

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

NATALIA REGINA MARCHESE

**ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO PRÓXIMO E METODOLOGIA DE
MÍNIMOS QUADRADOS PARCIAIS PARA ANÁLISE DE SOJA (*Glycine Max. (L)*
Merril) INATIVADA TERMICAMENTE**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

LONDRINA
2017

NATALIA REGINA MARCHESE

**ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO PRÓXIMO E METODOLOGIA DE
MÍNIMOS QUADRADOS PARCIAIS PARA ANÁLISE DE SOJA (*Glycine Max. (L)*
Merril) INATIVADA TERMICAMENTE**

Dissertação de mestrado, apresentado ao Programa de Pós Graduação em Tecnologia de Alimentos, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, câmpus Londrina, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Tecnologia de Alimentos.

Orientador: Prof^a. Dr^a. Elisabete Hiromi Hashimoto
Co-orientador: Prof. Dr. Eder da Costa dos Santos

LONDRINA
2017

TERMO DE LICENCIAMENTO

Esta Dissertação está licenciada sob uma Licença Creative Commons *atribuição uso não-comercial/compartilhamento sob a mesma licença 4.0 Brasil*. Para ver uma cópia desta licença, visite o endereço <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/> ou envie uma carta para Creative Commons, 171 Second Street, Suite 300, San Francisco, Califórnia 94105, USA.



Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Biblioteca UTFPR - Câmpus Londrina

M316e Marchese, Natalia Regina

Espectroscopia de infravermelho próximo e metodologia de mínimos quadrados parciais para análise de soja (*Glycine Max.(L) Merrill*) inativada termicamente / Natalia Regina Marchese. - Londrina : [s.n.], 2017.
77 f. : il. ; 30 cm.

Orientadora: Profª Drª Elisabete Hiromi Hashimoto
Coorientador: Prof. Dr. Eder da Costa dos Santos
Dissertação (Mestrado) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná.
Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos. Londrina, 2017.
Bibliografia: f. 71-77.

1. Espectroscopia de infravermelho. 2. Soja - Processamento. 3. Soja - Análise.
I. Hashimoto, Elisabete Hiromi, orient. II. Santos, Eder da Costa dos, coorient.
III. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. IV. Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos. V. Título.

CDD: 664

FOLHA DE APROVAÇÃO

ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO PRÓXIMO E METODOLOGIA DE MÍNIMOS QUADRADOS PARCIAIS PARA ANÁLISE DE SOJA (*Glycine Max. (L) Merrill*) INATIVADA TERMICAMENTE

por

NATALIA REGINA MARCHESE

Esta dissertação foi apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de MESTRE EM TECNOLOGIA DE ALIMENTOS – Área de Concentração: Tecnologia de Alimentos, pelo Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos – PPGTAL – da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR – Câmpus Londrina, às 14h do dia 03 de Março de 2017. O trabalho foi aprovado pela Banca Examinadora, composta por:

Prof.^a Dr.^a Elisabete Hiromi Hashimoto
Prof.^a Orientadora
UTFPR Câmpus Francisco Beltrão

Prof Dr. Márcio Barreto Rodrigues
Membro Titular

Prof. Dr. Claiton Zanini Brusamarello
Membro Titular

Visto da coordenação:

Profa. Dra. Lúcia Felicidade Dias
(Coordenadora do PPGTAL)

A Folha de Aprovação assinada encontra-se na Coordenação do Programa de Pós Graduação em Tecnologia de Alimentos.

Dedico este trabalho a Deus, aos meus familiares, amigos e colegas, por estarem sempre me apoiando e incentivando, fazendo com que essa realização se tornasse possível.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente eu agradeço a Deus por ter me concedido a oportunidade do aperfeiçoamento profissional, me proporcionando conhecimentos, experiências e amizades, que levarei eternamente. Por atender minhas preces e pela proteção nas constantes viagens de idas e vindas.

À Universidade Tecnológica Federal do Paraná, à coordenação do Curso de Mestrado Profissional em Tecnologia de Alimentos do Câmpus de Francisco Beltrão. Em destaque agradeço à minha orientadora, Prof^a. Dr^a. Elisabete Hiromi Hashimoto, que dedicou seu tempo, me orientando e auxiliando, contribuindo em cada uma das etapas do desenvolvimento do trabalho.

À todos os professores do Programa, colaboradores, colegas de aula e todos aqueles que de alguma forma, foram fundamentais para que a realização do desenvolvimento deste trabalho se tornasse possível.

À todos os meus familiares e amigos, em especial ao meu namorado, por sempre me incentivar, me dar força e coragem necessária para impulsionar a minha caminhada, com eles aprendi a superar os obstáculos e jamais desanimar na busca de meus objetivos.

À empresa e aos meus colegas de trabalho, por oportunizar a realização do mestrado, permitindo a ausência das minhas atividades durante as aulas, bem como colaborando e possibilitando as condições para que o trabalho fosse desenvolvido.

RESUMO

MARCHESE, Natalia R. **Espectroscopia de infravermelho próximo e metodologia de mínimos quadrados parciais para análise de soja (*Glycine Max. (L) Merril*) inativada termicamente**. 77f. Dissertação. (Programa de Pós graduação em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Londrina, 2017.

A soja é uma leguminosa muito consumida no Brasil e no mundo, sua principal utilização é como fonte de matéria-prima na alimentação animal, devido ao fato de possuir alto teor de proteína e energia em sua composição. Na sua forma integral, a soja apresenta fatores antinutricionais, que podem causar doenças digestivas, além de interferir na absorção e aproveitamento nutricional dos animais que a consomem. Por isso, a soja necessita passar por um tratamento térmico que seja suficiente para inativar estes fatores antinutricionais que nela se fazem presentes. O objetivo desta pesquisa foi avaliar a aplicação da espectroscopia no infravermelho próximo (NIR) na análise de soja inativada por tratamentos térmicos de tostagem e micro-ondas. Para isto, diferentes tratamentos térmicos de tostagem (T1 a T9: 110 a 120 °C/20 a 40') e micro-ondas (M1 a M9: 20 a 40W/15 a 25') foram aplicados em grãos de soja integral, em escala laboratorial, tomando como referência amostras de soja inativadas industrialmente (110 °C a 0,85 kg.cm⁻²/ 50'). As amostras foram analisadas quanto ao teor de umidade, lipídios, proteínas e ainda, inibidores de tripsina, atividade ureática e solubilidade proteica. A espectroscopia de infravermelho próximo (NIR) integrada a calibração de regressão por mínimos quadrados parciais (PLS) foi desenvolvida para analisar o teor de umidade, lipídios, proteínas e solubilidade proteica destas amostras de soja. Um total de 219 espectros foram coletados a partir de 73 amostras de soja, sendo 37 amostras utilizadas para calibração (inativadas industrialmente) e as 36 demais utilizadas no conjunto de validação (inativadas por tostagem e micro-ondas, laboratorialmente). Em relação aos parâmetros de inativação da soja por tostagem e micro-ondas, os resultados mais satisfatórios e próximos à escala industrial foram para o tratamento térmico de tostagem o T8 (30' / 130° C) e para o micro-ondas o M5 (20'/ 30W). A análise de umidade, lipídios, proteínas e solubilidade proteica por NIR revelou coeficiente de correlação (R²) de 0,767, 0,845, 0,915 e 0,910, respectivamente. Embora não tenha apresentado uniformidade para amostras submetidas a condições extremas (superaquecida ou subprocessada), a avaliação do método indicou que este pode ser efetivamente aplicado para avaliação da composição bromatológica e solubilidade proteica em amostras processadas industrialmente.

Palavras-chave: Soja inativada. Solubilidade proteica. NIR/PLS.

ABSTRACT

MARCHESE, Natalia R. **Near infrared spectroscopy and partial least square method to analyse soybean (Glycine Max. (L) Merril) after thermal inactivation** 77f. Dissertation (Graduate Program in Food Technology) - Federal Technology University - Parana. Londrina, 2017.

Soybeans are very consumed in Brazil and in the world, its main use is as a source of raw material in animal feed, due to the high content of protein and energy. Raw soybean presents antinutritional factors, that can cause digestive diseases, besides interfering in the absorption and nutritional in animals. Therefore, the soybean needs to be thermally inactivated to reduce these antinutritional factors. The objective of this research was to evaluate the application of near infrared spectroscopy (NIR) in the analysis of soybean inactivated by thermal treatments of roasting and microwave. For this, different thermal treatments of toast (T1 to T9: 110 to 120 °C / 20 to 40') and microwaves (M1 to M9: 20 to 40W / 15 to 25') were applied to raw soybean grains in laboratory scale, and industrially scale, inactivated at 110 °C, 0,85 kg.cm² / 50'). The samples were analysed for moisture content, lipids, proteins and trypsin inhibitors, urea activity and protein solubility. Near-infrared spectroscopy (NIR) integrated the partial least square regression (PLS) calibration was developed to analyse the moisture content, lipids, proteins and protein solubility of these soybean samples. A total of 219 spectra were collected from 73 soybean samples, 37 of which were used for calibration (inactivated industrially) and the remaining 36 were used in the validation set (inactivated by toast and microwave, laboratory). In relation to the inactivation parameters of the soybean by toasting and microwave, the most satisfactory and near industrial scale results were for the T8 (30 ' / 130 ° C) toasting heat treatment and for the microwave the M5 (20 ' / 30W). The analysis of moisture, lipids, proteins and protein solubility by NIR revealed a correlation coefficient (R²) of 0.767, 0.845, 0.915 and 0.910, respectively. Although it did not show uniformity for samples subjected to extreme conditions (superheated or subprocessed), the method indicated that it can be effectively applied for evaluation of the bromatological composition and protein solubility in industrially processed samples.

Keywords: soybean inactivation, protein solubility, NIR/PLS

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Principais bandas analíticas e posição de pico relativas para absorções proeminente no NIR.....	26
Figura 2 – Amostras dispostas ao infravermelho próximo.....	27
Figura 3 – Espectros NIR para amostras de soja no intervalo entre 10.000 e 4000 cm^{-1}	28
Figura 4 – Organograma do trabalho.....	34
Figura 5 – Fluxograma desativação da soja em escala industrial.....	35
Figura 6 – Espectros originais das amostras de soja inativadas na região do NIR.....	58
Figura 7 – Correlação entre os valores de referência <i>versus</i> os valores preditos pelo NIR para umidade e lipídios.....	59
Figura 8 – Erro entre as análises de referência e análises preditas via NIR para determinação de umidade.....	61
Figura 9 – Erro entre as análises de referência e análises preditas via NIR para determinação de lipídio.....	61
Figura 10 – Correlação entre os valores de referência <i>versus</i> os valores preditos pelo NIR para proteína e solubilidade proteica.....	63
Figura 11 – Erro entre as análises de referência e análises preditas via NIR para proteína e solubilidade proteica.....	65

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Composição proximal dos grãos de soja.....	15
Tabela 2 – Comprimentos de onda em nm e número de ondas em cm^{-1} de algumas bandas no NIR de compostos orgânicos e de enxofre.....	27
Tabela 3 – Testes prévios dos tratamentos térmicos aplicados na soja integral.	37
Tabela 4 – Condições dos tratamentos térmicos aplicados na soja integral.....	37
Tabela 5 – Tratamentos térmicos aplicados na soja <i>in natura</i>	46
Tabela 6 – Parâmetros de inativação da soja crua e soja inativada por escala industrial.....	47
Tabela 7 – Parâmetros de inativação de amostras de soja termicamente tratadas por micro-ondas e tostagem.....	48
Tabela 8 – Tratamentos térmicos aplicados na soja integral para a validação da análise por espectroscopia NIR.....	55
Tabela 9 – Parâmetros de ajuste e erro do modelo PLS para calibração da umidade e lipídio.....	58
Tabela 10 – Comparação entre o valor de referência e os preditos pelo NIR para umidade e lipídios.....	60
Tabela 11 – Parâmetros de ajuste e erro do modelo PLS para calibração da proteína e solubilidade proteica.....	62
Tabela 12 – Comparação entre o valor de referência e os preditos pelo NIR para proteína e solubilidade proteica.....	64

LISTA DE ABREVIATURAS

NIRS	Espectroscopia no infravermelho próximo
PLS	Mínimos quadrados parciais
SP	Solubilidade proteica
AU	Atividade ureática
UTI	Unidade de tripsina inibida
AIT	Atividade do inibidor de tripsina
EI	Escala industrial
PRESS	Soma dos quadrados dos parâmetros de erros de previsão
MSE	Erro do quadrado médio
RMSE	Raiz quadrada do erro quadrado médio
RPD	Relação de desempenho do desvio
SD	Desvio Padrão

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 OBJETIVOS	15
2.1 OBJETIVO GERAL.....	15
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	15
3 REFERENCIAL TEÓRICO	16
3.1 SOJA INTEGRAL.....	16
3.1.1 Fatores antinutricionais.....	17
3.2 TRATAMENTOS TÉRMICOS.....	18
3.2.1 Tostagem.....	19
3.2.2 Micro-ondas.....	20
3.2.3 Extrusão.....	21
3.3 PARÂMETROS DE INATIVAÇÃO DA SOJA.....	22
3.3.1 Atividade ureática.....	23
3.3.2 Solubilidade proteica.....	24
3.3.3 Inibidores de proteases.....	25
3.4 ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO PRÓXIMO (NIR).....	26
3.4.1 Fundamentação teórica.....	26
3.4.2 Modelo de calibração.....	30
3.4.3 Regressão multivariada.....	31
3.4.4 Modelo de validação.....	32
3.4.5 Aplicações da espectroscopia NIR para análise de alimentos.....	33
4 MATERIAIS E MÉTODOS	35
4.1 AMOSTRAS DE SOJA.....	35
4.2 MÉTODOS.....	36
4.2.1 Processamento da soja integral em escala industrial.....	36
4.2.2 Inativação térmica da soja integral em escala laboratorial.....	37
4.2.3 Métodos de referência.....	39
4.2.3.1 Análise de inibição de tripsina.....	39
4.2.3.2 Teor de atividade ureática.....	39
4.2.3.3 Determinação da solubilidade proteica.....	40
4.2.3.4 Umidade.....	41
4.2.3.5 Lipídio.....	41
4.2.3.6 Proteína.....	41
4.2.4 Espectroscopia no infravermelho próximo (NIR).....	42
4.2.4.1 Análise dos dados.....	42
4.2.4.2 Parâmetros de validação.....	42
4.3 TRATAMENTO DE DADOS.....	43
5 RESULTADOS	44
ARTIGO 1 – INATIVAÇÃO DE SOJA (<i>Glycine max. (L) Merril</i>) POR TOSTAGEM E MICRO-ONDAS	45
ARTIGO 2 – ESPECTROSCOPIA NIR PARA ANÁLISE DA QUALIDADE DE SOJA INATIVADA TERMICAMENTE	54
6 CONCLUSÃO	70
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS	70
8 REFERÊNCIAS	71

1 INTRODUÇÃO

A soja (*Glycine max (L) Merrill*) está entre uma das leguminosas mais consumida mundialmente, e se destaca por ser excelente fonte de proteína vegetal, além de ser economicamente valorizada devido sua composição nutricional, que lhe confere propriedade funcional (IRIGOYEN et al., 2014; OLIVEIRA et al., 2005; WILSON et al., 2007). Todavia, a soja integral apresenta fatores antinutricionais, tais como os inibidores de proteases e enzima urease. A presença desses fatores afeta o valor nutricional, a utilização e a digestibilidade da proteína da soja, causando doenças digestivas e metabólicas em animais, bem como reduz as características de desempenho (GU et al., 2010).

Os fatores antinutricionais naturalmente presente na soja são inativados termicamente. Alguns dos principais processamentos térmicos da soja são: micro-ondas, tostagem por tambor rotativo, tostagem por vapor úmido, tostagem por vapor seco, tostagem por *jet sploder*, extrusão úmida ou seca e micronização (BRUM, 2006). O principal parâmetro de inativação térmica da soja é a determinação da atividade inibidora da tripsina. Mas a inativação térmica também pode ser avaliada pela determinação da atividade ureática, atividade hemoaglutinante, solubilidade proteica em KOH (0,2%), lisina disponível e índice de proteína dispersível (BUTOLO, 2002). Os métodos de referência para determinação destes parâmetros se baseiam em análises químicas e bioquímicas.

O controle de qualidade com métodos mais rápidos, de fácil execução e que requeiram preparação mínima das amostras, representam uma vantagem para as indústrias, pois permite um melhor planejamento para a garantia da qualidade da matéria-prima e tomada de decisões no processamento. A espectroscopia no infravermelho próximo (NIRS) baseia-se no princípio de emissão de radiação eletromagnética, consiste em método não destrutivo, não invasivo e com manipulação mínima da amostra. As análises por NIRS, além de rápida, apresenta baixo custo, por não utilizar reagentes e demais materiais laboratoriais. Porém sua complexidade necessita da aplicação de métodos quimiométricos para modelagem dos dados, sendo a etapa de calibração exigente (NUNES, 2008; SOARES, 2009; FOSS, 2008). Um exemplo de calibração é a regressão por mínimos quadrados

parciais (PLS), que pode ser usada empregando o espectro inteiro em apenas alguns comprimentos de onda (MORGANO et al., 2005; NUNES, 2008).

Considerando a importância de se avaliar os teores de umidade, lipídio, proteína e também a inativação da soja por solubilidade proteica de forma rápida e precisa, neste trabalho desenvolveu-se um método para avaliar estes parâmetros dos grãos de soja, submetida a diferentes tratamentos térmicos, através de espectros de reflectância no infravermelho próximo (NIR) e aplicação do método de regressão por mínimos quadrados parciais (PLS).

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a aplicação da espectroscopia de infravermelho próximo NIRS associado ao método de regressão por mínimos quadrados parciais para análise de soja (*Glycine Max. (L) Merril*) inativada termicamente, destinada à alimentação de frangos.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Preparar amostras de soja inativada através da aplicação de diferentes condições de tratamentos térmicos por tostagem e micro-ondas;
- Avaliar os parâmetros de inativação térmica da soja: solubilidade proteica, atividade ureática e a atividade inibidora da tripsina;
- Determinar e avaliar o uso da análise espectroscopia de infravermelho próximo (NIRS) como técnica alternativa para obtenção de parâmetros de umidade, lipídio, proteína e solubilidade proteica destas amostras.

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 SOJA INTEGRAL

A soja (*Glycine max (L) Merrill*) é uma leguminosa muito consumida mundialmente. O Brasil, que é o segundo maior produtor mundial do grão de soja, na Safra de 2015/2016, produziu cerca de 95 milhões de toneladas, e em nível mundial foram produzidos aproximadamente 312 milhões. O Paraná ocupa o segundo lugar entre os estados produtores de soja no Brasil, produzindo 17 milhões de toneladas na safra de 2015/2016 (BRASIL, 2016).

A soja se destaca por ser uma excelente fonte de proteína vegetal, além disso, é economicamente valorizada devido a sua composição nutricional e de fitoquímicos, conferindo-lhe propriedade funcional (IRIGOYEN et al., 2014; OLIVEIRA et al., 2005; WILSON et al., 2007). Os grãos de soja apresentam cerca de 40% de proteína e 20% de lipídios. Além da quantidade, a proteína da soja se destaca pela sua qualidade, embora seja deficiente em metionina e treonina (BELLAVAR et al., 2002; SANT'ANA et al., 2000; ZILIC et al., 2006). A Tabela 1 apresenta a composição química dos grãos de soja.

Tabela 1- Composição proximal dos grãos de soja.

Componente	Quantidade
Energia (kcal 100 ⁻¹)	451
Composição proximal aproximada (g 100⁻¹)	
Umidade	5,60
Proteínas	40,4
Lipídios	24,55
Carboidratos	17,26
Fibras	9,31
Cinzas	2,88
Aminoácidos essenciais (mg g⁻¹ de proteína)	
Histidina	29,2
Isoleucina	53,1
Leucina	88,5
Lisina	59,6
Metionina + Cisteína	28,7
Fenilalanina + tirosina	109,3
Treonina	46,3
Triptofano	11,2
Valina	57,2

Fonte: SILVA et al., 2006.

