observar que não houve um incremento na redução da atividade enzimática na amplitude de sonicação em 70% em relação ao tratamento térmico convencional. Já na amplitude ultrassônica de 90% foi observado um ligeiro efeito sinérgico. Isso demonstra que embora para a amplitude de 70% não tenha sido observado uma diminuição da atividade enzimática quando comparado ao tratamento térmico convencional, em amplitudes mais altas, como a de 90%, foi possível concluir que a combinação de ultrassom e calor apresentaram um efeito sinérgico na inativação da enzima LOX em EHS.

Jiang *et al.* (2014) relatam que o tratamento com ultrassom expõe as regiões hidrofóbicas dos resíduos de aminoácidos para o ambiente aquoso, de forma que as interações não covalentes, como as interações eletrostáticas e hidrofóbicas, podem conduzir à agregação de proteínas. Durante a termossonicação, pode ter ocorrido a disponibilização do conteúdo de sólidos totais, levando à formação de agregados de globulina de soja (glicinina e  $\beta$ -conglucina) (POLISELI-SCOPEL *et al.*, 2014) e dificultando a inativação da LOX, o que explicaria a ausência de efeito sinérgico do ultrassom e calor na inativação da enzima neste tipo de matriz.

A dificuldade encontrada para a inativação da LOX em temperaturas inferiores a 72,5 °C pode estar relacionada à existência de, pelo menos, 3 a 4 isoenzimas que se diferem em sua estabilidade térmica. Desta forma, enquanto a fração termolábil pode ser inativada rapidamente, aquela resistente ao calor apresenta maior dificuldade em ser inativada completamente, fazendo com que a atividade residual da enzima no EHS seja alta mesmo após aplicação do tratamento térmico (MORALES-DE LA PEÑA *et al.*, 2010).

As altas temperaturas podem causar alterações na estrutura da enzima, como rompimento de ligações de hidrogênio e desnaturação. Já o ultrassom forma bolhas de cavitação capazes de alterar a estrutura das proteínas pela quebra das ligações da cadeia peptídica, gerando radicais livres (RAVIYAN; ZHANG; FENG, 2005). A inativação enzimática causada pela termossonicação é atribuída ao efeito entre calor e dano mecânico que leva à desnaturação das proteínas por despolimerização e alteração na conformação de sua estrutura terciária (RAVIYAN, ZHANG, & FENG (2005); TIWARI, MUTHUKUMARAPPAN, O'DONNELL, & CULLEN (2009); VERCET, SÁNCHEZ, BURGOS, MONTAÑÉS, LOPEZ BUESA (2002); ABID *et al.* (2014).

O mecanismo específico de inativação da enzima durante a sonicação pode ser devido a um único ou combinação de vários efeitos químicos e físicos ocorrendo simultaneamente. Os mecanismos de inativação ultrassônica são específicos para a enzima sob investigação e dependem de sua composição de aminoácidos e da estrutura conformacional da enzima. Por exemplo, a lipoxigenase parece ser inativada por um mecanismo mediado por radicais livres e por desnaturação de proteínas (SALA *et al.*, 1995). Estes radicais, gerados durante a sonicação, desempenham um papel importante na inativação enzimática uma vez que perturbam a interação hidrofóbica e as ligações de hidrogênio intramoleculares, que desempenham papéis importantes na estabilidade das proteínas (TIAN *et al.*, 2004).

Aminoácidos presentes no grão de soja, como triptofano, tirosina, histidina e cisteína, são particularmente suscetíveis à degradação por radicais livres hidroxila e superóxido. Assim como também a prolina, leucina, isoleucina, lisina, cisteína e ácido glutâmico formam facilmente peróxidos ao reagir com radicais  $\text{OH}^\cdot$  (TEREFE *et al.*, 2009). Os radicais livres formados reagem com resíduos de aminoácidos da enzima, de forma que estes se tornam incapazes de participar da estabilização da molécula, ligar-se ao substrato e exercer sua função catalítica (CULLEN, 2012). Ao mesmo tempo, a presença do radical  $\text{OH}^\cdot$  reduz a propriedade antioxidante dos alimentos e pode causar sabor estranho em alguns alimentos (ASHOKKUMAR *et al.*, 2008; ISLAM; ZHANG; ADHIKARI, 2014). Os radicais hidroxila livres,  $\text{OH}^\cdot$ , são espécies altamente reativas, possuem um potencial redox muito alto e uma característica de oxidação muito forte que os permite reagir rapidamente com a maioria dos aminoácidos (ISLAM; ZHANG; ADHIKARI, 2014).

Jabbar *et al.* (2015) verificou que o uso da termossonicação no suco de cenoura levou à redução de mais de 90% da atividade da LOX a 60 °C por 10 minutos, enquanto para alcançar a mesma inativação foi necessário tratamento térmico a 80 °C por 1 minuto. Wu. *et al.* (2008) também relataram que foram necessários 11 minutos de tratamento do ultrassom combinado com o calor para reduzir em 90% a atividade da polimetilesterase (PME) no suco de tomate, enquanto para o tratamento térmico fazendo uso apenas do calor, foram necessários 23 minutos para alcançar a mesma inativação, com ambos os tratamentos a 65 °C. Enquanto isso, para o suco de laranja azeda, foi necessário um tratamento térmico convencional a 75 °C por 22 min para inativar quase totalmente a enzima PME, enquanto para inativar mais de 90% desta mesma enzima empregando a termossonicação (80 W), foi utilizado um tratamento de 63 °C por 10 min (KOSHANI *et al.*, 2015).

Segundo Kadkhodae; Povey (2008); Raso *et al.* (1999) e Sala *et al.*(1995), os fatores críticos que regem a inativação enzimática vão além do tipo de enzima e da temperatura e

incluem a amplitude das ondas ultrassônicas, o tempo de exposição e a composição do alimento a ser processado. Portanto, é possível que, neste estudo, a dificuldade em identificar a clara sinergia do ultrassom com o calor esteja intimamente ligada à composição química do EHS, uma vez que metade dos sólidos presentes nesta bebida consiste em proteína de soja (FAHMI *et al.*, 2014).

