

MÉTODO MULTIVARIADO NA OTIMIZAÇÃO DO PROCESSO DE EXTRAÇÃO PROTÉICA DO FARELO DE SOJA COM SORO DE LEITE BOVINO

MULTIVARIATE STATISTICAL METHOD IN OPTIMIZATION OF PROTEIN EXTRACTION FROM SOYBEAN FLOUR WITH DAIRY WHEY

Claudio Lima de AGUIAR¹; Samira Campos Teixeira dos SANTOS²;
Juliana Moraes FREIXO²; Marcos Hiromu OKUDA³

1. Professor, Doutor, Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Setor de Açúcar e Alcool, Piracicaba, SP, Brasil. claguilar@esalq.usp.br; 2. Engenheiro de Alimentos, Universidade Norte do Paraná, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Londrina, PR., Brasil; 3. Acadêmico, Universidade Norte do Paraná, Faculdade de Nutrição.

RESUMO: Este trabalho teve por objetivo avaliar a extração protéica do farelo de soja em soro de leite bovino, pela aplicação de modelo estatístico multivariado compreendido por fatorial completo 2³ experimentos. A influência de três variáveis de controle foram consideradas: temperatura, pH e porcentagem de cloreto de sódio contra uma variável resposta específica do processo (porcentagem de extração protéica). Observou-se que, durante a extração protéica em função do tempo e temperatura, o tratamento a 80°C por 2h apresentou maior teor de proteínas totais (5,99%). O aumento na extração protéica foi maior em função do maior tempo de exposição ao aquecimento. Logo, o ponto de máximo da função que expressa a extração protéica foi analisada por planejamento fatorial 2³. Pelos resultados obtidos, foi notado que todas as variáveis foram determinantes na extração. Após análise estatística por superfície de respostas, verificou-se que os parâmetros adotados para pH, temperatura e porcentagem de cloreto de sódio, não foram suficientes para a otimização do processo extrativo, visto que não foi possível obter o ponto de inflexão da função, mas que, por outro lado, o modelo matemático foi significativo, como também preditivo.

PALAVRAS-CHAVE: Soro de Leite. Soja. Proteína. Extração. Superfície de Resposta.

INTRODUÇÃO

O Brasil possuía, em 2007, cerca de dois mil laticínios, com um faturamento de aproximadamente 15 bilhões de reais, os quais representam 8% do faturamento total do setor alimentício brasileiro (IMA, 2007), com uma produção leiteira de aproximadamente 23 milhões de toneladas (EMBRAPA, 2006).

Nas últimas décadas, numerosas pesquisas vêm demonstrando as qualidades nutricionais das proteínas do soro do leite. Evidências recentes sustentam a teoria de que as proteínas do soro, além de seu alto valor biológico contêm peptídeos ativos, que atuam como agentes antimicrobianos, anti-hipertensivos, reguladores da função imune e fatores de crescimento (HARAGUCHI et al., 2006). O soro de leite é um líquido amarelado obtido a partir da produção de queijos e representa cerca de 90% do peso do leite utilizado na elaboração de queijos, com 6,0 a 6,4% de extrato seco. Logo o soro de leite é uma fonte alimentar importante, que por muito tempo foi considerado como subproduto sem qualquer utilidade (AMIOT, 1991). Os componentes de maior importância são as proteínas (BAGALDO et al., 2001) e pelo fato da proteína ser o componente mais caro das formulações de

sucedâneos do leite, a soja tem sido vista, há muito tempo, como uma alternativa na formulação de sucedâneos de leites comerciais (QUIGLEY, 2001a). Quando apropriadamente formulado, processado, misturado e destinado à alimentação, sucedâneos de leite podem fornecer um desempenho similar daquele oferecido pelo leite materno (QUIGLEY, 2001b).

O processamento da soja e sua difusão por meio de produtos de consumo cada vez mais práticos acompanham as tendências internacionais, visando atingir segmentos de maior renda (BELIK, 1994). Neste sentido, o extrato hidrossolúvel de soja (EHS) por ser uma bebida protéica de alto valor nutritivo, representa importante alternativa para a nutrição em geral, particularmente como alimento protéico suplementar, onde o leite bovino apresenta um custo mais alto, ou mesmo, pela sua indisponibilidade (WANG et al., 1999). Logo, a viabilidade tecnológica e nutricional do uso do soro de leite como meio líquido de extração, em substituição à água, na elaboração de EHS, resulta num produto de maior valor nutricional e com um sabor mais agradável. O uso do soro de leite na formulação de alimento suplementar ao leite, além de aumentar o teor protéico, surge como uma solução para a redução da poluição por ele causada,

na medida em que é desviado para o processamento desses produtos. Dessa forma, têm-se desenvolvido produtos com reduzida adstringência natural da soja melhorando o sabor do extrato hidrossolúvel obtido (PRUDÊNCIO; BENEDET, 1999).

