



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE**  
**FACULDADE DE FARMÁCIA**  
**PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

**ANA CRISTINA VIEIRA PAES LEME**

**Soja Orgânica e Obtenção de Farinha e Leite de Soja:**  
**Análise Microscópica, Histoquímica e Química**

Rio de Janeiro

2010

**ANA CRISTINA VIEIRA PAES LEME**

**Soja Orgânica e Obtenção de Farinha e Leite de Soja:  
Análise Microscópica, Histoquímica e Química**

**Dissertação apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio de Janeiro como requisito para a obtenção do título de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas.**

**Orientadora:**

**Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Mirian Ribeiro Leite Moura**

**Co-Orientadora:**

**Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ana Cláudia de Macêdo Vieira**

Rio de Janeiro

2010

## FICHA CATALOGRÁFICA

L551s Leme, Ana Cristina Vieira Paes.  
Soja orgânica e obtenção de farinha e “leite” de soja: análise microscópica, histoquímica e química / Ana Cristina Vieira Paes Leme; orientador Mirian Ribeiro Leite Moura; co-orientador Ana Cláudia de Macêdo Vieira. – Rio de Janeiro : UFRJ, Faculdade de Farmácia, 2010.  
93f. : il. ; 30cm.

Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – UFRJ, Faculdade de Farmácia, 2010.  
Inclui bibliografia.

1. Soja. 2. Alimentos. 3. Microscopia. I. Moura, Mirian Ribeiro Leite. II. Vieira, Ana Cláudia de Macêdo. III. Título.

**CDD 664.726**

**ANA CRISTINA VIEIRA PAES LEME**

**Soja Orgânica e Obtenção de Farinha e Leite de Soja: Análise Microscópica,  
Histoquímica e Química**

**Dissertação apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do  
Rio de Janeiro como requisito para a obtenção do título de Mestre no  
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas.**

**Aprovada em \_\_\_/\_\_\_/2010**

**Orientadores**

---

Presidente, Professora Dr<sup>a</sup>. Mirian Ribeiro Leite Moura  
Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro

---

Professora Dr<sup>a</sup>. Ana Cláudia de Macêdo Vieira  
Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro

**Banca Examinadora**

---

Professora Dr<sup>a</sup>. Lúcia Maria Jaeger de Carvalho  
Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro

---

Professora Dr<sup>a</sup>. Rosani do Carmo de Oliveira Arruda  
Instituto de Biologia, Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro

---

Professor Dr. Edmar Clemente  
Departamento de Química, Universidade Estadual de Maringá

**Membros Suplentes**

---

Professora Dr<sup>a</sup>. Maria de Lourdes Reis Giada  
Instituto de Nutrição Josué de Castro, Universidade Federal do Rio de Janeiro

---

Professora Dr<sup>a</sup>. Nancy dos Santos Barbi  
Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro



## DEDICATÓRIA

Aos meus pais Cheila e Anezio.

“Olhem para frente!  
Não se detenham;  
se convidados a prosseguir,  
aceitem o convite.  
Sigam adiante!”

Antônio de Aquino

## AGRADECIMENTOS

A Deus, nosso pai, Jesus, nosso *Mestre*, e a todos os irmãozinhos espirituais que me abraçaram quer em missão ou em causa.

Aos meus pais, Cheila e Anezio, que, entendendo ou não, apoiaram-me todos os dias desta longa jornada com carinho, tolerância e abnegação. Agradeço o exemplo de humildade, solidariedade, fé, abnegação, paciência, alegria, pacificidade, coragem, honestidade, amor ao próximo, doação,

Ao meu irmão, Cláudio, pela amizade, estímulo, exemplo de alegria e satisfação com a vida. Aos meus avós pelas decisões que nos trouxeram até aqui. Aos meus tios e primos. Aos amigos que passaram e os que estão passando na minha vida.

Aos meus amigos de graduação, André, Flaviane, Giseli, Giselle e Leandro, e Carol, Felipe, Reinaldo e Xandó, tanto pelo apoio quanto pelas sacudidelas.

A pessoas especiais na minha vida, Fernando e Viviane, agradeço o fato de existirem. Ao clã Dutra que tem me apoiado nesses últimos sete anos.

Larissa, pessoa forte, obrigada pelo exemplo de determinação.

Aos amigos dos laboratórios de Controle Bromatológico de Alimentos, Ediane, Izaías, Lara, Cláudia, Carul, Ângelo, Paula, Osman, Daniela, Patrícia e Camila.

Aos amigos do laboratório de Farmacobotânica, Patrique, André, Renato, Giselle, Sheila, Silviane, Igor, Gisele Macedo, Marcos e Andréa.

Aos integrantes do laboratório de Bioquímica de Microorganismos, Prof<sup>a</sup> Ângela Hampshire Lopes de Carvalho, Danielle, Marta, Luiz, Felipinho, Mauricio e Fernando.

Ao apoio dos docentes e funcionários da UFRJ, Prof<sup>a</sup> Lúcia Maria Jaeger de Carvalho e seus alunos, Prof<sup>a</sup> Mônica Freiman de Souza Ramos e seus alunos, Prof<sup>o</sup> Lúcio Mendes Cabral e seus alunos, Prof<sup>a</sup> Nancy dos Santos Barbi e Prof<sup>a</sup> Priscilla Vanessa Finotelli, ao Técnico Adm. Celso do NPPN e ao Técnico Adm. Denis do IMPPG.

A CAPEs pela bolsa concedida. A UFRJ pela oportunidade. Aos Professores e funcionários do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas.

E em especial as Professoras Mirian e Ana Cláudia por TUDO!

## RESUMO

### **Soja Orgânica e Obtenção de Farinha e Leite de Soja: Avaliação Microscópica, Histoquímica e Química**

A soja (*Glycine max* L.), importante representante da família Fabaceae, se destaca por sua expressão econômica, pela composição rica em proteínas e lipídios, apresentando ainda substâncias de interesse como vários grupos de polifenóis. As populações orientais são as principais consumidoras do grão de soja e de seus derivados e, nessas populações, se observa baixa incidência de doenças crônicas como câncer, doenças cardíacas e excesso de peso. O controle de qualidade dos alimentos conta com diversas ferramentas como o estudo microscópico de suas estruturas, que permite tanto determinar sua identidade e seus constituintes, quanto detectar adulterações e falsificações. Este trabalho teve como objetivo avaliação microscópica, histoquímica e química do grão, da farinha integral e do “leite” de soja através de ferramentas, como a microscopia óptica e a análise da composição química destes produtos. Para o estabelecimento desses padrões foram utilizados vinte lotes de soja orgânica e seus derivados, codificados como grão de soja– GS; farinha de soja integral - FS; e “leite” de soja - LS, numerados de 1 a 20. Foram realizadas análises microscópicas, histoquímicas, composição centesimal e conteúdo de fenólicos totais (CFT). Na análise anatômica, do grão, foram observados elementos relevantes para a identificação e reconhecimento de produtos derivados de soja, como as macroesclereídes e as osteoesclereídes observadas na análise microscópica tanto do grão quanto da farinha de soja integral. A análise histoquímica evidenciou a presença de substâncias lipofílicas, através do teste com sudan IV, e a ausência de amido como características marcantes de grão, “leite” e farinha de soja integral. As substâncias fenólicas e os açúcares redutores foram identificados apenas no grão. A análise da composição centesimal entre os 20 lotes revelou os seguintes intervalos: umidade – 8,42 a 11,37%, 2,59 a 5,19% e 95,20 a 98,88% ; proteínas - 32,44 a 44,10%, 33,01 a 56,85%, 1,13 a 3,95% e 43,68 a 78,74%, para GS, FS, LS e farinha desengordurada, respectivamente, lipídios - 19,84 a 23,23%, 20,62 a 23,46% e 0,69 a 2,03%, para GS, FS e LS, respectivamente; cinzas - 3,67 a 5,23%, 4,26 a 5,46% e 0,09 a 0,54%, para GS, FS e LS, respectivamente; carboidratos - 18,81% a 33,06%, 9,59 a 37,36% e zero a 1,76%, para GS, FS e LS, respectivamente; e valor calórico total - 432,14 a 459,49 Kcal, 464,14 a 486,08 Kcal e 13,93 a 25,88 Kcal, para GS, FS e LS, respectivamente. Observou-se que o teor de proteína da FS um lote não atendeu o preconizado pela legislação brasileira vigente, enquanto para LS dois lotes atenderam a legislação Os resultados de CFT dos GS, FS e LS variaram de 9,04 a 17,95 mg EAG; 15,33 a 18,72 mg EAG e 14,36 a 22,47 mg EAG, respectivamente. Tais resultados estão de acordo com o observado na literatura. A análise microscópica e química se mostrou eficiente ferramenta de controle de qualidade de alimentos com baixo custo frente a outras técnicas. Os padrões estabelecidos neste estudo vem atender a necessidade e a carência observada em relação a materiais de referência para controle de qualidade de soja e seus derivados.

## ABSTRACT

### **Organic Soy Flour and Obtaining and Soy Milk: Microscopic Evaluation, Chemistry and Histochemistry**

Soybean (*Glycine max* L.), is an important member of the Fabaceae, not only for its economic importance, but also for the high levels of proteins and lipids, with further substances of interest to various groups of polyphenols. Populations of Asian countries are the largest consumers of soybeans and derived products and on these populations have been observed low incidence of diseases like cancer, heart disease and obesity. The control of food makes use of methods such as microscopic analysis, may help not only to identify and certify materials as also permit the recognition of adulterations and contaminations. The aims of present work was microscopic, histochemical and chemical evaluation of organic soybeans, soy flour and soymilk. It has being used 20 samples of organic soybeans used on analysis of the grains and production of flour and soy milk. Codes were established for the materials analyzed: soybean - GS, soy flour - FS, soy milk - LS, they were numbered 1-20 according to the received samples and analysis were performed on the microscopic appearance, histochemical tests, studies of chemical composition and content of total phenols (CTF). In the anatomical analysis important elements were identified in the tegument such as macrosclereids and osteosclereids. These cells were also found in flour, contributing to the establishment of standards for the product. The histochemical analysis, through the sudan IV test, revealed the presence of lipophilic substances and the absence of starch in all samples of grain, "milk" and soy flour. Phenolic substances and reducing sugars were identified only in the grains. The analysis of chemical composition of the samples revealed the following ranges: moisture - 8.42 to 11.37%, 2.59 to 5.19% and 95.20 to 98.88%, protein - 32, 44 to 44.10%, 33.01 to 56.85%, 1.13 to 3.95% and 43.68 to 78.74% for GS, FS, LS and defatted flour, respectively. fat - 19.84 to 23.23%, 20.62 to 23.46% and 0.69 to 2.03% for GS, FS and LS, respectively; ash - 3.67 to 5.23% 4.26 to 5.46% and 0.09 to 0.54% for GS, FS and LS, respectively, carbohydrates - 18.81 to 33.06%, 9.59 to 37.36% and zero to 1.76% for GS, FS and LS, respectively, and total caloric value - 432.14 to 459.49 Kcal, 464.14 to 486.08 kcal and 13.93 to 25.88 kcal, for GS, FS and LS, respectively. It was observed that only a sample of FS showed no proteins levels within the parameter settings of the current legislation in Brazil. Only two samples of LS have proteins levels in accordance with Brazilian legislation. The results of the CFT GS, FS and LS ranged from 9.04 to 17.95 mg EAG, EAG 15.33 to 18.72 mg and 14.36 to 22.47 mg EAG, respectively. These results are consistent with the literature. The microscopic and chemistry analysis are efficient tools to control the quality of foods with low cost when compared to other techniques. The standards established in this study may be used as a material for quality control of soy and its derivatives.

## LISTA DE SIGLAS, ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

AOAC – Association Of Analytical Chemists

BPF – Boas Práticas de Fabricação

b.s. – base seca

b.s.d. – base seca desengordurada

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento

CTF – Conteúdo Total de Fenólicos

CV – Coeficiente de variação

DP – Desvio-Padrão

EAG – equivalentes de ácido gálico

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

EROs – espécies reativas de oxigênio

FOS – frutooligossacarídeos

FS1-20 – farinha integral de soja, seguido do número correspondente ao lote

FUFOSE - Functional Food Science in Europe

GS1-20 – grão de soja, seguido do número correspondente ao lote

ha - hectares

IAL – Instituto Adolfo Lutz

IDR – Ingestão Diária Recomendada

LS1-20 – “leite” de soja, seguido do número correspondente ao lote

UFRJ – Universidade Federal do Rio de Janeiro

VCT – Valor Calórico Total

# SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b>	15
1.1 Soja	15
1.1.1 Família Fabaceae	15
1.1.2 Histórico	16
1.1.3 Aspectos nutricionais	17
1.2 Expressão Econômica	17
1.2.1 Economia	17
1.2.2 Produtividade	18
1.2.3 Derivados	18
1.3 Benefícios a Saúde	20
1.4 Alimentos Funcionais	21
1.4.1 Definição	21
1.5 Alimentos Orgânicos	23
1.5.1 Definição	23
1.5.2 Expressão Econômica	24
1.6 Polifenóis	24
1.6.1 Espécies Reativas de Oxigênio	24
1.6.2 Polifenóis e Antioxidantes	25
1.6.3 Flavonóides	26
1.7 Microscopia	28
1.7.1 Avaliação Microscópica e Histoquímica	28
1.8 Legislação	30
<b>2. OBJETIVO</b>	32
2.2 Objetivo geral	32

2.3	Objetivos específicos.....	32
<b>3.</b>	<b>METODOLOGIA</b> .....	<b>33</b>
3.1	Soja .....	33
3.1.1	Soja Convencional.....	33
3.1.2	Soja Orgânica. ....	33
3.2	Reagentes... ..	34
3.3	Amostragem/Seleção dos grãos .....	34
3.4	Preparo das amostras para análises... ..	35
3.5	Obtenção da Farinha Integral de Soja.. ..	35
3.6	Obtenção do “Leite” de Soja.. ..	36
3.7	Análise Microscópica... ..	37
3.8	Análise Histoquímica. ....	37
3.9	Análises Químicas. ....	38
3.9.1	Composição Centesimal... ..	38
3.9.2	Conteúdo Total de Polifenóis. ....	40
3.10	Análise Estatística. ....	41
<b>4.</b>	<b>RESULTADOS e DISCUSSÃO</b> .....	<b>42</b>
4.1	Seleção da amostra de soja... ..	42
4.2	Caracterização da morfologia externa de grãos de soja e derivados... ..	42
4.3	Caracterização anatômica dos grãos de soja.. ..	45
4.4	Caracterização microscópica da farinha e do “leite” de soja... ..	49
4.5	Análise histoquímica... ..	54
4.6	Análises Químicas. ....	60
4.6.1	Composição Centesimal... ..	60
4.6.2	Conteúdo Total Fenólicos... ..	71

<b>5.</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	<b>75</b>
<b>6.</b>	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>76</b>
<b>7.</b>	<b>ANEXO 1</b> .....	<b>87</b>
<b>8.</b>	<b>ANEXO 2</b> .....	<b>88</b>
<b>9.</b>	<b>ANEXO 3</b> .....	<b>89</b>
<b>10.</b>	<b>ANEXO 4</b> .....	<b>90</b>
<b>11.</b>	<b>ANEXO 5</b> .....	<b>91</b>
<b>12.</b>	<b>ANEXO 6</b> .....	<b>92</b>
<b>13.</b>	<b>ANEXO 7</b> .....	<b>93</b>



## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Formação das EROS. ....	26
Figura 2: Estrutura química dos principais tipos de flavonóides....	27
Figura 3: Estrutura química geral de isoflavonóide....	28
Figura 4: Grão de soja convencional. A) Corte transversal....	42
Figura 5: Grãos de soja orgânica (GS1) – Aspectos da morfologia externa..	44
Figura 6: Farinha e “leite” de soja orgânica – Aspectos da morfologia externa..	45
Figura 7: Cortes transversais dos tegumentos de grãos de soja orgânica....	47
Figura 8: Testes para detecção de lignina nos tegumentos de grãos de soja....	49
Figura 9: Corte transversal dos cotilédones de grãos de soja orgânica....	51
Figura 10: Aspecto microscópico de amostras de farinha de soja orgânica... ..	52
Figura 11: Aspecto microscópico de amostras de “leite” de soja orgânica... ..	53
Figura 12: Análise histoquímica – teste para detecção de substâncias lipofílicas ...	56
Figura 13: Análise histoquímica – teste para detecção de açúcares redutores ....	57
Figura 14: Análise histoquímica – teste para detecção de amido... ..	58
Figura 15: Análise histoquímica – teste para detecção de substâncias fenólicas... ..	59

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1: Teor de umidade nos lotes avaliados de grão, farinha integral e “leite” de soja... ..	60
Gráfico 2: Teor de lipídios nos lotes avaliados de grão, farinha integral e “leite” de soja... ..	61
Gráfico 3: Teor de proteína nos lotes avaliados de grão, farinha integral e “leite” de soja... ..	62
Gráfico 4: Teor de cinzas nos lotes avaliados de grão, farinha integral e “leite” de soja... ..	63
Gráfico 5: Teor de carboidratos nos lotes avaliados de grão, farinha integral e “leite” de soja... ..	64
Gráfico 6: Valor calórico total nos lotes avaliados de grão, farinha integral e “leite” de soja... ..	64
Gráfico 7: Representação gráfica da curva de calibração do ácido gálico... ..	72

## ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 01: Testes histoquímicos para detecção de substâncias de interesse com identificação de resultado... ..	38
Tabela 02: Avaliação de parâmetros histoquímicos de amostras de grão, farinha “leite” e de soja... ..	59
Tabela 03: Conteúdo total de polifenóis (EAG) de amostras de grão, farinha integral e “leite” de soja com média de 3 repetições $\pm$ DP... ..	72
Tabela 04: Avaliação da composição centesimal de amostras de grãos de soja com média de 3 repetições $\pm$ DP, CV (coeficiente de variação). ... ..	87
Tabela 05: Avaliação da composição centesimal de amostras de farinha de soja com média de 3 repetições $\pm$ DP, CV (coeficiente de variação)... ..	88
Tabela 06: Avaliação da composição centesimal de amostras de “leite” de soja com média de 3 repetições $\pm$ DP, CV (coeficiente de variação)... ..	89
Tabela 07: Avaliação do teor de proteínas de amostras de farinha de soja, em base seca e desengordurada... ..	90

## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1 Soja

#### 1.1.1 Família Fabaceae (leguminosae)

A família Fabaceae, pertencente à ordem *Leguminosae*, dispõe de representantes em todo mundo. É uma das maiores famílias de Angiospermas, composta em média por 650 gêneros e 18000 espécies, sendo encontrados no Brasil aproximadamente 200 gêneros e 1500 espécies (Souza e Lorenzi, 2005).

A diversidade da família tem como consequência o emprego expressivo de diversas espécies, nos mais variados campos econômicos como alimentação humana e animal, adubação verde, ornamentação, extração madeireira. Na alimentação se destacam feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) que tem amplo emprego na culinária brasileira, soja (*Glycine max* L.), amendoim (*Arachis hypogaea* L.), ervilha (*Pisum sativum* L.), tremoço (*Lupinus* spp.), grão de bico (*Cicer arietinum* L.) e tamarindo (*Tamarindus indica* L.). A associação de algumas espécies com bactérias fixadoras de nitrogênio (*Rhizobium*) sustenta a adubação verde onde se destacam comercialmente feijão-guandu (*Cajanus cajan* L.), crotalária (*Crotalaria* spp.), lablab (*Lablab purpureus* L.) e alfafa (*Medicago sativa* L.), entre outros (Souza e Lorenzi, 2005).

Nos últimos anos se tem explorado a presença de substâncias de interesse não-nutricional, ou seja, que apresentam atividade fisiológica distinta da nutrição. A soja e seus derivados em geral são estudados por suas funções nutricionais e não-nutricionais (Moraes e Colla, 2006).

### 1.1.2 Histórico

A soja (*Glycine max* L.) é uma planta pertencente a família Fabaceae, sendo uma das mais importantes oleaginosas cultivadas e comercializadas no mundo, devido principalmente à sua grande importância na economia (Rizzini e Mors, 1995; Toledo *et al.*, 2007). O grão *in natura* e seus derivados são importante alternativa para alimentação humana e animal em função de seu elevado teor de proteínas (Toledo *et al.*, 2007).

A soja surgiu como importante nutriente em meados do primeiro milênio e tem sido cultivada na China há séculos, por mais de 5000 anos. Sua espécie mais antiga, a soja selvagem, crescia principalmente nas terras baixas e úmidas, nas proximidades dos lagos e rios da China Central. Há três mil anos a soja se espalhou pela Ásia, onde começou a ser utilizada como alimento (Embrapa Soja, 2008). Somente no século XVIII pesquisadores europeus iniciaram estudos do grão da soja como fonte de óleo e nutriente animal (Messina, Messina e Serchell, 1994) e no início do século XX passou a ser cultivada comercialmente nos Estados Unidos. No período entre a 1ª e a 2ª Guerras Mundiais, a necessidade de aumentar o fornecimento de alimentos de qualidade protéica estimulou o uso de alternativas como a soja na alimentação das tropas (Brum *et al.*, 2005).

No Brasil, o grão chegou com os primeiros imigrantes japoneses em 1908, mas foi introduzida em larga escala no Rio Grande do Sul em 1914. Porém, a expansão da soja no Brasil aconteceu nos anos 70, com o interesse crescente da indústria de óleo e demanda do mercado internacional (BRASIL, 2008).

### *1.1.3 Aspectos Nutricionais*

O consumo de soja pelas populações orientais ao longo dos séculos está associado a benefícios reconhecidos à saúde. A ocorrência de doenças como problemas cardíacos, câncer, sintomas da menopausa, excesso de peso, entre outras, é baixa e atribui-se este fato ao alto consumo de soja por essas populações (IMeN, 2007). Os japoneses, por exemplo, consomem cerca de 55 gramas de proteína de soja por dia. Nos Estados Unidos, o consumo médio é de 5 gramas por dia (IMeN, 2007).

O Japão e outros países orientais utilizam, há séculos, soja fermentada na alimentação e, verifica-se, um crescente consumo desta leguminosa e de seus derivados como alimento funcional em países europeus e nos Estados Unidos (Park *et al.*, 2002). No Brasil o seu consumo vem sendo bastante estimulado (Carrão-Panizzi, 2006).

A soja, com uma composição química diversificada é considerada um alimento completo fornecedor de proteínas, ácidos graxos saturados e insaturados, algumas vitaminas, além de possuir compostos polifenólicos, como as isoflavonas (Ávila *et al.*, 2007).

## **1.2 Expressão Econômica**

### *1.2.1 Economia*

O Japão consome grande parte da produção mundial de soja em função de sua escassez de área para cultivo. Os Estados Unidos são responsáveis por 50% dessa produção, representando uma importante atividade econômica para o país. No Brasil, são produzidos cerca de 30% da produção mundial, sendo o segundo maior produtor do mundo (BRASIL, 2008), seguido pela Argentina com 10% e

demais países da América do Sul e África (Stevens e Stevens, 1995). Em 2006/2007 a produção brasileira de soja atingiu seu maior patamar histórico, 58.391,8 mil toneladas colhidas (CONAB, 2008).

### *1.2.2 Produtividade*

No território brasileiro a cultura de soja ocupa o terceiro lugar em área cultivada com 1,48 milhão ha, de acordo com os dados do sétimo levantamento do ano de 2010 realizado pela CONAB. Com destaque para o crescimento de 6,8% o maior observado dentre as demais culturas, seguida pelo milho com 3,0% de crescimento em área cultivada (CONAB, 2008).

### *1.2.3 Derivados*

O grão da soja dá origem a produtos e subprodutos utilizados atualmente pela agroindústria de alimentos e indústria química. A proteína de soja, importante subproduto, é incorporada em vários produtos comestíveis, tais como para panificação, massas, produtos de carne, cereais, misturas preparadas, bebidas, alimentação para bebês e alimentos dietéticos. Também, utilizada pela indústria de adesivos, indumentária, alimentação animal, adubos, formulador de espumas, fabricação de fibra, etc (Embrapa Soja, 2008). Além da soja em grãos, são comercializadas também as farinhas de soja, concentrados e isolados de soja, óleo de soja, soja texturizada, alimentos fermentados como *miso*, *shoyo*, *tempeh*, tofu, o extrato de soja ou “leite” de soja (comercializado em vários sabores), além de outros produtos.

Trindade (2001) apresentou os produtos e subprodutos derivados de soja, como observado a seguir.

- “Leite” de soja: produto obtido a partir da emulsão aquosa resultante da hidratação dos grãos de soja, convenientemente limpos, seguido de processamento tecnológico adequado, adicionado ou não de ingredientes opcionais permitidos, podendo ser submetido à desidratação, total ou parcial. Extratos hidrossolúveis, “leite” líquido e em pó, constitui fonte de proteínas e podem ser usados como alimento ou como ingredientes para a elaboração de alimentos.

De acordo com Kinsella (1984) a ausência de lactose faz do “leite” de soja uma bebida alternativa para as pessoas intolerantes a esse carboidrato.

- Farinha de soja: pode possuir na sua composição a fração lipídica do grão ou ser produzida após extração do óleo. O processo produtivo incorpora técnicas de maceração e separação por meio de peneiras industriais. Na composição nutricional da farinha de soja podemos alcançar até 50% de participação protéica. A indústria alimentícia, principalmente de panificação, incorpora o uso da farinha de soja como fortificante nutricional. Observa-se também seu uso na composição de cremes em forma de pó ou mesmo na indústria de embutidos (Trindade, 2001).

- Fibra: preferencialmente do tipo solúvel (30%), é extraída após maceração do grão. Existe larga utilização na dietoterapia e na indústria alimentícia. A moderna terapia nutricional preconiza a utilização de suplementos nutricionais, preferencialmente enriquecidos com fibras. Vários trabalhos conduzem para a validação clínica de incrementar a participação da fibra solúvel em relação ao tipo insolúvel (Trindade, 2001).

Segundo Stevens e Stevens (1995) as fibras solúveis da soja auxiliam na diminuição do colesterol e das concentrações de açúcar no sangue, podendo auxiliar no controle de diabetes tipo 2. As insolúveis auxiliam nas funções gastrintestinais, além de prevenirem o aparecimento do câncer de cólon.



- Óleo de soja: composto lipídico extraído do produto macerado e que representam 18 a 20% da composição nutricional da soja, sendo que encontramos a predominância de poliinsaturados (58%), monoinsaturados (23%) e pouca participação de saturados (15%). O óleo de soja amplamente utilizado na indústria alimentícia, na dietoterapia hospitalar e no consumo domiciliar, possui alta concentração de ácidos graxos linoléicos (51%) (Trindade, 2001).

- Produtos protéicos: podem ser caracterizados como: concentrados protéicos ou proteína isolada de soja. No método de produção do concentrado protéico obtemos 60% de proteínas, já no isolado protéico, a participação de proteínas pode atingir 90%. A proteína de soja pode ser utilizada como incremento funcional aos alimentos ou participar como principal nutriente de alimentos comerciais. Nesse caso, a indústria atua incorporando sabores e formatações comerciais (Trindade, 2001).

### **1.3 Benefícios à Saúde**

Estudos experimentais e epidemiológicos sobre a relação entre hábitos alimentares e risco de doenças crônicas mostraram que alguns alimentos têm um impacto direto na saúde. Geralmente é aceito que alimentos derivados de plantas como vinho, frutas, nozes, vegetais, grãos, legumes, temperos etc, apresentem alguns efeitos benéficos para a saúde humana, particularmente em doenças relacionadas à idade. Várias organizações de saúde no mundo recomendam o aumento na ingestão de alimentos derivados de plantas para melhorar o estado de saúde e retardar o desenvolvimento destas doenças (Brandi, 1997; Espin, Garcia-Conesa e Tomás-Barberán, 2007).