Segundo Islam (2014), a atividade da enzima depende fortemente da intensidade ultrassônica, o que pode ser observado nas temperaturas abaixo de 70 °C, já que as amostras termossonicadas na amplitude maior (90%) apresentaram maior inativação enzimática se comparada aos resultados obtidos nas mesmas condições experimentais na menor amplitude (70%). Por exemplo, na condição de 65 °C por 2 min, a atividade residual da enzima na amplitude de 70% foi de 72,2%, enquanto na amplitude mais elevada, o resultado de AR foi de 63,6%. O aumento do efeito do ultrassom pelo aumento da amplitude tem sido relacionado ao aumento do tamanho efetivo da zona de líquido em cavitação e à gama de tamanhos de bolhas que sofrem cavitação em amplitudes maiores (RASO *et al.*, 1999). Por exemplo, na condição 80 °C por 4 min, a inativação enzimática na amplitude menor foi 3,1% enquanto na amplitude de 90% foi 2,9%.

O tipo de probe, a frequência, a densidade de energia acústica, o volume da solução utilizado em cada tratamento e a concentração de gás dissolvido também podem afetar significativamente a inativação enzimática (KADKHODAEI; POVEY, 2008; RASO *et al.*, 1999). Conforme discutido por Rivas (2012), quanto menor o diâmetro da probe, menos efetiva é a amplitude de ondas produzidas e, conseqüentemente, menor é a energia acústica distribuída na bebida. Portanto, o efeito sinérgico da termossonicação pode não ter sido claramente identificado porque a energia fornecida ao meio líquido não foi suficiente para alterar a estrutura da enzima.

A energia acústica específica encontrada para as amostras termossonicadas nas diferentes amplitudes (70 e 90%) e tempos (2, 3 e 4 min) encontrou-se na faixa de 561-613 mW/mL, sendo que a maior potência foi obtida na amplitude de 70% e tempo de 2 minutos (Tabela 4).

Tabela 4 - Energia acústica específica (SAE) das amostras termossonicadas

Tratamento	Amplitude (%)	Tempo (min)	SAE (mW/mL)
1	70	2	612,8
2	70	3	583,8
3	70	4	582,7
4	90	2	610,0
5	90	3	596,7
6	90	4	561,0

A menor atividade residual da LOX em EHS (2,4%, Tabela 3) se deu na condição que apresentou maior potência acústica (70%, 2 min a 80°C). Este resultado pode ser atribuído à energia fornecida ao meio líquido, que foi capaz de romper as ligações de hidrogênio e mudar a conformação mais ativa da estrutura terciária da enzima, ou seja, expor seus grupos hidrofóbicos ao meio levando à sua inativação e agregação (ISLAM; ZHANG; ADHIKARI, 2014; LUDI KHUYZE *et al.*, 1998).

### 3.2 Efeito da termossonicação nas características físico-químicas e conteúdo fenólico do EHS

A fim de comparar a diferença entre os parâmetros físico-químicos ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ , pH, sólidos solúveis totais e de conteúdo fenólico total) de amostras de EHS fresca (controle) e submetidas a um tratamento térmico, o teste de Dunnet foi aplicado e os resultados podem ser visualizados na Tabela 2 do Apêndice A.

As características físico-químicas e do conteúdo fenólico total das amostras submetidas à termossonicação nas amplitudes ultrassônicas de 70% e 90% e a um tratamento térmico convencional, ambos na temperatura de 83 °C por 3 min foram determinadas, a fim de comparar a rigorosidade do tratamento térmico e da termossonicação. Esta condição foi escolhida porque foi o resultado experimental que resultou na maior inativação da enzima em todos os tratamentos. O EHS correspondeu às amostras que não foram submetidas a um tratamento térmico. Os resultados médios obtidos para as características físico-químicas e do conteúdo fenólico total das diferentes amostras também foram comparados entre si pelo teste de t de Student e os resultados obtidos são apresentados na Tabela 5.

Conforme pode ser observado na Tabela 5, dentre os parâmetros avaliados, somente os parâmetros de cor  $L^*$  e  $b^*$  não apresentaram diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre pelo menos

um tipo de amostra submetida a um tratamento térmico em comparação ao EHS fresco (controle). Para o parâmetro  $a^*$ , por exemplo, verificou-se uma diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre as amostras termossonicadas na amplitude de 70% em comparação a amostra controle (sem tratamento térmico). Para o pH, foi observada uma diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os resultados da amostra controle e aquelas submetidas ao tratamento térmico convencional, enquanto para o teor de sólidos solúveis ( $^{\circ}$ Brix) e para o conteúdo fenólico total, os resultados médios de todas as amostras submetidas a um tipo de tratamento térmico diferiram significativamente ( $p < 0,05$ ) dos resultados médios obtidos para o tratamento controle.

Tabela 5 - Características físico-químicas do EHS fresco (controle), submetidos a um tratamento térmico convencional e termossonicação, ambos na temperatura de 83 °C por 3 min.

Tratamento	$L^*$	$a^*$	$b^*$	$\Delta E^*$	pH	$^{\circ}$ Brix	TPC (mg/100 mL)
EHS fresco	$57,99 \pm 2,29^a$	$1,58 \pm 0,52^a$	$10,67 \pm 2,19^a$	-	$6,49 \pm 0,72^b$	$6,50 \pm 0,36^b$	$49,61 \pm 0,17^a$
TT	$58,40 \pm 0,87^a$	$1,26 \pm 0,60^{ab}$	$11,26 \pm 0,43^a$	$4,15 \pm 0,86^a$	$5,99 \pm 0,15^b$	$7,01 \pm 0,10^a$	$13,48 \pm 0,06^b$
70%	$56,79 \pm 1,47^a$	$0,76 \pm 0,30^b$	$10,00 \pm 0,62^a$	$4,18 \pm 0,71^a$	$6,75 \pm 0,50^a$	$7,30 \pm 0,24^a$	$35,25 \pm 0,25^b$
90%	$57,80 \pm 2,27^a$	$1,13 \pm 0,66^{ab}$	$10,58 \pm 0,37^a$	$3,83 \pm 0,59^a$	$6,10 \pm 0,11^b$	$7,03 \pm 0,20^a$	$28,35 \pm 0,12^b$

\* Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste t de Student. TT: tratamento térmico. TPC: Conteúdo fenólico total.