Neste sentido, neste trabalho, foi aplicado um modelo estatístico multivariado compreendido pelo fatorial completo 2^3 e análise em superfície de respostas no intuito de obter os parâmetros da extração protéica do farelo de soja com soro de leite bovino como solvente de extração.

MATERIAL E MÉTODOS

Cultivares de soja

Foram utilizados quatro cultivares de soja, em estádios de maturação comercial, fornecidas pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

(CNPSo-EMBRAPA, Londrina/PR.) escolhidas devido às suas disponibilidades no mercado local, teor de proteína e área de adaptação. No entanto, a cultivar BRS213 foi a cultivar escolhida para os testes conclusivos devido ao melhor desempenho na extração protéica e por não apresentar o sistema enzimático de lipoxigenases, o qual é responsável por promover sabor característico de soja (Tabela 1).

Soro de leite

O soro de leite utilizado foi fornecido pela Fazenda Experimental da Universidade Norte do Paraná (Tamarana, PR.). Neste trabalho foi utilizado soro de leite resultante da fabricação de queijo tipo Minas Frescal. Após coleta do soro de leite foi submetido ao processo de pasteurização do mesmo em pasteurizador de placas.

Tabela 1. Porcentagem de proteína total e umidade média das diferentes cultivares de soja, em base integral.

Cultivares	Proteínas, % m/m	Umidade média, %
BRS183	42,4	54,1
BRS184	37,4	52,2
BRS213	37,3	58,5
BRS257	39,2	56,6

Efeito do tempo na extração protéica

Para verificar a capacidade de extração de proteínas do farelo de soja em soro de leite bovino foram desenvolvidos testes preliminares ao planejamento fatorial com o intuito de avaliar as melhores faixas de temperatura para a extração. O pH foi mantido na neutralidade, sendo mantido o pH

natural ($\text{pH } 6,4 \pm 0,1$) do soro de leite empregado no estudo. Utilizando-se 50 g do farelo de soja BRS213 em 200 mL de soro de leite bovino. Amostras de 5 mL do sobrenadante foram coletadas a cada intervalo de tempo conforme descrito na Tabela 2.

Tabela 2. Extração protéica do farelo de soja com soro de leite bovino.

Tratamentos	Condições do tratamento
T1	Soja em soro a 25°C (t = 0h)
T2	Soja em soro a 25°C (t = 24h)
T3	soja em soro por 1h (T = 30°C)
T4	soja em soro por 2 h (T = 50°C)
T5	soja em soro por 3 h (T = 80°C)
T6	soja em soro a 80°C por 1h
T7	soja em soro a 80°C por 2h
T8	soja em soro a 80°C por 3h

Após coleta das amostras, foi feita a dosagem a partir do método de Kjeldahl das proteínas solubilizadas nos sobrenadantes recolhidos após centrifugação à frio (5°C) por 20 min a 3000 g.

Extração protéica com fatores multivariados

O extrato hidrossolúvel de soja (EHS) foi obtido utilizando 10g do farelo de soja cultivar BRS213 em 40 mL de soro de leite bovino. A

influência de diversos fatores no rendimento da extração protéica da soja com soro de leite bovino foi verificada por meio de planejamento fatorial constituído de 2^3 experimentos com seus pontos centrais e adjacentes. Foi considerada para este sistema, a influência de três variáveis de controle: temperatura (X_1), pH (X_2) e porcentagem de cloreto de sódio (X_3) em uma variável resposta específica do processo (porcentagem de extração protéica).

Todas as análises foram efetuadas de maneira randômica e, a Tabela 3 apresenta os valores

codificados e reais do planejamento fatorial.

Tabela 3. Matriz com os parâmetros codificados e reais do planejamento experimental completo 2^3 .