A soja e seus derivados são bastante versáteis e representam uma fonte de proteína na mesa do consumidor. Estas matérias-primas são promissoras para uso na indústria de alimentos, sobretudo em produtos à base de cereais e de carnes: seja na forma de grãos tostados ou moídos, proteína de soja texturizada, hambúrguer de soja, salsicha, e bebidas de soja, podendo ser oferecida até mesmo na substituição de outras farinhas, na massa de pães e bolos, tortas ou biscoitos (SILVA et al., 2006; BERNO, et al., 2007; JUSTINO et al., 2010).

Na alimentação animal, a soja se tornou uma opção vantajosa a ser incluída nas rações, devido ao seu alto potencial de adaptação e pela sua facilidade de produção e cultivo. Estima-se que a soja represente cerca de dois terços da produção mundial total de alimentos proteicos (COSTA et al., 2014).

O farelo resultante da extração mecânica ou química do óleo de soja, também é considerado um dos principais componentes na formulação de ração animal. No entanto, seu uso pode impactar no custo final das rações, devido às variações de preço e de qualidade do farelo. Assim, a substituição do farelo por outra forma de matéria-prima se faz necessária (BARRETO et al., 2010). A soja integral se destaca como uma alternativa ao farelo, devido ao alto teor proteico e energético, além de ser fonte de ácidos graxos poli-insaturados (BERGER et al., 2015; ROCHA et al., 2014).

A soja integral se processada adequadamente apresenta vantagens sobre o farelo de soja, devido ao maior teor de energia decorrente da presença do óleo no grão (LEITE et al., 2012). O processamento adequado da soja se refere a inativação de fatores antinutricionais, pois estes fatores naturalmente presentes nos grãos, interferem na absorção e aproveitamento nutricional (BERGER et al., 2015; BRUNE, et al., 2010; MENDES et al., 2004).

3.1.1 Fatores antinutricionais

A soja integral apresenta fatores antinutricionais, tais como hemaglutininas, lipoxigenases, saponinas, inibidores de protease, urease, entre outros. A presença desses fatores afeta o valor nutricional, a utilização e a digestibilidade da proteína da soja, causando doenças digestivas e metabólicas em animais, bem como características de desempenho reduzidas (GU et al., 2010).

Assim, o principal motivo que limita a utilização da soja integral em ração animal é a presença destes inibidores. Na soja integral, os inibidores de proteases digestivas representam 6% do teor total de proteína da soja, e afetam consideravelmente o desenvolvimento de monogástricos, devido à inibição da digestão proteica (BENEVIDES et al., 2011).

Pesquisas demonstraram que os inibidores de proteases provocam alterações metabólicas do pâncreas e a redução do peso corporal de aves que se alimentam com a soja na sua forma integral (LEITE et al., 2012). A integridade intestinal e a estrutura do pâncreas são prejudicadas pela inclusão da soja na forma integral na ração destinada a frangos de corte (ROCHA et al., 2014). O uso de rações com soja integral insuficientemente processada em alimentação de frangos pode levar ao desenvolvimento de hipertrofia pancreática como resposta compensatória do organismo devido às perdas provocadas pelos fatores antinutricionais (BRITO et al., 2006).

Estudos termodinâmicos oferecem ferramentas sobre as melhores condições de inativação de inibidores, visando melhorias na qualidade proteica e ampliação da aplicação da soja na alimentação humana ou animal, além de quando aplicado, o tratamento térmico desnatura as globulinas aumentando a disponibilidade de aminoácidos e a qualidade proteica. (MIURA et al., 2005).

3.2 TRATAMENTOS TÉRMICOS

O processamento da soja pode alterar as características sensoriais e o valor nutritivo da soja. Quando tratada termicamente em temperaturas abaixo de uma faixa de 100 °C a soja não sofre perdas no seu valor nutritivo. E ainda, a inativação pelo calor dos inibidores da tripsina, a desnaturação das globulinas e das hemaglutininas, aumenta a biodisponibilidade das proteínas da soja (LOKURUKA, 2011).

A necessidade de aplicar o tratamento térmico na soja integral fez com que diversos métodos de processamentos fossem desenvolvidos, sendo estes empregados como operação comum na indústria de alimentos (ANDRADE et al., 2016; CAFÉ et al., 2000). O pré-cozimento ou a inativação da soja utiliza o grão

inteiro e resulta no produto comercial identificado como soja integral inativada (FREITAS et al., 2005).

Alguns dos principais processamentos de tratamentos térmicos da soja são: tostagem por tambor rotativo, tostagem por vapor úmido, tostagem por vapor seco, tostagem por *jet sploder*, extrusão úmida ou seca, micronização micro-ondas (BRUM, 2006). Tais processamentos quando bem executados podem, além de inativar os inibidores de tripsina, ocasionar ruptura da parede celular do grão, proporcionando maior digestibilidade proteica. Quaisquer uns dos processamentos térmicos citados devem assegurar a utilização apropriada da soja integral destinadas à alimentação humana ou animal (MENDES et al., 2004).

O tratamento térmico pode aumentar a digestibilidade das proteínas de soja *in vitro*, de 25 a 39%, pois o aquecimento possibilita tanto a abertura da estrutura da proteína, através da desnaturação quanto a inativação dos inibidores de tripsina (CARVALHO, 2002; SHIVAKUMAR et al., 2016; HUANG et al., 2008). No entanto, o tratamento térmico aumenta os custos do processo dos alimentos, além disso, se excessivo, afeta o valor nutritivo do grão. O aquecimento excessivo pode afetar a disponibilidade de aminoácidos essenciais como lisina, triptofano e metionina (LOKURUKA, 2011).

3.2.1 Tostagem

O processo mais comumente utilizado para inativação da soja, é o processo de tostagem, que pode ser realizado por via úmida ou seca, em temperatura que variam de 110 à 170 °C. O processo de tostagem pode ser realizado em cerâmica quente, tambor rotativo e secador de grãos convencional. Em pequenas propriedades o tambor rotativo é muito comum, mas é de difícil controle, devido às variações da quantidade, tamanho e umidade do grão, fonte (gás, lenha), o que leva a uma grande variação no tempo de tostagem (BELLAVAR; SNIZEK, 1999, LEITE, et al., 2012).

Na tostagem por calor úmido, os grãos são conduzidos em tubulações providas de uma rosca transportadora que submete cerca de 1.500 a 3.000 quilogramas de grãos por hora diretamente ao vapor em baixa pressão. No *jet-*

sploder o grão de soja é inserido em um tubo e submetido a um jato de ar quente à 315 °C, esse ar provoca a elevação da temperatura do grão a 140-150 °C, e ao sair do tubo, os grãos são laminados e moídos, e posteriormente resfriados (BELLAVAR; SNIZEK, 1999).

Para obter produtos de alta qualidade são fundamentais estudos experimentais de simulação e otimização do processo, visando alcançar uma alta eficiência energética, bem como para reter atributos de qualidade no produto seco (BIALOBRZEWSKI et al., 2008). O processo de secagem é complexo devido aos fenômenos simultâneos de transferência de calor e massa que ocorre dentro de cada partícula. No processo de tostagem, a soja sofre um encolhimento devido a uma zona externa com maior teor de umidade com considerável redução de volume. Em seguida, com baixo teor de umidade, o volume do grão pode ser considerado constante (IRIGOYEN et al., 2014).

Modelos adequados são necessários para descrever o mecanismo de transferência de calor e massa e, assim, fornecer informações para entender o efeito de variáveis operacionais nos parâmetros de desempenho do processo, como o tempo de secagem e os custos do processo (MAROULIS et al., 1994, BIALOBRZEWSKI et al., 2008). A comparação do processo de tostagem a seco em distintas temperaturas (130, 150 e 170 °C) durante 30 minutos, mostrou que a temperatura a 150 °C foi mais apropriada, uma vez que apresentou maior solubilidade proteica e maior redução na atividade ureática, indicando uma maior eficiência na inativação do inibidor tripsina (ANDRADE et al., 2010).

3.2.2 Micro-ondas

O uso do micro-ondas no processamento de alimentos é uma alternativa para acelerar o preparo, reduzir os custos do processo e além da possibilidade de preservar melhor alguns nutrientes (PYSZ et al., 2012; MIRZAEI; NERI, 2016).

A utilização da secagem através do micro-ondas, baseia-se na emissão de ondas eletromagnéticas com comprimentos de onda que variam de um milímetro a vários centímetros, tendo a capacidade de penetrar na amostra e interagir com as

moléculas de água, conduzindo uma ruptura nas interações intramoleculares de hidrogênio entre elas, gerando calor por atrito (ZILIC et al., 2006).

O micro-ondas pode aumentar a digestibilidade e a disponibilidade das proteínas da soja e paralelamente reduzir os compostos antinutricionais como os inibidores de tripsina, levando também a desidratação e a coagulação proteica, reduzindo a sua solubilidade (PYSZ et al., 2012).

O aquecimento através do micro-ondas é considerado eficaz na inativação dos inibidores de protease em sementes de leguminosas sem que afete a qualidade de nutrientes e proteínas. A imersão de leguminosas em água antes do tratamento por micro-ondas reduz significativamente a atividade dos inibidores de tripsina numa extensão maior em comparação com o método por micro-ondas a seco, devido ao maior teor de umidade na soja embebida, que proporciona melhores propriedades dielétricas. O tratamento térmico através do micro-ondas também reduz o tempo de processamento necessário para alcançar um nível seguro de inativação, quando comparado aos métodos convencionais (VAGADIA, 2016).

Com o objetivo de determinar a composição centesimal e quantificar o teor de inibidores de tripsina em diferentes cultivares de soja, Moura et al. (2007), utilizaram diferentes tratamentos térmicos para cocção da soja, dentre eles utilizaram o tratamento por micro-ondas. Eles concluíram que houve uma maior porcentagem de umidade dos grãos através do tratamento de micro-ondas, preservando a porcentagem de carboidratos, diminuindo o teor de proteínas na maior parte das cultivares, e mostrou-se também eficiente para redução dos inibidores de tripsina em dois dos cultivares.

3.2.3 Extrusão

A extrusão é o processamento onde o grão sofre uma pressão mecânica, com temperatura, umidade e tempo controlado. A temperatura entre 125 e 140 °C é ajustada no processo de extrusão em que a ração é destinada a frangos, visando não atrapalhar os resultados de desempenho dos mesmos (LEITE et al., 2012; OLIVEIRA et al., 2005). O processo de extrusão melhora a digestibilidade, a palatabilidade e o tempo de vida útil da matéria-prima, bem como aumenta a

eficiência do desenvolvimento dos animais que são alimentados (BARROWS; HARDY, 2000; CHENG; HARDY, 2003).

O tratamento através da extrusão pode ser realizado através da via seca e da via úmida. No processo de extrusão seca, uma rosca leva todos os ingredientes dentro de uma câmara cilíndrica capaz de processar os grãos de soja, moídos ou integrais. Neste processo a seco, o alto teor de óleo presente atua como lubrificante, e o calor e a pressão gerados elevam a temperatura para 138 a 150 °C, suficiente para inativar os fatores antinutricionais. Já na extrusão úmida, a soja é pré-condicionada com vapor de água e pressão, a uma temperatura de 125 a 138 °C (BELLAVIER; SNIZEK, 1999; CARDONA, 1991).

Independentemente do método de inativação, para o uso da soja integral como matéria prima, o processamento térmico adequado é de extrema importância, porém deve-se ter muito cuidado para que a amostra não sofra um superaquecimento, ocasionando a perda da qualidade proteica da soja, ou tenha um tratamento térmico insuficiente, resultando em altos teores de fatores antinutricionais (BARROWS; HARDY, 2000; LEITE et al., 2012).

3.3 PARÂMETROS DE INATIVAÇÃO DA SOJA

A necessidade do processamento térmico na soja integral para sua utilização na alimentação de animais monogástricos fez com que se desenvolvessem vários tipos de processamentos, tendo em vista a inativação dos fatores antinutricionais (CAFÉ et al., 2000). O processamento térmico quando aplicado na soja pode alterar suas características, o seu valor nutritivo e também afetar a saúde dos animais que a consomem. O processamento inferior a 100 °C, durante curtos períodos de tempo, não afeta o valor nutritivo, e ainda a aplicação do calor inativa os inibidores de tripsina, aumentando a disponibilidade da proteína presente na soja (LOKURUKA, 2011).

Os métodos laboratoriais são ideais para determinar o adequado processamento térmico da soja, no entanto, devido ao elevado custo e dificuldade

de análise estes são pouco utilizados na análise da inativação térmica (REAL-GUERRA et al., 2013).

Diversos métodos podem ser aplicados para determinar a inativação dos fatores antinutricionais na soja, tais como: atividade ureática, atividade inibidora da tripsina, atividade hemoaglutinante, solubilidade proteica em KOH (0,2%), lisina disponível e índice de proteína dispersível (BUTOLO, 2002).

3.3.1 Atividade ureática

Os grãos de soja apresentam uma grande quantidade da enzima uréase, e a urease é considerada um fator antinutricional, pois a uréia é comumente adicionada em ração animal. A adição de soja com alto teor de urease na ração pode levar à uma hidrólise da uréia e resultar na ingestão de amônia pelos animais, que entra rapidamente no sangue, resultando em efeitos tóxicos em ruminantes em geral, vacas leiteiras e em frangos, causando efeitos adversos desde o desempenho, até a morte do animal (HUNTINGTON et al., 2006; REAL-GUERRA et al., 2013)

A atividade ureática pode ser reduzida através do aquecimento, estes tratamentos térmicos, além de reduzir a atividade ureática, também reduzem outros fatores antinutricionais presentes na soja, como é o caso dos inibidores de proteases. Há uma correlação direta da atividade ureática com a atividade de inibidores de tripsina, indicando que a atividade ureática pode ser usada como critério para avaliar o processamento adequado da soja (REAL-GUERRA et al., 2013; VASCONCELOS et al., 2009). A análise da atividade ureática pode ser realizada através da análise da variação de pH, que é a mais adotada, devido sua praticidade e baixo custo (BUTOLO, 2002).

A soja *in natura* apresenta cerca de atividade ureática de 2,0 a 2,5 unidades de pH (BUTOLO, 2002). Assim, a intensidade do tratamento térmico, pode ser avaliada através da inativação da enzima urease que deve ser mantida entre 0,05 e 0,3 unidades de pH (BRASIL, 2017). Se a soja apresentar atividade ureática acima de 0,3 unidades de pH é considerada crua e imprópria para a utilização na alimentação animal e abaixo de 0,05 indica um processamento térmico excessivo

tornando a imprópria para alimentação (CAFÉ et al., 2000; BRITO et al., 2006; MENDES et al., 2004; OLIVEIRA, 2005).

A atividade ureática se fundamenta de que o tratamento térmico, quando aplicado de forma adequada, desnatura a enzima urease, e quando esta enzima é desnaturada, se torna um indicativo de que os inibidores de tripsina também foram inativados (BORGES et al., 2003).

A atividade ureática é capaz de avaliar a capacidade de inativação térmica dos fatores antinutricionais, não sendo possível este critério avaliar se o tratamento térmico afetou a qualidade da proteína presente na soja. Além disso, a atividade ureática não é útil para determinar o tratamento térmico excessivo, pois os resultados são sempre muito próximos a zero, e uma vez que aplicado o aquecimento adicional, a desnaturação da uréase não é detectada (CAPRITA; CAPRITA; CRETESCU, 2010).

3.3.2 Solubilidade proteica

A solubilidade é uma propriedade físico-química e funcional em proteínas. A solubilidade reduzida é um indicativo de desnaturação proteica. Sendo que na soja é desejável valores elevados de solubilidade proteica. As proteínas presentes nos grãos de soja são influenciadas pelo tratamento térmico, ou seja, sua solubilidade é reduzida na medida em que aumenta o tempo ou temperatura de exposição ao calor, do seu processamento. Há uma relação direta da redução da solubilidade da proteína da soja com a digestibilidade proteica e absorção de aminoácidos por aves e ruminantes (LEE; RYU; RHEE, 2003; MOURA, 2007),

A solubilidade em KOH é uma medida que se estima a solubilidade proteica no trato digestivo das aves e sua disponibilidade de aminoácidos. O teste de solubilidade proteica deve ser realizado sempre em paralelo ao teste de atividade ureática, para que se possa determinar a adequada inativação dos fatores antinutricionais (BUTOLO, 2002).

A solubilidade proteica (SP) é um dos parâmetros que avalia o grau do processamento térmico da soja. O valor de solubilidade proteica deve ser no mínimo de 80% (BRASIL, 2017), sendo que um processamento ideal deve resultar em

solubilidade proteica de 80 a 85%. Valores de SP abaixo de 70% indicam um superaquecimento da amostra e acima de 85% relaciona-se com a soja subprocessada (MENDES et al., 2004; OLIVEIRA, 2005).

3.3.3 Inibidores de proteases

Entre os fatores antinutricionais presentes na soja, se destacam os inibidores de proteases: inibidor Kunitz (KTI) e o Bowman-Birk (BBI), que possuem a capacidade de inibir a tripsina e tripsina/quimiotripsina, respectivamente. Estes inibidores se complexam com estas enzimas formando compostos de difícil dissociação, afetando a atividade enzimática. A hidrólise afetada das proteínas por estes inibidores diminui a digestibilidade proteica, e conseqüentemente diminui o ganho de peso, resultando em anomalias pancreáticas em animais que recebem-nas na alimentação (BERGER et al., 2015; GILLMAN et al., 2015; LEITE et al., 2012; ROY; BOYE; SIMPSON, 2010; SHIVAKUMAR et al., 2016; ZILIC et al., 2006).

Com uma massa molecular de 8 kDa, os BBI presentes na soja são geralmente compostos por 71 resíduos de aminoácidos (LOSSO, 2008). Esses inibidores permitem a formação de uma estrutura assimétrica composta por dois domínios independentes. Um domínio é capaz de inibir tripsina e o outro inibe também a quimiotripsina (DESHIMARU et al., 2004).

Embora já exista cultivares de soja com ausência de inibidores de tripsina (KTI), ainda estes, para melhorar a qualidade nutricional da soja requerem o tratamento térmico (MIURA et al., 2005). O método padrão para determinação de KTI é baseado na capacidade de extratos de farinhas de soja de inibir a atividade de tripsina em relação ao substrato cromogênico N benzoil – D,L-arginina *p*-nitroanilida (KAKADE et al., 1974). A atividade enzimática é determinada por leituras de absorvância do produto *p*-nitroanilina, formada durante um passo de incubação do substrato, na presença e ausência de extrato de soja. Os resultados são expressos em unidades inibidoras de tripsina (TIU) por grama de amostra de soja. Sendo cada TIU definida como a quantidade de inibidor que causa uma alteração de 0,01 em unidades de absorvância a 410 nm por 10 mL de mistura reativa sob as condições experimentais. O método é de difícil implantação no controle de qualidade nas

indústrias de processamento de soja, pois demanda tempo e custos (COSCUETA et al., 2017).

Na indústria de alimentos, métodos rápidos, de fácil execução e de baixo custo, que requeiram preparação mínima de amostras são cada vez mais requeridos para análise de matéria-prima para garantia do controle de qualidade e tomada de decisões no processamento (AMORIM et al., 2013).

3.4. ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO PRÓXIMO (NIR)

3.4.1 Fundamentação teórica

O espectrômetro NIR (*Near Infrared Reflectance*) é um equipamento de alta precisão que efetua análises de alimentos, em amostras orgânicas e algumas inorgânicas, através do princípio de emissão de radiação eletromagnética. A faixa do espectro eletromagnético com comprimento de onda de 0,7 a 1.000 μm é denominada infravermelho. Esse espectro é convenientemente dividido em infravermelho próximo (NIR, de 780 a 2500 nm), médio (MID, de 2500 a 50000 nm) e distante (FAR, de 50000 a 10^6 nm). Se devidamente calibrado, o NIR pode detectar a luz infravermelha e através desta, identificar e quantificar os compostos presentes em uma amostra. O método de análise por NIR é rápido, não destrutivo e requer preparação mínima da amostra (LIMA, 2009; SOARES, 2006; UNDERSANDER et al., 2006). Dentre os métodos infravermelhos, o FTIR (infravermelho com transformada de *Fourier*) é o mais completo. FTIR consiste na geração de um interferograma, utilizando-se de um interferômetro tipo Michelson ou configuração derivada. Os espectros são obtidos pelo cálculo da transformada de *Fourier*. O equipamento FTIR apresenta um espelho fixo e um móvel, e é o interferômetro, que mede a intensidade da luz em relação à posição do espelho móvel (BARTH, 2007).

