

**DESENVOLVIMENTO DE UM PRODUTO
SIMILAR AO TOFU COM BASE NA
COMBINAÇÃO DO EXTRATO DE SOJA E
SORO DE LEITE**

SUELI CIABOTTI

2007

SUELI CIABOTTI

DESENVOLVIMENTO DE UM PRODUTO SIMILAR AO TOFU
COM BASE NA COMBINAÇÃO DO EXTRATO DE SOJA E
SORO DE LEITE

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Ciência dos Alimentos, para a obtenção do título de "Doutor".

BIBLIOTECA CENTRAL

UFLA

Nº CLAS 35.655

Nº REGISTRO 33.408

DATA 02/10/06

Orientadora

Profa. Dra. Maria de Fátima Piccolo Barcelos

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL
2007

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca Central da UFLA**

Ciabotti, Sueli.

**Desenvolvimento de um produto similar ao tofu com base na
combinação do extrato de soja e soro de leite / Sueli Ciabotti. --
Lavras: UFLA, 2007.**

168 p. : il.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Lavras, 2007.

Orientadora: Maria de Fátima Pícolo Barcelos.

Bibliografia.

**1. Ácido láctico. 2. Glucona- δ -lactona. 3. Aspectos nutricionais. 4.
Isoflavonas. 5. Vida de prateleira. I. Universidade Federal de Lavras. II.
Título.**

CDD – 641.35655

SUELI CIABOTTI

**DESENVOLVIMENTO DE UM PRODUTO SIMILAR AO TOFU COM
BASE NA COMBINAÇÃO DE EXTRATO DE SOJA E SORO DE LEITE**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Ciência dos Alimentos, para a obtenção do título de “Doutor”.

APROVADA em 9 de outubro de 2007.

Dr. Roberto Kazuhiko Zito	EPAMIG
Profa Dra. Adelir Aparecida Saczk	UFLA
Profa. Dra. Maria das Graças Cardoso	UFLA
Profa. Dra. Roberta Hilsdorf Piccoli	UFLA
Prof. Dr. Luiz Ronaldo de Abreu	UFLA


Prof. Dra. Maria de Fátima Piccolo Barcelos
UFLA
(Orientadora)

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL

À minha querida mãe, Yolanda, pelo exemplo de amor, perseverança e vitória.
Ao meu filho, Lucas, e minha nora, Laís, por terem me presenteado com uma
tranqüila e linda neta, Marcella.

OFEREÇO

A Deus, pela presença e luz em todos os
momentos de minha vida,

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Ao Centro Federal de Educação Tecnológica de Uberaba, pela oportunidade de realizar a pós-graduação.

À Universidade Federal de Lavras e ao Departamento de Ciência dos Alimentos, pela contribuição à minha formação acadêmica.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes), pela concessão da bolsa de estudos.

À Epamig-Uberaba, pela concessão dos grãos de soja.

À Embrapa-Soja, pela realização das análises de isoflavonas.

À minha orientadora, Maria de Fátima Pícolo Barcelos, por todos os momentos de dedicação aos nossos trabalhos, incentivo, alegria e amizade.

Aos professores da UFLA, Angelita Duarte Corrêa, Eduardo Alves, Fabiana Ferrua Queiroz, Luiz Roberto Batista, Luiz Ronaldo de Abreu, Marcelo Cirilo, Maria das Graças Cardoso, Paulo Roberto Clemente e Roberta Hilsdorf Piccoli, pelo apoio técnico.

Às laboratoristas Constantina Braga Torres, Maria Aparecida Correa Lima, Creusa Rezende e Sandra Lacerda Silva, pelo apoio.

A todos os dirigentes do Cefet – Uberaba, especialmente ao professor Ronaldo Ananias Filho, pelo apoio.

Às minhas colegas de trabalho, Dione, Elaine, Estelamar, Graça e Marlene, pelo apoio durante a minha ausência nas atividades do CEFET.

À Profa. Roberta e colegas colaboradoras, Aline, Bel, Camila, Simone e Suzana, pelo grande apoio nas análises microbiológicas.

A todos os servidores e alunos do DCA/UFLA, Epamig-Uberaba e do Cefet-Uberaba que participaram das análises sensoriais.

Às minhas irmãs de coração, Graça e Ana Carla, pelo carinho, amizade e ajuda, em todos os momentos que precisei.

Aos colegas Abel, Andréa, Brígida, Heloisa, Kelen e ao Fabiano, e às laboratoristas Xulita e Helô, pelo grande apoio em algumas análises.

Às secretárias de pós-graduação, Rafaela (DCA) e Miriam (DQI), pela ajuda durante este período.

Enfim, a todos que colaboraram para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	i
ABSTRACT	iii
CAPÍTULO 1: Abordagens tecnológica, nutricional e sensorial de soja, tofu e soro de leite	1
1 INTRODUÇÃO	2
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	5
2.1 Aspectos nutricionais e funcionais da soja.....	5 /
2.2 Propriedades funcionais da soja	12 /
2.3 Extrato de soja.....	13 /
2.4 Soro de leite e seu aproveitamento na alimentação humana	15 0
2.5 Combinações de soja e soro de leite.....	18 0
2.6 Coagulação das proteínas da soja e do soro de leite.....	22
2.7 Textura, microscopia e análise estrutural das proteínas no processo de coagulação.....	27
2.8 Alterações dos alimentos processados durante o armazenamento	28
2.9 Potencial poluente de soro residual na indústria alimentícia.....	31 /
3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	34
CAPÍTULO 2: Propriedades tecnológicas e sensoriais de produtos similares ao tofu obtidos pela adição de soro de leite ao extrato de soja	47
1 RESUMO	48
2 ABSTRACT	50
3 INTRODUÇÃO	52
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	54
4.1 Processamento do produto similar ao tofu com adição de soro de leite.....	54
4.1.1 Obtenção do extrato de soja (leite de soja).....	54

4.1.2 Obtenção do produto similar ao tofu com adição de soro de leite.....	56
4.2 Cálculo de rendimento de obtenção do produto	61
4.3 Determinação da propriedade de textura dos produtos	61
4.4 Análise estrutural em microscopia eletrônica de varredura.....	61
4.5 Determinação da cor.....	62
4.6 Avaliação sensorial dos produtos	62
4.7 Análises químicas e físico-químicas	63
4.7.1 Análise da umidade e proteína	63
4.7.2 pH.....	63
4.7.3 Sólidos solúveis.....	63
4.7.4 Demanda química de oxigênio	64
4.8 Análise estatística	64
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	65
5.1 Umidade, proteína, pH, do extrato de soja (ES), do soro de leite (SL) e das misturas de ES:SL	65
5.2 Umidade e rendimento dos produtos.....	67
5.3 pH dos produtos similares ao tofu.....	68
5.4 Análise do perfil de textura (TPA).....	69
5.5 Cor dos produtos similares a tofu.....	74
5.6 Teste de aceitação dos produtos	76
5.7 Análises do soro residual (efluente) do produto similar ao tofu, com adição de soro de leite.....	80
6 CONCLUSÕES.....	84
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	85
CAPÍTULO 3: Avaliações, químicas e bioquímicas de um produto similar ao tofu obtido da combinação de soro de leite e extrato de soja.....	89
1 RESUMO	90
2 ABSTRACT	91

3 INTRODUÇÃO	92
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	94
4.1 Obtenção do produto similar ao tofu, com adição de soro de leite	94
4.2 Análises químicas e físico-químicas	96
4.2.1 Composição centesimal	96
4.2.2 Análises de isoflavonas	96
4.2.3 Análise do perfil de aminoácidos (aminograma).....	98
4.3 Digestibilidade in vitro.....	99
4.4 Análise estatística.....	100
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	101
5.1 Composição centesimal.....	101
5.1.1 Cultivar de soja.....	101
5.1.2 Composição centesimal do extrato de soja, do soro de leite proveniente do queijo mussarela, de misturas de extrato de soja e do soro de leite	102
5.1.3 Composição centesimal dos produtos similares ao tofu.....	104
5.2 Análises de isoflavonas, umidade e rendimento.....	107
5.3 Perfil de aminoácidos e escores químicos de tofu, ricota e dos produtos similares a tofu	111
5.4 Digestibilidade protéica in vitro	115
6 CONCLUSÕES.....	118
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	119
CAPÍTULO 4	124
CAPÍTULO 4: Estabilidade microbiológica e sensorial no armazenamento de produto similar ao tofu, com base na combinação de extrato de soja e soro de leite, coagulado com ácido láctico	124
1 RESUMO	125
2 ABSTRACT	126
3 INTRODUÇÃO	127

4 MATERIAL E MÉTODOS	129
4.1 Obtenção do produto similar ao tofu com base na combinação de extrato de soja e soro de leite	129
4.2 Análises da umidade e do pH do produto.....	130
4.3 Análises microbiológicas durante a vida de prateleira	131
4.4 Análise sensorial.....	131
4.5 Análise estatística	133
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	134
5.1 Teor de umidade.....	134
5.2 Análises de pH do produto similar ao tofu.....	135
5.3 Análises microbiológicas	136
5.3.1 Coliformes totais e termotolerantes.....	136
5.3.2 Estafilococos coagulase positivo.....	138
5.3.3 Aeróbios psicrotróficos	139
5.3.4 Fungos e leveduras	142
5.4 Análise sensorial.....	143
5.4.1 Teste de diferença duo-trio.....	143
5.4.2 Teste de aceitação dos produtos nos tempos 0 e 9 dias de armazenamento	146
5.4.3 Avaliação da aceitabilidade dos produtos com consumidores de tofu	148
6 CONCLUSÕES	151
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	152
ANEXOS	156

RESUMO

CIABOTTI, Sueli. **Desenvolvimento de um produto similar ao tofu com base na combinação do extrato de soja e soro de leite.** In:___2007. 168 p. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG*.

Vários estudos têm sido realizados pelas indústrias alimentícias, de produtos à base de proteína de soja e proteínas do leite. As proteínas de origem animal tendem a apresentar maior riqueza e melhor balanço em aminoácidos essenciais que as proteínas de origem vegetal, entendendo que a associação das proteínas da soja, deficientes em aminoácidos sulfurados, com as do soro de leite, proporcionará produtos com melhores propriedades nutricionais, além de estar proporcionando o aproveitamento do resíduo das indústrias de laticínios, que é altamente poluidor. Objetivou-se avaliar, sob os aspectos tecnológico, nutricional e sensorial, os produtos similares ao tofu, obtidos da mistura de extrato de soja e de soro de queijo, em diferentes proporções e diferentes coagulantes. Foram obtidos produtos elaborados à base de extratos de soja adicionados de soro proveniente da elaboração do queijo mussarela. Foram utilizadas três diferentes proporções de extrato de soja (ES): soro de leite (SL), 40:60; 30:70; 20:80, as quais sofreram ações dos coagulantes glucona- δ -lactona (GDL) ou ácido láctico (AL). O coagulante glucona- δ -lactona proporcionou aos produtos maior retenção de umidade e rendimentos, melhor perfil de textura e a proporção ES:SL 40:60 (GDL) foi a de maior aceitabilidade. Nos resultados da composição centesimal, os teores de proteína e gordura diminuíram conforme diminuíram-se as proporções de extrato de soja e os teores de cinzas extrato não-nitrogenado foram aumentados. Os produtos obtidos com ácido láctico apresentaram maiores teores de proteína e lipídeos. Os produtos obtidos com glucona- δ -lactona apresentaram maior retenção de isoflavonas. As proporções extrato de soja: soro de leite 40:60 e 30:20 alcançaram valores das isoflavonas semelhantes aos de outros produtos derivados de soja. O perfil de aminoácidos, principalmente os sulfurados, apresentou valores aumentados, conforme elevou-se a proporção de soro de leite, não apresentando os produtos aminoácidos limites, de acordo com os padrões de referência. Os valores de digestibilidade protéica *in vitro* foram maiores, conforme aumentou-se a proporção de soro de

* Comitê Orientador: Maria de Fátima Pícolo Barcelos – UFLA (orientadora), Luiz Ronaldo de Abreu – UFLA, Maria das Graças Cardoso – UFLA, Roberta Hilsdorf Piccoli - UFLA.

leite, e os produtos obtidos com ácido láctico foram os que apresentaram melhor digestibilidade. Na avaliação microbiológica da vida de prateleira dos produtos obtidos com ácido láctico, no tempo 12 dias de estocagem, sob temperatura em torno de 5°C, ocorreu um crescimento acentuado de psicrotróficos nas proporções ES:SL 40:60 e 30:70 e a proporção 20:80 apresentou maior tempo de vida útil. Na avaliação da diferença (teste de diferença duo-trio) da amostra padrão (0 dia) e dos produtos armazenados nos tempos 3, 6 e 9 dias, o produto com a maior proporção de soro de leite foi o que apresentou, somente no tempo 9 dias, diferença significativa detectada pelos provadores e também foi o de maior aceitação quanto aos aspectos aparência, sabor, textura e impressão global. A adição do soro de leite ao extrato de soja resultou um produto similar ao tofu, com resultados satisfatórios quanto aos aspectos tecnológicos; aumentou os conteúdos de aminoácidos, principalmente os sulfurados, melhorou a digestibilidade protéica; reteve quantidades consideráveis de isoflavonas; proporcionou maior tempo de vida de prateleira, e melhorou a aceitabilidade pelos provadores.

ABSTRACT

CIABOTTI, Sueli. Development of a product similar to tofu based on the combination of milk whey on the soymilk. 2007. 168 p. Thesis (Doctorate in Food Science) - Federal University of Lavras, Lavras, MG*.

Several studies have been conducted by food industries combined of products based upon soybean protein and milk proteins. The protein of animal origin tends to present greater richness and better balance in essential aminoacids than the proteins of plant origin, understanding that the association of soybean proteins deficient mainly in the sulfur-containing aminoacids with those of milk whey will be bringing products with better nutritional properties, in addition to being providing the use of the residues of dairy industries which highly polluter. It was aimed under the technological, nutritional and sensorial aspects the products analogous to tofu obtained from the mixture of soybean extract and of cheese whey in different proportions and different coagulants. Products were obtained manufactured from soybean extracts added of whey coming from the making of Mozzarella cheese. Three different proportions soybean extract (ES): milk whey (SL) 40:60; 30:70; 20:80 were used, which underwent actions of the coagulants glucono- δ -lactone and lactic acid singly. The coagulant glucono- δ -lactone provided to the products increased retention of moisture and yields, better profile of texture and the proportion 40:60 (GDL) was the one of highest acceptability. In the results of the centesimal composition, the contents of protein and fat decreased as the proportions of soybean also decreased and the contents of non-nitrogen extract ashes were increased. The products obtained with lactic acid presented higher contents of protein and lipids. The products obtained with glucono- δ -lactone showed greater retention of isoflavones. The proportions soybean extract: milk whey 40:60 and 30:20 reached values of isoflavones similar to other soybean-derived products. The aminoacid profile mainly the sulfur-containing ones presented their values increased as the proportion of milk whey was raised, not presenting the products limit aminoacids according to the reference standards. The results of in vitro protein digestibility presented them selves higher as the proportion of milk whey

* Guidance Committee: Maria de Fátima Pícolo Barcelos – UFLA (Adviser), Luiz Ronaldo de Abreu – UFLA, Maria das Graças Cardoso – UFLA, Roberta Hilsdorf Piccoli - UFLA.

was increased, and the products obtained with lactic acid were the ones which presented better digestibility. In the microbiological evaluation of shelf life of the products obtained with lactic acid in the time 12 days of storage under temperature around 5°C, a marked growth of psychrotrophics in the proportions ES:SL 40:60 and 30:70 occurred and the proportion 20:80 presented longer time of useful life. In the evaluation of the difference (duo-trio difference test) of the standard sample (0 day) and of the products stored in the times of 3, 6 and 9 days, the product with the greatest proportion of milk whey was the one which presented only in the time 9 days, a significant difference detected by the tasters with relation to the product with the time 0 day and was also the one of greatest acceptance as to the aspects appearance, flavor, texture and overall impression, with means between I liked very much and I liked moderately. The addition of milk whey to the product analogous to tofu responded satisfactorily as to the technological aspects, increased the contents of aminoacids, mainly the sulfur-containing ones, improved the protein digestibility, retained substantial amounts of isoflavones, provided longer time of shelf life and improved the acceptability by the consumers.

CAPÍTULO 1

ABORDAGENS TECNOLÓGICA, NUTRICIONAL E SENSORIAL DE SOJA, TOFU E SORO DE LEITE

1 INTRODUÇÃO

A grande expansão populacional, diante da reduzida disponibilidade de alimentos, tem motivado a condução de pesquisas, na busca de alimentos de destacada qualidade protéica e de baixo custo (Souza, 1997).

Entre os alimentos de origem vegetal, a soja se destaca, não apenas pela quantidade, mas também pela qualidade de proteínas, pela presença dos lipídios, vitaminas, minerais, bem como pela presença de alguns metabólitos secundários, classificando-a como alimento funcional (Hui et al., 2001; Jackson et al., 2002; Murphy et al., 2002). É versátil como alimento, devido a suas adequadas propriedades funcionais, o que a predispõe a fazer parte de inúmeros sistemas alimentícios.

Na obtenção de produtos à base de soja, deve-se ter alguns cuidados, como o de selecionar variedades direcionadas para o consumo humano e ainda em aplicar tecnologias específicas, evitando que o sabor e odor desagradáveis comprometam o consumo dos produtos.

O extrato de soja, também conhecido como leite de soja, é um dos produtos derivados de soja, que é muito conhecido e apreciado pela população ocidental. Do extrato de soja, obtém-se o tofu, produto obtido pela coagulação das proteínas do extrato de soja. Outros alimentos à base de extrato de soja podem ser obtidos, tais como iogurtes, bebidas com diferentes sabores e achocolatados, entre outros.

Um dos problemas existentes no campo industrial são os resíduos e subprodutos gerados com a fabricação de produtos alimentícios. É necessário conhecer a tecnologia de reutilização para, além de minimizar a poluição ambiental, oferecer nutrientes para a população. Entre esses, o soro de leite,

proveniente da fabricação de queijos, apresenta grandes perspectivas de aproveitamento para a alimentação humana.

O soro de leite possui as proteínas solúveis, que são classificadas como proteínas completas e são bastante pesquisadas devido às suas propriedades nutricionais, e como alimento funcional, valendo salientar a importância de alternativas para o seu aproveitamento. Vários estudos têm sido realizados pelas indústrias alimentícias de produtos combinados à base de proteína de soja e proteínas do leite de vaca.

As proteínas de origem animal apresentam adequado balanço dos aminoácidos essenciais e elevada digestibilidade, quando comparadas às proteínas de origem vegetal, entendendo que a associação de proteínas da soja, que são deficientes em alguns aminoácidos essenciais - os sulfurados - com as proteínas do soro de leite, proporciona produtos com melhores propriedades nutricionais (Sgarbieri, 1996; Rodrigues, 2001). No Brasil, tem sido mostrado em alguns estudos que a combinação desses alimentos melhora a qualidade nutricional e a aceitabilidade do produto. Diante do exposto, este trabalho foi realizado com os objetivos descritos a seguir:

Objetivo geral

Avaliar sob os aspectos tecnológico, nutricional e sensorial, produtos similares ao tofu, obtidos da combinação do extrato de soja e do soro de leite, utilizando diferentes proporções e diferentes coagulantes.

Objetivos específicos

- Elaborar seis produtos similares ao tofu, com base no de extrato de soja (ES) e soro de leite (SL), obtidos de três combinações (ES:SL) e dois coagulantes.
- Verificar as características físicas de textura, cor e rendimento do produto sob o efeito dos dois coagulantes, nas diferentes proporções da mistura

ES:SL.Determinar os parâmetros químicos e bioquímicos das matérias-primas e das diferentes concentrações da mistura de extrato de soja e soro de queijo e do produto obtido.

- **Determinar a vida de prateleira do produto final, quanto aos aspectos microbiológicos e sensoriais.**
- **Avaliar as características sensoriais de sabor, textura, aparência e cor do produto, por meio do Teste de Aceitação.**

2 REFERENCIAL TEÓRICO

A soja [*Glycine max* (L.) Merrill] vem se destacando entre as leguminosas, devido à sua versatilidade. Do grão, pode-se extrair o extrato de soja, também conhecido como “leite de soja”, que é um alimento de alto valor nutricional. Em razão das modernas tecnologias de processamento desenvolvidas no Ocidente, a soja tem se revelado uma importante alternativa alimentar de baixo custo, em substituição às proteínas de origem animal, ditas proteínas de custo elevado, como carne, leite e ovos. São inúmeros os produtos da soja que desempenham um papel de grande importância na formação de uma dieta de baixo custo, bem balanceada e rica em proteínas (Paiva et al., 2006).

A soja é considerada excelente fonte de proteínas, constituindo uma das principais alternativas de complemento protéico em locais onde fontes de proteína animal são escassas ou de custo elevado (Lajolo et al., 1996).

A mistura da soja com outros alimentos tem resultado em novos alimentos protéicos de larga aceitação no mercado, a exemplo do *blend* “leite misto de soja e milho”, produzido com da farinha de milho, processado com farinha de soja torrada e leite em pó desnatado (Paiva et al., 2006).

2.1 Aspectos nutricionais e funcionais da soja

A soja é um alimento muito utilizado pelos orientais e seu consumo vem se estendendo pelo Ocidente.

Trata-se de uma leguminosa cujas proteínas destacam-se não só pela qualidade, mas também pela quantidade, estabelecendo-se ainda como uma oleaginosa, uma vez que de seus grãos é extraído o óleo de soja, intensamente comercializado em todo o mundo.

A princípio, o valor da soja na nutrição foi atribuído ao seu teor de proteína, lipídeos, vitaminas e minerais. Entretanto, sabe-se que os grãos de soja são fonte rica em metabólitos secundários, a exemplo das isoflavonas. Muitos desses componentes têm importantes efeitos benéficos à saúde humana, como fonte preventiva de doenças crônico-degenerativas. (Smith & Circle, 1978; Hui et al., 2001; Jackson et al., 2002; Murphy et al., 2002).

A soja é consumida pela população na forma de óleo e derivados, tais como: margarina e gordura hidrogenada, extrato hidrossolúvel, proteína texturizada e como matéria-prima para produtos industrializados (Moreira, 1999). Tem grande potencial como alimento, não somente pelo elevado teor protéico e qualidade considerada, mas também pelo alto conteúdo de lipídeos, caracterizando-se como fonte energética e, ainda, pela presença de determinadas vitaminas e minerais (Camacho et al., 1981).

O óleo da soja é rico em ácidos graxos essenciais, os poliinsaturados ácido linoléico 18:2 ($\Delta^{9,12}$) (ω -6) e o ácido α -linolênico 18:3 ($\Delta^{9,12,15}$) (ω -3), que exercem importantes papéis fisiológicos (Voss, 1994).

Do ponto de vista nutricional, a soja contém componentes essenciais para a alimentação humana, constituindo-se em excelente fonte de proteína. Apresenta cerca de 30% a 45% de proteína nos grãos, sendo uma das leguminosas que se destaca nesse constituinte (Nielsen, 1991). Porém, o valor nutritivo de uma proteína depende da composição, digestibilidade, proporção, biodisponibilidade dos aminoácidos essenciais e ausência de propriedades antinutricionais (Pellet & Young, 1980; Nielsen, 1991; Sgarbieri, 1996).

As proteínas de origem animal apresentam digestibilidade elevada e as de origem vegetal, valores inferiores (abaixo de 80%). Vários fatores contribuem para a menor digestibilidade das proteínas nos vegetais, tais como: compostos fenólicos, componentes da fibra alimentar, pigmentos, produto da oxidação de ácidos graxos insaturados, inibidores de enzimas digestivas, estrutura de

proteínas, complexo de proteína com amido, hemicelulose, minerais e outras proteínas, formando derivados protéicos menos digeríveis (Singh & Jambunathan, 1981; Deshpande & Nielsen, 1987; Sgarbieri, 1996).

A composição aminoacídica constitui fator relevante para o conhecimento da qualidade protéica (Szarfarc et al., 1980). Quando um ou mais aminoácidos aparecem na proteína em quantidades inferiores à requerida pelo organismo receptor ou em relação a um padrão de referência, tais aminoácidos são tidos como limitantes. As proteínas de leguminosas, em geral, são limitantes em aminoácidos sulfurados (metionina e cistina) (Liener, 1978; Nielsen, 1991; Sgarbieri, 1996).

O escore químico estabelece uma comparação entre a quantidade de cada aminoácido, dieteticamente indispensável, da proteína em estudo com o aminoácido correspondente de uma proteína ou tomado como referência (Sgarbieri, 1996).

O primeiro padrão proposto pela FAO, em 1955, constituiu-se de mistura teórica de aminoácidos essenciais e semi-essenciais. Os padrões propostos em 1968 foram constituídos por proteína, na qual os aminoácidos essenciais participavam com 51,3% e o padrão de 1973 continha 36% em aminoácidos essenciais da proteína referência. Outro ponto diferencial entre esses dois últimos padrões refere-se à forma de avaliação dos chamados aminoácidos semi-essenciais (AASE). No padrão de 1968, os AASE são computados separadamente ao seu respectivo aminoácido essencial (AAE), ao passo que, em 1973, eles apresentavam-se somados aos seus respectivos essenciais. Assim, no padrão FAO 1973, os sulfurados totais representam a junção de metionina mais cistina e os aromáticos totais representam o conjunto de fenilalanina e tirosina, que é o seu respectivo AASE. Com o desenvolvimento das pesquisas, novos conhecimentos têm levado à proposta de outros padrões que satisfazem mais no que diz respeito à qualidade aminoacídica das proteínas

(Szarfarc et al., 1980). Os padrões de referência utilizados atualmente são os da FAO/WHO (1990), os quais se diferenciam dos de 1973 na redução dos aminoácidos sulfurados e valina, na inclusão da histidina e no aumento dos demais aminoácidos essenciais. Na Tabela 1, verifica-se a composição de aminoácidos essenciais de proteína-referência da FAO/WHO de 1973 e 1990.

TABELA 1 Composição em aminoácidos de proteína-referência (teórica) da FAO/WHO 1973 e 1990.

Aminoácidos essenciais	FAO/WHO - 1973 (mg/g de proteína)	FAO/WHO - 1990 (mg/g proteína)
Histidina	-	19
Isoleucina	40	28
Leucina	70	66
Lisina	55	58
Met + cys	35	25
Phe + Tyr	60	63
Treonina	11	34
Triptofano	10	11
Valina	50	35

As plantas, entre outros organismos, produzem ampla variedade de compostos que são oriundos dos metabólitos primários denominados metabólitos secundários, entre os quais se encontram os flavonóides, os ácidos fenólicos, as saponinas, os glicosinolatos, as furanocumarinas e os compostos cianogênicos (Simões et al., 2004). As isoflavonas são as formas mais comuns desses metabólitos, sendo predominantemente encontradas em leguminosas, especialmente na soja (Tham et al., 1998).

Em estudos epidemiológicos, tem-se comprovado menor incidência de câncer de mama, próstata e cólon nas populações asiáticas (Herman et al., 1995;

Tham et al., 1998), onde o consumo *per capita* de soja é de 20 a 50 vezes maior que nas populações ocidentais (Anderson & Garner, 1997), com média de isoflavonas de 40-80 mg/dia (Herman et al., 1995), ao passo que na América, são consumidos somente de 1 a 3 mg de isoflavonas /dia (Kim & Kwon, 2001).

Em experimentos com animais e humanos, tem sido verificado que as proteínas da soja possuem propriedades de ação hipocolesterolêmica e antiaterogênica (Carrol & Kurowska, 1995; Sirtori et al., 1995). A genisteína, que possui atividade estrogênica, tem mostrado sua ação em animais também como antiestrogênica, e, portanto, pode atuar como papel protetor nos cânceres estrógenos-dependentes, tais como câncer de mama, de próstata e cólon (Peterson, 1995; Kennedy, 1995; Barnes, 1995).

Em estudos de Carroll & Kurowska (1995), foram analisados os efeitos da proteína da soja, concluindo-se que ela diminuiu significativamente a concentração sérica do colesterol total, *low density lipoprotein* – cholesterol (LDL-c) e dos triacilgliceróis, quando comparada à proteína de origem animal. Esses efeitos positivos da soja parecem estar relacionados não apenas às suas proteínas, mas também a outras substâncias associadas, como as isoflavonas.

Foi constatado em estudos de cultura de células, modelos animais e ensaios clínicos em humanos, que as isoflavonas previnem cânceres hormônio-dependentes (Kennedy, 1995) e diminuem também cânceres não relacionados a hormônios (Barnes, 1995). São ainda benéficas no tratamento de osteoporose (Bahrn et al., 1996) e alívio nos sintomas da menopausa (Greenwood et al., 2000).

Os componentes das isoflavonas isoladas nos grãos de soja são doze, sendo nove conjugados glicosídeos (Figura 1A) e três agliconas (daidzeína, genisteína e gliciteína) (Figura 1B). Os glicosídeos incluem três 7-*O*-glicosídeos (daidzina, genistina e glicitina), três 6''-*O*-acetil glicosídeos (6''-*O*-acetil-daidzina, 6''-*O*-acetil-genistina e 6''-*O*-acetil-glicitina) e três 6''-*O*-malonil-

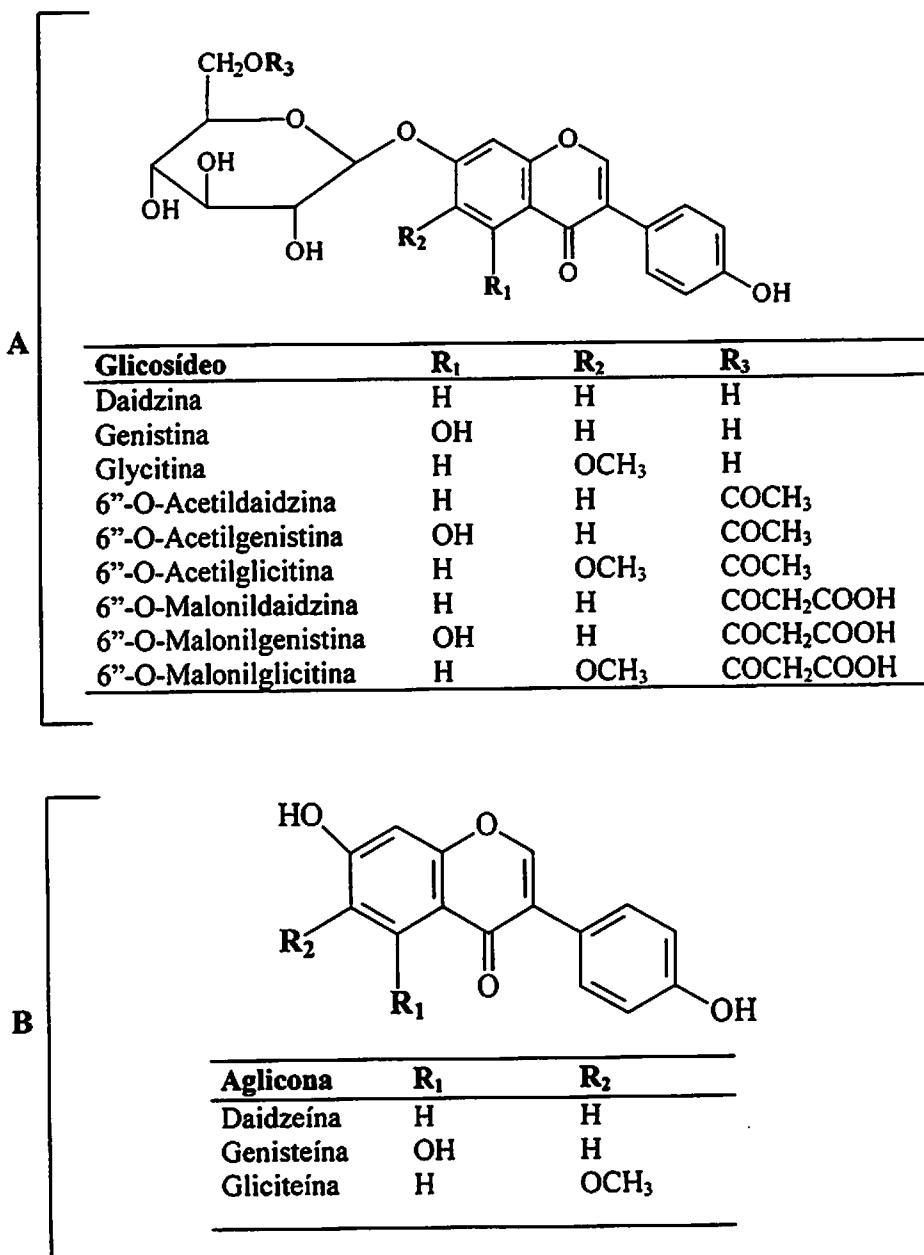


FIGURA 1 Estruturas das isoflavonas da soja: (A) glicosídeos e (B) agliconas.
 Fonte: Jackson et al. (2002) com modificações.

glicosídeos (6''*O*-malonil-daidzina, 6''*O*-malonil-genistina e 6''*O*-malonil-gliciteína) (Jackson et al., 2002).

As isoflavonas, quando ingeridas, são hidrolisadas no intestino delgado por β -glicosídeses intestinais, as quais liberam as formas agliconas biologicamente ativas do nosso corpo. Essas são absorvidas ou fermentadas pela microbiota intestinal, dando origem a seus metabólitos (daidzeína, genisteína e gliciteína) (Jackson et al., 2002).

Tem sido demonstrado, em estudos, que o processamento do alimento também altera o conteúdo dos conjugados de glicosídeos de isoflavonas, ou seja, durante a extração, o processamento e o cozimento (Coward et al., 1998; Hui et al., 2001; Jackson et al., 2002). A hidrólise enzimática e a fermentação também alteram a distribuição das isoflavonas (Wang & Murphy, 1994).

A desnaturação térmica, a agregação e as propriedades de gelatinização das proteínas da soja, durante a fabricação do tofu, têm sido investigadas por alguns pesquisadores (Lakemond et al., 2002; Mujoo et al., 2003). Perdas de isoflavonas no soro no processo de coagulação são influenciadas pelo tipo de coagulante. Prabhakaran et al. (2006) avaliaram diferentes tipos de coagulantes e diferentes concentrações e perdas no soro. Pelos resultados, verificou-se que o rendimento, a umidade e a concentração de coagulante influenciaram na retenção de isoflavona do tofu.

Em outros trabalhos (Hui et al., 2001, Jackson et al., 2002, Murphy et al., 2002), igualmente afirmam que o calor do processamento da soja, a hidrólise enzimática e a fermentação alteram significativamente a distribuição dos compostos de isoflavonas em alimentos de soja. Certos métodos de processamento, tais como fervura, moagem e coagulação das proteínas da soja, na obtenção do tofu, não destroem daidzeína e genisteína significativamente, como a tostagem a altas temperaturas.

2.2 Propriedades funcionais da soja

A absorção e a retenção de água pelos alimentos protéicos têm um papel fundamental na qualidade da textura de diversos alimentos. A absorção de água e a dissolução das proteínas conduzem a uma expansão e conferem propriedades, tais como consistência, espessamento, viscosidade e aderência. Algumas superfícies polares, tais como grupos amino e carboxila, são ionizáveis e, assim, a polaridade pode ser alterada conforme a variação do pH (Cheftel et al., 1989).

O uso da soja na indústria tem aumentado em razão de suas propriedades funcionais, as quais têm se tornado mais importantes do que sua contribuição nutritiva. Sgarbieri (1996) define essas propriedades funcionais como:

- ✓ solubilidade, que é influenciada pela maior ou menor afinidade das moléculas de proteína pelo solvente que, no caso dos alimentos, é a água. Por isso, a solubilidade é classificada como uma propriedade hidrofílica;

- ✓ emulsificação, que diminui a tensão superficial existente entre duas fases e permite a formação de emulsão (mistura de dois líquidos imiscíveis, um dos quais é disperso na forma de glóbulos no outro líquido);

- ✓ ação estabilizante de emulsão, que é a capacidade que tem uma solução de proteína ou uma suspensão de alimento protéico de formar uma mistura homogênea e estável com óleo ou gordura líquida;

- ✓ geleificação, que é a capacidade de macromoléculas em suspensão aquosa de formar colóides de maior ou menor fluidez, dependendo da concentração das macromoléculas, bem como de sua natureza.

As proteínas da soja contêm numerosas cadeias laterais polares, fazendo com que elas se tornem hidrofílicas; conseqüentemente, vão absorver a água, que é retida no final do processamento de alimentos (Wolf & Cowan, 1975).

2.3 Extrato de soja

Os produtos derivados de soja apresentam múltiplas vantagens tecnológicas e nutricionais. Entretanto, eles ainda não são totalmente aceitos pela população brasileira, devido às características sensoriais indesejáveis, como é o caso do extrato de soja, conhecido também como leite de soja, que vem ganhando destaque no Brasil, tendo, porém, como fatores limitantes o sabor e o odor (Moraes et al., 2006). Esses sabores são atribuídos à ação da enzima lipoxigenase, que produz o *off flavor* nos grãos de soja pela hidroperoxidação dos ácidos graxos poliinsaturados e pela interação dos produtos de hidrólise com as proteínas (Rackis et al., 1979).

O extrato de soja é um produto obtido de uma quantidade adequada de grãos de soja e água, numa proporção soja:água (p/v) geralmente 1:10 (Burne et al., 1976). As etapas rotineiras para a obtenção do extrato de soja para a elaboração do tofu são: pesagem dos grãos, maceração (12 horas), trituração, processamento térmico (em torno de 98°C/5'), filtração e correção do volume final (Smith & Circle, 1978; Lim et al., 1990; Jackson et al., 2002).

O processo utilizado por Nelson et al. (1979) para a elaboração do extrato de soja baseou-se no branqueamento do grão de soja, posterior desintegração com água e homogeneização à alta pressão, tendo alcançado sucesso na obtenção do leite de soja com sabor suave e boa solubilidade. Pesquisas evoluíram e, baseando-se nos princípios da inativação das enzimas lipoxigenases com o tratamento térmico dos grãos, equipamentos foram desenvolvidos para a obtenção de extrato de soja com sabores e odores que possibilitam melhor aceitação do produto.