Ensaio	X ₁	X ₂	X ₃	Temperatura, °C	pH	%NaCl
1	-1	-1	-1	60	4,0	2,0
2	+1	-1	-1	80	4,0	2,0
3	-1	+1	-1	60	10,0	2,0
4	+1	+1	-1	80	10,0	2,0
5	-1	-1	+1	60	4,0	6,0
6	+1	-1	+1	80	4,0	6,0
7	-1	+1	+1	60	10,0	6,0
8	+1	+1	+1	80	10,0	6,0
9	0	0	0	70	7,0	4,0
10	0	0	0	70	7,0	4,0
11	0	0	0	70	7,0	4,0
12	$-\sqrt{2}$	0	0	56	7,0	4,0
13	$+\sqrt{2}$	0	0	84	7,0	4,0
14	0	$-\sqrt{2}$	0	70	2,8	4,0
15	0	$+\sqrt{2}$	0	70	11,2	4,0
16	0	0	$-\sqrt{2}$	70	7,0	1,2
17	0	0	$+\sqrt{2}$	70	7,0	6,8
18	0	0	0	70	7,0	4,0
19	0	0	0	70	7,0	4,0

Códigos: X₁: temperatura (°C); X₂: pH e X₃: concentração de cloreto de sódio (%).

A análise estatística dos resultados foi realizada utilizando-se o programa STATISTICA versão 6.0 (STATSOFT, 2001). Modelos foram determinados por regressão linear pelo método de superfície de respostas, aplicada aos resultados experimentais obtidos nos planejamentos fatoriais.

Análise de composição centesimal

Para a determinação da umidade, as amostras foram pesadas e aquecidas em estufa (FANEM) a 105-110°C até obtenção de massa constante. O teor de nitrogênio total foi determinado pelo método de Kjeldahl AOAC 16.036 utilizando-se o fator 6,38 para conversão do nitrogênio total do soro de leite em proteínas totais. O fator 6,25 foi empregado para conversão de nitrogênio total da soja em proteínas totais. Os carboidratos totais foram determinados pelo método do fenol-sulfúrico (DUBOIS et al., 1956). Os fenólicos totais foram determinados segundo a metodologia descrita por Nozella (2001), sólidos totais AOAC 16.032 e cinzas AOAC 16.035. As análises de todas as amostras foram realizadas em triplicata e efetuadas as médias e desvios-padrão relativos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A soja BRS 213 foi escolhida a partir da análise de proteínas totais por Kjeldahl como se

pôde verificar na Tabela 1. O cultivar foi recomendado por se tratar de um cultivar com alto teor de proteínas. Segundo a EMBRAPA (2007), a cultivar BRS213, entre as cultivares, é indicado para alimentação humana, não apresenta lipoxigenases responsáveis pelo desenvolvimento de sabor desagradável, permitido a obtenção de produtos com melhor qualidade e sabor. Apresenta cor amarela no hilo, o que resulta na obtenção de EHS com coloração clara. Apresenta resistência a doenças tais como, cancro da haste, mancha “olho de rã”, podridão parda da haste, nematóide de galha. Sua área de adaptação compreende os estados do Paraná, São Paulo e Santa Catarina.

Os processos de extração protéica da soja podem influenciar diretamente no rendimento deste processo extrativo. Segundo Capobianco et al. (2006), diferentes processos, utilizando solventes na extração protéica são relatados na literatura, nos quais fatores como concentração e tipo de solvente, temperatura e tempo da extração variam com o intuito de aumentar a eficiência do processo, no entanto, o método escolhido terá efeitos significativos nas suas propriedades. Por exemplo, o tratamento alcalino das proteínas pode provocar a sua desnaturação pela desestabilização das estruturas terciárias e facilitar sua solubilização. Por outro lado, o pH alcalino pode aumentar as chances de racemização dos aminoácidos e sua desnaturação,

levando à formação de novos compostos que poderiam alterar as propriedades nutricionais e funcionais das proteínas.

Como visto, a escolha do processo de extração protéica também é um passo decisivo para o sucesso do projeto de trabalho e, para tal foi empregado sistemas de extração em solução de soro de leite bovino em água (94% de umidade, em média). Os processos mais utilizados empregam a hidratação dos grãos de soja em água, como os processos da Vaca-Mecânica, Sojamac (2007) ou Agrilactor (2007), sendo estes processos seguidos ou não de aquecimento para promover a solubilização das proteínas.