Dentre os parâmetros de cor, somente para o parâmetro  $a^*$ , relacionado ao eixo vermelho-verde, foi observado diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre as amostras, sendo que os tratamentos com ultrassom apresentaram resultados médios menores em comparação ao tratamento térmico tradicional. Neste caso, as amostras termossonicadas apresentaram coloração mais próxima da cor verde (valor negativo) do que da cor vermelha (valor positivo), fato que pode ser explicado pelo fenômeno da cavitação, o qual pode induzir mudanças na cor devido à aceleração das reações químicas, aumento da taxa de difusão, dispersão, formação de agregados e quebra de partículas (ALCÁNTARA-ZAVALA *et al.*, 2021). O fato dos resultados médios obtidos para os demais parâmetros de cor terem sido estaticamente iguais ( $p > 0,05$ ), sugere que as amostras mantiveram a mesma luminosidade e cor amarelada (CAMERON; MCMASTER; BRITZ, 2010). Tendo como referência os parâmetros de cor da amostra controle, pode-se concluir que a diferença de cor entre as amostras ( $\Delta E$ ) não foi significativa ( $p < 0,05$ ). Este resultado está de acordo com o observado por Lu *et al.* (2019), no qual o ultrassom não alterou significativamente o valor de  $\Delta E^*$  do leite de coco.

As amostras diferiram significativamente ( $p < 0,05$ ) em relação ao pH, principalmente para as amostras termossonicadas na amplitude de 70% em que observou-se um leve aumento neste parâmetro. Salve, Pegu, & Arya (2019) relataram em seu estudo com leite de amendoim, que, após tratamento por termossonicação, um aumento do pH esteve associado a maior estabilidade física da bebida.

O teor de sólidos solúveis da amostra controle apresentou diferença significativa ( $p < 0,05$ ) se comparado aos demais tratamentos, ou seja, a alta temperatura parece ser suficiente para romper as paredes celulares, hidrolisar os polissacarídeos ou fragmentá-los em tamanho menor (MAGHSOUDLOU *et al.*, 2016). O maior valor encontrado para o teor de sólidos nas amostras termossonicadas na amplitude de 70% pode ser explicado por Jiang *et al.* (2014), que relataram que a energia do ultrassom gera ondas de choque e o subsequente colapso leva à absorção de água ou cozimento total das células distorcidas da soja, resultando no inchaço destas. Em seu estudo com leite de amendoim, Salve *et al.* (2019) observa que o aumento do °Brix está relacionado ao aumento da solubilidade das proteínas.

Conforme Tabela 5, pode-se observar que as amostras termossonicadas apresentaram uma menor redução no valor do conteúdo fenólico total, se comparadas ao tratamento térmico convencional. Por exemplo, para as amostras termossonicadas na amplitude de 70% é nítido uma menor redução do TPC. A partir dos dados obtidos, é possível observar que embora altas temperaturas reduzam o conteúdo fenólico total do extrato hidrossolúvel de soja tanto no tratamento térmico convencional quanto na termossonicação, ainda assim o ultrassom apresenta maior potencial em preservar estes compostos bioativos. Jabbar *et al.* (2015) observaram um comportamento semelhante ao do presente artigo, pois quando a temperatura de processamento do ultrassom aumentou, a perda de compostos fenólicos em suco de cenoura também aumentou, mas essa perda foi menor em comparação com a perda no tratamento térmico tradicional.

Os compostos fenólicos são incorporados ao vacúolo na forma solúvel ou ligados à parede celular (ATALAR *et al.*, 2019). O princípio básico por trás do incremento no conteúdo fenólico envolve o processo de cavitação nos componentes dos alimentos e a pressão exercida durante esse processo, que resulta rompimento das paredes celulares, que poderia tornar mais fácil a liberação do TPC ligado à matriz da soja (BHAT *et al.*, 2011; BHAT; GOH, 2017). Tem sido relatado que o aumento do TPC pela termossonicação ocorre porque os fenóis fixados aos carboidratos (pectina, lignina, celulose e hemicelulose) da parede celular dos vegetais são liberados no meio (CUI *et al.*, 2014). Ashokkumar *et al.* (2008) apontaram que a concentração de conteúdo fenólico individual, como os flavonoides, também pode aumentar devido ao

aumento da hidroxilação das moléculas devido à formação de radicais  $\text{OH}^\cdot$  durante o tratamento com ultrassom.

Atalar *et al.* (2019) observaram que o tratamento térmico a 85 °C por 2 min levou a uma redução significativa do TPC no leite de avelã de 162  $\mu\text{g GAE/g}$  para 150,74 $\mu\text{g GAE/g}$ , enquanto que o maior valor de TPC encontrado no trabalho desses autores foi para o leite de avelã termossonicado a 75 °C na amplitude de 60% por 25 minutos, chegando a 178,82  $\mu\text{g GAE/g}$ . Abid *et al.* (2014) também observaram que quando a temperatura de processamento aumentou de 40 °C para 60 °C, a degradação dos compostos fenólicos também aumentou, indicando que a temperatura teve um efeito significativo nos níveis de TPC do suco de maçã. Estes dados também foram relatados por Rawson *et al.* (2011) que observaram que o conteúdo fenólico total do suco de melancia termossonicado diminuiu com o aumento da temperatura de processamento de 25 °C para 45 °C.

Abid *et al.* (2013) relataram que o ultrassom pode causar aumento da biodisponibilidade dos compostos bioativos do meio, aumentando sua capacidade antioxidante. Khandpur; Gogate (2015) determinaram que a sonicação melhorou o TPC e a atividade antioxidante, enquanto o tratamento térmico afetou negativamente. Assim como Cruz-Cansino *et al.* (2016) que compararam a termossonicação com a pasteurização do suco de pêra e afirmaram que a pasteurização reduziu a atividade antioxidante, enquanto a aplicação de termossonicação levou a um aumento. A liberação de fenólicos durante a termossonicação parece ocorrer mais em sucos polposos do que em sucos clarificados (ABID *et al.*, 2013; ZAFRA-ROJAS *et al.*, 2013). Portanto, é importante investigar o potencial da termossonicação como técnica capaz de disponibilizar os compostos bioativos do extrato hidrossolúvel de soja.