Uma alternativa para a remoção de compostos voláteis que conferem essas características é a desodorização, ou seja, a retirada dos sabores e odores indesejáveis do extrato de soja. Moraes (2002) desenvolveu equipamento no qual o extrato de soja recebe um tratamento térmico e, posteriormente, é

conduzido a uma câmara de alto-vácuo, que elimina o aroma e o sabor característicos da soja. Na penúltima etapa do processo, o extrato de soja é conduzido a uma outra câmara, para que o vácuo seja quebrado. Finalmente, a bebida é resfriada e depositada em recipientes, nos quais frutas e outros sabores e aromas poderão ser adicionados.

O tratamento térmico adequado no processamento da soja melhora a sua qualidade nutritiva, eliminando ou reduzindo os fatores antinutricionais, como os inibidores de tripsina, hemaglutininas e fator goitrogênico (Liener, 1994). Ocorre, então, uma desnaturação das proteínas, aumentando, assim, a sua digestibilidade e ocorrendo a utilização mais completa de todos os aminoácidos (Longenecker et al., 1964).

Os efeitos do calor úmido e do pH são extremamente importantes no processamento da soja. Como essa leguminosa é sempre submetida ao aquecimento durante um ou mais estágios de seu processamento, ocorre naturalmente a desnaturação das proteínas, interferindo em sua solubilidade (Wolf & Cowan, 1975). Isso pode interferir no processo de coagulação para a obtenção do tofu e de produtos similares. Em estudos recentes, constatou-se que o processamento térmico do extrato de soja para a obtenção do tofu é bastante variável, incluindo tempos de 95°C/10 minutos (Chang et al., 2003) a 98°C/2minutos (Jackson et al., 2002).

O processamento da soja para a obtenção de extrato de soja (leite de soja) e de tofu tem sido estudado, objetivando-se avaliar os efeitos do processamento na qualidade desses produtos (Liu et al, 2004; Noh et al., 2005; Prabhakaran et al., 2006; Tang, 2007; Wang et al., 2007; Kim et al., 2007).

2.4 Soro de leite e seu aproveitamento na alimentação humana

As proteínas do leite compreendem duas frações principais: caseínas, que se apresentam principalmente no estado de partículas coloidais (micelas) e proteínas do soro, que estão em solução (Davian et al., 2000).

As proteínas do soro de leite são o produto resultante da separação das caseínas, principalmente pela precipitação no pH isoeletrico (pH 4,6) e coagulação pela ação de enzimas no processo industrial de fabricação de queijos (Bem-Gera & Kramer, 1969). Se a remoção da caseína é feita pela adição de ácido (pH 4,6), o soro é denominado “soro ácido”. Se for feito pela ação de enzimas, obtém-se o “soro doce”, que contém, em geral, maior quantidade de peptídeos e aminoácidos livres resultantes da ação das enzimas sobre a caseína (Sgarbieri, 1996).

A produção de queijos nas usinas de laticínios é acompanhada de grande produção de soro, que possui alto valor de demanda biológica de oxigênio (D.B.O.), em virtude de seu alto nível em lactose. O soro é um dos resíduos mais poluentes da indústria alimentícia, onde grandes volumes ainda são desperdiçados, ou direcionados a sistemas de tratamento de efluentes com baixa eficiência, contaminando os cursos de água (Ralph, 1982; Bronstein & Monte Alegre, 1998; Hosseini et al., 2003).

Entre os produtos obtidos do soro de queijo, destaca-se a ricota, pelas suas características de baixo teor de gordura, alta digestibilidade e elevado teor protéico (Panetta, 1975), é constituída basicamente da precipitação das proteínas solúveis do soro: a albumina e a β -lactoglobulina (Furtado & Lourenço Neto, 1994).

Por ser o soro de queijo um meio rico em proteínas, vitaminas, sais minerais e lactose, têm surgido outras alternativas, que não a fabricação de ricota, para o seu aproveitamento (Bronstein & Monte Alegre, 1998). Produtos, tais como bebidas lácteas fermentadas e não-fermentadas, lactose, ácido láctico,

álcool, vinagre, isolados, concentrados e hidrolisados protéicos, soro em pó e outros, podem ser obtidos do soro (Webb & Whittier, 1948).

Com o surgimento de novas tecnologias, o soro de queijo e as frações do soro tornaram-se ingredientes alimentares muito versáteis e valorizados (Freemore, 1997; Camejo et al., 1999), podendo conferir à tecnologia de alimentos novas potencialidades devido às propriedades nutricionais e funcionais das suas proteínas (Rodrigues, 2001).

As proteínas do soro representam cerca de 20% das proteínas do leite. As duas principais proteínas do soro β -lactoglobulina e α -lactalbumina perfazem 70%-80% das proteínas totais do soro. Além dessas são encontradas a soroalbumina, as imunoglobulinas, as proteose-peptonas e as enzimas (Sgarbieri, 1996).

• O soro de queijo é fonte de vitaminas do complexo B (riboflavina e tiamina) e de minerais (cálcio, fósforo e magnésio), além de lactose, que é importante fonte energética (Severo, 1995).

A composição do soro de queijo é variável, pois depende do tipo de queijo do qual é proveniente, da composição inicial do leite e da tecnologia empregada na fabricação do queijo (Silva, 2000).

O soro de queijo contém 6,9% de sólidos totais, sendo: 0,6% de cinzas e 6,3% de sólidos orgânicos (0,3% de gordura; 0,9% de compostos nitrogenados – calculados como proteína – 5,0% de lactose e 0,2% de ácido láctico). Aproximadamente 5/9 dos compostos nitrogenados são proteínas coaguláveis pelo calor (Torres, 1988). É importante ressaltar que o soro de queijo tem o teor baixo de gordura, pois essa deve permanecer no queijo, juntamente com a caseína (Amieva, 1974).

Em seu trabalho de revisão, Torres (1988) cita que componentes do leite, tais como parte do cálcio, riboflavina, lactose e de fósforo são carregados pelo soro de queijo durante o processo de fabricação de queijo. O mesmo autor

ressalta que a riboflavina é a única vitamina presente em quantidade apreciável no soro, com concentração de $1,24 \mu\text{g mL}^{-1}$.

Entre os principais elementos que compõem as cinzas do soro de queijo, incluem-se: 0,188% de óxido de potássio, 0,075% de óxido de sódio, 0,071% de óxido de cálcio, 0,018% de óxido de magnésio, 0,001% de óxido férrico, 0,110% de pentóxido de fósforo e 0,029% de trióxido de enxofre (Madrid, 1979).

As proteínas do soro de leite contêm altas concentrações de aminoácidos sulfurados e composição aminoacídica superior à da caseína no teor de aminoácidos essenciais (Forato, 1994).

Em razão do ao perfil equilibrado de aminoácidos das proteínas de soro, seus produtos são excelentes ingredientes para a fortificação ou a complementação de outras proteínas. A adição do soro de queijo ao leite, enriquecido ou não com proteínas vegetais, é utilizada há alguns anos como forma de aumentar os volumes de leite nos locais onde sua produção é escassa (Freemore, 1997; Camejo et al., 1999).

A utilização do soro de queijo para enriquecimento de alimentos está apoiada na qualidade de suas proteínas β -lactoglobulina (45%), α -lactalbumina (20%) e imunoglobulinas (10%) (Freemore, 1997).

O uso do soro de queijo na nutrição humana, e especialmente para fins terapêuticos, foi mencionado por Hipócrates, em 460 a.C. Na Idade Média, o soro de queijo foi recomendado por médicos para tratamento de diversas doenças. Nos anos 1940, na Europa Central, a dispepsia, a uremia, a artrite, a gota, as doenças do fígado, a anemia e até a tuberculose foram tratadas com a ingestão de mais de 1.500 g de soro de queijo por dia (Susli, 1956).

Sgarbieri (2004) coloca em destaque as propriedades multifuncionais das proteínas presentes no soro de leite bovino, por conter proteínas com propriedades muito favoráveis à saúde, no sentido de diminuir o risco de

doenças infecciosas e também as consideradas crônico-degenerativas. Enfatizaram-se as propriedades das proteínas do soro e peptídeos delas resultantes no estímulo do sistema imunológico, na proteção contra vários tipos de cânceres, particularmente de cólon, na proteção da mucosa gástrica contra agressão por agentes ulcerogênicos. Também evidenciaram-se várias linhas de ação protetora das proteínas do soro contra agentes condicionadores de problemas cardiovasculares. Com base nas várias propriedades funcionais das proteínas do soro de leite, discutiram-se a vantagem e os benefícios de seu uso como suplemento alimentar para atletas e esportistas em geral.

A adição do soro de queijo em fórmulas infantis e em dietas especiais, produtos de panificação, produtos lácteos e misturas em pó mostra a aplicação desse componente na indústria alimentícia, resultando, conseqüentemente, no aumento de sua demanda e na positiva contribuição para o estado nutricional da população, além do favorecimento da redução do custo desses produtos em relação aos seus similares (Severo 1995).

A proteína do soro do queijo é a mais valorizada entre as frações do leite em toda a indústria alimentícia, em virtude das suas propriedades funcionais (Torres, 1988). Entre essas propriedades, destacam-se a solubilidade em água, a capacidade para absorção de água, a geleificação, a estabilidade na formação de espuma e na aeração (Bech, 1981). Porém, as proteínas do soro de queijo a altas temperaturas são facilmente coaguláveis, provocando a desnaturação, tendo como conseqüência a perda da maioria das propriedades funcionais citadas anteriormente (Wit & Klarenbeck, 1984).

2.5 Combinações de soja e soro de leite

A soja é considerada uma fonte protéica barata para a elevação da quantidade de proteína do soro de leite (0,7% a 0,9%). A proteína de soja é deficiente em aminoácidos sulfurados. Por outro lado, as proteínas do soro de

leite contêm quantidades significantes de metionina e cisteína, tornando-se de grande interesse como fonte protéica (Forato, 1994). Portanto, uma mistura de soro de queijo e soja, com um conteúdo protéico equivalente ou maior do que o do leite, poderia ser uma desejável adição para o suprimento alimentar disponível (Torres, 1988).

O soro de leite proveniente da fabricação de queijos, apesar de apresentar um teor protéico médio de apenas 0,7%, dispõe de proteínas que ultrapassam os níveis de todos os aminoácidos essenciais da caseína, proteínas referências da *Food and Agricultural Organization* (FAO), demonstrando claramente o seu elevado valor biológico (Severo, 1995).

Na Tabela 2, apresenta-se a composição de aminoácidos essenciais da proteína de soja e da do soro de leite, comparadas aos padrões da FAO/WHO (1990).

TABELA 2 Conteúdo de aminoácidos da soja e do soro de leite, utilizando como referência a proteína padrão da FAO/WHO (1990), para crianças de 2-5 anos.

Aminoácido	Padrão	Proteína	Proteína do soro
	FAO/WHO	da soja	de leite
g de aminoácidos / 100 g proteínas			
Treonina	3,4	3,9	5,8
Valina	3,5	5,3	6,0
Leucina	6,6	8,0	12,3
Isoleucina	2,8	6,0	5,8
Lisina	5,8	6,8	10,3
Met + Cys	2,5	1,7	4,6
Triptofano	1,1	1,4	2,6

Fonte: Coelho (1986) e Sgarbieri (1996) com modificações.

Os valores médios de composição química, pH e pl de extrato de soja e soro de leite são apresentados na Tabela 3.

O extrato de soja preparado numa proporção soja:água de 1:10 apresenta teor protéico em torno de 3,5% (Biet, 1994; Ciabotti et al., 2006) e, quando comparado com o teor protéico do soro proveniente da fabricação de queijos (0,9%), pode-se estabelecer uma relação superior de proteína no extrato de soja.

TABELA 3 Composição química, pH e pl do extrato de soja e soro de queijo.

	Extrato de soja (Bourne et al., 1976; Rosenthal et al., 2002)	Soro de queijo doce (Mosquim, 1996; Bylund, 1975)
Sólidos totais (%)	9,3	6,9
Cinzas (%)	0,27-0,3	0,5-0,6
Carboidrato (%)	0,8	5,0 (lactose)
Proteína (%)	2,2-4,2	0,9
Gordura (%)	1,5-1,7	0,2-0,4
pH	6,5	5,80-6,60
pl (ponto isoeletrico)	4,0-5,0	4,6-5,2

No trabalho de revisão de Torres (1988), foi relatado o desenvolvimento de produtos com combinações de extrato de soja e de soro de leite. Misturaram-se soro de queijo doce ou ácido neutralizado e extrato de soja e, a seguir, concentrou-se para produzir uma bebida semelhante ao leite. Em outro produto, foi descrita a fabricação de um análogo ao leite em pó com soro de queijo e extrato de soja, em que a extração das proteínas da soja ocorreu com soro aquecido. O resultado levou ao desenvolvimento de um outro processo, para se obter a mistura de soro de queijo e farinha de soja, por “spray-drying”, que continha 67% de sólidos do soro doce e 33% de farinha desengordurada de soja.

Torres (1988) descreve, ainda, outro trabalho no qual foi formulada uma combinação que continha 55% de sólidos de soro de leite em pó, 28% de farinha de soja e 17% de óleo de milho. A formulação permitia a adição de sabores e carboidratos que pudessem ser diluídos na água, a fim de que a bebida totalizasse 2,7% de proteínas.

Loewstein & Paulraj (1972) relatam a elaboração de um produto em pó, feito pela coprecipitação e secagem da farinha de soja desengordurada e da proteína de soro de leite, em que foram misturadas três partes de soja para uma parte de proteína de soro de queijo. O produto foi utilizado em testes relacionados ao crescimento de ratos e evidenciou superioridade, quando comparada à proteína de soja isoladamente.

Prudêncio & Benedet (1999) utilizaram o soro de queijo para o aproveitamento e a obtenção do extrato de soja em pó e pelos resultados obtidos, demonstrou-se a viabilidade de se produzir extrato de soja substituindo-se a água pelo soro de queijo como meio de extração.

Benedet et al. (2002) desenvolveram um análogo ao queijo minas frescal pela mistura de leite e extrato hidrossolúvel de soja. A presença da soja não foi fator limitante para impedir a comercialização do produto, embora a aceitabilidade tenha diminuído à medida que foi aumentada a concentração do extrato hidrossolúvel de soja. Os queijos que tiveram a soja incorporada à sua fabricação, na sua maioria, apresentaram maior conteúdo de proteína que o queijo tradicional. Isso significa retenção das proteínas da soja na estrutura do coágulo. O rendimento foi maior devido à capacidade das proteínas da soja de reterem maior quantidade de água do que a caseína (Benedet et al., 2002).

Faria et al. (2004) desenvolveram uma bebida à base de soro de queijo e extrato de soja, que apresentou características físico-químicas e microbiológicas adequadas, bem como boa aceitabilidade sensorial, demonstrando que a mistura

do soro de leite e extrato de soja proporciona um produto de alto valor nutricional.

Costa et al. (2004) realizaram o desenvolvimento, a rotulagem e o registro de uma bebida à base de proteína de soja e soro de leite como alternativa de novo produto para a indústria de laticínios. Quanto às análises físico-químicas e microbiológicas, verificaram, em 30 dias de estocagem, que o produto continuava próprio para consumo e o produto teve boa aceitabilidade sensorial, além de apresentar novas alternativas ao mercado consumidor.

2.6 Coagulação das proteínas da soja e do soro de leite

A capacidade de gelificação é uma propriedade importante para muitos alimentos protéicos. O gel protéico é composto de matrizes tridimensionais parcialmente associadas, nas quais a água é aprisionada. A capacidade de uma proteína formar gel é de grande utilidade no desenvolvimento de novos produtos (Kinsella, 1976).

A gelificação térmica, ou induzida pelo calor, mais especificamente a coagulação das proteínas é descrita em duas etapas que envolvem o desdobramento inicial da proteína, seguido por reações associativas, que irão formar a estrutura do gel por meio de ligações covalentes, principalmente pontes dissulfeto entre cisteínas, ligações de hidrogênio, ligações iônicas e atrações hidrofóbicas (Schmidt & Illingworth, 1978).

O processo de coagulação das proteínas do extrato de soja e do soro de leite ocorrem de maneira semelhante, os quais são submetidos ao aquecimento e utilização de agentes coagulantes, tanto por adição de sais, quanto pela adição de substâncias ácidas.

Os agentes coagulantes freqüentemente utilizados para coagulação das proteínas da soja são os sais de cálcio e de magnésio ou agente acidificante, como o glucona- δ -lactona. Esse último caracteriza-se por proporcionar uma

massa coagulada de excelente qualidade, porém, é um coagulante de preço elevado que, ao ser utilizado, eleva o preço do produto.

O aquecimento do extrato de soja é um pré-requisito para formação da estrutura gel das proteínas (Lee & Rha, 1978). O calor é essencial para desnaturar as proteínas que vão expor suas regiões hidrofóbicas e os grupos sulfidrilas para facilitar a obtenção de uma coagulação eficiente (Saio, 1979; Beddows & Wong, 1987)

A coagulação das proteínas de soja para a obtenção do tofu ocorre quando elas são insolubilizadas irreversivelmente, como resultado do desdobramento das moléculas que são atraídas pela neutralização de suas cargas para formar pontes intermoleculares, quando adicionados sais ou agentes acidificantes (Smith & Circle, 1978; Fukushima, 1980).

Na coagulação pelo uso de íons de sais de cálcio ou de magnésio que são adicionados ao extrato de soja quente (75-80°C), ocorre a coagulação das proteínas, em consequência da diminuição das cargas negativas da proteína como resultado da união de íons positivos com aminoácidos carregados negativamente nas moléculas de proteína. Conseqüentemente, a molécula aberta é capaz de se agregar, devido à repulsão eletrostática e, dessa forma, a coagulação é irreversível (Fukushima, 1980).

Na coagulação ácida, as cargas negativas das proteínas são diminuídas pela protonação de -COO^- ácido com resíduos de aminoácidos. O coagulante “glucona- δ -lactona” é hidrolisado para ácido glucônico, que age como agente acidificante (Fukushima, 1980). A adição de coagulantes ácidos, tais como ácido acético ou ácido láctico, ocasiona rápida diminuição do pH, podendo agregar proteínas de forma muito rápida, tornando fracas as repulsões eletrostáticas e liberando a água protonada (H_3O^+). Já a ligação de cálcio com o grupo carboxílico da proteína pode proporcionar mais a associação de proteína,

tornando a matriz protéica mais densa e compacta (Ono et al., 1976; Sun & Breene, 1991).

Tsai et al. (1981) estudaram vários tipos de coagulantes na obtenção de tofu e consideraram o glucona- δ -lactona e o sulfato de cálcio os mais adequados coagulantes, apresentando maior rendimento do que outros coagulantes de sais de cálcio, devido a sua grande capacidade de absorção de água.

A seguir, serão discutidas algumas particularidades dos agentes coagulantes glucona- δ -lactona e ácido láctico.

a) Coagulante glucona- δ -lactona

O coagulante glucona- δ -lactona (GDL) é classificado como um carboidrato derivado da glicose, com a fórmula molecular de $C_6H_{10}O_6$, apresentando, como características, forma de pó fino, branco, cristalino e praticamente inodoro. É frequentemente solúvel em água e, nessa condição, é hidrolisado a ácido glucônico. Pode ser obtido pela oxidação da D-glicose com água de bromo; pela oxidação de microrganismos não-patogênicos e não-tóxicos para o homem ou animal e pela oxidação da D-glicose por enzimas derivadas desses microrganismos (USDA, 2005).

As estruturas do glucona- δ -lactona e do produto hidrolisado “ácido glucônico” estão ilustradas na Figura 2. Justifica-se que esse coagulante exerce maior capacidade de retenção de umidade devido à grande quantidade de hidroxilas presentes na sua molécula, que vão propiciar mais ligações de hidrogênio com a água (Smith et al., 1985).

O coagulante glucona- δ -lactona é gradualmente hidrolisado a ácido glucônico após dissolução especialmente a altas temperaturas, resultando numa redução do pH até o equilíbrio, inicialmente ao processo de coagulação (Lucey et al., 1998). O tempo de coagulação é variável, conforme a quantidade de GDL a ser adicionada na solução, podendo ocorrer em até 60 minutos (USDA, 2005).

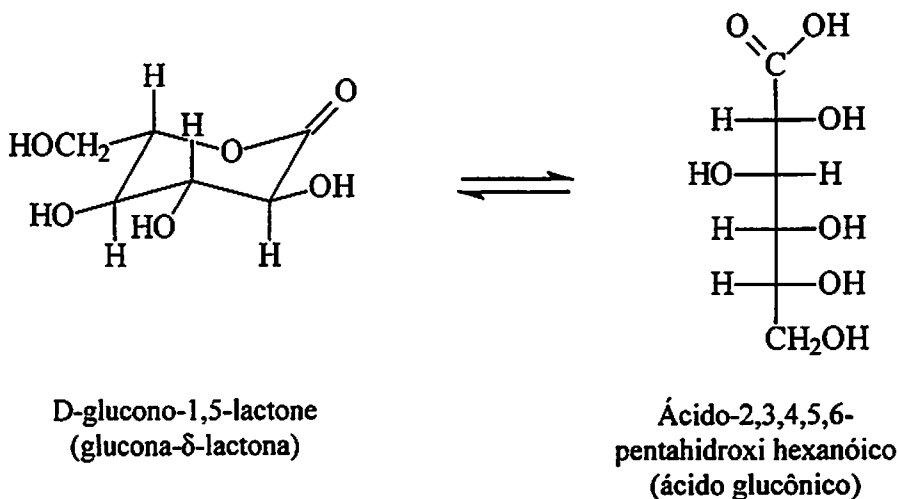


FIGURA 2 Reação de hidrólise em solução do gluconolactona a ácido glucônico.

A utilização do GDL na industrialização de derivados do leite atua como acidulante na obtenção do queijo cottage, agindo como minimizador dos problemas causados quando bacteriófagos e antibióticos que afetam a cultura láctica (El-Shenawy & Marth, 1990). Em outros trabalhos, avaliou-se o uso do GDL em queijo cheddar, iogurte (Bayoumi & Madkor, 1988), mussarela (Ardisson-Korat & Rizui, 2004) e kefir (Rimada & Abraan, 2006).

El-Shenawy & Marth (1990) avaliaram a adição de GDL em queijo cottage e concluíram que esse coagulante é mais adequado à acidificação do leite, devido à hidrólise para ácido livre ser mais conveniente, pois fica gradativamente disponível, com o objetivo de insolubilizar os sais de cálcio (El-Shenawy & Marth, 1990).

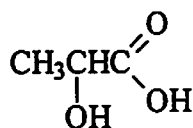
Braga et al. (2006) avaliaram a influência da porcentagem de acidificação e o pH final nas propriedades reológicas dos géis de caseinato de

sódio preparado com GDL, que favoreceu a produção de géis com grande capacidade de absorção de água. Lucey et al. (1997) determinaram as propriedades de sinerese, permeabilidade e microestrutura de géis de caseína pela acidificação com GDL, verificando que o pH, a temperatura e a quantidade de GDL influenciaram nos resultados.

A elevada acidez dos produtos coagulados com GDL deve-se ao valor mais baixo de pKa (3,6) em relação ao pKa do ácido láctico (3,9), além do efeito indutivo pela presença do maior número de grupos hidroxilas (Hendrickson, 1970).

b) Coagulante ácido láctico

Na Figura 3, é apresentada a fórmula estrutural do ácido láctico, que é um α -hidroxi ácido com uma curta cadeia carbônica, cuja acidez é aumentada pela presença do grupo hidroxi próximo ao grupo carboxílico. Sua fórmula molecular é $C_3H_6O_3$ (Smith et al., 1985).



ácido-2-hidroxi propanóico
ácido láctico

FIGURA 3 Estrutura química do ácido-2-hidroxi propanóico, ácido láctico.

O ácido láctico apresenta-se, comumente, com a característica de um líquido transparente e viscoso, sendo o mais freqüente acidulante utilizado em derivados lácteos, por ser um produto que ocorre naturalmente. Tem a função de

acidificação e a sua escolha como acidulante se deve ao fato de o sabor residual ser mais suave do que o de outros ácidos. É utilizado na obtenção de manteiga, bebidas lácteas, cottage, mussarela e ricota entre outros (Berry, 2006).

Os ácidos comumente utilizados para a coagulação de proteínas agem na segunda etapa do processo de geleificação, os quais, quando em solução, dissociam-se da sua forma iônica, gerando prótons que vão neutralizar as cargas negativas das proteínas desnaturadas, até que atinjam seu ponto isoelétrico e, por ligações de hidrogênio, as proteínas começam a se unir para formação do gel (Cheftel et al., 1989)

2.7 Textura, microscopia e análise estrutural das proteínas no processo de coagulação

Estudos têm sido realizados para avaliar o efeito parcial ou total de queijos, tofus e similares, quando são acrescidos de diferentes tipos de ingredientes, principalmente quando podem afetar as características de textura e microestrutura, influenciando na preferência do consumidor quanto aos aspectos sensoriais (Kao et al., 2003; Kwan & Easa, 2003; Rynne et al., 2004; Rimada & Abraham, 2006; Lobato-Calleros et al., 2007).

Análises instrumentais têm sido utilizadas para avaliar, por meio de imagens estereoscópicas, a estrutura da formação da rede protéica do tofu, correlacionado com a textura de produtos alimentícios. Tem sido observado que a microestrutura varia de acordo com a densidade do gel formado, o tamanho dos grânulos de proteínas e o tamanho do coágulo formado durante o processo de coagulação (Saio, 1979).

Os coagulantes glucona- δ -lactona e o sulfato de cálcio, devido a sua capacidade de reter umidade e aumentar o rendimento, apresentam textura com menor resistência à compressão do que os coagulantes cloreto de cálcio, cloreto

de magnésio e sulfato de magnésio (DeMan et al., 1986; Hou et al., 1997; Cai & Chang, 1998; Kao et al., 2003).

Uma análise que tem sido bastante utilizada como forma de obtenção de alguns parâmetros de textura em alimentos é a prova da dupla compressão, denominada análise do perfil de textura (Texture Profile Analysis - TPA) e tem mostrado elevada correlação existente entre as medições na análise sensorial (Morgado & Abreu, 2001).

Os parâmetros medidos por uma análise de TPA são: firmeza, elasticidade, adesividade, coesividade, fraturabilidade, gomosidade e mastigabilidade e são definidos por Duran et al. (2001) e Rosenthal (2001) como:

- firmeza – força necessária para alcançar uma deformação pré-selecionada, calculada como sendo o pico de máxima força aplicada no primeiro ciclo de compressão;

- elasticidade – extensão que o alimento comprimido retorna ao seu tamanho original quando se retira a força;

- coesividade – razão entre a área positiva do segundo e a área positiva do primeiro ciclo;

- gomosidade – energia requerida para desintegrar alimentos semi-sólidos, que é calculada como o produto da firmeza X coesividade.

- mastigabilidade – energia requerida para mastigar um alimento sólido, calculada como produto da firmeza X coesividade X elasticidade.

2.8 Alterações dos alimentos processados durante o armazenamento

Durante o armazenamento e a distribuição, os alimentos são expostos a uma grande variedade de condições ambientais, tais como temperatura, umidade, oxigênio e luz, que podem ativar vários mecanismos de reação e conduzir à

degradação de alimento. Mudanças químicas, físicas e microbiológicas são as principais causas de deterioração (Sing, 1996).

No desenvolvimento de novos produtos, a determinação da vida de prateleira é fundamental, sendo definida como o tempo decorrido entre a produção e o armazenamento, até que se torne inaceitável ao consumo (Ellis, 1996).

Lewis & Dale (1996) definiram vida de prateleira de produtos processados como o número de dias que esses podem ser consumidos, mantendo suas qualidades atrativas e padrões estabelecidos. Inicialmente, identificam-se as características dos ingredientes, processamento e condições de estocagem que podem influenciar a vida de prateleira do produto. Monitorando-se e controlando-se esses parâmetros, pode-se determinar exatamente o final do tempo de vida de prateleira, ou seja, o momento em que o produto não se encontra mais seguro para o consumo.

Para determinar a vida de prateleira de alimentos, é essencial determinar os fatores que podem causar alterações químicas, físicas e biológicas, os quais vão resultar em alterações sensoriais, que vão limitar esse período de estocagem (Walker, 1996). A qualidade sensorial pode interferir nos atributos como cor, sabor e textura ou consistência dos alimentos (Pfeiffer et al., 1999).

As alterações microbiológicas são determinadas por meio da identificação dos tipos de microrganismos presentes em alimentos, os quais vão avaliar com segurança e qualidade os produtos. A segurança é determinada pela ausência ou presença de microrganismos patogênicos ou suas toxinas, pela quantidade do inóculo e o tempo de controle ou de destruição desses agentes (Doyle, 1989).

Na avaliação da qualidade microbiológica de alimentos, vem sendo utilizada a detecção de microrganismos indicadores, que são grupos ou espécies que, quando presentes em um alimento, podem fornecer informações sobre a

ocorrência de contaminação fecal sobre a provável presença de patógenos ou sobre a deterioração potencial do alimento, além de indicar as condições sanitárias inadequadas durante o processamento. Quando presentes em números elevados nos alimentos, poderão causar a deterioração e/ou a redução da vida de prateleira (Landgraf, 1996).

A determinação de bactérias do grupo dos coliformes totais avalia as condições de higiene do produto, pois, quando em valores acima do estabelecido pela legislação, indica contaminação decorrente da falha do processamento, limpeza inadequada ou tratamento térmico ineficiente. A detecção de elevado número de bactérias do grupo coliformes fecais em alimentos é interpretada como indicativo da presença de patógenos intestinais, visto que a população desse grupo é constituída de alta proporção de *Escherichia coli* (Pardi et al., 1993).

Outro grupo de microrganismos indicadores é formado pelas bactérias psicotróficas, as quais são muito pesquisadas em produtos cárneos e lácteos.

Eddy, em 1960, recomendou o uso do termo psicotrófico para microrganismos capazes de se multiplicarem a 5°C ou menos, independentemente de sua temperatura ótima de crescimento (Jay, 2005). Os psicotróficos são amplamente distribuídos na natureza, podendo estar presentes nos mais diversos lugares, independentemente do clima ou estação do ano. Constituem um grupo taxonômico específico, mas são representados por diversos tipos de microrganismos, possuindo em comum a habilidade de se desenvolver sob baixas temperaturas. Diversos gêneros podem estar presentes nesse grupo (Cousin, 1982).

Poucos trabalhos são encontrados sobre vida de prateleira de produtos de soja, especificamente o tofu. Hormel Foods (2007) publicou tabela com tempo de estocagem de alimentos frescos, estabelecendo que o tofu tem validade de 4 a 5 dias, quando submetido à temperatura de refrigeração e, sob congelamento,

tem a validade de 6 a 8 semanas. Kim et al. (2007) citam que o tempo de estocagem de tofus frescos comercializados na Ásia é de apenas 3 a 4 dias. Esses mesmos autores avaliaram a adição de pó da casca de ostra em extratos de soja para a obtenção de tofus coagulados com cloreto de magnésio. Objetivou-se com este trabalho testar o pó da casca de ostra como fonte de chitosana, pelo seu efeito antimicrobiano. Os resultados não apresentaram sucesso, pois o tofu utilizado como controle obteve vida de prateleira mais longa do que o dos testes.

2.9 Potencial poluente de soro residual na indústria alimentícia

Os intensos debates sobre poluição ambiental incluem os efluentes líquidos, que possuem elevada carga orgânica remanescente. Esses debates atingem, em grande parte, a indústria de laticínios, que, muitas vezes, permite que o soro residual seja descarregado em receptores, tais como rios, córregos, lagoas e outros, aos quais um subproduto altamente nutritivo pode trazer sérios problemas (Bylund, 1975; Rodrigues, 2001; Hosseini et al., 2003).

Vários trabalhos de pesquisas têm sido conduzidos para avaliar equipamentos e alternativas naturais, utilizados no tratamento de efluentes, a fim de minimizar o resíduo da indústria de laticínios (Resende-Luiz et al., 2007; Silva et al., 2007).

O soro de queijo é um subproduto com considerável teor de proteína e pouco aproveitado. Grandes quantidades de soro são utilizadas na alimentação de animais ou depositadas em sistemas de tratamento de efluentes com baixa eficiência, contaminando drasticamente corpos receptores e gerando elevados valores de demanda bioquímica de oxigênio (Hosseini et al., 2003).

O soro lácteo, em si, não é poluente, mas, quando lançado em um curso d'água, provoca um enorme efeito poluidor, devido ao aumento do consumo do oxigênio pela água. As bactérias e outros microrganismos da água atacam alguns componentes do soro (em especial a lactose) e, para fazê-lo, necessitam de

oxigênio. Esse oxigênio retirado da água falta aos peixes e às plantas aquáticas, podendo levá-los à morte. Assim, a gravidade da poluição devida ao soro lácteo vem do fato de ele apresentar demanda bioquímica de oxigênio (DBO) muito elevada (30.000 – 60.000 mg O₂/L) (Porto, 2001).

A força dos resíduos de laticínios é medida determinando-se o montante de oxigênio consumido durante o processo de decomposição dos sólidos de leite presentes neles. O índice de DBO dos resíduos de laticínios pode variar, usualmente, de 800 a 1.500 mg/L, medido durante 5 dias (Bylund, 1975). O índice para soro alcança, aproximadamente, 30.000 a 50.000 mg/L (Hosseini et al., 2003).

O potencial poluidor do soro de queijo é, aproximadamente, 100 vezes maior que o do esgoto doméstico. Porém, devido ao alto custo de implantação, a instalação de uma planta de tratamento biológico do soro de queijo, muitas vezes, torna-se inviável para a maioria das indústrias de laticínios (Condack, 1993).

Alguns tipos de efluentes e as médias correspondentes de DBO são apresentados na Tabela 4.

DBO é um método desenvolvido para medir, em laboratório, a demanda de oxigênio de efluentes sob condições similares às condições das águas que recebem os efluentes, pela biodegradação do efluente (Porto, 2001). Porém, essa metodologia requer longo tempo de coleta de amostras para análise com várias repetições, devido à pouca precisão e à exatidão indeterminada, em razão das alterações que podem ocorrer no efluente.

No intuito de reduzir substancialmente o tempo requerido na estimativa da demanda de oxigênio, foi desenvolvido o método de demanda química de oxigênio, ou DQO. Para amostras de uma fonte específica, a DQO pode ser relacionada empiricamente com a DBO. A DQO é usada como uma medida do

oxigênio equivalente ao conteúdo de matéria orgânica de uma amostra suscetível à oxidação por um oxidante (Porto, 2001).

TABELA 4 Tipos de efluentes e correspondentes da demanda bioquímica de oxigênio (DBO) (mg/L).

Tipo de efluente	DBO (mg/L)
Soro doce	35.000
Soro ácido	45.000
Efluente da indústria processamento de peixes	50.000
Efluente doméstico	300

Fonte: Rodrigues (2001).

O oxidante comumente utilizado no método de dosagem da DQO é o dicromato de potássio ($K_2Cr_2O_7$), que é o preferido em virtude de sua grande capacidade de oxidação e facilidade de manipulação. A oxidação, na maioria das substâncias orgânicas, é de 95% a 100% (Clesceri et al., 1998).

Porto et al. (2005) avaliaram as melhores condições operacionais de ricota, visando a avaliar a agregação de valor desse processo ao soro de queijo e à diminuição do seu potencial poluente. Foi avaliada a DQO de soros residuais provenientes de ricota sem leite e com adição de diferentes concentrações de leite pasteurizado e leite em pó.

3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMIEVA, M. R. O aproveitamento do soro de queijaria. *Revista do Laticínios "Cândido Tostes"*, Juiz de Fora, p. 5-11, jan./fev. 1974.

ANDERSON, J. J. B.; GARNER, S. C. The effects os phytoestrogens on bone. *Nutr. Res.*, v. 17, p. 1617-1632, 1997.

ARDISSON-KORAT, A. V.; RIZUI, S. S. H. Vatless manufacturing of low-moisture part-skim mozzarella cheese fron highly concentradet skim milk microfiltration retentates. *Journal Dairy Science*, n. 87, p. 3601-3614, 2004.

BAHRAN, H. A.; ALEKEL, L.; HOLLIS, B. W.; AMIN, D.; STACEWICZ-SAPUNTZAKIS, M.; GUO, P.; KUKREJA, S. C. Dietary soybean protein prevents bone loss in an ovariectomized rat model of osteoporosis. *Journal of Nutrition*, Bethesda, v. 126, n. 1, p. 161-167, Jan. 1996.

BARNES, S. Effect of genistein on in vitro and in vivo models of câncer. *Journal of Nutrition*, Bethesda, v. 125, p. 777-783, 1995. Supplement, 3.

BAYOUMI, S., MADKOR, S. The user of GDL in thr manufacture of yoghurt. *Journal Dairy Science*, n.16, p. 233-239, 1988.

BECH, A. M. The physical and chemical proproperties of whey proteins. *Dairy Industries International*, n. 46, p. 25-33, 1981.

BEDDOWS, C. G.; WONG, J. Optimization of yield and properties of silken tofu from soybean. 2. Heat processing. *International Journal Food Science Tech.*, n. 22, p. 23-27, 1987.

BEM-GERA, I.; KRAMER, A. The utilization of food industries wastes. *Adv. Food Res.*, New York, v. 17, n. 78, 1969.

BENEDET, H. D.; CHARLAU, S. X.; TEIXEIRA, E. Desenvolvimento e caracterização de um análogo do queijo Minas Frescal pela mistura de leite e extrato hidrossolúvel de soja. *Alimentos e Nutrição*, São Paulo, v. 13, p. 11-22, 2002.

BERRY, D. **Controlling acid development: dairy foods manufacturers turn to acidulants for a variety of reasons ranging from pH control to flavor development.** 2006. Disponível em:

< http://findarticles.com/p/articles/mi_m3301/is_1_107/ai_n16030268> Acesso em: 10 ago. 2007.

BIET, K. R. A. **Otimização de processo para obtenção de “tofu”.** 1994. 105p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Escola Superior de Agricultura de Lavras, Lavras, MG

BOURNE, E. G.; CLEMENTE, M. G.; BANZON, J. Survey of suitability of thirty cultivars of soybean for manufacture. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 41, n. 5, p. 1204-1208, Sept./Oct. 1976.

BRAGA, A. L. M.; MENOSSI, M.; CUNHA, R. L. The effect of the glucono- δ -lactone/caseinato ratio on sodium caseinato gelation. **International Dairy Journal**, n. 16, p. 389-398, 2006.