A capacidade de alguns alimentos derivados de plantas para reduzir o risco de doenças crônicas foi associada, pelo menos em parte, à ocorrência de metabólitos secundários não-nutrientes (fitoquímicos) sendo apresentada uma ampla gama de atividades biológicas. Os fitoquímicos presentes na dieta estão associados a benefícios para a saúde, incluindo os glicosinolatos (compostos contendo enxofre), terpenóides (carotenóides, monoterpenos, e fitosteróides) e vários grupos de polifenóis (antocianinas, flavonas, flavonóides, isoflavonas, taninos etc), associados na prevenção de doenças degenerativas crônicas (oxidação de LDL em desenvolvimento de placa de ateroma, oxidação de DNA e câncer, oxidação e envelhecimento, inflamação etc) (Espin, Garcia-Conesa e Tomás-Barberán, 2007).

## **1.4 Alimentos Funcionais**

### **1.4.1 Definição**

Um alimento pode ser considerado funcional se for demonstrado que o mesmo pode afetar benéficamente uma ou mais funções alvo no corpo, além de possuir os adequados efeitos nutricionais, de maneira que seja tanto relevante para o bem-estar e a saúde quanto para a redução do risco de uma doença. Os alimentos funcionais são alimentos que provêm a oportunidade de combinar produtos comestíveis de alta flexibilidade com moléculas biologicamente ativas, como estratégia para consistentemente corrigir distúrbios metabólicos, resultando em redução dos riscos de doenças e manutenção da saúde (Moraes e Colla, 2006).

O termo “alimento funcional” foi instituído pela primeira vez no Japão, na década de 1980, em meio à implementação de uma política de melhoria da qualidade de vida a fim de reduzir os gastos com saúde (Badaró *et al.*, 2009). Porém

não há uma definição oficial. Existem definições restritas a determinadas regiões, como a da FUFOSSE, na União Européia, que define que:

“Um alimento pode ser considerado como funcional se for satisfatoriamente demonstrado que afete benéficamente uma ou mais funções no corpo, além de seu efeito nutricional adequado, de maneira relevante, para ou melhorar o nível de saúde e bem-estar e/ou reduzir o risco de doença. Um alimento funcional deve continuar sendo um alimento e deve demonstrar os seus efeitos em quantidades que possam normalmente ser ingeridas na dieta: não é uma pílula ou uma cápsula, mas parte do padrão alimentar normal” (FUFOSSE, 1999).

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Brasil, 1999a, 1999b) permite que um alimento seja classificado e comercializado como funcional caso este obtenha alegações aprovadas e define alimento funcional como:

“Alimento funcional é todo aquele alimento ou ingrediente que além das funções nutricionais básicas, quando consumido como parte da dieta usual, produz efeitos metabólicos e/ou fisiológicos e/ou efeitos benéficos à saúde, devendo ser seguro para consumo sem supervisão médica” (Brasil, 1999a).

A instituição ainda aprova as seguintes alegações para soja: “o consumo diário de no mínimo 25g de proteína de soja pode ajudar a reduzir o colesterol”, e que:

“os dizeres de rotulagem e o material publicitário dos produtos à base de soja não podem veicular qualquer alegação em função das isoflavonas, seja de conteúdo (“contém”), funcional, de saúde e terapêutica (prevenção, tratamento e cura de doenças)” (Brasil, 1999b).

Nos últimos anos, muitos componentes bioativos de alimentos foram comercializados na forma de produtos farmacêuticos, como: pílulas, cápsulas, soluções, géis, licores, pós, granulados etc. Estes componentes bioativos são extraídos de alimentos ou de plantas enriquecidos para um benefício fisiológico cuja função foi diretamente ou indiretamente atribuída. Estes produtos não podem ser

classificados como alimentos, mas como Nutracêuticos, que são ingredientes funcionais isolados e consumidos sob diferentes formas, dadas pela indústria farmacêutica (Moraes e Colla, 2006).

### **1.5 Alimentos Orgânicos**

O crescimento da indústria de alimentos absorvendo novas tendências, como a cultura orgânica, e a preocupação do consumidor em buscar produtos de melhor qualidade tem trazido novos produtos ao mercado. A soja orgânica vem sendo incorporada à dieta do consumidor brasileiro tanto pelos que buscam, quanto pelos que não buscam o selo de certificação do alimento. O programa Pró-Orgânico foi implementado no Brasil intencionado a fortalecer o produtor de alimentos orgânicos e aumentar a oferta desses alimentos (Planeta Orgânico, 2010).

#### **1.5.1 Definição**

A Federação Internacional de Movimento de Agricultura Orgânica (IFOAM, 2006) estabelece o conceito de agricultura orgânica definindo como aquela que envolve sistemas de produção de fazenda que:

- sustente a saúde de terras, plantas, animais e as pessoas;
- confie em sistemas ecológicos para conservar recursos e mantenha equilíbrio natural;
- construa relações justas que respondam pelos custos social e ambiental; e
- que a produtividade, a longo prazo, preserve o ambiente (Sheng, 2009).

### 1.5.2 Expressão econômica

O mercado de alimentos orgânicos se tornou um setor em crescimento frente a economias agrícolas no mundo, motivados pela preocupação do consumidor com a qualidade da alimentação, o que resultou, em 2007, uma área total de cultivo orgânico mundial de 30,5 milhões ha (Chen, 2007; Kledal *et al.*, 2007; Sheng, 2009).

## 1.6 Polifenóis

### 1.6.1 Espécies Reativas de Oxigênio

Radicais livres são átomos, moléculas ou íons com elétrons livres de instabilidade elétrica muito grande que apresentam elevada reatividade e se ligam a qualquer estrutura que esteja ao alcance de sua força de atração. Quando esse evento ocorre no organismo são desencadeadas reações de lesão celular, provocando diversas doenças, como câncer. A formação de Radicais Livres pelo organismo em condições normais é inevitável, pois são necessários no processo de respiração celular (Halliwell e Gutteridge, 1989; Kuss, 2005).

EROs são espécies reativas de oxigênio, substrato da respiração celular aeróbia, onde radicais formados com oxigênio apresentam um elétron livre. A formação dos EROs se dá primeiramente pelo radical superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ ), que pode ser dismutado em peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) ou mesmo através de ação catalítica, pela atuação da enzima superóxido dismutase (SOD). No organismo existem duas SODs principais, a CuZnSOD localizada no citoplasma, contendo Cobre-Zinco na mesma molécula, e MnSOD localizada na mitocôndria, contendo Manganês. A importância da SOD é retratada pelo fato de ser a enzima mais abundante e a quinta proteína mais abundante do organismo (Halliwell e Gutteridge, 1989; Kuss, 2005).

Existem diversos EROs, o superóxido ( $O_2^*$ ) pode ser considerada a primeira espécie tóxica da cadeia de reação de espécies radicais. A figura 1 esquematiza a formação de EROs. As vitaminas do complexo B, vitamina C e beta caroteno são antioxidantes, reduzem os radicais livres eliminando o efeito tóxico dessas espécies (Kuss, 2005).

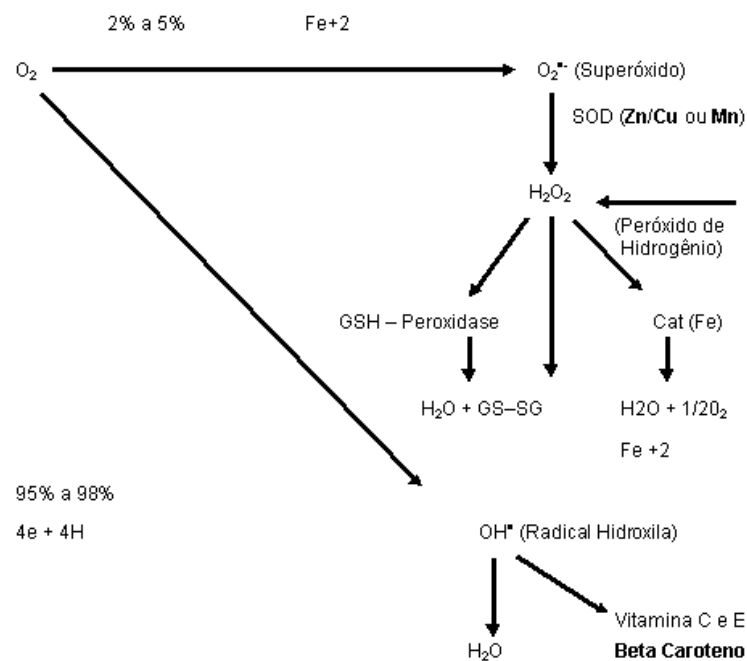


Figura 1: Formação das EROS. Legenda: SOD – Superóxido dismutase; Cat – Catalase;  $O_2^*$  – Superóxido;  $O_2$  – Oxigênio; GSSH – Glutaciona Oxidada; GSH – Glutaciona Peroxidase;  $H_2O$  – Água;  $OH^*$  – Radical Hidroxila; GSH – Glutaciona Reduzida; e  $H_2O_2$  – Peróxido de Hidrogênio.

(Fonte: Kuss, 2005).

### 1.6.2 Polifenóis e Antioxidantes

Os compostos fenólicos são potentes antioxidantes, podendo agir como redutores de oxigênio singlete, atuando nas reações de oxidação lipídica, assim como na quelação de metais. Antioxidantes são substâncias que retardam a velocidade da oxidação, através de um ou mais mecanismos, tais como inibição de

radicais livres e complexação de metais (Duarte-Almeida *et al.*, 2006). As isoflavonas são compostos fenólicos, comumente encontrados em soja e derivados, que apresentam atividade antioxidante relacionadas à redução do risco de aterosclerose e diabetes (Zhuo *et al.*, 2004; McVeigh *et al.*, 2006; Kumar *et al.*, 2010).

Em alimentação humana e animal, polifenóis de origem vegetal podem atuar como antioxidantes, reduzindo o risco de aterosclerose e doença coronária. Malencić *et al.* (2007), observaram diferentes concentrações de polifenóis em vários genótipos de soja. Seus resultados sugerem que o conteúdo de polifenóis deve ser considerado uma característica importante nos grãos de soja, uma vez que alguns dos seus efeitos nutritivos e farmacológicos podem ser atribuídos à sua presença. Sgarbieri, Pacheco, 1999; Williamson, Manach, 2005; Arts, Hollman, 2005 e Pimentel, Francki, Gollücke, 2005 *apud* Pontes *et al.* 2010 observaram além da ação antioxidante, ações anticarcinogênica e antiviral.

### 1.6.3 Flavonóides

A veiculação de informações sobre qualidade e propriedades de interesse de alguns produtos e alimentos tem dado sustentação às tendências de mercado. Esse tipo de propagação de informação apontou a soja como um alimento rico em isoflavonas, polifenóis e é considerado por alguns autores como um dos principais responsáveis pela qualidade de vida das populações orientais (Wuttke, Jarry e Seidlová-Wuttke, 2007)

Os compostos da família dos polifenóis estão presentes entre os metabólitos secundários de vegetais, muito abundantes no reino vegetal e em vários alimentos, como a soja (Simões *et al.*, 2005; t-BOC-L, 2010).

Cederroth e Nef (2009) revisando a literatura descreveram uma gama de efeitos benéficos ao organismo atribuídos ao consumo de soja, como redução no índice de massa corporal de mulheres na pós-menopausa, redução da concentração plasmática de LDL e colesterol total, redução de peso de obesos, do índice de massa corporal.

São conhecidos mais de 4200 flavonóides que se apresentam frequentemente oxigenados e na maioria dos casos conjugados com açúcares, na forma glicosilada. Os flavonóides são encontrados em diversas formas estruturais, sua maioria apresenta 15 átomos de carbono, possuem um núcleo fundamental, constituído de dois anéis aromáticos ("A" e "B") ligados através de três átomos de carbono, figura 02. Nos compostos tricíclicos se observa a presença de um terceiro anel "C", de cinco ou seis membros posicionado entre os anéis aromáticos "A" e "B" (Simões *et al.*, 2004).

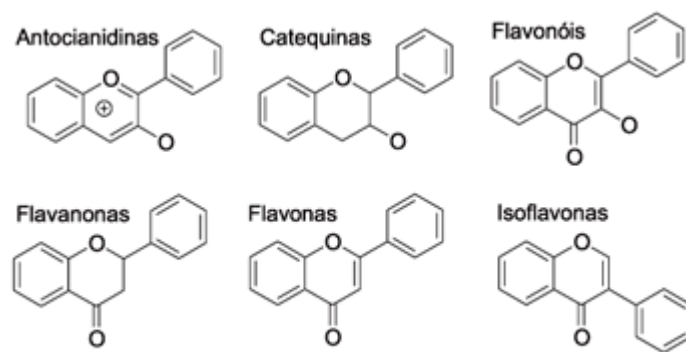


Figura 02: Estrutura química dos principais tipos de flavonóides.

(Gazzoni, 2010)

São classificados de acordo com as características químicas e biossintéticas, em chalconas, flavonóis, flavonas, dihidroflavonóides (flavanonas e flavanonóis), antocianidinas, isoflavonóides, auronas, neoflavonóides, biflavonóides, entre outros (t-BOC-L, 2010).



Isoflavonóides possuem como esqueleto estrutural a 1,2-difenil-propano, figura 03. São de ocorrência quase exclusiva da família das Fabaceae – (Leguminosae). Apresentam uma diversidade estrutural importante, como: isoflavonas, isoflavononas, isoflavenos e 3-aryl-cumarinas; e também estruturas cíclicas como: os pterocarpanos e os cumestamos. São biossintetizados, como os demais flavonóides, via chalconas (t-BOC-L, 2010).

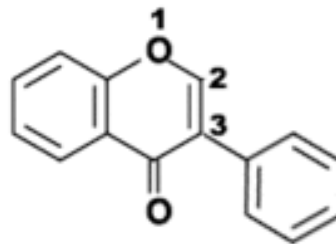


Figura 03: Estrutura química geral de isoflavonóide.

Wikilingue, 2010.

Os flavonóides toleram bem altas temperaturas e podem ser submetidos a temperaturas elevadas, como o cozimento, sem perder suas funções biológicas (t-BOC-L, 2010), apontadas anteriormente.

## 1.7 Microscopia

### 1.7.1 Avaliação Microscópica e Histoquímica

O estudo das estruturas dos alimentos tem uma longa história. Desde os primeiros experimentos com o uso de do microscópio óptico no século XVII cientistas têm analisado o aspecto microscópico dos alimentos. Hassall e Clayton (1909, *apud* James, 2009) apresentaram trabalho pioneiro para a microscopia alimentar com diagramas de alimentos de origem vegetal e animal que tinham grande aplicação para avaliação de adulterações e contaminantes. Dentre as características do alimento que podem ser afetadas pela estrutura é possível observar influência sobre

as propriedades de transferência de massa, em função da ampla escala de variação de dimensão dos constituintes dos alimentos, que varia entre alguns nanômetros a cerca de 100 $\mu\text{m}$ , é observada através de reflexos observados nas propriedades físicas, reológicas e nos atributos texturais. O valor nutritivo é outra característica do alimento que pode ser profundamente influenciada pela estrutura, e está diretamente relacionado a pesquisa de alteração dos hábitos alimentares e consumo de “nutracêuticos” que se tornam mais populares (James, 2009).

Segundo AAFM (1992, *apud* Sanches, 2001) os métodos de observação das características externas e celulares possibilitam a identificação e avaliação microscópica de ingredientes ou sua presença em misturas. A observação das características externas é mais usada por requerer pouca preparação da amostra e depender basicamente do analista e sua capacidade de identificar os constituintes, pela suas características (forma, cor, tamanho da partícula, textura, dureza, brilho, odor, sabor etc). Já a análise microscópica depende do conhecimento das estruturas celulares de tecidos animais e vegetais. Esses métodos tem aplicação independente, apesar de sua combinação apresentar melhores resultados.

A identificação e confirmação da presença de ingredientes, aditivos não nutrientes, contaminações e adulterações, nem sempre são possíveis de serem efetuadas com a simples visualização através do microscópio estereoscópico. O estudo anatômico e o emprego de provas químicas qualitativas ajudam o microscopista nesta tarefa e são aplicáveis a vários compostos orgânicos e inorgânicos. Estas provas envolvem a reação de uma pequena quantidade de amostra com um reagente, de maneira a formar um complexo com cor característica, possível de ser observado ao microscópio (Bellaver, 2007). Estas técnicas podem

ser aplicadas no controle de qualidade de alimentos desde que haja padrões de referência.

Face aos avanços tecnológicos na ciência dos alimentos, tanto nos aspectos toxicológico como de identidade e qualidade, tornam-se imperativas a necessidade da modernização e a contínua atualização dos métodos de análise (IAL, 2005). A incorporação de técnicas como a microscopia óptica, pelos benefícios que apresenta, se revela ferramenta hábil no controle de qualidade de alimentos como a soja.

Embora diversos autores abordem aspectos anatômicos da soja (Souza, 2001; Ma *et al.*, 2004; Costa *et al.*, 2005) o estabelecimento de padrões microscópicos para o grão de soja e seus produtos derivados é até onde se sabe inexistente.

### **1.8 Legislação**

A finalidade institucional da Agência Nacional de Vigilância Sanitária é promover a proteção da saúde da população por intermédio do controle sanitário da produção e da comercialização de produtos e serviços submetidos à vigilância sanitária, inclusive dos ambientes, dos processos, dos insumos e das tecnologias a eles relacionados.

Na regulamentação do setor de alimentos foi instituída uma legislação de boas práticas de fabricação, controle de contaminantes, registro de alimentos. A seguir estão discriminadas as leis correlacionadas aos temas abordados neste trabalho (ANVISA, 2010).

- Resolução - RDC nº 275, de 21 de outubro de 2002

Essa Resolução foi desenvolvida com o propósito de atualizar a legislação geral,

introduzindo o controle contínuo das BPF e os Procedimentos Operacionais Padronizados, além de promover a harmonização das ações de inspeção sanitária

- Portaria SVS/MS nº 326, de 30 de julho de 1997 Baseada no Código Internacional Recomendado de Práticas: Princípios Gerais de Higiene dos Alimentos CAC/VOL. A, Ed. 2 (1985), do Codex Alimentarius, e harmonizada no Mercosul, essa Portaria estabelece os requisitos gerais sobre as condições higiênico-sanitárias e de Boas Práticas de Fabricação para estabelecimentos produtores/industrializadores de alimentos.

Os alimentos com Soja - Resolução - RDC nº 273, de 22 de setembro de 2005 e Resolução - RDC nº 91, de 18 de outubro de 2000.

Os alimentos com Alegações de Propriedades Funcionais e ou de Saúde no Rótulo, são regidos pelas Resolução nº 19/1999 e Resolução nº 18/1999.

E a resolução - RDC nº 175, de 8 de julho de 2003 dispõe sobre as Matérias Macroscópicas e Microscópicas Prejudiciais à Saúde Humana.

## **2. OBJETIVOS**

### ***2.1 Objetivo Geral***

Este trabalho tem como objetivo a análise microscópica, histoquímica e química de grão, farinha integral e “leite” de soja através de ferramentas, como a microscopia óptica e a pertinente análise da composição química destes produtos.

### ***2.2 Objetivos Específicos***

- Avaliar as características macroscópicas e microscópicas dos grãos de soja.
- Proceder à análise química (composição centesimal e conteúdo total de polifenóis) dos grãos de soja.
- Obter farinha a partir dos grãos de soja.
- Avaliar as características microscópicas e histoquímicas da farinha obtida a partir dos grãos de soja.
- Proceder à análise química (composição centesimal e conteúdo total de polifenóis) da farinha obtida a partir dos grãos de soja.
- Obter “leite” de soja líquido a partir dos grãos de soja.
- Avaliar as características microscópicas e histoquímicas do “leite” obtido.
- Proceder à análise química (composição centesimal e conteúdo total de polifenóis) do “leite” obtido.

### 3. METODOLOGIA

#### 3.1 Soja

Foram adquiridas na fase inicial deste estudo amostras de soja convencional e orgânica a fim de se selecionar a amostra mais representativa para as análises.

##### 3.1.1 Soja Convencional

As amostras de soja convencional foram obtidas em comércio na região metropolitana do Rio de Janeiro, entre novembro de 2007 e junho de 2008. As amostras A e B foram obtidas em supermercado local, acondicionadas em embalagens de polietileno com conteúdo de 500 gramas, dentro do prazo de validade estipulado pelo fabricante. As amostras C e D foram adquiridas em comércio varejista, embaladas no local, com conteúdo médio de 1 Kg, sem que houvesse alusão a prazo de validade do produto.

##### 3.1.2 Soja Orgânica

As amostras de soja orgânica certificada foram doadas pela empresa EcoBrás, perfazendo 20 lotes, de cerca de 2 Kg cada referentes as safras 2007/2008 e 2008/2009, no período contido entre novembro de 2008 e março de 2010.

Os dados da certificação das cultivares empregadas:

- |                     |                                            |
|---------------------|--------------------------------------------|
| - Cultivar: BRS 258 | Lote numeração: safra 2007/2008 (Anexo 01) |
| - Lote: LI-4N       | Safra 2008/2009 (Anexo 02)                 |
| - Lote: LI-3N       | Safra 2008/2009 (Anexo 03)                 |

### **3.2 Reagentes**

Todos os reagentes e solventes em grau analítico foram adquiridos das marcas Merck, Vetec e Sigma Aldrich.

### **3.3 Amostragem/Seleção dos Grãos**

A seleção da amostra de soja a ser estudada se baseou na análise morfológica de cinco amostras obtidas em comércio na cidade do Rio de Janeiro. Dentre as cinco, uma das amostras era de soja orgânica, certificada

Para o desenvolvimento deste estudo se definiu trabalhar com vinte lotes de soja orgânica, obtidos regularmente, codificados como grão de soja – GS; farinha integral de soja - FS; e “leite” de soja - LS, numerados de 1 a 20.

### **3.4 Preparo das Amostras para as Análises**

Os grãos de soja orgânica recebidos foram escolhidos através de análise macroscópica com remoção de grãos defeituosos, partidos e escurecidos, bem como galhos, folhas e pedras, quando presentes.

Cerca de 100,00 g de grãos selecionados foram secos em estufa ventilada a 55 °C por duas horas (adaptado de França e Ayala, 2009). Após esse período os grãos foram triturados em processador – PicLic, marca Arno, tamisados para uniformização da granulometria em tamiz - *tyler* 28 e armazenados em duas condições distintas. A fração destinada à determinação da composição centesimal, cerca de 50,00 g, foi armazenada em frasco de vidro, identificado, sob temperatura ambiente até o momento das análises. E a fração destinada à determinação do conteúdo total de fenólicos – CTF, cerca de 10,00 g, foi armazenada em tubo falcon de 50 mL, congelada e armazenada a -4 °C, até o momento da análise.

Os grãos íntegros destinados à análise microscópica e histoquímica – detecção de substâncias lipofílicas, açúcares redutores e amido foram reidratados em solução de etanol 50% e glicerina (3:1) (Krauss, 1997).

### ***3.5 Obtenção da Farinha de Soja Integral Orgânica***

A partir dos grãos selecionados, cerca de 100 gramas de grãos foram secos em estufa ventilada a 55 °C por duas horas. Após esse período os grãos foram triturados em processador – PicLic, marca Arno, tamisados para uniformização da granulometria em tamiz - tyler 28. O produto obtido retornou à estufa ventilada a 55 °C por 24h (França e Ayala, 2009), tempo necessário para obtenção de uma farinha com aproximadamente 5 % de umidade.

A farinha obtida foi armazenada em duas condições distintas. A fração destinada à determinação da composição centesimal foi armazenada em frasco de vidro identificado e mantido sob temperatura ambiente para análise posterior. A fração destinada à determinação do Conteúdo Total de Fenólicos (CTF) e análises microscópica e histoquímica, foi armazenada em tubo falcon –de 50 mL, congelada e armazenada a -4 °C, até o momento das análises.

### ***3.6 Obtenção do “Leite” de Soja Orgânica***

Os grãos de soja foram submetidos à pré-tratamento e processamento para obtenção do “leite” de soja para trabalho. Os grãos foram escolhidos através de análise macroscópica com remoção de grãos defeituosos, partidos, escurecidos e parasitados, bem como galhos, folhas e pedras, quando presentes.

Após serem escolhidos, cerca de 115 gramas dos grãos selecionados foram submersos até volume final de 600 mL em água destilada, para hidratação a 55 °C



por uma hora. Após a hidratação, os grãos foram lavados e pesados, tendo atingido cerca de 230 gramas. Foram pesados 225 gramas de soja hidratada, transferidos para o cesto do equipamento, máquina de fazer leite de soja, marca Acqua. Foram adicionados 1,5 litros de água potável filtrada no copo do equipamento. Posteriormente, o cesto contendo os grãos hidratados foi acoplado ao motor, que por fim foi encaixado no copo do equipamento. Após 23 minutos de processo, ebulição e trituração dos grãos e posterior filtração, obteve-se o extrato hidrossolúvel denominado “leite” de soja (Oliveira, 2007).

O “leite” obtido também foi armazenado em duas condições distintas. A fração destinada à determinação da composição centesimal foi armazenada em frasco de vidro identificado e mantido sob refrigeração até o momento das análises, que ocorreram no máximo três dias após sua obtenção. A fração destinada à determinação do CTF e análises microscópica e histoquímica, aproximadamente 3 porções de 25 mL, foram armazenadas em tubos falcon de 50 mL vedadas com Parafilm<sup>®</sup>, liofilizadas, embaladas em sacos plásticos próprios para alimentos e armazenadas a -4 °C, até o momento das análises.

### ***3.7 Análise Microscópica***

O estudo morfológico e anatômico foi desenvolvido com amostras de grãos de soja orgânica íntegros imersos em mistura de etanol 50% e glicerina (3:1). Para os estudos anatômicos, as amostras foram submetidas a cortes transversais à mão livre e corados com azul de astra (C. I. não indicado) e safranina (C. I. 50240) (Bukatsch, 1972) para facilitar a visualização dos diferentes tecidos e identificá-los com base, também na natureza das paredes celulares (Kraus, 1997).

### **3.8 Análise Histoquímica**

Para a detecção de lignina, substâncias lipofílicas, açúcares, amido e substâncias fenólicas, os grãos foram seccionados à mão livre, por intermédio de uma lâmina. O “leite” congelado a  $-4^{\circ}\text{C}$  foi submetido ao processo de liofilização e a farinha foi reduzida a pó mais fino por trituração em gral com pistilo, por cerca de 3 minutos. As secções do grão, o “leite” liofilizado e a farinha foram, então, submetidos à reação com os reagentes descritos para os seguintes testes histoquímicos, observados e documentados em microscópio óptico acoplado à câmera fotográfica.

Lignina - foi realizada através da reação do corte do tegumento com cloreto de zinco iodado (Jensen, 1942) e floroglucinol acidificado (Sass, 1951).

Amido – foi realizada através da reação do substrato com o reagente de Lugol (Jensen, 1942) em material não fixado.

Substâncias lipofílicas - foi realizada através da reação do substrato com solução de Sudan IV (Gerlach, 1984).

Açúcares redutores - foi realizada através da reação do substrato com o emprego dos reagentes de Fehling (Maclean e Ivimey-Cook, 1952).

Substâncias fenólicas - foi realizada através da reação do substrato com solução de cloreto férrico 10% (Johansen, 1940).

A tabela 01 apresenta os testes aplicados, os reagentes utilizados e a correlação de cor para resultados positivos.