No entanto, os teores de proteínas encontrados para estes extratos de soja são baixos quando comparados aos teores encontrados em outros alimentos reconhecidamente como fontes de proteínas. Dado a este fato, neste trabalho buscou-se aproveitar o efeito ácido do soro de leite bovino na extração de proteínas da soja associado ao incremento protéico obtido com este soro de leite. A análise do teor de proteínas totais do soro de leite

bovino revelou um teor de 0,75 a 1,05% (m/m). Neste trabalho, empregou-se um soro de leite bovino com um teor de 0,9% de proteínas totais.

Os resultados relativos à análise centesimal, para determinar qual o melhor tratamento para extração de proteínas, carboidratos, umidade, cinzas e fenólicos totais do farelo de soja com soro de leite foram descritos na Tabela 4.

Conforme a Tabela 4 pode-se observar que a quantidade de fenólicos totais máxima foi de 8,1 g/L (Tratamento 6; 80°C por 1h). Nos Tratamentos seguintes houve uma queda em sua concentração. Pelos resultados obtidos pôde-se observar que os valores de fenólicos totais apresentaram um aumento significativo ($p < 0,05$) até o Tratamento 6 e, posteriormente, houve uma ligeira queda nos teores.

A natureza química dos principais compostos fenólicos encontrados em soja, como os isoflavonóides (Figura 1), apresenta uma característica levemente polar, o que pode explicar sua dissolução em solução aquosa de soro de leite durante o tratamento térmico.

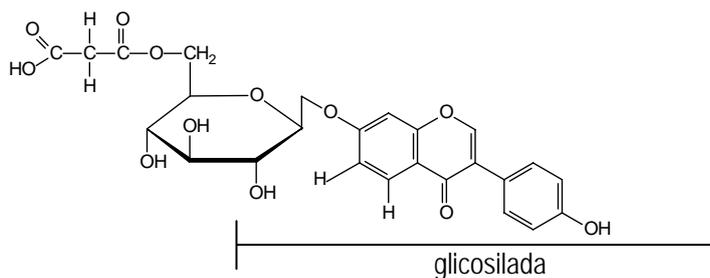


Figura 1. Estrutura química planar de isoflavonóides de soja (Aguiar et al., 2007a; Aguiar, 2002).

Aguiar et al. (2007b) analisaram a distribuição de isoflavonóides em soja e constataram que o hipocótilo contém grande concentração destes compostos. No presente trabalho, as amostras de soja foram preparadas pela moagem dos grãos intactos do cultivar BRS213 de soja, o qual englobava grande quantidade do hipocótilo.

A porcentagem de proteínas extraídas alcançou o valor de 5,99% no Tratamento 7 e, depois voltou a diminuir no Tratamento 8. O aumento nos teores de proteína é devido a sua solubilidade no soro de leite bovino em solução aquosa, influenciada pelo aumento da temperatura de cozimento, a qual foi de 80°C para o Tratamento 7.

A soja é a principal e a melhor fonte de proteína de origem vegetal, possuindo duas vezes mais proteínas que a carne bovina. Porém, sua equivalência protéica não é a mesma das proteínas do ovo ou carne, além de ser deficiente em dois aminoácidos essenciais. Uma das grandes vantagens da proteína de soja é seu custo, o qual pode chegar a ser dezoito vezes mais barata que outras fontes protéicas (PAES, 1994), além de ser abundante no território brasileiro.

Observou-se que a quantidade de carboidratos totais oscilou ao longo do tratamento térmico para a extração protéica do farelo de soja em soro de leite bovino. O valor máximo obtido foi de 150,9 g/L, no Tratamento 8 (3 horas a 80°C).

Tabela 4. Efeito do tempo e temperatura na extração de proteínas do farelo de soja com soro de leite bovino.