#### 4 CONCLUSÃO

Neste trabalho foi avaliado o efeito da termossonicação na inativação da LOX de EHS e o efeito sinérgico do ultrassom e calor foi comparado com o tratamento térmico convencional na redução da atividade residual da enzima. Embora na amplitude mais alta (90%) tenha sido observado um incremento na redução da atividade da enzima lipoxigenase no extrato hidrossolúvel de soja, quando comparado ao tradicional tratamento térmico, o efeito sinérgico do ultrassom com a temperatura não foi tão significativo. A condição de maior inativação da LOX (AR=2,34%) se deu na amplitude de 70% (80 °C/2min).

Com relação a cor, as amostras termossonicadas não apresentaram diferença significativa em relação à amostra tratada termicamente, já o pH apresentou aumento

significativo na amplitude de 70% quando comparado aos demais tratamentos. O teor de sólidos solúveis não diferiu significativamente entre os tratamentos (térmico e termossonicação), já com relação ao conteúdo fenólico total foi possível verificar maior disponibilidade deste nas amostras termossonicadas, principalmente na amplitude de 70%. Mais estudos, explorando outras condições, especialmente em maior conteúdo de energia acústica, são fortemente recomendados. Foi verificado neste estudo um interessante potencial da termossonicação para manutenção do valor nutricional do EHS, particularmente o teor de fenólicos totais.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AADIL, Rana Muhammad et al. Thermosonication: A potential technique that influences the quality of grapefruit juice. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 50, n. 5, p. 1275–1282, 2015.

ABATH, Thaís naves. Substitutos De Leite Animal para intolerantes à lactose. 2013.

ABDULLAH, Norazlin; CHIN, Nyuk Ling. Application of Thermosonication Treatment in Processing and Production of High Quality and Safe-to-Drink Fruit Juices. **Agriculture and Agricultural Science Procedia**, v. 2, p. 320–327, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.aaspro.2014.11.045>>.

ABID, Muhammad et al. Effect of ultrasound on different quality parameters of apple juice. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 20, n. 5, p. 1182–1187, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ultsonch.2013.02.010>>.

\_\_\_\_\_. Thermosonication as a potential quality enhancement technique of apple juice. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 21, n. 3, p. 984–990, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ultsonch.2013.12.003>>.

AGUILO-AGUAYO, Ingrid et al. Influence of high-intensity pulsed electric field processing on lipoxygenase and  $\beta$ -glucosidase activities in strawberry juice. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 9, n. 4, p. 455–462, 2008.

AHSAN, Samreen et al. Preparation and quality characterization of soy milk based non-dairy ice cream. **International Journal of Food and Allied Sciences**, v. 1, n. 1, p. 25, 2015.

ALCÁNTARA-ZAVALA, Alejandra Elizabeth et al. Thermosonication as an alternative method for processing, extending the shelf life, and conserving the quality of pulque: A non-dairy Mexican fermented beverage. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 70, n. April 2020, p. 105290, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2020.105290>>.

ALHENDI, Abeer et al. Inactivation of Lipoxygenase in Soymilk by Pulsed Light. **International Journal of Food Engineering**, v. 13, n. 12, p. 1–12, 2017.

AMITABH, Anupam et al. Effect of Ohmic Heating on Processing of Soymilk in Comparison to Conventional Process. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v. 6, n. 12, p. 2918–2926, 2017.

ANAYA-ESPARZA, Luis M. et al. Effect of thermosonication on pathogenic bacteria, quality attributes and stability of sour soup nectar during cold storage. **Trends in Food Science and Technology**, v. 61, p. 26–37, 2017.

ANDREOU, Alexandra; FEUSSNER, Ivo. Lipoxygenases - Structure and reaction mechanism. **Phytochemistry**, v. 70, n. 13–14, p. 1504–1510, 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.phytochem.2009.05.008>>.

ANDRÉS, V. et al. High hydrostatic pressure treatment and storage of soy-smoothies:

Colour, bioactive compounds and antioxidant capacity. **LWT - Food Science and Technology**, v. 69, p. 123–130, 1 jun. 2016.

ARTUR, Patrícia Oliveira. *Aplicação Do Binômio Tempo / Temperatura Em Alimentos*. 2004.

ASHOKKUMAR, Muthupandian et al. Modification of food ingredients by ultrasound to improve functionality: A preliminary study on a model system. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 9, n. 2, p. 155–160, 2008.

ATALAR, Ilyas et al. Influence of thermosonication (TS) process on the quality parameters of high pressure homogenized hazelnut milk from hazelnut oil by-products. **Journal of Food Science and Technology**, v. 56, n. 3, p. 1405–1415, 2019.

AWAD, T. S. et al. Applications of ultrasound in analysis, processing and quality control of food: A review. **Food Research International**, v. 48, n. 2, p. 410–427, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2012.05.004>>.

AYDAR, Elif Feyza; TUTUNCU, Sena; OZCELIK, Beraat. Plant-based milk substitutes: Bioactive compounds, conventional and novel processes, bioavailability studies, and health effects. **Journal of Functional Foods**, v. 70, n. December 2019, p. 103975, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.103975>>.

BANDLA, Srinivasarao et al. UV-C treatment of soymilk in coiled tube UV reactors for inactivation of Escherichia coli W1485 and Bacillus cereus endospores. **LWT - Food Science and Technology**, v. 46, n. 1, p. 71–76, abr. 2012.

BAUMANN, Adam R.; MARTIN, Scott E.; FENG, Hao. Removal of Listeria monocytogenes biofilms from stainless steel by use of ultrasound and Ozone. **Journal of Food Protection**, v. 72, n. 6, p. 1306–1309, 2009.

BAYSAL, Taner; DEMIRDÖVEN, Aslihan. Lipoxygenase in fruits and vegetables: A review. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 40, n. 4, p. 491–496, 2007.

BHAT, Rajeev et al. Sonication improves kasturi lime (Citrus microcarpa) juice quality. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 18, n. 6, p. 1295–1300, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ultsonch.2011.04.002>>.

BHAT, Rajeev; GOH, Kok Ming. Sonication treatment convalesce the overall quality of hand-pressed strawberry juice. **Food Chemistry**, v. 215, p. 470–476, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.07.160>>.