Tabela 01: Testes histoquímicos para detecção de substâncias de interesse com identificação de resultado

<b>Teste</b>	<b>Reagente</b>	<b>Positivo - Cor</b>
Lignina	Cloreto de Zinco Iodado	Catango-Dourado
Amido	Floroglucinol acidificado	Vermelho-Cereja
Subs. Lipofílicas	Lugol	Azul
Açúcares Redutores	Sudan IV	Vermelho intenso
Subs. Fenólicas	Reagentes de Fehling	Ferrugem
	Cloreto Férico 10%	Castanho escuro

### **3.9 Análise Química**

#### **3.9.1 Composição Centesimal**

A análise química empregou técnicas descritas pelo Instituto Adolfo Lutz (2005) e pela ASSOCIATION of OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (A.O.A.C., 1995). Foram determinados os teores de umidade, proteína, lipídios, cinzas, carboidratos e Valor Calórico Total – VCT. Todos os experimentos foram realizados em triplicata.

Umidade (UM) – determinação gravimétrica, até peso constante, realizada pelo método direto em estufa a 105 °C (AOAC, 1995).

Lipídios Totais (LP) - determinação por extração etérea – em aparato de Soxhlet (AOAC, 1995), precedida por hidrólise ácida (IAL, 2005).

Cinzas (resíduo mineral fixo - RMF) - determinação gravimétrica, até peso constante, realizada por via seca em mufla a 550 °C (AOAC, 1995; IAL, 2005).

Proteína Bruta (PTN) – a determinação de proteína bruta foi realizada através da determinação do nitrogênio total da amostra pelo método de Kjeldahl (AOAC, 1995), utilizando o fator 6,25 para conversão em proteína, de acordo com a RDC n° 360 (Brasil, 2005).

Carboidratos Totais (CH) – determinação por cálculo de diferença – Nifext (nitrogen free extract), corresponde a amostra livre de nitrogênio de acordo com a RDC n° 360 (Brasil, 2005).

$$\text{CH \%} = 100 - (\text{UM} + \text{LP} + \text{PTN} + \text{CZ}) \quad \textit{fórmula 01}$$

Onde,

UM: umidade;                      CZ: cinzas;  
 LP: lipídios e                      PTN: proteínas

Valor Calórico Total (VCT) - foi calculado utilizando-se as médias aritméticas dos teores de carboidratos, proteínas e lipídios, utilizando os fatores de conversão de Atwater: 4 Kcal/g para proteínas, 4Kcal/g para carboidratos e 9 Kcal/g para lipídios, de acordo com a RDC n° 360 (Brasil, 2005).

$$\text{VCT} = \text{PTN} \cdot 4 + \text{CH} \cdot 4 + \text{LP} \cdot 9 \quad \textit{fórmula 02}$$

### 3.9.2 Conteúdo Total de Fenólicos (CTF)

O CTF foi determinado por método espectrofotométrico empregando o reagente Folin-Ciocalteu (Kumar, 2010).

A extração da fração de compostos fenólicos foi realizada pela maceração, em frasco plástico (beckman) de 250 mL envolto em papel alumínio para proteger da fotoxidação, de cerca de 10 gramas de cada amostra (grão triturado, farinha integral e “leite”) com 100 mL de solução de acetona aquosa 70 %, à temperatura ambiente, sob abrigo da luz (armário fechado), no período de 12 a 16 horas. Após esse período as amostras foram centrifugadas a 3000 rpm, por 10 minutos, o sobrenadante foi recolhido em frasco âmbar. O precipitado foi ressuspenso com 50 mL de solução de acetona aquosa 70 %, novamente centrifugado a 3000 rpm, por 10 minutos, o sobrenadante foi adicionado ao anteriormente recolhido em frasco âmbar, segundo Velioglu (1998), com modificações.

Os precipitados foram desprezados. Após a evaporação da acetona em evaporador-rotatório, a 50 °C, a fase aquosa resultante foi transferida para balão de 100 mL e avolumada com água destilada, sendo mantida a -4 °C, até o momento da análise. Para definição da alíquota de trabalho foram testadas alíquotas de 50, 125, 250 e 375 µL, sendo observada maior repetibilidade nas leituras alíquota de 250 µL.

As análises foram realizadas em triplicata, para cada extrato de cada lote de cada produto. Em tubo de ensaio foram adicionados a 250 µL de solução-trabalho, 500 µL do reagente Folin-Ciocalteu (2 N), 3,75 mL de água destilada e 500 µL de solução de carbonato de sódio 20%. As amostras foram homogeneizadas em agitador Vortex, protegidas da luz com papel alumínio e armazenadas à temperatura ambiente. Após 30 minutos, foi realizada a medida da absorbância em comprimento

de onda de 700nm em espectrofotômetro UV mini 1240 UV-vis Spectrophotometer Shimadzu.

A curva de calibração foi elaborada utilizando o ácido gálico como padrão. Soluções nas concentrações 10, 25, 50, 125, 250 e 500 µg/ mL foram preparadas em água destilada, protegidas da fotoxidação e as absorvâncias medidas para construção da curva, no programa Excel®.

O conteúdo total de polifenóis foi calculado em equivalentes de ácido gálico (EAG) utilizando a equação da reta obtida na curva de calibração.

### ***3.10 Análise Estatística***

Os resultados das análises químicas obtidos a partir das amostras de grãos, “leite” e farinhas dos lotes, em estudo, foram submetidos ao cálculo de média, desvio-padrão, coeficiente de variação e análise de variância, utilizando função específica do programa Microsoft Office Excel, versão 2003, da Microsoft Corporation. Para comparação de médias com significância de 5%, empregou-se o teste ANOVA (two-way) com realização de teste de Bonferroni como pós-teste, utilizando o programa GraphPad Prism, versão 4.03, 2005.

## 4. RESULTADOS e DISCUSSÃO

### 4.1 Seleção da amostra de soja

Após a análise microscópica das amostras onde não foram observadas diferenças morfológicas significativas, foi selecionada a soja orgânica.

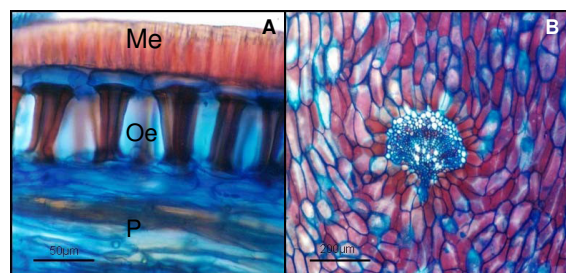


Figura 4: Grão de soja convencional. A) Corte transversal do tegumento de grãos de soja com macroesclereídes, osteoesclereídes e parênquima. B) Região interna do cotilédone com feixe vascular central

### 4.2 Caracterização da morfologia externa de grãos de soja e derivados

Os grãos de soja orgânica (Fig. 5 A-C) apresentaram formato elipsóide, com tegumento de coloração bege a amarelo claro e presença de hilo amarelo acinzentado elíptico com cerca de 1mm de comprimento. Após remoção do tegumento, foi possível identificar os cotilédones e o embrião (Fig. 5D). As características observadas se mantiveram constantes na morfologia externa dos grãos de soja.

A farinha integral de soja (Fig 6 A e B) apresentou aspecto granuloso e coloração bege amarelada similar à dos grãos *in natura*. O “leite” de soja (Fig 6 C e D) apresenta coloração amarelo clara e aspecto floculado e delicado.

As sementes de soja são classificadas como unitegmentadas, por terem seu revestimento constituído apenas pela testa, fato comum em espécies da família a Fabaceae (Leguminosae). A presença de hilo também é comum às espécies da família (Beltrati e Paoli, 2006).

Não foram encontrados registros bibliográficos que apresentem dados para caracterização macroscópica ou microscópica de farinha ou “leite” de soja. Embora a análise microscópica e a histoquímica sejam frequentemente realizadas para caracterização e controle de qualidade de amidos, farinhas e féculas de diversas origens, como arroz, batata, milho ou trigo (Oliveira e Akisue, 2009), o presente trabalho constitui registro de caráter pioneiro na avaliação e análise dos caracteres morfológicos peculiares e químicos para análise de farinha e “leite” de soja.

#### **4.3 Caracterização anatômica dos grãos de soja orgânica.**

O corte transversal dos grãos dos diferentes lotes mostrou estrutura anatômica similar à registrada por Esau (1977) para *Glicine max*. O tegumento (Figura 7) é formado por distintas camadas celulares. Externamente é observada uma camada de epiderme com células em paliçada com paredes espessas. Abaixo desta, situa-se uma camada constituída por células colunares com paredes espessas, seguida por número variável de camadas parenquimáticas com células de tamanhos e formatos variáveis e uma camada de endosperma que apresenta células colapsadas.



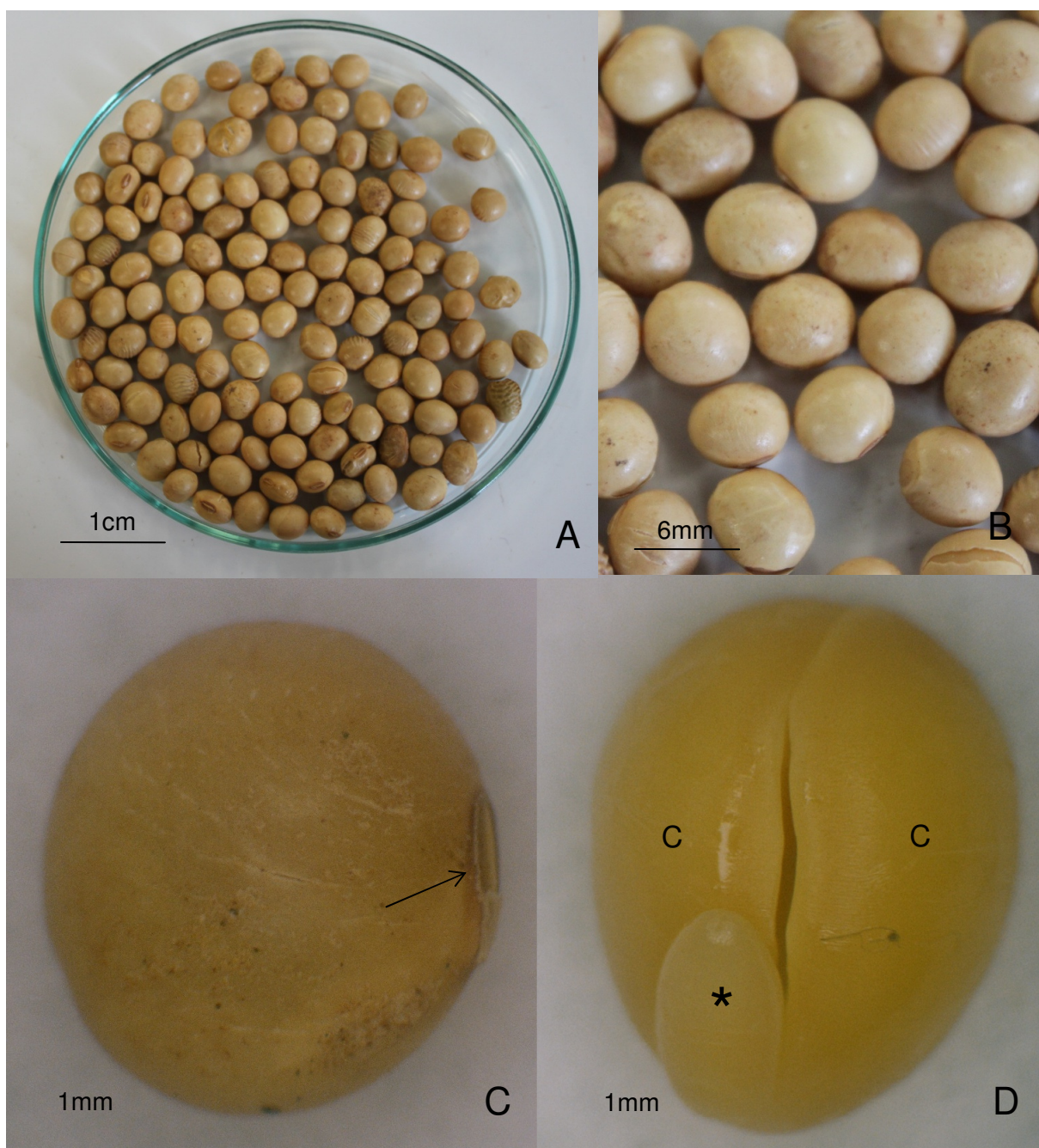


Figura 5: Grãos de soja orgânica – Aspectos da morfologia externa. A - Grãos de soja *in natura* do lote 1 (GS1). B – Detalhe dos grãos GS1 exibindo variações na forma e tamanho. C – Detalhe de grão GS1. Notar o hilo (seta). D – Grão de soja após hidratação e remoção do tegumento exibindo os cotilédones (C) e o embrião (\*).





Figura 6: Farinha e “leite” de soja orgânica – Aspectos gerais da morfologia. A – Farinha (FS1). B - Detalhe do aspecto de FS1. C – “Leite” de soja (LS1). D – Detalhe do aspecto de LS1.

A estrutura do tegumento observada nos lotes analisados é muito similar àquela descrita na literatura em trabalhos como os de Silva (2003), Ma *et al.* (2004), Menezes *et al.* (2009). As referências acima citadas mostram que a camada externa em paliçada é constituída por macroesclereídes e a camada subjacente é formada por osteoesclereídes. A presença de tais tecidos garante a proteção do embrião e terá grande influência na permeabilidade de água para hidratação e germinação das sementes (Cavariani *et al.*, 2009; Ma *et al.*, 2004).

Na figura 7 é possível observar amostras da grande variação encontrada na espessura dos tegumentos entre os diferentes lotes analisados. A diferença na espessura em tegumentos de sementes de soja já foi reportada por Mertz *et al.* (2009) para diferentes genótipos com diferenças na coloração do tegumento e por Cavariani *et al.* (2009) para cultivares de soja provenientes de diferentes localidades. As amostras analisadas no presente trabalho eram oriundas de diferentes localidades, mostrando similaridade com os padrões reportados na literatura.

A estrutura observada no tegumento dos grãos de soja faz com que as sementes sejam classificadas como testais pela presença de epiderme rígida (Beltrati e Paoli, 2006). Os autores ressaltam que tal característica está associada à frequente lignificação desta e de outras camadas do tegumento de sementes de diferentes espécies vegetais. Miller *et al.* (1999) e Miller *et al.* (2010) descrevem a ontogênese das camadas do tegumento de soja, ressaltando a importância da lignificação das macroesclereídes e osteoesclereídes para a proteção do embrião. Ma *et al.* (2004) e Silva *et al.* (2008) reforçam o papel da lignificação nos processos de hidratação da semente, de germinação do grão e viabilidade de grãos armazenados.

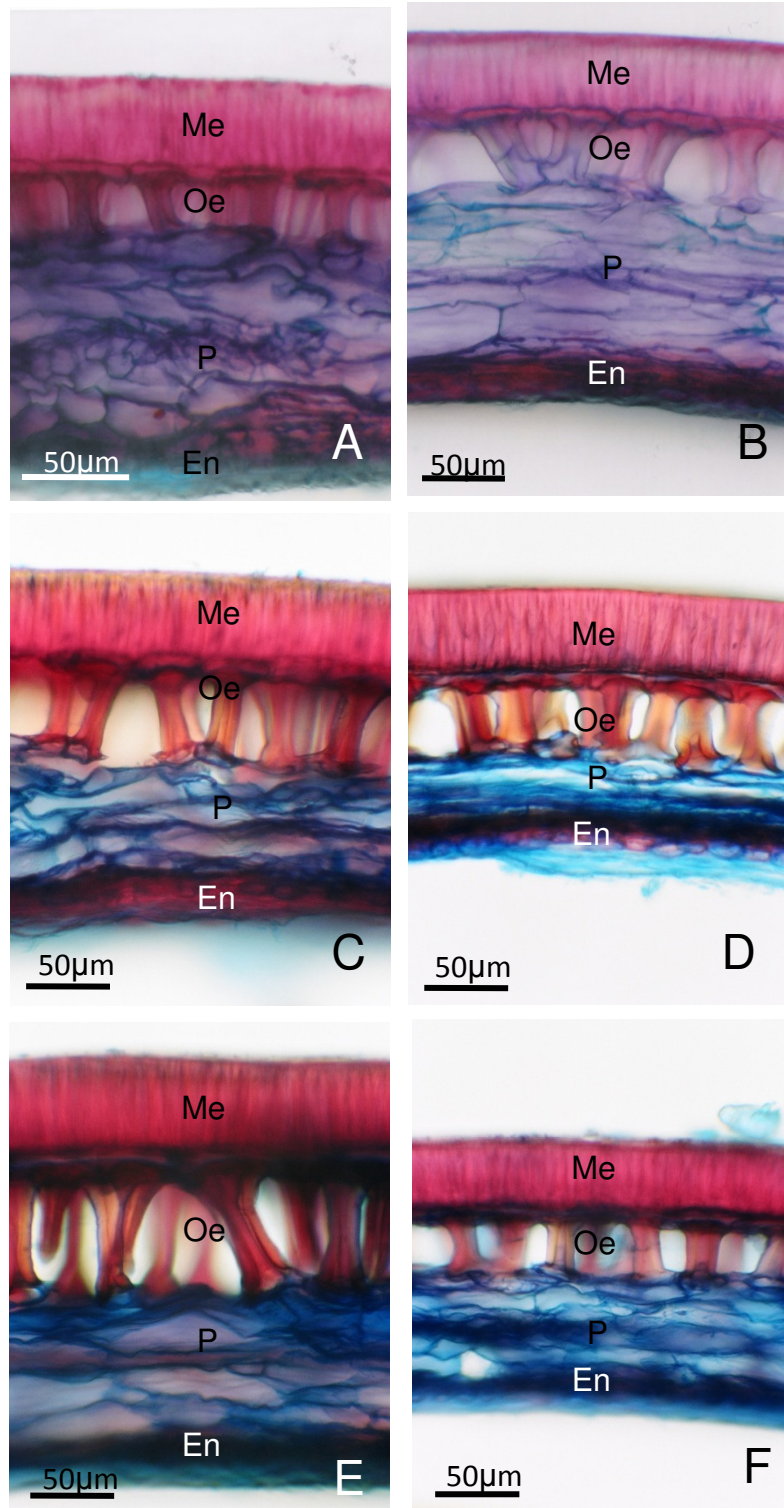


Figura 7: Cortes transversais dos tegumentos de grãos de soja orgânica. A - GS3; B – GS4; C – GS7; D – GS12; E – GS14 ; F – GS15. Me – macroesclereídes; Oe – osteoesclereídes; P – parênquima; En – Endosperma.

Os dados obtidos com o uso da dupla coloração para observações anatômicas apontam para a provável lignificação das duas camadas mais externas do tegumento. Na figura 7, tais camadas aparecem com coloração vermelha, mostrando a maior afinidade pela safranina, fato comum em células com paredes lignificadas. Resultado similar foi registrado por Menezes *et al.* (2009) com o uso dos mesmos corantes. No entanto, deve-se ressaltar que tais corantes não são usualmente empregados para detecção de lignina em testes histoquímicos, uma vez que não há especificidade na coloração. Substâncias de natureza lipofílica, como cutina, suberina, dentre outras, e alguns grupos de substâncias fenólicas também apresentam maior afinidade pela safranina. Na figura 8 são exibidos os resultados obtidos nos testes histoquímicos realizados com floroglucinol acidificado (Fig. 8A e 8B) e com cloreto de zinco iodado (Fig 8C e 8D). Tais testes revelaram presença de lignina apenas na região do hilo e as demais regiões do tegumento não exibiram lignificação. Os resultados dos testes foram considerados inconclusivos, sendo necessária a realização de novos testes com diferentes reagentes para melhor avaliação dos resultados obtidos.

O corte transversal dos grãos na região dos cotilédones revelou a presença de epiderme uniestratificada na face externa com células quadrangulares a elípticas revestidas por cutícula espessa (Fig 9A). Na face interna dos cotilédones (Fig 9B) observou-se que a epiderme apresenta células de contorno quadrangular e tamanho menor que as da face externa. Abaixo da epiderme são observadas duas camadas de células em paliçada em todo o contorno do cotilédone (Fig 9A – D) e abaixo destas, preenchendo todo o cotilédone, foi observado parênquima de reserva formado por células de formatos e tamanhos variáveis, mais alongadas na região periférica. Por toda a região do cotilédone foram observadas unidades vasculares



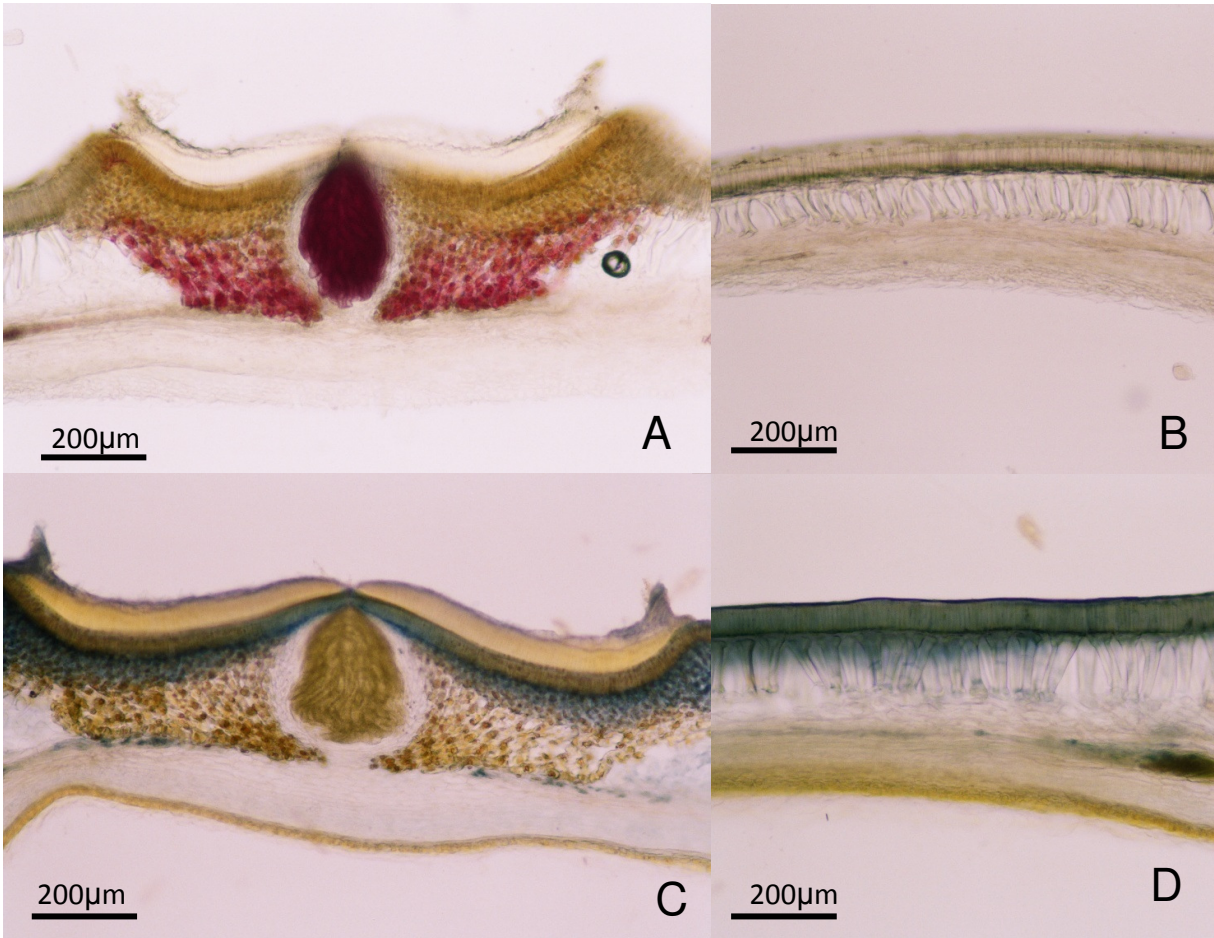


Figura 8: Testes para detecção de lignina nos tegumentos de grãos de soja. A – Corte transversal na região do hilo com floroglucinol acidificado. B - Corte transversal no tegumento com floroglucinol acidificado. C– Corte transversal na região do hilo com cloreto de zinco iodado. D - Corte transversal no tegumento com com cloreto de zinco iodado

colaterais (Fig 9C e 9D). A estrutura observada nos cotilédones dos lotes analisados foi bastante uniforme entre as amostras e mostrou-se similar à descrita por Esau (1977), revelando certa constância para diferentes exemplares de *Glicine max*. A maior parte dos trabalhos envolvendo microscopia de grãos de soja está relacionada à ontogênese dos grãos e às alterações metabólicas dos mesmos (Ilarslan *et al.*, 1997; Chen *et al.*, 1998; Ilarslan, Palmer e Horner, 2001) ou dedicam-se à estrutura dos tegumentos, o que reforça a afirmação de uniformidade na estrutura dos cotilédones quando observados em microscopia óptica.

#### **4.4 Caracterização microscópica da farinha e do “leite” de soja orgânica**

As amostras obtidas de farinha de soja revelaram certa uniformidade quanto aos elementos mais marcantes presentes nos lotes observados. Como a farinha é obtida pela trituração do grão, são comuns a presença de fragmentos do tegumento, tanto pedaços da epiderme composta por macroesclereídes quanto por osteoesclereídes isoladas ou ainda presas a fragmentos de outras partes da testa (Fig 10 A-F). Outros elementos bastante comuns nas amostras analisadas são aglomerados de tecidos parenquimáticos dos cotilédones (Fig 10C e 10E).

A análise de materiais pulverizados é bastante relevante, sendo fator primordial para caracterização de matérias-primas vegetais. Na Farmacopéia Brasileira (FB, 2000) as monografias de espécies vegetais contam com a caracterização microscópica do pó das drogas como ferramenta para identificação das mesmas. A microscopia alimentar tem na análise de materiais pulverizados um fator primordial para o controle de qualidade, com a observação de caracteres anatômicos marcantes para o reconhecimento de adulterações e busca de contaminantes (Jorge, 2000). Na farinha de soja a estrutura do tegumento mostrou



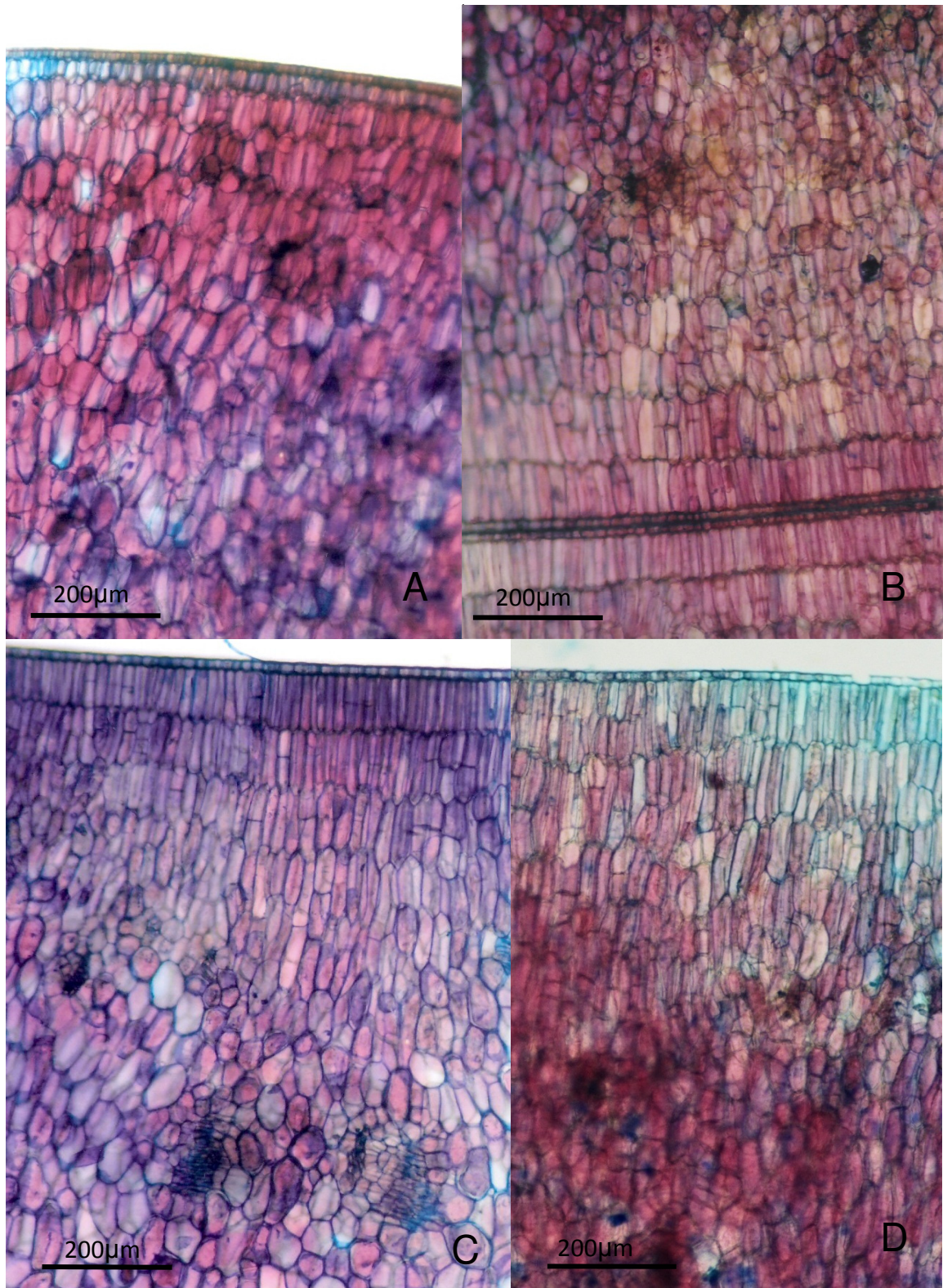


Figura 9: Corte transversal dos cotilédones de grãos de soja orgânica. A – Região periférica do cotilédone de GS2. B - Região mediana do grão exibendo os dois cotilédones de GS3. C - Região interna do cotilédone de GS1. D - Região interna do cotilédone de GS11.