Composição	Tratamentos							
	Pré-aquecimento					Aquecimento a 80°C		
	1	2	3	4	5	6	7	8
Proteínas totais (% m/m)	1,39 ±0,26 f	1,72 ±0,41 f	1,85 ±0,25 f	2,46 ±0,18 e	5,06 ±0,05 b	4,37 ±0,10 d	5,99 ±0,66 a	4,89 ±0,07 c
Carboidratos totais (g/L)	109,78±0,03 d	133,94 ±0,06 b	91,43 ±0,03 f	138,15 ±0,03 b	107,87 ±0,02 e	114,42 ±0,02 c	109,55 ±0,01 d	150,90 ±0,08 a
Fenólicos totais (g/L)	2,43 ±0,01 g	3,36 ±0,02 f	3,92 ±0,03 e	4,57 ±0,03 d	5,24 ±0,05 c	8,13 ±0,32 a	5,55 ±0,11 b	5,61 ±0,06 b
Sólidos totais (%)	6,2±0,1 b	5,8±0,2 c	6,3±0,1 b	6,2±0,1 b	6,2±0,1 b	5,5±0,1 c	3,0±0,1 d	9,7±0,3 a
Cinzas (%)	0,6±0,1 c	0,6±0,1 c	0,6±0,1 c	0,7±0,1 bc	0,9±0,1 b	1,0±0,2 b	0,6±0,1 c	1,9±0,2 a

Tratamento 1: soja em soro a 25°C (t = 0h); Tratamento 2: soja em soro a 25°C (t = 24h); Tratamento 3: soja em soro por 1h (T = 30°C); Tratamento 4: soja em soro por 2 h (T = 50°C); Tratamento 5: soja em soro por 3 h (T = 80°C); Tratamento 6: soja em soro a 80°C por 1h; Tratamento 7: soja em soro a 80°C por 2h; Tratamento 8: soja em soro a 80°C por 3h. Valores médios, em triplicata, seguidos de mesma letra, à direita e mesma linha, não diferem significativamente pelo Teste de Tukey, num intervalo de confiança de 95%.

Nos grãos de soja são encontradas pequenas quantidades de carboidratos simples, 20% do total de carboidratos, sendo os principais a sacarose, a estaquiase e a verbascose. A maior quantidade (80%) dos carboidratos da soja é constituída pela celulose, hemicelulose e, em menor quantidade, pela pectina (PAES, 1994). Como se pode observar, os carboidratos encontrados na soja, uma parte dos carboidratos da soja, são aqueles solúveis em água, tais como sacarose, estaquiase e verbascose. Adicionalmente, o aquecimento tem a capacidade de promover a dissolução de macromoléculas em meio aquoso. Por outro lado, a porção precipitada, que se observa no final do tratamento térmico, pode ser

devido à precipitação de celulose ou hemicelulose do farelo de soja.

De acordo com a Tabela 4, a umidade máxima foi observada durante o Tratamento 7 (97,0%) e a mínima no Tratamento 8 (90,3%). Para os valores de cinzas, o Tratamento 8 apresentou porcentagem máxima (1,9%), enquanto que os Tratamentos 1 e 2 apresentaram teores mínimos de cinzas (0,6%, ambos).

Na Figura 2 foi apresentado o teor de proteínas extraído nos dezenove tratamentos que compreendiam o planejamento fatorial 2^3 para a extração de proteínas da soja em soro de leite bovino.

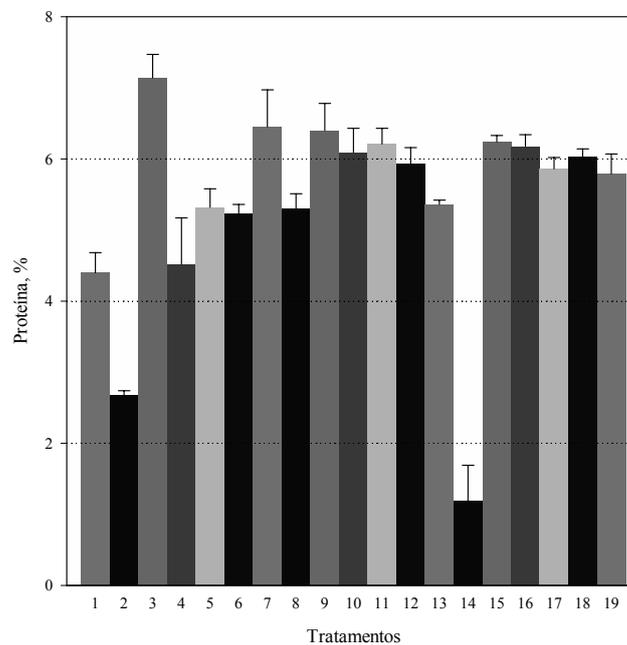


Figura 2. Resultados da extração protéica do farelo de soja com soro doce de leite bovino pelo planejamento fatorial 2^3 .