A região do NIR foi uma das primeiras faixas do espectro não visível a ser descoberta, porém só foi utilizada muito tempo depois. O primeiro trabalho utilizando-se a análise não destrutiva por NIR envolveu a determinação do teor de

umidade de sementes no Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (*United States Department of Agriculture - USDA*). Posteriormente o sucesso da análise foi noticiado pela análise de proteína do trigo no Canadá por Phil em 1975 (OZAKI et al., 2007; NORRIS; HART, 1966). Devido a interferência da água na absorção do comprimento de onda, mais especificamente na área de combinação de 1900-2500 nm, o método, inicialmente, limitou-se à análise de grãos, como trigo, milho e soja. O desenvolvimento de sensores permitiu a detecção em comprimento de onda curto 700-1100nm, possibilitando a análise de alimentos com maior teor de umidade, como frutas, carnes e amêndoas (ALANDER et al., 2013).

Os espectros na região do NIR correspondem aos sinais de absorção e refletância, as ligações vibracionais ativas são combinações químicas frequentemente C-H, N-H e O-H. Essa técnica é útil para análises quantitativas de compostos orgânicos e tem muitas aplicações na análise de alimentos devido às suas facilidades experimentais (ALANDER et al., 2013; NUNES, 2008).

A Figura 1 apresenta as principais bandas analíticas e posições de pico relativas para absorções proeminentes no NIR. A maioria dos produtos químicos e biológicos exibem absorções únicas que podem ser usadas para análises qualitativas e quantitativas (METROHM, 2013).

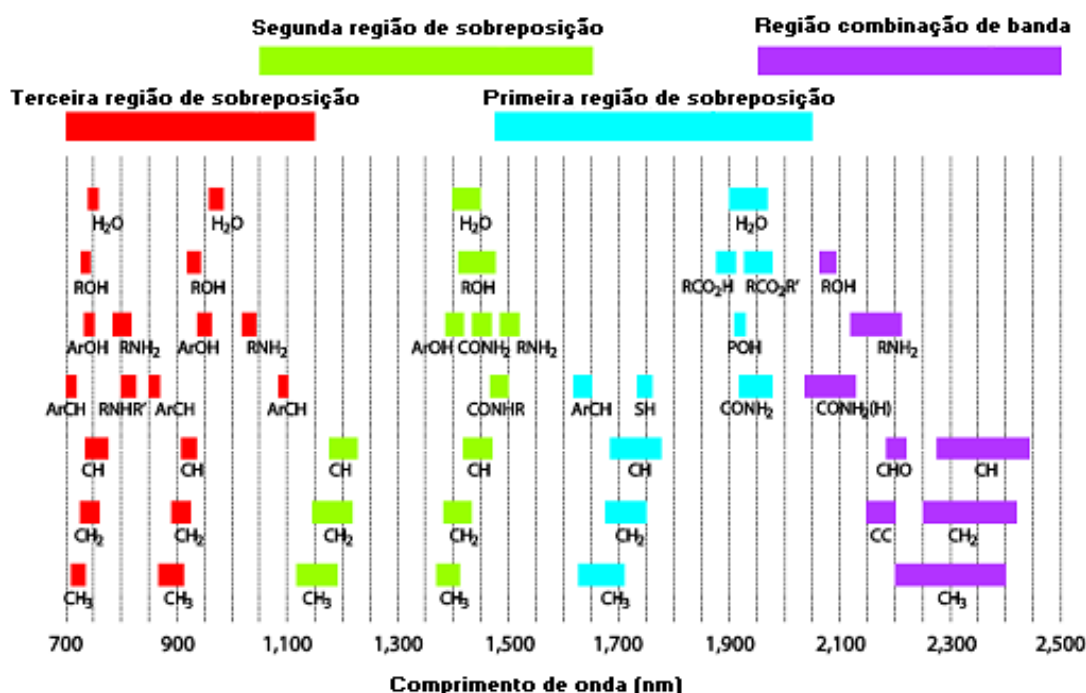


Figura 1 - Principais bandas analíticas e posições de pico relativas para absorções proeminentes no NIR.
Fonte: METROHM, 2013.

A Tabela 2 apresenta as regiões do NIR em que ocorrem movimentos associados às vibrações dos principais compostos orgânicos e compostos de enxofre.

Tabela 2 - Comprimentos de onda em nm e número de ondas em cm^{-1} de algumas bandas no NIR de compostos orgânicos e de enxofre.

Comprimentos de onda (nm)	Número de ondas (cm^{-1})	Movimento vibracional associado
2500	4000	Combinação estiramento S-H
2200-2460	4545-4065	Combinação estiramento C-H
2000-2200	5000-4545	Combinação estiramento N-H e O-H
1620-1800	6173-6250	1º sobretons estiramento C-H
1400-1600	7143-6250	1º sobretons estiramento N-H e estiramento O-H
1320-1420	7692-7042	Combinação estiramento C-H
1100-1225	9091-8163	2º sobretons estiramento C-H
1020-1060	9804-9434	Combinação estiramento S=O
950-1100	10526-9091	2º sobretons estiramento N-H e estiramento O-H
850-950	11765-10526	3º sobretons estiramento C-H
775-850	12903-11765	Sobretons estiramento N-H
600-700	16667-14286	Combinação estiramento C-S
450-550	22222-18182	Combinação estiramento S-S

Fonte: STUART, 2004.

Os modos de medição para a aquisição de espectros NIR em uma amostra são: transmissão, reflexão, transflexão e interação. A exemplo, no caso de amostras de soja utiliza-se a reflexão, ou seja, a fonte de luz, óptica (frequentemente espelhos) é colocada no mesmo lado da amostra, onde os detectores geralmente ficam a 45° para o plano da amostra, a luz emitida passa pela amostra antes de atingir o detector, onde a captura e integra esta luz a várias direções, como ilustrado na Figura 2 (ALANDER et al., 2013; BARTH, 2007).

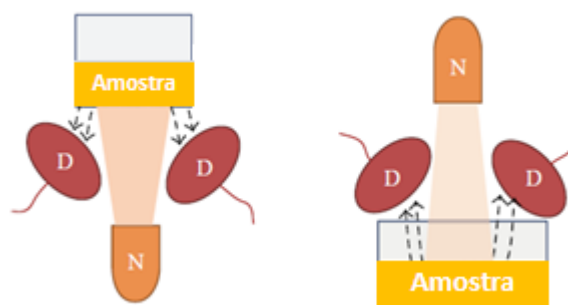


Figura 2 - Amostras dispostas ao infravermelho próximo. N: fonte de luz, D: detector.

Fonte: ALANDER et al., 2013.

Os comprimentos de ondas podem ser absorvidos pela amostra e assim a luz alcança o detector e transfere as informações sobre o espectro infravermelho

(BARTH, 2007). Na Figura 3, pode-se observar os espectros obtidos via NIR, de amostras de soja, para um conjunto de calibração, o qual visa estabelecer a relação entre os valores indicados pelo NIR e os valores padrões utilizados (Figura 3).

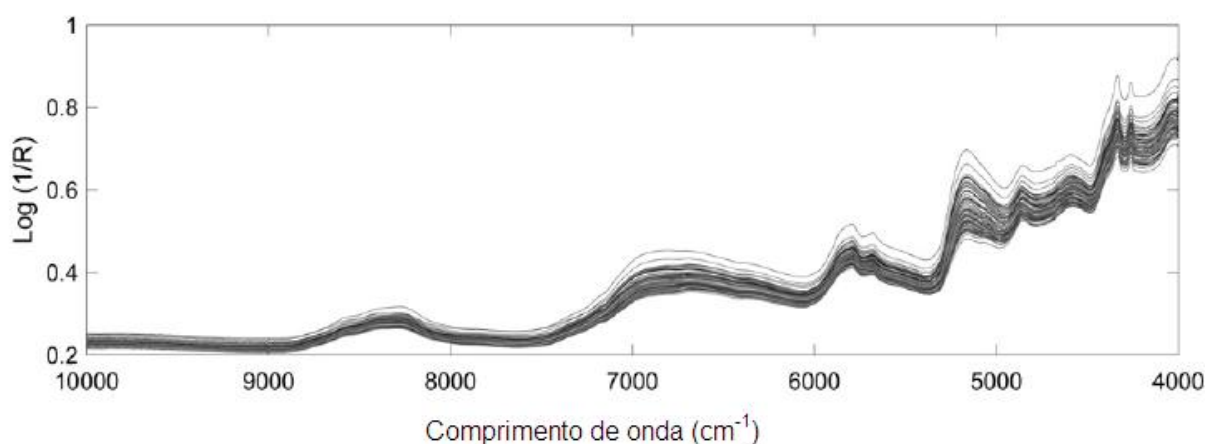


Figura 3 - Espectros NIR para amostras de soja no intervalo de 10.000 e 4000 cm^{-1}
Fonte: FERREIRA et al., 2013.

A radiação eletromagnética é absorvida seletivamente quando atravessa um material qualquer. O caminho óptico desconhecido depende do tamanho e da forma da partícula, da densidade do material e do tipo e intensidade de absorção. O feixe de radiação penetra a superfície do material e sofre diversos episódios de reflexão, refração, espalhamento e absorção parcial em seu interior. A radiação que emerge devido ao contato com milhões de moléculas resulta em menor energia do que quando entrou, por ter sido espalhada e absorvida seletivamente. A energia absorvida em comprimentos de onda específicos é correspondente aos espectros de absorção dos constituintes do material (SOARES, 2006).

A seleção espectral para determinação quantitativa utilizando o NIRS deve ser especificada para cada tipo de material. Destaca-se também a importância de se monitorar a granulometria da amostra, que deve ser homogênea, pois partículas maiores não causam mudanças na direção da radiação tão fortemente quanto partículas menores (SOARES, 2006).

A grande vantagem do NIRS consiste na técnica não ser destrutiva, não invasiva, a manipulação da amostra ser mínima. A amostra é apenas submetida a moagem, aumentando a rapidez das análises. Destaca-se também o seu baixo custo, por não utilizar reagentes e demais materiais laboratoriais. A técnica permite determinar parâmetros não químicos e sua exatidão é comparável a outras técnicas analíticas. Uma vez padronizado o método, as análises são obtidas em instantes.

Porém sua complexidade requer a aplicação de métodos quimiométricos para modelagem dos dados, sendo a etapa de calibração exigente, além de ser uma técnica pouco sensível, cujo limite de detecção é de aproximadamente 0,1% (NUNES, 2008; SOARES, 2009; FOSS, 2008).

O método NIR, pode ser utilizado em alimentos, na indústria química, farmacêutica e petroquímica, sua aplicação é bem sucedida em diversos alimentos, porém apresenta menos sensibilidade em detectar resíduos químicos e micotoxinas (TEYE et al., 2013). A desvantagem da técnica NIR, é que a luz incidente é dividida nos componentes de seu espectro, fazendo com que sua intensidade seja baixa, resultando em uma relação sinal/ruídos inferiores aos espectrômetros infravermelhos com transformada de *Fourier*, por exemplo, (BARTH, 2007).

3.4.2 Modelo de calibração

Em uma primeira etapa para uma análise por NIR, devem ser escolhidos os comprimentos de onda ideais para o tipo de composto que se quer determinar e o tipo de material a ser analisado. Para construção de um modelo de calibração é necessário se ter algumas informações sobre as variáveis dependentes (matriz Y), que são obtidas a partir das independentes (por exemplo, a refletância ou absorvância nos comprimentos de ondas), buscando encontrar relações entre estas variáveis, o que pode ser avaliado em torno de uma matriz (X), equação 1:

$$Y = Xb \quad (1)$$

Onde Y: vetor valores dependentes; b: vetor coeficientes de regressão; X: matriz de dados absorvâncias.

Para se obter a calibração, são necessárias duas etapas, o desenvolvimento do modelo de calibração e a validação do modelo que foi construído. Na calibração são obtidas as matrizes, uma com as respostas da variável independente (X) e outra matriz com as concentrações da variável dependente (Y), as quais são obtidas pelos métodos de referência. A partir daí se cria um modelo matemático que possa reproduzir Y a partir dos dados de X, que será utilizado para estimar as concentrações dos parâmetros de novas amostras. Sendo que na matriz (X) tem-se as amostras formadas pelos espectros de cada comprimento de onda e na matriz

(Y) tem-se os resultados das concentrações da mesma amostra correspondente a matriz (Y) (MORGANO et al., 2005).

3.4.3 Regressão multivariada

Um exemplo de modelo de calibração é a regressão por mínimos quadrados parciais (PLS = *partial least square regresion*). A PLS pode ser usada empregando o espectro inteiro em apenas alguns comprimentos de onda. Essa regressão foi introduzida por Wold em 1975. O número de componentes determina a complexidade do modelo. Devido a inúmeras variáveis correlacionadas, existe um risco sobre o ajuste, no entanto, com um mínimo de predição. Na calibração, a modelagem PLS, tem como objetivo encontrar a relação entre a matriz de dados espectrais (X), no qual contém os espectros das amostras e o vetor que armazena os dados de referência (Y). A partir destes, obtém-se o número de variáveis latentes necessárias para correlacionar os espectros e as concentrações (MORGANO, 2005; NUNES, 2008; SOARES, 2006; WOLD; SJÖSTRÖM; ERIKSSON, 2001).

Como o objetivo ao realizar a modelagem matemática, é encontrar a relação entre a matriz (X) e o vetor (Y) o resultado é a seguinte equação (3.2):

$$X = TP + E \quad (2)$$

A matriz (X) é decomposta e os valores de escores são relacionados com os *loadings* para cada um dos componentes na equação 3 sendo o vetor é calculado pela equação 4,

$$q = y (t^T t)^{-1} y^T \quad (3)$$

$$b = W (PW^T)^{-1} q^T \quad (4)$$

onde T são os escores, P são os pesos, E é a matriz de erros da decomposição X e W é a matriz dos pesos (MORGANO et al., 2008).

3.4.4 Modelo de validação

Além do conjunto de calibração, tem-se um conjunto de testes, que são utilizados para realizar a validação, no qual são verificadas as relações descobertas, ou seja, um conjunto de testes é usado para avaliar a força e utilidade da relação que foi predita. O modelo de calibração possui a capacidade de prever as concentrações de uma amostra baseando-se nos dados dos espectros do NIR gerados. Estes dados são avaliados a partir do cálculo do percentual de erros de previsão e os coeficientes de correlação, entre os valores dos espectros e os valores de referência das amostras, presentes no conjunto de calibração e também no conjunto de dados da validação (MORGANO, 2005; 2008).

A soma dos quadrados dos parâmetros de erros de previsão (PRESS – *predicted residual error sum of squares*) é definida como:

$$PRESS = \sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_i)^2 \quad (5)$$

Os erros que podem ser calculados podem mostrar a eficiência do desempenho do modelo matemático. O erro do quadrado médio (MSE) ou sua raiz quadrada (RMSE) ou erro padrão de previsão (SEP), podem ser calculados tanto na validação como na calibração. Assim, são conhecidos também como erro quadrado médio de calibração (MSEC) ou validação (MSEP) e também erro quadrado médio da raiz quadrada de calibração (RMSEC) ou validação (RMSEP).

$$MSE = \frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_i)^2}{n - 1} \quad (6)$$

$$RMSE = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_i)^2}{n - 1}} \quad (7)$$

E a equação do erro relativo percentual (ERRO (%)) entre as concentrações da referência e as concentrações desenvolvidas (NIR-PLS):

$$ERRO (\%) = \frac{(y_i - \hat{y}_i)}{y_i} \times 100$$

(8)

A relação de desempenho do desvio (RPD), que é a relação da variação natural nas amostras de calibração ou validação em relação ao tamanho dos prováveis erros que ocorrem durante a predição:

$$RPD = \frac{SD}{RMSE}$$

(9)

Onde n é o número de amostras, y_i é o valor de referência, \hat{y}_i é o valor previsto e SD é o desvio padrão.

E a equação do coeficiente de determinação (R^2) que é mostrado pelo gráfico da relação entre os valores da referência e valores preditos (MORGANO et al., 2005; MORGANO et al., 2008; FERREIRA et al., 2013; VALDERRAMA; BRAGA, 2009; WILLIAMS; NORRIS, 2001).

3.4.5 Aplicações da espectroscopia NIR para análise de alimentos

A espectroscopia de infravermelho próximo (NIR) vem sendo cada vez mais aplicada para a avaliação da qualidade dos alimentos, fornecendo informações para pesquisar a qualidade da matéria-prima e dos produtos alimentícios. Com o desenvolvimento da ciência da computação e da quimiometria, as aplicações do NIR tornaram-se mais populares e atraíram mais atenção de pesquisadores da área de alimentos. O método é capaz de detectar componentes em concentração mínima de 0,1%, sendo aplicado para determinação da composição centesimal de diversos alimentos e bebidas (CEN; HE, 2007).

A espectroscopia NIR vem sendo aplicada também para análise de componentes específicos, tais como: na pesquisa de adulteração de bebidas na avaliação da qualidade de leite e produtos lácteos, identificação e análise constituintes de frutas, vinho, carne, óleo e milho, classificação de vinhos, determinação de ácidos graxos livres e umidade em óleos de peixe, discriminação e quantificação de azeites adulterados e etc. (PARADKAR et al., 2002, PONTES et al.,

2006; COZZOLINO et al., 2003; COZZOLINO et al., 2005; KASEMSUMRAN et al., 2005). Mais recentemente, NIR vem sendo testado para medir resíduos químicos nocivos, como agroquímicos e micotoxinas em alimentos (TEYE et al., 2013).

A técnica de NIR, comparada a métodos de referência mostrou-se consistente e com excelentes habilidades preditivas para análises do teor de umidade, proteína, lipídios e cinzas em grãos de soja, e podem ser efetivamente aplicadas industrialmente como ferramenta para monitorar a qualidade da soja e medir diversos parâmetros de qualidade (FERREIRA et al., 2014).

Um conjunto de calibração multivariada foi desenvolvido baseando-se na metodologia da espectroscopia de infravermelho próximo (NIR), para determinar a fibra dietética total em soja, utilizando o método tradicional como referência, onde confirmou-se que a tecnologia NIR é um método que pode ser muito útil na substituição de método tradicional de análises rotineiras de fibra dietética da soja com precisão, sendo que ao utilizar o método tradicional, o tempo gasto nas análises foi bem superior, além de produzir quantidade considerável de resíduos químicos (FERREIRA et al., 2015).

A eficácia do NIR em aplicações de monitoramento de processos vem sendo estudada. Porém, observa-se a necessidade de estudos complementares de larga escala em uma variedade de produtos e processos alimentares para verificar sua viabilidade e precisão em condições típicas de processamento. Embora muitos estudos demonstrem os avanços significativos na aplicação da tecnologia NIR, surpreendentemente poucas pesquisas foram iniciadas para investigar a questão mais básica e talvez mais significativa da evolução dos produtos durante o processamento. O monitoramento contínuo através do NIR desses processos fornece um meio para que se possa analisar e selecionar o produto no local. Ou seja, a evolução do processamento pode ser monitorada no início, durante, e ao final, permitindo as alterações em linha (BOCK; CONNELLY, 2008).

Considerando que o controle de qualidade nas indústrias de alimentos é fator primordial para o processamento e tomada de decisões, a implementação de novas tecnologias para avaliação de parâmetros de qualidade da matéria-prima ou produto final faz-se necessário. Diante do vasto número de possibilidades de análises que o NIR proporciona, o estudo de novas aplicações desta tecnologia e mais importante a validação destas análises deve subsidiar o setor industrial, contribuindo com a garantia de qualidade de alimentos (AMORIM et al., 2013).

4. MATERIAL E MÉTODOS

A Figura 4 apresenta o delineamento experimental deste trabalho. Inicialmente foi comparado dois métodos para preparo de amostras de soja inativadas termicamente em escala laboratorial por tostagem e micro-ondas. Os resultados dos parâmetros de inativação térmica das amostras preparadas laboratorialmente foram comparados com amostras de soja inativadas em escala industrial. Estas amostras foram utilizadas para calibração e validação das análises de espectroscopia NIR para avaliar a aplicação deste método na determinação de parâmetros de inativação. Os resultados das análises por espectroscopia NIR foram comparados aos dados dos métodos de referência.