BORDINGNON, José Renato; MANDARINO, José Marcos Goniiio. Soja: composição química, valor nutricional e sabor. **Soja: composição química, valor nutricional e sabor.**, p. 32, 1994.

BRUNO, Luciano; SILVA, De Carvalho. *iIDENTIFICAÇÃO DE LIPOXIGENASES EM SEMENTES DE SOJA DE DIFERENTES LINHAGENS*. 2004.

CAMACHO, J. L. et al. Direct consumption of the soybean. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 58, n. 3, p. 362–366, 1981.

CAMERON, Michelle; MCMASTER, Lynn D.; BRITZ, Trevor J. Erratum: Impact of ultrasound on dairy spoilage microbes and milk components (Dairy Science and Technology (2009) 89 (83-98)). **Dairy Science and Technology**, v. 90, n. 1, p. 119, 2010.

CARRILLO-LOPEZ, L. M. et al. Modification of food systems by ultrasound. **Journal of Food Quality**, v. 2017, 2017.

CASÉ, Fabiana; DELIZA, Rosires; ROSENTHAL, Amauri. Produção de “leite” de soja enriquecido com cálcio. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 1, p. 86–91, 2005.

CHEMAT, Farid; ZILL-E-HUMA; KHAN, Muhammed Kamran. Applications of ultrasound in food technology: Processing, preservation and extraction. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 18, n. 4, p. 813–835, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ultsonch.2010.11.023>>.

CHENG, X. F.; ZHANG, M.; ADHIKARI, B. The inactivation kinetics of polyphenol

oxidase in mushroom (*Agaricus bisporus*) during thermal and thermosonic treatments. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 20, n. 2, p. 674–679, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ultsonch.2012.09.012>>.

CHIARELLO, Marileusa D. A soja e os alimentos funcionais : oportunidades de parcerias em P & D para os setores público e privado. 2002.

CIABOTTI, Sueli. Aspectos químico, físico-químico e sensorial de extratos de soja e tofus obtidos dos cultivares de soja convencional e livre de lipoxigenase. p. 135, 2004.

CONAB. Acompanhamento da safra brasileira 2019/2020. **Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos 2019/2020**, v. 8, p. 1–29, 2020.

CRUZ-CANSINO, Nelly del Socorro et al. Effect of ultrasound on survival and growth of *Escherichia coli* in cactus pear juice during storage. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 47, n. 2, p. 431–437, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.bjm.2016.01.014>>.

CRUZ, N. et al. Ultra high pressure homogenization of soymilk: Microbiological, physicochemical and microstructural characteristics. **Food Research International**, v. 40, n. 6, p. 725–732, 2007.

CRUZ, Rui M.S.; VIEIRA, Margarida C.; SILVA, Cristina L.M. Effect of heat and thermosonication treatments on peroxidase inactivation kinetics in watercress (*Nasturtium officinale*). **Journal of Food Engineering**, v. 72, n. 1, p. 8–15, 2006.

CUI, Hai Yan et al. Comparison of conventional and ultrasound-assisted methods for extraction of nutraceutical compounds from *Dendrobium candidum*. **CYTA - Journal of Food**, v. 12, n. 4, p. 355–359, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1080/19476337.2014.888482>>.

CULLEN, BRIJESH K. TIWARI AND VASILIS P. VALDRAMIDIS. **NOVEL THERMAL AND NON-THERMAL TECHNOLOGIES FOR FLUID FOODS**. [S.l.: s.n.], 2012. Disponível em: <[http://www.ghbook.ir/index.php?name=فرهنگ\\_و\\_های\\_رساله\\_نوین&option=com\\_dbook&task=readonline&book\\_id=13650&page=73&chkhask=ED9C9491B4&Itemid=218&lang=fa&tmpl=component](http://www.ghbook.ir/index.php?name=فرهنگ_و_های_رساله_نوین&option=com_dbook&task=readonline&book_id=13650&page=73&chkhask=ED9C9491B4&Itemid=218&lang=fa&tmpl=component)>.

D'AMICO, Dennis J. et al. Inactivation of microorganisms in milk and apple cider treated with ultrasound. **Journal of Food Protection**, v. 69, n. 3, p. 556–563, 2006.

DOLAS, Rupali; SARAVANAN, Chakkaravarthi; KAUR, Barjinder Pal. Emergence and era of ultrasonic's in fruit juice preservation: A review. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 58, n. May, p. 104609, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2019.05.026>>.

EMBRAPA SOJA, Brazilian Agricultural Research Corporation. **O complexo agroindustrial da soja**. [S.l.: s.n.], 2007

FAHMI, Ronak et al. Effect of ultrasound assisted extraction upon the Genistin and Daidzin contents of resultant soymilk. **Journal of Food Science and Technology**, v. 51, n. 10, p. 2857–2861, 2014.

FELLOWS, P. Food processing technology. **Engineers Australia**, v. 72, n. 12, p. 64, 2000.

FENG, H.; YANG, W.; HIELSCHER, T. Power ultrasound. **Food Science and Technology International**, v. 14, n. 5, p. 433–436, 2008.

GABRIEL, Alonzo A. Inactivation behaviors of foodborne microorganisms in multi-frequency power ultrasound-treated orange juice. **Food Control**, v. 46, p. 189–196, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.05.012>>.

GAMBOA-SANTOS, Juliana et al. Effects of conventional and ultrasound blanching on enzyme inactivation and carbohydrate content of carrots. **European Food Research and Technology**, v. 234, n. 6, p. 1071–1079, 2012.

GHOSH, Sunandita. Thermosonication as an Upcoming Technology in the Dairy Industry: An Overview. **Advances in Dairy Research**, v. 05, n. 03, p. 20–21, 2017.

GOGATE, Parag R.; TAYAL, Rajiv K.; PANDIT, Aniruddha B. Cavitation: A

technology on the horizon. **Current Science**, v. 91, n. 1, p. 35–46, 2006.

GUERREIRO, Lilian. Dossiê técnico: Produtos de soja. **SBRT - Serviço Brasileiro de Respostas Técnicas**, p. 1–26, 2006. Disponível em: <<http://www.sbirt.ibict.br>>.