A porcentagem de proteínas em cada tratamento do planejamento experimental adotado neste trabalho foi elaborado com base em três variáveis (temperatura, pH e força iônica) contra uma variável resposta (porcentagem de extração protéica do farelo de soja em soro de leite bovino). Observa-se que nos pontos centrais (9, 10, 11, 18 e 19) não ocorreu variação significativa entre os valores observados das proteínas totais extraídas nos

tratamentos. De acordo com o tratamento estatístico, a relação temperatura/pH produziu uma solução com maior viscosidade (resultados não apresentados), o que dificultou a separação do sobrenadante do resíduo sólido de farelo de soja. Dado a estes resultados optou-se pela execução de novos delineamentos experimentais, os quais resultaram nos dados mostrados nas Figuras 3, 4 e 5.

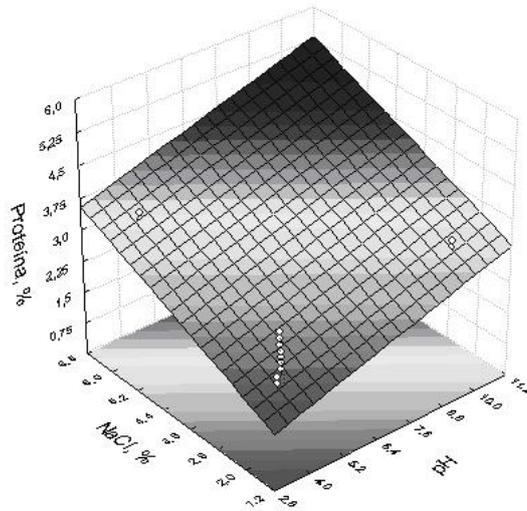


Figura 3. Superfície de resposta para a extração do farelo de soja em soro de leite bovino em função das variáveis %NaCl e pH.

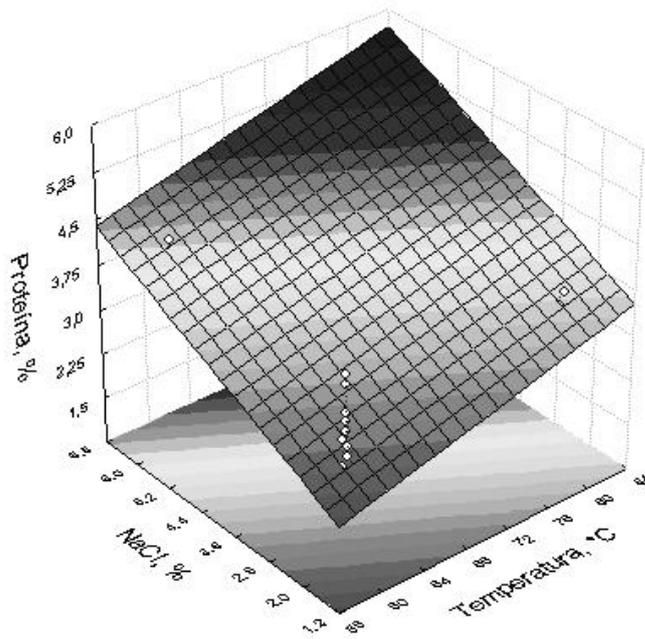


Figura 4. Superfície de resposta para a extração do farelo de soja em soro de leite bovino em função das variáveis %NaCl e temperatura.

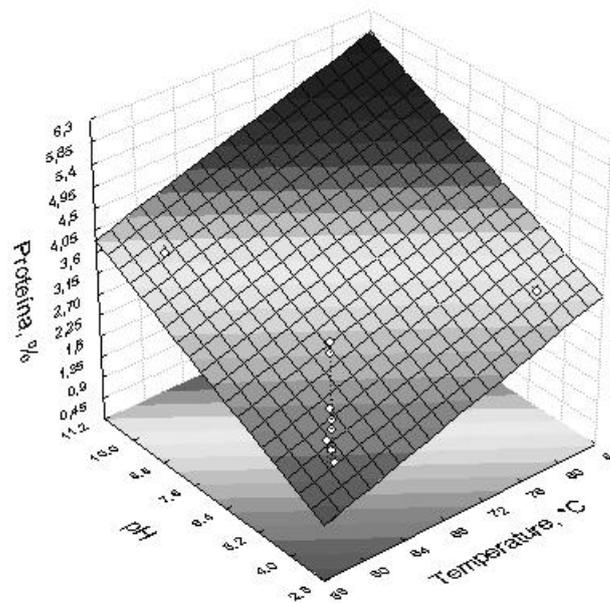


Figura 5. Superfície de resposta para a extração do farelo de soja em soro de leite bovino em função das variáveis temperatura e pH.