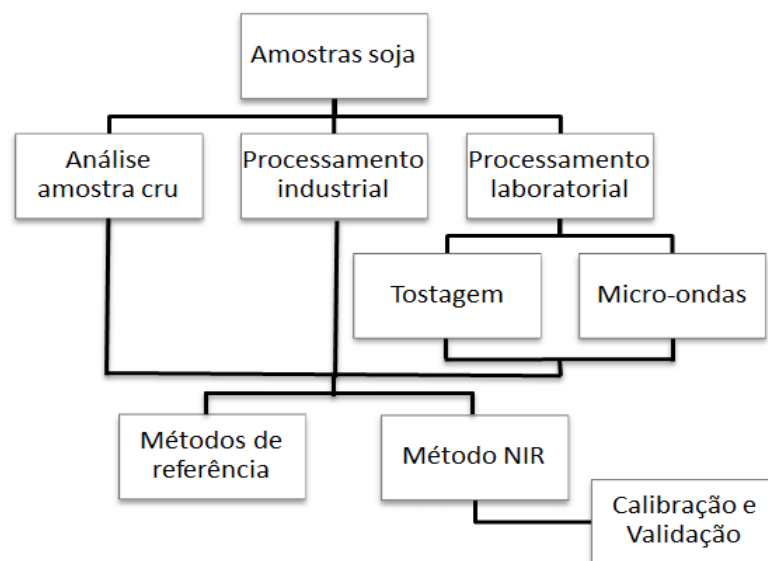


Figura 4 – Organograma do trabalho
Fonte: A autora.

4.1 AMOSTRAS DE SOJA

As amostras de soja integral foram coletadas durante o período de fevereiro a maio de 2016, amostras estas advindas da safra do Mato Grosso do Sul 2015/2016, da cultivar BRS 284. Estas amostras foram cedidas por fornecedores de uma fábrica de processamento de ração destinada a frangos de corte, localizada no norte central do estado do Paraná, onde foi realizado o tratamento térmico em escala industrial.

As amostras de soja integral foram recepcionadas na planta industrial de uma indústria processadora de soja, localizada no Paraná, ao chegar ao local de recepção, a soja passou pelo processamento de pré-limpeza e posteriormente foi armazenada em silos até a sua inativação. As amostras provenientes de um único silo foram encaminhadas para a inativação industrial e também para um laboratório de controle de qualidade de uma indústria processadora de rações para frangos, localizada no oeste de Santa Catarina. A amostra foi transportada a granel e coletada em no mínimo 6 pontos da carga, sendo posteriormente quarteadas e homogeneizadas e submetidas a inativação por micro-ondas e tostagem em laboratório.

4.2 MÉTODOS

4.2.1 Processamento da soja integral em escala industrial

Em escala industrial, a soja integral crua foi recepcionada, onde foi devidamente realizada a pré-limpeza e acondicionada em um silo de armazenagem. A figura 5 ilustra a inativação da soja em escala industrial.

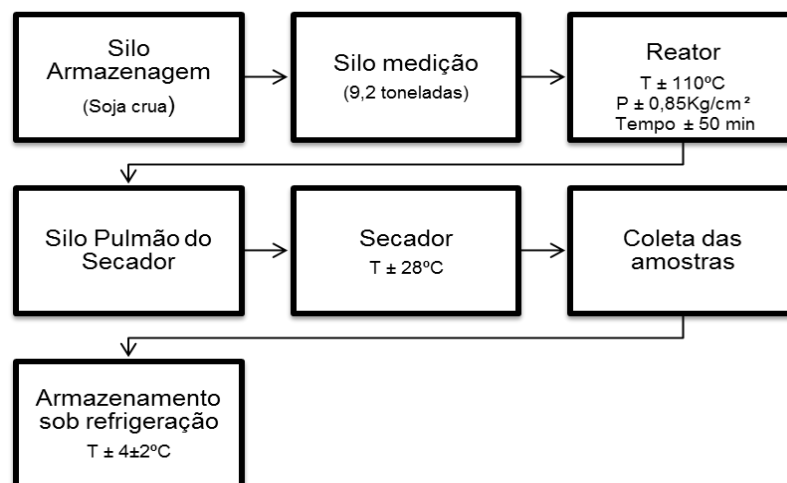


Figura 5 – Fluxograma desativação da soja em escala industrial.

Fonte: A autora

O processamento para inativação foi realizado em reator de batelada com capacidade para 9,2 toneladas. A duração do processo à vapor foi de 50 minutos em temperatura controlada de aproximadamente 110 °C e à pressão de 0,85 kg cm⁻². A temperatura média da amostra no reator foi de aproximadamente 60 °C. A soja inativada por esse método foi utilizada como referência para inativação em escala laboratorial. Após a inativação, a soja foi transportada até o silo pulmão do secador, que posteriormente foi encaminhada até o secador, para resfriamento até alcançar a temperatura de 28 °C. As amostras de soja já inativadas foram coletadas na saída do resfriador. Sendo estas amostras acondicionadas em embalagens plásticas e armazenadas sob refrigeração em temperatura de 4 ± 2 °C, até as suas respectivas análises.

4.2.2 Inativação térmica da soja integral em escala laboratorial

Dois métodos de tratamento térmico foram testados para inativar a soja em escala laboratorial: a secagem através da tostagem e a secagem através de micro-ondas. Durante os tratamentos térmicos a temperatura da amostra foi mantida próxima a temperatura praticada em escala industrial (± 60 °C). Devido à rápida secagem por micro-ondas e os riscos de superaquecimento da amostra, optou-se por imergir as amostras de soja em água a fim de se obter soja inativada com características mais próximas às amostras da escala industrial que ficam túrgidas, devido ao vapor de água. Assim, antes de passar pelos tratamentos térmicos, as amostras de soja integral foram devidamente imergidas em água destilada e retiradas as sujidades que restaram da pré-limpeza, desta forma foi possível manter a temperatura da amostra próxima a 60 °C durante o processamento. Sendo esta temperatura medida com o termômetro infravermelho (AKSO) no decorrer de todas as prévias dos tratamentos térmicos.

Antes de definir quais os tempos, temperaturas/potências utilizadas nos tratamentos, testes prévios baseados na literatura já publicada, foram realizados, variando conforme mostra a Tabela 3:

Tabela 3 – Testes prévios dos tratamentos térmicos aplicados na soja integral.

	Tempo (min)		Temperatura (°C)
	Tostagem	30	110
		40	150
		50	220
	Tempo (min)		Potência (W)
	Micro-ondas	15	10
		20	50
		25	100

Baseados nos resultados dos testes prévios, utilizando diferentes tempos e temperaturas no tratamento de tostagem, e diferentes tempos e potências no tratamento de micro-ondas, chegou-se nas condições de tratamento como mostrado na Tabela 4:

Tabela 4 – Condições dos tratamentos térmicos aplicados na soja integral.

Tratamentos		1	2	3	4	5	6	7	8	9
Tostagem (T)	Tempo (min)	20	30	40	20	30	40	20	30	40
	Temperatura (°C)	110	110	110	120	120	120	130	130	130
Micro-ondas (M)	Tempo (min)	15	20	25	15	20	25	15	20	25
	Potência (W)	20	20	20	30	30	30	40	40	40

No tratamento térmico através do processo de tostagem, aproximadamente 1,5 kg de amostra para cada tratamento térmico foi seca em estufa (Quimis®), por tostagem ou micro-ondas (Brastemp®) em recipiente de cerâmica, com dimensões (35cm x 25 cm), nos diferentes tempos e temperaturas propostos. Utilizou-se as combinações de tempo e temperatura (Tabela 4) para secagem através da tostagem, e de tempo e potência para micro-ondas. Após a secagem as amostras foram resfriadas a temperatura ambiente e acondicionadas em embalagens plásticas, as quais foram armazenadas sob refrigeração em temperatura de 4 ± 2 °C, até as suas respectivas análises.

4.2.3 Métodos de referência

4.2.3.1 Análise da inibição da tripsina

A atividade da inibição da tripsina foi determinada de acordo com Kakade et al. (1974). Primeiramente foi realizada a extração dos inibidores, através da agitação de 1 g da amostra em 50 mL de NaOH (0,01 N), por 1 hora, até ajustar o pH de 8,4 a 10,0. Após realizado o ajuste do pH, centrifugou-se 10 minutos à 8000 rpm, e o sobrenadante foi utilizado para determinar a atividade inibitória da tripsina. Cerca de 0,6 a 1,8 mL da amostra, teve o volume ajustado a 2 mL com água destilada, o qual foi adicionada de 2 mL de solução de tripsina e 5 mL do substrato benzoil-DL-arginina-*p*-nitroanilida (BAPA). A mistura permaneceu em banho maria, durante 10 minutos a 37 °C, sendo que a reação foi interrompida ao adicionar 1 mL de ácido acético 30%, a absorbância lida a 410 nm, sendo subtraída a amostra do branco. Uma unidade de tripsina (UT) foi definida como o aumento de 0,01 unidade de absorbância a 410 nm por 10 mL, e os resultados foram expressos como UTI (unidade de tripsina inibida) por mg de proteína. A proteína do sobrenadante foi determinada pelo método Microkjeldahl (AOAC, 1995).

4.2.3.2 Teor de atividade ureática

O método de análise da atividade ureática seguiu o método de AOCS (1993). Cerca de 0,2 g da amostra foi moída e pesada, uma para prova real e outra para prova em branco, as amostras foram transferidas quantitativamente para dois tubos de ensaio (A e B). No tubo A, foi adicionado 10 mL de solução tampão de fosfato pH 7,00 (prova em branco). No tubo B, foi adicionado 10 mL de solução tampão de ureia pH 7,0 (prova real). Os tubos foram tampados e colocados em banho termostático durante 30 minutos, à temperatura de 30 °C ± 1°C, permitindo um intervalo de 5 minutos entre a preparação do teste (uréia) e o branco (fosfato), agitando os tubos de 5 em 5 minutos. Após os 30 minutos, retirou-se os tubos do

banho e aguardou-se 5 minutos, medindo-se o pH do tubo A e do tubo B. A atividade ureática foi obtida, subtraindo o pH da amostra B menos o pH da amostra A.

4.2.3.3 Determinação da solubilidade proteica

O método de referência utilizado para determinar a solubilidade proteica foi o descrito em Brasil (1991). Cerca de 2 g de amostra foram adicionadas a solução de hidróxido de potássio (KOH) 0,2% (0,036N), agitando-se por aproximadamente 20 minutos, e centrifugando até revolver toda a amostra. Em seguida, a amostra foi filtrada em funil analítico. Sendo o teor de proteínas determinado na fração límpida do filtrado pelo método de Kjeldahl (1883), conforme a *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC, 1997).

A amostra foi colocada ao tubo de Kjeldahl juntamente com a mistura catalítica (sulfato de sódio anidro e cobre pentahidratado (10:1) e ácido sulfúrico). Em seguida a amostra foi digerida, no qual iniciou-se com temperaturas baixas (± 100 °C) até alcançar 400 °C e a atingir a coloração azul esverdeada. Posteriormente as amostras foram destiladas em destilador de nitrogênio com hidróxido de sódio e foram coletadas em solução de ácido bórico para então serem tituladas com ácido clorídrico. O percentual de proteína total das amostras de soja inativada e da proteína do sobrenadante solúvel em KOH (0,2%) foram calculados seguindo a equação 10:

$$\% \text{ Proteína} = \frac{\text{Vol. HCl} \times \text{Mol. HCl} \times \text{Fator de correção} \times 14}{\text{Massa da amostra}} \times 6,25 \quad (10)$$

A solubilidade proteica foi determinada a partir do resultado da porcentagem da proteína do sobrenadante, dividido pela porcentagem da proteína total da amostra, multiplicados por 100, como na equação 11:

$$\% \text{ Solubilidade Proteica} = \frac{\% \text{ Proteína Sobrenadante}}{\% \text{ Proteína Total}} \times 100 \quad (11)$$

4.2.3.4 Umidade

Pesou-se de 3 a 5 g da amostra, as quais foram secas em estufa pré-aquecida a 105°C, a amostra permaneceu em estufa até obter peso constante. A umidade foi determinada calculando-se a diferença do peso inicial e final da amostra, divididos pelo peso inicial da amostra, posteriormente multiplicados por 100 (IAL, 2008).

4.2.3.5 Lipídio

O teor de lipídios foi realizado seguindo o método descrito em AOAC (1995), através do extrator de Soxhlet, onde a amostra foi extraída com a utilização do solvente éter de petróleo ao, a amostra foi extraída por um período de 3 horas, à uma velocidade de condensação de 2 a 4 gotas por segundo. A porcentagem de lipídios foi calculada dividindo o resíduo da extração da amostra pelo peso da amostra em gramas, multiplicados por 100.

4.2.3.6 Proteína

O teor de proteínas determinado seguindo o método de Kjeldahl, conforme a *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC, 1997). A amostra foi colocada ao tubo de Kjeldahl juntamente com a mistura catalítica (sulfato de sódio anidro e cobre pentahidratado (10:1) e ácido sulfúrico). Em seguida a amostra foi digerida, no qual iniciou-se com temperaturas baixas (± 100 °C) até alcançar 400 °C e a atingir a coloração azul esverdeada. Posteriormente as amostras foram destiladas em destilador de nitrogênio com hidróxido de sódio e foram recebidas em solução de ácido bórico para então serem tituladas com ácido clorídrico. O percentual de proteína total das amostras de soja inativada e da proteína do sobrenadante solúvel

em KOH (0,2%) foram calculados seguindo a equação 10, citada na metodologia da solubilidade proteica.

4.2.4 Espectroscopia no infravermelho próximo (NIR)

Todas as amostras de soja tratadas termicamente na indústria e no laboratório, foram devidamente moídas em moinho da marca MARCONI®, peneira 0,7 mm e submetidos ao equipamento de espectroscopia no infravermelho próximo NIRS (FOSS NIRSystems™, modelo XDS analyzer), onde os espectros de reflectância na região do infravermelho próximo foram coletados, sendo realizadas estas análises em triplicatas para cada amostra, com resolução de 0,5 nm, 32 varreduras para cada espectro e a região espectral varia de 400 à 2500 comprimento de ondas, os resultados são expressos em comprimento de onda, versus $\log(1/R)$, R= reflectância, por comprimento de onda.

4.2.4.1 Análises dos dados

O método de regressão multivariada utilizado para o tratamento de dados deste estudo foi o método PLS (regressão por quadrados mínimos parciais) através do *software* WINISI, versão IV.

4.2.4.2 Parâmetros de validação

Os espectros obtidos foram divididos em dois: um para a calibração e outro para a validação, onde foi realizado um conjunto de testes, para verificar a utilidade da relação que foi predita. O modelo de calibração foi desenvolvido para prever o teor de umidade, proteína, lipídios e solubilidade proteica baseando-se nos espectros gerados pelo NIR, e foram avaliados através de erros de previsão e

coeficientes de correlação entre o método de referência e os espectros obtidos a partir do método NIR. Os erros calculados foram o PRESS, RMSEP, ERRO, RPD, que são as fórmulas já descritas nas equações 5, 7, 8 e 9, e também o coeficiente de determinação (R^2) que é mostrado pelo gráfico da relação entre os valores da referência e valores preditos.

4.3 TRATAMENTO DE DADOS

Na primeira etapa do trabalho (artigo 1), foram aplicados os testes de normalidade, a partir do teste de *Shapiro Wilk*, e o teste não paramétrico de *Kruskal Wallis*. Em um nível de 95% de confiança, os resultados foram submetidos aos tratamentos, através do *software* XLSTAT, versão 2015 (ADDINSOFT, 2015). A análise dos dados referente às análises de espectroscopia de infravermelho próximo (artigo 2) foi realizada a partir do método de regressão multivariada PLS (regressão por quadrados mínimos parciais) e o *software* utilizado foi o Winisi IV.

5. RESULTADOS

Os resultados desta dissertação serão apresentados no formato de artigos conforme abaixo:

ARTIGO 1 - INATIVAÇÃO DE SOJA (*Glycine max. (L) Merril*) POR TOSTAGEM E MICRO-ONDAS

ARTIGO 2 - ESPECTROSCOPIA NIR PARA ANALISE DA QUALIDADE DE SOJA INATIVADA TERMICAMENTE

ARTIGO 1 - INATIVAÇÃO DE SOJA (*Glycine max. (L) Merril*) POR TOSTAGEM E MICRO-ONDAS

SOYBEAN (*Glycine max. (L) Merrill*) INACTIVATION BY TOASTING AND MICROWAVE

Natalia Regina Marchese¹, Eder da Costa dos Santos², Elisabete Hiromi Hashimoto³.

¹ Mestranda do Programa de Pós Graduação em Tecnologia de Alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Francisco Beltrão.

² Professor Doutor da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Francisco Beltrão.

³ Professora Doutora do Programa de Pós Graduação em Tecnologia de Alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Francisco Beltrão.

RESUMO

Os inibidores de tripsina presente na soja *in natura* são compostos antinutricionais que podem ser inativados termicamente. O objetivo desta pesquisa foi avaliar o efeito da tostagem e micro-ondas na inativação da soja. O efeito da tostagem (T1 - T9: 110 a 120 °C/ 20 a 40') e micro-ondas (M1 - M9: 20 a 40W/15 a 25') foi avaliado pela determinação da solubilidade proteica, atividade ureática e análise dos inibidores de tripsina, as amostras foram comparadas com amostras de soja termicamente processadas em escala industrial (110 °C a 0,85 kg.cm⁻²/ 50'). Considerando os resultados obtidos, a tostagem T8 (30'/130 °C) e o micro-ondas M5 (20'/30W) apresentaram parâmetros de inativação mais próximos à amostra processada industrialmente, representando alternativas de processamento.

Palavras-chave: inibidores de tripsina, antinutricional, soja.

INTRODUÇÃO

Os grãos integrais de soja *in natura* apresentam fatores antinutricionais, que inibem as atividades de algumas enzimas e proteínas, interferindo na absorção e aproveitamento de nutrientes, limitando o valor nutricional e diminuindo a sua digestibilidade (BRUM, 2006; MENDES et al., 2004).

Dentre os fatores antinutricionais, destacam-se os inibidores Kunitz (KTI) e o inibidor de Bowman-Birk (BBI), que inibem a tripsina e a quimiotripsina. Devido à inibição da digestão proteica, estes inibidores reduzem consideravelmente o

desenvolvimento de monogástricos, e acarretam na diminuição do ganho de peso, além de causar disfunções pancreáticas (GILLMAN et al., 2015). O processamento térmico dos grãos além de inativar estes inibidores pode também reduzir outros fatores antinutricionais (SHIVAKUMAR et al., 2016).

A necessidade de aplicar o tratamento térmico na soja integral fez com que diversos métodos de processamentos fossem desenvolvidos: micro-ondas, tostagem por tambor rotativo, tostagem por vapor úmido, tostagem por vapor seco, tostagem por *jet sploder*, extrusão úmida ou seca e micronização (BRUM, 2006). O tratamento térmico pode aumentar a digestibilidade da proteína de soja. No entanto, o tratamento térmico além de aumentar os custos do processo, se excessivo, pode afetar disponibilidade de aminoácidos essenciais (LOKURUKA, 2011). O processo de tostagem opera por secagem em temperaturas de 110 à 170 °C (LEITE et al., 2012). O processamento por micro-ondas, baseia-se na geração de calor promovido diretamente pela agitação das moléculas de água presentes na amostra (ZILIC et al., 2006).

Independente do método aplicado, os tratamentos térmicos disponíveis e amplamente disseminados podem ser insuficientes para a total inatividade destes inibidores (BRANDON et al., 1991). Razão pela qual os tratamentos devem ser muito bem controlados, evitando possíveis efeitos indesejados, tais como perdas na disponibilidade de minerais e destruição de aminoácidos essenciais (HUANG et al., 2008). Assim, o trabalho teve como objetivo determinar os parâmetros de inativação em soja submetida à tostagem e micro-ondas.

MATERIAL E MÉTODOS

As amostras de soja *in natura* de cultivar BRS 284, safra 2016, pré-limpas, foram coletadas em 6 pontos da carga a granel, posteriormente quarteadas e homogeneizadas. Em escala industrial (EI), a soja foi processada em reator de batelada com capacidade de 9,2 toneladas, com vapor à 110 °C em pressão de 0,85 kg.cm⁻² por 50 min. Sendo que as amostras foram coletadas antes do processamento (amostras crua) e ao final do processamento (50 min). A temperatura média da amostra no interior do reator foi de 60 °C, a qual foi utilizada

como referência para inativação em escala laboratorial. As amostras foram acondicionadas em embalagens plásticas e armazenadas a 4 ± 2 °C até as análises.