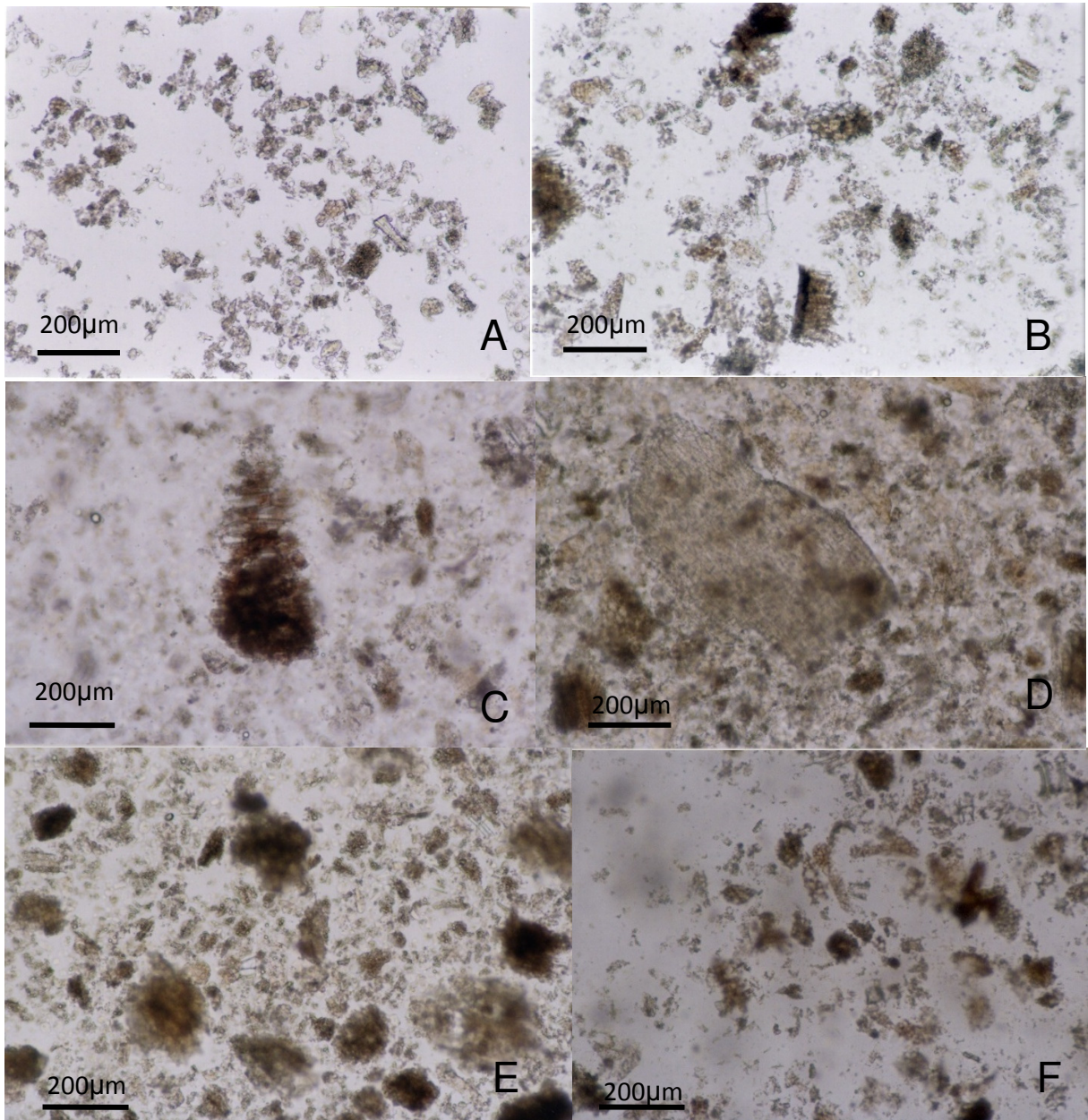


Figura 10: Aspecto microscópico de amostras de farinha de soja orgânica. A – FS1; B – FS2; C – FS11; D – FS14; E – FS15 ; F – FS16

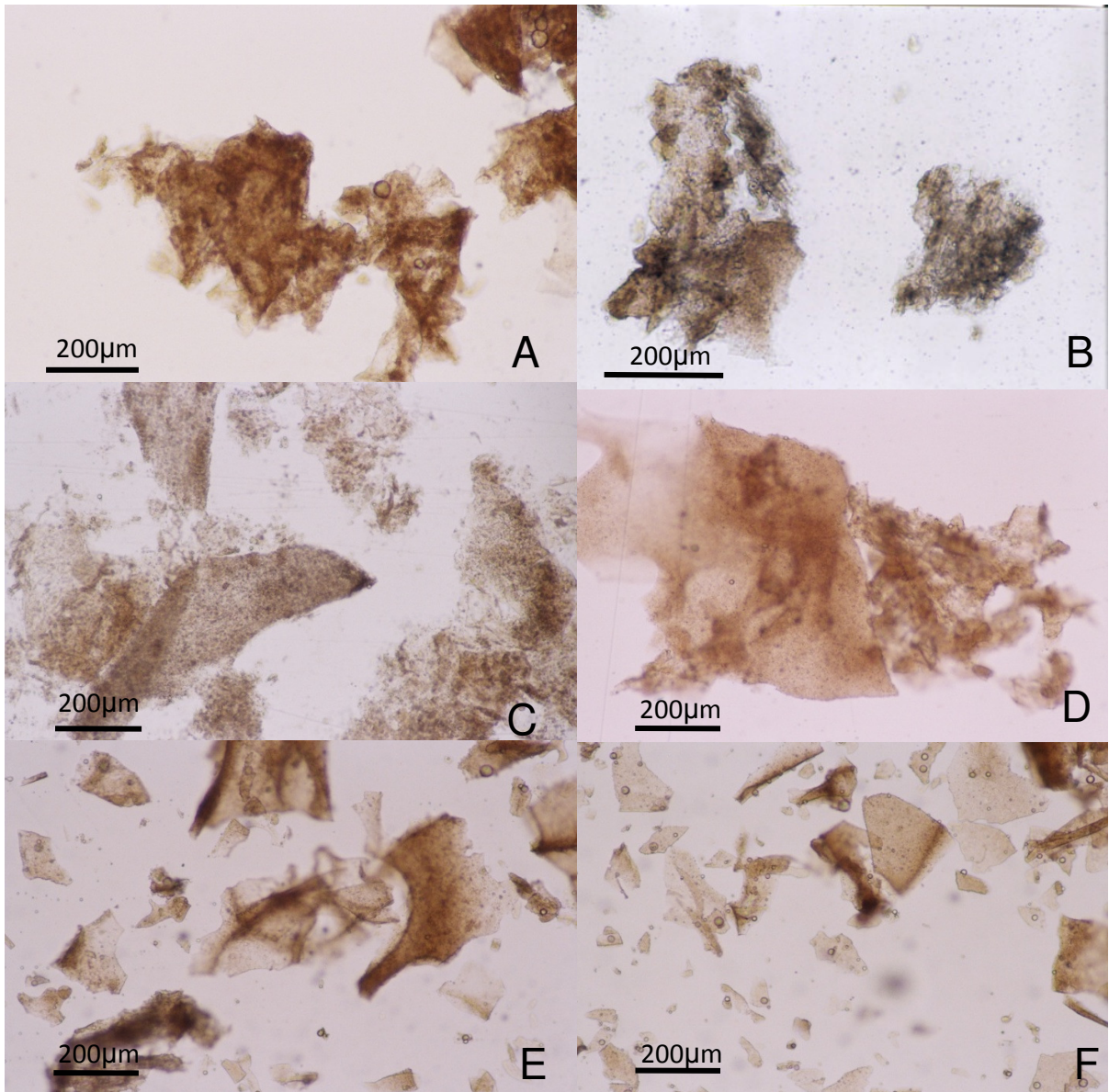


Figura 11: Aspecto microscópico de amostras de “leite” de soja orgânica. A – LS1; B – LS4; C – LS11; D – LS13; E – LS15 ; F – LS18.



ser elemento fundamental para o reconhecimento das amostras. No grão de soja maduro não são encontrados outros parâmetros anatômicos marcantes nos cotilédones como cristais. Segundo Ilarslan *et al.*, 1997 e Ilarslan *et al.*, 2001, os cristais de oxalato de cálcio são observados durante o desenvolvimento dos grãos, desaparecendo na maturidade. Os autores sugerem que o cálcio seria utilizado na maturação do embrião em desenvolvimento, por isso não seriam mais observados quando a semente já está pronta para iniciar sua germinação.

A análise microscópica do “leite” (Fig 11 A - F) revelou certa uniformidade entre as diferentes amostras, com a formação de fragmentos angulosos, frequentemente de contorno triangular. Em todas as amostras analisadas fica clara a ausência de elementos celulares, devido ao processo de obtenção do “leite”. Desse modo, o exame dos “leites” ao microscópio deve estar mais relacionado à busca de elementos estranhos e contaminantes, auxiliando na avaliação da pureza das amostras do que na busca de estruturas anatômicas que possam auxiliar na caracterização dos mesmos.

#### **4.5 Análise histoquímica**

A tabela 2 aponta os resultados obtidos nos testes histoquímicos realizados para os grãos de soja, farinha e “leite”.

Na figura 12 podem ser observados resultados obtidos nos testes para detecção de substâncias lipofílicas nos três materiais analisados. O resultado positivo, coloração vermelha, para o grão, farinha e “leite” reforça o uso da soja para obtenção de óleo. Apesar do “leite” de soja ser hidrossolúvel, seu processo de obtenção ocorre sob altas temperaturas, fato que justifica a presença de substâncias lipofílicas, mesmo dentre os baixos teores observados na análise química. Miller *et*

*al.* (1999) aponta que o armazenamento de substâncias lipofílicas ocorre durante o desenvolvimento da semente. O acúmulo de proteínas e substâncias lipofílicas em sementes de leguminosas é comentado por Beltrati e Paoli (2006), uma vez que, nas espécies desta família, o endosperma é consumido nos primeiros estágios de desenvolvimento do embrião e os cotilédones passam a armazenar nutrientes para a germinação das sementes. Os resultados do presente trabalho ajudam a corroborar tais informações.

Na figura 13 podem ser observados os resultados para detecção de açúcares redutores e na figura 14, os resultados obtidos para detecção de amido. Ambos os testes mostraram resultados negativos, o que está de acordo com o observado por Chen *et al.* (1998) durante a ontogênese dos grãos de soja. Segundo os autores, durante o desenvolvimento dos grãos, carboidratos acumulados nos primeiros estágios de formação das sementes seriam consumidos na maturação do embrião.

Portanto, como os grãos de soja utilizados para consumo são sementes maduras, a ausência de tais substâncias ou sua ocorrência muito discreta seria plenamente justificada.

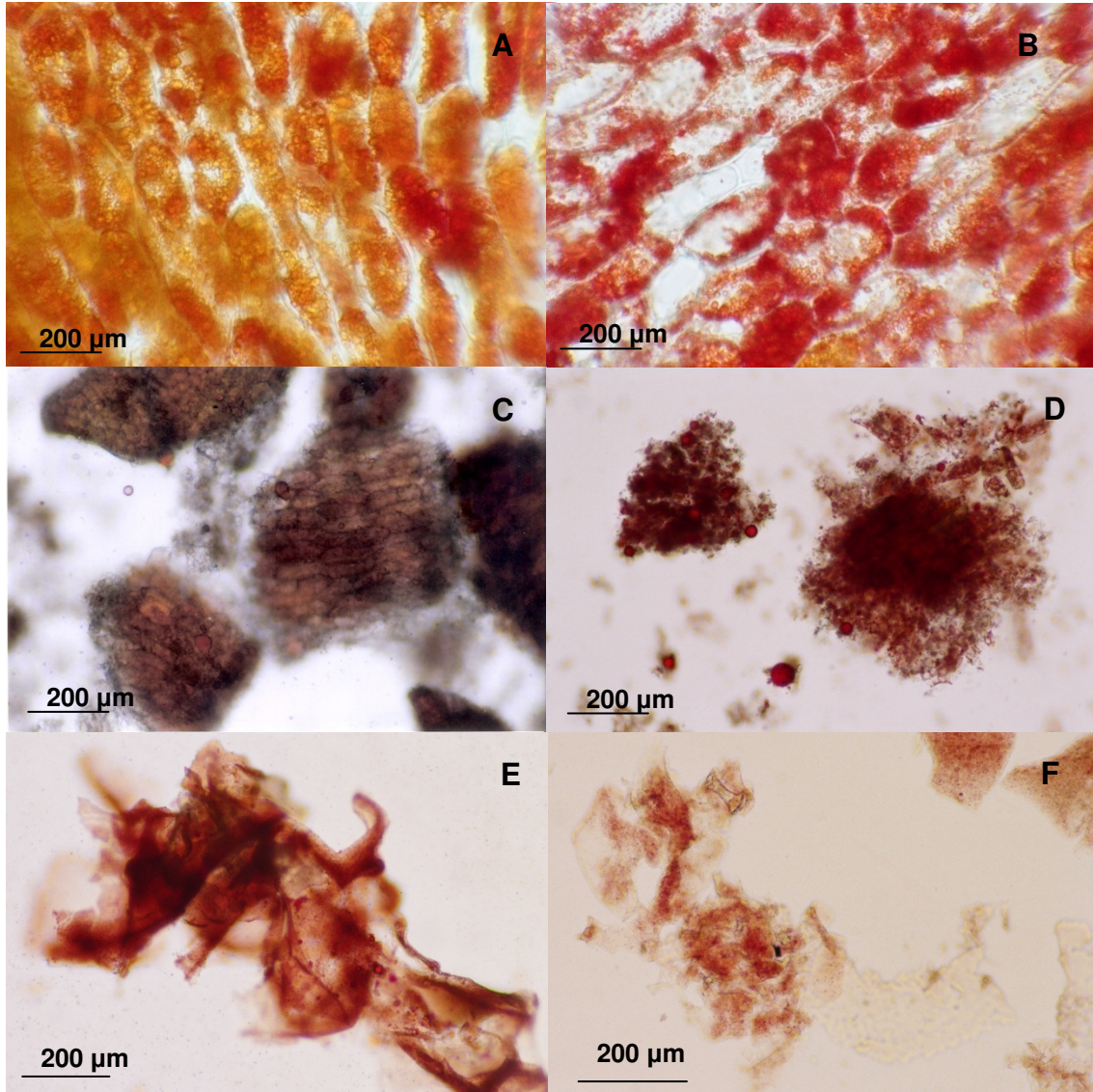


Figura 12: Análise histoquímica – teste para detecção de substâncias lipofílicas. A) GS18, B) GS19 C) FGS01, D) FGS10, E) LS05 e F) LS06.

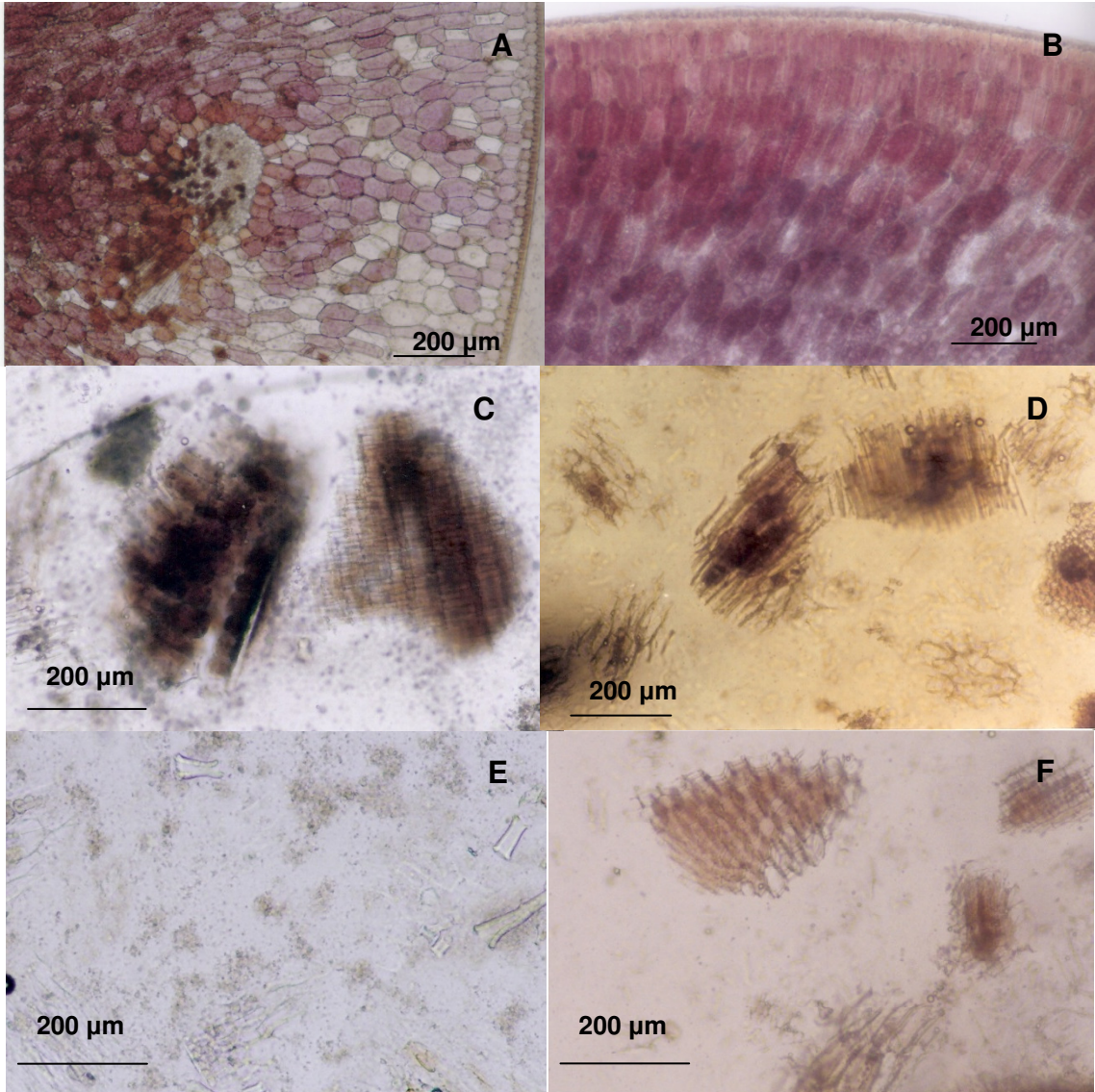


Figura 13: Análise histoquímica – teste para detecção de açúcares redutores. A) GS03, B) GS05, C) FGS01, D) FGS18, E) LS03 e F) LS08.



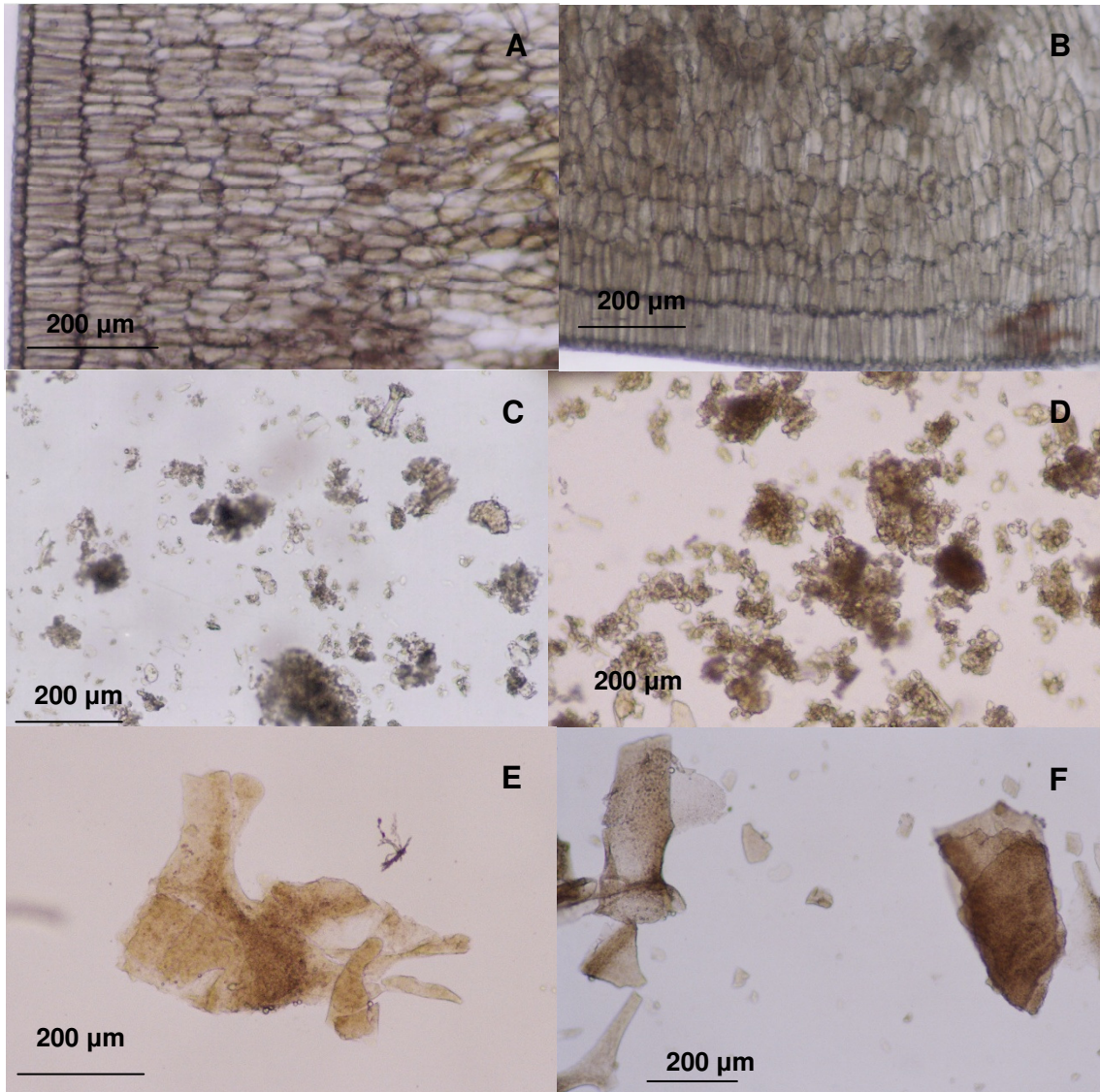


Figura 14: Análise histoquímica – teste para detecção de amido. A) GS03, B) GS05, C) FGS02, D) FGS10, E) LS07 e F) LS08.

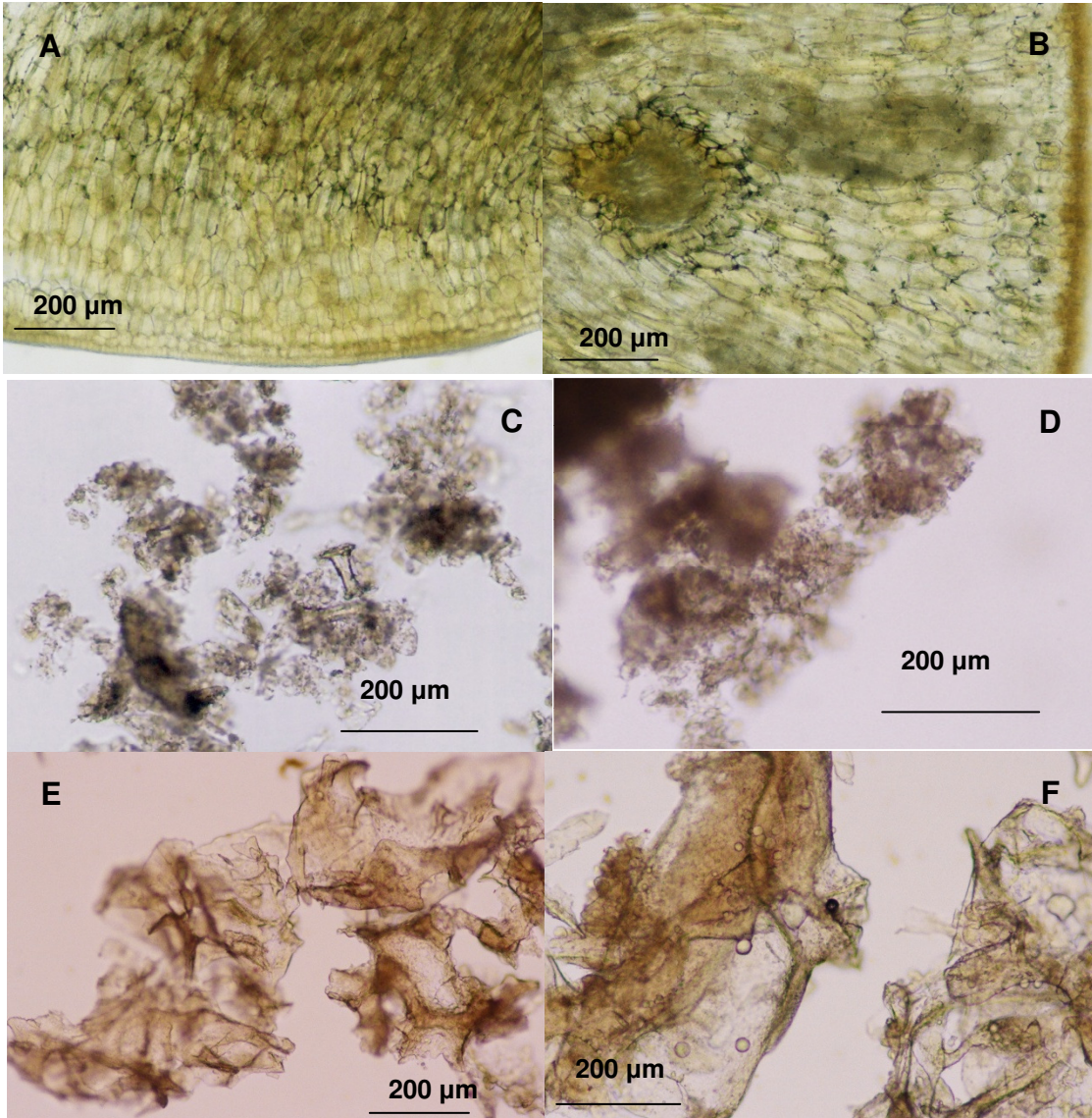


Figura 15: Análise histoquímica – teste para detecção de substâncias fenólicas. A) GS03, B) GS06, C) FGS02, D) FGS10, E) LS01 e F) LS07.