Pela análise de superfície de respostas apresentadas nas Figura 3, 4 e 5, pôde-se observar que a extração protéica foi mais eficiente conforme o aumento das variáveis de controle (pH, cloreto de sódio (%) ou da temperatura de trabalho), indicando uma correlação positiva e diretamente proporcional com os parâmetros investigados.

Em função das proteínas possuírem muitos grupos carregados, sua solubilidade depende da concentração dos sais dissolvidos, da polaridade do solvente, do pH e da temperatura. A baixa estabilidade conformacional das proteínas nativas torna-as muito suscetíveis à desnaturação por alteração do balanço das forças fracas, não de ligações químicas, que mantêm a conformação

nativa (VOET et al., 2002). O aquecimento causa uma alteração abrupta de propriedades conformacionais sensíveis, como rotação óptica, viscosidade e absorção de luz ultravioleta. O aquecimento promove também um enfraquecimento das interações químicas que mantêm as estruturas carboidratos-proteínas nas membranas da célula vegetal, promovendo uma liberação destas proteínas no meio aquoso aquecido.

A Tabela 5, que apresenta a análise de variância do planejamento fatorial, mostrou um valor de F calculado maior que o F tabelado e, que além disto, o valor obtido foi 5 vezes maior que o F tabelado.

Tabela 5. ANOVA para regressão da porcentagem de extração de proteinado farelo de soja com soro de leite*.

Fontes de Variação	SQ	GL	MQ	F calculado
Regressão	386,7282	3	128,9094	15,7504
Resíduo	106,3984	13	8,1845	
Falta de ajuste	104,3984	11	9,4908	
Erro puro	2,0000	2	1,0000	
Total	408,0000	16		

*Valores significativos ao nível de 95% de confiança ($p \leq 0,05$); SQ = Soma Quadrática; GL = Graus de Liberdade. MQ = Média Quadrática.

Diante destes resultados, observou-se que o planejamento fatorial, cuja Equação, a seguir, apresenta o modelo matemático que exprime o

processo de extração protéica dentro das condições previstas neste trabalho, foi significativo e preditivo.

$$\begin{aligned} \text{Equação} \quad \% \text{ de Proteína} &= 6,44 \times \text{temperatura } (^{\circ}\text{C}) + 8,52 \times \text{pH} + 10,55 \times \% \text{ NaCl} + \\ &119,73 \\ R^2 &= 0,9231 \end{aligned}$$

CONCLUSÕES

Pelos resultados obtidos no presente trabalho, conclui-se que durante a extração protéica nos testes preliminares em função do tempo e temperatura, os Tratamentos 6 (1h a 80°C), 7 (2h a 80°C) e 8 (3h a 80°C) apresentaram maiores teores de fenólicos totais, proteínas totais e carboidratos totais, respectivamente; e que o aumento da porcentagem de extração protéica é maior em função do maior tempo de exposição ao

aquecimento.

Pela análise de superfície de respostas, verificou-se que os parâmetros adotados de pH, temperatura e porcentagem de cloreto de sódio, foram diretamente associados ao aumento na extração protéica, no entanto, não foram suficientes para a otimização do processo extrativo, visto que não foi possível obter o ponto de inflexão da função, mas que, por outro lado, o modelo matemático foi significativo, como também preditivo.

ABSTRACT: The aim objective of this project was to evaluate the protein extraction of soybean flour in dairy whey, by the multivariate statistical method with 2^3 experiments. Influence of three variables were considered: temperature, pH and percentage of sodium chloride against the process specific variable (percentage of protein extraction). It was observed that, during the protein extraction against time and temperature, the treatments at 80°C for 2h presented great values of total protein (5.99%). The increasing for the percentage of protein extraction was major according to the heating time. Therefore, the maximum point from the function that represents the protein extraction was analysed by factorial experiment 2^3 . By the results, it was noted that all the variables were important to extraction. After the statistical analyses, was observed that the parameters as pH, temperature, and percentage of sodium chloride, did not sufficient for the extraction process, since did not possible to obtain the inflection point from mathematical function, however, by the other hand, the mathematical model was significant, as well as, predictive.