GUERRERO-BELTRÁN, JOSÉ A. et al. INACTIVATION KINETICS OF LIPOXYGENASE IN PRESSURIZED RAW SOYMILK AND SOYMILK FROM HIGH-PRESSURE TREATED SOYBEANS. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 33, n. 2, p. 143–158, abr. 2009. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/j.1745-4549.2008.00234.x>>. Acesso em: 12 nov. 2019.

IEAG. INSTITUTO DE ESTUDOS DO AGRONEGÓCIO. O Futuro da Soja Nacional – Impactos Sócioeconômicos da Ferrugem Asiática na Cadeia da Soja nos próximos dez anos. p. 28, 2015. Disponível em: <<http://www.abag.com.br/media/images/0-futuro-da-soja-nacional---ieag---abag.pdf>>.

ILLERA, A. E. et al. Effect of thermosonication batch treatment on enzyme inactivation kinetics and other quality parameters of cloudy apple juice. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 47, n. February, p. 71–80, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ifset.2018.02.001>>.

ISLAM, Md Nahidul; ZHANG, Min; ADHIKARI, Benu. The Inactivation of Enzymes by Ultrasound-A Review of Potential Mechanisms. **Food Reviews International**, v. 30, n. 1, p. 1–21, 2014.

JABBAR, Saqib et al. Exploring the potential of thermosonication in carrot juice processing. **Journal of Food Science and Technology**, v. 52, n. 11, p. 7002–7013, 2015.

JASTI, Lakshmi Swarnalatha; LAVANYA, Kuna; FADNAVIS, Nitin W. Adsorption induced denaturation: application to denaturation of soybean trypsin inhibitor (SBTI) and lipoxygenase (LOX) in soymilk. **Biotechnology Letters**, v. 37, n. 1, p. 147–151, 2015.

JIANG, Lianzhou et al. Effects of ultrasound on the structure and physical properties of black bean protein isolates. **Food Research International**, v. 62, p. 595–601, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2014.04.022>>.

JIANG, Yiming et al. Inactivation of lipoxygenase in soybean by radio frequency treatment. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 53, n. 12, p. 2738–2747, 2018.

KADKHODAEI, Rassoul; POVEY, Malcolm J.W. Ultrasonic inactivation of Bacillus  $\alpha$ -amylase. I. effect of gas content and emitting face of probe. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 15, n. 2, p. 133–142, 2008.

KHANDPUR, Paramjeet; GOGATE, Parag R. Effect of novel ultrasound based processing on the nutrition quality of different fruit and vegetable juices. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 27, p. 125–136, 2015.

KOHLI, Deepika et al. Preservation and processing of soymilk: A review. **International Journal of Food Science and Nutrition**, v. 2, n. 6, p. 66–70, 2017.

KOSHANI, Roya et al. Optimization of Thermal and Thermosonication Treatments on Pectin Methyl Esterase Inactivation of Sour Orange Juice (*Citrus aurantium*). **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 39, n. 6, p. 567–573, 2015.

KWOK, KIN-CHOR -C; NIRANJAN, KESHAVAN. Review: Effect of thermal processing on soymilk. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 30, n. 3, p. 263–295, 1995.

KWOK, Kin Chor; LIANG, Han Hua; NIRAJAN, Keshavan. Optimizing conditions for thermal processes of soy milk. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 17, p. 4834–4838, 2002.

LAKSHMANAN, Ramamoorthi; DE LAMBALLERIE, Marie; JUNG, Stephanie. Effect of soybean-to-water ratio and pH on pressurized soymilk properties. **Journal of Food Science**, v. 71, n. 9, 2006.

LI, Fa De et al. Effect of Ohmic Heating of Soymilk on Urease Inactivation and Kinetic Analysis in Holding Time. **Journal of Food Science**, v. 80, n. 2, p. E307–E315, 2015.

LI, Ying-Qiu et al. Inactivation of soybean lipoxygenase in soymilk by pulsed electric fields. **Food Chemistry**, v. 109, n. 2, p. 408–414, 15 jul. 2008. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814608000204>>. Acesso em: 31 out. 2019.

LI, Ying Qiu et al. Effects of Pulsed Electric Field Processing on Quality Characteristics and Microbial Inactivation of Soymilk. **Food and Bioprocess Technology**, v. 6, n. 8, p. 1907–1916, 2013.

LU, Lu et al. Comparative Effects of Ohmic, Induction Cooker, and Electric Stove Heating on Soymilk Trypsin Inhibitor Inactivation. **Journal of Food Science**, v. 80, n. 3, p. C495–C503, mar. 2015. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/1750-3841.12773>>. Acesso em: 3 fev. 2020.

LU, Xu et al. Effect of high-intensity ultrasound irradiation on the stability and structural features of coconut-grain milk composite systems utilizing maize kernels and starch with different amylose contents. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 55, n. March, p. 135–148, 2019.

LUDIKHUYZE, L. R. et al. High pressure and thermal denaturation kinetics of soybean lipoxygenase: A study based on gel electrophoresis. **LWT - Food Science and Technology**, v. 31, n. 7–8, p. 680–686, 1998.

MA, Yurong; HUANG, Huihua. Characterisation and comparison of phenols, flavonoids and isoflavones of soymilk and their correlations with antioxidant activity. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 49, n. 10, p. 2290–2298, 2014.

MAGHSOUDLOU, Yahya et al. Optimization of Ultrasound-Assisted Stabilization and Formulation of Almond Milk. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 40, n. 5, p. 828–839, 2016.

MAJID, Ishrat; NAYIK, Gulzar Ahmad; NANDA, Vikas. Ultrasonication and food technology: A review. **Cogent Food & Agriculture**, v. 1, n. 1, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1080/23311932.2015.1071022>>.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, Pecuária e Abastecimento Secretaria de Política Agrícola. PROJEÇÕES DO AGRONEGÓCIO Brasil 2019 / 20 a 2029 / 30 Projeções de Longo Prazo. **Mapa**, 2020.

MORALES-DE LA PEÑA, M. et al. Impact of high intensity pulsed electric field on antioxidant properties and quality parameters of a fruit juice-soymilk beverage in chilled storage. **LWT - Food Science and Technology**, v. 43, n. 6, p. 872–881, 2010.