BRONSTEIN, V. MONTE ALEGRE, R. Estudos dos parâmetros da ultrafiltração de permeado do soro de queijo fermentado por *Lactococcus lactis ssp. Lactis*. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, n. 303, p. 131-134, 1998.

BURNE, M. C.; CLEMENTE, M. G.; BANZON, J. Survey of suitability of thirty cultivars of soybean for soymilk manufacture. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 41, n. 5, p. 1204-1208, Set./Oct. 1976.

BYLUND, G. Tratamento e utilização do soro. **Revista do Laticínios “Cândido Tostes”**, Juiz de Fora, v. 30, n. 179, p. 29-43, 1975.

CAI, T. D.; CHANG, C. K. Characteristics of production-scale tofu as affected by soymilk coagulation method: propeller blade size, mixing time and coagulant concentration. **Food Research International**, Amsterdam, v. 31, n. 4, p. 289-295, Apr. 1998.

CAMACHO, J. L.; BOURGEUS, R.; MORALES, J.; BANAFUNZI, N. Direct consumption of the soybean. **Journal of American Oil Chemistry Society**, Champaign, p. 362-366, Mar. 1981.

CAMEJO, J.; RODRIGUES, T.; OTERO, M.; PAZ, M.T.; VILLAVICENCIO, M. N.; CARDOSO, F. El suero en la elaboración de leches fermentados. **Alimentaria**, n. 303, p. 131-134, 1999.

CARROLL, K. K.; KUROWSKA, E. M. Soy consumption and cholesterol reduction: review of animal and human studies. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 125, p. 594S-597S, Mar. 1995. Supplement, 3.

CHANG, K. L. B.; LIN, Y. S.; CHEN, R. H. The effect of chitosan on the gel properties of tofu (soybean curd). **Journal of Food Engineering**, Oxford, v. 57, n. 4, 315-319, May 2003.

CHEFTEL, J. C.; CUQ, J. L.; LORIENT, D. **Proteínas alimentarias: Bioquímica, propiedades funcionales, valor nutricional, modificaciones químicas**. Zaragoza, Espana: Acribia, 1989. p. 346.

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

CLESCERI, L. S.; GREINBERG, A. E.; EATON, A. D. **Standard methods: for the examination of water and wastewater**. 20thed. 1998. p. 5-17.

COELHO, D. T. **Utilização de fubá, soro de queijo e proteína de soja e peixe em massas alimentícias**. 1986. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

CONDACK, J. **Ultrafiltração do soro de queijo: parâmetros operacionais e utilização do concentrado protéico na fabricação de requeijão cremoso**. 1993. 120p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

COSTA, E. G. F.; SOARES, C. F.; GOMES, J. C. Desenvolvimento, rotulagem e registro de uma bebida à base de proteína de soja – alternativa de novo produto para a indústria de laticínios. In: CONGRESSO NACIONAL DE LATICÍNIOS, 21., 2004, Juiz de Fora. **Anais...** Juiz de Fora: ILCT, 2004. p. 338-341.

COUSIN, M. A. Presence and activity of psychrotrophic microorganisms in milk and dairy products: a review. **Journal of Food Protection**, n. 2, v. 45, p. 172-207, 1982.

COWARD, L.; SMITH, M.; KIRK, M.; BARNES, S. Chemical modification of isoflavonas in soyfoods during cooking and processing. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 68, n. 6, p. 1486-1491, Dec. 1998. Supplement.

DAVIAN, C.; FARNELART, M. H.; PIERRE, A.; GOUDERANCHE, H.; MAUBOIS, J. L. Rennet coagulation of skin milk and curd drainage: effect of pH, casein concentration, ionic strength and heat treatment. *Le Lait*, n. 80, v. 4, p. 397-415, 2000.

DEMAN, J. M.; DEMAN, L.; GUPTA, S. Texture and microstructure of soybean curd (tofu) as effected by different coagulants. *Food Microstructure*, v. 5, p. 83-89, 1986.

DESHPANDE, S. S.; NIELSEN, S.S. In vitro enzymatic hydrolysis of phaseolin, the major storage protein of *Phaseolus vulgaris* L. *Journal Food Science*, n. 52, p. 1330, 1987.

DOYLE, M. P. **Foodborne bacterial pathogens**. New York: M. Dekker, 1989. p. 796.

DURÁN, L.; FISZMAN, S. M.; BARBER, C. B. Propriedades mecánicas empíricas. In: ALVARADO, J. D.; AGUILERA, J. (Ed.). **Métodos para medir propiedades físicas en alimentos**. Zaragoza: Acribia, 2001. 410 p.

EL-SHENAWY, M.; MARTH, E. H. Behaviorr of *Listeria monocytogenes* in the presence os glucônico acid during of cottage cheese curd using glucônico acid. *Journal Dairy Science*, n. 73, p. 1429-1438, 1990.

ELLIS, M. J. The methodology of shelf life determination. In: MAN, C. M. D., JONES, A. A. **Shelf life evaluation of foods**. London: Black Academic & Professional, 1996. 321 p.

FARIA, B. C.; DIAS, G.; SILVA, M. T. C. Bebida à base de soro de queijo e leite de soja. In: CONGRESSO NACIONAL DE LATICÍNIOS, 21., 2004, Juiz de Fora. **Anais...** Juiz de Fora: ILCT, 2004. p. 201-204.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION. World Health Organization. Food and Agriculture Organization. Organización Mundial de la Salud. **Necesidades de energia y de proteínas**. Roma, 1973. 138 p. (Informe de un Comité Mixto FAO/OMS de Expertos, 522).

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION. World Health Organization. **Report of a joint FAO/WHO expert consultation on protein quality evaluation**. Bethesda, Maryland, 1990.

FORATO, A. L. S. C. **Caracterização nutricional da plasteína obtida da proteína da soja e das proteínas de soro de queijo.** 1994. 52 p. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

FREEMORE, R. A. Soro de leite: um produto natural do leite. In: USDEC. **Manual de referência para produtos de soro dos EUA.** Arlington: 1997. p. 9.

FUKUSHIMA, D. Deteriorative changes of proteins during soybean food processing and their use in foods. In: _____. **Chemical deterioration of proteins.** Washington: American Chemical Society, 1980. Cap. 10, p. 211-239.

FURTADO, M. M.; LOURENÇO NETO, J. P. M. **Tecnologia de queijos: manual técnico para a produção industrial de queijos.** São Paulo: Dipemar, 1994. p. 118

GREENWOOD, S.; BARBES, S.; CLARKSON, T. B.; EDEN, J.; HELFERICH, W. G.; HUGHES, C.; MESSINA, M.; SETCHELL, K. D. R. The role of isoflavones in menopausal health: consensus opinion of the north American menopause society. **Menopause**, v. 7, p. 215-229, 2000.

HENDRICKSON, J. B.; CRAM, D.J.; HAMMOND, G. S. **Organic chemistry.** 3thed. Tokyo: Kogakusha, 1970. 1279p.

HERMAN, C. Soybean phytoestrogen intake and cancer risk. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 125, p. 757-770, Mar. 1995. Supplement, 3.

HORMEL FOODS. **Storage chart - meats (fresh).** Disponível em: <<http://www.hormel.com/templates/knowledge/knowledge.asp?catid=7&id=587&floater=disabled>>. Acesso em: 10 ago. 2007.

HOSSEINI, M. SHOJAOSADATI, S. A.; TOWFIGHI, J. Application of a bubble-column reactor for the production of a single-cell protein from cheese. **Ind. Eng. Chem.Res.**, v. 60, p. 431-437, 2003.

HOU, H. J.; CHANG, K. C.; SHIH, M. C. Yield and textural properties of soft tofu as affected by coagulation method. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 62, n. 4, p. 824-827, July/Aug. 1997.

HUI, E.; HENNING, S. M.; PARK, N.; HEBER, D.; GO, V. L. W. Genistein and daidzein/glycitein content in tofu. **Journal of Food Composition and Analysis**, San Diego, v. 14, n. 2, p. 199-206, Apr. 2001.

JACKSON, C. J. C.; DINI, J. P.; RUPASINGHE, H. P. V.; FAULKNER, H.; POYSA, V.; BUZZELL, D.; DEGRANDIS, S. Effects of processing on the content and composition of isoflavones during manufacturing of soy beverage and tofu. **Process Biochemistry**, Oxford, v. 37, n. 10, p. 1117-1123, May 2002.

JAY, J. M. **Microbiologia de alimentos**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. 711 p.

KAO, F. J.; SU, N. W.; LEE, M. H. effect of calcium sulfate concentration in soymilk on the microstructure of firm tofu and the protein constitutions in tofu whey. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 51, p. 6211-6216, 2003.

KENNEDY, A. R. The evidence for soybean products as cancer preventive agents. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 125, p. 733-743, 1995. Supplement, 4.

KIM, Y. S.; CHOI, Y. M.; NOH, D. O.; CHO, S. Y.; SUH, H. J. The effect of oyster Shell powder on the extension of the shelf life of tofu. **Food Chemistry**, n. 103, p. 155-160, 2007.

KIM, J. S.; KWON, C. S. Estimated dietary isoflavone intake of Korean population based on national nutrition survey. **Nutrition Research**, Oxford, v. 21, n. 7, p. 947-953, July 2001.

KINSELLA, J. E. Functional properties of proteins in food: a survey. **Critical Review in Food Science and Nutrition**, v. 7, n. 3, p. 219-280, 1976.

KWAN, S. W.; EASA, A. M. Comparing physical properties of retort-resistant glucono-delta-lactone tofu treat with commercial transglutaminase enzyme or low levels of glucose. **Lebensm Wiss Technology**, v. 36, p. 643-646, 2003.

LAJOLO, F. M.; GENOVESE, M. I. MENEZES, E. W. **Qualidade nutricional**. Piracicaba: Potafos. 1996. p. 71-99.

LAKEMOND, C. M. M.; JONGH, H. H. J.; PAQUES, M. ; VLIET, T.; GRUPPEN, H.; VORAGEM, A. G. J. Gelation of soy glycinin: influence of pH ionic strength on network structure in relation to protein conformation. **Food Hydrocolloids**, n. 17 p. 365-377, 2002.

LANDGRAF, M. Microrganismos indicadores. In: FRANCO, B. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia de alimentos**. São Paulo: Atheneu, 1996. 182 p.

LEE, C. H.; RHA, C. Microstructure of soy bean protein aggregates and its relation to the physical and textural properties of the curd. **Journal Food Science**, n. 43, p. 79-84, 1978.

LEWIS, M.; DALE, R. H. Chilled yogurt and other dairy desserts. In: MAN, C.M.D.; JONES, A.A. **Shelf life evaluation of foods**. New York: Blackie Academic & Professional, 1996. 321p.

LIENER, I. E. Nutritional value of protein products. In: SWITH, A. K.; CIRCLE, S. J. **Soybeans: chemistry and technology**. Westport, Connecticut: The Avi, 1978. v. 1, p. 470.

LIENER, I. E. Implications of antinutritional components in soybean foods. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v. 34, n. 1, p. 31-67, Jan. 1994.

LIM, B. T.; DeMAN, M. J.; DeMAN, L.; BUZZEL, R. I. Yield and quality of tofu as affected by soybean and soymilk characteristics. Calcium sulfate coagulant. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 55, n. 4, p. 1088-1092, July/Aug. 1990.

LIU, Z. S.; CHANG, S. K.; LI, L. T.; TATSUMI, E. Effect of selective denaturation of soybean proteins on soymilk viscosity and tofu's physical properties. **Food Research International**, v. 37, p. 815-822, 2004.

LOBATO-CALLEROS, C. L. et al. Microstructure and texture of white fresh cheese made with canola oil and whey protein concentrate in partial or total replacement of milk fat. **Food Research International**, v. 40 p. 529-537, 2007.

LOEWSTEIN, M.; PAULRAJ, V. K. Preparation and growth producing evaluation of a concentrated coprecipitate of soy-cheese whey protein. **Food Products Development**, v. 5, n. 8, p. 56-57, 1972.

LONGENECKER, J. B.; MARTIN, W. H.; SARETT, H. P. Improvement in protein efficiency of soybean concentrates and isolates by heat treatment. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 12, n. 5, p. 411-412, Sept./Oct. 1964

LUCEY, J. A.; TAMEHANA, M.; SINGH, H.; MUNRO, P. A. A comparison of the formation, rheological properties and microstructure of acid skim milk gel made with a bacterial culture or gluconic- δ -lactone. **Food Research International**, v. 31, n. 2, p. 147-155, 1998.

LUCEY, J. A.; VLIET, T. V.; GROLE, K.; GEURTS, T.; WALSTRA, P. Properties of acid casein gels made by acidification with gluconic- δ -lactone. 2. Syneresis, permeability and microstructural properties. **International Dairy Journal**, n. 7, p. 389-397, 1997.

MADRID, A. Tratamiento previo del lactosuero antes de su industrialización. **Revista Española de Lechería**, n. 113, p. 151-160, 1979.

MORAES, R. M. **Montagem e avaliação de um equipamento para desodorização de leite de soja por arraste de vapor superaquecido**. 2002. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade de Campinas, Campinas, SP.

MORAES, R. M.; HAJ-ISA, N. M. A.; ALMEIDA, T. C. A.; MORETI, R. H. Efeito da desodorização nas características sensoriais de extrato hidrossolúvel de soja obtidos por diferentes processos tecnológicos. **Ciencia Tecnologia de Alimentos**, Campinas, n. 26, v. 1, p. 46-51, 2006.

MOREIRA, A. M. Programa de melhoramento genético da qualidade de óleo e proteína da soja desenvolvido na UFV. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SOJA, 1999, Londrina. **Anais...** Londrina, PR: EMBRAPA-SPI, 1999. p. 99-104.

MORGADO, R. H.; ABREU, J. M. Textura de sólidos y semisólidos. In: ALVARADO, J. D.; AGUILERA, J. (Ed.). **Métodos para medir propiedades físicas en alimentos**. Zaragoza: Acribia, 2001. 410 p.

MOSQUIM, M. C. A. V. Propriedades do soro de queijo. In: ENCONTRO DIVITAL DE TECNOLOGIA DE LATICÍNIOS, 3., 1996, Viçosa. **Anais...** Viçosa, MG, 1996.

MUJOO, R.; TRINH, D. T.; PERRY, K. W. Characterization of storage proteins in different soybean varieties and their relationship to tofu yield and texture. **Food Chemistry**, Oxford, v. 82, n. 2, p. 265-273, Aug. 2003.

MURPHY, P. A.; BARUA, K.; HAUCK, C. C. Solvent extraction in the determination of isoflavones in soy foods. **Journal of Chromatography**, B, Amsterdam, v. 777, n. 1/2, p. 129-138, Sept. 2002.

NELSON, A. I.; WEI, S. L.; STEINBERG, M. P. Foods from whole soybeans. In: WORD SOYBEAN RESEARCH CONFERENCE, 2., 1979, Corbin. **Proceedings...** Corbin, FT: Westview, Boulder, 1979. p. 745-761.

NIELSEN, S. S. Digestibility of legume proteins. **Food Technology**, Chicago, v. 45, n. 9, p. 112-114, Sept. 1991.

NOH, E. J.; PARK, S. Y.; PAK, J. I.; HONG, S. T.; TUN, S. E. Coagulation of soymilk and quality of tofu as affected by freeze treatment of soybean. **Food Chemistry**, v. 91, p. 715-721, 2005.

ONO, T.; KAMINOGAWA, S.; YAMAUCHI, K. Conformation of bovine α 1-casein. Part V. A study on the calcium linkage of α 1-casein in urea solution. **Agricultural and Biological Chemistry**, v. 40, n. 9, p. 1717-1723, 1976.

PAIVA, B. M.; ALVES, R. M.; HELENO, N. M. Aspecto socioeconômico da soja. **Informe Agropecuário: soja na alimentação humana e animal**. Belo Horizonte, v. 27, n. 230, p. 7-14, jan./fev. 2006.

PANETTA, J. C. Ricota, produto dietético ideal. **Revista do Revista do Laticínios "Cândido Tostes"**, p. 13-15, jan./fev. 1975.

PARDI, M. C.; SANTOS, I. F.; SOUZA, E. R. PARDI, H. S. **Ciência, higiene e tecnologia da carne: tecnologia da carne e subprodutos, processamento tecnológico**. Goiânia: UFG. 1993. 1110p.

PELLET, P. L.; YOUNG, V. R. **Nutritional evaluation of protein food**. Tokyo: The United University, 1980. 153 p.

PETERSON, G. Evaluation of the biochemical targets of genistein in tumor cells. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 125, p. 784-789, 1995. Supplement, 3.

PFEIFFER, C.; D'AUJOURD'HUI, J. W.; NUESSELI, J.; ESCHER, F. Optimizing food packaging and shelf life. **Food Technology**, Chicago, v. 53, n. 6, p. 52-59, 1999.

PORTO, L. M. **Estudo e determinação das melhores condições operacionais do processo de produção da ricota**. 2001. 96 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG.

PORTO, L. M.; SANTOS, R. C.; MIRANDA, T. L. S. Determinação das melhores condições operacionais do processo de produção de Ricota. **Boletim CEPPA**, Curitiba, v. 23, n. 1, p. 173-182, jan./jun. 2005.

PRABHAKARAN, M. P.; PERERA, C. O.; VALIYAVEETIL, S. Effect of different coagulants on the isoflavones levels and physical properties of prepared firm tofu. **Food Chemistry**, n. 99, p. 492-499, 2006.

PRUDÊNCIO, E. S.; BENEDET, H. D. Aproveitamento do soro de queijo na obtenção do extrato hidrossolúvel de soja. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 19, n. 1, 1999.

RACKIS, J. J.; SESSA, D. J.; HONIG, D. H. Flavor problems of vegetable food proteins. **Journal of the American Oil Chemistry Society**, San Diego, v. 56, n. 6, p. 262-271, 1979.

RALPH, W. Profits in whey. **Rural Research**, n. 116, p. 22-27, 1982.

RESENDE-LUIZ, F. A.; CAMPOS, C. M. M.; FIA, R. Tratamento de efluente sintético de laticínio por um sistema FLOT-UASB. In: CONGRESSO NACIONAL DE LATICÍNIOS, 24., 2007, Juiz de Fora. **Anais... Juiz de Fora: Instituto de Laticínios "Candido Tostes"**, 2007. p. 225-230.

RIMADA, P. S.; ABRAHAM, A. G. Kefiran improves rheological properties of glucono-delta-lactone induced skim milk gels. **International Dairy Journal**, v. 16, p. 33-39, 2006.

RODRIGUES, L. R. M. **Valorização da fração protéica do soro de queijo**. 2001. p. 197. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia. Engenharia de Bioprocessos) - Universidade do Minho, Portugal. Disponível em: <<http://en.scientificcommons.org/8410783>>. Acesso em: 10 abr. 2007.

ROSENTHAL, A. J. **Textura de los alimentos: medida y percepción**. Zaragoza: Acribia, 2001. 299 p.

ROSENTHAL, A.; DELIZA, R.; CABRAL, L. M. C.; CABRAL, L. C.; FARIAS, C. A. A.; DOMINGUES, A. M. Effect of enzymatic treatment and filtration on sensory characteristics and physical stability of soymilk. **Food Control**, Oxford, v. 14, n. 3, p. 187-192, Apr. 2002.

RYNNE, N. M.; BERESFORD, T. P.; KELLY, A. L.; GUINEE, T. P. Effect of milk pasteurization temperature and in situ whey protein denaturation on the composition, texture and heat-induced functionality of half-fat cheddar cheese. **International Dairy Journal**, v. 14, p. 989-1001, 2004.

SAIO, K. Tofu-relationships between texture and fine structure. **Cereal foods Word**, n. 24, p. 342-354, 1979.

SCHMIDT, R. H.; ILLINGWORTHY, B. L. Gelation properties of whey protein and bled protein systems. **Food Product Development**, n. 12, v. 10, p. 60-64, 1978.

SEVERO, L. M. B. **Desenvolvimento de uma bebida láctea à base de soro de leite fermentado**. 1995. 74 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina.

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

SGARBIERI, V. C. Propriedades fisiológicas-funcionais das proteínas do soro de leite. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 17, n. 4, out./dez. 2004.

SILVA, D. J. P.; MATOS, A. T.; MOREIRA, D. A.; CHAGAS, R. C.; SARAIVA, C. B.; FARAGE, J. A. P. Eficiência do extrato de sementes de moringa na remoção de sólidos suspensos de águas residuárias de laticínios. In: CONGRESSO NACIONAL DE LATICÍNIOS, 24., 2007, Juiz de Fora. **Anais...** Juiz de Fora: Instituto de Laticínios "Candido Tostes", 2007. p. 258-261.

SILVA, M. R. **Efeito de uma bebida láctea fermentada e fortificada com ferro no estado nutricional de ferro em pré escolares**. 2000. 75 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5.ed. Porto Alegre/Florianópolis: UFRGS/ UFSC, 2004. p. 1102.

SINGH, R. P. Scientific principles of shelf life evaluation. In: MAN, C.M.D.; JONES, A.A. **Shelf life evaluation of foods**. London: Black Academic & Professional, 1996. 321p.

SINGH, U.; JAMBUNATHAN, R. Studies on protease inhibitors, phenolic compounds and vitro protein digestibility. **Journal Food Science**, n. 46, p. 1364, 1981.

SIRTORI, C. R.; LOVATI, M. R.; MANZONI, C.; MONETTI, M.; PAZZUCCONIT, F.; GATTI, E. Soy and cholesterol reduction: clinical experience. *Journal of Nutrition*, Bethesda, v. 125, p. 598-605, 1995. Supplement, 3.

SMITH, A. K.; CIRCLE, S. J. *Soybeans: chemistry and technology*. Westport, Connecticut: The Avi, 1978. v. 1, p. 470.

SMITH, E. L.; HILL, R. L.; LEHMAN, I. R.; LEFKOWITZ, R. J.; HANDLER, P.; WHITE, A. *Bioquímica: aspectos gerais*. 7ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1985. p. 785

SOUZA, E. C. G. *Caracterização nutricional da plasteína obtida da proteína da folha da mandioca, de soja e do soro de queijo*. 1997. Tese (Doutorado em Agroquímica) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

SUN, N.; BREENE, W. M. Calcium sulphate concentration influence on yield and quality of tofu from five soybeans varieties. *Journal of Food Science*, v. 56, n. 6, p. 1604-1607, 1991.

SUSLI, H. New type of whey utilization: a lactomineral table beverage. *Journal of Dairy Science*, n. 69, p. 320, 1956.

SZARFARC, S. C.; MARTINS, I. S.; MAZZILLI, R. N.; CAVALCANTI, M. L. F.; GANDRA, Y. R. Qualidade protéica de dietas avaliadas segundo os padrões da FAO 1968 e FAO 1973. *Revista Saúde Pública*, São Paulo, n. 14, p. 151-160, 1980.

TANG, C. H. Effect of thermal pretreatment of raw soymilk on the gel strength and microstructure of tofu induced by microbial transglutaminase. *LWT*, n. 40, p. 1403-1409, 2007.

THAM, D. M.; GARDNER, C. D.; HASKELL, W. L. Clinical review 97: potential health benefits of dietary phytoestrogens. *Journal Clinical Endocrin. Metab.*, v. 83, p. 2223-2235, 1998.

TORRES, C. C. *Bebidas à base de soro de queijo: caracterização físico-química, microbiológica e sensorial*. 1988. 91 p. Tese (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

TSAI, S. J.; LAR, C. Y.; KAO, C. S.; CHEN, S. C. Studies on the yield and quality characteristics of tofu. **Journal Food Science**, n. 46, p. 1734-1737, 1981.

USDA. United States Department of agriculture. **Glucono delta-lactone processing**. Disponível em: <www.ams.usda.gov/nop/nationallist/tapreviews/gluconodeltalactone.pdf>. Acesso em: 10 jul. 2005.

VOSS, A. Atualidades dietéticas: ácidos graxos ômega-3. **Abbott**, v.1, n. 1, jul. 1994.

WALKER, S. J. The principles and practice of shelf life prediction for microorganisms. In: MAN, C. M. D.; JONES, A. A. **Shelf life evaluation of foods**. London: Black Academic & Professional, 1996. 321 p.

WANG, H. L.; MURPHY, P. A. Isoflavone content in commercial soybean foods. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 42, n. 8, p. 1666-16673, Aug. 1994.

WANG, L. J.; LI, D.; TATSUMI, E.; LIU, Z. S.; CHEN, X. D.; LI, L. T. Application of two-stage ohmic heating to tofu processing. **Chemical Engineering and Processing**, n. 46, p. 486-490, 2007.

WEBB, B. H.; WHITTIER, E. The utilization of whey: a review. **Journal Dairy Science**, v. 31, n. 2, p. 139-164, 1948.

WIT, J. N.; KLARENBECK, G. Effects of various heat treatments on structure and solubility of whey protein. **Journal of Dairy Science**, v. 67, n. 11, p. 2701-2710, 1984.

WOLF, W. J.; COWAN, J. C. **Soybean as a food source**. Cleveland: CRC, 1975.

CAPÍTULO 2

PROPRIEDADES TECNOLÓGICAS E SENSORIAIS DE PRODUTOS SIMILARES AO TOFU OBTIDOS PELA ADIÇÃO DE SORO DE LEITE AO EXTRATO DE SOJA

1 RESUMO

CIABOTTI, Sueli. Propriedades tecnológicas e sensoriais de produtos similares ao tofu obtidos, pela adição de soro de leite ao extrato de soja. In: _____. **Desenvolvimento de um produto similar ao tofu com base na combinação do extrato de soja e soro de leite.** 2007. Cap.2, p.47-88 Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.*

Trabalhos têm sido conduzidos para avaliar a associação entre soja e soro de queijo, como alternativa de enriquecimento das proteínas da soja deficientes nos aminoácidos sulfurados, dos quais o soro de queijo possui altas concentrações, e também do aproveitamento do resíduo das indústrias de laticínios, que é altamente poluidor. Objetivou-se, com este trabalho, verificar a viabilidade da substituição de parte do extrato de soja por soro de leite na obtenção de um produto novo similar ao tofu coagulado com adição de ácido láctico e glucona- δ -lactona quanto aos aspectos tecnológicos e sensoriais. Foram obtidos produtos elaborados de extratos de soja adicionados de soro proveniente da elaboração do queijo mussarela. Utilizaram-se três diferentes proporções extrato de soja (ES):soro de leite (SL), 40:60; 30:70; 20:80, as quais sofreram ações dos coagulantes glucona- δ -lactona (GDL) ou ácido láctico (AL). A umidade dos produtos elaborados com glucona- δ -lactona foi mais elevada ($p < 0,05$) do que os obtidos com ácido láctico, bem como o rendimento. O teor protéico foi maior nos produtos obtidos com ácido láctico e na maior proporção de extrato de soja. A coagulação com ácido láctico gerou produtos com maiores firmeza, coesividade, gomosidade e mastigabilidade, comparados àqueles produzidos com base na coagulação com glucona- δ -lactona. A pontuação "CIELAB" de luminosidade (L) foi maior nos produtos obtidos com ácido láctico, e a cor amarela (B) predominou no produto com maior proporção de extrato de soja. A amostra do produto similar ao tofu que obteve aceitação por um número maior de consumidores foi aquele em que foi utilizada a proporção 40:60 (ES:SL), obtido por coagulação com GDL, com nota média 7,0 (gostei moderadamente), seguido daqueles com proporções de 30:70 (ES:SL) e 20:80, ambos com GDL, com médias 6,9 e 6,8 respectivamente, situadas entre gostei ligeiramente a gostei moderadamente. A análise do soro residual (efluente) dos produtos ainda continua sendo preocupante, devido ao alto valor de demanda

* Comitê Orientador: Maria de Fátima Piccolo Barcelos – UFLA (orientadora), Luiz Ronaldo de Abreu – UFLA, Maria das Graças Cardoso – UFLA, Roberta Hilsdorf Piccoli - UFLA.

química de oxigênio. A utilização do GDL apresentou melhores resultados de rendimento, perfil de textura e aceitabilidade.

2 ABSTRACT

CIABOTTI, Sueli. Technological and sensorial properties of products analogous to tofu obtained by the addition of milk whey to soybean extract. In: _____. **Development of a product similar to tofu based on the combination of milk whey on the soymilk.** 2007. Cap.2, p.47-88. Thesis (Doctorate in Food Science) – Federal University of Lavras, Lavras, MG.*

Works have been conducted to evaluate the association of soybean and cheese whey, as an alternative of enrichment of proteins of soybean deficient in sulfur-containing aminoacids, since cheese whey possesses high concentrations of them and also as the use of the dairy industry residue which highly polluter. It was intended in this work to verify the viability of the replacement of a part of soybean extract by milk whey in the obtaining of a new product analogous to tofu coagulated with addition of lactic acid or glucono- δ -lactone as to the technological and sensorial aspects. Products manufactured from soybean extracts added of whey coming from the making of Mozzarella cheese were obtained. Three different proportions soybean extract (ES): milk whey (SL) 40:60; 30:70; 20:80, which underwent actions of the glucono- δ -lactone (GDL) and lactic acid (AL) singly were used. The moisture of the products manufactured with glucono- δ -lactone were more elevated ($p < 0.05$) than those obtained with lactic acid as well as the yield. The protein content was higher in the products obtained with lactic acid and in the greatest proportion of soybean extract. The coagulation with lactic acid generated products with greater firmness cohesiveness, gumminess, chewness when compared with those produced from coagulation with glucono- δ -lactone. The "CIELAB" scoring of lighting (L) was higher in the products obtained with lactic acid and yellow color (B) predominated in the product with higher proportion of soybean extract. The sample of the product analogous to tofu which obtained acceptance by a number greater of consumers was the product 40:60 (ES:SL) obtained by coagulation with GDL, with average score 7.0 (I liked moderately) followed of 30:70 (ES:SL) and 20:80 both with GDL, with means 6.9 and 6.8 respectively, situated between I liked slightly to I liked moderately. The analysis of the residual whey (effluent) of the products still continues being worrying due to the

* Guidance Committee: Maria de Fátima Piccolo Barcelos – UFLA (adviser), Luiz Ronaldo de Abreu – UFLA, Maria das Graças Cardoso – UFLA, Roberta Hilsdorf Piccoli - UFLA.

high value of the chemical demand of oxygen. The use of GDL presented the best results of yield, texture profile and acceptability.

3 INTRODUÇÃO

A soja [*Glycine max* (L.) Merrill] possui, alto teor de proteína, conferindo-lhe versatilidade de emprego na indústria de alimentos, tornando-a, ainda, alvo de muitas pesquisas sobre aspectos tecnológicos e o desenvolvimento de novos produtos.

A soja, quando adequadamente processada, constitui excelente fonte protéica, apesar da pouca aceitabilidade dos seus derivados; entretanto, por se tratar de alimento de origem vegetal, apresenta limitações quanto aos aminoácidos sulfurados. Esse aspecto tem estimulado os pesquisadores a combinar fontes alimentares de origem animal, objetivando-se aumentar a disponibilidade e a capacidade nutricional desses alimentos, melhorando também os aspectos sensoriais.

Entre os produtos derivados da soja, o tofu é um dos mais conhecidos. Na Ásia, em torno de 90% das proteínas da soja são consumidas na forma de tofu (Kim et al., 2007). Esse é um produto obtido do extrato de soja com adição de sais ou ácidos para precipitação das proteínas, produzindo gel resultante da formação de uma rede protéica, com textura lisa, macia e elástica (Wang, 1984). Um dos coagulantes ácidos que é bastante utilizado na coagulação das proteínas da soja é o gluconato- δ -lactona, para a obtenção do tofu *soft*, caracterizado por possuir 87%-90% de água, apresentando-se macio e de textura frágil devido à alta concentração de umidade.

A coagulação do extrato de soja pelo uso de coagulantes específicos é a etapa mais importante da produção do tofu e a mais difícil, por depender da complexa interação de alguns fatores, como composição química da soja, temperatura de cozimento do extrato, volume processado, quantidade de sólidos, pH, tipo de coagulante e sua concentração, método de mexedura, tempo e

temperatura de coagulação (Cai & Chang, 1998).

Trabalhos têm sido realizados para avaliar a associação entre soja e soro de queijo, como alternativa de enriquecimento das proteínas da soja deficiente nos aminoácidos sulfurados metionina e cisteína. Isso porque o soro de queijo possui altas concentrações desses aminoácidos, sendo também uma forma de aproveitamento do subproduto das indústrias de laticínios.

Os princípios da coagulação das proteínas do extrato de soja na obtenção de tofu e do soro de leite na obtenção de ricota são semelhantes, o que levou à realização deste trabalho, por meio do qual objetivou-se avaliar, quanto aos aspectos tecnológicos e sensoriais, a obtenção de produto similar ao tofu à base da combinação do extrato de soja e soro de leite. Especificamente, buscou-se:

- determinar a influência dos coagulantes nas características de umidade, proteína e rendimento dos produtos;
- avaliar o efeito dos referidos coagulantes nas características instrumentais do perfil de textura e cor nos novos produtos;
- avaliar a aceitação dos produtos quanto à aparência, cor, sabor, textura e aspecto global;
- comparar a demanda química de oxigênio, pH e sólidos solúveis dos soros residuais dos produtos e do soro proveniente da fabricação do queijo mussarela e tofu.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados grãos de soja [*Glycine max* (L.) Merril], cultivar BRSMG Garantia, safra 2005/2006, proveniente da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais – Epamig, em Uberaba-MG, para a obtenção do extrato de soja.

O soro de leite proveniente da fabricação do queijo mussarela foi cedido pela Cooperativa Agrícola Alto do Rio Grande, em Lavras, MG.

A obtenção dos produtos e as análises foram realizadas nos laboratórios do Departamento de Ciência dos Alimentos e a microscopia eletrônica de varredura, no Departamento de Fitopatologia, ambos na Universidade Federal de Lavras (UFLA), MG.

Os procedimentos gerais do trabalho encontram-se no fluxograma da Figura 1.

4.1 Processamento do produto similar ao tofu com adição de soro de leite

As etapas para a obtenção do produto similar ao tofu, com adição de soro de leite proveniente de queijo mussarela, consistiram, numa primeira fase, na elaboração do extrato de soja.

4.1.1 Obtenção do extrato de soja (leite de soja)

O método usual de preparo do extrato de soja (Figura 2) estabeleceu-se na metodologia adaptada de Escueta et al. (1986).

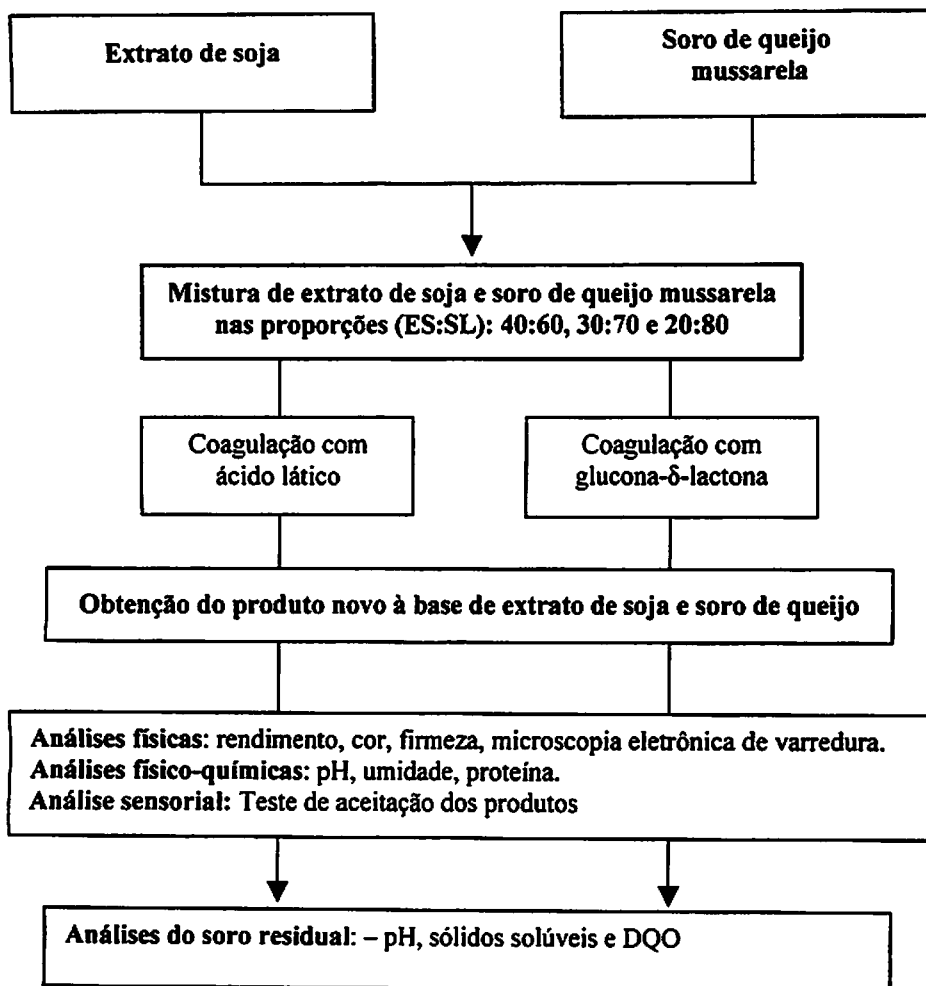


FIGURA 1 Fluxograma geral da produção e das análises físicas, físico-químicas, químicas, microbiológicas e sensoriais.

- Os grãos foram pesados para a obtenção do produto final (extrato de soja) na proporção soja:água 1:7, ou seja, 100 g de soja para 0,7 litro de água .
- Após a pesagem, os grãos foram lavados e colocados em 500 mL de água, à temperatura ambiente (média de 23°C). O tempo utilizado para a

hidratação foi de 12 horas. Concluído o tempo de maceração, a água foi drenada e descartada.

- Os grãos de soja foram macerados e, após drenagem da água de maceração, foram triturados por 3 minutos, com adição de água na proporção soja:água = 1:7 e filtrados (o resíduo foi prensado e descartado); em seguida, o extrato foi submetido a aquecimento (95-98°C/5 minutos) e fez-se a correção do volume final para 0,7 litro.