Para os ensaios em escala laboratorial os grãos de soja *in natura*, foram lavados e emergidos em água, afim de se obter grãos de soja com aspecto similar ao da escala industrial. As condições de inativação da soja, baseado em testes prévios realizadas no laboratório estão apresentadas na Tabela 5:

Tabela 5 - Tratamentos térmicos aplicados na soja *in natura*.

Tratamentos		1	2	3	4	5	6	7	8	9
Tostagem (T)	Tempo (min)	20	30	40	20	30	40	20	30	40
	Temperatura (°C)	110	110	110	120	120	120	130	130	130
Micro-ondas (M)	Tempo (min)	15	20	25	15	20	25	15	20	25
	Potência (W)	20	20	20	30	30	30	40	40	40

Escala industrial (EI): 110 °C, 0,85 kg.cm⁻², 50 min.

Após a secagem, as amostras foram resfriadas à temperatura ambiente e acondicionadas em embalagens plásticas e armazenadas à 4 ± 2 °C, até as suas respectivas análises.

A solubilidade da proteína foi determinada a partir do método em que se determina o percentual de proteína que é solúvel em KOH (0,2%), descrito por BRASIL (1991), seguida da quantificação da proteína por AOAC (1997). A atividade ureática foi determinada de acordo com o descrito em AOCS (1993), onde o método se baseia na variação do pH em função da amônia liberada pela ação dessa enzima. A análise da atividade inibitória de tripsina foi realizada seguindo o método descrito por Kakade et al. (1974), onde uma alíquota de 1,0 g da amostra foi adicionada à 50 mL de NaOH 0,01 N, utilizando-se de 0,6 a 1,8 mL da amostra, ajustada a 2 mL com água, a qual posteriormente foi acrescentada de 2 mL de solução de tripsina e 5 mL do substrato benzoil-DL-arginina-p-nitroanilida (BAPA). A mistura permaneceu aquecida em banho-maria, por 10 minutos a 37 °C. A reação foi interrompida pela adição 1 mL de ácido acético 30%. Uma unidade de tripsina (UT) foi definida como o aumento de 0,01 unidade de absorvância a 410 nm por 10 mL, e os resultados foram expressos como UTI (unidade de tripsina inibida) por mg de proteína.

Os resultados de cada parâmetro analisado referente a cada um dos tratamentos térmicos aplicados foram realizados em triplicatas e tiveram suas médias comparadas aos dados das amostras da escala industrial, através do teste não paramétrico de Kruskal Wallis, uma vez que os parâmetros não apresentaram

uma distribuição normal. O *software* utilizado foi o XLSTAT, versão 2015 (ADDINSOFT, 2015).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 6 apresenta os resultados das análises das amostras de soja crua e processadas por escala industrial (EI). Os resultados da EI foram utilizados como referência para comparar os processamentos por tostagem (T) e micro-ondas (M) no laboratório.

Tabela 6 - Parâmetros de inativação da soja crua e soja inativada por escala industrial.

Amostra de soja	Parâmetro		
	SP (%)	AU (Δ pH)	AIT (mg.g^{-1})
Crua	93,59 \pm 2,03	2,22 \pm 0,03	112,87 \pm 0,10
Inativada por EI	84,12 \pm 0,66	0,05 \pm 0,02	18,24 \pm 0,02

SP: solubilidade proteica; AU: atividade ureática; AIT: atividade do inibidor de tripsina; EI: escala industrial (110 °C, 0,85 kg.cm⁻², 50 min).

O valor de solubilidade proteica (SP) deve ser no mínimo de 80%. Valores de SP abaixo de 70% indicam um superaquecimento da amostra e acima de 85% relaciona-se a soja subprocessada (MENDES et al., 2004). A SP é um pré-requisito necessário para melhor digestão e absorção de proteínas. A amostra de soja crua apresentou SP de 93,59 \pm 2,03 % e após o processamento industrial (50'/100 °C/0,85 kg.cm⁻²) o teor de SP foi de 84,12 \pm 0,66 %, indicando que o tratamento térmico da escala industrial foi suficiente.

A urease é considerada um fator antinutricional, pois pela hidrólise da uréia comumente adicionada na ração, pode resultar em altos teores de amônia, tóxica aos animais. Por ser termolábil, a atividade ureática (AU) se torna indicativo também do tratamento térmico aplicado, refletindo na inativação dos fatores antinutricionais presente na soja (REAL-GUERRA et al., 2013). A determinação da AU baseia-se na variação de pH que ocorre em função da formação de amônia pela ação da urease, uma vez que a amônia apresenta caráter alcalino (AOAC, 2000). A soja crua apresentou AU de Δ pH = 2,22, valor esse reduzido após o processamento em escala industrial (EI), Δ pH = 0,06. Uma variação de Δ pH = 0,30 a 0,05 para AU é o

recomendado para soja destinada a alimentação de monogástricos (BRITO et al., 2006).

Os inibidores de TKI e BBI são termolábeis e comumente inativados pelo calor. Porém, estudos mostram que os diferentes tratamentos térmicos aplicados podem não ser suficientes para a total inativação destes inibidores (BRANDON et al., 1991). A amostra de soja crua apresentou atividade inibitória da tripsina de $112,87 \pm 0,10$ UTI.mg⁻¹ de proteína, a qual foi drasticamente reduzida após o processamento para $18,24 \pm 0,02$ UTI.mg⁻¹ de EI.

Os resultados dos parâmetros de inativação das amostras de soja termicamente processadas por micro-ondas e tostagem são apresentados na Tabela 7.

Tabela 7 – Parâmetros de inativação de amostras de soja termicamente tratadas por micro-ondas e tostagem.

		Tratamento térmico								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
SP (%)	T	89,33 ±1,55	88,25 ±2,80*	87,32 ±2,92*	84,53 ±0,9*	80,87 ±2,25	79,06 ±1,09	77,19 ±0,75	77,12 ±0,74	75,25 ±0,92
	M	91,29 ± 1,63	87,95 ± 1,29	82,37 ± 5,70*	79,49 ± 0,92	78,75 ± 1,46	76,78 ± 1,01	74,36 ± 3,05	68,01 ± 1,41	66,10 ± 0,72
AU (ΔpH)	T	0,67 ± 0,03	0,61 ± 0,05	0,61 ± 0,05	0,28 ± 0,04	0,26 ± 0,04	0,20 ± 0,01	0,17 ± 0,03	0,09 ± 0,01	0,05 ± 0,02*
	M	0,80 ± 0,08	0,68 ± 0,08	0,66 ± 0,06	0,21 ± 0,03	0,19 ± 0,02	0,16 ± 0,03	0,04 ± 0,02*	0,03 ± 0,03*	0,02 ± 0,02*
AIT (UTI/mg)	T	22,96 ± 0,08	22,65 ± 0,14	19,68 ± 0,72	19,31 ± 0,14	18,79 ± 0,29	17,16 ± 0,12	18,92 ± 0,12	18,26 ± 0,03*	13,99 ± 0,08
	M	40,26 ± 0,06	35,82 ± 0,09	34,98 ± 0,18	17,06 ± 0,47	18,32 ± 0,04*	17,17 ± 0,12	14,24 ± 0,03	10,99 ± 0,07	8,45 ± 0,28

* média não se diferiram da EI ($p > 0,05$) pelo teste de Kruskal Wallis. T: tostagem; M: Micro-ondas. SP: solubilidade proteica; AU: atividade ureática; AIT: atividade do inibidor de tripsina.

De acordo com a Tabela 7, em relação à SP, os tratamentos de tostagem T2, T3 e T4 (30'/110 °C a 20'/120 °C) e M3 (25'/20W) não diferiram ($p > 0,05$) do processo industrial, apresentando valores de SP de 82,37 a 88,25%. Temperaturas de 110 °C por apenas 20' (T1) tiveram valores de SP elevados, indicando que o processo foi insuficiente para um tratamento adequado. Já o tratamento por micro-ondas, mostrou que a potência de 40 W, com tempos de exposição superior a 15 minutos, pode ocasionar o superaquecimento da amostra, que resultou em SP de $68,01 \pm 1,41\%$ em M8 e $66,10 \pm 0,72\%$ para M9. Avaliando a solubilidade proteica através de grãos de soja tostados, outros estudos concluíram que, 130 °C durante 30 minutos não foi o suficiente para inibir os fatores antinutricionais, pois a

solubilidade permaneceu acima de 85%, já quando aplicada a temperatura de 150 °C nos mesmos 30 minutos a solubilidade proteica da soja variou entre 70 a 85%, indicado no estudo como o processamento térmico adequado para preservar a qualidade proteica (ANDRADE et al., 2010). Bem como ao estudar os grãos de soja tostados a 150 °C, durante 17 minutos, e expandidos de 30 a 60 segundos de 120 °C a 136 °C encontrou-se valores de solubilidade proteica de 83,98 a 86,21% (CAFÉ et al., 2000; MENDES et al., 2004).

A tostagem acima de 120 °C (T4-T9) e micro-ondas acima de 30W (M4-M9) apresentaram AU com $\Delta\text{pH} < 0,30$. No entanto somente T9, M7-M9 não diferiram ($p > 0,05$) quanto a AU das amostras tratadas por EI. Sendo que baixas temperatura (T) e baixas potências (M) não foram suficientes para inativar a enzima urease, com resultados de AU de $\Delta\text{pH} = 0,61$ (T3) a $\Delta\text{pH} = 0,80$ (M1). No entanto, somente a determinação de AU não é capaz de detectar o superaquecimento, uma vez que a enzima não é detectada após a sua desnaturação (CAPRITA et al., 2010). Em um estudo com a aplicação de diferentes temperaturas na soja durante 30 minutos, a 130 °C em estufa, mostrou que estas condições não foram suficientes para desativar a soja, (0,67 a 1,42 ΔpH), sendo necessário a temperatura de 150 °C em estufa por 30 minutos, para atingir valores desejáveis (ΔpH de 0,04 a 0,19), sendo que a 170 °C por 30' resultou em superaquecimento da amostra ($\Delta\text{pH} < 0,05$, (ANDRADE et al., 2010). Assim como, ao tratar termicamente grãos de soja, a (150 °C/17 minutos) por tostagem e (30 a 60seg/120 °C a 136 °C) por expansão, autores encontraram atividade ureática de 0,02 a 2,09 ΔpH , havendo dentro destes, resultados de superaquecimento e tratamento não suficientes para a desativação dos inibidores de tripsinas presentes nas amostras (CAFÉ et al., 2000; MENDES et al., 2004).

Os resultados de atividade do inibidor de tripsina (AIT) variaram de acordo com a temperatura/potência e tempo dos tratamentos térmicos aplicados. Conforme maior o tempo e maior a temperatura/potência maior a inativação do inibidor de tripsina. Entre os tratamento aplicados, T8 (30'/130 °C) e M5 (20'/30 W) não diferiram ($p > 0,05$) da ATI da escala industrial, apresentando valores de 18,26 e 18,32 $\text{UTI} \cdot \text{mg}^{-1}$ respectivamente. Assim como ao tratar termicamente a 120 °C grãos de soja, estudos encontraram valores que variaram 0 a 19,11 mg de tripsina inibida/g de proteína do extrato, variando de 100% a 84,45% a porcentagem de redução da atividade inibitória de tripsina (CARDOSO et al., 2007)

Entende-se que para se ter bons resultados, necessita-se inativar ao menos 80% da atividade inibitória dos inibidores de tripsina presentes nos grãos de soja. Entre os resultados obtidos, as amostras que receberam tratamento térmico com as menores potências/temperaturas e tempos, mostraram-se não suficientes para inativar 80% dos inibidores presentes, sendo no tratamento de tostagem os tratamentos T1 (20'/110°C), 79,68% e T2 (30'/110°C), 79,94%, e no tratamento de micro-ondas os tratamentos M1, M2 e M3 (15, 20, 25'/30W), que variaram de 87,41 a 92,42% foram considerados impróprios para utilização no processo de secagem da soja. Levando em consideração que os dados da EI foi mantida como parâmetro de comparação, para obtenção dos resultados da escala laboratorial, nenhum dos tratamentos apresentou todos os parâmetros de avaliação da inativação da soja (SP, IU e AIT), com diferenças não significativas. Não obstante, considerando a AIT como parâmetro principal de inativação e os valores aceitáveis de AU (ΔpH 0,30 a 0,05) e SP (70 a 85%), os tratamentos M5 e T8 apresentam parâmetros apropriados para a inativação da soja.

CONCLUSÃO

O tratamento térmico conduzido pela tostagem e/ou micro-ondas, representam processamentos alternativos ao processo industrial (pressão e vapor), que é considerado o padrão. A avaliação laboratorial do processo fornece informações sobre as condições adequadas para inativação da soja. De acordo com os resultados obtidos, concluiu-se que, a tostagem por 30 a 130°C e o micro-ondas por 20' à 30W foram os tratamentos térmicos apropriados para a inativação da soja sem provocar um superaquecimento da amostra. A determinação do tempo, temperatura e potência suficientes para obtenção de produtos com qualidade nutricional da soja é uma ferramenta para otimização dos processos industriais.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

ADDINSOFT. Data analysis and statistical application version 2015.3. New York, USA: Addinsoft SARL. Trial version. Disponível em: <<http://www.xlstat.com/en/download.html>>. Acesso em 24 set. 2015.

AMERICAN OIL CHEMISTS SOCIETY. **Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists Society**. 40. Ed. AOCS, Official method Ba9-58, 1993.

ANDRADE, G.F.; DANTAS, M. I. S.; PIOVESAN, N. D.; NUNES, R. M.; BARROS, E. G.; COSTA, N. M. B.; MARTINO, H. S. D. Tratamento térmico adequado proporciona melhoria da qualidade nutricional de farinhas de soja elaboradas a partir de novos cultivares destinados à alimentação humana. **Revista Instituto Adolfo Lutz**. São Paulo, v.69, n.4, p.537-44, 2010.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (A.O.A.C.). **Official methods of analysis**. 16. ed, v.2, cap. 32, p.1-43,1997.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (A.O.A.C.). **Official methods of analysis**. Metals and other elements, chapter 9, 2000.

BRANDON, D.L; BATES, A. H; FRIEDMAN, M. Elisa analysis of soybean trypsin inhibitor in processed foods. **Nutritional and Toxicological Consequences of Foods Processing**, New York, v.37, p.321-336, 1991.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Portaria Nº 108, de 04 de setembro de 1991. **Aprova os Métodos Analíticos para Controle de Alimentos para uso Animal**, publicado no Diário Oficial da União de 17/09/ 1991, Seção 1, Página 19813. Brasília: Ministério da Agricultura e do abastecimento, 1991.

BRITO, C. O.; ALBINO, L. F. T.; ROSTAGNO, H. S.; GOMES, P. C.; DIONIZIO, M. A.; CARVALHO, D. C. O. Adição de complexo multienzimático em dietas à base de soja extrusada e desempenho de pintos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 35, n.2, p.457-461, 2006.

BRUM, P. A. R.; LIMA, G. J. M. M.; ÁVILA, V. S.; LANZMASTER, M.; ARDIGÓ, R. Características da soja integral desativada por diferentes processos térmicos para alimentação de frangos de corte. **Comunicado técnico Embrapa**, Concórdia, v.451, p.5, 2006.

CAFÉ, M.B; SAKOMURA, N.K; JUNQUEIRA, O.M, MALHEIROS, E.B; DEL BIANCHI, M. Determinação do valor nutricional das soja integrais processadas para aves. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, Campinas, v.2, n.1, p.1516-1535, 2000.

CAPRITA, R., CAPRITA, A., CRETESCU, I. Protein solubility as quality index for processed soybean. **Journal of Animal Science and Biotechnology**. v. 43, p. 375–378, 2010.

CARDOSO, L.R. Atividade de inibidores de proteases em linhagens de soja geneticamente melhoradas. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v.18, n.1, p.19-26, 2007.

GILLMAN, J.D.; KIM, W.; KRISHNAN, H. B. Identification of a New Soybean Kunitz Trypsin Inhibitor Mutation and Its Effect on Bowman–Birk Protease Inhibitor Content

in Soybean Seed. **Journal of agricultural and food chemistry**, Missouri, v. 63, p. 1352-1359, 2015.

HUANG H.; KWOK, K. C.; LIANG, H.H. Inhibitory activity and conformation changes of soybean trypsin inhibitors induced by ultrasound. **Ultrasonics Sonochem.** v.15, n.5, p.724-30, nov. 2008.

KAKADE, M. L.; RACKIS, J. J.; McGHEE, J. E.; PUSKI, G. Determination of a trypsin inhibitor activity of soy products: a collaborative analysis of an improved procedure. **Cereal Chemistry**, v. 51, n.3, p. 376-382, mai./jun. 1974.

LEITE, P. R. D. C.; MENDES, F. R.; LUZIA, M.; PEREIRA, R.; LACERDA, M. J. R. Limitações da utilização da soja integral e farelo de soja na nutrição de frangos de corte. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v. 8, n.15, p.1138, out./nov. 2012.

LOKURUKA, M. N. I. Effects of processing on soybean nutrients and potential impact on consumer health: an overview. **African Journal Food, Agriculture, Nutrition and Development**, v. 11, n. 4, jul., 2011.

MENDES, W.S.; SILVA, I. J.; FONTES, D.O.; RODRIGUEZ, N. M.; MARINHO, P. C.; SILVA, F. O.; AROUCA, C. L. C, SILVA, F. C. O. Composição química e valor nutritivo da soja crua e submetida a diferentes processamentos térmicos para suínos em crescimento. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.56, n.2, p.207-213, ago./set. 2004.

REAL-GUERRA, R. STANISÇUASKI, F.; CARLINI, C.R. Soybean Urease: Over a Hundred Years of Knowledge. In: A Comprehensive Survey of International Soybean Research - Genetics, Physiology, Agronomy and Nitrogen Relationships. InTech Open Science; p-317-329.2013.

SHIVAKUMAR, M.; VERMA, K.; TALUKDAR, A.; SRIVASTAVA, N.; LAL, S. K.; SAPRA, R. L.; SINGH, K.P. Introgression of null allele of Kunitz trypsin inhibitor through marker-assisted backcross breeding in soybean (*Glycine max* L. Merr.). **Legume Research**, New Delhi, v.38, n.1, p.60-65, 2016.

ZILIC, S. M.; BOZOVIC, I. N.; SAVIC, S.; SOBAJIC, S. Heat processing of soybean kernel and its effect on lysine availability and protein solubility. **Central European Journal of Biology**. v. 4, n.1, p.572-583, 2006.

ARTIGO 2 - ESPECTROSCOPIA NIR PARA ANÁLISE DA QUALIDADE DE SOJA INATIVADA TERMICAMENTE

RESUMO

A soja integral é uma leguminosa rica em proteína e lipídios, porém os grãos de soja devem ser processados termicamente para inativar diversos fatores antinutricionais que nela estão presentes. A solubilidade proteica por sua vez é um parâmetro que pode ser utilizado para avaliar o processo de inativação térmica. Este estudo teve como objetivo avaliar a aplicabilidade da espectroscopia de infravermelho próximo (NIR) para estimar o teor de umidade, lipídios, proteína e solubilidade proteica em soja inativada termicamente por tostagem e micro-ondas. Um total de 219 espectros de 73 amostras foram coletados e associados à análise de mínimos quadrados parciais (PLS) através do NIR. Desses espectros, 111 foram utilizados para realizar a calibração, advindos de amostras de soja inativadas industrialmente, e os outros 108 de amostras inativadas laboratorialmente em diferentes condições de tratamento térmico de tostagem e micro-ondas, foram utilizados para realizar a validação do método. Paralelamente foram utilizados métodos de referência para a análise de umidade, lipídios, proteínas, e solubilidade proteica em KOH (0,2%). As análises por NIRS além de permitir resultados rápidos, mostrou-se capaz de apresentar bons resultados de previsão do teor de umidade, lipídios, proteína e solubilidade proteica, apresentando um erro médio de (0,97, -1,01, -0,62, -0,18%) respectivamente e coeficiente de determinação (R^2) satisfatórios: 0,767, 0,845, 0,915 e 0,910. Indicando que o método é aplicável para determinação de umidade, lipídio e proteína. E referente ao teor de solubilidade proteica a análise por NIR indicou a possibilidade da utilização deste método no controle de qualidade na indústria de alimentos.