Na figura 15 são observados os resultados obtidos nos testes para detecção de substâncias fenólicas. Nota-se resultado positivo nas diferentes amostras, fato que corrobora os resultados observados na análise química.

Tabela 2: Avaliação de parâmetros histoquímicos de amostras de grão, “leite” e farinha de soja.

Lotes	Parâmetros Histoquímicos											
	Grão				“Leite”				Farinha			
	SL	AR	SF	Amido	SL	AR	SF	Amido	SL	AR	SF	Amido
1	+++	+	++	-	+++	-	-	-	+++	-	-	-
2	+++	+	++	-	+++	-	-	-	+++	-	-	-
3	+++	+	++	-	+++	-	-	-	+++	-	-	-
4	+++	+	++	-	+++	-	-	-	+++	-	-	-
5	+++	+	++	-	+++	-	-	-	+++	-	-	-
6	+++	+	++	-	+++	-	-	-	+++	-	-	-
7	+++	+	++	-	+++	-	-	-	+++	-	-	-
8	+++	+	++	-	+++	-	-	-	+++	-	-	-
9	+++	+	++	-	+++	-	-	-	+++	-	-	-
10	+++	+	++	-	+++	-	-	-	+++	-	-	-
11	+++	+	+	-	+++	-	-	-	+++	-	-	-
12	+++	+	++	-	+++	-	-	-	+++	-	-	-
13	+++	+	++	-	+++	-	-	-	+++	-	-	-
14	+++	+	++	-	+++	-	-	-	+++	-	-	-
15	+++	+	++	-	+++	-	-	-	+++	-	-	-
16	+++	+	++	-	+++	-	-	-	+++	-	-	-
17	+++	+	++	-	+++	-	-	-	+++	-	-	-
18	+++	+	++	-	+++	-	-	-	+++	-	-	-
19	+++	+	++	-	+++	-	-	-	+++	-	-	-
20	+++	-	++	-	+++	-	-	-	+++	-	-	-

Legenda: **SL** - substâncias lipofílicas; **AR** - açúcares redutores; **SF** - substâncias fenólicas; + - presente; - - ausente; a quantidade de + remete a intensidade do resultado.

## 4.5 Análise Química

### 4.5.1 Composição Centesimal

Os resultados da análise químico-centesimal dos lotes de soja e seus produtos são ilustrados nos Gráficos de 01 a 06 e nas Tabelas 02, 03 e 04, encontradas nos anexos.

Na avaliação da composição centesimal dos grãos de soja orgânica, da farinha integral e do “leite” de soja são apresentadas as médias observadas entre os lotes para cada parâmetro avaliado.

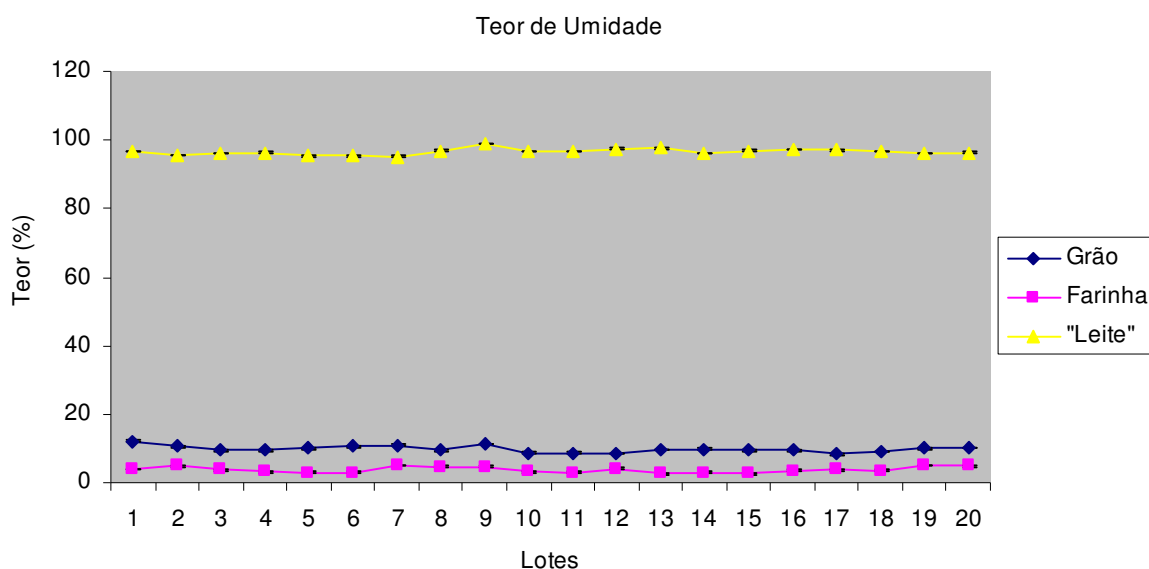


Gráfico 1: Teor de umidade nos lotes avaliados de grão, farinha integral e “leite” de soja.

Na avaliação do teor de umidade, representada no Gráfico 01, são observadas médias e erro-padrão das amostras analisadas.

Os teores de umidade observados nos 20 lotes analisados para os grãos de soja encontram-se entre  $8,42\% \pm 0,42$  (lote 17) a  $11,37\% \pm 1,21$  (lote 09), para a farinha integral de soja, entre  $2,59\% \pm 0,22$  (lote 13) a  $5,19\% \pm 0,27$  (lote 07) e para o “leite” de soja entre  $95,20\% \pm 0,02$  (lote 07) a  $98,88\% \pm 0,04$  (lote 09).

Os teores de lipídios, Gráfico 2, observados nos 20 lotes analisados para os grãos encontram-se entre  $19,84\% \pm 1,26$  (lote 11) a  $23,23\% \pm 0,10$  (lote 15), para a farinha integral de soja, entre  $20,62\% \pm 1,19$  (lote 07) a  $23,46\% \pm 0,27$  (lote 03) e para o “leite” de soja entre  $0,69\% \pm 0,02$  (lote 14) a  $2,03\% \pm 0,26$  (lote 04).

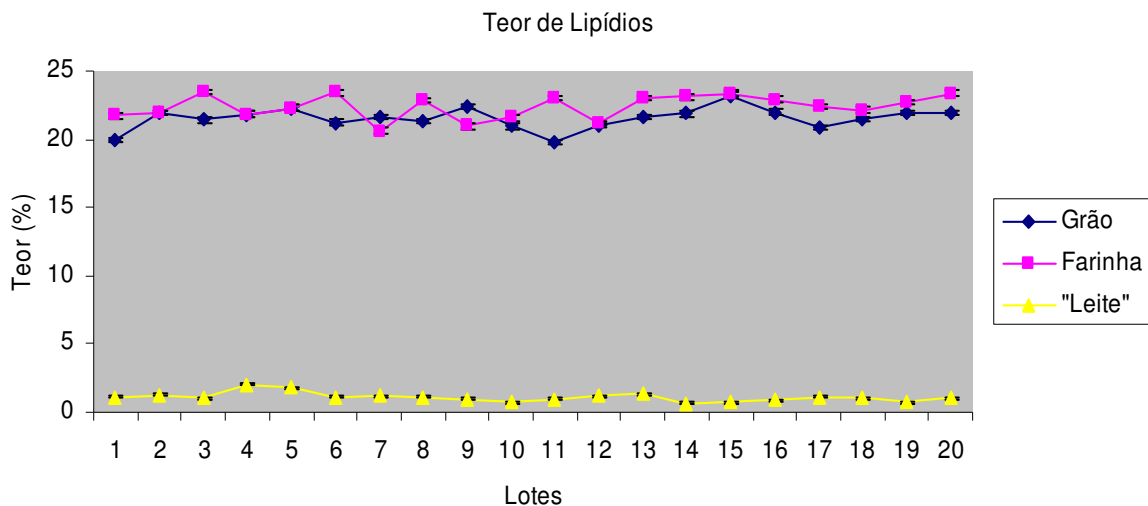


Gráfico 2: Teor de lipídios nos lotes avaliados de grão, farinha integral e “leite” de soja.

Os teores de proteínas, Gráfico 3, observados nos 20 lotes analisados para os grãos encontram-se entre  $32,44\% \pm 0,45$  (lote 17) a  $44,10\% \pm 2,25$  (lote 20), para a farinha integral de soja, entre  $33,01\% \pm 0,39$  (lote 04) a  $56,85\% \pm 1,71$  (lote 20), para o “leite” de soja entre  $1,13\% \pm 0,02$  (lote 16) a  $3,95\% \pm 0,04$  (lote 06) e para a farinha integral de soja em b. s. d., entre  $43,68\% \pm 0,68$  (lote 04) a  $78,74\% \pm 2,42$  (lote 20).

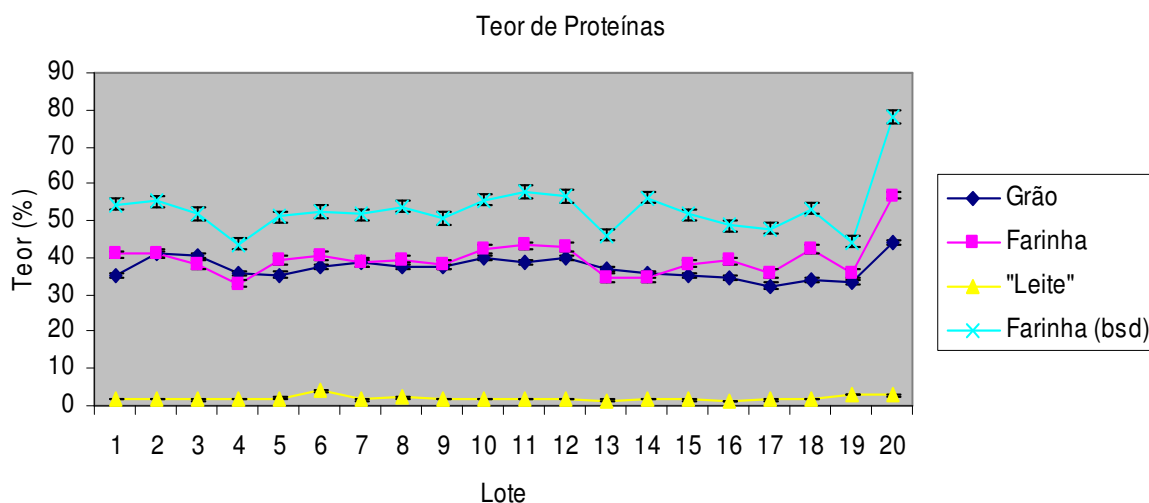


Gráfico 3: Teor de proteínas nos lotes avaliados de grão, farinha integral, “leite” e farinha integral de soja, em b.s.d.

Os teores de cinzas, Gráfico 4, observados nos 20 lotes analisados para os grãos encontram-se entre  $3,67\% \pm 0,06$  (lote 05) a  $5,23\% \pm 0,06$  (lote 17), para a farinha integral de soja, entre  $4,26\% \pm 0,17$  (lote 12) a  $5,46\% \pm 0,06$  (lote 16) e para o “leite” de soja entre  $0,09\% \pm 0,01$  (lote 15) a  $0,54\% \pm 0,11$  (lote 05).

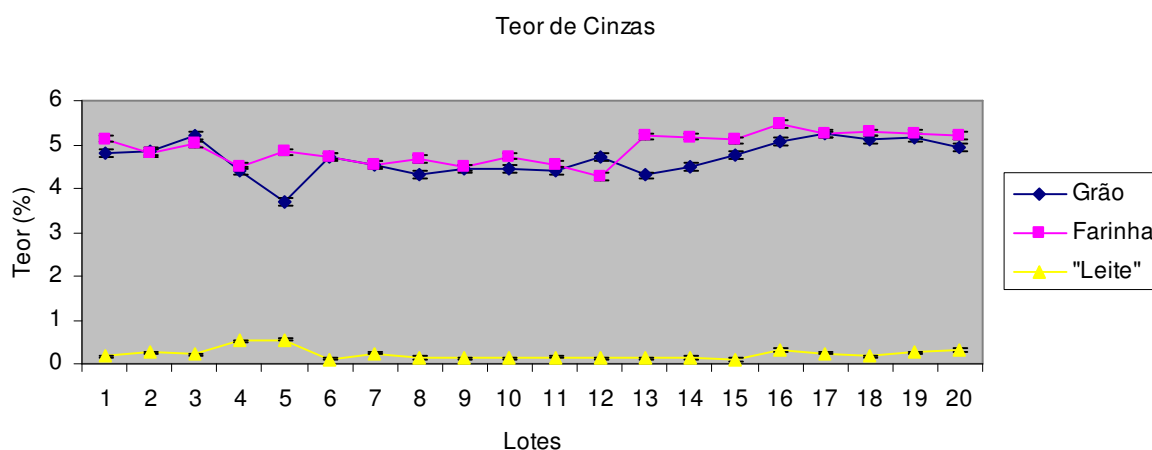


Gráfico 4: Teor de cinzas nos lotes avaliados de grão, farinha integral e “leite” de soja.

Os teores de carboidratos, Gráfico 5, observados nos 20 lotes analisados para os grãos encontram-se entre 18,81%  $\pm$  2,31 (lote 20) a 33,06%  $\pm$  0,62 (lote 17), para a farinha integral de soja, entre 9,59%  $\pm$  1,35 (lote 20) a 37,36%  $\pm$  0,62 (lote 04) e para o “leite” de soja entre 0,00%  $\pm$  0,32 (lote 06) a 1,76%  $\pm$  0,28 (lote 07).

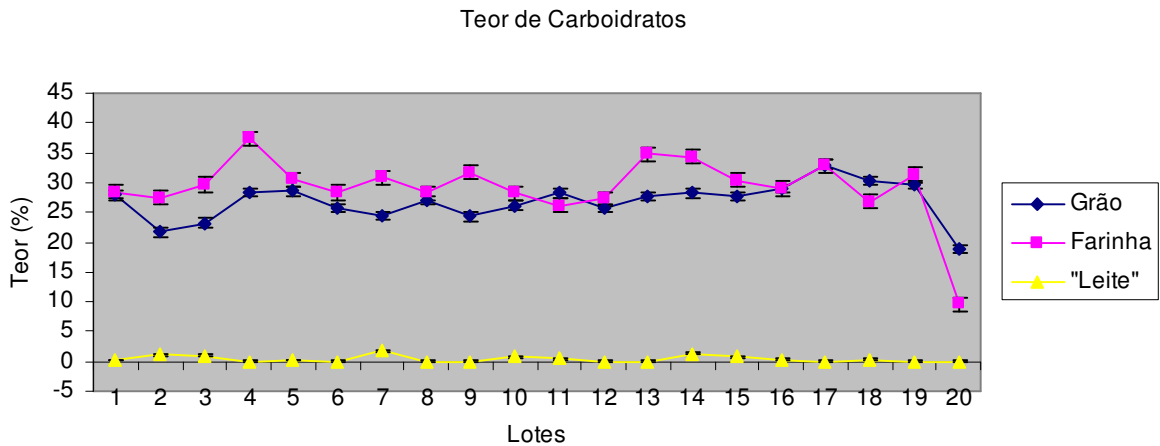


Gráfico 5: Teor de carboidratos nos lotes avaliados de grão, farinha integral e “leite” de soja.

O valor calórico total, Gráfico 6, observado nos 20 lotes analisados para os grãos encontram-se entre 432,14%  $\pm$  5,41 (lote 01) a 459,49%  $\pm$  0,62 (lote 15), para a farinha integral de soja, entre 464,14%  $\pm$  4,20 (lote 07) a 486,08%  $\pm$  0,45 (lote 06) e para o “leite” de soja entre 13,93%  $\pm$  0,10 (lote 16) a 25,88%  $\pm$  0,54 (lote 06).

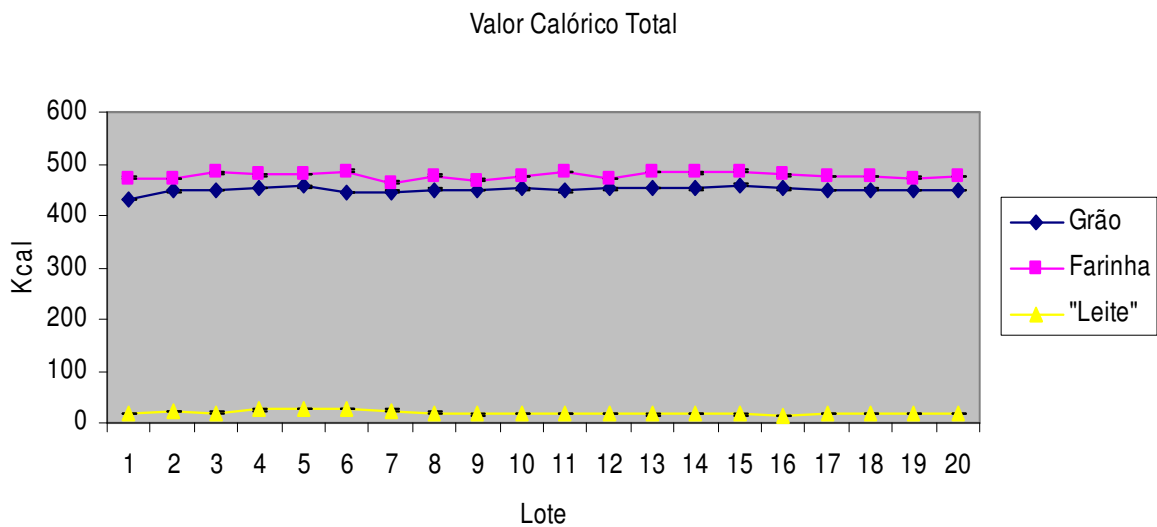


Gráfico 6: Teor de valor calórico total nos lotes avaliados de grão, farinha integral e “leite” de soja.

Nas tabelas 4, 5 e 6, nos anexos, verifica-se a baixa dispersão dos valores das triplicatas de cada lote analisado pelo coeficiente de variação (CV), para os parâmetros umidade, lipídios, proteínas, cinzas, carboidratos e valor calórico total, com valores abaixo de 15% (Vieira, 1991) indicando a repetibilidade das análises realizadas.

Na avaliação estatística do teor de umidade de grão de soja, tabela 4, foram verificadas diferenças significativas, onde o lote 01 difere dos lotes 10, 11, 12 e 17 ( $p < 0,05$ ). Para a farinha integral de soja, tabela 5, não se observou diferença significativa entre os lotes analisados. Entretanto, no “leite” de soja, tabela 6, observou-se diferenças significativas, onde o lote 09 difere dos lotes 02, 05, 06 e 07 ( $p < 0,05$ ).

Para o teor de lipídios dos grãos de soja, tabela 4, a análise estatística revelou diferenças significativas, o lote 15 diferiu dos lotes 01 e 11 ( $p < 0,01$ ) e o lote 11 do lote 09 ( $p < 0,05$ ). A farinha integral de soja, tabela 5, o lote 03 diferiu

significativamente do lote 9 ( $p < 0,05$ ) e o lote 07, dos lotes 03, 06, 14, 15 e ( $p < 0,05$ ). O “leite” de soja, tabela 6, não apresentou diferenças significativas entre os lotes.

Na determinação do teor de proteínas dos grãos de soja, tabela 4, a análise estatística não revelou diferenças significativas. Na farinha integral de soja, tabela 5, observa-se diferenças significativas ( $p < 0,05$ ), onde o lote 20 diferiu de todos os demais lotes. Em relação ao “leite” de soja, tabela 6, não foram observadas diferenças significativas entre os lotes analisados. E, de acordo com as exigências da legislação vigente (Brasil, 2005) o teor de proteínas da farinha integral de soja foi calculado em base seca e desengordurada e apresentado na tabela 7, onde o lote 20 diferiu de todos os demais lotes significativamente ( $p < 0,01$ ).

No teor de cinzas dos grãos de soja, tabela 4, o lote 03 diferiu dos lotes 01, 02, 06, 12, 15, 19 e 20 ( $p < 0,05$ ); de 16 e 18 ( $p < 0,01$ ) e de 03 e 17 ( $p < 0,001$ ) significativamente. Para a farinha integral de soja, tabela 5, a análise estatística revelou diferenças significativas, onde o lote 16 diferiu de 09 e 12 ( $p < 0,05$ ) e lote 12 difere de 16, 18 e 19 ( $p < 0,05$ ). Entretanto para o “leite” de soja, tabela 6, não houve diferenças significativas entre os lotes analisados.

Para o teor de carboidratos dos grãos de soja, tabela 4, observaram-se diferenças significativas, onde o lote 02 diferiu do 17 ( $p < 0,05$ ), e do lote 20 diferiu do 17 ( $p < 0,05$ ) e do 18 ( $p < 0,01$ ). Na farinha integral de soja, tabela 5, o lote 20 diferiu significativamente de 01 a 10, de 12 a 17 e 19 ( $p < 0,001$ ) e de 11 e 18 ( $p < 0,05$ ). Contudo para o “leite” de soja, tabela 6, a análise não revelou diferenças significativas entre os lotes.

Para o valor calórico total dos grãos de soja, tabela 4, o lote 01 diferiu de 10, 12, 13, 14, 16, 17 e 18 ( $p < 0,05$ ), de 04, 05 e 08 ( $p < 0,01$ ) e de 15 ( $p < 0,001$ ) significativamente. Na farinha integral de soja, tabela 5, o lote 07 difere

significativamente de 03, 11, 13 e 14 ( $p < 0,05$ ), 06 e 15 ( $p < 0,01$ ) e lote 09 difere de 06 e 15 ( $p < 0,05$ ). E para o “leite” de soja, tabela 6, não se observou diferenças significativas entre os lotes.

O teor de umidade implica diretamente na qualidade do produto que está ao alcance do consumidor. Quando elevado favorece a disseminação de doenças de natureza fúngica (Bayer e Da Costa, 2006), implica em fermentação e pode reduzir o tempo de prateleira.

Os teores de umidade dos grãos de soja corroboram o observado por Ciabotti *et al.* (2006), que verificaram 9,59%, para soja comum, ou seja, sem processamento e por Calderano *et al.* (2010) que encontraram 9,33%, para grão de soja com enzima inativada. Na farinha integral de soja os teores encontrados 2,59% a 5,19% foram inferiores ao observado por Calderano *et al.* (2010) 7,00%, sendo seu estudo realizado com farinha de soja com baixo teor de gordura. Possivelmente esse maior valor encontrado pelo autor se deve ao baixo teor de gordura da farinha analisada. O “leite” de soja obtido apresentou teores próximos ao encontrado por Oliveira (2007), 95,68%, e maiores que os observados por Rosenthal (2003), Ciabotti *et al.* (2006) e Felberg *et al.* (2009), 93,81%, 93,70% e 89,58%, respectivamente.

A fração lipídica dos alimentos tem impacto sobre as propriedades físico-químicas e reológicas desses alimentos ou ingredientes. Sun *et al.* (2010) observaram algumas alterações nessas propriedades em farinha de trigo desengordurada como aumento da velocidade de escoamento, clareamento da cor, necessidade de maior aquecimento para incorporação da água ao amido e mais água para formação e desenvolvimento de massa e sua rede de proteína. Os autores também observaram, que a farinha desengordurada tinha uma melhor



capacidade de suportar a tensão de cisalhamento mecânico e uma melhor estabilidade ao cozinhar, quando comparada com a amostra não tratada.

Os lipídios detectados na análise histoquímica foram ratificados na análise química de grão, “leite” e farinha integral de soja. Os teores de lipídios observados neste estudo para os grãos de soja, 19,84% a 23,23%, refletem um alto percentual, já esperado, quando comparado a outras oleaginosas e cereais, como aveia (*Avena sativa*) que apresenta teores médios de 3 a 11% e alguns cultivares com mais de 18% de lipídios (Frey e Holland, 1999; Banaś *et al.*, 2007). Resultado similar com grãos de soja no presente estudo foi verificado por Felberg *et al.* (2009), 19,87% e maior que o encontrado por Ciabotti *et al.* (2006) 15,74%. Ressalta-se que esses autores trabalharam com soja descascada. Banaś *et al.* (2007) observaram em grãos de aveia a distribuição de grande quantidade de substâncias lipídicas no endosperma da semente, o que também foi observado na análise histoquímica dos grãos de soja analisados. As variações de teor de lipídios encontradas correspondem, entre outros fatores, ao metabolismo lipídico das sementes, no qual as reservas energéticas são consumidas gradativamente (Neuberger *et al.*, 2008), a fim de preservar o embrião (Banaś, 2007). As substâncias lipofílicas observadas na análise histoquímica evidenciam o percentual de lipídios encontrado na análise química da farinha integral de soja. Entretanto, observa-se na literatura o perfil químico correlacionado ao emprego de farinha de soja desengordurada (Dhingra e Jood, 2001; Barbosa *et al.*, 2006; Hegde *et al.*, 2009; Calderano *et al.*, 2010). O “leite” de soja obtido apresentou teor lipídico semelhante aos encontrados por Oliveira (2007), Felberg *et al.* (2009), Rosenthal *et al.* (2003) e Ciabotti *et al.* (2006), 1,15 %, 2,31%, 1,53% e 1,62%, respectivamente.

A padronização, pela legislação, dos teores de proteínas nos alimentos é fundamental para a manutenção da saúde da população. A desnutrição protéica é responsável por diversos problemas metabólicos e inibição do crescimento (Edozien e Switzer, 1978; Prasad, 1991; Barker *et al.*, 1993; Yáyha e Millward, 1994; Cameron e Eshelman, 1996; Amaya-Guerra, Alanis-Guzman e Saldívar, 2004). Amaya-Guerra, Alanis-Guzman e Saldívar (2004) observaram maior taxa de aproveitamento da proteína consumida, aumento da taxa de gravidez, maior número de filhotes e maior taxa de sobrevivência, em animais alimentados com ração enriquecida com soja.

Na literatura são encontradas, em função das alegações de saúde, a recomendação de consumo de cerca de 25 g de proteína de soja e 50 mg de isoflavonas por dia (BRASIL, 2003, Messina & Messina, 2003; Potter *et al.*, 2007;). Dada a importância da proteína de soja Karki *et al.* (2010) aperfeiçoaram a técnica de extração associando as técnicas ultrassom e microscopia de varredura.