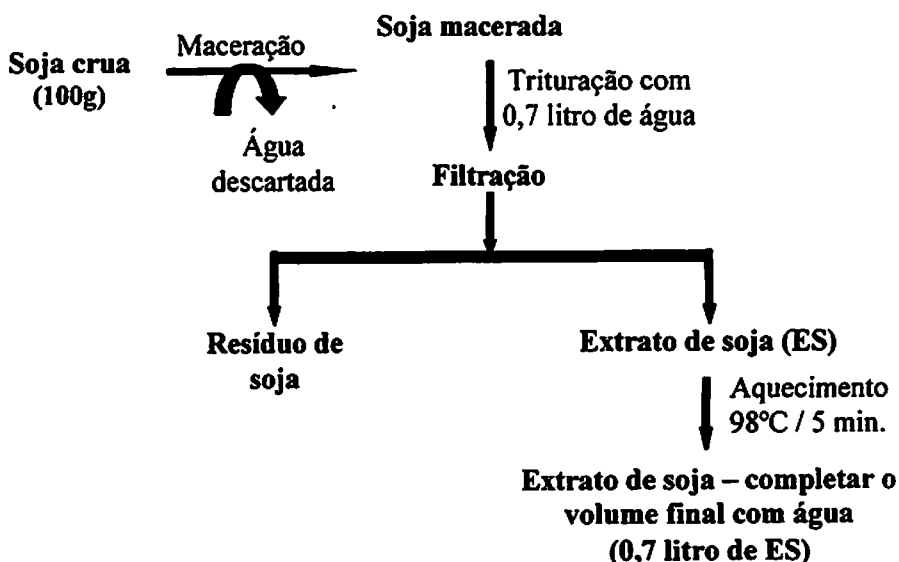


FIGURA 2 Fluxograma de obtenção do extrato de soja.

4.1.2 Obtenção do produto similar ao tofu com adição de soro de leite

- Para a obtenção do produto, o extrato de soja e soro proveniente de queijo mussarela, foram misturados nas proporções de extrato de soja (ES) e soro de leite (SL) de: 40:60, 30:70 e 20:80, respectivamente (Figura 3).

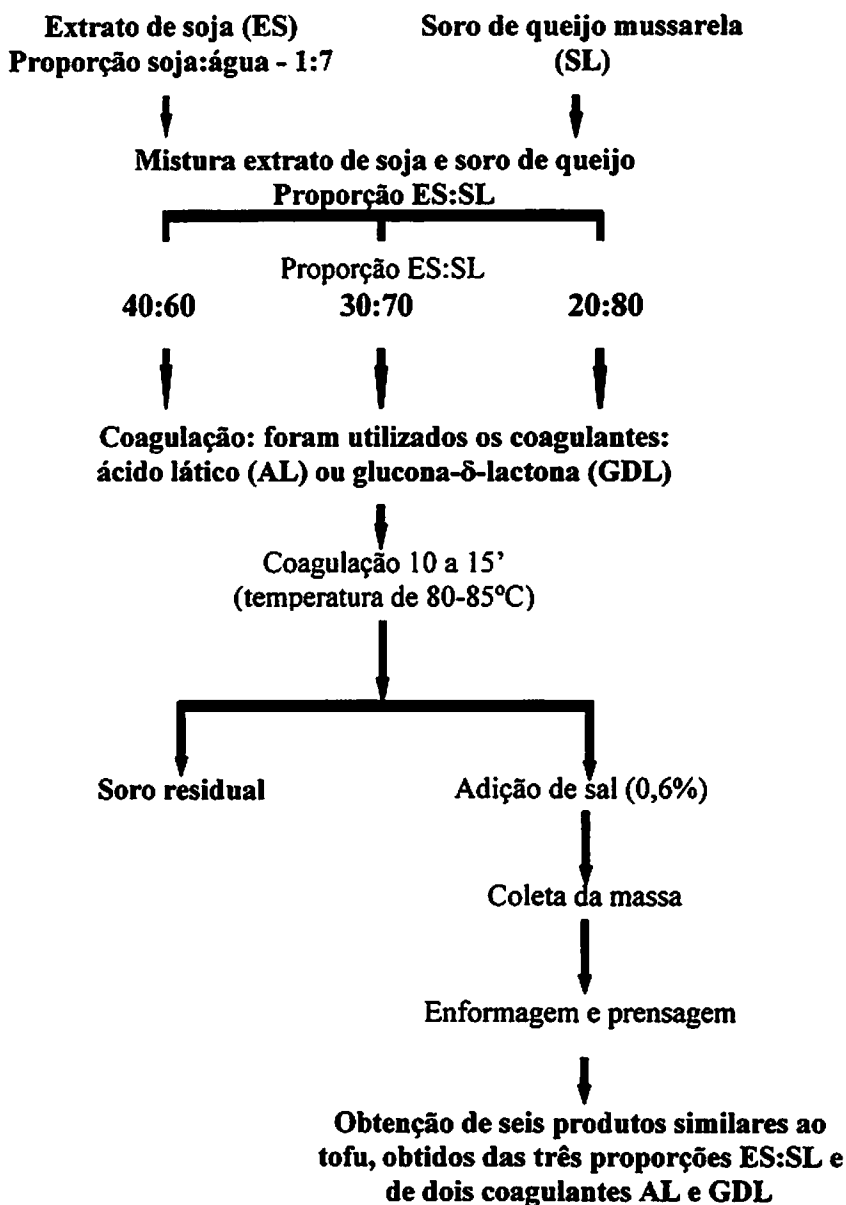
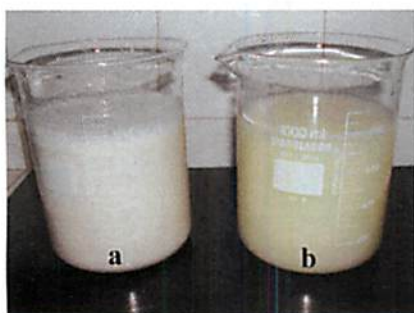


FIGURA 3 Fluxograma dos principais passos para a obtenção produto novo, à base de extrato de soja e soro de queijo.

- A mistura de extrato de soja e soro de queijo, nas proporções em estudo, foi aquecido até atingir a temperatura de 80-85°C, quando foi coagulado com glucona- δ -lactona (GDL) ou ácido láctico (AL). Foram adicionados, para cada litro do material, o seguinte coagulante: 2,5 g de glucona- δ -lactona GDL (Sigma Chemical, Louis, USA), diluído em 20 mL de água ou ácido láctico (1 mL/litro da mistura ES:SL) diluído em 10 mL de água), ambos utilizados como “agente coagulante ácido”, para a formação da coalhada.

- Após 10-15 minutos de adição do coagulante, adicionou-se 0,6% (do volume da massa) de sal iodado, homogeneizando-se lentamente. O precipitado foi coletado e, em seguida, foi adicionado em formas de polietileno providas de dessoradores e prensado, ainda quente, com um peso de 14 g/cm², por 15 minutos. O fluxograma de fabricação do produto similar ao tofu, com adição de soro de leite ao extrato de soja, encontra-se na Figura 3 e as etapas de obtenção estão ilustradas nas Figuras 4 e 5.

- Foram reservados os soros residuais dos produtos, para análises da demanda química de oxigênio (DQO), sólidos solúveis e pH. Os produtos foram resfriados (5°C por 12 horas) e pesados para análise de rendimento. Amostras foram separadas para as análises físicas, químicas, físico-químicas e sensoriais.



1. Medir o extrato de soja (a) e o soro de queijo (b).



2. Misturar os ES e SL nas proporções em estudo.



3. Aquecer a mistura à temperatura de 80-85°C.

Coagulantes: ácido lático ou glucona- δ -lactona



4. Adicionar o coagulante diluído e homogeneizar.



5. Deixar coagular por 10-15 minutos (coalhada a = ácido lático e b = glucona- δ -lactona).

FIGURA 4. Ilustração das etapas iniciais de obtenção do produto similar ao tofu, com adição de soro de leite.



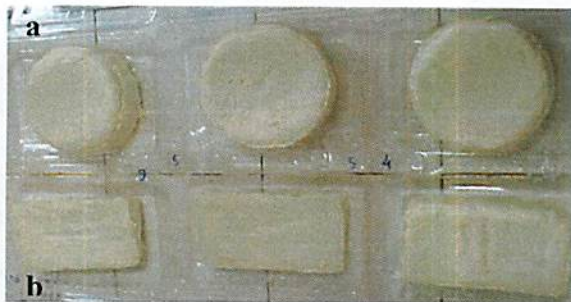
6. Adicionar o sal, homogeneizar lentamente e coletar a massa. (a = ácido láctico)



6. Cortar a coalhada, adicionar o sal, homogeneizar lentamente e coletar a massa. (b = glucona- δ -lactona)



7. Enformar e prensar. (a = ácido láctico e b = glucona- δ -lactona)



8. Produtos similares ao tofu, com adição de soro de leite (a = ácido láctico e b = glucona- δ -lactona)

FIGURA 5. Ilustração das etapas finais de obtenção do produto similar ao tofu, com adição de soro de leite.

4.2 Cálculo de rendimento de obtenção do produto

O rendimento foi calculado pelo peso do produto fresco (g) obtido com 3,5 L da combinação extrato de soja e soro de leite.

4.3 Determinação da propriedade de textura dos produtos

Para o teste de análise do perfil de textura (TPA) dos produtos similares ao tofu, utilizou-se o Texturômetro *Stable Micro System*, modelo TAXT2i, com uma probe cilíndrica de alumínio com 20 mm de diâmetro e extremidade plana. Os pedaços dos produtos similares ao tofu foram cortados em cubos de 10 mm.

A firmeza do primeiro ciclo de compressão foi analisada, sendo o valor expresso em newtons (N). Configurou-se uma compressão de 7,5 mm, correspondente a uma deformação de 75% da amostra. Os parâmetros de configuração do aparelho foram:

- velocidade do pré-teste = 4,0 mm/s
- velocidade do pós-teste = 2,0 mm/s
- distância de compressão = 7,5 mm
- velocidade do teste = 1,0 mm/s

As características mecânicas primárias de firmeza e coesividade foram calculadas pelas duas sucessivas compressões do ciclo da TPA e, como características secundárias, foram calculadas a gomosidade (firmeza X coesividade) e a mastigabilidade (firmeza X coesividade X elasticidade).

4.4 Análise estrutural em microscopia eletrônica de varredura

A preparação das amostras foi realizada no Laboratório de Microscopia e Análise Ultra-Estrutural (LME), no Departamento de Fitopatologia da UFLA, em Lavras, MG.

As amostras dos produtos similares ao tofu foram fixadas em solução Karnovsky e, transferidas para glicerol 30%, por 30 minutos. Em seguida, as amostras sofreram criofratura em nitrogênio líquido e foram transferidas para

recipiente contendo água destilada, sendo preparadas segundo protocolo descrito por Alves (2005).

As amostras devidamente preparadas e identificadas foram examinadas ao microscópio de varredura Leo Evo 40XVP. As imagens foram geradas e registradas digitalmente, com fotomicrografias, com condição de trabalho de 20 Kv e distância que variou de 16 a 18 mm. As imagens geradas foram gravadas e abertas no Software Photopaint, do pacote Corel Draw 11.

4.5 Determinação da cor

A cor do produto foi determinada pelo colorímetro marca Minolta, modelo Chroma Meter CR-3000, sistema L^*a^*b CIELAB. Os parâmetros de cor, medidos em relação à placa de cor branca, foram:

L= luminosidade (0= cor preta a 100= cor branca);

b= variando da cor azul ao amarelo (-60,0 a +60,0, respectivamente).

4.6 Avaliação sensorial dos produtos

As amostras dos produtos similares ao tofu, obtidos dos seis tratamentos, foram avaliados sensorialmente, pelo teste de aceitação (Meilgaard, 1991), por 60 provadores. O teste baseou-se em apresentar ao provador, simultaneamente, seis amostras, que as avaliaram, em cabines individuais, iluminadas com luz branca. Essas foram avaliadas à temperatura de 23°C em cubos de 1,5 cm, cortados uniformemente. As amostras foram oferecidas em recipientes descartáveis de cor branca, dotados de suportes codificados com três dígitos numéricos.

Foi utilizada a escala hedônica estruturada mista de 9 pontos entre 1 (desgostei muitíssimo) e 9 (gostei muitíssimo) para avaliar aparência, sabor, textura e impressão global dos produtos similares ao tofu (Meilgaard, 1991).

Para a análise dos resultados do teste de aceitação, utilizou-se o mapa de preferência, segundo metodologia de Arditi (1997).

4.7 Análises químicas e físico-químicas

4.7.1 Análise da umidade e proteína

A umidade foi determinada pelo método gravimétrico, com emprego de calor, em que se determinou a perda de peso do material quando submetido ao aquecimento (105°C), até a obtenção de peso constante, segundo AOAC (1990). A fração protéica foi obtida pela determinação da porcentagem de nitrogênio total da amostra, segundo método de Kjeldahl, descrito pela AOAC (1990) e multiplicado pelo fator médio entre 6,25 e 6,38, proporcionalmente às quantidades utilizadas de extrato de soja e soro de queijo.

4.7.2 pH

O pH foi determinado utilizando-se um potenciômetro digital, realizando-se leituras diretamente nas amostras de extrato de soja, no soro proveniente do queijo mussarela e no soro residual (AOAC, 1997). Nos produtos, a inserção do eletrodo foi em uma solução obtida com a homogeneização do produto com água destilada, segundo metodologia de Pereira et al. (2001).

4.7.3 Sólidos solúveis

Os sólidos solúveis foram determinados no filtrado do soro residual, por leitura em refratômetro digital Atago, modelo PR-100 Palette, com compensação de temperatura automática a 25°C e expresso em °Brix, segundo AOAC (1990).

4.7.4 Demanda química de oxigênio

Foi realizada a análise de demanda química de oxigênio (DQO) do soro do queijo mussarela, do soro de tofu e do soro residual obtido dos produtos, no Laboratório de Análise de Água do Departamento de Engenharia Agrícola da UFLA.

Utilizou-se o método calorimétrico de refluxo fechado (5220D), segundo Clesceri et al. (1998).

4.8 Análise estatística

A metodologia estatística utilizada considerou dois modelos experimentais distintos, sendo o primeiro caracterizado por um delineamento inteiramente casualizado com 4 repetições para as variáveis de umidade, proteína e pH do extrato de soja, soro de leite e da combinação de ES:SL utilizados na obtenção dos produtos. Para as variáveis físico-químicas e perfil de textura dos produtos similares ao tofu, utilizou-se também o modelo inteiramente casualizado (DIC), com 4 repetições, em experimento fatorial 3X2, sendo 3 diferentes proporções de ES e SL e 2 tipos de coagulantes. Para identificar as diferenças significativas, utilizou-se o teste de Tukey a 5% de significância. As análises de variâncias e o teste de médias foram realizados segundo técnicas usuais do *software* Sisvar (Ferreira, 2000).

Na análise sensorial, foi utilizada a técnica de Mapa de Preferência Interno (Arditti, 1997), por meio do qual foram comparados os dados de aceitação dos consumidores, relacionando-as com as características de aparência, cor, sabor, textura e aspecto global dos produtos. Utilizou-se o *software* R (2007), com o pacote *Sensormine*.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Umidade, proteína, pH, do extrato de soja (ES), do soro de leite (SL) e das misturas de ES:SL

Um dos fatores que influenciam as propriedades químicas do extrato de soja (ES) é a proporção soja:água utilizada para a sua obtenção. Burne et al. (1976) citam a proporção 1:10, que é a mais empregada. Neste trabalho, foi utilizada a proporção soja:água 1:7, o que influenciou as características físico-químicas do produto.

Na Tabela 1 apresentam-se os valores médios de umidade, proteína, pH, acidez total titulável do ES, SL e das proporções utilizadas na elaboração dos produtos.

TABELA 1 Valores médios de umidade, proteína e pH dos extratos de soja (ES), soro de leite (SL) e das combinações ES : SL, 40:60, 30:70 e 20:80.

Amostras	Umidade	Proteína (%)	pH
ES	92,55c	4,20 ¹ a	6,33a
SL	93,37a	0,89 ² e	6,67a
ES:SL 40:60	92,90b	2,13 ³ b	6,44a
ES:SL 30:70	93,23a	1,76 ³ c	6,52a
ES:SL 20:80	93,22a	1,47 ³ d	6,68a
CV (%)	0,10	2,44	3,62

Dados expressos com base em matéria integral.

¹% Proteína = % N X 6,25

²% Proteína = % N X 6,38

³% Proteína = % N X fator médio entre 6,25 e 6,38.

Médias nas colunas, seguidas por letras iguais, não diferem entre si a 0,05 de significância (Tukey).

Foi utilizada maior quantidade de soro de leite do que de extrato de soja na elaboração dos produtos em estudo, pelo fato de o soro de leite possuir baixo teor protéico (0,9%), em comparação com o extrato de soja (4,2%), embora seja elevada a qualidade das proteínas do soro. Baseando-se nesses valores de proteínas do ES e SL, proporcionalmente, a combinação 40:60 (ES:SL) constituiu-se de aproximadamente 1,68% de proteína de ES e 0,54% de proteína de SL; os teores protéicos da proporção 30:70 aproximaram-se de 1,26% de proteína de ES e 0,63% de SL e a proporção 20:80 contém valor médio de 0,86% proteína de ES e 0,72% SL; portanto, a maior proporção de SL não alcançou 50% de proteína combinada com ES.

O teor de umidade do extrato de soja obtido na proporção soja:água 1:7 foi da ordem de 92,55%, valor esse mais baixo, quando comparado a outros trabalhos, cujos extratos foram obtidos na proporção 1:10 (93,7% a 95,18% de umidade) e o teor de proteína neste estudo foi de 4,2%, enquanto na proporção de Rosenthal et al. (2003) e Ciabotti et al. (2006), foram registrados 2,8% a 3,6%, na proporção 1:10.

O teor de umidade médio do soro de leite foi de 93,37% e de proteína, 0,89%, estando de acordo com os resultados encontrados por outros autores. A umidade do soro de leite é variável, de acordo com o tipo de queijo do qual é proveniente, podendo variar de 93,5% a 95,0% (Wolfschoon & Furtado, 1977)

O pH do extrato de soja de 6,33 está próximo da faixa ideal para a extração de proteínas da soja destinadas à produção de tofu, que é entre 6,40 e 6,60 (Lambrecht et al., 1996). Com a adição do soro de leite, as proporções ES:SL 40:60, 30:70 e 20:80 apresentaram os pHs aumentados, para 6,44, 6,52 e 6,68, respectivamente.

5.2 Umidade e rendimento dos produtos

Os valores médios de umidade e rendimento dos produtos similar ao tofu encontram-se na Tabela 2.

TABELA 2 Valores médios de umidade (%) e rendimento (g/3,5 L) dos produtos à base de extrato de soja (ES) e soro de leite (SL), obtidos por coagulação com ácido láctico (AL) glucona- δ -lactona (GDL).

Produto (proporções ES:SL)	Umidade (%) ¹		Rendimento (g/3,5 L) ¹	
	AL ²	GDL ²	AL ²	GDL ²
40:60	79,67aB	82,79aA	570,74aB	692,08aA
30:70	79,75aB	82,31bA	478,95bB	606,16bA
20:80	78,89aB	82,05bA	392,44cB	477,95cA
CV (%)	0,25		2,42	

¹Médias seguidas de letras minúsculas distintas nas colunas diferem, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

²Médias seguidas de letras maiúsculas distintas nas linhas diferem, pelo teste de t (Student), a 5% de probabilidade.

A umidade dos produtos não diferiu ($p > 0,05$), nas diferentes proporções, quando se utilizou o AL. A proporção ES:SL 40:60 coagulada com GDL apresentou valor médio de umidade de 82,79%, maior do que as proporções 30:70 (82,31%) e 20:80 (82,05), salientando que o teor de umidade mais elevado foi determinado na proporção com maior quantidade de ES. Observa-se que entre os resultados apresentados pelos coagulantes, nas diferentes proporções, o GDL foi o que mostrou maior retenção de umidade. O uso do AL proporcionou um aumento da sinerese da coalhada, tornando a matriz protéica mais densa e compacta. Conseqüentemente, ocorreu a diminuição da umidade e do rendimento.

A variação da umidade do tofu preparado com diferentes coagulantes ocorreu, provavelmente, devido às diferenças das ligações químicas para a formação do gel, que é influenciada por diferentes ânions e suas frações iônicas em direção à capacidade de segurar a água no gel de proteína. Tem sido relatado que a concentração de coagulante e o tipo de ânions podem afetar a consistência do tofu (Sun & Breene, 1991; Tay et al., 2005).

Observa-se que, quando se diminui a concentração do extrato de soja, diminui-se o rendimento do produto, tanto com o uso de AL, como de GDL, fato que pode ser explicado pela quantidade de proteína presente no extrato de soja (Tabela 1) Entretanto, o rendimento com o uso de GDL foi maior do que com o uso de AL, em todas as diferentes proporções, o que pode estar relacionado com a umidade do produto. O GDL tem maior capacidade de retenção de umidade, devido à grande quantidade de hidroxilas presentes na sua molécula, que vão propiciar mais ligações de hidrogênio com a água, proporcionando, assim, maior rendimento nos produtos.

Pode-se observar, ainda, que todos os tratamentos comportaram-se diferentemente com relação ao rendimento. O produto coagulado com GDL na proporção 40:60 (ES:SL) proporcionou maior rendimento, ou seja 692,08 g/3,5L e a proporção 20:80 com ácido láctico apresentou o menor rendimento, que foi de 392,44 g/3,5L. Jackson et al. (2002) encontraram 945 g/3,5 L de tofu obtido na proporção soja:água 1:10.

5.3 pH dos produtos similares ao tofu

Na Tabela 3, verifica-se, pelos valores, a diferença ($p < 0,05$) entre o pH dos produtos similares ao tofu, com adição de soro de leite (SL). A proporção ES:SL 20:80, ou seja, com maior porcentagem de SL, apresentou valor de pH mais alto, 5,66 ($p < 0,05$), do que as proporções 40:60 e 30:70, ambas com pH

5,64, obtidas com ácido láctico. Quanto aos produtos obtidos com glucona- δ -lactona (GDL), com aumento do SL ocorreu diminuição do pH.

Os produtos coagulados com GDL, nas três proporções, diferiram ($p < 0,05$) dos obtidos com ácido láctico (AL), com valores de pH mais baixo, o que deve ser atribuído ao valor mais baixo de pKa (3,6) em relação ao pKa do ácido láctico (3,9), além do efeito indutivo pela presença do maior número de grupos hidroxila, que irão empurrar elétrons para o grupamento carboxílico, dissociando o hidrogênio com maior facilidade (Hendrickson, 1970).

TABELA 3 Valores médios de pH de coagulação dos produtos à base de extrato de soja (ES) e soro de leite (SL), obtidos por coagulação com ácido láctico (AL) glucona- δ -lactona (GDL).

Produto (proporções ES:SL)	pH produtos similares a tofu	
	AL ²	GDL ²
40:60	5,64bA	5,41aB
30:70	5,64bA	5,36bB
20:80	5,66aA	5,34cB
CV(%)	0,15	

¹Médias seguidas de letras minúsculas distintas nas colunas diferem, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

²Médias seguidas de letras maiúsculas distintas nas linhas diferem, pelo teste F, a 5% de probabilidade.

5.4 Análise do perfil de textura (TPA)

A adição de soro de leite ao extrato de soja, na obtenção dos produtos similares ao tofu, obtidos por coagulação com AL e GDL, causou alterações significativas ($p < 0,05$) nas características de textura instrumental de firmeza, coesividade, gomosidade e mastigabilidade (Tabela 4).

O comportamento dos três produtos coagulados com AL foi semelhante nas características de firmeza, gomosidade e mastigabilidade, tendo a proporção ES:SL 30:70 apresentado valores maiores de força requerida de compressão, seguidos pela proporção 20:80. Os referidos valores apresentaram-se mais baixos com o coagulante GDL, possivelmente devido a sua capacidade de proporcionar maior retenção de água nos produtos.

A diferença significativa ($p < 0,05$) entre as proporções 30:70 (valores superiores de firmeza, gomosidade e mastigabilidade obtidos com AL) e 20:80 pode ter ocorrido pela quantidade de SL incorporado na matriz protéica, juntamente com o coagulante. Assim, houve tendência de ocorrerem ligações químicas mais fortes na formação da rede de proteína, aumentando, assim, a resistência da força de compressão.

TABELA 4 Valores médios de firmeza, coesividade, gomosidade e mastigabilidade dos produtos à base de extrato de soja (ES) e soro de leite (SL), obtidos por coagulação com ácido láctico (AL) glucona- δ -lactona (GDL).

Produto (proporções ES:SL)	Firmeza (N) ¹		Coesividade ¹		Gomosidade (N) ¹		Mastigabilidade (Nmm) ¹	
	AL ²	GDL ²	AL ²	GDL ²	AL ²	GDL ²	AL ²	GDL ²
40:60	1,82cA	1,16aB	0,56bA	0,49aB	1,03cA	0,48aB	0,86cA	0,47aB
30:70	2,52aA	1,07abB	0,56bA	0,44bB	1,47aA	0,46aB	1,48aA	0,44aB
20:80	2,23bA	0,96bB	0,58aA	0,43bB	1,21bA	0,43aB	1,29bA	0,36bB
CV(%)	3,9		0,83		5,09		6,08	
Tofu	1,99		0,57		1,26		1,12	
Ricota	3,52		0,58		2,61		2,15	

¹Médias seguidas de letras minúsculas distintas nas colunas diferem, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

²Médias seguidas de letras maiúsculas distintas nas linhas diferem, pelo teste de t (Student), a 5% de probabilidade.

As características discutidas neste trabalho ficaram bem inferiores aos valores encontrados na ricota, produto obtido à base de proteína de soro e coagulado com ácido láctico, mesmo coagulante utilizado nos produtos acima citados. Quando os valores foram comparados ao tofu, que foi coagulado com glucona- δ -lactona, os produtos apresentaram valores inferiores, mostrando que a adição de soro de leite interferiu no perfil de textura.

O uso do coagulante GDL, nas três proporções ES:SL, apresentou diferença ($p < 0,05$) para as características de firmeza, coesividade e mastigabilidade, e entre as proporção coaguladas com GDL, a 40:60 foi a que apresentou maior resistência quanto à compressão, evidenciando que a maior quantidade de proteínas de soja para a formação da matriz protéica conferiu mais resistência à força exercida sobre o produto.

Os produtos coagulados com AL apresentaram maior resistência às forças de compressão nas características de firmeza, coesividade, gomosidade e mastigabilidade, do que os obtidos com GDL, o que pode ser atribuído ao baixo teor de umidade dos mesmos (Tabela 3), tornando a matriz protéica mais compacta. Mesmo resultado foi verificado por Sun & Breene (1991), que avaliaram a obtenção de tofu com ácido acético, que proporcionou um aumento da sinerese da coalhada, decorrido de mais ligações químicas com as proteínas, tornando a matriz protéica mais densa e compacta. Conseqüentemente, ocorreu diminuição da umidade e do rendimento.

Outra justificativa para essa diferença entre os produtos obtidos com AL e GDL pode ser a estrutura química desses coagulantes. O GDL, conforme discutido anteriormente neste trabalho, tem maior capacidade de retenção de umidade, devido à grande quantidade de hidroxilas presentes na sua molécula, que vão propiciar mais ligações de hidrogênio com a água. Conseqüentemente, o produto apresentou-se menos resistente à força de compressão.

As características de textura de tofu, queijo e análogos são influenciadas pela combinação de propriedades estruturais da matriz protéica formada pelo processo de coagulação (Karin et al., 1999; Lobato-Calleros et al., 2007).

No trabalho de revisão da USDA (2005) sobre GDL, esse coagulante é indicado para a obtenção do tofu *Silken* ou *soft* típico da população japonesa, por ser mais macio e suave, não sendo indicado para o *Firm* tofu, típico produto chinês. Prabhakaran et al. (2006) avaliaram as mesmas características de textura deste trabalho, com diferentes coagulantes na obtenção do tofu, e os resultados foram bem diferenciados. A coagulação com ácido acético e cloreto de cálcio proporcionou mais resistência à compressão e os mesmos produtos tiveram baixo teor de umidade.

Na Figura 6, estão ilustrados a coagulação, o produto final e a microscopia dos produtos obtido com AL e GDL, nas proporções de ES:SL 30:70.

Na Figura 6A, mostra-se o gel formado das proteínas coaguladas com AL. Observa-se a desuniformidade do gel, iniciando-se a sinerese do soro. Essa característica do gel evidencia um produto final mais firme, com baixo teor de umidade, baixo rendimento e, conseqüentemente, mais resistência à força de compressão na análise do perfil de textura. Essas características são bem diferenciadas do produto coagulado com GDL, que mostra uma superfície lisa (Figura 6B), tendo sido necessário efetuar cortes na coalhada para auxiliar a dessoragem, podendo essas serem observadas no produto final (Figura 6C e 6D), as quais apresentam a diferença visual da aparência dos produtos. Essas características foram confirmadas em todas as proporções em que se utilizou o GDL.

Pelas diferenças nas microestruturas (Figura 6E e 6F), verificam-se particularidades do uso de AL e GDL na obtenção do produto similar ao tofu, com adição de SL. A melhor compreensão das mudanças na microestrutura de

tofu tem correspondido às condições de coagulação e à concentração utilizada do coagulante (Kao et al., 2003).

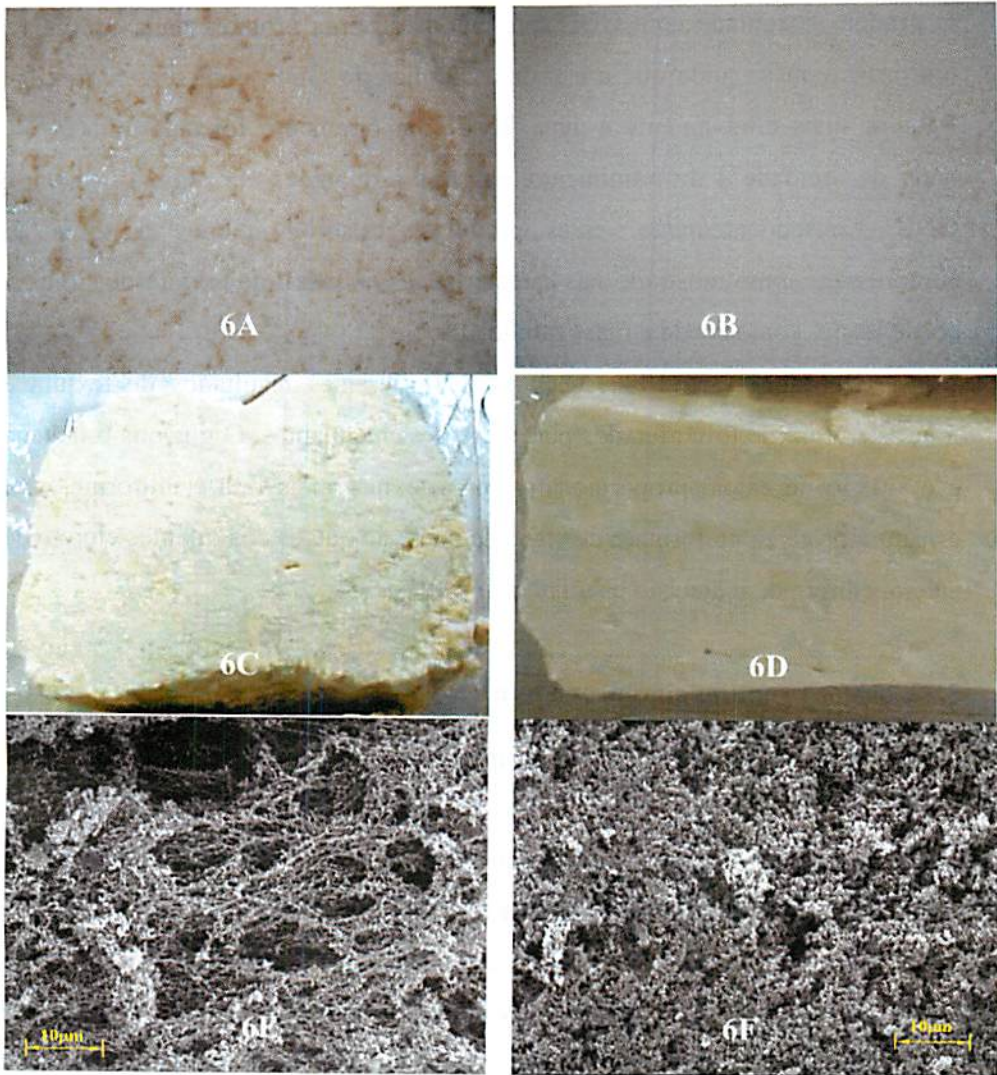


FIGURA 6 Fotos ilustrativas obtidas da combinação ES:SL 30:70. Coagulação: (6A) com AL e (6B) com GDL. Produto: (6C) com AL e (6D) com GDL. Eletromicrografias de varredura no produto obtido com AL (6E) e com GDL (6F).

Nas imagens, nota-se a diferença da estrutura no uso de AL e GDL. O produto obtido com AL apresentou certa descontinuidade na estrutura de proteína com alguns fragmentos e largos poros ou cavidades, os quais, possivelmente, foram formadas pela baixa capacidade de retenção de umidade. O produto coagulado com GDL apresentou estrutura protéica mais contínua e uniforme, confirmando que a estrutura química do GDL, com suas hidroxilas, ligou-se mais efetivamente à água. Esse comportamento foi determinado por meio da umidade e do rendimento, nas três proporções em que se utilizou o GDL. Conseqüentemente, esses produtos resistiram menos à força de compressão, como mostrado nas características do perfil de textura de firmeza, coesividade, gomosidade e mastigabilidade.

DeMan et al. (1986) encontraram diferentes resultados de textura e microestrutura de tofu afetados por diferentes coagulantes. O glucona- δ -lactona e o sulfato de cálcio proporcionaram uma textura mais fina e uniforme, com estrutura protéica no formato de “favo de mel”, do que os coagulantes cloreto de cálcio, cloreto de magnésio e sulfato de magnésio.

5.5 Cor dos produtos similares a tofu

Quando as amostras foram submetidas à determinação de cor por meio da análise instrumental, apresentaram seus valores (Tabela 5) de luminosidade (L) aumentados à medida que se diminuiu o extrato de soja nos produtos coagulados com AL nas três proporções.

As proporções ES:SL 40:60 e 30:70 obtidas com GDL diferiram da 20:80, que obteve maior luminosidade. Com os valores do amarelo (b) ocorreu exatamente de forma inversa aos valores da luminosidade (L), pois, à medida que aumentou o SL, diminuíram-se os valores da cor amarela. Apenas as proporções de 40:60 e 30:70 coagulados com GDL não proporcionou diferença ($p > 0,05$) e, na proporção 40:60 com AL, diferiu ($p < 0,05$) do GDL.

Os valores médios encontrados por Karin et al. (1999) de tofus obtidos com GDL foram de leituras de luminosidade (L) de 82,51 e os valores do amarelo (b), de 13,01. Esses valores são bastante diferentes dos obtidos neste trabalho, o que pode ser atribuído à adição do soro de leite ao extrato de soja, o que não contribuiu para a depreciação da qualidade do produto, tornado-os mais claros.

TABELA 5 Valores médios de luminosidade (L) e amarelo (b), medidos pelo sistema “CIELAB”, dos produtos à base de extrato de soja (ES) e soro de leite (SL) obtidos por coagulação com ácido láctico (AL) e glucona- δ -lactona (GDL).

Produto (proporções ES:SL)	Pontuação “CIELAB”			
	Luminosidade* (L) ¹		Amarelo* (b) ¹	
	AL ²	GDL ²	AL ²	GDL ²
40:60	86,55cA	86,49bA	11,95aA	11,47aB
30:70	87,19bA	86,46bB	11,25bA	11,24aA
20:80	87,66aA	87,55aA	10,90cA	10,53bB
CV	0,28		1,33	

L* = luminosidade (0 = cor preto a 100 = cor branca) e b* = cor azul ao amarelo (-60,0 a +60,0).

¹Médias seguidas de letras minúsculas distintas nas colunas diferem, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

²Médias seguidas de letras maiúsculas distintas nas linhas diferem, pelo teste de t (Student), a 5% de probabilidade.

Rodrigues (2001) avaliou a coloração do soro e correlacionou a luminosidade das amostras de soro bruto e seus percentuais de proteínas presentes, calculadas em base seca e confirmou a influência da composição protéica do soro em sua luminosidade, ou seja, quanto maior o percentual de proteína, mais branco é o soro. Com esses resultados, explica-se a cor mais

branca e menos amarela nos produtos obtidos com menor proporção de soro de leite.

Na obtenção de tofu, a cor, normalmente, expressa a qualidade do produto e varia entre o branco e amarelo-claro, podendo ocorrer diferença em função da cultivar de soja que está sendo utilizada (cor do hilo, cor do tegumento); a cor muito amarela deprecia a qualidade dos produtos (Lambrecht et al., 1996; Bhardwaj et al., 1999).

Ciabotti et al. (2006) encontraram valores mais baixos de L (luminosidade) em tofus obtidos com soja comum e livre de lipoxigenase de (84,81 e 84,70), respectivamente, e valores de b (amarelo) aproximados das combinações ES:SL 40:60 e 30:70 obtidos neste trabalho.

5.6 Teste de aceitação dos produtos

Os escores de aceitação dos produtos similares ao tofu estão apresentados na Tabela 6 e ilustrados na Figura 7.

Pelos resultados, evidenciou-se uma concordância entre as variáveis desejáveis, formadas pelas médias das respostas dos consumidores em relação a sabor, aparência, cor e textura, com a variável preferencial caracterizada pela impressão global. Tal concordância foi detectada porque, em ambas as variáveis, os produtos obtidos com ácido láctico (AL) foram os menos preferidos, conforme ilustrado na Figura 7, o que pode ser observado na área dos quadrantes negativos.

TABELA 6 Escores de aceitação das variáveis desejáveis (sabor, aparência, cor e textura) e preferenciais (impressão global) dos produtos obtidos por coagulação com ácido láctico (AL) e glucona- δ -lactona (GDL).