Palavras-chave: Proteína, Solubilidade proteica, PLS.

INTRODUÇÃO

A soja integral é uma das leguminosas mais consumidas no mundo e se destaca por ser excelente fonte de proteína e lipídios, no entanto seu grão apresenta fatores antinutricionais, que afetam consideravelmente o seu valor nutricional que podem se agravar e causar doenças digestivas e metabólicas em animais (GU et al., 2010; IRIGOYEN et al., 2014; WILSON et al., 2007). Por isso se faz necessária a aplicação de tratamentos térmicos na soja, visando a inativação dos fatores antinutricionais presentes. Alguns dos principais tratamentos térmicos são o micro-ondas, a tostagem, a extrusão e a micronização (ANDRADE et al., 2016; BRUM, 2006; CAFÉ et al., 2000).

A eficiência dos tratamentos térmicos na inativação dos fatores antinutricionais presentes na soja, podem ser avaliados por diversos métodos, através da análise direta de inibidores de tripsina, determinação da atividade ureática e do teor de solubilidade proteica em KOH (0,2%). A solubilidade é um indicativo da desnaturação proteica, que pode ser correlacionado com o grau do processamento térmico da soja. Valores de solubilidade proteica abaixo de 70% indicam um superaquecimento e acima de 85% relaciona-se com o subprocessamento da soja (MENDES et al., 2004; OLIVEIRA, 2005). Embora os métodos de referência sejam amplamente empregados, o controle de qualidade na indústria de alimentos requer métodos rápidos, de fácil execução, que requeiram preparação mínima da amostra, e ao mesmo tempo garantindo a qualidade da matéria-prima que se recebe (BRASIL, 2017; BUTOLO, 2002; LEE; RYU; RHEE, 2003).

Neste sentido, a espectroscopia no infravermelho próximo (NIR) se destaca pela rapidez, precisão e exatidão. O método, além de não ser destrutivo e invasivo, necessita de uma mínima manipulação das amostras. A espectroscopia NIR atua através do princípio de emissão de radiação eletromagnética no qual necessita de uma única padronização para efetuar as análises (NUNES, 2008; SOARES, 2009). Este método espectrométrico vem sendo muito difundido para a análise da qualidade de alimentos, devido às propriedades ópticas e a relativamente baixa absorvidade da água na região NIR, constituinte geralmente presente em elevada proporção nos alimentos (ALESSANDRINI et al., 2008).

Além dos avanços nas análises de composição bromatológica por NIR, pesquisadores na área de alimentos, vem buscando novas aplicações do método (BOCK; CONNELLY, 2008). A avaliação de parâmetros de processamento de alimentos por NIR tem sido propostos, devido a possibilidade de aplicar no controle de qualidade em tempo real diretamente na linha de produção.

Considerando a demanda da indústria de alimentos e as aplicações promissoras do NIRS, este trabalho teve como objetivo avaliar a aplicabilidade da NIR combinado com a análise por regressão por mínimos quadrados parciais (PLS) para análise da qualidade bromatológica e de parâmetro de inativação da soja submetida a diferentes tratamentos térmicos.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostragem

Para a construção do modelo matemático, utilizou-se 73 amostras de soja, de cultivar BRS 284, advindas da safra de 2015/2016 do Mato Grosso do Sul. As amostras foram coletadas seletivamente, sendo devidamente quarteadas e homogeneizadas, as quais posteriormente passaram por um moinho de facas (MARCONI®), acoplado de peneira 0,7 mm. Para o procedimento de calibração, foram utilizadas 37 amostras inativadas industrialmente em tambor rotativo a 110 °C / 0,85 kg.cm⁻² / 50 min. As demais 36 amostras foram inativadas em laboratório, a partir de tratamentos térmicos de tostagem e micro-ondas, e preparadas para validação do modelo de calibração, conforme apresentado na Tabela 8.

Tabela 8 - Tratamentos térmicos aplicados na soja integral para a validação da análise por espectroscopia NIR

Tratamentos		1	2	3	4	5	6	7	8	9
Tostagem (T)	Tempo (min)	20	30	40	20	30	40	20	30	40
	Temp. (°C)	110	110	110	120	120	120	130	130	130
Micro-ondas (M)	Tempo (min)	15	20	25	15	20	25	15	20	25
	Potência (W)	20	20	20	30	30	30	40	40	40

Escala industrial (EI): 110 °C, 0,85 kg cm⁻²/ 50 min.

Métodos de referência

Os métodos utilizados como referência para determinação da umidade foi o descrito por IAL (2008), através da secagem em estufa a 105 °C. Para determinar o teor de lipídios, o método empregado foi a extração de Soxhlet, seguindo o método descrito por AOAC (1995). O teor de proteína foi realizado de acordo com AOAC (1997), através do método de Kjeldahl. E a solubilidade proteica foi analisada de acordo com o descrito em Brasil (1991), através da solubilização da amostra em KOH 0,2%, seguida da quantificação de proteína por Kjeldahl. O teor de solubilidade proteica foi determinado a partir da porcentagem resultante da proteína do sobrenadante, dividido pela porcentagem da proteína total da amostra, multiplicados por 100.

Espectroscopia no infravermelho próximo (NIR)

Todas as amostras de soja foram devidamente moídas em moinho (MARCONI®), com peneiradas de 0,7 mm. Em seguida as amostras foram introduzidas no equipamento NIRS– FOSS NIRSystems™ modelo XDS analyzer. Os espectros foram coletados na região do infravermelho próximo, sendo realizadas triplicatas de cada uma das 73 amostras. O equipamento apresenta resolução de 0,5 nm e 32 varreduras para cada espectro analisado e de região espectral de 400 à 2500 nm. Os espectros foram registrados como função do logaritmo decimal inverso da reflectância medida $\text{Log}(1/R)$ por comprimento de onda (nm).

Validação matemática dos dados

A validação matemática dos dados foi realizada a partir do método de regressão multivariada PLS (regressão por quadrados mínimos parciais) utilizando o *software* Winisi IV. O método PLS consiste em encontrar qual é a correlação entre os dados espectrais (X) e os dados de referência (Y) que são usadas ao mesmo tempo, e que são representadas pelos escores e pesos, utilizando a seguinte equação:

$$x = TP + E$$

onde T contém os escores, P os pesos e E os erros da decomposição X (MORGANO et al., 2005; NUNES, 2008; SOARES, 2006).

Parâmetros de validação

Os espectros obtidos foram divididos em dois grupos: um para a calibração e outro para a validação, onde foi realizado um conjunto de testes, para verificar a utilidade da relação que foi predita. O modelo de calibração foi desenvolvido para prever o teor de umidade, lipídios, proteína e solubilidade proteica baseando-se nos espectros gerados pelo NIR, e foram avaliados através de erros de previsão e coeficientes de correlação entre o método de referência e os espectros obtidos a partir do método NIR. Os erros calculados foram:

Soma dos quadrados dos erros de previsão (PRESS)

$$PRESS = \sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_i)^2$$

Raiz quadrada da calibração (RMSEC) ou validação (RMSEP)

$$RMSE = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_i)^2}{n - 1}}$$

O erro relativo percentual (ERRO (%)) entre as concentrações da referência e as previstas via NIR

$$ERRO (\%) = \frac{(y_i - \hat{y}_i)}{y_i} \times 100$$

A relação de desempenho do desvio (RPD)

$$RPD = \frac{SD}{RMSE}$$

Onde n é o número de amostras, y_i o valor de referência, \hat{y}_i o valor previsto pelo modelo proposto e o SD é o desvio padrão. E o coeficiente de correlação linear (R^2) que é mostrado pelo gráfico da relação entre os valores da referência e valores preditos (MORGANO et al., 2005; MORGANO et al., 2008; FERREIRA et al., 2013; VALDERRAMA; BRAGA, 2009; WILLIAMS; NORRIS, 2001).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para analisar o teor de umidade, lipídio, proteína e solubilidade proteica por NIR, foi determinado um modelo de regressão através das médias encontradas nas análises do método de referência e dos 219 espectros obtidos via NIR das 73 amostras de soja inativada. Sendo que, 111 dos espectros correspondentes a 37 amostras inativadas por escala industrial foram utilizados para realizar a calibração do equipamento. E os outros 108 espectros das 36 amostras restantes, foram utilizados para realizar a validação. As amostras utilizadas para realizar a validação, foram inativadas com diferentes condições de tratamentos térmicos (Tabela 8).

Baseada na absorção de espectro infravermelho próximo por compostos orgânicos e água, a espectroscopia NIR já é utilizada para análise da composição bromatológica em diversos alimentos. Além de analisar as amostras com características próximas à escala industrial é também interessante verificar se o NIR apresenta boa reprodutibilidade para analisar amostras de soja submetidas a condições extremas de processamento.

A Figura 6 apresenta os 111 espectros originais das 37 amostras obtidas na região do infravermelho próximo, na gama de 400 a 4500 nm, sem qualquer pré-tratamento, utilizados na construção do modelo matemático.

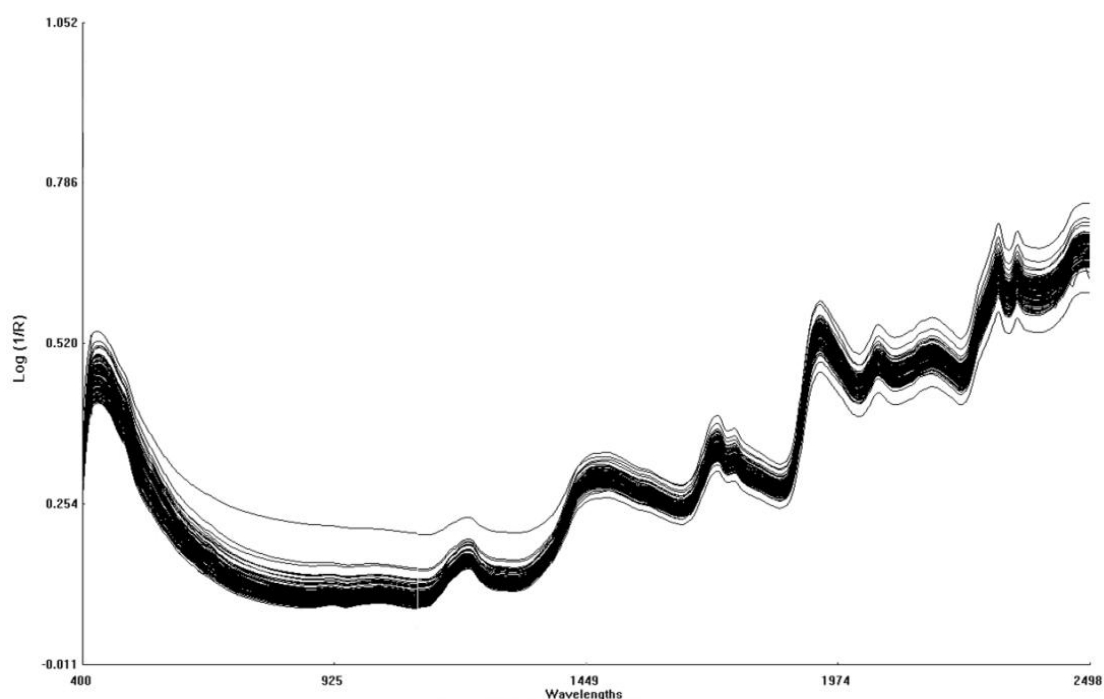


Figura 6 – Espectros originais das amostras de soja inativadas na região do NIR.

O método permitiu o desenvolvimento do modelo de calibração para a quantificação da umidade e lipídio, apresentados na Tabela 9, onde se tem a raiz quadrada do erro quadrado médio da calibração e validação (RMSE), a soma dos quadrados dos parâmetros de erro de previsão (PRESS), os coeficientes de determinação (R^2), e a relação de desempenho do desvio (RPD).

Tabela 9 – Parâmetros de ajuste e erro do modelo PLS para calibração da umidade e lipídio

Parâmetro	PRESS	RMSEC	RMSEP	R^2	RPD
Umidade	19,114	0,38	0,87	0,767	1,85
Lipídio	15,855	0,12	0,33	0,845	2,30

PRESS – soma dos quadrados dos parâmetros de erro de previsão. RMSE – raiz quadrada do erro quadrado médio da calibração ou validação. R^2 - coeficiente de determinação. RPD – relação de desempenho do desvio.

De acordo com a Tabela 9, os resultados da calibração e validação apresentaram valores de erros (RMSE) baixos, e valores satisfatórios de coeficiente

de determinação (R^2), apresentando para umidade e lipídio ($R^2= 0,767$ e $0,845$), indicando um bom desempenho.

Considerando as expectativas, os erros do grupo de calibração RMSEC de 0,38 e 0,12% foram menores do que os erros da validação RMSEP de 0,87 e 0,33%, para os parâmetros umidade e lipídio, respectivamente. Sendo estes, considerados erros de regressão baixos. O valor de RPD $> 2,4$ é desejável para um modelo apropriado, valores entre 2,4 e 1,5 são considerados satisfatórios e valores de RPD inferiores a 1,5, são inadequados (WILLIAMS; NORRIS, 2001). O resultado de RPD utilizado para determinar o teor de lipídio foi de 2,30 e o teor de umidade 1,85, demonstrando a capacidade de o método prever tais parâmetros, estando dentro do que é recomendado para se ter resultados considerados satisfatórios.

O método de calibração através da espectroscopia no infravermelho próximo (NIR/PLS) em 40 amostras de 20 variedades de soja inativadas através da tostagem em estufa a $40\text{ }^\circ\text{C}$ por 24 horas apresentaram valores de erro RMSE de 0,35 e 1,08 e um coeficiente de correlação (R^2) de 0,72, e 0,81, para o teor de umidade, e lipídios, respectivamente. O método apresentou boas habilidades preditivas para monitorar vários parâmetros de qualidade da soja. Sendo que a avaliação da NIRS para determinar umidade e lipídio resultou em valores de RPD de 1,38 e 1,83 respectivamente (FERREIRA et al., 2013, 2014).

Os gráficos de previsão do NIR *versus* os valores de referência, para o conteúdo de umidade e lipídio mostrou uma boa correlação para as regiões espectrais, como mostra a Figura 7.

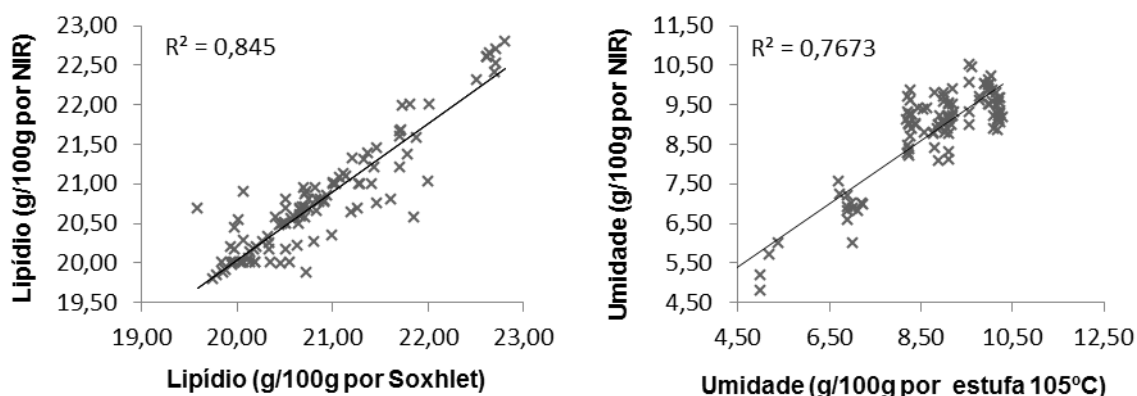


Figura 7 – Correlação entre os valores de referência *versus* os valores preditos pelo NIR para umidade e de lipídios.

A comparação entre o valor de referência e os preditos pelo NIR para umidade e lipídios está apresentada na Tabela 10.

Tabela 10 – Comparação entre o valor de referência e os preditos pelo NIR para umidade e lipídios.

Amostra	Tratamento Térmico*	Umidade			Lipídios		
		Referência	NIR	Erro (%)	Referência	NIR	Erro (%)
1	T1	10,21	9,72	4,77	21,48	21,68	-0,95
2	T1	9,60	9,58	0,28	21,45	22,62	-5,43
3	T2	9,52	9,25	2,77	20,59	21,14	-2,66
4	T2	9,10	9,24	-1,50	20,84	21,27	-2,05
5	T3	9,34	8,96	4,07	22,53	22,69	-0,71
6	T3	9,26	9,04	2,37	22,02	22,68	-2,98
7	T4	9,97	9,24	7,29	21,44	21,77	-1,56
8	T4	9,61	9,15	4,85	21,31	21,94	-2,99
9	T5	9,55	9,08	4,92	20,28	20,54	-1,27
10	T5	9,69	9,01	7,02	20,24	20,19	0,29
11	T6	9,53	9,93	-4,20	20,78	20,79	-0,08
12	T6	9,49	9,92	-4,50	20,37	21,14	-3,75
13	T7	9,83	8,97	8,78	20,63	20,56	0,31
14	T7	8,87	9,05	-2,03	21,00	20,56	2,11
15	T8	9,19	8,60	6,39	19,92	20,07	-0,78
16	T8	8,50	8,42	0,98	19,80	20,06	-1,34
17	T9	9,73	10,1	-4,35	20,46	20,36	0,48
18	T9	10,09	9,94	1,45	19,99	20,44	-2,26
19	M1	9,27	9,23	0,47	20,00	20,17	-0,83
20	M1	10,52	10,2	2,76	20,08	20,15	-0,36
21	M2	9,04	8,29	8,33	20,62	20,89	-1,29
22	M2	9,27	9,29	-0,14	20,15	20,83	-3,35
23	M3	9,67	10,0	-4,34	20,84	20,13	3,42
24	M3	9,45	10,0	-6,81	21,16	20,11	4,96
25	M4	9,10	9,22	-1,32	20,86	21,01	-0,73
26	M4	9,08	9,25	-1,83	21,29	21,08	0,98
27	M5	8,47	8,98	-6,02	20,16	19,96	0,99
28	M5	8,56	9,03	-5,53	20,07	20,45	-1,89
29	M6	6,99	7,15	-2,29	20,52	20,32	0,98
30	M6	6,48	6,98	-7,66	19,64	20,84	-6,13
31	M7	8,30	8,23	0,84	20,53	20,76	-1,09
32	M7	8,59	8,21	4,38	20,15	20,62	-2,32
33	M8	6,97	6,86	1,67	20,19	20,40	-1,02
34	M8	7,20	6,91	3,94	20,62	20,18	2,10
35	M9	5,49	5,79	-5,53	21,11	21,40	-1,37
36	M9	5,12	4,91	3,97	20,83	21,61	-3,76
Média				0,97%			-1,01%

*T1: 20'/ 110°C; T2: 30'/ 110°C; T3: 40'/ 110°C; T4: 20' à 120°C; T5: 30'/ 120°C; T6: 40'/ 120°C; T7: 20'/ 130°C; T8: 30'/ 130°C; T9: 40'/ 130°C; M1: 15'/ 20W; M2: 20'/ 20W; M3: 25'/ 20W; M4: 15' à 30W; M5: 20'/ 30W; M6: 25'/ 30W; M7: 15'/ 40W; M8: 20'/ 40W; M9: 25'/ 40W.

Para verificar a relação entre os valores de referência e os previstos pelo conjunto de 36 amostras, foi calculado o erro relativo, que é a relação entre o valor de referência menos o valor previsto, dividido pelo valor de referência, para o teor de umidade e lipídio. Em geral, o erro relativo calculado foi baixo, os resultados sugerem erro de (0,47 a 8,83%) para o teor de umidade, apresentando uma média de 0,97% de erros e para o teor de lipídio de (-0,08 a -5,43%), apresentando uma média de erros de -1,01% (Tabela 10). Não foi observada diferença expressiva de erros entre os tratamentos térmicos de tostagem e micro-ondas aplicados. As figuras 8 e 9 apresentam a porcentagem de erros entre os resultados das análises pelos métodos de referência e as análises preditas pelo método NIR para o teor de umidade e lipídio, das 36 amostras analisadas.