O teor de proteínas de grão de soja, neste estudo, está de acordo com o encontrado por Ciabotti *et al.* (2006), 32,77%, e por Felberg *et al.* (2009), 42,62%, apesar dos autores terem empregado soja descascada. Os lotes de farinha integral de soja analisados apresentaram teores de proteína compatíveis com a legislação vigente (Brasil, 2005), que dispõe sobre produtos protéicos de origem vegetal e fixa para farinha de soja desengordurada em base seca (N x 6,25) o valor mínimo de 45,0g/100 g. Os teores de proteína de farinha de soja apresentados na Tabela 5 são referentes à base seca desengordurada. Entretanto, verifica-se valor abaixo do estipulado pela legislação no lote 04. Os teores de proteína do “leite” de soja também são regulamentados por legislação, que define teor mínimo de 3,0% (g/100g) de proteína. Observa-se que o teor de proteína encontrada no “leite” de

soja variou entre 1,13 – 3,95%, sendo que somente os lotes 06 (3,95%) e 19 (3,08%) se apresentaram de acordo com o regulamentado (BRASIL, 2005). Esses resultados se assemelham aos encontrados por Oliveira (2007), 3,08%, Ciabotti *et al.* (2006), 3,56% e Felberg *et al.* (2009), 3,00%. Enquanto as amostras 05 (2,05%), 08 (2,19%) e 20 (2,79%) foram semelhantes ao verificado por Rosenthal *et al.* (2003), 2,86%, que também obtiveram “leite” de soja. Segundo Tyug *et al.* (2010) o “leite” de soja pode ser classificado, em A e B, fato relacionado ao método de obtenção do mesmo, o que reflete no teor de água. Logo há uma relação inversa entre teor de água e sólidos totais. Ressalta-se, ainda, que as diferenças observadas entre os “leites” de soja obtidos, no presente estudo, possivelmente, podem ser atribuídas às diferenças entre os lotes de soja adquiridos.

O teor de cinzas de grão de soja, no presente trabalho, está de acordo com o observado por Ciabotti *et al.* (2006), Calderano *et al.* (2010) e Felberg *et al.* (2009), 3,64%, 4,48% e 5,09%, respectivamente. Na farinha integral de soja o valor encontrado é considerado baixo quando comparado ao observado por Hegde *et al.* (2009) e Calderano *et al.* (2010), 8,0% e 6,16%, respectivamente, de cinzas. Contudo seus trabalhos empregaram farinha de soja desengordurada, enquanto no presente estudo se utilizou farinha integral de soja, o que pode explicar a diferença encontrada. Entretanto, resultados semelhantes para o teor de cinzas no “leite” de soja foram encontrados por Oliveira (2007), Ciabotti *et al.* (2006), Rosenthal *et al.* (2003) e Felberg *et al.* (2009), 0,19%, 0,30%, 0,27% e 0,57%, respectivamente.

O emprego da determinação do teor de carboidratos pelo método de Nifext é amplamente observado na literatura (Rosenthal *et al.*, 2003; Ciabotti *et al.*, 2006; Oliveira, 2007 e Felberg *et al.*, 2009). No presente estudo os teores de carboidratos

no grão de soja se assemelham aos encontrados por Felberg *et al.* (2009), 32,43% e por Ciabotti *et al.* (2006) 30,70%. Para farinha de soja integral, na literatura, não são observados trabalhos que reportam a composição centesimal, porém diversos autores estudaram o impacto na dieta de farinha de soja desengordurada (Dhingra e Jood, 2001; Barbosa *et al.*, 2006; Calderano *et al.*, 2010). Neste estudo o teor de carboidrato no “leite” de soja foi semelhante àqueles encontrados por Oliveira (2007), Felberg *et al.* (2009) e Rosenthal *et al.* (2003), 0,00%, 0,82% e 1,53%, respectivamente, e menores que os observados por Ciabotti *et al.* (2006) 4,54%. De acordo com Vasconcelos *et al.* (2006) na discussão da qualidade do conteúdo de carboidratos de grãos de soja madura os autores afirmam que o mesmo apresenta vestígios de amido, são ricas fontes de fibra dietética especial em celulose e hemicelulose e pobres em lignina.

O “leite” de soja obtido apresentou valor calórico total próximo ao encontrado por Oliveira (2007), 22,67%, e menores que os observados por Rosenthal *et al.* (2003), Ciabotti *et al.* (2006) e Felberg *et al.* (2009), 31,33%, 40,82% e 50,95%, respectivamente. Possivelmente esses autores encontraram maiores valores, em função das diferenças nos teores de proteínas, lipídios e carboidratos observados, uma vez que o cálculo do valor calórico total depende destes parâmetros, conforme descrito na metodologia.

#### **4.5.2 Conteúdo Total de Fenólicos**

Entre os ácidos fenólicos mais utilizados como substância padrão descritos na literatura (Wardhani, Vázquez e Pandiella, 2010; Tyug, Prasad e Ismail, 2010; Malencić *et al.*, 2007; Singleton e Rossi Jr., 1965) para a determinação de substâncias fenólicas destaca-se o ácido gálico.

Sendo assim, no presente trabalho foi utilizada a curva padrão de ácido gálico (Gráfico 07), cuja equação da reta ( $y = 0,0014x - 0,0242$ ) foi empregada para obtenção do conteúdo total de fenólicos, como equivalentes de ácido gálico (EAG) (mg de ácido gálico/g de amostra) nas amostras de grão, farinha integral e “leite” de soja. Observa-se uma correlação positiva a partir do coeficiente de determinação ( $R^2$ ) entre X e Y no valor de 0,9913.

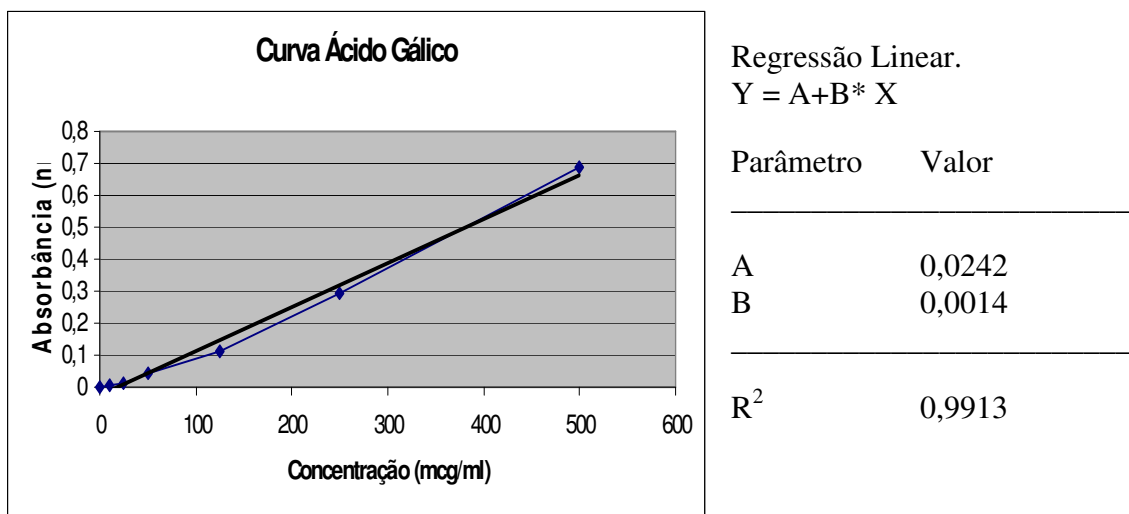


Gráfico 7: Representação gráfica da curva de calibração do ácido gálico.

A partir da equação da reta e através dos valores de absorbância obtidos para as amostras, realizado em triplicata, foi possível quantificar os teores de fenólicos totais, expressos na tabela 3. Para quantificação dos fenólicos totais os lotes foram selecionados de forma aleatória, registrando-se um intervalo de 1 a 3 meses. Cabe ressaltar que a determinação do conteúdo total de fenólicos foi uma complementação da análise química deste estudo.

Tabela 3: Conteúdo total de fenólicos (EAG) de amostras de grão, farinha integral e “leite” de soja.

AMOSTRA	CONTEÚDO FENÓLICO TOTAL (mg EAG/g amostra)		
	GRÃO	FARINHA	“LEITE”
Lote 03	11,66 ± 0,08	18,72 ± 0,28	22,47 ± 0,18
Lote 05	9,65 ± 0,06	16,22 ± 0,51	18,92 ± 1,00
Lote 10	9,04 ± 0,14	15,33 ± 0,56	14,36 ± 0,37
Lote 16	17,95 ± 0,13	17,27 ± 0,52	16,73 ± 0,02
Lote 20	16,56 ± 0,17	17,19 ± 0,12	17,18 ± 0,08

Média de 3 repetições ± DP

O conteúdo total de fenólico observado nos 5 lotes analisados para os grãos encontram-se entre 9,04% ± 0,14 (lote 10) a 17,95% ± 0,13 (lote 16), para a farinha integral de soja, entre 15,33% ± 0,17 (lote 10) a 18,72% ± 0,28 (lote 03) e para o “leite” de soja entre 14,36% ± 0,37 (lote 10) a 22,47% ± 0,18 (lote 03).

Em um estudo empregando 26 produtos de soja Devi *et al.* (2009) observaram no grão de soja valores para CTF entre 15 e 20mgEAG/g amostra, portanto, relativamente semelhantes aos encontrados neste estudo. Ainda para os grãos de soja, Kumar *et al.* (2010) encontraram valores CTF entre 0,96 e 5,89 mg de EAG/g amostra, em 18 cultivares, valores consideravelmente abaixo do observado no presente estudo. Entretanto, Juan e Chou (2010) avaliando várias soluções de extração (metanol 80%, etanol 80%, acetona 80% e água) observaram teores distintos CTF 15,94; 17,75; 26,60 e 6,04 mg EAG/g, respectivamente. Sendo, portanto, o teor de 26,60 mg EAG/g, extração em acetona 80%, maior que o encontrado neste estudo.

Os valores observados por Devi *et al.* (2009) para farinha integral de soja foram cerca de 15 mg EAG/g amostra, portanto compatíveis com os resultados apresentados na tabela 6.

As substâncias fenólicas detectadas na análise histoquímica foram ratificadas pela análise química dos grãos de soja. Porém as substâncias fenólicas não puderam ser detectadas na análise histoquímica em “leite” e farinha integral de soja, provavelmente em função do processamento sob temperatura (farinha a 55°C/24 horas; e “leite” de soja em ebulição). Na análise de “leites” de soja de qualidade comercial distinta (graus A e B) Tyug *et al.* (2010) observaram valores para CTF, 1,04 e 0,96 mg EAG/g amostra, menores que os encontrados neste estudo (Tabela 6). Entretanto, Devi *et al.* (2009) encontraram valores entre 5 e 10 mg EAG/g amostra, portanto menores que os do presente estudo, 14,36 a 22,47 mg EAG/g amostra. Pode-se atribuir esta diferença ao método de extração empregado pelos autores, etanol 70 %, 50 °C por 2 horas. Neste estudo o maior valor observado para “leite” de soja liofilizado, 22,47%, ultrapassou o valor encontrado para grão de soja por aqueles autores, naquelas condições de extração.

O consumo de polifenóis pela população brasileira foi estimado por Faller e Fialho (2009) em função da disponibilidade regional de frutas e hortaliças, sendo a maior oferta encontrada na região sudeste, 53,6%, e a menor na região centro-oeste, 28,2%, e foi considerado baixo apesar de se igualar com o consumo de outros países. A incorporação de soja e produtos de soja na dieta dos brasileiros pode contribuir para aumento geral na ingestão de polifenóis desta população.

## 5. CONCLUSÃO

A farinha integral e o “leite” de soja foram obtidos a partir dos grãos de soja.

Na análise microscópica foi possível observar no grão e na farinha integral, mas não no “leite” de soja estruturas características, como as osteoesclereídes, que são estruturas exclusivas de tegumento de grão de soja. As diferenças observadas nestas estruturas se limitaram a tamanho, provavelmente em função da variabilidade no tamanho dos grãos recebidos.

Na análise histoquímica foram detectadas substâncias lipofílicas nas amostras de GS, FS e LS. Os testes para detecção de açúcares redutores e substâncias fenólicas só foram positivos nas amostras de GS. Não foram detectados grãos de amido em nenhum material analisado.

Os resultados observados na análise química de GS, FS e LS forneceram teores de umidade, proteínas, lipídios, cinzas e carboidratos, bem como o valor calórico, semelhantes a literatura, resguardando oscilações observadas, provavelmente, em função da área de cultivo, época do ano e condições climáticas.

A FS apresentou valores de acordo com o preconizado pela legislação para proteína, com exceção do lote 04. Ao contrário do LS que apresentou valores menores que o predito pela legislação e cuja exceção foram os lotes 06 e 19.

As substâncias fenólicas foram detectadas na análise histoquímica e quantificadas no GS, mas o mesmo não pode ser observado em relação à FS e LS, que foram quantificadas, mas não puderam ser observados na análise histoquímica provavelmente pelo aquecimento no processo de obtenção desses produtos.

Os padrões estabelecidos podem atender a necessidade e a carência observada em relação a materiais de referência para controle de qualidade de soja farinha integral e “leite” de soja.



## 6. REFERÊNCIAS

- ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Disponível em: [http://portal.anvisa.gov.br/wps/portal/anvisa/home/alimentos?tax=Alimentos&cat=Legislacao&siteArea=Alimentos&pagedesign=Alimentos\\_N2&WCM\\_GLOBAL\\_CONTEXT=/wps/wcm/connect/Anvisa/Anvisa/Inicio/Alimentos](http://portal.anvisa.gov.br/wps/portal/anvisa/home/alimentos?tax=Alimentos&cat=Legislacao&siteArea=Alimentos&pagedesign=Alimentos_N2&WCM_GLOBAL_CONTEXT=/wps/wcm/connect/Anvisa/Anvisa/Inicio/Alimentos). Acesso em maio de 2010.
  
- AMAYA-GUERRA, C. A.; ALANIS-GUZMAN, M. G.; SALDÍVAR S. O. S. *Effects of soybean fortification on protein quality of tortilla-based diets produced from regular quality protein maize*. Plant Foods for Human Nutrition, v. 59, p. 45-50, 2004.
  
- AMERICAN ASSOCIATION of FEED MICROSCOPISTS (AAFM). *Manual of microscopic analysis of feedstuffs*. 2ed.,1992.
  
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists*. 12<sup>a</sup> ed. Arlington: A.O.A.C., p. 1141, 1995.
  
- ÁVILA, M. R., BRACCINI, A. L., SCAPIM, C. A., MANDARINO, J. M. G., ALBRECHT, L. P., VIDIGAL FILHO, P. S. *Componentes do rendimento, teores de isoflavonas, proteínas, óleo e qualidade de sementes de soja*. Revista Brasileira de Sementes, v.29 (3), p.111-127, 2007.
  
- BADARÓ, A. C. L.; GUTTIERRES, A. P. M.; REZENDE A. C. V.; STRINGHETA, P. C. *Alimentos probióticos: aplicações como promotores da saúde humana – Parte 2*. NUTRIR GERAIS – Revista Digital de Nutrição, Ipatinga, v. 3 (4), p. 396-416, 2009.
  
- BANAŚ, A.; DEBSKI, H.; BANAŚ, W.; HENEEN, W. K.; DAHLQVIST, A.; BAFOR, M.; GUMMESON, P.; MARTTILA, S.; EKMAN, Å.; CARLSSON, A. S.; STYMNE, S. *Lipids in grain tissues of oat (Avena sativa): differences in content, time of deposition, and fatty acid composition*. Journal of Experimental Botany, v. 58 (10), p. 2463-2470, 2007.
  
- BARBOSA, A. C. L.; HASSIMOTO, N. M. A.; LAJOLO, F. M.; GENOVESE, M. I. *Teores de isoflavonas e capacidade antioxidante da soja e produtos derivados*. Ciência e Tecnologia de Alimentos, v. 26 (4), p. 921-926, 2006.
  
- BARKER, , D. J. P.; Gluckman, P. D.; Godfrey, K. M.; Harding, J. E.; Owens, J. A.; Robinson, J. S. *Fetal nutrition and cardiovascular disease in adult life*. Lancet, v. 341 (8850), p. 938-941, 1993.

- BAYER, T. M.; DA COSTA, I. F. D. *Ocorrência de Phakopsora euvitis Ono em Santa Maria, Rio Grande do Sul*. *Ciência Rural*, v.36 (4), p. 1307-1308, 2006.
- BELLAVER, C. *Soja em grãos para alimentação de aves e suínos*. Disponível em: [www.cnpso.embrapa.br/sgc/sgc\\_artigos/artigos\\_f2u52g7d.html](http://www.cnpso.embrapa.br/sgc/sgc_artigos/artigos_f2u52g7d.html), 2007. Acesso em setembro de 2008.
- BELTRATI, C. M.; PAOLI, A. A. S. Semente. In: APPEZZATODA-GLÓRIA, B.; CARMELLO-GUERREIRO, S. M. *Anatomia vegetal*. 2. ed. Viçosa, MG: UFV, p. 399-424, 2006.
- BRANDI, M.L. *Natural and syntetic isoflavones in the prevention and treatment of chronic diseases*. *Calcified Tissue International*, New York, v.61, supplement, p. 5S-8S, 1997.
- BRASIL. Resolução RDC ANVISA/MS nº 18, de 30 de abril de 1999. *Aprova o regulamento técnico que estabelece as diretrizes básicas para análise e comprovação de propriedades funcionais e ou de saúde alegadas em rotulagem de alimentos*. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 03 dezembro 1999. 1999a.
- BRASIL. EMBRAPA SOJA - *Sistema integrado de diagnose e recomendação para soja*. Disponível em: [www.cnpso.embrapa.br](http://www.cnpso.embrapa.br). 2008. Acesso em setembro de 2008 e agosto de 2010.
- BRASIL. Resolução RDC ANVISA/MS nº 19, de 30 de abril de 1999. *Aprova o regulamento técnico que estabelece as diretrizes básicas para registro de alimentos com alegações de propriedades funcionais e/ou de saúde em sua rotulagem*. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 10 dezembro 1999. 1999b.
- BRASIL. Resolução RDC ANVISA/MS nº. 360, de 23 de dezembro de 2003. *Regulamento Técnico sobre Rotulagem Nutricional de Alimentos Embalados*. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 26 dezembro 2003. Seção 1.
- BRASIL. Resolução RDC ANVISA/MS nº 268, de 22 de setembro de 2005. *Regulamento técnico para produtos protéicos de origem vegetal*. Diário Oficial da União; Poder Executivo, de 23 de setembro 2005. Seção 1.
- BRUM, A. L.; HECK, C. R.; LEMES, C. D. L.; MÜLLER, P. K.; LIMA, A. N.; PIRES, L. F. *A economia mundial da soja: impactos na cadeia produtiva da oleaginosa no rio*

*grande do sul 1970-2000*. 2005. Disponível em: <http://www.sober.org.br/palestra/2/519.pdf>. Acesso em setembro de 2010.

- BUKATSCH, F. *Bemerkugen zur Doppelfärbung Astrablau-Safranin*. Mikrokosmos, v. 61, p. 255, 1972.

- CALDERANO, A. A.; GOMES, P. C., ALBINO, L. F. T., ROSTAGNO, H. S.; De SOUZA, R. M.; MELLO, H. H. C. *Composição química e energética de alimentos de origem vegetal determinada em aves de diferentes idades*. Revista Brasileira de Zootecnia, v. 39 (2), p. 320-326, 2010.

- CAMERON, G. N.; ESHELMAN, B. D. *Growth and reproduction of hispid cotton rats in response to naturally occurring levels of dietary protein*. Journal of Mammalogy, v.77, p.220–231, 1996.

- CARRÃO-PANIZZI, M. C. *Qualidade da produção de soja no brasil e as perspectivas para grãos com valor agregado* – Disponível em [http://www.acsoja.org.ar/mercosoja2006/Contenidos/Workshops/calprodygan\\_01.pdf](http://www.acsoja.org.ar/mercosoja2006/Contenidos/Workshops/calprodygan_01.pdf). Acesso em outubro de 2010.

- CAVARIANI, C.; TOLEDO, M. Z.; RODELLA, R. A.; FRANÇA NETO, J. B.; NAKAGAWA, J. *Velocidade de hidratação em função de características do tegumento de sementes de soja de diferentes cultivares e localidades*. Revista Brasileira de Sementes, v. 31 (01), p. 030-039, 2009.

- CEDERROTH, C. R.; NEF, S. *Soy, phytoestrogens and metabolism: a review*. Molecular and Cellular Endocrinology, v. 304, p. 30-42, 2009.

- CHEN, M. F. *Consumer attitudes and purchase intentions in relation to organic foods in Taiwan: moderation effects of food related personality traits*. Food Quality and Preference, v.18, p. 1008-1021, 2007.

- CHEN, Z.; ILARSLAN, H.; PALMER, R.G.; SHOEMAKER, R. C. *Development of protein bodies and accumulation of carbohydrates in a soybean (leguminosae) shriveled seed mutant*. American Journal of Botany, v. 85 (4), p. 492–499, 1998.

- CIABOTTI, S.; BARCELLOS, M. F. P.; MANDARINO, J. M. G.; TARONE, A. G. *Avaliações químicas e bioquímicas dos grãos, extratos e tofus de soja comum e de soja livre de lipoxigenase (Chemical and biochemical evaluation of grains, soymilk and tofus of normal soybean and lipoxygenase-free soybeans)*. Ciência e Agrotecnologia, v. 30 (5), p. 920-929, 2006.

- CONAB - *Companhia Nacional de Abastecimento*. 2008. Disponível em <http://www.conab.gov.br/conabweb/download/sureg/PR/Soja%20Maio%202008.pdf>.

Acesso em setembro de 2009 e agosto de 2010.

- COSTA, N. P.; MESQUITA, C. M.; MAURINA, A. C.; FRANÇA NETO, J. B.; KRZYZANOWKI, F. C.; OLIVEIRA, M. C. N.; HENNING, A. A. *Perfil dos aspectos físicos, fisiológicos e químicos de sementes de soja produzidas em seis regiões do Brasil*. Revista Brasileira de Sementes, v. 27 (2), p. 01-06, 2005.

- DEVI, M. K. A.; Gondi, M.; Sakthivelu, G.; Giridhar, P.; Rajasekaran, T.; Ravishankar, G. A. *Functional attributes of soybean seeds and products, with reference to isoflavone content and antioxidant activity*. Food Chemistry, v. 114, p. 771–776, 2009.

- DHINGRA, S.; JOOD, S. *Organoleptic and nutritional evaluation of wheat breads supplemented with soybean and barley flour*. Food Chemistry, v. 77, p. 479–488, 2001.

- DUARTE-ALMEIDA, J. M.; SANTOS, R. J.; GENOVESE, M. I.; LAJOLO, F. M. *Avaliação da atividade antioxidante utilizando sistema  $\beta$ -caroteno/ácido linoléico e método de seqüestro de radicais DPPH<sup>1</sup>*. Ciência Tecnologia de Alimentos, v. 26 (2), p. 446-452, 2006.

- EDOZIEN, J. C., SWITZER, B. R. *Influence of diet on growth in the rat* Journal of Nutrition, v. 108 (2), p. 282-290, 1978.

- ESAU, K. *Anatomy of seed plants*. WILEY. New York, 2<sup>a</sup> ed., 550 p., 1977.

- ESPIN, J.C., GRACÍA-CONESA, M.T. e TOMÁS-BARBERÁN, F.A. *Nutraceuticals: Facts and fiction*. Phytochemistry, v. 68, p. 2986-3008, 2007.

- FALLER, A. L. K.; FIALHO, E. *Disponibilidade de polifenóis em frutas e hortaliças consumidas no Brasil*. Revista de Saúde Pública, v. 43(2), 211-218, 2006.

- FB – Farmacopéia Brasileira. Organização ANDREI Editora, 4<sup>a</sup> edição, parte II, fascículo 2. 2000

- FELBERG, I.; ANTONIASSI, R.; DELIZA, R.; FREITAS, S. C.; MODESTA, R. C. D. *Soy and Brazil nut beverage: processing, composition, sensory, and color evaluation (Bebida de soja e castanha do Brasil: processamento, composição, avaliação sensorial e de cor)*. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 29 (3), p. 609-617, 2009.
- FRANÇA, L. C.; AYALA, L. A. C. *Garacterização de novas variedades de soja (Glycine max (L.) merril) para consumo humano e sua aplicação em panificação*. Disponível em <http://www.pg.cefetpr.br/incubadora/wp-content/themes/utfpr-gerec/artigos/24.pdf>, 2009. Acesso em junho de 2010.
- FREY, K. J.; HOLLAND, J. B. *Nine cycles of recurrent selection for increased grain-oil content in oat*. *Crop Science*, v. 39, p. 1636-1641, 1999.
- FUFUSE - *The european commission concerted action on functional food science in europe*. Disponível em <http://www.ilsa.org/europe/pages/fufuse.aspx>. Acesso em março de 2009.
- GAZZONI, D. L. *Alimentos Funcionais*. Disponível em [http://www.google.com.br/imgres?imgurl=http://dlgazzoni.sites.uol.com.br/alimen6.gif&imgrefurl=http://dlgazzoni.sites.uol.com.br/alimentos\\_funcionais.htm&usq=\\_\\_hyLJAEgD7PzdlymfcPsP0QleOxw=&h=272&w=311&sz=3&hl=pt-BR&start=4&zoom=1&um=1&itbs=1&tbnid=ieQ7dRjO OXuSJM:&tbnh=102&tbnw=117&prev=/images%3Fq%3Destrutura%2Bgeral%2Bde%2Bflavon%25C3%25B3ides%26um%3D1%26hl%3Dpt-BR%26sa%3DN%26rls%3Dcom.microsoft:pt-br:IE-SearchBox%26tbs%3Disch:1](http://www.google.com.br/imgres?imgurl=http://dlgazzoni.sites.uol.com.br/alimen6.gif&imgrefurl=http://dlgazzoni.sites.uol.com.br/alimentos_funcionais.htm&usq=__hyLJAEgD7PzdlymfcPsP0QleOxw=&h=272&w=311&sz=3&hl=pt-BR&start=4&zoom=1&um=1&itbs=1&tbnid=ieQ7dRjO OXuSJM:&tbnh=102&tbnw=117&prev=/images%3Fq%3Destrutura%2Bgeral%2Bde%2Bflavon%25C3%25B3ides%26um%3D1%26hl%3Dpt-BR%26sa%3DN%26rls%3Dcom.microsoft:pt-br:IE-SearchBox%26tbs%3Disch:1). Acesso em agosto de 2010.
- GERLACH, 1984, p. 244. *Apud* KRAUS, J. E. e ARDUIN, M. *Manual Básico de Métodos em Morfologia Vegetal*. EDUR. Rio de Janeiro, 1997.
- HALLIWELL, B.; GUTFERIDGE, J. M. C. *Free radicals in biology and medicine*. CLARENDON, Oxford, 704 p., 1989.
- HEDGE, U.; LAKSHMI, A. J.; RADHA, C.; KUMAR, P. R.; PRAKASH, J. *Effect of soya protein on the dialysability of exogenous iron and zinc*. *Food Chemistry*, v. 117, p. 577–581, 2009.
- IFOAM, 2006 *apud* SHENG, J.; SHEN, L.; QIAO, Y.; YU, M.; FAN, B. *Market trends and accreditation systems for organic food in China*. *Trends in Food Science & Technology*, v. 20 (9), p.396-401, 2009.
- IMeN – *Instituto de Metabolismo e Nutrição*. Disponível em [www.nutricaoclinica.com.br](http://www.nutricaoclinica.com.br). Acesso em setembro de 2007.

- IAL - Instituto Adolfo Lutz. *Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz. Métodos físico-químicos para análise de alimentos*. 4ª ed. Brasília: Anvisa, 1018 p., 2005.
  
- ILARSLAN, H.; PALMER, R. G.; HORNER, H. T. *Calcium oxalate crystals in developing seeds of soybean*. *Annals of Botany*, v. 88, p. 243-257, 2001.
  
- ILARSLAN, H.; PALMER, R. G.; IMSANDE, J. HORNER, H. T. *Quantitative determination of calcium oxalate and oxalate in developing seeds of soybean (leguminosae)*. *American Journal of Botany*, v. 84(9), p. 1042–1046. 1997.
  
- JAMES, B. *Advances in “wet” electron microscopy techniques and their application to the study of food structure*. *Trends in Food Science & Technology*, v. 20, p. 114-124, 2009.
  