Variáveis	Médias dos escores de aceitação dos produtos similares ao tofu					
	Proporções extrato de soja:soro de leite (ES:SL)					
	40:60	30:70	20:80	40:60	30:70	20:80
	ácido láctico (AL)			glucona- δ -lactona (GDL)		
	1	2	3	4	5	6
Desejável	6,07	6,16	6,19	7,21	7,15	7,18
Preferencial	5,87	6,00	6,33	7,00	6,97	6,83

Escores de aceitação: 9 – gostei extremamente; 8 – gostei muito; 7 – gostei moderadamente; 6 – gostei ligeiramente; 5 – não gostei, nem desgostei; 4 – desgostei ligeiramente; 3 – desgostei moderadamente; 2 – desgostei muito; 1 – desgostei extremamente

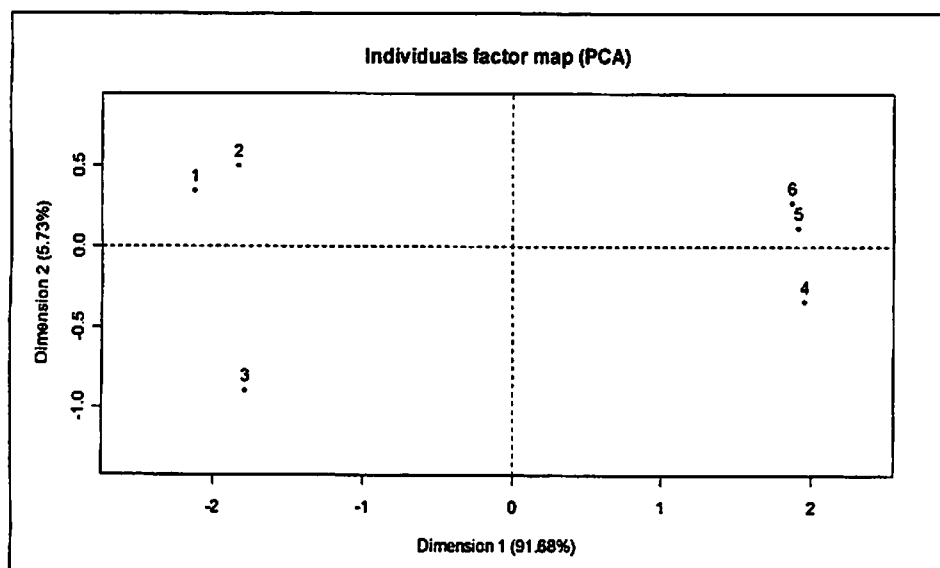


FIGURA 7 Mapa dos escores de aspecto global dos produtos obtidos por coagulação com ácido láctico (AL) glucona- δ -lactona (GDL).

Pelos resultados ilustrados na Figura 7, ressalta-se a formação de grupos de preferência, de tal forma que os produtos 5 (30% ES:70% SL - GDL) e 6 (20% ES:80% SL - GDL), localizados no primeiro quadrante, apresentaram aceitabilidades similares. Analogamente, pode-se afirmar em relação aos produtos 1 (40% ES:60% SL - AL) e 2 (30% ES:70% SL - AL), a mesma aceitação. Os produtos 3 (20% ES:80% SL - AL) e 4 (40% ES:60% SL - GDL) mostraram efeitos diferenciados em relação aos demais, pois os componentes principais (I e II) explicam 97,45% da variabilidade entre as amostras.

Uma possível justificativa para o agrupamento dos produtos demonstrados na Figura 7 é dada pelo mapa do círculo da correlação (Figura 8).

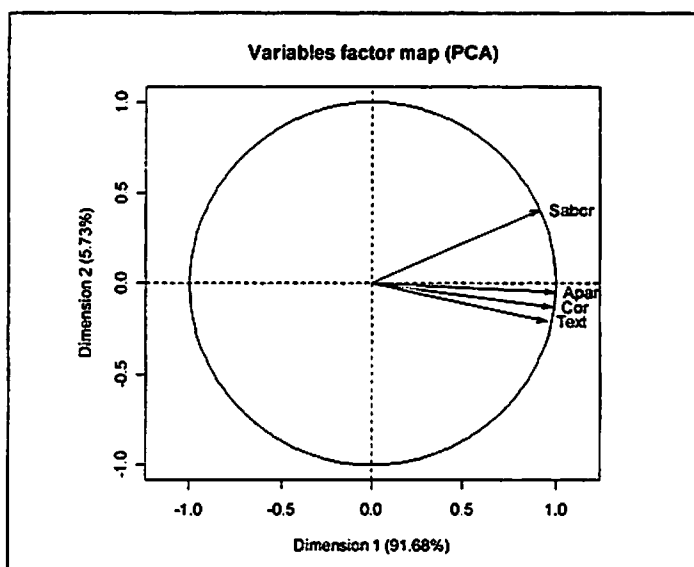


FIGURA 8 Mapa do círculo da correlação das variáveis desejáveis pelos consumidores aos atributos de sabor, aparência, cor e textura.

Pelos resultados evidenciados na Figura 8, verifica-se que o atributo sabor foi mais relevante para a classificação dos produtos 5 (30% ES:70% SL - GDL) e 6 (20% ES:80% SL - GDL), ao passo que os demais atributos avaliados (aparência, cor e textura) foram mais evidentes no produto 4 (40% ES:60% SL - GDL).

Pelos resultados da Figura 8, confirmam-se os observados nas figuras anteriores, pois, verificando-se a faixa de localização do tratamentos, constata-se que o tratamento 4 (40% ES:60% SL - GDL) foi o de melhor aceitação, seguido dos tratamentos 5 (30% ES:70% SL - GDL) e 6 (20% ES:80% SL - GDL).

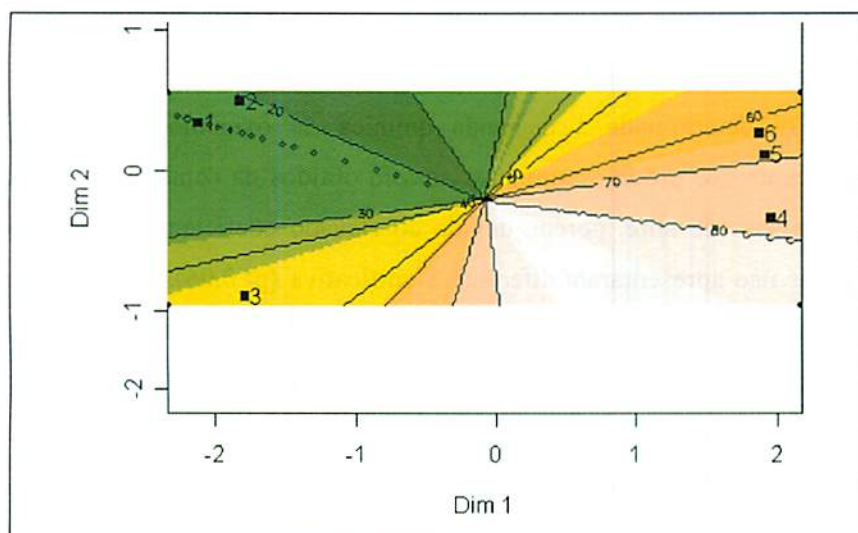


FIGURA 9 Mapa de preferência (aspecto global) dos produtos similares ao tofu com adição de soro de leite (SL), obtidos por coagulação com ácido láctico (AL) glucona- δ -lactona (GDL).

Deve-se ressaltar que as variáveis desejáveis de aparência, cor e textura determinaram a preferência do produto 4, pois concentram-se naquela região do círculo de correlação (Figura 9) mais atributos sensoriais, os quais correspondem à mesma localização do produto 4, no Mapa de preferência. No caso do tratamento 3 (20% ES:80% SL – AL), devido à sua localização (Figura 10), pode-se afirmar que foi o que apresentou menor desempenho na aceitabilidade, considerando as notas dos consumidores, pois encontra-se no quadrante negativo.

5.7 Análises do soro residual (efluente) do produto similar ao tofu, com adição de soro de leite

Os valores médios de demanda química de oxigênio do soro residual da mussarela, ricota, tofu e dos produtos obtidos da combinação de ES:SL encontram-se na Figura 10.

Foi determinada a demanda química de oxigênio (DQO) do soro remanescente dos produtos similares ao tofu obtidos da combinação de extrato de soja e soro de leite, porém, devido ao elevado coeficiente de variação, os resultados não apresentaram diferença significativa ($p>0,05$). O efeito poluidor do soro residual dos produtos ainda é preocupante, embora tenha se reduzido, quando comparado com o soro de mussarela e ricota. Porém, a diminuição no seu efeito poluidor não foi significativa, pois a concentração de substâncias orgânicas ainda fica no soro remanescente, em quantidades elevadas.

Porto (2001), que avaliou a DQO de soro de ricota puro e com várias concentrações de leite pasteurizado e leite em pó, obteve 35.761 mg/L do soro da ricota produzida com soro puro. Esse valor é, aproximadamente, 400 vezes maior do que aquele que a legislação permite, chegando a 730 vezes, quando a ricota foi produzida com 30% de leite em pó. Conclui-se, portanto, que a precipitação das proteínas do soro, na produção da ricota, confere um valor

agregado ao soro de queijo. Porém, uma parte dessas proteínas ainda permanece no soro da ricota e o teor de lactose não é reduzido com a precipitação das proteínas, mantendo, ainda, um enorme efeito poluidor. Neste trabalho, chegou-se a mesma conclusão.

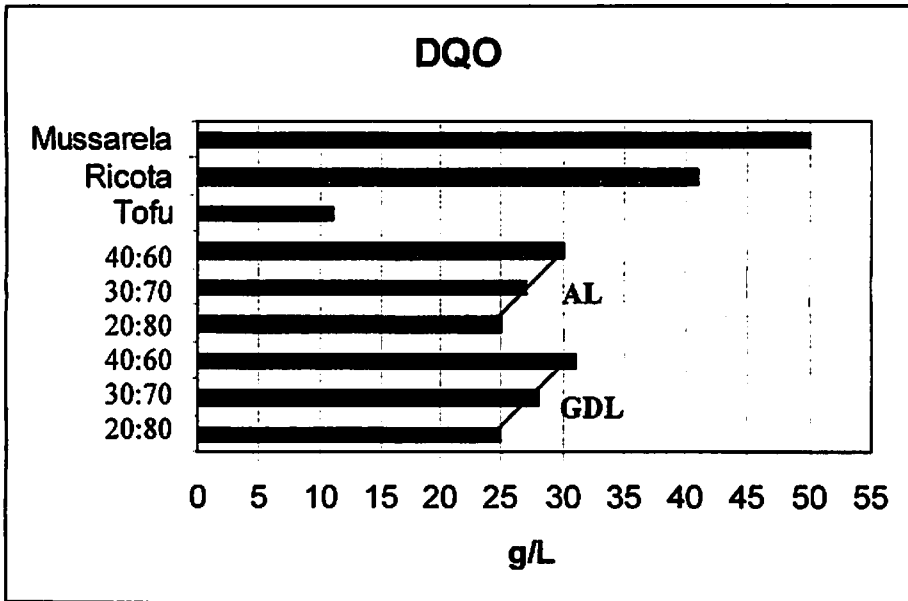


FIGURA 10 Valores médios de demanda química de oxigênio (DQO) do soro residual da mussarela, ricota, tofu e dos produtos obtidos da combinação de ES:SL, expressos em g/L.

Os valores médios de pH e sólidos solúveis do soro residual dos produtos similares ao tofu, do soro de mussarela, do soro de tofu e do soro de ricota encontram-se na Tabela 7.

Os resultados de pH do soro residual dos produtos demonstraram comportamento semelhante, com diferença significativa ($p < 0,05$) dos produtos

coagulados com AL e GDL. O soro residual do GDL, com valores de pH mais baixos, pode ter favorecido uma recuperação das proteínas, diminuindo a matéria orgânica do soro.

Observa-se que os valores de sólidos solúveis aumentaram conforme a proporção de soro de leite também foi acrescida, independentemente de o coagulante utilizado e os produtos coagulados com GDL terem alcançado valores superiores aos obtidos com AL.

Embora a legislação não estabeleça padrões de análise de sólidos solúveis (SS), essa análise foi avaliada no soro residual, por medirem os compostos orgânicos e inorgânicos, pigmentos solúveis, vitaminas e compostos de coloração (Bayran et al., 2004), os quais podem estar disponíveis para serem biodegradados por bactérias aeróbias, elevando, assim, a demanda bioquímica e química de oxigênio.

TABELA 7 Valores médios pH e sólidos solúveis (SS) do soro residual (efluente) dos produtos à base de extrato de soja (ES) e soro de leite (SL), obtidos por coagulação com ácido láctico (AL) e glucona- δ -lactona (GDL).

Soro do produto (proporções ES:SL)	pH ¹		SS ¹ (°Brix)	
	AL ²	GDL ²	AL ²	GDL ²
40:60	5,55abA	5,25aB	4,82cB	5,57cA
30:70	5,54bA	5,26aB	5,72bB	6,25bA
20:80	5,56aA	5,16bB	6,25aB	6,62aA
CV (%)	0,18		2,16	
Tofu	5,49		2,0	
Ricota	5,16		5,0	
Mussarela	6,61		6,5	

¹Médias seguidas de letras minúsculas distintas nas colunas diferem, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

²Médias seguidas de letras maiúsculas distintas nas linhas diferem, pelo teste de t (Student), a 5% de probabilidade.

A legislação (Copam, 1986) autoriza a emissão de efluentes líquidos ao meio ambiente com valores máximos de 90 mg/L de DQO e pH na faixa de 6,5 e 8,5 ($\pm 0,5$). Os valores encontrados de DQO no soro residual dos produtos similar ao tofu apresentam-se inferiores ao do soro de ricota e, principalmente, ao do soro proveniente do queijo mussarela (Tabela 7), e superior ao soro do tofu.

6 CONCLUSÕES

O coagulante glucona- δ -lactona proporcionou maior elevação nos teores de umidade e rendimento dos produtos estudados do que o ácido láctico.

Os produtos obtidos com glucona- δ -lactona resistiram menos à força de compressão do que os coagulados com ácido láctico e apresentaram textura mais macia, aproximando-se mais dos resultados do perfil de textura obtidos no tofu.

A combinação ES e SL não depreciou a cor dos produtos, conferindo mais luminosidade e menor intensidade do amarelo.

O produto similar ao tofu com aceitação por número maior de consumidores foi o produto 40:60 (ES:SL), obtido por coagulação com GDL, com nota média 7,0 (gostei moderadamente), seguido do 30:70 (ES:SL) e 20:80, ambos com GDL, situadas entre gostei ligeiramente a gostei moderadamente.

O soro residual dos produtos ainda continua sendo preocupante em consequência da alta demanda química de oxigênio.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, E. **Curso introdutório à microscopia eletrônica de varredura.** Lavras: Universidade Federal de Lavras/FAEPE, 2005. 43 p. Apostila.

ARDITTI, S. Preference mapping: a case study. **Food Quality and Preference**, v. 8, n. 5/6, p. 323-327, 1997.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analytical of the Association of Official Analytical Chemists.** 15thed. Washington, 1990. v. 2.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analytical of the Association of Official Analytical Chemists.** 16th ed. Gaithersburg: 1997. v. 45, p. 16-17.

BAYRAM, M.; KAYA, A.; ONER, M. D. Changes in properties of soaking water during production of soy-bulgur. **Journal of Food Engineering.**, Oxford, v. 61, n. 2, p. 221-230, Feb. 2004.

BHARDWAJ, H. L.; BHAGSARI, A. S.; JOSHI, J. M.; RANGAPPA, M.; SAPRA, V. T.; RAO, M. S. S. Yield and quality of soymilk and tofu made from soybean genotypes grown at four locations. **Crop Science**, Madison, v. 39, n. 2, p. 401-405, Mar./Apr. 1999.

BURNE, M. C.; CLEMENTE, M. G.; BANZON, J. Survey of suitability of thirty cultivars of soybean for soymilk manufacture. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 41, n. 5, p. 1204-1208, Sept./Oct. 1976.

CAI, T. D.; CHANG, C. K. Characteristics of production-scale tofu as affected by soymilk coagulation method: propeller blade size, mixing time and coagulant concentration. **Food Research Internacional**, Amsterdam, v. 31, n. 4, 289-295, Apr. 1998.

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

CLESCERI, L. S.; GRENBORG, A. E.; EATON, A. D. **Standard methods: for the examination of water and wastewater.** 20thed. Maryland, United Book Press INC, 1998. p. 1177.

COMISSÃO DE POLÍTICA AMBIENTAL. Deliberação normativa nº 10 de 16 de dezembro de 1986. Padrões para qualidade de águas, lançamento e efluentes nas coleções de águas. Disponível em: <www.paas.uff.br/legisla/copam10_86.pdf>. Acesso: 10 jul. 2007.

DEMAN, J. M.; DEMAN, L.; GUPTA, S. Texture and microstructure of soybean curd (tofu) as effected by different coagulants. **Food Microstructure**, v. 5, p. 83-89, 1986.

ESCUETA, E. E.; BOURNE, M. C. HOOD, L. F. Effect os boiling treatment of soymilk on the composicao, yield, textura and sensory properties of tofu. **Canadian Institute of Science and Technology**, Ottawa, v. 19, n. 2, p. 53-56, 1986.

FERREIRA, D. F. Análise estatística por meio do SISVAR para Windows versão 4. 0. In: REUNIAO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA. UFSCar, 45., 2000, São Carlos. **Anais...** São Carlos, SP: UFSCar, 2000. p. 255-258.

HENDRICKSON, J. B.; CRAM, D. J.; HAMMOND, G. S. **Organic chemistry.** 3thed. Tokyo: Kogakusha, 1970. 1279p.

JACKSON, C. J. C.; DINI, J. P.; RUPASINGHE, H. P. V.; FAULKNER, H.; POYSA, V.; BUZZELL, D.; DEGRANDIS, S. Effects of processing on the content and composition of isoflavones during manufacturing of soy beverage and tofu. **Process Biochemistry**, Oxford, v. 37, n. 10, p. 1117-1123, May 2002.

KAO, F. J.; SU, N. W.; LEE, M. H. Effect of calcium sulfate concentration in soymilk on the microstructure of firm tofu and the protein constitutions in tofu whey. **Journal of Agricultural and food Chemistry**, v. 51, p. 6211-6216, 2003.

KARIM, A. A.; SULEBELE, G. A.; AZHAR, M. E.; PING, C. Y. Effect of carragenan on yield and properties of tofu. **Food Chemistry**, Oxford, v. 66, n. 2, p. 159-165, Aug. 1999.

KIM, Y. S.; CHOI, Y. M.; NOH, D. O.; CHO, S. Y.; SUH, H. J. The effect of oyster Shell powder on the extension of the shelf life of tofu. **Food Chemistry**, n. 103, p. 155-160, 2007.

LAMBRECHT, H. S.; NIELSEN, B. J.; LISKA, B. J.; NIELSEN, N. C.; Effect of soybean storage on tofu and soymilk production. **Journal of Food Quality**, Trumbull, v. 19, n. 3, p. 189-202, June 1996.

LOBATO-CALLEROS, C. L. et al. Microstructure and texture of whit fresh cheese made with canola oil and whey protein concentrate in partial or total replacement of milk fat. **Food Research International**, v. 40, p. 529-537, 2007.

MEILGAARD, M.; CIVILLE, G. V.; CARR, B. T. **Sensory evaluation techniques**. 2. ed. Florida: CRC, 1991. 354p.

PEREIRA, D. B. C.; SILVA, P. H. F.; COSTA JUNIOR, L. C. G.; OLIVEIRA, L. L. **Físico-químico do leite e derivados: métodos analíticos**. 2.ed. Juiz de Fora: Templo, 2001. 234 p.

PORTO, L. M. **Estudo e determinação das melhores condições operacionais do processo de produção da ricota**. 2001. 96 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG.

PRABHAKARAN, M. P. PERERA, C. O.; VALIYAVEETIL, S. Effect of different coagulants on the isoflavone levels and physical properties of prepared firm tofu. **Food Chemistry**, n. 99, p. 492-499, 2006.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R: a language and environment for statistical computing**. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing, 2007. Software. Disponível em: <<http://www.R-project.org>>. Acesso em: 10 jul. 2007.

RODRIGUES, L. R. M. **Valorização da fracção protéica do soro de queijo**. 2001. p. 197. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia. Engenharia de Bioprocessos) - Universidade do Minho – Portugal. Disponível em: <<http://en.scientificcommons.org/8410783>>. Acesso em: 10 abr. 2007.

ROSENTHAL, A.; DELIZA, R.; CABRAL, L. M. C.; CABRAL, L. C.; FARIAS, C. A. A.; DOMINGUES, A. M. Effect of enzymatic treatment and filtration on sensory characteristics and physical stability of soymilk. **Food Control**, Oxford, v. 14, n. 3, p. 187-192, Apr. 2003.

SUN, N.; BREENE, W. M. Calcium sulphate concentration influence on yield and quality of tofu from five soybeans varieties. **Journal of Food Science**, v. 56, n. 6, p. 1604-1607, 1991.

TAY, S. L.; TAN, H. Y.; PERERA, C. O. The coagulation effects of cations and anions on soy protein. **International Journal of Food Properties**, 2005. (In press.)

USDA. United States Department of agriculture **Glucono delta-lactone processing**. Disponível em: <www.ams.usda.gov/nop/nationallist/tapreviews/gluconodeltalactone.pdf>. Acesso em: 10 jul. 2005.

WANG, H. L. Tofu e tempeh as potential protein sources in the western diet. **Journal of the Association Oil Chemistry Science**, Champaign, v. 61, n. 3, p. 528-534, 1984.

WOLFSCHOON, A. F.; FURTADO, M. M. Composição média dos soros de queijo prato e Minas. **Revista do Instituto de Laticínios "Cândido Tostes"**, Juiz de Fora, p. 21-23, nov./dez. 1977.

CAPÍTULO 3

**AVALIAÇÕES, QUÍMICAS E BIOQUÍMICAS DE UM PRODUTO
SIMILAR AO TOFU OBTIDO DA COMBINAÇÃO DE SORO DE LEITE
E EXTRATO DE SOJA**

1 RESUMO

CIABOTTI, Sueli. Avaliações químicas e bioquímicas de um produto similar ao tofu, obtido com adição de soro de leite ao extrato de soja. In: _____. **Desenvolvimento de um produto similar ao tofu com base na combinação do extrato de soja e soro de leite.** 2007. Cap. 3, p. 89-123 Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG*.

Trabalhos têm sido conduzidos para verificar a viabilidade da associação de produtos de origem vegetal, especificamente o extrato de soja, com o soro proveniente da fabricação de queijos, buscando melhorar as características nutricionais dos produtos, bem como aproveitar o soro residual, que é altamente poluente. Objetivou-se, com o presente trabalho, avaliar a composição química, quanto aos aspectos nutricionais e como alimento funcional de um produto similar ao tofu, com base na combinação do extrato de soja e soro de leite proveniente da fabricação do queijo mussarela, em três diferentes proporções, utilizando dois diferentes coagulantes. Os valores de proteína e lipídeo do extrato de soja utilizado na mistura com soro de leite apresentaram seus teores bem elevados e os conteúdos de cinzas inferiores, quando comparados ao soro de leite. Nos resultados da composição centesimal dos produtos, os teores de proteína e gordura diminuíram conforme também diminuíram-se as proporções de extrato de soja, e os teores de cinzas extrato não-nitrogenados foram aumentados. Os produtos obtidos com ácido láctico apresentaram maiores teores de proteína e lipídeos. Os produtos obtidos com glucona- δ -lactona apresentaram maior retenção isoflavonas. As proporções extrato de soja: soro de leite 40:60 e 30:70 alcançaram valores de isoflavonas semelhantes a outros produtos derivados de soja. O perfil de aminoácidos sulfurados teve seus valores aumentados conforme elevou-se a proporção de soro de leite, não tendo esses produtos apresentado aminoácidos limites de acordo com os padrões de referência. Os resultados da digestibilidade protéica *in vitro* foram maiores conforme aumentou-se a proporção de soro de leite, e os produtos com ácido láctico foram os que apresentaram melhor digestibilidade. A adição do soro de leite ao produto similar ao tofu respondeu satisfatoriamente, quanto aos seguintes aspectos: aumentou os conteúdos de aminoácidos sulfurados, melhorou a digestibilidade protéica e reteve quantidades consideráveis de isoflavonas.

* Comitê Orientador: Maria de Fátima Piccolo Barcelos – UFLA (orientadora), Luiz Ronaldo de Abreu – UFLA, Maria das Graças Cardoso – UFLA, Roberta Hilsdorf Piccoli – UFLA.

2 ABSTRACT

CIABOTTI, Sueli. Chemical and biochemical evaluations of a product analogous to tofu obtained with addition of milk whey to soybean extract. In: _____. **Development of a product similar to tofu based on the combination of milk whey on the soymilk.** 2007. Cap. 3, p. 89-123. Thesis (Doctorate in Food Science) - Federal University of Lavras, Lavras, MG*.

Works have been conducted verifying the viability of the association of products of plant origin specifically soybean extract with the whey coming from the manufacture of cheeses with the purpose of improving the nutritional characteristics of the products as well as to use the residual whey which highly polluter. It was intended to evaluate the chemical composition as to the nutritional aspects and as a functional food of a product analogous to tofu with the addition of soybean extract extracted directly from soybean added of milk whey coming from the making of Mozzarella cheese at three different proportions, utilizing two different coagulants. The values of protein and lipid of the soybean extract utilized in the mixture with milk whey presented their values quite high and the contents of ashes inferior as compared with milk whey. These values were modified as the proportion of milk whey was increased. In the results of the centesimal composition of the products, the contents of protein and fat decreased as also the proportions of soybean extract decreased and the content of non nitrogen extract ashes were increased. The products obtained with lactic acid presented higher contents of protein and lipids. The products obtained with glucono- δ -lactone presented a greater retention of isoflavones. The proportions soybean extract: milk whey 40:60 and 30:70 reached values of isoflavone similar to other soybean-derived products. The aminoacid profile mainly the sulfur-containing ones had their values increased as the proportion of milk whey was increased, these products not presenting limit aminoacids according to the reference standards. The results of in vitro protein digestibility presented themselves higher as the proportion of milk whey was increased and the products obtained with lactic acid were the ones which presented better digestibility. The addition of milk whey to the product analogous to tofu responded satisfactorily as to the aspects, increased the content of aminoacids, mainly the sulfur-containing ones, improved protein digestibility, retained substantial amounts of isoflavones.

* Guidance Committee: Maria de Fátima Piccolo Barcelos – UFLA (Adviser), Luiz Ronaldo de Abreu – UFLA, Maria das Graças Cardoso – UFLA, Roberta Hilsdorf Piccoli – UFLA.

3 INTRODUÇÃO

O crescimento do segmento da indústria alimentícia que visa a contribuir com produtos de melhor qualidade vai ao encontro do interesse dos consumidores, que estão em busca de uma alimentação saudável e que ofereçam benefícios à saúde (Katz, 2000).

A soja [*Glycine max* (L.) Merrill] caracteriza-se pela sua versatilidade alimentícia e inúmeros produtos são lançados a cada dia no mercado. Isso se deve aos estudos epidemiológicos, os quais têm mostrado os seus benefícios à saúde humana, principalmente atuando no papel protetor nos cânceres estrógenos-dependentes, tais como câncer de mama, de próstata e cólon (Peterson, 1995; Kennedy, 1995; Barnes, 1995).

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 (Nielsen, 1991). Porém, o valor nutritivo de uma proteína depende da composição, da digestibilidade, da proporção, da biodisponibilidade dos aminoácidos essenciais e da ausência de propriedades antinutricionais (Pellet & Young, 1980; Nielsen, 1991; Sgarbieri, 1996).

Trabalhos têm sido conduzidos, com o objetivo de verificar a viabilidade da associação de produtos de origem vegetal, especificamente o extrato de soja, com o soro proveniente da fabricação de queijos, com o intuito de melhorar as características nutricionais dos produtos, bem como aproveitar o soro residual que é altamente poluente.

A utilização do soro como matéria-prima é importante, tanto do ponto de vista econômico como nutricional, pois, além de possuir alto valor biológico, possui alta digestibilidade, um equilibrado perfil de aminoácidos essenciais, ausência de substâncias tóxicas, efeitos fisiológicos excepcionais e desejáveis,

funcionalidade superior em alimentos lácteos acidificados, sabor e aroma suaves (USDEC, 2000).

Nos últimos anos, foi constatado o potencial econômico da utilização do soro proveniente da fabricação de queijos. No passado, o soro era tratado como rejeito e descartado em rios ou lagoas. Com a pressão pela preservação ambiental e a constatação de que o soro contém metade dos sólidos do leite e alto valor nutritivo, está havendo uma substancial mudança de ação da indústria. Uma nova política está em curso, considerando, de forma crescente, o soro como uma matéria-prima que possui elevado potencial de retorno nutritivo e econômico para a indústria de laticínios, que está em grande desenvolvimento (Porto, 2001).

A maioria dos trabalhos conduzidos com o extrato de soja adicionada ao soro de leite proveniente da fabricação de queijos direciona-se à obtenção de bebidas lácteas, e neste trabalho, objetivou-se avaliar a composição química de um produto similar ao tofu obtido pela combinação de extrato de soja e soro de leite proveniente da fabricação do queijo mussarela, em três diferentes proporções, utilizando dois diferentes coagulantes, tendo como objetivos específicos: determinar parâmetros químicos da composição centesimal da matéria-prima e dos produtos; avaliar a composição de aminoácidos dos produtos, tofu e ricota, comparando-os com os padrões estabelecidos pela FAO; determinar os aminoácidos limitantes nos produtos por meio do escore químico; avaliar a digestibilidade protéica *in vitro*, tendo como referência a caseína; analisar a composição de isoflavonas decorrente do uso dos diferentes coagulantes.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados grãos de soja [*Glycine max* (L.) Merrill], cultivar BRSMG Garantia, safra 2005/2006, proveniente da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais - Epamig – de Uberaba, MG, para a obtenção do extrato de soja.

O soro de queijo mussarela foi cedido pela Cooperativa Agrícola Alto do Rio Grande, de Lavras, MG.

4.1 Obtenção do produto similar ao tofu, com adição de soro de leite

O fluxograma dos procedimentos gerais do trabalho está apresentado na Figura 1.

As etapas para a obtenção do produto similar ao tofu, com adição de soro de leite proveniente de queijo mussarela, consistiram, inicialmente, na elaboração do extrato de soja, com a metodologia adaptada de Escueta et al. (1986).

O extrato de soja e o soro proveniente de queijo mussarela foram misturados nas seguintes proporções de extrato de soja (ES) e soro de queijo (SL): 40:60, 30:70 e 20:80.

As misturas foram aquecidas até atingir a temperatura de 80 a 85°C, sendo adicionados separadamente, para cada litro do material, os coagulantes: 2,5 g de glucona- δ -lactona - GDL (Sigma Chemical, Louis, USA), diluído em 20 mL de água destilada, e o ácido láctico (1 mL/L da mistura ES:SL, diluído em 10 mL de água), para a formação da coalhada, separadamente.

Após 10-15 minutos de adição do coagulante, foram adicionados 0,6% (do volume da massa) de sal iodado, homogeneizando-se lentamente. O

precipitado foi coletado e, em seguida, colocado em formas de polietileno com dessorador e prensado ainda quente com um peso de 14 g/cm², por 15 minutos.

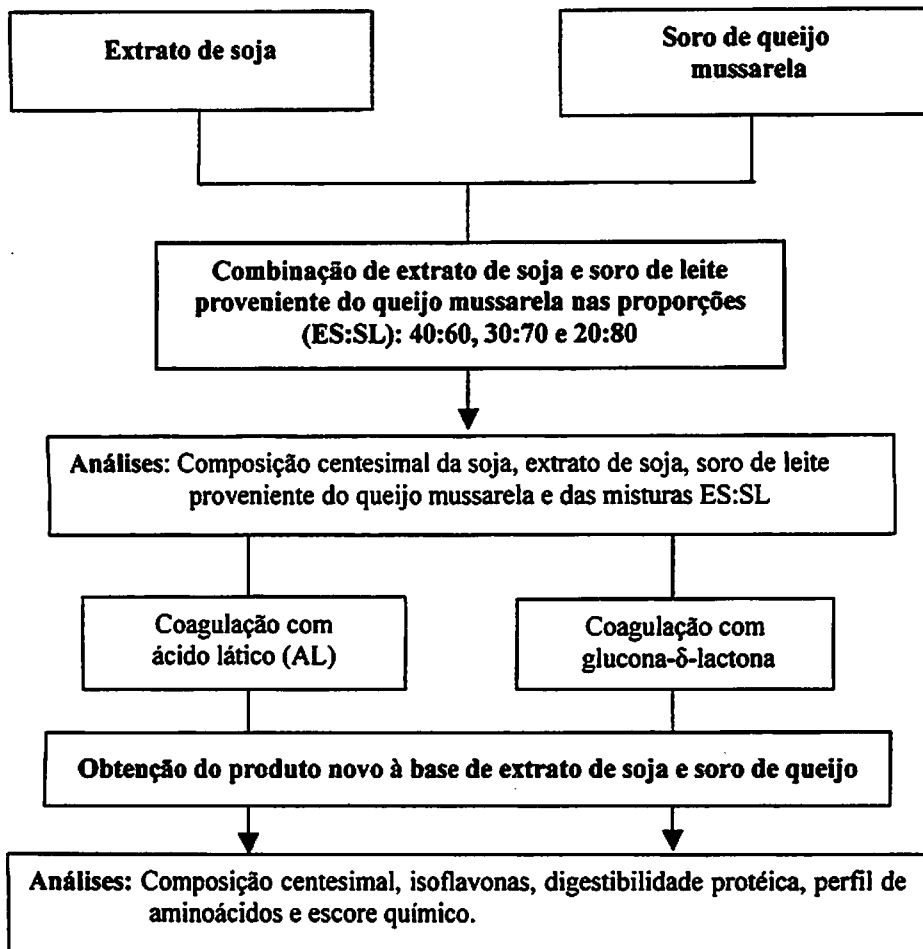


FIGURA 1 Fluxograma geral da produção e das análises químicas, físico-químicas e bioquímicas.

4.2 Análises químicas e físico-químicas

4.2.1 Composição centesimal

A umidade foi determinada pelo método gravimétrico, com emprego de calor. Determinou-se a perda de peso do material, quando submetido ao aquecimento (105°C), até a obtenção de peso constante, segundo AOAC (1990).

A fração protéica foi obtida pela determinação da porcentagem de nitrogênio total da amostra, segundo método de Kjeldahl, descrito pela AOAC (1990) e multiplicado pelo fator médio entre 6,25 e 6,38, de acordo com as proporções utilizadas de extrato de soja e soro de leite. O extrato etéreo dos grãos crus de soja foi determinado segundo o método da AOAC (1990) e o do extrato de soja, soro de leite e dos produtos, pelo método de Gerber, conforme Pereira et al. (2001).

A fibra bruta dos grãos de soja foi determinada pelo método gravimétrico, após a hidrólise ácida, segundo metodologia descrita por Van de Kamer & Van Ginkel (1952).

O resíduo mineral fixo (cinzas) foi determinado pela incineração das amostras em temperatura de 550°C, segundo AOAC (1990) e a fração glicídica foi obtida pelo cálculo de diferença.

4.2.2 Análises de isoflavonas

As análises de isoflavonas foram realizadas no Laboratório de Análises Cromatográficas da Embrapa-Soja, utilizando a técnica cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).

A extração das isoflavonas foi realizada de acordo com a metodologia preconizada por Carrão-Panizzi et al. (2002). Inicialmente, desengorduraram-se as amostras com hexano e, após a secagem, pesou-se a amostra seca, adicionando-se solução extratora de isoflavonas (etanol a 70% contendo 0,1% de

ácido acético) e, em seguida, a solução foi ultra-sonicada, centrifugada, para posterior quantificação.

Utilizou-se a metodologia adaptada de Berhow (2002) para a separação e quantificação das isoflavonas. As amostras foram injetadas seguindo-se os procedimentos usuais do aparelho de Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), marca Waters, modelo 2690, com injetor automático de amostras. Utilizou-se coluna de fase reversa do tipo ODS C18 (YMC Pack ODS-AM Column) com 250 mm de comprimento x 0,4 mm de diâmetro interno e partículas de 5µm. Para a separação das isoflavonas, adotou-se o sistema de gradiente linear binário, tendo-se como fases móveis: 1) metanol contendo 0,025% ácido trifluoroacético (TFA) (solvente A) e 2) água destilada deionizada ultrapura contendo 0,025% de TFA (solvente B). A condição inicial do gradiente foi de 20% para o solvente A, que aos 40 minutos, atingiu a concentração de 100%, para, em seguida, retornar a 20% aos 41 minutos e permanecer nessas condições até os 60 minutos. Portanto, o tempo total de corrida para cada amostra foi de 60 minutos. A vazão da fase móvel foi de 1 mL/min. e a temperatura durante a corrida, 25°C. Para a detecção das isoflavonas, foi utilizado o detector de arranjo de foto diodo da marca Waters, modelo 996, ajustado para o comprimento de onda igual a 260 nm. Para a identificação dos picos correspondentes a cada uma das isoflavonas, foram utilizados padrões de daidzina, daidzeína, genistina e genisteína, da marca Sigma, solubilizados em metanol (grau CLAE), nas seguintes concentrações: 0,00625 mg/mL; 0,0125 mg/mL; 0,0250 mg/mL; 0,0500 mg/mL e 0,1000 mg/mL. Para a quantificação das 12 formas de isoflavonas, por padronização externa (área dos picos), foram utilizados os padrões como referência, bem como o coeficiente de extinção molar de cada uma delas, para o cálculo das outras formas (malonil e acetil).

4.2.3 Análise do perfil de aminoácidos (aminograma)

Os aminogramas foram realizados no Centro de Química de Proteínas da Universidade de São Paulo – Ribeirão Preto – SP. Empregou-se a hidrólise ácida para quantificar alguns aminoácidos (lisina, histidina, arginina, ácido aspártico, treonina, serina, ácido glutâmico, prolina, glicina, alanina, cisteína, valina, metionina, isoleucina, leucina, tirosina e fenilalanina) com HCl 6N, por 22 horas, a $110^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$, de acordo com Spackman et al. (1958). Para a determinação do triptofano, empregou-se LiOH 4N, por 24 horas, a $110^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$, segundo técnica descrita por Lucas & Sotelo (1980), por meio de cromatografia líquida em colunas de resina de troca catiônica em analisador de aminoácidos Nicolas V.