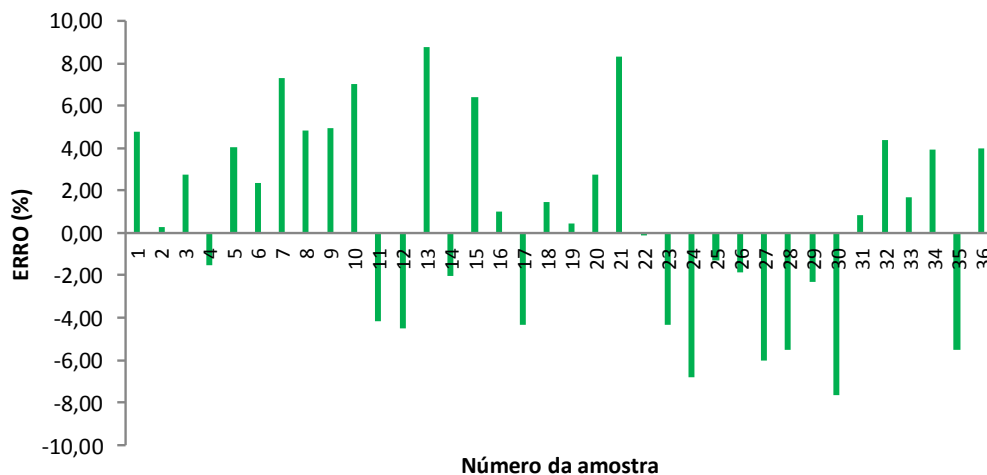


Figura 8 – Erro entre as análises de referência e análises preditas via NIR para determinação de umidade

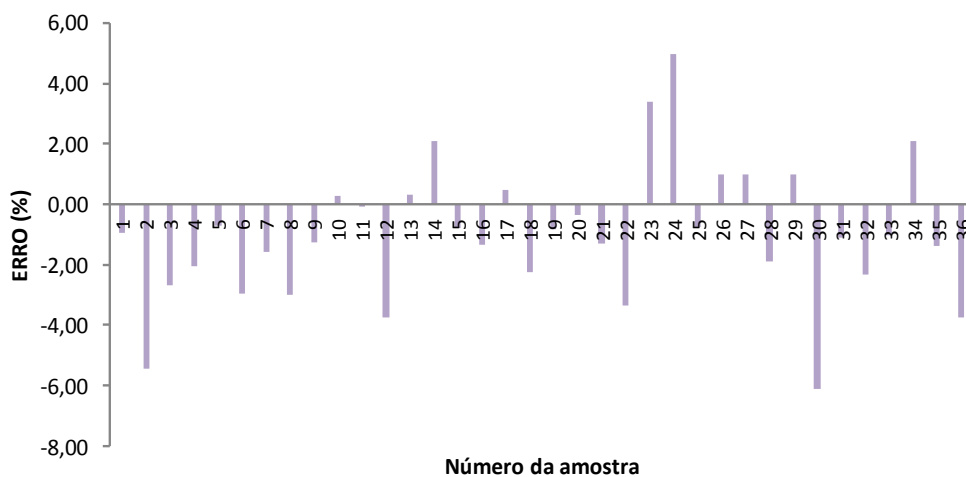


Figura 9 – Erro entre as análises de referência e análises preditas via NIR para determinação de lipídio

Segundo Ferreira et al. (2014), valores preditos, apresentaram-se baixos (0,7 a 9,17%) para lipídios e (0,7 a 9,3%) para umidade, considerado pelos autores, erros relativos baixos.

Assim como para os parâmetros de umidade e lipídio, o método permitiu o desenvolvimento do modelo de calibração para a quantificação da proteína e indicou a possibilidade de analisar a solubilidade da proteína através do NIR, resultados que estão apresentados na Tabela 11.

Tabela 11 – Parâmetros de ajuste e erro do modelo PLS para calibração da proteína e solubilidade proteica

Parâmetro	PRESS	RMSEC	RMSEP	R ²	RPD
Proteína	22,587	0,32	0,44	0,915	3,10
Solubilidade P.	17,851	0,88	0,11	0,910	2,80

PRESS – soma dos quadrados dos parâmetros de erro de previsão. RMSE – raiz quadrada do erro quadrado médio da calibração ou validação. R² - coeficiente de determinação. RPD – relação de desempenho do desvio.

Como mostra a Tabela 11, os resultados da calibração e validação apresentaram valores de erros RMSE considerados baixos, RMSEC 0,32 e 0,88% e RMSEP 0,44 e 0,11% para o teor de proteína e solubilidade proteica respectivamente. Quanto ao coeficiente de determinação, apresentaram-se satisfatórios, 0,915 para a proteína e 0,910 para a solubilidade, indicando um bom desempenho da regressão desenvolvida. E valores de RPD, relativamente aceitáveis, estando dentro do que é considerado satisfatório, de 3,10 para a proteína e 2,80 para a solubilidade.

A análise do teor de proteína em 40 amostras de 20 variedades de soja inativadas através da tostagem em estufa a 40 °C por 24 horas por NIR/PLS apresentou valores de erro RMSE de 1,32 e coeficiente de correlação (R²) de 0,88, para e valores de RPD de 1,45 (FERREIRA et al., 2013; 2014).

Na literatura pesquisada não foram relatados estudos sobre o desenvolvimento da calibração para determinação de solubilidade proteica, sendo estes resultados um indicativo de aplicar o método para avaliar este parâmetro do processo de inativação da soja. Os resultados revelaram uma boa correlação para as regiões espectrais entre os dados de previsão por NIRS e os valores de referência, para o conteúdo de proteína e solubilidade proteica (Figura 10).

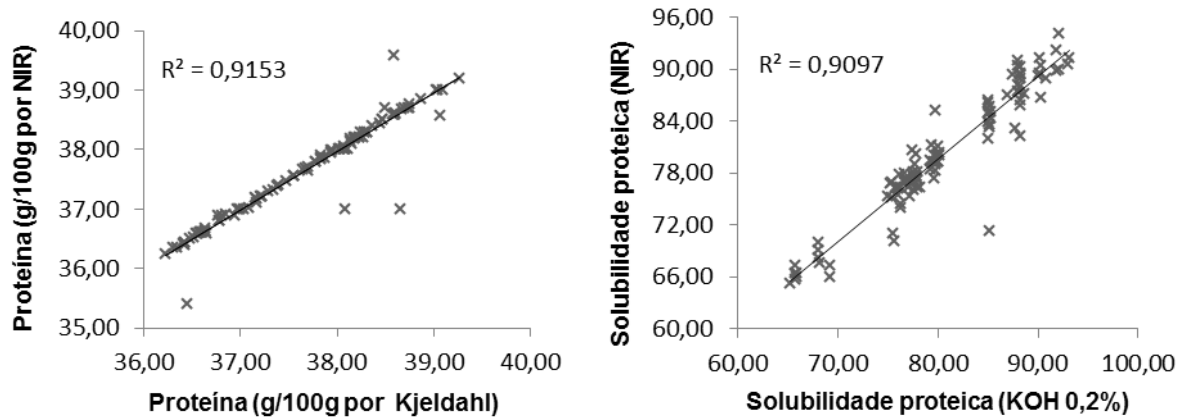


Figura 10 – Correlação entre os valores de referência *versus* os valores preditos pelo NIR para proteína e solubilidade proteica

A Tabela 12 apresenta a relação entre os valores de referência e os valores previstos pelo conjunto de 36 amostras, onde o erro relativo foi calculado, para o teor de proteína e solubilidade proteica. Em geral, o erro relativo calculado foi baixo, os resultados sugerem erro de (-0,10 a -4,37%) para a proteína, apresentando um erro médio de -0,62% e de (0 a -3,85%) para a solubilidade proteica, com erro médio de -0,18%. Ferreira et al. (2014) encontraram valores de erro de 0,53 a 6,61% para o teor de proteína em 40 amostras de 20 variedades de soja inativadas por tostagem em estufa a 40 °C por 24 horas

Mediante aos resultados obtidos através da Tabela 12, pode-se observar que os erros obtidos para o teor de proteína foram aleatórios, ou seja, independente de qual foi o tratamento térmico aplicado de tostagem ou micro-ondas. As amostras de soja inativadas por escala industrial apresentaram um teor médio de proteína de $37,45 \pm 0,71\%$, sem diferença significativa ($p > 0,05$, Kruskal Wallis) quando comparado com as amostras tratadas por diferentes condições de tostagem e micro-ondas. Assim, como pode se observar na Tabela 12, os valores de erro mostram que os tratamentos térmicos aplicados não interferiram na análise do teor de proteínas presentes nos grãos de soja.

Tabela 12 – Comparação entre o valor de referência e os preditos pelo NIR, para o parâmetro de proteína e solubilidade proteica.

Amostra	Tratamento Térmico ¹	Proteína			Solubilidade proteica ²		
		Referência	NIR	Erro (%)	Referência	NIR	Erro (%)
1	T1	37,87	38,14	-0,73	88,96	90,44	-1,66
2	T1	38,53	38,30	0,60	89,69	90,22	-0,60
3	T2	37,04	37,97	-2,52	87,31	87,76	-0,52
4	T2	37,66	37,88	-0,58	88,87	88,00	0,98
5	T3	37,17	38,79	-4,37	89,52	88,25	1,42
6	T3	38,52	38,56	-0,10	85,11	88,39	-3,85
7	T4	36,49	36,56	-0,20	85,09	85,16	-0,08
8	T4	36,40	36,70	-0,80	85,26	85,23	0,04
9	T5	37,16	36,54	1,67	79,77	79,66	0,14
10	T5	35,96	36,85	-2,47	79,59	79,63	-0,05
11	T6	36,48	36,85	-0,99	79,91	79,98	-0,09
12	T6	37,32	36,36	2,58	79,69	79,73	-0,05
13	T7	37,01	38,19	-3,21	77,77	77,78	-0,01
14	T7	38,13	38,45	-0,84	77,91	77,93	-0,03
15	T8	36,96	37,08	-0,33	76,83	76,81	0,02
16	T8	37,19	37,16	0,07	76,36	76,34	0,03
17	T9	37,70	38,64	-2,51	75,88	75,87	0,01
18	T9	38,26	38,86	-1,56	75,98	75,94	0,06
19	M1	37,39	37,18	0,57	90,57	92,74	-2,40
20	M1	36,38	36,93	-1,50	92,00	91,94	0,07
21	M2	37,76	37,99	-0,61	87,97	87,77	0,23
22	M2	37,95	38,09	-0,38	87,92	88,22	-0,35
23	M3	37,71	37,71	0,02	85,12	85,11	0,01
24	M3	38,05	37,97	0,21	84,97	85,00	-0,04
25	M4	38,28	38,56	-0,71	79,67	79,74	-0,09
26	M4	39,53	38,54	2,50	79,76	79,74	0,03
27	M5	37,81	38,15	-0,92	77,83	77,80	0,04
28	M5	38,96	38,18	1,99	77,78	77,74	0,04
29	M6	37,31	36,68	1,69	77,19	77,16	0,03
30	M6	36,47	37,40	-2,57	77,62	77,62	0,00
31	M7	36,94	36,56	1,03	75,59	75,36	0,31
32	M7	37,19	36,47	1,94	75,81	75,69	0,15
33	M8	36,91	37,52	-1,66	68,55	68,81	-0,37
34	M8	36,88	37,43	-1,50	67,24	68,10	-1,29
35	M9	37,52	38,66	-3,05	65,71	65,57	0,21
36	M9	37,51	38,60	-2,90	66,49	65,83	0,99
Média				-0,62%			-0,18%

¹ T: tostagem; T1: 20'/ 110°C; T2: 30'/ 110°C; T3: 40'/ 110°C; T4: 20' à 120°C; T5: 30'/ 120°C; T6: 40'/ 120°C; T7: 20'/ 130°C; T8: 30'/ 130°C; T9: 40'/ 130°C; M: Micro-ondas. M1: 15'/ 20W; M2: 20'/ 20W; M3: 25'/ 20W; M4: 15' à 30W; M5: 20'/ 30W; M6: 25'/ 30W; M7: 15'/ 40W; M8: 20'/ 40W; M9: 25'/ 40W.

²Média de T2,T3, T4 e M3 não diferiu das amostras inativadas por escala industrial (solubilidade proteica = 84,12 ± 0,66%) pelo teste de Kruskal Wallis (p>0,05).

Considerando-se os valores de referência para soja inativada a solubilidade proteica de soja subprocessada > 85% e superaquecida < 70% (MENDES et al., 2004; OLIVEIRA, 2005), as amostras que apresentaram solubilidade proteica dentro desta faixa, apresentaram erro < 0,31%. Com exceção da amostra 6 (T3) que apresentou erro de -3,85%, o conjunto destas amostras, apresentou um erro médio de -0,18%, inferior inclusive ao valor de erro médio para determinação de proteína (-0,62%, Tabela 12).

A Figura 11 apresenta graficamente os erros entre os resultados das análises de referência e as análises preditas pelo método NIR para o teor de proteína e solubilidade proteica, das 36 amostras analisadas.

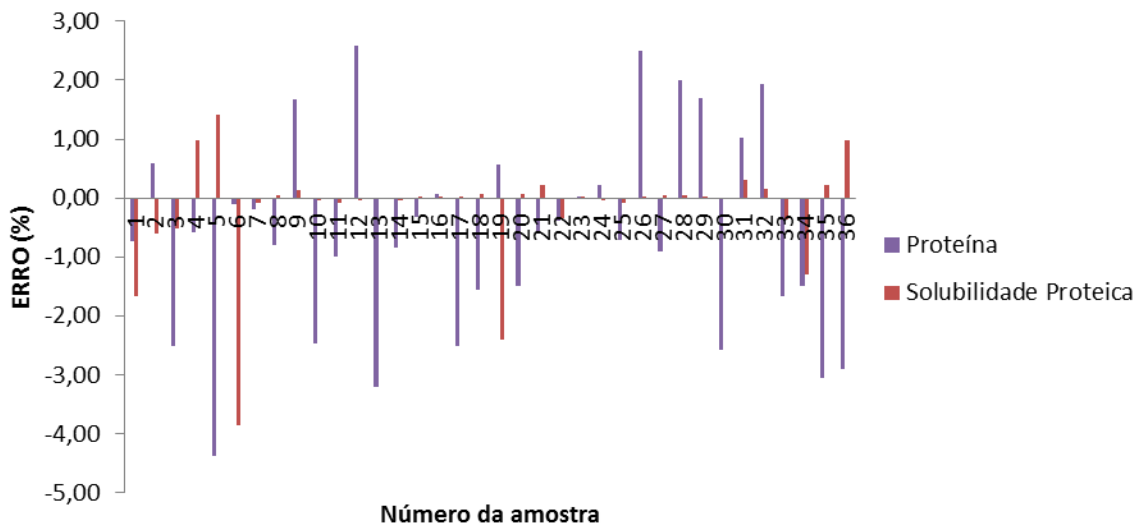


Figura 11 – Erro entre as análises de referência e análises preditas via NIR para proteína e solubilidade proteica

A determinação de parâmetros de processamento por NIR é de interesse na indústria de alimentos, pois permite resultados para tomada de decisões na linha de produção. A solubilidade proteica é um dos parâmetros utilizados para avaliar a inativação da soja. O tratamento térmico além de reduzir a solubilidade proteica, melhora a digestibilidade proteica e absorção de aminoácidos da soja. Além disso, o teor solubilidade proteica, pode ser um indicativo do grau de tratamento térmico aplicado para inativação de outros fatores termolábeis, tais como os inibidores de tripsina e atividade ureática.

Desenvolvido para análise de rotina no controle de qualidade industrial, o equipamento empregado no presente estudo apresenta limitações, a análise de um

maior número de amostras seria necessário para validação intralaboratorial da solubilidade proteica, devido ao parâmetro ser pouco estudado e não haver referências já publicadas sobre a referida análise. No entanto, os resultados indicaram a possibilidade de aprimorar o método visando aplicação no controle de qualidade na indústria de alimentos.

CONCLUSÃO

Os resultados das análises por espectroscopia no infravermelho próximo (NIR) integrada ao método de calibração por mínimos quadrados parciais (PLS) indicam que o método é aplicável para determinação de umidade, lipídio e proteína, apresentando resultados dentro do recomendado e de acordo com o que está descrito na literatura. Embora não tenha sido possível validar o método para o parâmetro de solubilidade proteica, devido ao fato de não existirem estudos sobre esta análise e também devido ao baixo número de amostras utilizadas para a calibração, concluiu-se que os resultados indicaram um elevado potencial para aplicação deste método, oferecendo um controle mais rápido, simples e eficiente, na determinação da qualidade dos grãos de soja.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

ALESSANDRINI, L. et al. Near infrared spectroscopy: An analytical tool to predict coffee roasting degree. **Analytica Chimica Acta**, v. 6, n. 25, p. 95-102, 2008.

ANDRADE J. C. et al. The effect of thermal treatment of whole soybean flour on the conversion of isoflavones and inactivation of trypsin inhibitors. **Food Chemistry**, Londrina, v. 194, p. 1095-1101, 2016.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (A.O.A.C.). **Official Methods of Analysis**. 16. ed, v.2, cap. 32, p.1-43, 1997.

ASSOCIATION OF OFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**, method 954.02, 1995.

BOCK, J.E.; CONNELLY, R.K. Innovative Uses of Near-Infrared Spectroscopy in Food Processing. **Journal of Food Science**. Vol. 73,7, 91-98. 2008.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento – MAPA. **Animal**. Portaria n. 07 de 09 de novembro de 1998. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/animal/animais-de-companhia/legislacao>>. Acesso em: 02 jan. 2017.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Portaria Nº 108, de 04 de setembro de 1991. **Aprova os Métodos Analíticos para Controle de Alimentos para uso Animal**, publicado no Diário Oficial da União de 17/09/ 1991, Seção 1, Página 19813. Brasília, 1991.

BRUM, P. A. R, et al. Características da soja integral desativada por diferentes processos térmicos para alimentação de frangos de corte. **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA**, Concórdia, n.451, p.5, 2006.

BUTOLO, J. E. Qualidade de ingredientes na alimentação animal. **Colégio Brasileiro de Nutrição Animal**, Campinas, p.430, 2002.

CAFÉ, M.B. et al. Determinação do valor nutricional das soja integrais processadas para aves. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, Campinas, v.2, n.1, p.1516-1535, 2000.

FERREIRA, D. S.; et al. Comparison and application of near-infrared (NIR) and mid-infrared (MIR) spectroscopy for determination of quality parameters in soybean samples. **Food Control**, v. 35, p. 227-232, 2014.

FERREIRA, D.S.; et al. Fourier transform near-infrared spectroscopy (FT-NIRS) application to estimate Brazilian soybean [*Glycine max* (L.) Merrill] composition. **Food Research International**, v. 51, p.53-58, 2013.

GU, C. et al. Effect of Soybean Variety on Anti-Nutritional Factors Content, and Growth Performance and Nutrients Metabolism in Rat. **International Journal of Molecular Science**, v. 11, n. 3, p. 1048–1056, 2010.

IAL - INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz. v. 1: **Métodos químicos e físicos para análise de alimentos**, 4. ed. São Paulo: IMESP, 2008.

IRIGOYEN, R.M.T. et al. Drying–toasting kinetics of presoaked soybean. A mathematical model considering variable diffusivity, shrinkage and coupled heat transfer. **Journal of Food Engineering**, v.142, p.70–79, 2014.

LEE, K.H.; RYU, H. S.; RHEE, K. C. Protein Solubility Characteristics of Commercial Soy Protein Products. **JAACS**, v. 80, n. 1, p. 85-90, 2003.

MENDES, W.S. et al. Composição química e valor nutritivo da soja crua e submetida a diferentes processamentos térmicos para suínos em crescimento. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.56, n.2, p.207-213, 2004.

MORGANO, M. A., et al. Determinação de umidade em café cru usando espectroscopia NIR e regressão multivariada. **Ciência e tecnologia de alimentos**, v. 28, n. 1, p. 12-17, 2008.

MORGANO, M. A. et al. Determinação de proteína em café cru por espectroscopia NIR e regressão PLS. **Ciência e tecnologia de alimentos**, v. 25, n.1, p. 25-31, 2005.