- JENSEN, W.A. *Botanical Histochemistry*. H.H. FREEMAN and Co. San Francisco, 408 p. II, 1942.
  
- JOHANSEN, D. A. *Plant microtechnique*.: McGRAW-HILL BOOK Co., New York, 523 p., 1940.
  
- JORGE, L. I. F. *Botânica aplicada ao controle de qualidade de alimentos e medicamentos*. ATHENEU, São Paulo, 93 p., 2000.
  
- JUAN, M.; CHOU, C. *Enhancement of antioxidant activity, total phenolic and flavonoid content of black soybeans by solid state fermentation with Bacillus subtilis BCRC 14715*. *Food Microbiology*, v. 27 (5), p. 586-591, 2010.
  
- KARKI, B; LAMSAL, B. P.; JUNG, S.; VAN LEEUWEN, J. H.; POMETTO III, A. L.; GREWELL, D. KHANAL, S. K. *Enhancing protein and sugar release from defatted soy flakes using ultrasound technology*. *Journal of Food Engineering*, v. 96, p. 270-278, 2010.
  
- KINSELLA, J. E. *Milk proteins: physicochemical and functional properties*. *CRC Critical Reviews of Food Science Nutrition*, v. 21, p. 197-262, 1984.
  
- KLEDAL, P. R., QIAO, Y. H., EGELYNG, H., XI, Y. G., HALBERG, N., & LI, X. J. *Organic food and farming in China*. In H. WILLER, & M. YUSSEFI (Eds.), *The world of organic agriculture e Statistics and emerging trends*. IFOAM & Fibl. p. 114-119, 2007.

- KRAUS, J. E. e ARDUIN, M. *Manual Básico de Métodos em Morfologia Vegetal*. EDUR, Rio de Janeiro, 198 p., 1997.

- KUMAR, V.; RANI, A.; DIXIT, A. K.; PRATAP, D.; BHATNAGAR, D. *A comparative assessment of total phenolic content, ferric reducing-anti-oxidative power, free radical-scavenging activity, vitamin C and isoflavones content in soybean with varying seed coat colour*. Food Research International, v. 43, p. 323–328, 2010.

- KUSS, F. *Agentes oxidantes e antioxidantes*. Anais eletrônicos, Porto Alegre: UFRGS, 2005. Disponível em: [ww6.ufrgs.br/favet/lacvet/restrito/pdf/ag\\_oxid\\_antioxid.pdf](http://ww6.ufrgs.br/favet/lacvet/restrito/pdf/ag_oxid_antioxid.pdf). Acesso em abril de 2010.

- MA, F.; CHOLEWA, E.; MOHAMED, T.; PETERSON, C. A.; JZEN, M. G. *Cracks in the palisade cuticle of soybean seed coats correlate with their permeability to water*. Annals of Botany, v. 94, p. 213–228, 2004.

- MACLEAN, R. C.; IVIMEY-COOK, W.R. *Textbook of Practical Botany*. 5 ed. London, Longmans, Greenand Co. p. 476. il, 1997.

- MALENCIĆ, D., MAKSIMOVIC, Z., POPOVIC, M., MILADINOVIC, J. *Polyphenol contents and antioxidant activity of soybean seed extracts*. Bioresource Technology, v. 99 (14), p. 6688-6691, 2007

- McVEIGH, B. L., DILLINGHAM, B. L., LAMPE, J. W., & DUNCAN, A. M. *Effect of soy protein varying in isoflavone content on serum lipids in healthy young men*. American Journal of Clinical Nutrition, v. 83, p. 244–251, 2006.

- MENEZES, M.; VON PINHO, E. V. R.; SOLANGE CARVALHO BARRIOS ROVERI JOSÉ, S. C. B. R.; BALDONI, A.; MENDES, F. F. *Aspectos químicos e estruturais da qualidade fisiológica de sementes de soja*. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v.44 (12), p.1716-1723, 2009.

- MERTZ, L. M.; HENNING, F. A.; DA CRUZ, H. L.; MENEGHELLO, G. E.; FERRARI, C. S.; ZIMMER, P. D. *Diferenças estruturais entre tegumentos de sementes de soja com permeabilidade contrastante*. Revista Brasileira de Sementes, v. 31 (01), p. 023-029, 2009.

- MESSINA, M.; MESSINA, V.; SERCHELL, K. *The simple soybean and your health*. Avery Publishing Group, Garden City, 260 p., 1994.

- MESSINA, M.; MESSINA, V. *Provisional recommended soy protein and isoflavone intakes for healthy adults*. Nutrition Today, v. 38 (3), p. 100-109, 2003.
- MILLER, S. S.; BOWMAN, L. A.; GIJZEN, M.; MIKI, B. L. A. Early development of the seed coat of soybean (*Glicine max*). Annals of Botany, v. 84, p. 297-304, 1999.
- MILLER, S. S.; JIN, Z.; SCHNELL, M. C.; ROMERO, M. C.; BROWN, D. C. W.; JOHNSON, D. A. *Hourglass cell development in the soybean seed coat*. Annals of Botany, v. 106, p. 235-242, 2010.
- MORAES F. P.; COLLA L. M. *Alimentos funcionais e nutracêuticos: definições, legislação e benefícios à saúde*. Revista Eletrônica de Farmácia v 3 (2), p. 99-112, 2006.
- NEUBERGER, T.; SREENIVASULU, N.; ROKITTA, M.; ROLLETSCHEK, H.; GÖBEL, C.; RYTTEEN, T.; RADCHUK, V.; FEUSSNER, I.; WOBUS, U.; JACOB, P.; WEBB, A.; BORISJUK, L. *Quantitative imaging of oil storage in developing crop seeds*. Plant Biotechnology Journal, v. 06, p. 31-45, 2008.
- OLIVEIRA, F., AKISUE, G. *Fundamentos de Farmacobotânica e Morfologia Vegetal*. São Paulo: Atheneu, 3<sup>a</sup> ed., 228 p., 2009.
- OLIVEIRA, M. A. M. *Elaboração e caracterização de bebida com propriedade funcional a base de soja (Glycine max (L.)Merril) e açaí (Euterpe oleracea Mart.)*. 2007. 83 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) – Centro de Tecnologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2007.
- PARK, Y. K., AGUIAR, C. L., ALENCAR, S. M., MASCARENHAS, H. A. A., PIPPA, A. R. *Conversão de isoflavonas malonil-β-glicosiladas em isoflavonas glicosiladas presentes em alguns cultivares de soja brasileira*. Ciência e Tecnologia de Alimentos, v. 22(2), p. 130-135, 2002.
- PLANETA ORGÂNICO – Saúde e Orgânicos – Quem é o consumidor orgânico. Disponível em <http://www.planetaorganico.com.br/saudnovc.htm>. Acesso em julho de 2010.
- PONTES, P. R. B., SANTIAGO, S. S., SZABO, T. N., TOLEDO, L. P., GOLLÜCKE, A. P. B. *Atributos sensoriais e aceitação de sucos de uva comerciais (Sensory attributes and acceptance of commercial grape juices)*. Ciência e Tecnologia de Alimentos, v.30 (2), 2010. doi: 10.1590/S0101-206120100000200004



- POTTER, R. M.; DOUGHERTY, M. P.; HALTEMAN, W. A.; CAMIRE M. E. *Characteristics of wild blueberry-soy beverages*. LWT - Food Science and Technology, v. 40, p. 807-814, 2007.
- PRASAD, V. V. T. S. *Maternal protein deficiency in rat: Effects on central nervous system gangliosides and their catabolizing enzymes in the offspring*. Lipids, v. 26 (7), p. 553-556, 1991.
- RIZZINI C. T.; MORS, W. B. *Botânica econômica brasileira*. ÂMBITO CULTURAL, Rio de Janeiro, 2 ed., p. 248, 1995.
- ROSENTHAL, A. *Effect of enzymatic treatment and filtration on sensory characteristics and physical stability of soymilk*. Food Control, v. 14, p. 187-192, 2003.
- SANCHES, R. *Controle de qualidade de ingredientes – Microscopia*. Disponível em [http://www.cnpsa.embrapa.br/abraves-sc/pdf/Memorias2001/3\\_ronaldosanches.pdf](http://www.cnpsa.embrapa.br/abraves-sc/pdf/Memorias2001/3_ronaldosanches.pdf). Acesso em maio de 2008.
- SASS, J.S. *Botanical Microtechnique*. PRESS BUILDING, Ames, 2 ed, 228 p., il, 1951.
- SHENG, J.; SHEN, L.; QIAO, Y.; YU, M.; FAN, B. *Market trends and accreditation systems for organic food in China*. Trends in Food Science & Technology, v. 20 (9), p.396-401, 2009.
- SILVA, M. A. D.; VIEIRA, R. D.; SANTOS, J. M. *Influência do envelhecimento acelerado na anatomia da testa de sementes de soja, cv. Monsoy 8400*. Revista Brasileira de Sementes, v. 30 (2), p.091-099, 2008.
- SILVA, M. A. D. *Morfologia da testa e potencial fisiológico de sementes de soja*. 2003. 95 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Campus de Jaboticabal, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2003.
- SIMÕES, C. M. O; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. *Farmacognosia – Da planta ao medicamento*. Editoras da UFSC e da UFRGS, 5ª ed., 1102p. 2005.

- SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A., Jr. *Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents*. American Journal of Enology and Viticulture, v. 16, p. 144-158, 1965.
- SOUZA, V. C.; LORENZI, H. *Botânica sistemática: Guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II*. Cidade, Instituto Plantarum de Estudos da Flora Ltda, 2005.
- STEVENS, S.; STEVENS J. A. *Soyfoods Directory*. Indiana Soybean Development Council, Lebanon, 1995.
- SUN, H; YAN, S.; JIANG, W.; LI, G.; MACRITCHIE, F. *Contribution of lipid to physicochemical properties and Mantou-making quality of wheat flour*. Food Chemistry, v. 121 (2), p. 332-337, 2010.
- t-BOC-L – Laboratório de Química Bio-Orgânica Teórica, NPPN – Núcleo de Pesquisa de Produtos Naturais, UFRJ. Disponível em: <http://acd.ufrj.br/~tbocl/tbocl-flavonoides.php>. Acesso em maio de 2010.
- TOLEDO, T. C. F.; CANNIATTI-BRAZACA, S. G.; ARTHUR, V.; PIEDADE, S. M. S. *Efeito da radiação gama na absorção de água e no tempo de cocção em cultivares de soja*. Bragantia, v.66 (4), p. 565-570, 2007.
- TRINDADE E. A. *Proteínas de soja como fonte de nutracêuticos*. Revista Racine, v. 62 (3), p. 26-32, 2001.
- TYUG, T. S.; PRASAD, K. N.; ISMAIL, A. *Antioxidant capacity, phenolics and isoflavones in soybean by-products*. Food Chemistry, 2010. doi:10.1016/j.foodchem.2010.04.074
- VASCONCELOS, I. M.; CAMPELLO, C. C.; OLIVEIRA, J. T. A.; URANO, A. F.; SOUZA, D. O. B.; MAIA, F. M. M. *Brazilian soybean Glycine max (L.) Merr. cultivars adapted to low latitude regions: seed composition and content of bioactive proteins (Cultivares brasileiras de soja Glycine max (L.) Merr. adaptadas ao cultivo em baixas latitudes: composição da semente e conteúdo de proteínas bioativas)*. Revista Brasileira de Botânica, v. 29 (4), p. 617-625, 2006.
- VELIOGLU, Y. S.; MAZZA, G.; GAO, L.; OOMAH, B. D. *Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables and grain products*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 46, p. 4113-4117, 1998.

- VIEIRA, S. M. *Introdução a Bioestatística*. 4<sup>a</sup> ed., São Paulo, Campus, 203 p.1991.
  
- WARDHANI, D. H.; VÁSQUEZ, J. A.; PANDIELLA, S. S. *Optimisation of antioxidants extraction from soybeans fermented by Aspergillus oryzae*. Food Chemistry, v. 118, p. 731–739, 2010.
  
- WIKILINGUE. *3-phenylchromen-4-one.gif*. Imagem de domínio público. Disponível em <http://pt.wikilingue.com/es/Flavonoide>. Acesso em setembro de 2010.
  
- WUTTKE, W; JARRY, H; SEIDLOVÁ-WUTTKE, D. *Isoflavones—Safe food additives or dangerous drugs?* Ageing Research Reviews, v. 6, p. 150–188, 2007.
  
- YÁYHA, Z. A. H.; MILLWARD, D. J. *Dietary protein and the regulation of long-bone and muscle growth in the rat*. Clinical Science, v. 87 (2), p. 213-224, 1994.
  
- ZHUO, X. G., MELBY, M., & WATANABE, S. *Soy isoflavone intake lowers serum LDL cholesterol: A meta-analysis of 8 randomized controlled trials in humans*. Journal of Nutrition, v. 134(9), p. 2395–2400, 2004.

## 7. Anexo 01

Tabela 4: Avaliação da composição centesimal de amostras de grãos de soja com média de 3 repetições  $\pm$  DP, CV (coeficiente de variação).

GRÃO	Parâmetros Químicos					
Lotes	Umidade (%)	Lipídios (%)	Proteínas (%)	Cinzas (%)	Carboidratos (%)	VCT (Kcal)
1	*12,12 <sub>a</sub> $\pm$ 1,1 CV 1,01	**19,96 <sub>abc</sub> $\pm$ 0,64 CV 0,35	35,17 <sub>a</sub> $\pm$ 2,25 CV 0,71	*4,79 <sub>a</sub> $\pm$ 0,15 CV 0,35	27,96 <sub>abc</sub> $\pm$ 2,03 CV 0,81	432,14 <sub>a</sub> $\pm$ 5,41 CV 0,14
2	10,64 <sub>ab</sub> $\pm$ 0,71 CV 0,74	21,88 <sub>abcd</sub> $\pm$ 0,24 CV 0,12	40,94 <sub>a</sub> $\pm$ 2,04 CV 0,56	*4,86 <sub>a</sub> $\pm$ 0,08 CV 0,19	*21,68 <sub>ac</sub> $\pm$ 3,07 CV 1,58	447,41 <sub>ab</sub> $\pm$ 194 CV 0,05
3	9,57 <sub>ab</sub> $\pm$ 0,27 CV 0,31	21,41 <sub>abcd</sub> $\pm$ 0,16 CV 0,08	40,56 <sub>a</sub> $\pm$ 1,91 CV 0,52	***5,20 <sub>a</sub> $\pm$ 0,08 CV 0,16	23,25 <sub>abc</sub> $\pm$ 2,06 CV 0,98	447,99 <sub>ab</sub> $\pm$ 1,77 CV 0,04
4	9,50 <sub>ab</sub> $\pm$ 0,84 CV 0,98	21,85 <sub>abcd</sub> $\pm$ 0,61 CV 0,31	35,98 <sub>a</sub> $\pm$ 1,15 CV 0,36	4,38 <sub>ab</sub> $\pm$ 0,01 CV 0,01	28,30 <sub>abc</sub> $\pm$ 1,29 CV 0,51	**453,75 <sub>b</sub> $\pm$ 6,30 CV 0,15
5	10,15 <sub>ab</sub> $\pm$ 0,5 CV 0,55	22,23 <sub>abcd</sub> $\pm$ 0,44 CV 0,22	35,43 <sub>a</sub> $\pm$ 0,89 CV 0,28	***3,67 <sub>b</sub> $\pm$ 0,06 CV 0,19	28,52 <sub>abc</sub> $\pm$ 1,42 CV 0,55	**455,87 <sub>b</sub> $\pm$ 3,75 CV 0,09
6	10,53 <sub>ab</sub> $\pm$ 0,87 CV 0,92	21,23 <sub>abcd</sub> $\pm$ 0,45 CV 0,23	37,71 <sub>a</sub> $\pm$ 4,36 CV 1,28	*4,72 <sub>a</sub> $\pm$ 0,25 CV 0,58	25,81 <sub>abc</sub> $\pm$ 4,10 CV 1,76	445,17 <sub>ab</sub> $\pm$ 4,03 CV 0,10
7	10,98 <sub>ab</sub> $\pm$ 0,24 CV 0,25	21,64 <sub>abcd</sub> $\pm$ 0,56 CV 0,29	38,48 <sub>a</sub> $\pm$ 0,53 CV 0,15	4,54 <sub>ab</sub> $\pm$ 0,03 CV 0,06	24,36 <sub>abc</sub> $\pm$ 0,52 CV 0,24	446,12 <sub>ab</sub> $\pm$ 3,56 CV 0,09
8	9,59 <sub>ab</sub> $\pm$ 0,46 CV 0,54	21,27 <sub>abcd</sub> $\pm$ 0,02 CV 0,01	37,70 <sub>a</sub> $\pm$ 1,62 CV 0,48	4,33 <sub>ab</sub> $\pm$ 0,26 CV 0,67	27,11 <sub>abc</sub> $\pm$ 2,10 CV 0,86	*450,64 <sub>ab</sub> $\pm$ 2,82 CV 0,04
9	11,37 <sub>ab</sub> $\pm$ 1,21 CV 1,19	*22,41 <sub>abd</sub> $\pm$ 0,29 CV 0,15	37,52 <sub>a</sub> $\pm$ 0,21 CV 0,06	4,44 <sub>ab</sub> $\pm$ 0,1 CV 0,25	24,27 <sub>abc</sub> $\pm$ 0,78 CV 0,36	448,79 <sub>ab</sub> $\pm$ 5,50 CV 0,14
10	*8,72 <sub>b</sub> $\pm$ 0,49 CV 0,62	20,94 <sub>abcd</sub> $\pm$ 0,86 CV 0,46	39,72 <sub>a</sub> $\pm$ 1,01 CV 0,28	4,44 <sub>ab</sub> $\pm$ 0,04 CV 0,10	26,18 <sub>abc</sub> $\pm$ 0,53 CV 0,22	*452,08 <sub>b</sub> $\pm$ 6,08 CV 0,15
11	*8,75 <sub>b</sub> $\pm$ 0,46 CV 0,59	* **19,84 <sub>a</sub> $\pm$ 1,26 CV 0,71	38,84 <sub>a</sub> $\pm$ 0,48 CV 0,14	4,38 <sub>ab</sub> $\pm$ 0,06 CV 0,14	28,19 <sub>abc</sub> $\pm$ 0,72 CV 0,28	446,68 <sub>ab</sub> $\pm$ 7,71 CV 0,19
12	*8,59 <sub>b</sub> $\pm$ 0,44 CV 0,57	21,04 <sub>abcd</sub> $\pm$ 0,10 CV 0,05	39,89 <sub>a</sub> $\pm$ 0,55 CV 0,15	*4,70 <sub>a</sub> $\pm$ 0,06 CV 0,15	25,78 <sub>abc</sub> $\pm$ 0,91 CV 0,39	*452,03 <sub>b</sub> $\pm$ 2,33 CV 0,06
13	9,61 <sub>ab</sub> $\pm$ 0,12 CV 0,14	21,58 <sub>abcd</sub> $\pm$ 0,74 CV 0,38	36,88 <sub>a</sub> $\pm$ 0,63 CV 0,19	4,29 <sub>ab</sub> $\pm$ 0,64 CV 1,65	27,65 <sub>abc</sub> $\pm$ 0,46 CV 0,18	*452,31 <sub>b</sub> $\pm$ 6,18 CV 0,15
14	9,93 <sub>ab</sub> $\pm$ 0,10 CV 0,11	21,87 <sub>abcd</sub> $\pm$ 0,65 CV 0,33	35,48 <sub>a</sub> $\pm$ 0,43 CV 0,14	4,50 <sub>ab</sub> $\pm$ 0,10 CV 0,24	28,22 <sub>abc</sub> $\pm$ 1,2 CV 0,47	*451,61 <sub>b</sub> $\pm$ 2,93 CV 0,07
15	9,39 <sub>ab</sub> $\pm$ 0,10 CV 0,12	**23,23 <sub>bd</sub> $\pm$ 0,10 CV 0,05	34,94 <sub>a</sub> $\pm$ 0,23 CV 0,07	**4,78 <sub>a</sub> $\pm$ 0,02 CV 0,05	27,66 <sub>abc</sub> $\pm$ 0,13 CV 0,05	***459,49 <sub>b</sub> $\pm$ 0,62 CV 0,02
16	9,51 <sub>ab</sub> $\pm$ 0,67 CV 0,78	22,00 <sub>abcd</sub> $\pm$ 0,73 CV 0,37	34,51 <sub>a</sub> $\pm$ 0,57 CV 0,18	**5,05 <sub>a</sub> $\pm$ 0,09 CV 0,20	28,94 <sub>abc</sub> $\pm$ 1,60 CV 0,61	*451,76 <sub>b</sub> $\pm$ 1,60 CV 0,04
17	*8,42 <sub>b</sub> $\pm$ 0,48 CV 0,64	20,85 <sub>abcd</sub> $\pm$ 0,84 CV 0,45	32,44 <sub>a</sub> $\pm$ 0,45 CV 0,15	***5,23 <sub>a</sub> $\pm$ 0,06 CV 0,13	* **33,06 <sub>b</sub> $\pm$ 0,62 CV 0,21	*449,62 <sub>b</sub> $\pm$ 5,93 CV 0,15
18	9,16 <sub>ab</sub> $\pm$ 0,20 CV 0,25	21,47 <sub>abcd</sub> $\pm$ 0,02 CV 0,01	33,89 <sub>a</sub> $\pm$ 0,35 CV 0,12	**5,12 <sub>a</sub> $\pm$ 0,05 CV 0,10	*30,36 <sub>ab</sub> $\pm$ 0,21 CV 0,08	*450,23 <sub>b</sub> $\pm$ 0,82 CV 0,02
19	10,12 <sub>ab</sub> $\pm$ 0,04 CV 0,05	21,88 <sub>abcd</sub> $\pm$ 0,07 CV 0,03	33,25 <sub>a</sub> $\pm$ 1,48 CV 0,49	**5,15 <sub>a</sub> $\pm$ 0,05 CV 0,11	29,60 <sub>abc</sub> $\pm$ 1,47 CV 0,55	448,31 <sub>ab</sub> $\pm$ 0,61 CV 0,02
20	10,27 <sub>ab</sub> $\pm$ 0,03 CV 0,03	21,89 <sub>abcd</sub> $\pm$ 0,19 CV 0,10	44,10 <sub>a</sub> $\pm$ 2,25 CV 0,85	**4,92 <sub>a</sub> $\pm$ 0,59 CV 1,34	* **18,81 <sub>c</sub> $\pm$ 2,31 CV 1,36	448,67 <sub>ab</sub> $\pm$ 2,05 CV 0,05

Letras minúsculas distintas nas colunas indicam que os valores diferem estatisticamente ( $P \leq 0,05$ ) pelo teste ANOVA two-way, sendo \*  $P < 0,05$ , \*\*  $P < 0,01$  e \*\*\*  $P < 0,001$ .

## 8. Anexo 02

Tabela 5: Média da composição centesimal de amostras de farinha de soja, média de 3 repetições  $\pm$  DP, CV (coeficiente de variação).