O analisador de aminoácidos Nicolas V consiste de duas colunas de troca iônica, sendo uma longa, que separa aminoácidos ácidos e neutros, e uma curta, que separa aminoácidos básicos e triptofano. Alíquotas entre 0,010 e 0,900mL são aplicadas nas colunas de troca catiônica (Resina: PC 6A Amino acid Analysis Resin Pierce) e eluídas por diferenças de pH e força iônica (coluna curta pH 5,28; coluna longa pH 3,25 e, posteriormente, 4,25) (Spackman et al., 1958). Após a separação cromatográfica, os aminoácidos eluídos da coluna reagem com ninidrina a uma temperatura de aproximadamente 100°C e os produtos dessa reação são detectados colorimetricamente em dois comprimentos de onda: 440 nm para a Prolina (cubeta de 6 mm de caminho óptico) e 570 nm para os demais aminoácidos (em uma cubeta de caminho óptico de 12 mm). A identificação dos picos foi realizada com base nos tempos de retenção de cada resíduo.

4.2.4 Determinação do escore químico de aminoácidos

Para a verificação dos aminoácidos limitantes existentes nas proteínas em estudo, foi realizado o escore químico de aminoácidos, mediante o calculo

do quociente de cada um dos aminoácidos essenciais (mg) contidos na proteína (g) teste pelo mesmo aminoácido contido na proteína de referência da FAO/WHO (1990), multiplicando, em seguida, o resultado por 100 (Pellett & Young, 1980).

$$\text{Escore químico} = \frac{\text{mg aminoácido essencial / g proteína teste}}{\text{mg aminoácido essencial / g proteína referência}} \times 100$$

4.3 Digestibilidade *in vitro*

A digestibilidade *in vitro* da proteína foi determinada pelo método de Muron (1973), com modificação. A amostra foi digerida com pepsina a 37°C, por 1 hora, após elevação com NaOH 0,1 N, digerida na presença de pancreatina, a 37°C, por 3 horas, quando a reação foi interrompida com ácido tricloroacético a 50%. Foi determinado o conteúdo de nitrogênio da amostra e da amostra centrifugada e, para o branco amostra e o branco enzima, foi determinado o nitrogênio do centrifugado. O cálculo da digestibilidade foi feito de acordo com a seguinte fórmula:

$$\text{Digestibilidade (\%)} = \frac{\text{Nda} - (\text{Nbe} + \text{Nba})}{\text{Nt} - \text{Nbe}} \times 100$$

Em que:

Nda = nitrogênio digerido da amostra (centrifugado)

Nbe = nitrogênio do branco enzima (centrifugado)

Nba = nitrogênio do branco amostra (centrifugado)

Nt = nitrogênio total da amostra (sem centrifugar)

A caseína foi utilizada como padrão e também como controle. A digestibilidade da caseína foi corrigida para 100% e os produtos foram ajustados em relação à caseína, sendo os resultados expressos em porcentagem.

4.4 Análise estatística

A metodologia estatística foi caracterizada por um delineamento inteiramente casualizado com 4 repetições para as variáveis da composição centesimal do extrato de soja, soro de leite e da combinação de ES:SL utilizados na obtenção dos produtos. Para as variáveis da composição centesimal e digestibilidade protéica *in vitro* dos produtos similares ao tofu, utilizou-se também o modelo inteiramente casualizado (DIC), com 4 repetições, em experimento fatorial 3 X 2 sendo 3 diferentes proporções de ES e SL e 2 tipos de coagulantes. Para identificar as diferenças significativas utilizou-se o teste de Tukey com nível de significância de 5%. As análises de variâncias e o teste de médias foram realizados segundo técnicas usuais do *software* Sisvar (Ferreira, 2000).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Composição centesimal

5.1.1 Cultivar de soja

Na Tabela 1 apresentam-se os resultados médios da composição centesimal (%) da cultivar de soja BRSMG Garantia, utilizada na elaboração do extrato de soja para a obtenção do produto similar ao tofu, com adição de soro de queijo.

TABELA 1 Valor médio da composição centesimal (%) dos grãos da cultivar de soja BRS Garantia, safra 2005/2006.

Composição centesimal (%)	Umidade	Lipídeos	Proteína ¹	Fibra	Cinza	E.N.N. ²
Grão de soja cultivar convencional BRSMG Garantia	7,86	20,33	39,08	6,53	6,80	19,4

Dados expressos com base na matéria seca

¹Proteína=N x 6,25

²ENN = extrato não nitrogenado (obtido por diferença)

A composição química do cultivar de soja em estudo mostra-se de acordo com os padrões observados na literatura (Smith & Circle, 1978; Escueta et al., 1986, Yamada et al., 2003). Quanto à composição química de grãos de soja cultivadas no Brasil, conforme Castro et al. (1973), verificou-se que o conteúdo de proteína variou de 29% a 57,9% e o de lipídeos variou de 14,7% a 28,4%.

A variabilidade na composição química da soja é atribuída, além do genótipo, à influência das diferentes localizações de plantio, safras, variações de temperatura regional, latitude e altitude, causando alterações no rendimento e na qualidade do extrato de soja e tofu (Bhardwaj et al., 1999).

5.1.2 Composição centesimal do extrato de soja, do soro de leite proveniente do queijo mussarela, de misturas de extrato de soja e do soro de leite

Os resultados da composição centesimal do extrato de soja (ES), soro de leite (SL) proveniente do queijo mussarela e as misturas de extrato de soja e soro de leite encontram-se na Tabela 2.

TABELA 2 Valores médios da composição centesimal dos extratos de soja (ES), do soro de leite (SL) e das misturas nas proporções extratos de soja (ES):soro de leite (SL), 40:60, 30:70 e 20:80.

Amostras	Composição centesimal (%)				
	Umidade	Proteína	Lipídios	Cinzas	ENN ⁴
ES	92,55 ^c	4,20 ^{1a}	2,32 ^a	0,36 ^d	0,51 ^e
SL	93,37 ^a	0,89 ^{2e}	0,62 ^e	0,51 ^a	4,59 ^a
ES:SL 40:60	92,90 ^b	2,13 ^{3b}	1,32 ^b	0,41 ^c	3,22 ^d
ES:SL 30:70	93,23 ^a	1,76 ^{3c}	1,10 ^c	0,44 ^{bc}	3,46 ^c
ES:SL 20:80	93,22 ^a	1,47 ^{3d}	0,95 ^d	0,47 ^b	3,87 ^b
C.V. (%)	0,10	2,44	3,68	3,81	2,15

Dados expressos com base em matéria integral.

¹% Proteína = % N X 6,25

²% Proteína = % N X 6,38

³% Proteína = % N X fator médio entre 6,25 e 6,38

⁴ENN = extrato não-nitrogenado (obtido por diferença).

Médias nas colunas seguidas por letras iguais não diferem entre si a 0,05% de significância (Tukey).

O soro de leite e as misturas de ES:SL, com 30:70 e 20:80, apresentaram maior teor de umidade do que o extrato de soja e a mistura ES:SL 40:60. A

umidade do extrato de soja é bastante variável, conforme a proporção soja:água que é utilizada para a sua obtenção. Quanto maior a proporção de soja, menor é o teor de umidade. No extrato de soja em estudo, utilizou-se proporção soja:água de 1:7, reduzindo, conseqüentemente, a sua umidade. A proporção 40:60, com uma concentração maior de extrato de soja, teve, conseqüentemente, o seu teor de umidade menor do que as outras proporções.

Os valores médios de umidade do extrato de soja encontrados na literatura estão na ordem de 93,81% (Rosenthal et al., 2002); 93,70% a 93,79% (Ciabotti et al., 2006), obtidos com a proporção soja:água de 1:10.

O teor de umidade médio do soro de leite foi de 93,37%, e pode ser variável, de acordo com o tipo de queijo do qual é proveniente, de 93,5% a 95,0% (Wolfschoon & Furtado, 1977).

Os valores de proteína e lipídeos no extrato de soja (ES), soro de leite (SL) e nas três proporções ES:SL (40:60; 30:70 e 20:80) apresentaram o mesmo comportamento, sendo o ES com teor protéico e de lipídeos maior que o SL e, à medida que se diminui o ES, nas diferentes proporções, diminuiram também os teores de proteína e lipídeo.

Os teores de proteínas e lipídeos do extrato de soja foram bem mais elevados do que os encontrados na literatura, porém, a proporção soja:água utilizada neste trabalho foi de 1:7. Bourne et al. (1976) citaram diversas proporções utilizadas, as quais variavam entre 1:15 a 1:6, sendo a mais utilizada 1:10. Dependendo da proporção soja:água, o teor de proteína do leite de soja varia entre 2,4 e 4,2.

Rosenthal et al. (2002), trabalhando com extrato de soja, constataram teores de 2,86% de proteína, 1,53% de gordura, 0,27% de cinzas e 1,53% de carboidratos (calculados por diferença). Ciabotti et al. (2006) encontraram os valores de 3,56% de proteína, 1,62% de gordura, 0,30% de cinzas e 0,81% de carboidratos (calculados por diferença).

O soro doce proveniente de queijo contém, em média, 0,5%-0,6% de cinzas, 0,2%-0,4% de gordura e 0,9% de proteína (Bylund, 1975). Vale salientar que a composição do soro de queijo é variável, pois ela depende do tipo de queijo do qual é proveniente, da composição inicial do leite e da tecnologia empregada na fabricação do queijo (Silva, 2000). É importante ressaltar que o soro de queijo tem o teor baixo de gordura, pois esse elemento deve permanecer no queijo juntamente com a caseína (Amieva, 1974).

O extrato não-nitrogenado do SL apresentou-se bastante elevado, o que pode ser explicado pelo elevado teor de lactose presente no soro doce, estabelecido em torno de 4,9 (Jelen, 1979), embora não tenha sido determinado neste trabalho.

5.1.3 Composição centesimal dos produtos similares ao tofu

Os resultados da composição centesimal dos produtos similares ao tofu encontram-se nas Tabelas 3 e 4.

A umidade dos produtos não diferiu ($p>0,05$) nas diferentes proporções quando se utilizou o AL. A proporção 40:60 coagulada com GDL obteve uma média de 82,79% de umidade, maior do que as proporções 30:70 (82,31%) e 20:80 (82,05%), salientando que o teor de umidade mais elevado foi determinado na proporção com maior quantidade de ES. Observa-se que, entre os resultados apresentados entre os coagulantes nas diferentes proporções, o GDL foi o que mostrou maior retenção de umidade. Trabalhos de Prabhakaran et al. (2006) mostram que a umidade de tofu varia de acordo com o uso do coagulante.

A variação da umidade do tofu preparado com diferentes coagulantes deve-se, provavelmente, às diferenças das ligações químicas para a formação do gel, que é influenciada por diferentes ânions e suas frações iônicas em direção à capacidade de segurar a água no gel de proteína. Tem sido relatado que a

concentração de coagulante e o tipo de ânions podem afetar a consistência do tofu (Sun & Breene, 1991; Tay et al., 2005).

Prabhakaran et al. (2006) avaliaram diferentes coagulantes na obtenção do tofu e os resultados foram bem diferenciados quanto aos teores de umidade. A coagulação com ácido acético e cloreto de cálcio proporcionou menor teor de umidade, porém, não foram avaliados GDL e AL.

TABELA 3 Valores médios de umidade e de proteína dos produtos similares ao tofu à base de extrato de soja (ES) e soro de queijo (SL) obtidos por coagulação com ácido láctico (AL) e glucona- δ -lactona (GDL), em três diferentes proporções de AL e AG (40:60; 30:70; 20:80).

Produto (Proporções ES:SL)	Umidade ¹		Proteína ¹	
	AL ²	GDL ²	AL ²	GDL ²
40:60	79,67aB	82,79aA	10,79aA	8,71aB
30:70	79,75aB	82,31bA	10,00bA	8,40bB
20:80	78,89aB	82,05bA	9,19cA	8,08cB
CV	0,29		1,05	

Dados expressos com base em matéria integral.

¹% Proteína = % N X fator médio entre 6,25 e 6,38

¹Médias seguidas de letras minúsculas distintas nas colunas diferem pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

²Médias seguidas de letras maiúsculas distintas nas linhas diferem pelo teste de t (Student), a 5% de probabilidade.

Conforme diminuiu-se a concentração de ES, diminuíram os teores de proteína nos produtos com AL e GDL, e os produtos que apresentaram maiores quantidade de proteína foram os obtidos com AL. Todos os tratamentos apresentaram o teor protéico diferenciado, fato atribuído à grande quantidade de proteína do extrato de soja, tendo os produtos coagulados com GDL apresentados maior retenção de umidade, diminuindo, conseqüentemente, o teor protéico.

Benedet et al. (2002) avaliaram os teores de umidade e protéico de um análogo do queijo minas frescal, pela mistura de leite e diferentes quantidades de extrato hidrossolúvel de soja, coalho e cloreto de cálcio. O teor de umidade variou de 61,42% e 66,06% e o queijo tradicional, 65,06%. O conteúdo de proteína total variou de 15,45% a 19,80% nos queijos aos quais foi incorporado o extrato hidrossolúvel de soja, enquanto o tradicional apresentou teor de 16,54%. Os queijos que tiveram soja incorporada à sua fabricação, na maioria, apresentaram maior conteúdo de proteína que o queijo tradicional, significando portanto, retenção das proteínas da soja na estrutura do coágulo.

Jackson et al. (2002) avaliaram tofus coagulados com GDL, observando valores de 87,5% de umidade e 5,03% de proteína. Os teores de umidade e proteína verificados por Ciabotti et al. (2006), que avaliaram tofus obtidos com soja convencional e convencional livre de lipoxigenase coagulados com GDL, foram de 82,82% e 83,49%, e 9,19% e 9,54%, respectivamente.

Nos valores de cinzas, gorduras e ENN, a interação proporção e coagulante não foi significativa, ocorrendo diferença ($p < 0,05$) entre as proporções e coagulantes isoladamente. Houve aumento do teor de cinzas conforme se aumentaram as proporções de SL, o que pode ser explicado pela alta concentração de cinzas no soro (Tabela 2). A média entre os produtos coagulados com AL teve seu conteúdo maior do que os coagulados com GDL. As cinzas encontradas em tofus, citadas na literatura, são da ordem de 0,76% a 0,82% (Ciabotti et al., 2006) e 0,6% (Fukushima, 1980). Esses valores confirmam que a adição de soro de leite ao produto elevou os valores de cinzas.

Os teores de gordura e ENN nas diferentes proporções comportaram-se de maneira inversa; diminuindo o ES, observa-se a diminuição do teor de gordura com conseqüente aumento do ENN. Isso pode ser explicado pelo alto teor de gordura do ES e o alto teor de lactose no SL. Com relação aos coagulantes, o AL proporcionou maior concentração de gordura do que o GDL,

enquanto o GDL ditou a maior concentração de ENN. A proporção soja:água de 1:7 pode ter influenciado numa maior concentração de lipídeos no produto.

TABELA 4 Valores de cinzas, de gordura e de extrato não nitrogenado (ENN) dos produtos à base de extrato de soja (ES) e de soro de queijo (SL) obtidos por coagulação com ácido láctico (AL) e glucona- δ -lactona (GDL), em três diferentes proporções (40:60, 30:70 e 20:80).

Produto	Cinzas	Gordura	ENN ¹
40:60	0,94b	7,23a	0,82c
30:70	1,01ab	6,98b	1,60b
20:80	1,08a	6,67c	2,73a
Coagulante	Cinzas	Gordura	ENN
AL	0,91b	7,60a	1,57b
GDL	1,11a	6,33b	1,88a

¹ENN = extrato não nitrogenado (obtido por diferença).

Médias seguidas de letras distintas nas colunas diferem, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade

Fukushima (1980), analisando tofus, relatou os resultados de porcentagens de lipídeos com média de 3,5% e umidade de 88%.

5.2 Análises de isoflavonas, umidade e rendimento

De acordo com os resultados apresentados na Tabela 5, constata-se que porcentagens de isoflavonas nos produtos similares ao tofu com adição de soro de leite apresentaram variações, quando comparadas às do tofu, obtido com o mesmo extrato de soja e com o coagulante GDL.

TABELA 5 Valores médios (mg/100g) das isoflavonas do tofu e produtos similares ao tofu com adição de soro de leite, obtidos por coagulação com ácido láctico e glucona- δ -lactona.

Isoflavonas	Tofu	Conteúdo de isoflavonas (mg/100g)						
		Ácido láctico			glucona- δ -lactona			
		40:60 ES:SL	30:70 ES:SL	20:80 ES:SL	40:60 ES:SL	30:70 ES:SL	20:80 ES:SL	
β -glicosídeos	Daidzina	7,18	6,69	6,52	3,90	7,75	6,35	4,58
	Glicitina	7,10	3,76	3,64	1,95	4,03	3,26	2,35
	Genistina	20,62	16,6	13,73	9,78	19,17	15,01	11,58
	Subtotal	34,90	27,05	23,89	15,63	30,95	24,62	18,51
β -glicosídeos	Daidzina	15,09	10,74	8,24	6,16	12,63	9,85	7,69
	Glicitina	6,63	2,64	2,07	1,36	3,23	2,33	1,76
	Genistina	32,13	21,7	16,79	13,41	26,43	20,86	17,26
	Subtotal	53,85	35,08	27,10	20,93	42,29	33,04	26,71
Agliconas	Daidzeína	5,53	6,05	5,54	4,21	6,71	5,64	4,89
	Gliciteína	5,33	1,48	4,51	1,28	1,65	1,41	1,33
	Genisteína	8,15	9,98	9,01	7,18	10,4	9,04	8,01
	Subtotal	19,01	17,51	19,06	12,67	18,76	16,09	14,23
	Total de isoflavona	107,76	79,64	70,05	49,23	92,00	73,75	59,45
	% total	100	74	65	46	85	68	55

Observa-se que, conforme diminuiu-se a proporção de extrato de soja no produto, diminuíram também as quantidades de isoflavonas totais. Resultados semelhantes foram encontrados por Tebaldi (2005), que adicionou 50%, 40% e 30% de extrato solúvel de soja ao soro de leite, para a elaboração de bebida láctea.

As formas malonil-glicosídicas foram predominantes em todos os produtos, apresentando sua desestabilização pelo processamento. Essa distribuição dos isômeros e o teor de isoflavonas totais em produtos de soja são variáveis, conforme as condições de processamento (Genovese & Lajolo, 2001; Góes-Favone et al., 2004; Ciabotti et al., 2006).

Os valores de umidade e de rendimento dos produtos similares ao tofu, nas diferentes proporções e diferentes coagulantes, são apresentados na Tabela 6.

TABELA 6 Valores médios de umidade e rendimento dos produtos similares ao tofu, com adição de soro de leite, obtidos por coagulação com ácido láctico e glucona- δ -lactona.

Produto (Proporções ES:SL)	Umidade ¹ (%)		Rendimento ¹ (g/3,5 L)	
	AL ²	GDL ²	AL ²	GDL ²
40:60	79,67aB	82,79aA	570,74aB	692,08aA
30:70	79,75aB	82,31bA	478,95bB	606,16bA
20:80	78,89aB	82,05bA	392,44cB	477,95cA
CV (%)	0,29		2,42	

¹Médias seguidas de letras minúsculas distintas nas colunas diferem, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

²Médias seguidas de letras maiúsculas distintas nas linhas diferem, pelo teste de t (Student), a 5% de probabilidade.

Os produtos obtidos pela coagulação com ácido láctico (AL) tiveram seus valores totais de isoflavonas menores do que os coagulados com glucona- δ -lactona (GDL), além de mais baixa umidade e menor rendimento.

Wang & Murphy (1996) encontraram melhores resultados de isoflavonas totais em tofus produzidos com o coagulante glucona- δ -lactona do que os obtidos com carbonato de cálcio.

Prabhakaran et al. (2006) avaliaram diferentes coagulantes e proporções nos níveis de isoflavonas em tofu. Verificou-se que a umidade, o rendimento e a quantidade e o tipo de coagulante influenciaram os resultados de maneira significativa, o que pode ser observado também nos resultados deste trabalho, com exceção da quantidade de coagulante, que não foi testada.

A Figura 2 ilustra o total de isoflavonas nos produtos similares ao tofu, que apresentaram decréscimo proporcional, conforme diminuiu-se o extrato de soja.

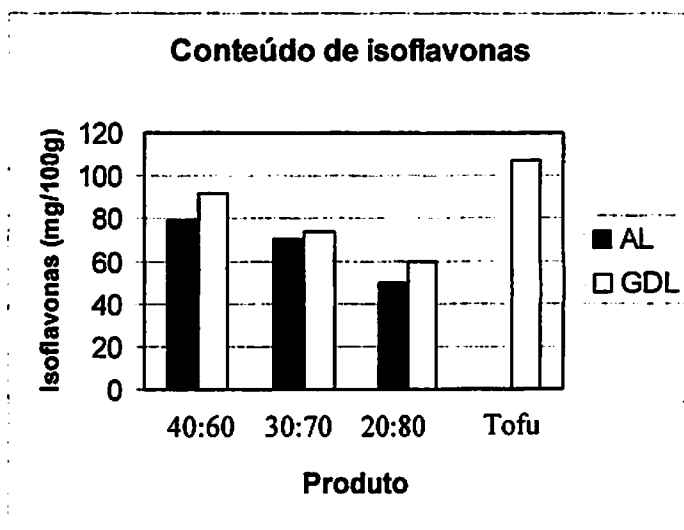


FIGURA 2 Valores de isoflavonas totais nos produtos similares ao tofu com adição de soro nas proporções ES:SL 40:60, 30:70, 20:80 obtidos com os coagulantes ácido lático (AL) e glucona-δ-lactona (GDL).

O uso do GDL proporcionou maior umidade nos produtos nas três diferentes proporções extrato de soja:soro de leite (ES:SL), maior rendimento e maior quantidade de isoflavonas, quando comparados aos coagulados com AL. Pode ter ocorrido que o uso do AL tenha proporcionado um aumento da sinerese da coalhada, decorrida de mais ligações químicas com as proteínas, tornando a matriz protéica mais densa e compacta. Conseqüentemente, ocorreu a diminuição da umidade, do rendimento e perdas de isoflavonas no soro (Sun & Breene, 1991).

Jackson et al. (2002) encontraram 18% de isoflavonas no soro extraído de tofu ao avaliar o efeito do processamento, da distribuição, da retenção e da transformação das isoflavonas. Prabhakaran et al. (2006) determinaram de 7% a 9% de isoflavonas no soro, ao testarem diferentes coagulantes e diferentes proporções dos mesmos.

Os valores totais de isoflavonas de 79,64 e 70,05 mg/100g dos produtos coagulados com AL, nas proporções ES:SL 40:60 e 30:70, respectivamente, e os obtidos com GDL, nas mesmas proporções, apresentaram valores de 92,00 e 73,75 mg/100g, os quais não se encontram abaixo de outros produtos derivados de soja. Góes-Favoni et al. (2004), ao determinarem isoflavonas em produtos comerciais de soja estabelecidos em cinco tipos de farinhas de soja, encontraram valores entre 65 a 168 mg/100g de isoflavonas totais; em quatro tipos de proteínas texturizadas de soja (PTS), obtiveram valores entre 68 a 112 mg/100g e, em quatro formulados infantis, valores de 6 a 92 mg/100g.

5.3 Perfil de aminoácidos e escores químicos de tofu, ricota e dos produtos similares a tofu

A composição em aminoácidos essenciais e não essenciais do produto similar ao tofu com adição de soro de leite, tofu e ricota, e os padrões FAO/WHO (1973 e 1990), encontram-se na Tabela 7.

Como se pode observar, os padrões de referência da FAO/WHO de 1973, com os padrões de 1990, foram alterados em alguns aminoácidos. A lisina, os aromáticos (Phe + Tyr), a treonina e o triptofano tiveram seus valores aumentados, ao passo que isoleucina, leucina, treonina e os sulfurados (met + cys) tiveram suas referências diminuídas.

TABELA 7 Análise do perfil de aminoácidos (aminograma) de tofu, ricota e similar ao tofu, obtido com diferentes proporções de extrato de soja (ES) e soro de leite (SL) e a proteína referência (FAO/WHO 1973 e 1990).

Amino-ácidos	Padrão FAO/WHO (mg aminoácidos/g proteína)		Produtos (mg aminoácidos/g proteína)				
	2-5 anos		Tofu	Ricota	Similar ao tofu, com adição de soro de leite		
	1973	1990			40:60 ES:SL	30:70 ES:SL	20:80 ES:SL
Essenciais							
Valina	50	35	51,75	57,81	52,31	52,95	53,76
Isoleucina	40	28	54,61	56,63	50,58	51,18	52,95
Leucina	70	66	83,06	112,68	87,18	90,16	95,15
Lisina	55	58	62,64	90,53	58,07	62,07	66,34
Metionina	-	-	13,37	24,30	15,33	15,96	16,23
Cisteína	-	-	12,60	23,91	15,33	15,96	16,64
Sulfurados (Met + cys)	35	25	25,97	48,21	30,66	31,92	32,87
Fenilalanina	-	-	58,81	39,58	54,22	53,36	52,34
Tirosina	40	-	39,34	34,68	40,05	38,00	37,94
Aromáticos (Phe + Tyr)	60	63	98,15	74,26	94,27	91,36	90,28
Treonina	40	34	44,68	56,44	46,56	47,83	49,91
Triptofano	10	11	15,85	22,93	13,80	16,93	17,65
Histidina	-	19	24,25	20,97	24,33	25,20	24,55
Não-essenciais							
Arginina	-	-	71,80	29,59	67,64	65,55	60,05
Alanina	-	-	45,45	51,73	45,41	46,85	47,09
Ácido aspártico	-	-	115,6	105,62	116,50	116,54	115,84
Ácido glutâmico	-	-	153,3	147,17	164,42	159,93	152,36
Glicina	-	-	44,30	22,14	39,47	38,39	36,52
Prolina	-	-	57,28	53,89	55,95	58,66	50,92
Serina	-	-	55,18	49,58	55,57	54,13	53,76

Considerando os perfis de aminoácidos das proteínas em estudo, essas excederam os níveis mínimos de aminoácidos essenciais de referência dos padrões FAO/WHO (1990). Foi utilizado como parâmetro o tofu, produto derivado de soja, que é uma leguminosa até então considerada deficiente em aminoácidos sulfurados, e a ricota, que é um produto de origem animal obtido pela coagulação das proteínas do soro de leite, considerado boa fonte de aminoácidos essenciais. As misturas do extrato de soja e soro de leite na obtenção dos produtos similares ao tofu tiveram aumentado não somente os aminoácidos sulfurados, conforme aumentou-se a proporção soro de leite, como também outros aminoácidos, com exceção dos aromáticos (fenilalanina e tirosina), ficando ainda com valores bem superiores aos padrões de referência.

Os valores obtidos do escore químico (Tabela 8), permitiram determinar os aminoácidos limitantes em cada fonte de proteína. Uma proteína que apresenta escore químico maior que 100%, para todos os aminoácidos, é considerada de alto valor nutricional, e o aminoácido que apresentar escore químico menor que 100% é chamado de limitante.

Comparando os resultados do tofu com os padrões de referência de 1973, pode-se afirmar que os aminoácidos limitantes na soja eram os sulfurados; desse modo, as proteínas da soja não se enquadravam como proteínas de alto valor biológico. Os padrões de 1990 diminuíram o nível mínimo dos aminoácidos sulfurados de 35 para 25 mg aminoácidos/g proteína, ficando assim o escore químico do tofu com o valor de 103%, ou seja, superior a 100%, não sendo considerado limitante.

Os escores químicos dos produtos similares ao tofu aumentaram à medida que aumentou a concentração de soro de leite, não apresentando aminoácidos limitantes.

TABELA 8 Escore químico das proteínas de tofu, de ricota e de similar ao tofu, obtido com diferentes proporções de extrato de soja (ES) e soro de leite (SL), tendo como referência a proteína-padrão FAO/WHO (1990).

Aminoácidos essenciais	Padrão FAO/WHO (1990) (mg aminoácidos /g proteína)	Escore químico de aminoácido (%)				
		Tofu	Ricota	Similar ao tofu com adição de soro de leite		
				40:60 ES:SL	30:70 ES:SL	20:80 ES:SL
Valina	35	148	165	149	151	154
Isoleucina	28	195	202	181	182	189
Leucina	66	126	171	131	136	144
Lisina	58	108	156	101	107	114
Met + cys	25	103	192	122	127	131
Phe + Tyr	63	156	179	150	145	143
Treonina	34	131	166	137	141	147
Triptofano	11	144	209	125	154	160
Histidina	19	128	110	128	133	129

Vieira et al. (1999) determinaram a composição aminoacídica das proteínas de seis cultivares de soja e verificaram resultados de aminoácidos sulfurados bem superiores aos padrões da FAO/WHO (1990), que variaram de 32 a 38 mg aminoácidos/g de proteína. Se esses valores de aminoácidos presentes nessas cultivares fossem divididos pelos padrões da FAO (1990), para verificar o escore químico, não haveria também aminoácidos limitantes.

O mesmo pode ser considerado com relação aos valores encontrados por Barcelos (1998). Esse pesquisador obteve 30,8 mg de metionina + cistina/g de proteína em grãos de soja crus na maturação de colheita de 85 dias após a floração e, nos mesmos grãos enlatados, 30,5 mg aminoácidos/g de proteína. Nos resultados de Pires et al. (2006), a soja melhorada geneticamente para a retirada do inibidor de tripsina de Kunitz e das lipoxigenases obteve 21,41 mg de metionina + cistina/g de proteína, valores superiores aos da soja convencional

(18,65) e da proteína texturizada de soja (18,73). Esses resultados são bem inferiores ao citado anteriormente.

Vale salientar que mesmo que as proteínas de origem vegetal mostrem seu valor protéico elevado, têm que ser considerado fatores gerais de limitação na sua digestibilidade, o que será discutido posteriormente.

5.4 Digestibilidade protéica *in vitro*

Os valores de digestibilidade das proteínas *in vitro* dos produtos similares ao tofu, da caseína que foi utilizada como controle e, como parâmetro, os produtos que contêm somente extrato de soja, que são o tofu e a ricota, que contêm soro de leite, encontram-se na Tabela 9.

TABELA 9 Valores médios de digestibilidade protéica *in vitro* (%) dos produtos similares ao tofu obtido com diferentes proporções de extrato de soja (ES) e soro de leite (SL), caseína (controle), tofu e ricota.

Produto (Proporções ES:SL)	Digestibilidade protéica <i>in vitro</i> (%) ¹	
	Coagulantes	
	AL ²	GDL ²
40:60	74,09 cA	71,35 cB
30:70	75,29 bA	73,80 bB
20:80	79,26 aA	76,53 aB
CV	0,86	
Caseína (controle)	100,00	
Tofu	68,96	
Ricota	90,80	

¹Médias seguidas de letras minúsculas distintas nas colunas diferem, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

²Médias seguidas de letras maiúsculas distintas nas linhas diferem, pelo Teste de t (Student), a 5% de probabilidade.

Os resultados da digestibilidade das proteínas dos produtos apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) entre os coagulantes, e nas proporções ES:SL ($p < 0,05$). A proporção 40:60 (ES:SL) obtida por coagulação com GDL foi a que proporcionou menor digestibilidade, com 71,35%, seguida da proporção 30:70 (ES:SL), com 73,80% GDL. A proporção 20:80 (ES:SL) proporcionou maior digestibilidade, com 79,26%, com AL e 76,53%, com GDL. Conforme diminuiu-se a concentração de ES, aumentou-se a digestibilidade protéica. Foi utilizada como controle a caseína e seu valor considerado 100%. Foi determinada a digestibilidade de tofu com 68,96% e de ricota com 90,80%. A adição de soro de leite aumentou a digestibilidade protéica do produto.

Neste trabalho, observou-se uma digestibilidade baixa dos produtos similares ao tofu, embora esteja presente o soro de leite, que é um produto de origem animal. Possivelmente, esses resultados implicam que a quantidade de calor a que foi submetido o extrato de soja ($98^{\circ}\text{C}/5\text{min}$) pode ter interferido na digestibilidade das proteínas. Para a produção de tofu, o excesso de calor é prejudicial ao processo de coagulação, desvalorizando o produto final, fato que explica a não-utilização de temperaturas mais elevadas.

Outro fator que pode explicar a baixa digestibilidade é a proporção soja:água (1:7) do extrato de soja. Wang et al. (1997) obtiveram valores de digestibilidade elevados em extratos de soja fervidos por 10, 15 e 20 minutos, na proporção soja:água de 1:8, quando atingiu um valor máximo de 84,60%. Na proporção 1:12, a digestibilidade continuou a aumentar com 20 minutos de fervura, alcançando 93,17%. O extrato de soja autoclavado por 15 minutos na proporção soja:água 1:8 atingiu 91,27% de digestibilidade, enquanto a proporção 1:12 atingiu 97,05%. Esse fato confirma a interferência do calor e da proporção soja:água nos resultados deste trabalho.

Nielsen (1991) discutiu a limitação da digestibilidade das proteínas de leguminosas, especialmente a do *Phaseolus vulgaris*, enumerando as causas tais

como a estrutura compacta intrínseca de algumas proteínas, a complexação com amido, hemicelulose, outras fibras, minerais e outras proteínas e substâncias polifenólicas que se complexam às proteínas e que perderão capacidade de hidrólise. Liener (1994) cita, além dos polifenóis, substâncias antinutricionais termoestáveis, como os fitatos, que podem interferir na digestibilidade da proteína.

O valor encontrado da digestibilidade de ricota foi de 90,80%. As proteínas remanescentes no soro de leite apresentam alta digestibilidade (Sgarbieri, 1996). Pesquisas apontam resultados de digestibilidade com proteínas do soro de leite, que são rapidamente absorvidas para a circulação sanguínea, por conter peptídeos de pequeno tamanho, di e tripeptídeos; por isso, são absorvidos numa velocidade maior, tanto em relação às proteínas como aos aminoácidos livres (Grimble & Grimble, 1998).

Verruma et al. (1993) avaliaram a digestibilidade protéica de queijo mussarela de 91,70%, iogurte de 91,50% e, em outro trabalho, Verruma & Salgado (1993) avaliaram leite de vaca integral e tipo C e obtiveram 90,0% de digestibilidade.

6 CONCLUSÕES

Os produtos obtidos com AL apresentaram maiores teores de proteína e gordura e os obtidos com GDL maiores teores de cinzas e extrato não-nitrogenado.

O uso do coagulante GDL nos produtos proporcionou maior teor de umidade, rendimento e reteve mais isoflavonas nas proporções com maiores quantidades de extrato de soja, alcançando valores semelhantes a outros produtos derivados de soja.

O perfil de aminoácidos sulfurados tidos como limitantes na soja tiveram seus teores aumentados, conforme aumentou-se a proporção de soro de leite, não existindo aminoácidos limitantes nos produtos.

Os produtos obtidos com AL apresentaram melhor digestibilidade das proteínas que foi melhorada consideravelmente, à medida que se aumentou a combinação de soro de leite.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMIEVA, M. R. O aproveitamento do soro de queijaria. **Revista do Instituto de Laticínios “CândidoTostes”**, Juiz de Fora, p. 5-11, jan./fev. 1974.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analytical of the Association of Official Analytical Chemists.** 15thed. Washington, 1990. v. 2.

BARCELOS, M. F. P. **Ensaio tecnologico, bioquímico e sensorial de soja e guandu enlatados no estágio verde e maturação de colheita.** 1998. 160 p. Tese (Doutorado em Ciência da Nutrição) - Faculdade de Engenharia de Alimentos. Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP.

BARNES, S. Effect of genistein on in vitro and in vivo models of câncer. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 125, p. 777-783, 1995. Supplement, 3.

BENEDET, H. D.; CHARLAU, S. X.; TEIXEIRA, E. Desenvolvimento e caracterização de um análogo do queijo Minas Frescal pela mistura de leite e extrato hidrossolúvel de soja. **Alimentos e Nutrição**, São Paulo, v. 13, p. 11-22, 2002.

BERHOW, M. A. Modern analytical techniques for flavonoid determination. In: BUSLIG, B. S.; MANTHEY, J. A. (Ed.). **Flavonoids in the living cell.** New York: Kluwer Academic, 2002. p. 61-76.

BHARDWAJ, H. L.; BHAGSARI, A. S.; JOSHI, J. M. RANGAPPA, M.; SAPRA, V. T.; RAO, M. S. S. Yield and quality of soymilk and tofu made from soybean genotypes grown at four locations. **Crop Science**, Madison, v. 39, n. 2, p. 401-405, Mar./Apr. 1999.

BOURNE, E. G.; CLEMENTE, M. G.; BANZON, J. Survey of suitability of thiry cultivars of soybean for manufacture. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 41, n. 5, p. 1204-1208, Sept./Oct. 1976.

BYLUND, G. Tratamento e utilização do soro. **Revista do Instituto de Laticínios “CândidoTostes”** Juiz de Fora, v. 30, n. 179, p. 29-43, 1975.

CARRÃO-PANIZZI, M.C.; FAVONI, S.P.G.; KIKUCHI, A. Extraction time for isoflavone determination. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 45, n. 4, p. 515-518, Dec. 2002.

CASTRO, A. T. B.; MILLAN, A.; LAGO, R. C. A. **Contribuição ao estudo da soja no Brasil**. Rio de Janeiro: Centro de Tecnologia Agrícola e Alimentar/Ministério da Agricultura, 1973. 28 p. (Boletim Técnico, 10).

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

ESCUETA, E. E.; BOURNE, M. C. HOOD, L. F. Effect os boiling treatment of soymilk on the composição, yield, textura and sensory properties of tofu. **Canadian Institute of Science and Technology**, Ottawa, v. 19, n. 2, p. 53-56, 1986.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION. World Health Organization. **Protein quality evaluation**. (Report of a joint FAO/WHO Expert Consulation). Roma, 1990. (Report of a joint FAO/WHO Expert Consulation).

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION. Organización Mundial de la Salut. **Necesidades de energia y de proteínas**. Roma, 1973. 138 p. (Informe de un Comité Mixto FAO/OMS de Expertos, 522).