NUNES, P. G. A. **Uma nova técnica para seleção de variáveis em calibração multivariada aplicada às espectrometrias UV-VIS e NIR**. 2008. 121f. Tese (Doutorado) – Doutorado em química - Universidade Federal de Paraíba, João Pessoa, 2008.

OLIVEIRA, F. N. et al. Desempenho de frangos de corte nas fases de crescimento e final alimentados com rações contendo soja integral extrusada em diferentes temperaturas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.6, p.1950-1955, 2005.

SOARES, L. M. V. **Curso básico de instrumentação para analistas de alimentos e fármacos: espectrometria no infravermelho**. Barueri: Manole, 2006.

VALDERRAMA, P.; BRAGA, J. W. B. Estado da arte de figuras de mérito em calibração multivariada. **Química Nova**, n. 5, v. 32, p. 1278–1287, 2009.

WILLIAMS, P.; NORRIS, K. **Near-infrared technology in the agricultural and food industries**, 2^a ed, p.296. St. Paul: American Association of Cereal Chemists IINC, 2001.

WILSON T. A. et al. Soy protein without isoflavones reduces aortic total and cholesterol ester concentrations greater than soy protein with isoflavones compared with casein in hypercholesterolemic hamsters. **Nutricion Research**. v.8, n.27, 498-504, 2007.

6. CONCLUSÃO

O processamento laboratorial da soja *in natura* por tostagem e micro-ondas permitiu o preparo de amostras de soja similares à soja processada industrialmente e também amostras subprocessada e superaquecidas, sendo estas aplicadas para análise por espectroscopia NIR/PLS. Análise de composição bromatológica através do método NIR já vem sendo rotineiramente empregadas nos laboratórios de controle de qualidade de alimentos. A comparação com os métodos de referência resultou em coeficientes de correlação (R^2) de 0,767, 0,845 e 0,915, para as análises de umidade, lipídio e proteínas, respectivamente. Entre os parâmetros de inativação da soja, a solubilidade proteica, mostrou ser determinável por NIR associada à calibração por PLS. Embora não tenha apresentado uniformidade para amostras de soja submetidas à condições extremas, a análise da solubilidade proteica apresentou coeficiente de correlação (R^2) de até 0,910, com erro médio de -0,18% e uma relação de desempenho do desvio (RPD) de 2,80 quando comparado com o método de referência. Estes dados indicam a possibilidade de aplicar o NIR para a análise deste parâmetro de inativação da soja em nível industrial.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Devido às limitações do equipamento, não foi possível realizar a determinação do parâmetro de atividade ureática e atividade inibidora de tripsina por espectroscopia NIR. Além disso, embora a determinação da solubilidade proteica tenha apresentado uma boa correlação com o método de referência, faz-se necessário um maior número de amostras e variabilidade de amostras com diferentes cultivares de origens distintas para a validação do método, assim como observa-se a necessidade de realizar um pré-tratamento dos dados, antes da calibração do equipamento, visando a obtenção de resultados ainda melhores

8 REFERÊNCIAS

ADDINSOFT. Data analysis and statistical application version 2015.3. New York, USA: Addinsoft SARL. Trial version. Disponível em: <<http://www.xlstat.com/en/download.html>>. Acesso em 24 set. 2015.

ALANDER, J. T. et al. A Review of Optical Nondestructive Visual and Near-Infrared Methods for Food Quality and Safety. **International journal of spectroscopy**, p. 36, 2013.

AMERICAN OIL CHEMISTS SOCIETY. **Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists Society**. 40. Ed. AOCS, Official method Ba9-58, 1993.

AMORIM, S. R. et al. Controle de qualidade na indústria farmacêutica: identificação de substâncias por espectroscopia no infravermelho. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 94, n. 3, p.234-242, 2013.

ANDRADE, G. F. et al. Tratamento térmico adequado proporciona melhoria da qualidade nutricional de farinhas de soja elaboradas a partir de novos cultivares destinados à alimentação humana. **Revista Instituto Adolfo Lutz**. São Paulo, v.69, n.4, p.537-44, 2010.

ANDRADE J. C. et al. The effect of thermal treatment of whole soybean flour on the conversion of isoflavones and inactivation of trypsin inhibitors. **Food Chemistry**, Londrina, v. 194, p. 1095-1101, 2016.

ASSOCIATION OF OFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (A.O.A.C.). **Official methods of analysis**, method 954.02, 1995.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (A.O.A.C.). **Official methods of analysis**. 16. ed, v.2, cap. 32, p.1-43,1997.

BARRETO, S. L. de T. et.al. Soja integral processada em dietas para codornas japonesas em postura. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.9, p.1978-1983, 2010.

BARROWS, F.T.; HARDY, R.W. Feed manufacturing technology. In: Stickney, R.R. **Aquaculture Nutrition**, p. 354–359, 2000.

BARTH, A. Infrared spectroscopy of proteins. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1767, p 1073-1101, 2007.

BELLAVER, C. et al. Soja integral: processamento e uso. **Revista Alimentação Animal**, v.7. p.28-30. 2002.

BELLAVER, C.; SNIZEK, P.N. Processamento da soja e suas implicações na alimentação de suínos e aves. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SOJA. 1999. Londrina – PR. **Anais...** Embrapa Soja. Londrina. 1999.

BENEVIDES, C. M. J. et al. Fatores antinutricionais em alimentos: revisão. **Revista segurança alimentar e nutricional**, Campinas, v.18, n.2, p.67-79, 2011.

BERGER, M. et al. Facteurs antitryspiques de la graine de soja: évaluation de la variabilité génotypique dans une collection de référence; effet du semis précoce et de la réduction de l'irrigation, **Oilseeds and fats crops and Lipids**, Castanet-Tolosan, v. 22, n. 5, 2015.

BERNO, L. I. et al. Avaliação da composição centesimal, digestibilidade e atividade inibitória de tripsina em produtos derivados de soja (*Glycine Max*). **Revista alimentos e Nutrição**, Araraquara, v.18, n.3, p.277-282, jul/set., 2007.

BIALOBRZEWSKI, I. et al. Heat and mass transfer during drying of a bed of shrinking particles – simulation for carrot cubes dried in a spout-fluidized-bed drier. **International Journal Heat Mass Transfer**, v.51, p. 4704–4716, 2008.

BOCK, J.E; CONNELLY, R.K. Innovative uses of near-infrared spectroscopy in food processing. **Journal of Food Science**, v.73, n.7, 2008.

BORGES, S. A. Utilização da soja desativada na dieta de monogástricos. In: Simpósio sobre nutrição de aves e suínos, Cascavel – PR. **Anais...** CNBA, Cascavel, 2003.

BRASIL. Associação Brasileira de Proteína Animal – ABPA. **Avicultura Brasileira**. Disponível em: <<http://abpa-br.com.br/setores/avicultura/publicacoes/relatorios-anuais>>. Acesso em: 20 mai. 2016.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento – MAPA. **Animal**. Portaria n. 07 de 09 de novembro de 1998. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/animal/animais-de-companhia/legislacao>>. Acesso em: 02 jan. 2017.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Portaria Nº 108, de 04 de setembro de 1991. **Aprova os Métodos Analíticos para Controle de Alimentos para uso Animal**, publicado no Diário Oficial da União de 17/09/ 1991, Seção 1, Página 19813. Brasília: Ministério da Agricultura e do abastecimento, 1991.

BRITO, C. O. et al. Adição de complexo multienzimático em dietas à base de soja extrusada e desempenho de pintos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n.2, p.457-461, 2006.

BRUM, P. A. R. et al. Características da soja integral desativada por diferentes processos térmicos para alimentação de frangos de corte. **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA**, Concórdia, n.451, p.5, 2006.

- BRUNE, M. F. S. S. et al. Avaliação bioquímico-nutricional de uma linhagem de soja livre do inibidor de tripsina Kunitz e de lectinas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.3, n.30, p.657-663, 2010.
- BUTOLO, J. E. Qualidade de ingredientes na alimentação animal. **Colégio Brasileiro de Nutrição Animal**, Campinas, p.430, 2002.
- CAFÉ, M. B. et al. Determinação do valor nutricional das soja integrais processadas para aves. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, Campinas, v.2, n.1, p.1516-1535, 2000.
- CAPRITA, R., CAPRITA, A., CRETESCU, I. Protein solubility as quality index for processed soybean. **Journal of Animal Science and Biotechnology**. v. 43, p. 375–378, 2010.
- CARDONA, D. Utilização de soja integral em rações de suínos. In: V Mini-Simpósio do Colégio Brasileiro de Nutrição Animal. 1991, Campinas - SP. **Anais...** Campinas. 1991.
- CARVALHO, M. R. B. et al. Avaliação da atividade dos inibidores de tripsina após digestão enzimática em grãos de soja tratados termicamente. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 15, n.3, p.267-272, set, 2002.
- CEN, H.; HE, Y. Theory and application of near infrared reflectance spectroscopy in determination of food quality. **Food science and technology**, v. 18, p. 72-83, 2007.
- CHENG, Z.J.; HARDY, R.W., Effects of extrusion processing of feed ingredients on apparent digestibility coefficients of nutrients for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture Nutrition**, v. 9, p. 77–83, 2003.
- COSCUETA, et al., Continuous method to determine the trypsin inhibitor activity in soybean flour. **Food Chemistry**, v. 214, p. 156-161, 2017.
- COSTA, E. M. S. et al. Processamento da soja integral na alimentação de frangos de corte. **Revista Nutritime**, v.11, n.231, p.3094-3108, jan/fev. 2014.
- COZZOLINO, D. et al. Feasibility study on the use of visible and near-infrared spectroscopy together with chemometrics to discriminate between commercial white wines of different varietal origins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 7703-7708, 2003.
- COZZOLINO, D. et al. Multivariate determination of free fatty acids and moisture in fish oils by partial least-squares regression and near-infrared spectroscopy. **Lebensmittel Wissenschaft und Technologie**, v.38, p. 821-828, 2005.
- DESHIMARU, M. et al. Multigene family for Bowman-Birk type proteinase inhibitors of wild soja and soybean: the presence of two BBI-A genes and pseudogenes. **Bioscience Biotechnology Biochemistry** v. 68, n. 6, p. 1279-1286, 2004.

FERREIRA, D. S. et al. Evaluation of dietary fiber of Brazilian soybean (*Glycine max*) using near-infrared spectroscopy and chemometrics. **Journal of cereal science**, v.64, p.43-47, 2015.

FERREIRA, D. S. et al. Comparison and application of near-infrared (NIR) and mid-infrared (MIR) spectroscopy for determination of quality parameters in soybean samples. **Food Control**, v. 35, p. 227-232, 2014.

FERREIRA, D. S. et al. Fourier transform near-infrared spectroscopy (FT-NIRS) application to estimate Brazilian soybean [*Glycine max* (L.) Merrill] composition. **Food Research International**, v. 51, p. 53-58, 2013.

FOSS Polimate. Workshop Nir. Guarulhos: EVONIK, set. 2008.

FREITAS, E. R. et al. Efeito do processamento da soja integral sobre a energia metabolizável e a digestibilidade dos aminoácidos para aves. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.6, p.1938-1949, 2005.

GILLMAN, J.D. et al. Identification of a New Soybean Kunitz Trypsin Inhibitor Mutation and Its Effect on Bowman–Birk Protease Inhibitor Content in Soybean Seed. **Journal of agricultural and food chemistry**. v. 63, p. 1352-1359. 2015.

GU, C. et al. Effect of Soybean Variety on Anti-Nutritional Factors Content, and Growth Performance and Nutrients Metabolism in Rat. **International Journal of Molecular Science**, v. 11, n. 3, p. 1048–1056, 2010.

HUANG H. et al. Inhibitory activity and conformation changes of soybean trypsin inhibitors induced by ultrasound. **Ultrasonics Sonochem**. v.15, p.724-30, 2008.

HUNTINGTON, G. B. et al. Effects of a Slow-Release Urea Source on Absorption of Ammonia and Endogenous Production of Urea by Cattle. **Animal Feed Science and Technology**, v. 130, n.3-4, p. 225-241, 2006.

IAL - INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz. v. 1: **Métodos químicos e físicos para análise de alimentos**, 4. ed. São Paulo: IMESP, 2008.

IRIGOYEN, R.M.T. et al. Drying–toasting kinetics of presoaked soybean. A mathematical model considering variable diffusivity, shrinkage and coupled heat transfer. **Journal of Food Engineering**, v.142, p.70–79, 2014.

JUSTINO, P.F. et al. Avaliação sensorial de bolo de chocolate acrescido de soja por crianças em idade escolar. **Revista Salus**, Guarapuava, v.3, n.2, p.13-20, 2010.

KAKADE, M. L. et al. Determination of a trypsin inhibitor activity of soy products: a collaborative analysis of an improved procedure. **Cereal Chemistry**, v. 51, n.3, p. 376-382, 1974.

KASEMSUMRAN, S. et al. Partial least squares processing of near-infrared spectra for discrimination and quantification of adulterated olive oils. **Spectroscopy Letters**, v. 38, p. 839-85, 2005.

LEE, K.H.; RYU, H. S.; RHEE, K. C. Protein Solubility Characteristics of Commercial Soy Protein Products. **JAACS**, v. 80, n. 1, p. 85-90, 2003.

LEITE, P. R. D. C. et al. Limitações da utilização da soja integral e farelo de soja na nutrição de frangos de corte. **Enciclopédia Biosfera**, v. 8, n.15, p. 1138, 2012.

LIMA, K. M. G. et al. Sensores ópticos com detecção no infravermelho próximo e médio. **Química Nova**, v. 32, n. 6, p. 1635-1643, 2009.

LOKURUKA, M. N. I. Effects of processing on soybean nutrients and potential impact on consumer health: an overview. **African Journal Food, Agriculture, Nutrition and Development**, v. 11, n. 4, jul., 2011.

LOSSO, J. N. The biochemical and functional food properties of the Bowman-Birk inhibitor. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 48, n.1, p. 94-118, 2008.

MAROULIS, Z. B. et al., Heat and mass transfer modeling in air drying of foods. **Journal of Food Engineering**, v. 26, p. 113–130, 1994.

MENDES, W.S. et al. Composição química e valor nutritivo da soja crua e submetida a diferentes processamentos térmicos para suínos em crescimento. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.56, n.2, p.207-213, 2004.

METROHM. A guide to near-infrared spectroscopic analysis of industrial manufacturing processes. Herisau: SWITZERLAND, p. 46, 2013.

MIRZAEI, A; NERI, G. Microwave-assisted synthesis of metal oxide nanostructures for gassensing application: A review. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v.237, p. 749-775, 2016.

MIURA, E. M. E. et al. Cinética de Inativação de inibidores de tripsina e de insolubilização de proteínas de diferentes cultivares de soja. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.5, p.1659-1665, 2005.

MORGANO, Marcelo A. **Aplicação de métodos quimiométricos em análise de alimentos**. 2005. 127f. Tese (Doutorado) – Doutorado em ciências – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005.

MORGANO, M. A. et al. Determinação de umidade em café cru usando espectroscopia NIR e regressão multivariada. **Ciência e tecnologia de alimentos**, v. 28, n. 1, p. 12-17, 2008.

MORGANO, M. A. et al. Determinação de proteína em café cru por espectroscopia NIR e regressão PLS. **Ciência e tecnologia de alimentos**, v. 25, n.1, p. 25-31, 2005.

MOURA, N. C. et al. Composição de cultivares de soja submetida a diferentes tratamentos térmicos. **Alimentos e Nutrição**, v.18, n.2, p.151-160, 2007.

NORRIS, K. H; HART, J. R, Direct spectrophotometric determination of moisture content of grain and seeds, **Journal Near Infrared Spectroscopy**, v. 4, p. 23-30, 1996.

NUNES, P. G. A. **Uma nova técnica para seleção de variáveis em calibração multivariada aplicada às espectrometrias UV-VIS e NIR**. 2008. 121f. Tese (Doutorado) – Doutorado em química - Universidade Federal de Paraíba, João Pessoa, 2008.

OLIVEIRA, F. N. et al. Desempenho de frangos de corte nas fases de crescimento e final alimentados com rações contendo soja integral extrusada em diferentes temperaturas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.6, p.1950-1955, 2005.

OZAKI, Y. W. **P.Williams, "Grains and seeds,"** in Near-Infrared Spectroscopy in Food Science and Technology. Capítulo 7.1, p.165-217, JohnWiley & Sons, 2007.

PARADKAR, M. M. et al. Discrimination and classification of adulterants in maple syrup with the use of infrared spectroscopic techniques. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 82, p. 497-504, 2002.

PONTES, M. J. C. et al. Classification of distilled alcoholic beverages and verification of adulteration by near infrared spectrometry. **Food Research International**, v. 39, p. 182-189, 2006.

PYSZ, M. et al. Effect of microwave field on trypsin inhibitors activity and protein quality of broad bean seeds (*vicia fava var. major*). **Acta Scientiarum Polonorum, Technologia Alimentos**, v. 11, n 2, p. 193-199, 2012.

REAL-GUERRA, R. et al. Soybean urease: over a hundred years of knowledge, In: A Comprehensive Survey of International Soybean Research - Genetics, Physiology, Agronomy and Nitrogen Relationships. **Agricultural and Biological Sciences**. James E. Board (Ed.) 1ed. Rijeka: Intech, 2013, p. 317-339.

ROCHA, C. et al. The effect of raw and roasted soy-beans on intestinal health, diet digestibility, and pan-creas weight of broilers. **The Journal of Applied Poultry Research**, v. 23, n. 1, p. 71-79, 2014.

ROY, F.; BOYE, J.I.; SIMPSON, B. K. Bioactive proteins and peptides in pulse crops: Pea, chickpea and lentil. **Food Research International**, n.43, p.432-442, 2010.

SANT'ANA, L.F.R. et al. Valor nutritivo e fatores antinutricionais de multimisturas utilizadas como alternativa alimentar. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v.3, p.129-135, 2000.

SHIVAKUMAR, M. et al. Introgression of null allele of Kunitz trypsin inhibitor through marker-assisted backcross breeding in soybean (*Glycine max* L. Merr.). **BMD Genetics**. v.17, n.106, 2016.

SILVA, M.S. et al. Composição Química e Valor Protéico do Resíduo de Soja em Relação ao Grão de Soja. **Ciências e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 3, p. 571-576, 2006.

SOARES, L. M. V.. **Curso básico de instrumentação para analistas de alimentos e fármacos: espectrometria no infravermelho**. Barueri: Manole, 2006.

STUART, B.H. Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Applications. **Analytical techniques in the sciences** John Wiley & Sons, New York, 2004.

TEYE, E. et al. Review on the Potential Use of Near Infrared Spectroscopy (NIRS) for the Measurement of Chemical Residues in Food. **American journal of food science and technology**, v. 1, n. 1, p. 1-8, 2013.

UNDERSANDER, Dan. Uses and Abuses of NIR Feed Analysis. **Florida Ruminant Nutrition Symposium**, 2006.

VAGADIA, B. H. et al. Effects of thermal and electric fields on soybean trypsin inhibitor protein: A molecular modelling study, **Innovative food science and emerging technologies**, v. 35, p.9-20, 2016.

VALDERRAMA, P.; BRAGA, J. W. B. Estado da arte de figuras de mérito em calibração multivariada. **Química Nova**, n. 5, v. 32, p. 1278–1287, 2009.

VASCONCELOS, I. M. et al. Combination of Chemical Analyses and Animal Feeding Trials as Reliable Procedures to Assess the Safety of Heat Processed Soybean Seeds. **Journal of Agriculture and Food Science**, v. 57, n. 11, p. 4668-4673, 2009.

WILSON, T. A. et al. Soy protein without isoflavones reduces aortic total and cholesterol ester concentrations greater than soy protein with isoflavones compared with casein in hypercholesterolemic hamsters. **Nutricion Research**. v.8, n.27, 498-504, 2007.

WILLIAMS, P.; NORRIS, K. **Near-infrared technology in the agricultural and food industries**, 2ª ed, p.296. St. Paul: American Association of Cereal Chemists IINC, 2001.

WOLD, S.; SJÖSTRÖM, M.; ERIKSSON, L. PLS-regression: a basic tool of chemometrics. **Chemometrics and intelligent laboratory systems**, v. 58, n. 2, p. 109- 130, 2001.

ZILIC, S. M. et al. Heat processing of soybean kernel and its effect on lysine availability and protein solubility. **Central European Journal of Biology**. n. 4, p.572-583, 2006.