Lotes	Parâmetros Químicos					
	Umidade (%)	Lipídios (%)	Proteínas (%)	Cinzas (%)	Carboidratos (%)	VCT (Kcal)
1	3,93 <sup>a</sup> $\pm$ 0,69 CV 1,94	21,72 <sup>abcd</sup> $\pm$ 0,19 CV 0,09	***40,87 <sup>a</sup> $\pm$ 0,23 CV 4,73	5,12 <sup>abc</sup> $\pm$ 0,36 CV 0,78	28,36 <sup>ab</sup> $\pm$ 0,73 CV 0,29	472,37 <sup>abcd</sup> $\pm$ 2,75 CV 0,06
2	4,88 <sup>a</sup> $\pm$ 0,49 CV 1,12	21,91 <sup>abcd</sup> $\pm$ 0,82 CV 0,42	***40,91 <sup>a</sup> $\pm$ 3,67 CV 1,00	4,80 <sup>abc</sup> $\pm$ 0,03 CV 0,07	27,50 <sup>ab</sup> $\pm$ 3,10 CV 1,25	470,83 <sup>abcd</sup> $\pm$ 2,44 CV 0,06
3	3,70 <sup>a</sup> $\pm$ 1,13 CV 3,41	*23,46 <sup>ab</sup> $\pm$ 0,98 CV 0,47	***38,18 <sup>a</sup> $\pm$ 4,12 CV 1,80	5,01 <sup>abc</sup> $\pm$ 0,41 CV 0,92	29,66 <sup>ab</sup> $\pm$ 3,14 CV 1,18	*482,48 <sup>abd</sup> $\pm$ 1,21 CV 0,03
4	3,28 <sup>a</sup> $\pm$ 0,11 CV 0,39	21,83 <sup>abcd</sup> $\pm$ 0,24 CV 0,12	***33,01 <sup>a</sup> $\pm$ 0,39 CV 0,13	4,51 <sup>abc</sup> $\pm$ 0,14 CV 0,34	*37,36 <sup>a</sup> $\pm$ 0,45 CV 0,13	477,99 <sup>abcd</sup> $\pm$ 1,38 CV 0,03
5	3,07 <sup>a</sup> $\pm$ 0,29 CV 1,07	22,29 <sup>abcd</sup> $\pm$ 0,45 CV 0,23	***39,32 <sup>a</sup> $\pm$ 1,82 CV 0,77	4,83 <sup>abc</sup> $\pm$ 0,05 CV 0,11	30,49 <sup>ab</sup> $\pm$ 1,45 CV 0,53	479,86 <sup>abcd</sup> $\pm$ 3,30 CV 0,08
6	3,00 <sup>a</sup> $\pm$ 0,16 CV 0,59	*23,40 <sup>abd</sup> $\pm$ 1,61 CV 0,44	***40,56 <sup>a</sup> $\pm$ 1,61 CV 0,44	4,73 <sup>abc</sup> $\pm$ 0,07 CV 0,16	28,32 <sup>ab</sup> $\pm$ 1,73 CV 0,68	***486,08 <sup>abd</sup> $\pm$ 0,45 CV 0,01
7	5,19 <sup>a</sup> $\pm$ 0,27 CV 0,58	*20,62 <sup>cd</sup> $\pm$ 1,19 CV 0,64	***38,84 <sup>a</sup> $\pm$ 1,16 CV 0,33	4,55 <sup>abc</sup> $\pm$ 0,32 CV 0,81	30,80 <sup>ab</sup> $\pm$ 0,56 CV 0,20	**464,11 <sup>ac</sup> $\pm$ 4,20 CV 0,10
8	4,69 <sup>a</sup> $\pm$ 0,76 CV 1,81	22,86 <sup>abcd</sup> $\pm$ 2,26 CV 1,10	***39,59 <sup>a</sup> $\pm$ 0,56 CV 0,16	4,67 <sup>abc</sup> $\pm$ 0,10 CV 0,25	28,19 <sup>ab</sup> $\pm$ 2,99 CV 1,18	476,84 <sup>abcd</sup> $\pm$ 11,53 CV 0,27
9	4,67 <sup>a</sup> $\pm$ 0,41 CV 0,98	*20,97 <sup>bcd</sup> $\pm$ 0,62 CV 0,33	***38,17 <sup>a</sup> $\pm$ 0,29 CV 0,09	*4,47 <sup>ab</sup> $\pm$ 0,35 CV 0,88	31,72 <sup>ab</sup> $\pm$ 1,32 CV 0,46	*468,28 <sup>ac</sup> $\pm$ 2,76 CV 0,07
10	3,24 <sup>a</sup> $\pm$ 0,49 CV 1,69	21,56 <sup>abcd</sup> $\pm$ 0,43 CV 0,22	***42,28 <sup>a</sup> $\pm$ 0,43 CV 0,11	4,72 <sup>abc</sup> $\pm$ 0,18 CV 0,41	28,21 <sup>ab</sup> $\pm$ 0,38 CV 0,15	475,97 <sup>abcd</sup> $\pm$ 3,84 CV 0,09
11	3,00 <sup>a</sup> $\pm$ 0,56 CV 2,08	23,04 <sup>abcd</sup> $\pm$ 0,22 CV 0,11	***43,22 <sup>a</sup> $\pm$ 2,99 CV 0,77	4,55 <sup>abc</sup> $\pm$ 0,22 CV 0,55	*26,19 <sup>b</sup> $\pm$ 2,75 CV 1,17	485,02 <sup>abd</sup> $\pm$ 3,39 CV 0,08
12	4,51 <sup>a</sup> $\pm$ 0,40 CV 0,98	21,19 <sup>abcd</sup> $\pm$ 0,05 CV 0,03	***42,77 <sup>a</sup> $\pm$ 0,54 CV 0,14	*4,26 <sup>ab</sup> $\pm$ 0,17 CV 0,45	27,27 <sup>ab</sup> $\pm$ 0,92 CV 0,37	470,85 <sup>abcd</sup> $\pm$ 2,09 CV 0,05
13	2,59 <sup>a</sup> $\pm$ 0,22 CV 0,95	22,97 <sup>abcd</sup> $\pm$ 0,17 CV 0,08	***34,52 <sup>a</sup> $\pm$ 0,10 CV 0,03	5,19 <sup>abc</sup> $\pm$ 0,07 CV 0,15	34,73 <sup>ab</sup> $\pm$ 0,14 CV 0,04	483,76 <sup>abd</sup> $\pm$ 1,44 CV 0,03
14	2,97 <sup>a</sup> $\pm$ 0,16 CV 0,61	*23,12 <sup>abd</sup> $\pm$ 0,2 CV 0,09	***34,45 <sup>a</sup> $\pm$ 0,39 CV 0,12	5,17 <sup>abc</sup> $\pm$ 0,05 CV 0,10	34,29 <sup>ab</sup> $\pm$ 0,58 CV 0,19	483,06 <sup>abd</sup> $\pm$ 1,52 CV 0,03
15	2,73 <sup>a</sup> $\pm$ 0,04 CV 0,16	*23,36 <sup>abd</sup> $\pm$ 0,50 CV 0,24	***38,44 <sup>a</sup> $\pm$ 0,15 CV 0,04	5,09 <sup>abc</sup> $\pm$ 0,07 CV 0,14	30,38 <sup>ab</sup> $\pm$ 0,64 CV 0,23	***485,52 <sup>abd</sup> $\pm$ 2,56 CV 0,06
16	3,65 <sup>a</sup> $\pm$ 0,04 CV 0,13	22,92 <sup>abcd</sup> $\pm$ 0,01 CV 0,00	***39,06 <sup>a</sup> $\pm$ 3,39 CV 0,96	*5,46 <sup>c</sup> $\pm$ 0,06 CV 0,13	28,94 <sup>ab</sup> $\pm$ 1,60 CV 0,61	478,16 <sup>abcd</sup> $\pm$ 0,40 CV 0,01
17	3,86 <sup>a</sup> $\pm$ 0,11 CV 0,33	22,38 <sup>abcd</sup> $\pm$ 0,51 CV 0,26	***35,78 <sup>a</sup> $\pm$ 0,11 CV 0,33	5,18 <sup>abc</sup> $\pm$ 0,09 CV 0,18	32,81 <sup>ab</sup> $\pm$ 3,12 CV 1,06	475,77 <sup>abcd</sup> $\pm$ 3,22 CV 0,08
18	3,58 <sup>a</sup> $\pm$ 0,08 CV 0,25	22,13 <sup>abcd</sup> $\pm$ 0,02 CV 0,01	***42,17 <sup>a</sup> $\pm$ 0,50 CV 0,20	*5,28 <sup>ac</sup> $\pm$ 0,03 CV 0,07	26,83 <sup>ab</sup> $\pm$ 0,46 CV 0,19	475,21 <sup>abcd</sup> $\pm$ 1,11 CV 0,03
19	5,03 <sup>a</sup> $\pm$ 0,11 CV 0,25	22,69 <sup>abcd</sup> $\pm$ 0,44 CV 0,32	***35,80 <sup>a</sup> $\pm$ 0,64 CV 0,20	*5,24 <sup>ac</sup> $\pm$ 0,05 CV 0,11	31,23 <sup>ab</sup> $\pm$ 0,46 CV 0,16	472,35 <sup>abcd</sup> $\pm$ 1,69 CV 0,04
20	5,00 <sup>a</sup> $\pm$ 0,05 CV 0,12	*23,36 <sup>abd</sup> $\pm$ 0,06 CV 0,03	***56,85 <sup>b</sup> $\pm$ 1,71 CV 0,50	5,20 <sup>abc</sup> $\pm$ 0,13 CV 0,28	***9,59 <sup>abc</sup> $\pm$ 1,35 CV 1,57	472,75 <sup>abcd</sup> $\pm$ 5,86 CV 0,14

Letras minúsculas distintas nas colunas indicam que os valores diferem estatisticamente ( $P \leq 0,05$ ) pelo teste ANOVA two-way, sendo \*  $P < 0,05$ , \*\*  $P < 0,01$  e \*\*\*  $P < 0,001$ .

## 9. Anexo 03

Tabela 6: Média da composição centesimal de amostras de “leite” de soja, média de 3 repetições  $\pm$  DP, CV (coeficiente de variação).

Lotes	Parâmetros Químicos					
	Umidade (%)	Lipídios (%)	Proteínas (%)	Cinzas (%)	Carboidratos (%)	VCT (Kcal)
1	96,75 <sup>ab</sup> $\pm$ 0,04	1,08 <sup>a</sup> $\pm$ 0,01	1,79 <sup>a</sup> $\pm$ 0,05	0,16 <sup>a</sup> $\pm$ 0,02	0,22 <sup>a</sup> $\pm$ 0,07	17,73 <sup>a</sup> $\pm$ 0,16
	CV 0,00	CV 0,06	CV 0,32	CV 1,39	CV 3,61	CV 0,10
2	*95,48 <sup>a</sup> $\pm$ 0,11	1,24 <sup>a</sup> $\pm$ 0,04	1,93 <sup>a</sup> $\pm$ 0,17	0,26 <sup>a</sup> $\pm$ 0,01	1,10 <sup>a</sup> $\pm$ 0,32	23,22 <sup>a</sup> $\pm$ 0,30
	CV 0,01	CV 0,36	CV 0,99	CV 0,50	CV 3,25	CV 0,14
3	96,19 <sup>ab</sup> $\pm$ 0,02	1,05 <sup>a</sup> $\pm$ 0,02	1,59 <sup>a</sup> $\pm$ 0,05	0,21 <sup>a</sup> $\pm$ 0,05	0,96 <sup>a</sup> $\pm$ 0,06	19,65 <sup>a</sup> $\pm$ 0,30
	CV 0,00	CV 0,24	CV 0,32	CV 2,42	CV 0,65	CV 0,17
4	96,30 <sup>ab</sup> $\pm$ 0,02	2,03 <sup>a</sup> $\pm$ 0,26	1,72 <sup>a</sup> $\pm$ 0,17	0,52 <sup>a</sup> $\pm$ 0,10	0,00 <sup>a</sup> $\pm$ 0,25	25,11 <sup>a</sup> $\pm$ 2,32
	CV 0,00	CV 2,16	CV 1,12	CV 2,24	CV 4,92	CV 1,13
5	*95,34 <sup>a</sup> $\pm$ 0,08	1,81 <sup>a</sup> $\pm$ 0,19	2,05 <sup>a</sup> $\pm$ 0,16	0,54 <sup>a</sup> $\pm$ 0,11	0,26 <sup>a</sup> $\pm$ 0,28	25,57 <sup>a</sup> $\pm$ 1,41
	CV 0,01	CV 1,19	CV 0,84	CV 2,26	CV 10,36	CV 0,61
6	*95,40 <sup>a</sup> $\pm$ 0,37	1,12 <sup>a</sup> $\pm$ 0,06	3,95 <sup>a</sup> $\pm$ 0,00	0,10 <sup>a</sup> $\pm$ 0,01	0,00 <sup>a</sup> $\pm$ 0,32	25,88 <sup>a</sup> $\pm$ 0,54
	CV 0,04	CV 0,60	CV 0,00	CV 0,80	CV 6,27	CV 0,23
7	*95,20 <sup>a</sup> $\pm$ 0,02	1,20 <sup>a</sup> $\pm$ 0,03	1,60 <sup>a</sup> $\pm$ 0,24	0,24 <sup>a</sup> $\pm$ 0,03	1,76 <sup>a</sup> $\pm$ 0,28	24,26 <sup>a</sup> $\pm$ 0,13
	CV 0,00	CV 0,30	CV 1,67	CV 0,06	CV 1,80	CV 0,06
8	96,88 <sup>ab</sup> $\pm$ 0,09	1,08 <sup>a</sup> $\pm$ 0,24	2,19 <sup>a</sup> $\pm$ 0,88	0,13 <sup>a</sup> $\pm$ 0,24	0,00 <sup>a</sup> $\pm$ 0,87	19,41 <sup>a</sup> $\pm$ 1,97
	CV 0,01	CV 2,45	CV 4,47	CV 2,45	CV 12,81	CV 1,13
9	98,88 <sup>ab</sup> $\pm$ 0,04	0,95 <sup>a</sup> $\pm$ 0,05	1,79 <sup>a</sup> $\pm$ 0,02	0,12 <sup>a</sup> $\pm$ 0,05	0,00 <sup>a</sup> $\pm$ 0,10	15,68 <sup>a</sup> $\pm$ 0,37
	CV 0,00	CV 0,59	CV 0,14	CV 4,29	CV 0,65	CV 0,26
10	96,60 <sup>ab</sup> $\pm$ 0,43	0,76 <sup>a</sup> $\pm$ 0,04	1,77 <sup>a</sup> $\pm$ 0,02	0,12 <sup>a</sup> $\pm$ 0,01	0,75 <sup>a</sup> $\pm$ 0,45	16,95 <sup>a</sup> $\pm$ 1,56
	CV 0,05	CV 0,58	CV 0,14	CV 1,10	CV 6,59	CV 1,02
11	96,64 <sup>ab</sup> $\pm$ 0,22	0,93 <sup>a</sup> $\pm$ 0,01	1,87 <sup>a</sup> $\pm$ 0,16	0,14 <sup>a</sup> $\pm$ 0,02	0,43 <sup>a</sup> $\pm$ 0,22	17,54 <sup>a</sup> $\pm$ 0,90
	CV 0,03	CV 0,14	CV 0,92	CV 2,05	CV 5,51	CV 0,57
12	97,39 <sup>ab</sup> $\pm$ 0,63	1,19 <sup>a</sup> $\pm$ 0,12	1,80 <sup>a</sup> $\pm$ 0,00	0,12 <sup>a</sup> $\pm$ 0,02	0,00 <sup>a</sup> $\pm$ 0,52	18,04 <sup>a</sup> $\pm$ 1,29
	CV 0,07	CV 1,12	CV 0,00	CV 1,88	CV 10,32	CV 0,79
13	97,69 <sup>ab</sup> $\pm$ 0,03	1,34 <sup>a</sup> $\pm$ 0,06	1,44 <sup>a</sup> $\pm$ 0,12	0,12 <sup>a</sup> $\pm$ 0,01	0,00 <sup>a</sup> $\pm$ 0,08	15,94 <sup>a</sup> $\pm$ 0,35
	CV 0,00	CV 0,51	CV 0,96	CV 0,00	CV 1,55	CV 0,24
14	96,18 <sup>ab</sup> $\pm$ 0,08	0,69 <sup>a</sup> $\pm$ 0,02	1,70 <sup>a</sup> $\pm$ 0,01	0,13 <sup>a</sup> $\pm$ 0,01	1,31 <sup>a</sup> $\pm$ 0,05	18,22 <sup>a</sup> $\pm$ 0,39
	CV 0,01	CV 0,34	CV 0,07	CV 1,34	CV 0,39	CV 0,24
15	96,81 <sup>ab</sup> $\pm$ 0,04	0,74 <sup>a</sup> $\pm$ 0,02	1,52 <sup>a</sup> $\pm$ 0,03	0,09 <sup>a</sup> $\pm$ 0,01	0,83 <sup>a</sup> $\pm$ 0,11	16,12 <sup>a</sup> $\pm$ 0,25
	CV 0,00	CV 0,34	CV 0,21	CV 1,23	CV 1,47	CV 0,17
16	97,32 <sup>ab</sup> $\pm$ 0,02	0,89 <sup>a</sup> $\pm$ 0,01	1,13 <sup>a</sup> $\pm$ 0,02	0,31 <sup>a</sup> $\pm$ 0,01	0,35 <sup>a</sup> $\pm$ 0,00	13,93 <sup>a</sup> $\pm$ 0,10
	CV 0,00	CV 0,14	CV 0,23	CV 0,32	CV 0,11	CV 0,09
17	97,00 <sup>ab</sup> $\pm$ 0,01	1,09 <sup>a</sup> $\pm$ 0,01	1,61 <sup>a</sup> $\pm$ 0,03	0,24 <sup>a</sup> $\pm$ 0,02	0,06 <sup>a</sup> $\pm$ 0,05	16,52 <sup>a</sup> $\pm$ 0,13
	CV 0,00	CV 0,10	CV 0,20	CV 1,08	CV 7,91	CV 0,09
18	96,61 <sup>ab</sup> $\pm$ 0,05	1,03 <sup>a</sup> $\pm$ 0,07	1,82 <sup>a</sup> $\pm$ 0,03	0,16 <sup>a</sup> $\pm$ 0,04	0,39 <sup>a</sup> $\pm$ 0,04	18,08 <sup>a</sup> $\pm$ 0,53
	CV 0,01	CV 0,74	CV 0,18	CV 2,49	CV 1,21	CV 0,33
19	96,12 <sup>ab</sup> $\pm$ 0,13	0,74 <sup>a</sup> $\pm$ 0,02	3,08 <sup>a</sup> $\pm$ 0,00	0,25 <sup>a</sup> $\pm$ 0,05	0,00 <sup>a</sup> $\pm$ 0,19	18,23 <sup>a</sup> $\pm$ 0,60
	CV 0,02	CV 0,30	CV 0,00	CV 2,04	CV 11,57	CV 0,37
20	96,37 <sup>ab</sup> $\pm$ 0,08	1,01 <sup>a</sup> $\pm$ 0,02	2,79 <sup>a</sup> $\pm$ 0,25	0,31 <sup>a</sup> $\pm$ 0,10	0,00 <sup>a</sup> $\pm$ 0,33	18,37 <sup>a</sup> $\pm$ 0,60
	CV 0,01	CV 0,22	CV 1,01	CV 3,70	CV 7,74	CV 0,36

Letras minúsculas distintas nas colunas indicam que os valores diferem estatisticamente ( $P \leq 0,05$ ) pelo teste ANOVA two-way, sendo \*  $P < 0,05$ , \*\*  $P < 0,01$  e \*\*\*  $P < 0,001$ .

## 10. Anexo 04

Tabela 7: Média do teor de proteínas de amostras de farinha de soja, calculada em base seca e desengordurada, média de 3 repetições  $\pm$  DP, CV (coeficiente de variação).

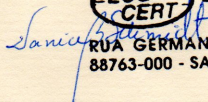
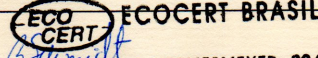
Lotes	Proteínas bsd (%)	Lotes	Proteínas bsd (%)
<b>1</b>	**54,34 <sub>a</sub> $\pm$ 0,28 CV 0,52	<b>11</b>	***57,89 $\pm$ 4,01 CV 6,92
<b>2</b>	**55,06 <sub>a</sub> $\pm$ 4,54 CV 8,24	<b>12</b>	***56,83 $\pm$ 0,82 CV 1,44
<b>3</b>	***51,81 <sub>a</sub> $\pm$ 4,05 CV 7,83	<b>13</b>	***46,00 $\pm$ 0,15 CV 0,32
<b>4</b>	***43,67 <sub>a</sub> $\pm$ 0,68 CV 1,11	<b>14</b>	***46,19 $\pm$ 0,60 CV 1,30
<b>5</b>	***52,21 <sub>a</sub> $\pm$ 1,79 CV 3,44	<b>15</b>	***51,57 $\pm$ 0,55 CV 1,06
<b>6</b>	**54,58 <sub>a</sub> $\pm$ 2,26 CV 4,15	<b>16</b>	***52,60 <sub>a</sub> $\pm$ 4,59 CV 8,72
<b>7</b>	***51,59 <sub>a</sub> $\pm$ 0,635 CV 1,22	<b>17</b>	***50,32 <sub>a</sub> $\pm$ 4,12 CV 8,18
<b>8</b>	**53,90 <sub>a</sub> $\pm$ 2,41 CV 4,47	<b>18</b>	***56,12 <sub>a</sub> $\pm$ 0,72 CV 1,28
<b>9</b>	***50,65 <sub>a</sub> $\pm$ 0,75 CV 1,48	<b>19</b>	***48,60 <sub>a</sub> $\pm$ 1,06 CV 2,18
<b>10</b>	**55,70 <sub>a</sub> $\pm$ 0,42 CV 0,76	<b>20</b>	***78,74 <sub>b</sub> $\pm$ 2,42 CV 3,10

Letras minúsculas distintas nas colunas indicam que os valores diferem estatisticamente ( $P \leq 0,05$ ) pelo teste ANOVA two-way, sendo \*  $P < 0,05$ , \*\*  $P < 0,01$  e \*\*\*  $P < 0,001$ .



## 11. Anexo 05

  
**CERTIFICADO DE TRANSAÇÃO DE PRODUTOS  
 DA AGRICULTURA ORGÂNICA**

<p>1. Organismo de emissão do certificado (nome e endereço)</p> <p>ECOCERT BRASIL          Rua Germano Hermesmeier, 224          Santa Rosa de Lima - SC          88763-000</p>	<p>2. Regulamentos:</p> <p>CEE 2092/91          USDA National Organic Program Final Rule 7 CFR Part 205          IN 007/99 - MAPA e Lei 10.831/03          917BR0800W05</p>																									
<p>3. Vendedor do produto (nome e endereço)</p> <p>Cooperativa Agro-Pecuaría Alto Urquai Ltda.          Avenida: Santa Rosa, 885          Bairro: Centro          Três de Maio / RS          98910-000 Brasil</p>	<p>4. Certificadora * (nome e endereço)</p> <p>ECOCERT S/A, BP 47, F-32600 L'Isle Jourdain          c/o ECOCERT BRASIL          Rua Germano Hermesmeier, 224          Santa Rosa de Lima - SC          88763-000</p>																									
<p>5. Produtor ou processador do produto.* (nome e endereço)</p> <p>Cooperativa Agro-Pecuaría Alto Urquai Ltda.          Avenida: Santa Rosa, 885          Bairro: Centro          Três de Maio / RS          98910-000 Brasil</p>	<p>6. Local de expedição</p> <p>Brasil</p>																									
<p>7. Consignatário do produto (nome e endereço)</p> <p>ECOBRAZ CENTRO ECOBIOTICO DO BRASIL          Estrada do Carapá, 208          Bairro Garatiba          Rio de Janeiro - RJ          23030-140 Brasil</p>	<p>8. Local de destino</p> <p>RIO DE JANEIRO - RJ - BRASIL</p> <p>9. Endereço do local de destino*</p>																									
<p>10. Números das notas fiscais ou faturas, transportador. Marca ou nome comercial</p> <table border="1" data-bbox="319 1176 981 1310"> <thead> <tr> <th>DESCRIÇÃO DO PRODUTO</th> <th>NÚMERO DA NOTA FISCAL</th> <th>PESO BRUTO (Kg)</th> <th>PESO LÍQUIDO (Kg)</th> <th>Nº do(s) Lote(S)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Soja Organico Consumo Humano</td> <td>34.963</td> <td>2000</td> <td>2000</td> <td>*</td> </tr> <tr> <td>Soja Organico Consumo Humano</td> <td>35.142</td> <td>2000</td> <td>2000</td> <td>*</td> </tr> <tr> <td>Soja Organico Consumo Humano</td> <td>35.342</td> <td>2000</td> <td>2000</td> <td>*</td> </tr> <tr> <td>Soja Organico Consumo Humano</td> <td>35.484</td> <td>2500</td> <td>2500</td> <td>*</td> </tr> </tbody> </table> <p>NOME DA TRANSPORTADORA: <b>Mercúrio</b>          PLACA DO VEÍCULO: *          Ref. CERT de CONFORMIDADE: 917BR0700Z1p(BR); 917BR0700Z1e(CEE); 917BR0700Z1e(US)</p>	DESCRIÇÃO DO PRODUTO	NÚMERO DA NOTA FISCAL	PESO BRUTO (Kg)	PESO LÍQUIDO (Kg)	Nº do(s) Lote(S)	Soja Organico Consumo Humano	34.963	2000	2000	*	Soja Organico Consumo Humano	35.142	2000	2000	*	Soja Organico Consumo Humano	35.342	2000	2000	*	Soja Organico Consumo Humano	35.484	2500	2500	*	<p>11. Peso bruto (kg)</p> <p style="text-align: right;">8500,0</p> <p>12. Peso líquido (kg)</p> <p style="text-align: right;">8500,0</p> <p>13. Unidades alternativas</p>
DESCRIÇÃO DO PRODUTO	NÚMERO DA NOTA FISCAL	PESO BRUTO (Kg)	PESO LÍQUIDO (Kg)	Nº do(s) Lote(S)																						
Soja Organico Consumo Humano	34.963	2000	2000	*																						
Soja Organico Consumo Humano	35.142	2000	2000	*																						
Soja Organico Consumo Humano	35.342	2000	2000	*																						
Soja Organico Consumo Humano	35.484	2500	2500	*																						
<p>14. Declaração do organismo emissor do certificado.          Declaramos que os produtos designados acima foram obtidos de acordo com as normas de inspeção e produção orgânica atualizadas e mencionadas pela certificadora no campo 4</p>																										
<p>15. Declaração adicional (se necessário e conveniente)</p> <p>Os lotes mencionados não foram inspecionados fisicamente pela Ecocert no embarque, mas foram obtidos por métodos de produção orgânica inspecionados pela ECOCERT S/A conforme os Regulamentos:          CEE 2092/91 modificado          USDA National Organic Program Final Rule 7 CFR part 205          ECOCERT BRASIL conforme IN 007/99 - MAPA e Lei 10.831/03          O presente certificado não se destina à certificar a exportação para países da União Europeia mas para certificar as transações entre ou em países fora da mesma.</p>																										
<p>16. Local de emissão do certificado: Santa Rosa de Lima - SC</p> <p style="text-align: center;">Data: 06/03/2008</p> <p>Nome e assinatura da pessoa autorizada: Vanice B. Schmidt</p> <div style="text-align: right;">     <b>ECOCERT BRASIL</b>          RUA GERMANO HERMESMEYER, 224          88763-000 - SANTA ROSA DE LIMA - SC       </div>																										
<p>* Notas explicativas          Box 4: Certificadora para monitorar a concordância com as regras de produção orgânica.          Box 5: A firma/produtor que realizou a última operação (processamento, embalagem, rotulagem) no lote.          Box 9: O endereço da firma onde o será entregue, se diferente do endereço do box 7.          Box 12: p.e. volume em litros (líquidos) ou caixas, quando for adequado, como complemento da declaração nos boxes 11 e 12.</p>																										



## 12. Anexo 6

IMO do Brasil  
 Rua Beatriz 173  
 05545-040 São Paulo-SP  
 Tel +55 11 3816 1868  
 Fax +55 11 3816 3148  
 imo@imocontrol.com.br  
 www.imocontrol.com.br



## CERTIFICADO DE TRANSAÇÃO NACIONAL

Nº: **105/09**

Produto(s): **Soja**

Qualidade: **Orgânico**

Fatura nº: **N.F 9067 de 22/07/2009**

Unidades: **67 sacos de 30 kg**

Peso líquido: **2.000,00 kg**

Ano da colheita: **2008 / 2009**

Número do lote: **LI-4 N**

Origem / Produtor: **Cataratas do Iguaçu Produtos Orgânicos Ltda**  
 CEP: 85.760-000 - Capanema (PR) - Brasil

Vendedor: **Cataratas do Iguaçu Produtos Orgânicos Ltda**  
 CEP: 85.760-000 - Capanema (PR) - Brasil

Comprador: **Ecobras – Centro Ecobiótico do Brasil Ltda.**  
 CEP: 23.030-145 – Rio de Janeiro (RJ) - Brasil

### Declaração:

Este certificado confirma que os produtos acima listados foram produzidos/adquiridos em conformidade com as regras de produção e inspeção de produtos orgânicos descritas:

- Na Lei Nº 10.831 (23.12.2003) e Instruções normativas do Ministério de Agricultura da República Federativa do Brasil;
- No Regulamento EU (EC) Nº 2092/91 da Comunidade Européia e monitoradas pela IMO;
- No National Organic Program (NOP) e se apresentam conforme com o Organic Food Production Act de 1990, emenda 7 U.S.C. 6501 et seq. (OFPA) e abaixo dos Padrões de Produção Orgânica 7 CFR Parte 205.1, et seq. (NOS).
- Na Legislação japonesa JAS (Lei relativa à padronização e rotulagem correta de produtos agrícolas e florestais, Lei Nº 175) e respectivas notificações para produção orgânica;
- Diretrizes e requisitos de esquemas com rótulos privados:

São Paulo, 27/07/2009

Local, Data

*Carla Durão*  
 Carla Durão  
 CRMV SP/10172



## 13. Anexo 07

IMO do Brasil  
 Rua Beatriz 173  
 05545-040 São Paulo - SP  
 Tel +55 11 3816 1868  
 Fax +55 11 3816 3148  
 imo@imocontrol.com.br  
 www.imocontrol.com.br



## CERTIFICADO DE TRANSAÇÃO NACIONAL

Nº: 160/09

Produto(s): Soja

Qualidade: Orgânico

Fatura nº: N.F 9140 de 12/08/2009  
 N.F 9141 de 12/08/2009  
 N.F 9369 de 28/09/2009  
 N.F 9389 de 30/09/2009

Unidades: 267 sacas 30 kg

Peso líquido: 8.000,00 kg

Ano da colheita: 2008 / 2009

Número do lote: LI3-N

Origem / Produtor: Cataratas do Iguaçu Produtos Orgânicos Ltda.

CEP: 85.760-000 - Capanema (PR) - Brasil

Vendedor: Cataratas do Iguaçu Produtos Orgânicos Ltda.

CEP: 85.760-000 - Capanema (PR) - Brasil

Comprador: ECOBRAS – Centro Ecobiótico do Brasil Ltda.

CEP: 23.030-145 – Rio de Janeiro (RJ) - Brasil

### Declaração:

Este certificado confirma que os produtos acima listados foram produzidos/adquiridos em conformidade com as regras de produção e inspeção de produtos orgânicos descritas abaixo:

- Na Lei Nº 10.831 (23.12.2003) e Instruções normativas do Ministério de Agricultura da República Federativa do Brasil;
- No Regulamento EU (EC) Nº 2092/91 da Comunidade Européia e monitoradas pela IMO;
- No National Organic Program (NOP) e se apresentam conforme com o Organic Food Production Act de 1990, emenda 7 U.S.C. 6501 et seq. (OFPA) e abaixo dos Padrões de Produção Orgânica 7 CFR Parte 205.1, et seq. (NOS);
- Na Legislação japonesa JAS (Lei relativa à padronização e rotulagem correta de produtos agrícolas e florestais, Lei Nº 175) e respectivas notificações para produção orgânica;

São Paulo, 23/10/2009  
 Local, Data

*Carla Durão*  
 Carla Durão  
 CRMV SP 10172