KEYWORDS: Dairy whey. Soybeans. Protein. Extraction. Surface response.

REFERÊNCIAS

AGRILACTOR. Disponível em: <<http://www.agrilactor.com.br/>>. Acesso em 13 ago 2007.

AGUIAR, C. L. Isoflavonas de soja e propriedades biológicas. **Boletim do CEPPA**, Curitiba, v. 20, n. 2, p. 323-334, 2002.

AGUIAR, C. L.; ALENCAR, S. M.; TSAI, S. M.; PARK, Y. K. Transformações enzimáticas de flavonóides. **Boletim do CEPPA**, Curitiba, v. 25, n. 1, p. 61-76, 2007a.

AGUIAR, C. L.; BAPTISTA, A. S.; ALENCAR, S. M.; HADDAD, R.; EBERLIN, M. N. Analysis of isoflavonoids from leguminous plant extracts by RPHPLC/DAD and electrospray ionization mass spectrometry. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, London, v. 58, n. 2, p. 116-124, 2007b.

AMIOT, J. **Ciencia y tecnologia de la leche**. Zaragoza: Acribia, 1991. 547p.

BAGALDO, A. R.; PIRES, A. V.; MEYER, P. M.; SANTOS, F. A. P.; SIMAS, J. M. C.; SUSIN, I. Efeitos do uso de sucedâneo do leite e milho processado no desempenho de bezerros da raça holandesa até o desmame. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 23, n. 4, p. 967-972, 2001.

BELIK, W. Agroindústria e reestruturação industrial no Brasil: elementos para uma avaliação. **Cadernos de Ciência e Tecnologia**, Brasília, v. 11, n. 1-3, p. 58-75, 1994.

CAPOBIANGO, M.; VIEIRA, C. R.; SANTIAGO-SILVA, A. L.; COELHO, J. V.; SEGALL, S. D.; SILVESTRE, M. P. C. Extração química e enzimática das proteínas do fubá de milho. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 4, p. 884-890, 2006.

DUBOIS, M.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A.; SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry**, Columbus, v. 28, n. 3, p. 350-356, 1956.

EMBRAPA. **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária**. Usos da soja. Disponível em: <http://www.cnpso.embrapa.br/index.php?op_page=25&cod_pai=29>. Acesso em: 03 abril 2007.

EMBRAPA. **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária**. Disponível em: <<http://www.cnpso.embrapa.br/producaosoj/SojanoBrasil.htm>>. Acesso em: 28 novembro 2006.

HARAGUCHI, F. K.; ABREU, W. C.; PAULA, H. Whey protein: composition, nutritional properties, applications in sport and benefits for human health. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 19, n. 4, p. 479-488, 2006.

INSTITUTO MINEIRO DE AGROPECUÁRIA. Minas Gerais: produtores alertam para o uso de soro no leite. Disponível em: <<http://imanet.ima.mg.gov.br/noticias/outubro06/0310leite.htm>>. Acesso em: 29 ago. 2007.

NOZELLA, E. F. **Determinação de taninos em plantas com potencial forrageiro para ruminantes**. 2001. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, USP, Piracicaba.

PAES, M. C. D. **Princípios básicos de nutrição e uso da soja na alimentação humana**. Embrapa: Londrina, 1994. 52 p.

PRUDENCIO, E. S.; BENEDET, H. D. Aproveitamento do soro de queijo na obtenção do extrato hidrossolúvel de soja. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 19, n. 1, p. 97-101, 1999.

QUIGLEY, J. Glutamina e proteína da soja em sucedâneos do leite. **CalfNotes**, Ames, n. 70, p. 1-3, 2001a.

QUIGLEY, J. Soy protein in milk replacers. **CalfNotes**, Ames, n. 23, p. 1-2, 2001b.

SOJAMAC. Disponível em <<http://www.sojamac.com.br/>>. Acesso em 13 ago. 2007.

STATSOFT, Inc. **Statistica** (data analysis software system), version 6, 2001.

VOET, D.; VOET, J. G.; PRATT, C. W. **Fundamentos de Bioquímica**. Porto Alegre: Artmed, 2002. 931 p.

WANG, S.; CABRAL, L. C.; ARAÚJO, F. B.; MAIA, L. H. Características sensoriais de leites de soja reconstituídos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 34, n. 3, p. 467-472, 1999.