FERREIRA, D. F. Análise estatística por meio do SISVAR para Windows versão 4. 0. In: REUNIAO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos. **Anais...** São Carlos, SP: UFSCar, 2000. p. 255-258.

FUKUSHIMA, D. Deterioratie changes of proteins during soybean food processing and their use in foods. In: _____. **Chemical deterioration of proteins**. Washington: American Chemical Society, 1980. Cap. 10, p. 211-239.

GENOVESE, M. I.; LAJOLO, F.M. Determinação de isoflavonas em derivados de soja. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 21, n. 1, p. 86-93, jan./abr. 2001.

GÓES-FAVONI, S. P.; BELÉIA, A. D. P.; CARRÃO-PANIZZI, M. C.; MANDARINO, J. M. G. Isoflavonas em produtos comerciais de soja. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 24, n. 4, p. 582-586, out./dez. 2004.

GRIMBLE R.F.; GRIMBLE G.K. Immunonutrition: role of sulfur amino acids, related amino acids, and polyamines. **Nutrition**, v. 7-8, n. 14, p. 605-610, 1998.

JACKSON, C.; DINI, J. P.; RUPASINGHE, H. P. V.; FAULKNER, H.; POYSA, V.; BUZZELL, D.; DEGRANDIS, S. Effects of processing on the content and composition of isoflavones during manufacturing of soy beverage and tofu. **Process Biochemistry**, Oxford, v. 37, n.10, p. 1117-1123, May 2002.

JELEN, P. Industrial whey processing technology: an overview. **Journal Agricultural Food Chemistry**, v. 27, n. 4, p. 658-661, 1979.

KATZ, F. Research priorities more toward healthy and safe. **Food Technology**, v. 54, n. 12, p. 42-44, 2000.

KENNEDY, A. R. The evidence for soybean products as cancer preventive agents. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 125, p. 733-743, 1995. Supplement, 4.

LIENER, I. E. Implications of antinutritional components in soybean foods. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v. 34, n. 1, p. 31-67, Jan. 1994.

LUCAS, B.; SOTELO, A. Effect of different alkalies, temperatures and hydrolises times on tryptophan determination of pure proteins and foods. **Anal. Biochemistry**, v. 109, n. 1, p.192-197, 1980.

MURON, J. The analysis of food proteins: amino acid composition and nutritive value. In: PORTER, J. W. G.; ROLLS, B. A. (Ed.). **Proteins in human nutrition**. London: Academic, 1973. p.139-154.

NIELSEN, S. S. Digestibility of legume proteins. **Food Technology**, Chicago, v. 45, n. 9, p. 112-114, Sept. 1991.

PELLET, P. L.; YOUNG, V. R. **Nutritional evaluation of protein food**. Tokyo: The United University, 1980. 153 p.

PEREIRA, D. B. C.; SILVA, P. H. F.; COSTA JUNIOR, L. C. G.; OLIVEIRA, L. L. **Físico-químico do leite e derivados: métodos analíticos**. 2.ed. Juiz de Fora: Templo, 2001. 234 p.

PETERSON, G. Evaluation of the biochemical targets of genistein in tumor cells. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 125, p. 784-789, 1995. Supplement, 3.

PIRES, C. V.; OLIVEIRA, M. G. A.; ROSA, J. C.; COSTA, N. M. B. Qualidade nutricional e escore químico de aminoácidos de diferentes fontes protéicas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, n. 26, v. 1, p. 179-187, jan./mar. 2006.

PORTO, L. M. **Estudo e determinação das melhores condições operacionais do processo de produção da ricota**. 2001, 96 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG.

PRABHAKARAN, M. P. PERERA, C. O.; VALIYAVEETIL, S. Effect of different coagulants on the isoflavone levels and physical properties of prepared firm tofu. **Food Chemistry**, n. 99, p. 492-499, 2006.

ROSENTHAL, A.; DELIZA, R.; CABRAL, L. M. C.; CABRAL, L. C.; FARIAS, C. A. A.; DOMINGUES, A. M. Effect of enzymatic treatment and filtration on sensory characteristics and physical stability of soymilk. **Food Control**, Oxford, v. 14, n. 3, p. 187-192, Apr. 2002.

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

SILVA, M. R. **Efeito de uma bebida láctea fermentada e fortificada com ferro no estado nutricional de ferro em pré escolares**. 2000. 75 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

SMITH, A. K.; CIRCLE, S. J. **Soybeans: chemistry and technology**. Westport, Connecticut: The Avi, 1978. v. 1, p. 470.

SPACKMAN, D. H.; STEIN, W. H.; MOORE, S. Automatic recording apparatus for use in the chromatography of amino acids. **Analytical Chemistry**, Easton, v. 30, n.7, p. 1190-1206, 1958.

SUN, N.; BREENE, W. M. Calcium sulphate concentration influence on yield and quality of tofu from five soybeans varieties. **Journal of Food Science**, v. 56, n. 6, p. 1604-1607, 1991.

TAY, S. L.; TAN, H. Y.; PERERA, C. O. The coagulation effects of cations and anions on soy protein. **International Journal of Food Properties**, 2005. (In press).

TEBALDI, V. M. R. **Elaboração de bebida láctica de soro de ricota e extrato hidrossolúvel de soja.** 2005. 79 p. Dissertação (Mestrado em Ciência os Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

VAN DE KAMER, J. H.; VAN GINKEL, L. Rapid determination of crude fiber in cereals. **Cereal Chemistry**, Saint Paul, v. 29, n. 4, p. 239-251, July 1952.

VERRUMA, M. R.; OLIVEIRA, A. J.; SALGADO, J. M. Avaliação química e nutricional do queijo mozzarella e iogurte de leite de búfala. **Science Agricultural**, Piracicaba, v. 50, n. 3, p. 438-443, out./dez. 1993.

VERRUMA, M. R.; SALGADO, J. M. Avaliação nutricional do leite de búfala em comparação ao leite de vaca. **Science Agricultural**, Piracicaba, v. 50, n. 3, p. 444-450, out./dez. 1993.

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

WANG, S. H. BIET, K. R. A. BARROS, L. M.; SOUZA, N. L. Efeito da proporção soja:água e aquecimento sobre rendimento e qualidade proteica do leite de soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v. 32, n. 10, out., 1997.

WANG, H. J.; MURPHY, P. A. Mass balance study of isoflavonas during soybean processing. **Journal Agricultural Food Chemistry**, Washington, v. 44, n. 2, p. 2377-2388, Aug. 1996.

WOLFSCHOON, A. F.; FURTADO, M. M. Composição média dos soros de queijo prato e Minas. **Revista do Instituto de Laticínios "Cândido Tostes"**. Juiz de Fora, p. 21-23, nov./dez. 1977.

YAMADA, L. T. P.; BARCELOS, M. F. P.; SOUZA, R. V.; LIMA, A. L. Composição química e conteúdo de ferro solúvel em soja [*Glycine Max* (L.) Merrill]. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 27, n. 2, p. 406-413, mar./abr. 2003.

CAPÍTULO 4

ESTABILIDADE MICROBIOLÓGICA E SENSORIAL NO ARMAZENAMENTO DE PRODUTO SIMILAR AO TOFU, COM BASE NA COMBINAÇÃO DE EXTRATO DE SOJA E SORO DE LEITE, COAGULADO COM ÁCIDO LÁTICO

1 RESUMO

CIABOTTI, Sueli. Estabilidade microbiológica e sensorial no armazenamento de produto similar ao tofu, com base na combinação de extrato de soja e soro de leite, coagulado com ácido láctico. In: _____. **Desenvolvimento de um produto similar ao tofu com base na combinação do extrato de soja e soro de leite.** 2007. Cap. 4, p.124-155. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG*.

Do ponto de vista de vida de prateleira, a qualidade dos alimentos é definida por parâmetros fisiológicos, valores nutricionais e atributos sensoriais, como cor, sabor, odor e textura, por características gerais de aparência e pelas condições microbiológicas. A diminuição da qualidade e a redução de vida de prateleira podem ser consequência do efeito de uma ou mais dessas propriedades. Objetivou-se, com a realização deste trabalho, verificar o tempo de vida de prateleira dos produtos novos similares ao tofu, elaborados com adição de soro de leite ao extrato de soja e coagulados com ácido láctico, quanto aos seus aspectos microbiológicos e sensoriais. Foram utilizadas três diferentes proporções extrato de soja (ES):soro de leite (SL), 40:60, 30:70 e 20:80, as quais sofreram ações dos coagulantes glucona- δ -lactona (GDL) ou ácido láctico (AL). Na avaliação microbiológica da vida de prateleira dos produtos obtidos com ácido láctico, no tempo 12 dias de estocagem sob temperatura em torno de 5°C, ocorreu crescimento de psicrotóxicos superiores de 3,5 Log₁₀ UFC/mL, indicando o término da vida de prateleira dos produtos elaborados com as proporções ES:SL 40:60 e 30:70. A proporção 20:80 apresentou maior tempo de vida de prateleira. Na avaliação da diferença (teste de diferença duo-trio) da amostra padrão (0 dia) e dos produtos armazenados nos tempos 3, 6 e 9 dias, o produto com a maior proporção de soro de leite foi o que apresentou, somente no tempo 9 dias, diferença significativa detectada pelos provadores com relação ao produto com tempo 0 dia. Também foi esse o de maior aceitação quanto aos aspectos aparência, sabor, textura e impressão global, com médias entre gostei muito e gostei moderadamente. O tempo de estocagem dos produtos favoreceu a melhoria de sabor e do aspecto global dos produtos. A adição do soro de leite ao produto similar ao tofu proporcionou maior tempo de vida de prateleira e melhorou a aceitabilidade pelos consumidores.

* Comitê Orientador: Maria de Fátima Pícolo Barcelos – UFLA (orientadora), Luiz Ronaldo de Abreu – UFLA, Maria das Graças Cardoso – UFLA, Roberta Hilsdorf Piccoli – UFLA.

2 ABSTRACT

CIABOTTI, Sueli. Microbiological and sensorial stability in the storage of products analogous to tofu with addition of milk whey to the soybean extract coagulated with lactic acid. In: _____. **Development of a product similar to tofu based on the combination of milk whey on the soymilk**. 2007. Cap. 4, p. 124-155. Thesis (Doctorate in Food Science) - Federal University of Lavras, Lavras, MG*.

From the standpoint of shelf life, the quality of foods is defined by physiological parameters, nutritional values and sensorial attributes such as color, flavor and texture, by general characteristics of appearance and by the microbiological conditions. The decrease of quality and the reduction of shelf life can be a consequence of the effect of one or more of these properties. It was intended in this work to verify the time of useful life of the new products analogous to tofu manufactured with the addition of milk whey to soybean extract and coagulated with lactic acid, as to their microbiologic and sensorial aspects. Three different proportions soybean extract (ES):milk whey (SL) 40:60; 30:70; 20:80, which underwent actions of the coagulants glucono- δ -lactone (GDL) or lactic acid (AL) singly. In the microbiological evaluation of shelf life of the products obtained with lactic acid, in the time 12 days of storage under temperature around 5°C, a marked growth of psychrotrophics occurred, indicating the end of shelf life of the products made with the proportions ES:SL 40:60 and 30:70 and the proportion 20:80 presented longer time of useful life. In the evaluation of the difference (duo-trio difference test) of the standard sample (0 day) and of the products stored in the times 3, 6 and 9 days, the product with the greatest proportion of milk whey was the one which presented only in the time 9 days, a significant difference detected by the tasters relative to the time 0 day and was also the one of greatest acceptance as to the aspects appearance, flavor, texture and overall impression with means between I liked very much and I liked moderately. The storage time of the products supported the improvement of flavor and overall aspect of the products. The addition of milk whey to the product analogous to tofu provided longer time of shelf life and improved the acceptability by consumers.

* Guidance Committee: Maria de Fátima Piccolo Barcelos – UFLA (adviser), Luiz Ronaldo de Abreu – UFLA, Marias das Graças Cardoso – UFLA, Roberta Hilsdorf Piccoli – UFLA.

3 INTRODUÇÃO

Os consumidores têm aumentado suas expectativas quanto a novidades em produtos alimentícios, principalmente quando se trata de alimentos que contêm substâncias que, além de nutrir, vão propiciar benefícios à saúde. Os produtos derivados de soja são destaque nesse contexto, tornando-se alvo de pesquisas na mistura com outros alimentos.

Trabalhos têm sido conduzidos para avaliar a mistura de extrato de soja e soro de queijo como alternativa de enriquecimento das proteínas da soja, visando, paralelamente, ao aproveitamento desse resíduo das indústrias de laticínios, o qual, quando descartado de forma incorreta, polui o meio ambiente.

A mistura de extrato de soja e soro de leite proveniente do queijo mussarela coagulado com ácido láctico, para a obtenção de um similar ao tofu, pode ser considerada um novo produto. E, no desenvolvimento de novos produtos alimentícios, a determinação da vida de prateleira é fundamental, sendo definida como o tempo decorrido entre a produção e o armazenamento, até que se torne inaceitável ao consumo (Ellis, 1997).

Do ponto de vista de vida de prateleira, a qualidade dos alimentos é definida por parâmetros fisiológicos, valores nutricionais e atributos sensoriais, como cor, sabor, odor e textura, por características gerais de aparência e pelas características microbiológicas. A diminuição da qualidade e a redução de vida de prateleira podem ser consequência do efeito de uma ou mais dessas propriedades (Pfeiffer et al., 1999).

Poucos trabalhos são encontrados sobre vida de prateleira de produtos de soja, especificamente o tofu, cujo teor de umidade é, normalmente, elevado, o que pode resultar, muitas vezes, na obtenção de produtos com reduzida vida de prateleira. O monitoramento e o controle dos parâmetros de processamento, por

meio de análises microbiológicas e sensoriais, podem determinar o final da vida de prateleira, ou seja, quando o produto não está mais seguro para o consumo ou não é aceito pelo consumidor.

Neste trabalho, o objetivo geral foi verificar o tempo de vida de prateleira dos produtos similares ao tofu, elaborados com adição de soro de leite ao extrato de soja e coagulados com ácido láctico. Os objetivos específicos foram:

- Avaliar a vida de prateleira microbiológica do produto similar ao tofu, durante o período de estocagem;
- verificar a existência de diferença do produto durante o armazenamento com a amostra padrão (0 dia), quanto ao aspecto global;
- comparar a aceitação do produto no primeiro dia de estocagem e no último, quanto às características de aparência, cor, sabor, textura e impressão global;
- avaliar a aceitabilidade dos três produtos similares ao tofu obtidos com ácido láctico.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Obtenção do produto similar ao tofu com base na combinação de extrato de soja e soro de leite

O fluxograma dos procedimentos gerais do trabalho encontra-se na Figura 1.

A primeira etapa para a obtenção do produto similar ao tofu, com adição de soro de leite proveniente de queijo mussarela, consistiu na elaboração do extrato de soja, com a metodologia adaptada de Escueta et al. (1986).

O extrato de soja e o soro proveniente de queijo mussarela foram misturados nas seguintes proporções de extrato de soja (ES) e soro de queijo (SL): 40:60, 30:70 e 20:80.

As misturas foram aquecidas até atingirem a temperatura de 80-85°C, adicionando-se, para cada litro do material, o coagulante ácido láctico (85%-88%, PA, Cromato Produtos Químicos Ltda., São Paulo), sendo 1 mL/L da mistura ES:SL diluído em 10 mL de água, para a formação da coalhada.

Após 10-15 minutos da adição do coagulante, foi adicionado 0,6% (do volume da mistura) de sal iodado, homogeneizando-se lentamente. O precipitado foi coletado e acondicionado em formas de polietileno com dessorador. Aproximadamente, 20 minutos após esse procedimento, as formas foram refrigeradas à temperatura de 8-10°C, por 20 horas. Posteriormente, os produtos foram embalados à vácuo, em sacos de polietileno de média densidade e armazenados para os testes microbiológicos por até 20 dias. Para a análise sensorial, os produtos foram armazenados por até 9 dias.

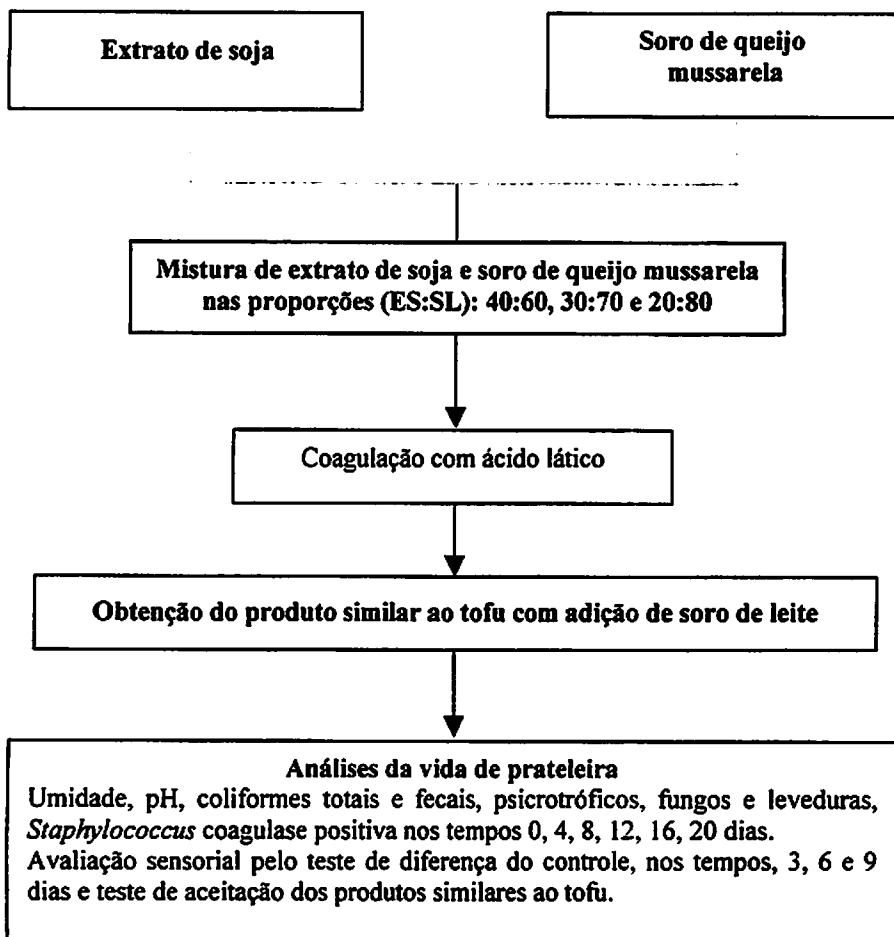


FIGURA 1 Fluxograma geral da produção e das análises de vida de prateleira.

4.2 Análises da umidade e do pH do produto

A umidade foi determinada pelo método gravimétrico, com emprego de calor, em que se determinou a perda de peso do material quando submetido ao aquecimento (105°C), até a obtenção de peso constante, segundo AOAC (1990).

O pH foi determinado utilizando-se o método eletroanalítico (potenciométrico), segundo a metodologia de Pereira et al. (2001).

4.3 Análises microbiológicas durante a vida de prateleira

Os produtos foram embalados em sacos plásticos de polietileno de média densidade e estocados sob refrigeração, à temperatura entre 5° e 8°C, durante 20 dias e submetidos às análises microbiológicas, nos tempos 0, 4, 8, 12, 16 e 20 dias de estocagem.

Foram homogeneizados 25 g de amostra em 225 mL de água e citrato, e realizadas as diluições decimais de 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} , para proceder às análises microbiológicas.

Foram realizadas contagens totais de bactérias psicrotróficas, utilizando ágar padrão para contagem (PCA), contagem total de fungos e leveduras pelo plaqueamento em ágar batata dextrose (BDA), determinação do número mais provável (NMP) de coliformes totais e termotolerantes, utilizando séries de tubos de lauryl sulfato triptose (LST), seguidas de repicagem em caldo bile verde brilhante *Escherichia coli* (EC), respectivamente; contagem de unidade formadora de colônia (UFC) de estafilococos coagulase positiva por plaqueamento em meio ágar Baird-Park (BP), segundo Silva et al. (1997).

Para estabelecer as condições higiênico-sanitárias de fabricação dos produtos, os resultados foram comparados aos padrões microbiológicos para alimentos, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2001), estabelecidos na Resolução RDC nº 12.

4.4 Análise sensorial

A avaliação sensorial da vida de prateleira dos produtos foi realizada por meio do teste de Diferença Duo-Trio, que consiste na apresentação aos provadores de duas amostras e um padrão (controle), sendo uma das amostras igual ao padrão, para determinar se há diferença global perceptível entre duas

amostras. A avaliação foi realizada por 30 provadores familiarizados com o teste e com o produto (Meilgaard et al., 1991).

A avaliação dos produtos ocorreu em cabines individuais, iluminadas com luz branca. As amostras foram avaliadas à temperatura de 23°C, em cubos de 1,5 cm, cortados uniformemente. As amostras foram oferecidas em recipientes descartáveis de cor branca, dotados de suportes codificados com três dígitos numéricos.

Na vida de prateleira, analisou-se a existência de diferença do produto nos tempos 3, 6 e 9 dias de armazenamento, comparando com a amostra padrão (0 dia), separadamente para cada produto, em relação ao aspecto global. O tempo 9 dias de avaliação sensorial foi determinado pelo resultado das análises microbiológicas.

A análise ou a interpretação dos resultados baseou-se no número de acertos (números de respostas corretas) e, para tanto, consultou-se a tabela de “número mínimo de respostas corretas para estabelecer diferença significativa entre as amostras em vários níveis de significância”, conforme O’Mahony (1986).

Os produtos foram avaliados quanto à aceitação (Meilgaard et al., 1991) por meio de dois testes distintos. O primeiro teste de aceitação ocorreu nos tempos: 1 dia de fabricação e 9 dias de armazenamento, para verificar se a diferença detectada por meio do teste duo-trio depreciou o produto no final do período de estocagem e se a aceitação no tempo 0 seria alterada. Essas avaliações da aceitação foram realizadas com os mesmos 30 provadores nos tempo 1 dia e 9 dias de armazenamento, entre estudantes e funcionários do Departamento de Ciência dos Alimentos da UFLA, em Lavras, MG, os quais estavam familiarizados com o teste e eram consumidores de produtos à base de soja. Os produtos foram apresentados aos provadores individualmente.

O segundo teste foi realizado com estudantes e funcionários do Centro Federal de Educação Tecnológica de Uberaba, MG, com 50 provadores consumidores de tofu. O teste foi realizado, apresentando ao provador, simultaneamente, três amostras, para que avaliasse a aceitação quanto aos aspectos de aparência, sabor, textura e cor. Os produtos avaliados estavam armazenados no tempo 9 de estocagem.

Ambos os testes de aceitação ocorreram em cabines individuais, iluminadas com luz branca. As amostras foram avaliadas à temperatura de 23°C, em cubos de 1,5 cm cortados uniformemente. As amostras foram oferecidas em recipientes descartáveis de cor branca, dotados de suportes codificados com três dígitos numéricos.

As amostras foram avaliadas por meio de escala hedônica estruturada mista de 9 pontos, entre 1 (desgostei extremamente) e 9 (gostei extremamente), para avaliar aparência, cor, sabor, textura e impressão global dos produtos similares ao tofu (Meilgaard et al., 1991).

4.5 Análise estatística

Foi utilizado o delineamento experimental inteiramente casualizado (DIC) com 3 repetições, para as análises microbiológicas. Os efeitos de tratamentos foram comparados pelo teste F e, quando houve significância, foi utilizado o teste Tukey, para avaliar umidade e a análise de regressão para o teste de média do pH durante a vida de prateleira (Ferreira, 2000). Os valores de $\log_{10}(\text{UFC/ml})$ de aeróbios psicotróficos foram avaliados por meio de uma análise exploratória, envolvendo cálculo das médias e esboço do box plot utilizando-se o software estatístico R[®] versão 2.5.0 (R, 2007).

Para a avaliação estatística dos resultados da análise sensorial, foram realizados análise de variância (ANOVA) e teste de médias Tukey ($p < 0,05$), utilizando-se o *software* Sisvar (Ferreira, 2000).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Teor de umidade

Na Tabela 1 são apresentados os teores de umidade dos produtos similares ao tofu obtidos pela adição de soro de leite (SL) ao extrato de soja (ES). O produto obtido da proporção ES:SL 40:60 foi o que apresentou maior porcentagem de umidade, diferindo ($p < 0,05$) dos produtos 30:70 e 20:80.

TABELA 1 Valores médios de umidade dos produtos similares ao tofu à base de extrato de soja (ES) e soro de queijo (SL), obtidos por coagulação com ácido láctico (AL), em três diferentes proporções (40:60, 30:70 e 20:80).

(Proporções ES:SL)	Umidade ¹
40:60	80,8a
30:70	79,4b
20:80	78,6b
CV	0,65

Dados expressos com base em matéria integral.

¹Médias seguidas de letras minúsculas distintas nas colunas diferem, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

O teor de umidade maior ocorreu no produto com maior proporção de soja e, à medida que se diminuiu a proporção ES, ocorreu menor retenção de umidade. Isso, provavelmente, foi devido à maior capacidade das proteínas da soja, com os diferentes ânions, de formar ligações químicas com a água, no processo de coagulação. O teor de umidade é um fator a ser considerado no tempo de estocagem do tofu e será discutido neste trabalho.

A umidade é um dos fatores intrínsecos que controla a capacidade de sobrevivência ou a multiplicação dos microrganismos em alimentos (Franco 1996). Quanto maior o teor de umidade, menor a vida de prateleira.

Wang (1984) classificou o tofu *soft* com umidade aproximada de 85% e Hormel Foods (2007) publicou tabela com tempo de estocagem de tofu *soft* com 4 a 5 dias, quando submetido à temperatura de refrigeração. Neste trabalho, teores de umidade estão abaixo da umidade do tofu *soft*.

5.2 Análises de pH do produto similar ao tofu

A variação do pH dos produtos similares ao tofu, com adição de soro de leite nas proporções extrato de soja:soro de leite de 40:60, 30:70 e 20:80, e coagulados com ácido láctico nos diferentes tempos de armazenamento, é apresentada na Figura 2.

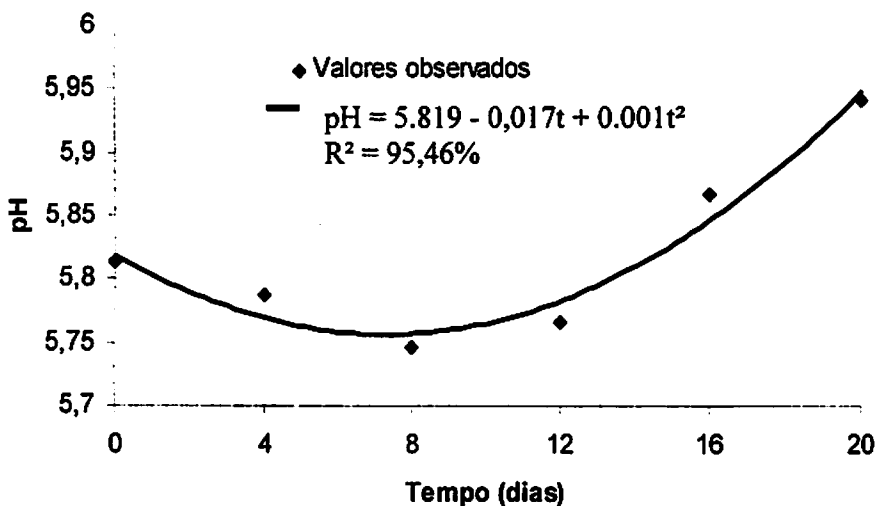


FIGURA 2 Modelo de regressão para os tempos de armazenamento e alterações do pH dos produtos similares ao tofu, com adição de soro de leite.

Os valores de pH encontrados, durante o armazenamento, não diferiram ($p > 0,05$) entre os produtos similares ao tofu, porém, apresentaram diferença ($p < 0,05$) na interação entre eles nos tempos (0, 4, 8, 12, 16 e 20 dias) de análise. Os valores médios observados de pH inicial foi de 5,82 e, no tempo de armazenamento de 8 dias, atingiu o pH mais baixo (5,76). Ocorreu, a partir desse tempo, um aumento gradativo, atingindo o valor máximo de 5,95. Essa faixa de pH dos produtos classifica o alimento como de baixa acidez, se enquadrando-se entre 7,0-5,5 (Forsythe, 2005). Franco (1996) classifica como baixa acidez pH maior que 4,5. Dessa forma, os alimentos nesta faixa são os mais sujeitos à multiplicação microbiana, tanto de espécies patogênicas quanto de espécies deteriorantes.

Mullin et al. (2001) observaram médias de pH de tofus de 5,60; porém, eles foram coagulados com glucona- δ -lactona. Kim & Han (2002) encontraram valor de pH da ordem de 5,7.

Os valores de pH encontrados por Pinto et al. (2000), em ricotas comerciais (produto obtido com soro proveniente da fabricação de queijo e comumente coagulado com ácido láctico), foi na faixa de 4,8-5,68. Esses valores são inferiores aos encontrados nos produtos similares ao tofu coagulado com ácido láctico.

5.3 Análises microbiológicas

5.3.1 Coliformes totais e termotolerantes

Os resultados do NMP/g de coliformes totais e termotolerantes nos extratos de soja (ES) e soro de queijo proveniente do queijo mussarela (SL) e produtos similares ao tofu com adição de soro de leite encontram-se na Tabela 2.

Na contagem de coliformes totais e termotolerantes do extrato de soja e dos produtos, foram encontrados valores <0,3 NMP/g, nas três repetições. No soro de queijo proveniente da fabricação de queijo mussarela, que foi adicionado ao extrato de soja para a elaboração do produto, a contagem do NMP/g foi acima de 240 coliformes e termotolerantes em uma das repetições.

TABELA 2 Resultados do NMP/g de coliformes totais e termotolerantes nos extratos de soja (ES) e soro de queijo proveniente do queijo mussarela (SL) e produtos similares ao tofu, com adição de soro de leite.

Matéria- prima e produtos	Coliformes totais (NMP/g)	Coliformes termotolerantes (NMP/g)
Extrato de soja	<3	<3
Soro de leite	386	240
40:60*	<3	<3
30:70*	<3	<3
20:80*	<3	<3

*Produtos elaborados com base na combinação de ES e SL.

O soro de leite tem curta vida útil, devido ao elevado valor nutritivo, às condições de umidade e ao pH, que são favoráveis ao crescimento microbiano, além da contaminação por coliformes, tornando fator preocupante no seu aproveitamento. A presença de coliformes totais e termotolerantes em alimentos processados indica contaminação por falta de controle sanitário na matéria-prima, no processamento ou no armazenamento.

O soro proveniente da fabricação de queijos é considerado um subproduto, cujo aproveitamento pode requer uma série de etapas, tornando-o mais vulnerável à contaminação. Teixeira et al. (2006), analisando o perfil microbiológico dos soros de queijos minas padrão e mussarela produzidos em

Minas Gerais, constataram ser esses soros impróprios para a utilização tecnológica, caso não sofram tratamento térmico tradicional. Em outro estudo sobre caracterização microbiológica de soro de queijo (prato, minas frescal, minas padrão e mussarela), o de queijo mussarela foi o que apresentou maiores contagens de coliformes totais e termotolerantes (Siqueira et al., 2002).

A elevação da temperatura do soro na obtenção do produto similar ao tofu favoreceu os valores encontrados $<0,3$ NMP/g, nas três amostras, em todos os períodos de estocagem, apresentando-se dentro dos padrões microbiológicos estabelecidos pela ANVISA (2001) para tofu e similares. Isso pode ser atribuído às condições de manipulação, que ocorreu com os devidos cuidados higiênico-sanitários.

A comercialização de tofu, produto obtido apenas de extrato de soja, normalmente é oriunda de processamento artesanal. Gonzales et al. (1997) analisaram 20 amostras de tofu de três diferentes marcas, comercializadas em casas de produtos naturais na cidade do Rio de Janeiro, detectando em apenas uma das amostras contaminação acima dos padrões estabelecidos.

A ricota, produto obtido do soro proveniente de vários tipos de queijo, é comumente obtida de processamento industrial. Ribeiro et al. (2005) avaliaram a produção artesanal pela presença de coliformes totais e termotolerantes em ricota cremosa durante a vida de prateleira, encontrando valores $<0,3$ NMP/g em todos os períodos de estocagem, apresentando-se dentro dos padrões estabelecidos. Em outro trabalho, Silveira et al. (2000) analisaram cinco diferentes marcas de ricota comercializada em Lavras, MG e constataram que apenas uma estava dentro dos padrões estabelecidos pela legislação.

5.3.2 Estafilococos coagulase positivo

Não foi detectada no extrato de soja, no soro de leite e nos produtos similares ao tofu a presença de estafilococos coagulase positivo, podendo-se

considerar que esse produto foi obtido em boas condições higiênico-sanitárias. A contaminação, quando é resultante de fonte da matéria-prima, pode, com o processamento, ser destruída; quando presente no produto, a contaminação pode ocorrer por meio do manipulador ou pelo ambiente (Speeck, 1984).

5.3.3 Aeróbios psicrotróficos

A determinação de aeróbios psicrotróficos, embora não seja exigência estabelecida pela ANVISA (2001), foi determinada neste trabalho porque essa contagem avalia o grau de deterioração de alimentos mantidos sob refrigeração ou daqueles submetidos a tratamento térmico.

Os resultados médios de Log_{10} UFC/mL de aeróbios psicrotróficos com a combinação produto e tempo (dias), dos três produtos similares ao tofu com adição de soro de leite ao extrato de soja e coagulados com ácido lático, durante 20 dias de armazenamento, encontram-se na Figura 3. Os produtos foram identificados de acordo com a proporção extrato de soja:soro de leite (ES:SL): 1 (40:60), 2 (30:70) e 3 (20:80).

Como se pode observar, foi detectada a presença de microrganismos psicrotróficos a partir do 12º dia de armazenamento, com valores médios aproximados de 4 Log_{10} UFC/mL. O produto 1, obtido na proporção ES:SL (40:60), apresentou maior número de microrganismos a partir do 16º dia e, no 20º dia, ocorreu acentuado declínio.

Sorhaug & Stepanik (1997) citam que o desenvolvimento de *off flavor* e problemas de textura em queijos ocorreram em razão de enzimas proteolíticas secretadas por bactérias psicrotróficas, quando a contagem dessas bactérias na matéria-prima alcançou 6,3-8,7 Log_{10} UFC/mL, valores esses superiores ao encontrado neste trabalho. Porém, outros autores relatam a atividade dessa enzima na presença de baixas densidades populacionais de bactérias psicrotróficas (Wiking et al., 2002)

Pode-se observar, no produto 2 (proporção ES:SL 30:70), que o pico máximo de crescimento foi no 20º dia e o produto 3 (proporção ES:SL 20:80) apresentou, em apenas uma das repetições, contagem de psicrotróficos. A partir do 20º dia, ocorreu crescimento acentuado.

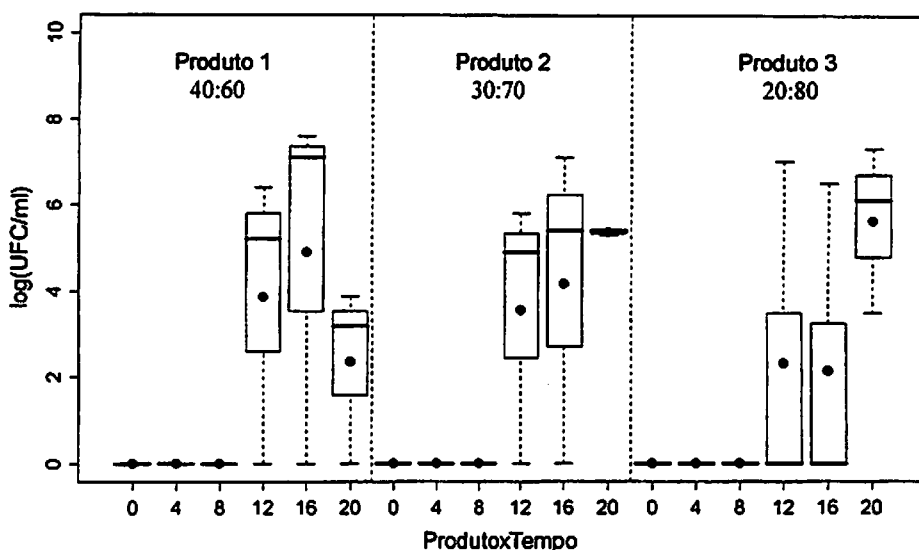


FIGURA 3 Box plot para os valores de Log_{10} UFC/mL de aeróbios psicrotróficos dos produtos similares ao tofu com adição de soro de leite, durante 20 dias de armazenamento, de acordo com a combinação produto e tempo (dias). A média é representada pelo símbolo “•”.

Considerando que os menores pontos médios nos tempos 12 dias e 16 dias, o produto 3, com proporção menor de extrato de soja, apresentou maior tempo de vida de prateleira do que os produtos 1 e 2. Embora a umidade do produto 3 seja considerada elevada, um dos fatores que pode ter influenciado

esse resultado foi o menor teor de umidade, quando comparado aos produtos 1 e 2. A umidade está relacionada ao valor do índice de atividade água (A_w), embora não tenha sido determinada neste trabalho, a qual corresponde à água livre utilizada pelos microorganismos. Os deteriorantes necessitam de uma A_w maior. Outros fatores podem ter influenciado os resultados de psicrotróficos, porém, não foram identificados.

Há diversos tipos de microorganismos psicrotróficos, os quais têm em comum a habilidade de se desenvolver sob temperaturas baixas (5°C). Bactérias psicrotróficas de importância em saúde pública estão envolvidas em casos de doenças veiculadas por toxinfecção alimentar ocasionada pelo consumo de leite e derivados (Cousin, 1982).

As pesquisas de contagem de aeróbios psicrotróficos são comuns em leite e derivados e produtos cárneos, porém, essa não é uma exigência de análise pela legislação vigente (ANVISA, 2001).

Embora microorganismos psicrotróficos sejam sensíveis ao calor, produzem enzimas (proteínases e lipases) que são estáveis a altas temperaturas e resistem a temperaturas de pasteurização e não são ativas a temperaturas acima de $50\text{-}60^{\circ}\text{C}$ (Sorhaug & Stepaniak, 1997).