MULET, Antonio et al. Noninvasive ultrasonic measurements in the food industry. **Food Reviews International**, v. 18, n. 2–3, p. 123–133, 2002.

NUNES, Cleiton A. et al. Chemoface: A novel free user-friendly interface for chemometrics. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 23, n. 11, p. 2003–2010, 2012.

O'DONNELL, C. P. et al. Effect of ultrasonic processing on food enzymes of industrial importance. **Trends in Food Science and Technology**, v. 21, n. 7, p. 358–367, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2010.04.007>>.

ODENATH PENHA, Luiz Antonio et al. 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.

OLADUNJOYE, Adebola O. et al. Effect of thermosonication on quality attributes of hog plum (*Spondias mombin* L.) juice. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 70, 1 jan. 2021.

PALA, Çiğdem Uysal; ZORBA, Nükhet Nilüfer Demirel; ÖZCAN, Gulçin. Microbial inactivation and physicochemical properties of ultrasound processed pomegranate juice. **Journal of Food Protection**, v. 78, n. 3, p. 531–539, 2015.

PAULA PEREIRA, Fabiana et al. Avaliação Comparativa Da Composição Nutricional

Do Leite De Soja Em Relação Ao Leite De Vaca Com E Sem Lactose. **Revista Acadêmica Conecta FASF**, v. 2, n. 1, p. 378–392, 2017.

PIYASENA, Punidadas et al. Radio Frequency Heating of Foods: Principles, Applications and Related Properties - A Review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 43, n. 6, p. 587–606, 2003.

POLISELI-SCOPEL, Fábio H. et al. Characterisation of volatile profile in soymilk treated by ultra high pressure homogenisation. **Food Chemistry**, v. 141, n. 3, p. 2541–2548, 2013.

\_\_\_\_\_. Comparison of ultra high pressure homogenization and conventional thermal treatments on the microbiological, physical and chemical quality of soymilk. **LWT - Food Science and Technology**, v. 46, n. 1, p. 42–48, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2011.11.004>>.

POLISELI-SCOPEL, Fábio Henrique et al. Characteristics of soymilk pasteurized by ultra high pressure homogenization (UHPH). **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 20, p. 73–80, 1 out. 2013. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S146685641300091X>>. Acesso em: 5 nov. 2019.

\_\_\_\_\_. Sterilization and aseptic packaging of soymilk treated by ultra high pressure homogenization. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 22, p. 81–88, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ifset.2014.01.001>>.

POSSAS, Arícia et al. Influence of temperature on the inactivation kinetics of Salmonella Enteritidis by the application of UV-C technology in soymilk. **Food Control**, v. 94, p. 132–139, 1 dez. 2018. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956713518303232>>. Acesso em: 31 out. 2019.

POVEY, M. J.W.; MCCLEMENTS, D. J. Ultrasonics in food engineering. Part I: Introduction and experimental methods. **Journal of Food Engineering**, v. 8, n. 4, p. 217–245, 1988.

RASO, Javier et al. Influence of different factors on the output power transferred into medium by ultrasound. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 5, n. 4, p. 157–162, 1999.

RAVIYAN, P.; ZHANG, Z.; FENG, H. Ultrasonication for tomato pectinmethylesterase inactivation: Effect of cavitation intensity and temperature on inactivation. **Journal of Food Engineering**, v. 70, n. 2, p. 189–196, 2005.

RAWSON, A. et al. Effect of thermosonication on bioactive compounds in watermelon juice. **Food Research International**, v. 44, n. 5, p. 1168–1173, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2010.07.005>>.

REILLY, Jennifer K. et al. Acceptability of soymilk as a calcium-rich beverage in elementary school children. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 106, n. 4, p. 590–593, 2006.

RIBEIRO, Mariana de Matos et al. Synergistic effect of thermosonication to reduce enzymatic activity in coconut water. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 41, n. April, p. 404–410, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ifset.2017.04.013>>.

RIVAS, Enrique Ortega-. **NON-THERMAL FOOD ENGINEERING OPERATIONS**. [S.l: s.n.], 2012. v. 53.

RODRÍGUEZ-ROQUE, María Janeth et al. Soymilk phenolic compounds, isoflavones and antioxidant activity as affected by in vitro gastrointestinal digestion. **Food Chemistry**, v. 136, n. 1, p. 206–212, 1 jan. 2013.

ROSENTHAL, Amauri et al. Effect of Enzymatic treatment and filtration on sensory characteristics and physical stability of soymilk. **Food Control**, v. 14, n. 3, p. 187–192, 2003.

SALA, F. J. et al. Effect of heat and ultrasound on microorganisms and enzymes. **New**

**Methods of Food Preservation**, p. 176–204, 1995.

SALVE, Akshata R.; PEGU, Kakoli; ARYA, Shalini S. Comparative assessment of high-intensity ultrasound and hydrodynamic cavitation processing on physico-chemical properties and microbial inactivation of peanut milk. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 59, n. August, p. 104728, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2019.104728>>.

SASTRY, Sudhir K.; SALENGKE, S. Ohmic heating of solid-liquid mixtures: A comparison of mathematical models under worst-case heating conditions. **Journal of Food Process Engineering**, v. 21, n. 6, p. 441–458, 1998.

SECRETARIA DE ESTADO DE AGRICULTURA, Pecuária e Abastecimento De Minas Gerais. Perfil Mundial. **SUPEA, SIEA**, p. 88, 2020.

SILVA, Francisco A.M.; BORGES, M. Fernanda M.; FERREIRA, Margarida A. Métodos para avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante. **Química Nova**, v. 22, n. 1, p. 94–103, 1999.

SMITA U KHODKE, KIRAN S SHINDE, Govind B yenge. A Study on the Storage of sterilized soymilk. **International Journal of farm sciences**, v. 61, n. 2, p. 166–179, 2015.

Soja a Soja : História , Tendências E Virtudes. p. 28–40, 2004.

SORGENTINI, Delia A.; WAGNER, Jorge R.; AÑÓN, María Cristina. Effects of Thermal Treatment of Soy Protein Isolate on the Characteristics and Structure-Function Relationship of Soluble and Insoluble Fractions. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 43, n. 9, p. 2471–2479, 1995.

SULAIMAN, Alifdalino et al. Thermosonication for polyphenoloxidase inactivation in fruits: Modeling the ultrasound and thermal kinetics in pear, apple and strawberry purees at different temperatures. **Journal of Food Engineering**, v. 165, p. 133–140, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2015.06.020>>.

SUN, Da Wen. **Emerg. Technol. Food Process.** [S.l: s.n.], 2014.

TASHIMA, EDUARDO HIDEKI; CARDELLO, HELENA MARIA ANDRÉ BOLINI. PERFIL SENSORIAL DE EXTRATO HIDROSSOLÚVEL DE SOJA ( Glicine Max L. Merrill) COMERCIAL ADOÇADO COM SACAROSE E COM SUCRALOSE. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 21, n. 2, p. 409–428, 2003.

TEREFE, Netsanet Shiferaw et al. The kinetics of inactivation of pectin methylesterase and polygalacturonase in tomato juice by thermosonication. **Food Chemistry**, v. 117, n. 1, p. 20–27, 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.03.067>>.

TIAN, Zhong Min et al. Effects of ultrasound and additives on the function and structure of trypsin. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 11, n. 6, p. 399–404, 2004.

TIWARI, B. K. et al. Inactivation kinetics of pectin methylesterase and cloud retention in sonicated orange juice. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 10, n. 2, p. 166–171, 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ifset.2008.11.006>>.

VAGADIA, Brinda Harish et al. Comparison of conventional and microwave treatment on soymilk for inactivation of trypsin inhibitors and in vitro protein digestibility. **Foods**, v. 7, n. 1, p. 1–14, 2018.

VASCONCELOS, M. A. S. **Conserv. Aliment.** [S.l: s.n.], 2010. Disponível em: <[http://redeotec.mec.gov.br/images/stories/pdf/eixo\\_prod\\_alim/tec\\_alim/181012\\_con\\_alim.pdf](http://redeotec.mec.gov.br/images/stories/pdf/eixo_prod_alim/tec_alim/181012_con_alim.pdf)>.

VEGA-MERCADO, Humberto et al. Non-thermal food preservation: Pulsed electric fields. **Trends in Food Science & Technology**, v. 8, n. 5, p. 151–157, 1 maio 1997. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0924224497010169>>. Acesso em: 14 dez. 2019.

VERCET, Antonio et al. The effects of manothermosonication on tomato pectic enzymes and tomato paste rheological properties. **Journal of Food Engineering**, v. 53, n. 3, p. 273–278, 2002.

VOLLMER, Amy C. et al. Bacterial stress responses to 1-megahertz pulsed ultrasound in the presence of microbubbles. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 64, n. 10, p. 3927–3931, 1998.

WU, J. et al. Effect of thermosonication on quality improvement of tomato juice. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 9, n. 2, p. 186–195, 2008.

YUAN, Shaohong et al. Elimination of trypsin inhibitor activity and beany flavor in soy milk by consecutive blanching and ultrahigh-temperature (UHT) processing. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, n. 17, p. 7957–7963, 2008.

ZAFRA-ROJAS, Quinatzin Yadira et al. Effects of ultrasound treatment in purple cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) juice. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 20, n. 5, p. 1283–1288, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ultsonch.2013.01.021>>.

ZAKIR, Mayara Miranda; FREITAS, Irene Rodrigues. Benefícios à saúde humana do consumo de isoflavonas presentes em produtos derivados da soja. **Journal of Bioenergy and Food Science**, v. 2, n. 3, p. 107–116, 2015.

ZHANG, Zhongyuan et al. Low intensity ultrasound as a pretreatment to drying of daylilies: Impact on enzyme inactivation, color changes and nutrition quality parameters. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 36, p. 50–58, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.11.007>>.

## APÊNDICE A

Tabela 1 - Análise de regressão

Fonte de variação	SQ			GL	QM			F calculado			p valor		
	TT	70%	90%		TT	70%	90%	TT	70%	90%	TT	70%	90%
<b>X<sub>1</sub></b>	8037,66	6991,14	5668,00	1	8037,66	6991,14	5668,00	124,65	142,34	284,56	<0,00	<0,00	<0,00
<b>X<sub>2</sub></b>	262,28	354,82	84,30	1	262,28	354,82	84,30	4,07	7,22	4,23	0,09	0,04	0,09
<b>X<sub>1</sub>*X<sub>2</sub></b>	0,02	27,35	1,78	1	0,02	27,35	1,78	0,00	0,56	0,09	0,99	0,48	0,78
<b>X<sub>1</sub>*X<sub>1</sub></b>	445,59	770,06	913,14	1	445,59	770,06	913,14	6,91	15,68	45,84	0,04	0,01	0,00
<b>X<sub>2</sub>*X<sub>2</sub></b>	12,61	145,12	38,15	1	12,61	145,12	38,15	0,20	2,95	1,92	0,67	0,14	0,22
<b>Falta de ajuste</b>	8,29	15,63	84,88	1	8,29	15,63	84,88	0,13	0,32	4,26	0,73	0,59	0,09
<b>Erro</b>	386,89	294,70	119,51	6	386,89	49,11	19,92						
<b>Total</b>	9153,35	8598,82	6909,77	12									

X<sub>1</sub>: temperatura (°C). X<sub>2</sub>: tempo (min).TT: Tratamento térmico. SQ: Soma de quadrados. GL: Grau de liberdade. QM: Quadrado médio.

## APÊNDICE A

Tabela 2 – Diferença entre as médias das amostras submetidas a um tipo de tratamento térmico em comparação ao EHS fresco (controle)

<b>Tratamento</b>	<b>L</b>	<b>a</b>	<b>b</b>	<b>E</b>	<b>pH</b>	<b>Brix</b>	<b>TPC</b>
Controle – TT	0,4111	-0,3222	0,5889	-	-0,4972*	0,5222*	-36,133*
Controle - 70%	-1,2000	-0,8222*	-0,6667	-	0,2555	0,8111*	-14,363*
Controle - 90%	-0,1899	-0,4444	0,0889	-	-0,3928	0,5444*	-21,256*

\*Diferenças significativas ao nível de 5% de probabilidade pelo teste Dunnett. TPC: Conteúdo de fenólico total. TT: Tratamento térmico convencional. Controle: EHS fresco, sem ser submetido a um tratamento térmico.