É interessante observar que as ricotas comerciais, obtidas de soro de leite e que, em geral, passam por um processo de prensagem, apresentam baixo teor de umidade, ou seja, em torno de $70\%\text{-}73\%$ (Furtado & Lourenço Neto, 1994) e apresentam um pH em torno de 5,0 (Porto, 2001) apresenta-se nos mercados com tempo médio de 30 dias. Por sua vez, o tofu *soft*, obtido do extrato de soja, é um produto com umidade em torno de 85% (Wang, 1984) e valor médio de pH 5,6 (Ciabotti, 2004) com validade entre 3 a 5 dias (Hormel Foods, 2007; Kim et al., 2007), e os produtos em estudo neste trabalho, obtidos com ácido láctico, apresentaram vida de prateleira superiores.

5.3.4 Fungos e leveduras

Na determinação de fungos e leveduras, predominou nos produtos obtidos com ácido láctico o aparecimento de leveduras, em razão do acondicionamento à vácuo, pois, fungos filamentosos são aeróbios (Jay, 2005). O produto com a proporção ES:SL 30:70, no 16º dia de armazenamento, iniciou o crescimento e os produtos ES:SL 40:60 e 20:80, a partir do 20º dia.

Embora essa análise não tenha sido determinante da vida de prateleira dos produtos, na Figura 4 está ilustrada a predominância de leveduras nos produtos. A coloração rosa foi caracterizada nos produtos com proporção ES:SL 40:60 no 20º dia de armazenamento (a). Observam-se as leveduras de coloração rosa e branca predominantes no produto com proporção (ES:SL 30:70) no 16º dia (b) e, as leveduras de cor branca predominam no produto com menor concentração de extrato de soja (c).

As espécies de leveduras dos produtos nas diferentes concentrações, ilustradas na Figura 4, não foram identificadas neste trabalho; porém, trata-se de leveduras distintas, as quais necessitam ser investigadas no processo de deterioração e fermentação de produtos.

Baixas contagens de fungos e leveduras são normais em alimentos frescos e congelados, não sendo, portanto, significativas. Somente quando o crescimento for visível ou apresentar números elevados de leveduras, o consumidor será capaz de reconhecer a deterioração (Landgraf, 1996).

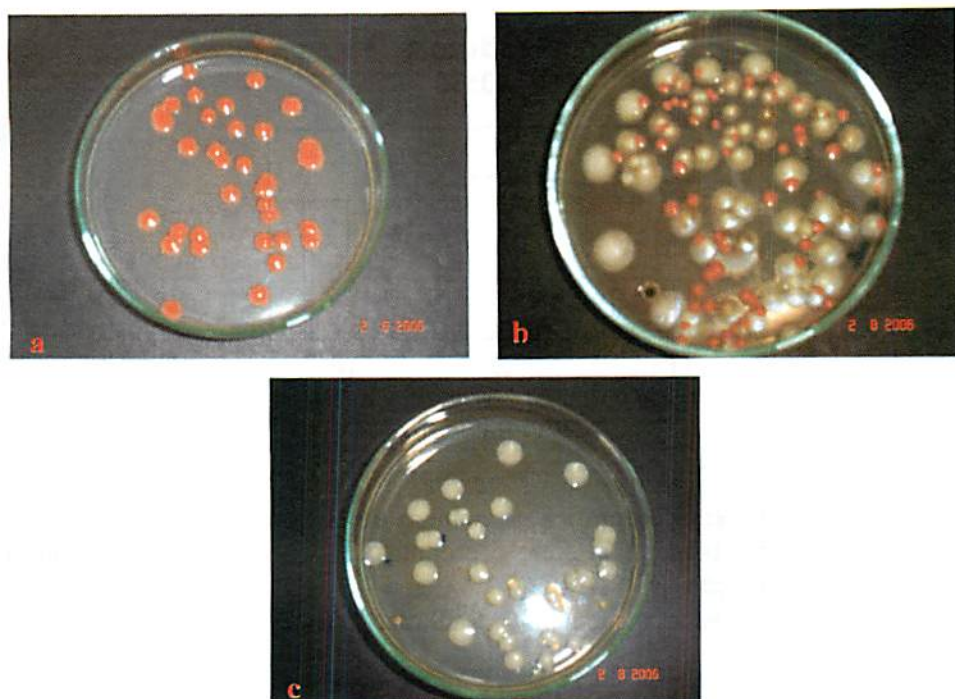


FIGURA 4 Leveduras predominantes nos produtos com combinações ES:SL 40:60 no 20º dia de armazenamento (a), 30:70 no 16º dia de armazenamento (b) e 20:80 no 20º dia de armazenamento (c).

5.4 Análise sensorial

5.4.1 Teste de diferença duo-trio

Pelo teste de diferença duo-trio (Meilgaard et al., 1991), pôde-se verificar se as amostras dos produtos similares ao tofu armazenadas nos tempos 3, 6 e 9 dias diferiram significativamente da amostra controle (tempo 0).

De acordo com a tabela de testes de comparação duo-trio, para um total de 30 respostas, são necessárias, no mínimo, 20 respostas corretas ($p < 0,05$) para estabelecer diferença significativa entre as amostras. Na Figura 5, encontram-se os resultados do produto 1 (proporção ES:SL 40:60).

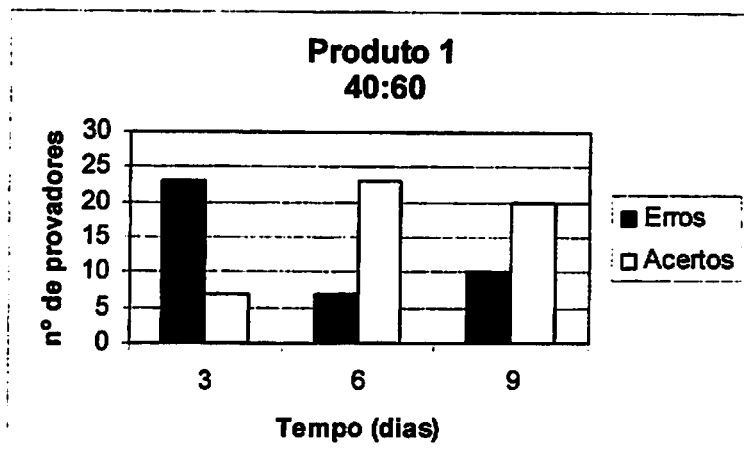


FIGURA 5 Representação gráfica do número de erros e acertos da diferença global perceptível entre o produto análogo ao tofu obtido com a proporção ES:SL 40:60 no tempo 0 dia (amostra controle) e armazenado nos tempos 3, 6 e 9 dias.

Pode-se observar que no tempo 3 dias do produto 1, os provadores não detectaram diferença significativa entre as amostras, tendo obtido apenas 7 respostas corretas. Ou seja, pode-se afirmar que o produto manteve suas características sensoriais no 0 dia de fabricação. No tempo 6 dias de armazenamento do produto, observou-se a ocorrência de diferença ($p < 0,01$), com 23 acertos, bem como no tempo 9 dias ($p < 0,05$), com 20 acertos, podendo ter ocorrido maior interação entre as proteínas e o coagulante, os quais podem ter mudado o aspecto global do produto, além da interação que pode ter ocorrido entre os metabólitos secundários presentes naturalmente na soja e nos produtos propagados em seu processamento, podendo ter alterado o sabor característico da soja, atributo de qualidade que interfere na característica global do alimento.

No gráfico da Figura 6 estão representados os resultados do produto 2 (proporção ES:SL 30:70). Observa-se que houve o mesmo comportamento dos provadores com relação ao Produto 1, pois o número de acertos e erros foi o

mesmo não tendo sido detectada diferença significativa ($p>0,05$), no tempo 3 dias.

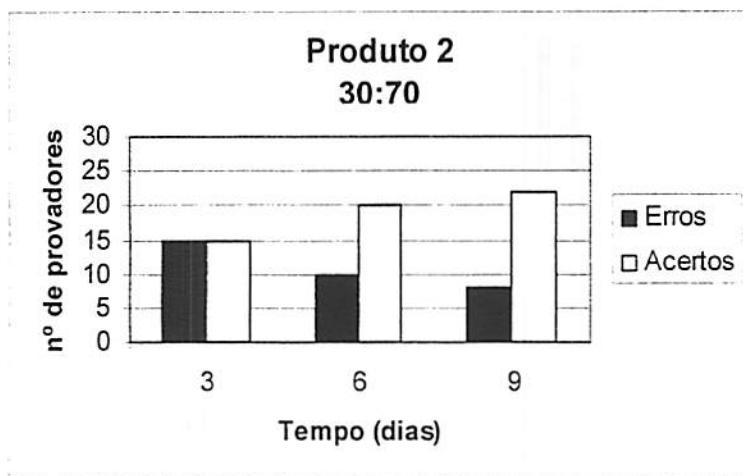


FIGURA 6 Representação gráfica do número de erros e acertos da diferença global perceptível entre o produto similar ao tofu, obtido com a proporção ES:SL 30:70 o no tempo 0 dia (amostra controle) e armazenado nos tempos 3, 6 e 9 dias.

No tempo 6 dias, ocorreu diferença significativa ($p<0,05$), com 20 respostas corretas e, no tempo 9 dias, com 22 acertos ($p<0,01$). O número de acertos foi aumentando a significância, conforme aumentaram-se os dias de estocagem do produto, evidenciando mais intensificação nas alterações do produto com maior tempo de estocagem. Pode-se considerar que a proporção extrato de soja no Produto 2 ainda foi alta o suficiente para se detectar diferença na característica global.

A detecção da diferença global da amostra controle (0 dia) e nos dias de armazenamento do Produto 3 está representada na Figura 7.

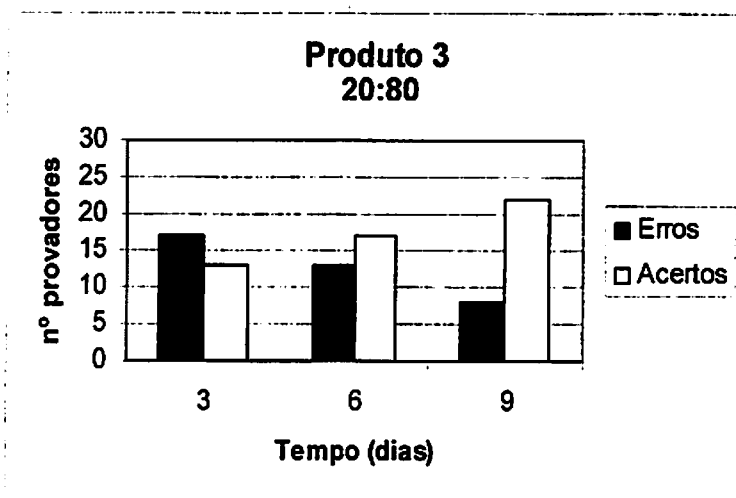


FIGURA 7 Representação gráfica do número de erros e acertos da diferença global perceptível entre o produto similar ao tofu obtido com a proporção ES:SL 20:80 no tempo 0 dia (amostra-controle) e armazenado nos tempos 3, 6 e 9 dias.

O número de respostas corretas não foi significativo nos tempos 3 e 6 dias, com 13 e 19 acertos, respectivamente. Pode-se, então, estabelecer que esse produto manteve-se mais estável quanto às suas características sensoriais, o que pode ser atribuído à presença da menor proporção de ES no produto. No tempo 9 dias de armazenamento, o número de acertos foi de 22 ($p < 0,01$), quando, então, começou a ser perceptível a diferença durante a vida útil do produto. Esses resultados podem ser atribuídos à presença de maior porção de soro de leite.

5.4.2 Teste de aceitação dos produtos nos tempos 0 e 9 dias de armazenamento

Foram avaliadas as características de aparência, cor, sabor, textura e aspecto global dos produtos similares ao tofu, nos tempos 0 e 9 dias de

armazenamento. O objetivo foi verificar se ocorreu depreciação ou melhora sensorial desses produtos, em razão da diferença detectada pelos provadores por meio do teste duo-trio ($p < 0,05$).

Pelos resultados encontrados, observa-se não houve diferença entre os tratamentos e o tempo de armazenamento nas características de aparência, cor e textura ($p > 0,05$). Para os atributos sensoriais de sabor e aspecto global, os tratamentos diferenciaram-se somente no tempo ($p < 0,05$), e estão representados na Tabela 3, que apresenta os valores médios das notas dos provadores atribuídas às características sensoriais de sabor e aspecto global.

TABELA 3 – Valores médios dos escores* de aceitação de sabor e aspecto global dos produtos similares ao tofu, com adição de extrato de soja ao soro de leite, avaliados nos tempos 0 e 9 dias de armazenamento.

Produto (ES:SL)	*Escore de 1 a 9			
	Tempo (dia)		Tempo (dia)	
	Sabor		Aspecto global	
	0	9	0	9
1 (40:60)	5,9b	6,8a	6,3b	7,1a
2 (30:70)	6,4b	7,6a	6,8b	7,7a
3 (20:80)	6,3b	7,5a	6,8b	7,6a
C.V. (%)	23,22		20,30	

*Escore: 1=desgostei muitíssimo, 2=desgostei muito, 3=desgostei moderadamente, 4=desgostei ligeiramente, 5=Indiferente, 6=gostei ligeiramente, 7= gostei moderadamente, 8= gostei muito, 9= gostei muitíssimo.

Médias nas linhas seguidas por letras iguais não diferem entre si, a 0,05 de significância (Tukey).

Observou-se um aumento na aceitabilidade dos produtos no final do período de estocagem (9 dias), quando comparados aos produtos frescos sem estocagem. Com exceção do produto 1 no atributo de sabor, todos os resultados

passaram de valores entre gostei ligeiramente a gostei moderadamente, para valores entre gostei moderadamente a gostei muito.

Os provadores comentaram que, no tempo 0, o sabor estava mais adstringente (produto 1), apresentava falta de sal (produto 2) e sabor “aguado” (produto 1). No tempo 9 dias, os produtos estavam bem diferenciados e os comentários feitos anteriormente não se repetiram. Essa melhora na aceitação pode ser proveniente de uma maior interação entre proteínas, coagulante, água livre e outros compostos químicos, provenientes da soja.

Pouco se conhece sobre o mecanismo perceptível da adstringência em produtos de soja. Polifenóis são compostos encontrados no extrato de soja, os quais têm mostrado grande afinidade por ligações com proteínas com elevada concentração de prolina, especialmente quando elas entram em contato com a saliva (Chien & Snyder, 1983). Courregelongue et al., (1999) determinaram o efeito da doçura, viscosidade e oleosidade na percepção temporal da adstringência em extrato de soja, por repetidas ingestões e, após a quarta repetição de ingestão, aumentou-se a detecção da adstringência, devido ao maior contato da saliva com os compostos polifenólicos presente na soja.

5.4.3 Avaliação da aceitabilidade dos produtos com consumidores de tofu

Os valores médios (scores) obtidos pelo teste de aceitabilidade realizado por consumidores de tofu, com relação às características de aparência, sabor, textura e impressão global dos produtos similares ao tofu estão representados na Tabela 4.

A aceitação dos atributos de aparência, textura e aspecto global apresentaram-se de formas semelhantes nos três produtos, ou seja, os de melhores aceitação foram os produtos 2 e 3, obtidos das proporções ES:SL 30:70 e 20:80, ou seja, os que contêm menores proporções de soja.

TABELA 4 Valores médios dos escores* de aceitação dos produtos similares ao tofu, com adição de soro de leite ao extrato de soja obtidos com ácido láctico.

Produto (ES:SL)	*Escore de 1 a 9			
	Aparência	Sabor	Textura	Aspecto global
1 (40:60)	7,44b	6,62b	7,2b	7,06b
2 (30:70)	7,58ab	6,62b	7,44ab	7,44ab
3 (20:80)	7,92a	7,36a	7,8a	7,78a
C.V. (%)	10,94	16,67	12,24	12,19

*Escore: 1=desgostei muitíssimo, 2=desgostei muito, 3=desgostei moderadamente, 4=desgostei ligeiramente, 5=Indiferente, 6=gostei ligeiramente, 7= gostei moderadamente, 8= gostei muito, 9= gostei muitíssimo.

Médias nas colunas seguidas por letras iguais não diferem entre si a 0,05 de significância (Tukey).

As notas atribuídas pelos consumidores ao sabor, o produto 3 (proporção ES:SL 20:80), foi o que obteve maior aceitabilidade, diferindo significativamente ($p < 0,05$) dos produtos 1 (proporção ES:SL 40:60) e 2 (proporção ES:SL 30:70), e os valores na escala hedônica apresentaram-se entre gostei moderadamente e gostei muito.

Pelos resultados obtidos para sabor, verifica-se que a aceitação da soja pelos consumidores de tofu é fator limitante, pois o melhor sabor foi atribuído ao produto com menor teor de soja.

Resultado semelhante quanto à aceitabilidade foi também encontrado por Faria et al. (2004), quando avaliaram a aceitação de uma bebida à base de extrato de soja e soro de leite. Em outro trabalho, Tebaldi (2005) adicionou 50%, 40% e 30% de extrato solúvel de soja ao soro de leite para a elaboração de bebida láctea e constatou que o produto de melhor aceitação foi aquele com o menor teor de extrato hidrossolúvel de soja. Benedet et al. (2002) avaliaram a aceitabilidade de um análogo ao queijo minas frescal pela mistura de leite e

extrato hidrossolúvel de soja e percebeu que a aceitação diminuiu à medida que se aumentou a concentração do extrato de soja.

No primeiro teste de aceitação realizado com consumidores de produtos à base de soja, objetivando avaliar a modificação na aceitabilidade com o tempo de estocagem, devido ao seu elevado coeficiente de variação, não foi detectado qual o melhor produto, tanto no tempo 0 quanto no tempo 9 dias. No segundo teste, no qual o coeficiente de variação foi menor, provavelmente porque foi realizado com consumidores familiarizados com tofu, ocorreu diferença ($p < 0,05$) na aceitação dos produtos, como foi apresentado anteriormente, porém, se forem comparados os valores de sabor e aspecto global do primeiro teste com o segundo com relação ao produto 3, constata-se que ambos se encontram entre gostei moderadamente e gostei muito.

6 CONCLUSÕES

A contagem total de psicrotróficos limitou o consumo dos produtos a partir do décimo segundo dia de estocagem e o produto com menor teor de extrato de soja foi o que mais resistiu à vida de prateleira.

O produto com menor proporção de extrato de soja foi o que permaneceu mais tempo com as características iniciais, quando comparado com a amostra padrão (0 dia).

Na avaliação durante o armazenamento, todos os produtos melhoraram o sabor e aspecto global no tempo 9 dias.

O produto com menor concentração de extrato de soja (ES:SL 20:80) foi o de melhor aceitação quanto às características de sabor, aparência, cor, textura e aspecto global.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução nº 12 de 2 de janeiro de 2001. **Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos**. D.O.U. - Diário Oficial da União; Poder Executivo, de 10 de janeiro de 2001.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analytical of the Association of Official Analytical Chemists**. 15thed. Washington, 1990. v. 2.

BENEDET, H.D.; CHARLAU, S.X.; TEIXEIRA, E. Desenvolvimento e caracterização de um análogo do queijo Minas Frescal pela mistura de leite e extrato hidrossolúvel de soja. **Alimentos e Nutrição**, São Paulo, v.13, p. 11-22, 2002.

CHIEN, J. T.; SNYDER, H. E. Deteccion and control of soymilk astringency. **Journal of food Science**, v. 48, n. 2, p. 438-440, 1983.

CIABOTTI, 2004. **Aspectos químicos, físico-químicos e sensorial de extratos de soja e tofus obtidos dos cultivares de soja convencional e livre de lipoxigenase**. 2004. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, MG.

COURREGELONGUE, S.; SCHLICH, P.; NOBLE, A. C. Using repeated ingestion to determine the effect of sweetness, viscosity and oiliness on temporal perception of soymilk astringency. **Food Quality and Preference**, n. 10, p. 273-279, 1999.

COUSIN, M. A. Presence and activity of psychrotrophic microorganisms in milk and dairy products: a review. **Journal of Food Protection**, n. 2, v. 45, p. 172-207, 1982.

ELLIS, M. J. The methodology of shelf life determination. In: MAN, C. M. D.; JONES, A. A. **Shelf life evaluation of foods**. London: Black Academic & Professional, 1997. 321 p.

ESCUETA, E. E.; BOURNE, M. C. HOOD, L. F. Effect os boiling treatment of soymilk on the composição, yield, texture and sensory properties of tofu. **Canadian Institute of Science and Technology**, Ottawa, v. 19, n. 2, 1986, p. 53-56.

FARIA, B. C.; DIAS, G.; SILVA, M. T. C. Bebida à base de soro de queijo e leite de soja. In: CONGRESSO NACIONAL DE LATICÍNIOS, 21., 2004, Juiz de Fora. **Anais... Juiz de Fora: ILCT**, 2004. p. 201-204.

FERREIRA, D. F. Análise estatística por meio do SISVAR para Windows versão 4. 0. In: REUNIAO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA. UFSCar, 45., 2000, São Carlos. **Anais... São Carlos, SP: UFSCar**, 2000. p. 255-258.

FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da segurança alimentar**. Porto Alegre: Artmed, 2005. 424 p.

FRANCO, B. D. G. M. Fatores intrínsecos e extrínsecos que controlam o desenvolvimento microbiano nos alimentos. In: FRANCO, B. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia de alimentos**. São Paulo: Atheneu, 1996. 182 p.

FURTADO, M. M.; LOURENÇO NETO, J. P. M. **Tecnologia de queijos: manual técnico para a produção industrial de queijos**. São Paulo: Dipemar, 1994. p. 118.

GONZALES, A. G. M.; MONTEIRO, M. F. F.; OLIVEIRA, C. A. G. Avaliação higiênico-sanitaria do queijo de soja (tofu). **Higiene Alimentar**, v. 11, n. 51, set./out. 1997.

HORMEL FOODS. **Storage chart - meats (fresh)**. Disponível em: <<http://www.hormel.com/templates/knowledge/knowledge.asp?catitemid=7&id=587&floater=disabled>>. Acesso em: 10 ago. 2007.

JAY, J. M. **Microbiologia de alimentos**. 6.ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. 711 p.

KIM, M.; HAN, J. Evaluation of physico-chemical characteristics and microstructure of tofu containing high viscosity chitosan. **International Journal of Food Science and Technology**, Oxford, v. 37, n. 3, p. 277-283, Mar. 2002.

KIM, Y. S.; CHOI, Y. M.; NOH, D. O.; CHO, S. Y.; SUH, H. J. The effect of oyster Shell powder on the extension of the shelf life of tofu. **Food Chemistry**, n. 103, p. 155-160, 2007.

LANDGRAF, M. Microrganismos indicadores. In: FRANCO, B. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia de alimentos**. São Paulo: Atheneu, 1996. 182 p.

MEILGAARD, M.; CIVILLE, G. V.; CARR, B. T. **Sensory evaluation techniques**. 2.ed. Florida: CRC, 1991. 354p.

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

O'MAHONY, M. **Sensory evaluation of food. Statistical methods and procedures**. M. Dekker Inc., New York, 1986. 487p.

PEREIRA, D. B. C.; SILVA, P. H. F.; COSTA JUNIOR, L. C. G.; OLIVEIRA, L. L. **Físico-químico do leite e derivados: métodos analíticos**. 2.ed. Juiz de Fora: Templo. 2001. 234 p.

PFEIFFER, C.; D'AUJOURD'HUI, J.W.; NUESSELI, J., ESCHER, F. Optimizing food packaging and shelf life. **Food Technology**, Chicago, v. 53, n. 6, p. 52-59, 1999.

PINTO, S. M.; ABREU, L. R.; SILVEIRA, I. A.; CARVALHO, E. P.; MOURA, C. J. Avaliação das características físico-química de queijo ricota comercializados em Lavras-MG. **Revista do Instituto de Laticínios "Cândido Tostes"**, Juiz de Fora, n. 313, v. 54, n. 5, p. 20-22, mar./abr.2000.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R: a language and environment for statistical computing**. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing, 2007. Disponível em: <<http://www.R-project.org>>. Acesso em: 10 jul. 2007.

RIBEIRO, A. C.; MARQUES, S. C.; SODRÉ, A. F.; ABREU, L. R. PICCOLI, R. H. Controle microbiológico da vida de prateleira de ricota cremosa. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 29, n.1, p. 113-117, jan./fev. 2005.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. São Paulo: Livraria Varela, 1997. 295p.

SILVEIRA, I. A. et al. Aspectos microbiológicos de ricotas comercializadas na região de Lavras – Minas Gerais: resultados parciais. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 2000, Fortaleza. **Livro de Resumos...** Fortaleza, Sbcta, 2000, v.1, p. 1-4.

SIQUEIRA, I. M. C.; GLORIA, M. B. A.; CERQUEIRA, M. O. P.; SOUZA, M. R. SANTOS, M. M. F. Caracterização físico-química e microbiológica de quatro tipos de soro de queijo. In: SEMANA DO CONHECIMENTO, 3., 2002, Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte: UFMG, 2002. Disponível em: <www.ufmg.br/prpg/dow_anais/cien_agrarias/cien_alimentos_3/ivana.doc>. Acesso em: 10 jun. 2007.

SORHAUG, T.; STEPANIAK, L. Psychrotrophs and their enzymes in milk and dairy products: quality aspects. **Trends in Food Science e Technology**, Oxford, v. 8, p. 35-41, 1997.

SPEECK, M. L. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 2.ed. Washington: American Public Health Association, 1984. p. 411-427.

TEBALDI, V. M. R. **Elaboração de bebida láctica de soro de ricota e extrato hidrossolúvel de soja**. 2005. 79 p. Dissertação (Mestrado em Ciência os Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

TEIXEIRA, L. V.; FONSECA, L. M.; MENEZES, L. D. M.; MALAGOLE, P. J. Perfil microbiológico dos soros de queijo Minas Padrão e Mussarela produzidos em Minas Gerais. In: CONGRESSO NACIONAL DE LATICÍNIOS, 2006, Juiz de Fora. **Anais...** Juiz de Fora: ILCT, 2006.

WANG, H. L. Tofu e tempeh as potential protein sources in the western diet. **Journal of the Association Oil Chemistry Science**, Champaign, v. 61, n. 3, p. 528-534, 1984.

WIKINGIL, L.; BJORCK, L.; NIELSEN, J. H. Effects of storage condition on lipolysis, proteolysis and sensory attributes in high quality haw milk. **Milchwissenschaft**, n. 57, p. 190-194, 2002.

ANEXOS

ANEXO A

	Página
ANEXO 1A Ficha para o teste de aceitação dos seis produtos similares ao tofu obtidos com glucona- δ -lactona e ácido lático.....	157
ANEXO 2A Ficha de avaliação do teste duo-trio para determinar a diferença global entre os produtos obtidos com ácido lático armazenados nos tempos 3, 6 e 9 dias e a amostra padrão (tempo 0 dia).....	158
ANEXO 3A Ficha para o teste de aceitação dos produtos similares ao tofu obtidos com ácido lático nos tempos 0 e 9 dias de armazenamento.....	159
ANEXO 4A Ficha para o teste de aceitação dos três produtos similares ao tofu obtidos com ácido lático	160

ANEXO 1A

“Ficha para o teste de aceitação dos seis produtos similares ao tofu obtidos com glucona- δ -lactona e ácido láctico”.

Nome: _____	Data: _____
<p>- Você esta recebendo 6 amostras codificadas de um novo tipo de alimento. Por favor, indique o quanto você GOSTOU ou DESGOSTOU de cada amostra, avaliando cada um dos atributos sensoriais abaixo relacionados.</p> <p>9 – Gostei muitíssimo 8 – Gostei muito 7 – Gostei moderadamente 6 – Gostei ligeiramente 5 – Indiferente 4 – Desgostei ligeiramente 3 – Desgostei moderadamente 2 – Desgostei muito 1 – Desgostei muitíssimo</p>	
AMOSTRA Nº _____	_____
Em relação a: APARÊNCIA _____	_____
COR _____	_____
SABOR _____	_____
TEXTURA _____	_____
IMPRESSÃO GLOBAL _____	_____
Comentários: _____	

ANEXO 2A

“Ficha de avaliação do teste duo-trio para determinar a diferença global entre os produtos armazenados nos tempos 3, 6 e 9 dias e a amostra padrão (tempo 0 dia)”.

Nome: _____	Data: _____
PRODUTO: SIMILARA TOFU	
Você esta recebendo uma amostra padrão (P) e duas amostras codificadas. Por favor, prove as amostras da esquerda para a direita. Circule no par a amostra IGUAL ao padrão.	
Amostra padrão: P	
360	173
Comentários: _____	

ANEXO 3A

“Ficha para o teste de aceitação dos produtos similares ao tofu obtidos com ácido láctico nos tempos 0 e 9 dias de armazenamento”.

Nome: _____	Data: _____
<p>- Você está recebendo 1 amostra codificada de um novo tipo de produto. Por favor, avalie cuidadosamente cada um dos atributos sensoriais e assinale na escala correspondente, o quanto você GOSTOU ou DESGOSTOU da amostra.</p>	
9 – gostei extremamente	Amostra nº _____
8 – gostei muito	Nota para aparência: _____
7 – gostei moderadamente	Nota para cor: _____
6 – gostei ligeiramente	Nota para sabor: _____
5 – não gostei nem desgostei	Nota para textura: _____
4 – desgostei ligeiramente	Nota para aspecto global: _____
3 – desgostei moderadamente	
2 – desgostei muito	
1 – desgostei extremamente	
Comentários: _____	

ANEXO 4A

“Ficha para o teste de aceitação dos três produtos similares ao tofu obtidos com ácido láctico”

Nome: _____ Data: _____

- Você está recebendo 3 amostras codificadas de um novo tipo de alimento. Por favor, indique o quanto você **GOSTOU** ou **DESGOSTOU** de cada amostra, avaliando cada um dos atributos sensoriais abaixo relacionados.

- 9 – Gostei muitíssimo
- 8 – Gostei muito
- 7 – Gostei moderadamente
- 6 – Gostei ligeiramente
- 5 – Indiferente
- 4 – Desgostei ligeiramente
- 3 – Desgostei moderadamente
- 2 – Desgostei muito
- 1 – Desgostei muitíssimo

AMOSTRA Nº	_____	_____	_____
Em relação a: APARÊNCIA	_____	_____	_____
COR	_____	_____	_____
SABOR	_____	_____	_____
TEXTURA	_____	_____	_____
IMPRESSÃO GLOBAL	_____	_____	_____

Comentários: _____

ANEXO B

Página

TABELA 1B	Resumo das análises de variâncias para umidade, proteína, pH e acidez total titulável do extrato de soja (ES), soro de leite (SL) e das misturas ES:SL.....	163
TABELA 2B	Resumo das análises de variância pH, umidade, proteína e rendimento dos produtos similares ao tofu.....	163
TABELA 3B	Resumo da análise de variância para firmeza, coesividade, gomosidade, mastigabilidade.....	164
TABELA 4B	Resumo das análises de variâncias para os dados de unidades “CIELAB”.....	164
TABELA 5B	Resumo das análises de variâncias para demanda química de oxigênio (DQO), pH e sólidos solúveis (SS) do soro residual (efluente).....	165
TABELA 6B	Resumo das análises de variâncias para os dados de umidade, proteína, lipídeo, cinzas e extrato não-nitrogenado (ENN) do extrato de soja (ES), soro de leite (SL) e das misturas ES:SL.....	165
TABELA 7B	Resumo das análises de variâncias para os dados de umidade, proteína, lipídeo, cinzas e extrato não-nitrogenado (ENN) dos produtos similares ao tofu.....	166

TABELA 8B	Resumo da análise de variância para os dados de digestibilidade e rendimento (g/3,5 L) dos produtos similares ao tofu.....	166
TABELA 9B	Resumo da análise de variância para os dados de umidade dos produtos similares ao tofu obtidos com ácido láctico.....	167
TABELA 10B	Resumo das análises de variâncias para pH dos produtos similares ao tofu obtidos com ácido láctico, no período de armazenamento.....	167
TABELA 11B	Resumo das análises de variâncias para aparência, cor, sabor, textura e aspecto global referentes aos produtos similares ao tofu obtidos com ácido láctico, com tempo 0 e 9 dias.....	168
TABELA 12B	Resumo das análises de variâncias para aparência, sabor, textura e aspecto global referentes aos produtos similares ao tofu obtidos com ácido láctico.....	168

TABELA 3B Resumo das análises de variância para firmeza, coesividade, gomosidade, mastigabilidade dos produtos similares ao tofu.

CV	GL	Firmeza	Coesividade	Gomosidade	Mastigabilidade
Proporção	2	**	**	**	**
Coagulantes	1	**	**	**	**
Propor. x Coag.	2	**	**	**	**
Resíduo	18	—	—	—	—
TOTAL	23	—	—	—	—
CV	—	3,90	0,83	5,09	6,08
MÉDIA	—	1,63	0,51	0,85	0,82

** significativo, a 1% de probabilidade (P<0,01).

TABELA 4B Resumo das análises de variância para os dados de unidades “CIELAB” dos produtos similares ao tofu.

CV	GL	L (luminosidade)	a (amarelo)
Proporção	2	**	**
Coagulantes	1	**	**
Proporção x Coag.	2	*	*
Resíduo	18	—	—
TOTAL	23	—	—
CV	—	0,26	1,33
MÉDIA	—	86,98	11,22

* significativo, a 5% de probabilidade (P<0,05); ** significativo, a 1% de probabilidade (P<0,01).

TABELA 5B Resumo das análises de variância para demanda química de oxigênio (DQO), pH e sólidos solúveis (SS) do soro residual (efluente) dos produtos similares ao tofu.

CV	GL	DQO	pH	SS
Proporção	2	ns	ns	*
Coagulantes	1	ns	**	ns
Proporção x Coag.	2	ns	*	ns
Resíduo	18	—	—	—
TOTAL	23	—	—	—
CV	—	15,70	0,85	7,91
MÉDIA	—	28.008	5,38	5,81

* significativo, a 5% de probabilidade ($P < 0,05$); ** significativo, a 1% de probabilidade ($P < 0,01$); ns – não significativo.

TABELA 6B Resumo das análises de variância para os dados de umidade, proteína, lipídeo, cinzas e extrato não-nitrogenado (ENN) do extrato de soja (ES), soro de leite (SL) e das três proporções de misturas ES:SL.

CV	GL	Umidade	Proteína	Lipídeo	Cinzas	ENN
Tratamentos	4	**	**	**	**	**
Resíduo	15	—	—	—	—	—
TOTAL	19	—	—	—	—	—
CV	—	0,10	2,44	3,68	3,81	2,15
MÉDIA	—	93,1	2,09	1,27	0,44	3,13

** significativo, a 1% de probabilidade ($P < 0,01$).

TABELA 7B Resumo das análises de variância para os dados de umidade, proteína, lipídeo, cinzas e extrato não-nitrogenado (ENN) dos produtos similares ao tofu.

CV	GL	Umidade	Proteína	Lipídeo	Cinzas	ENN
Proporção	2	*	**	**	*	**
Coagulantes	1	**	**	**	**	**
Propor. x Coag.	2	**	**	ns	ns	ns
Resíduo	18	—	—	—	—	—
TOTAL	23	—	—	—	—	—
CV	—	0,29	1,05	1,46	8,21	9,44
MÉDIA	—	81,08	9,20	6,99	1,01	1,76

* significativo, a 5% de probabilidade ($P < 0,05$); ** significativo, a 1% de probabilidade ($P < 0,01$); ns – não significativo.

TABELA 8B Resumo das análises de variância para os dados de digestibilidade protéica *in vitro* e rendimento (g/3,5L) dos produtos similares ao tofu.

CV	GL	Digestibilidade protéica <i>in vitro</i>	Rendimento (g/3,5L)
Proporção	2	*	**
Coagulantes	1	**	**
Propor. x Coag.	2	**	**
Resíduo	18	—	—
TOTAL	23	—	—
CV	—	0,86	2,14
MÉDIA	—	63,75	536,39

* significativo, a 5% de probabilidade ($P < 0,05$); ** significativo, a 1% de probabilidade ($P < 0,01$).

TABELA 9B Resumo da análise de variância para os dados de umidade dos produtos similares ao tofu obtidos com ácido láctico (AL).

CV	GL	Umidade dos produtos obtidos com AL
Tratamentos	2	**
Resíduo	12	—
TOTAL	14	—
CV	—	0,65
MÉDIA	—	79,60

** significativo a 1% de probabilidade ($P < 0,01$).

TABELA 10B Resumo das análises de variância para pH dos produtos similares ao tofu obtidos com ácido láctico, no período de armazenamento

CV	GL	pH dos produtos obtidos com ácido láctico
Produto	2	**
Tempo-dias	5	**
Produto+tempo	10	ns
Resíduo	36	—
TOTAL	53	—
CV	—	1,26
MÉDIA	—	5,82

** significativo, a 1% de probabilidade ($P < 0,01$); ns – não significativo.

TABELA 11B Resumo das análises de variância para aparência, cor, sabor, textura e aspecto global (AG) referentes aos três produtos similares ao tofu obtidos com ácido láctico, com tempo 0 e 9 dias.

CV	GL	Aparência	Cor	Sabor	Textura	AG
Produto	2	ns	ns	ns	ns	ns
Tempo-dias	1	ns	ns	**	ns	**
Produto+tempo	2	ns	ns	ns	ns	ns
Bloco	29	—	—	—	—	—
Resíduo	145	—	—	—	—	—
TOTAL	179	—	—	—	—	—
CV	—	18,92	14,54	21,67	21,03	19,25
MÉDIA	—	7,42	7,54	6,75	7,05	7,04

** significativo a 1% de probabilidade ($P < 0,01$), ns – não significativo.

TABELA 12B Resumo das análises de variância para aparência, sabor, textura e aspecto global referentes aos produtos similares ao tofu obtidos com ácido láctico.

CV	GL	Aparência	Sabor	Textura	AG
Resíduo	98	**	**	**	**
Tratamento	2	*	**	**	**
Bloco	49	—	—	—	—
TOTAL	149	—	—	—	—
CV	—	10,94	16,67	12,24	12,19
MÉDIA	—	7,65	6,87	7,48	7,43

* significativo, a 5% de probabilidade ($P < 0,05$); ** significativo, a 1% de probabilidade ($P < 0,01$).