

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIA
DE PROCESSOS QUÍMICOS E BIOQUÍMICOS

DÉBORA GIARETTA

**PRODUÇÃO DE FARINHA DE *KINAKO* A PARTIR DE VARIEDADE DE
SOJA BRS 257 E DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE PÃO
DE FORMA COM *KINAKO* E CHIA (*Salvia hispânica*)**

DISSERTAÇÃO

PATO BRANCO

2014

DÉBORA GIARETTA

PRODUÇÃO DE FARINHA DE *KINAKO* A PARTIR DE VARIEDADE DE SOJA BRS 257 E DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE PÃO DE FORMA COM *KINAKO* E CHIA (*Salvia hispânica*)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná como requisito parcial para obtenção do título de “Mestre em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos” - Área de concentração: Química de Alimentos.

Orientadora: Prof. Dra. Solange Teresinha Carpes.
Co-orientadora: Prof. Dra. Carla Adriana Pizarro Schmidt.

PATO BRANCO

2014

G435p

Giaretta, Débora.

Produção de farinha de kinako a partir de variedade de soja BRS 257 e desenvolvimento e caracterização de pão de forma com kinako chia (*Salvia hispânica*) / Débora Giaretta. -- 2014.

134 f. : il. ; 30 cm.

Orientador: Profa. Dra. Solange Teresinha Carpes

Coorientador: Profa. Dra. Carla Adriana Pizarro Schmidt

Dissertação (Mestrado) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos. Pato Branco, PR, 2014.

Bibliografia: f. 108 – 126.

1. Isoflavonas da soja. 2. Ácidos graxos. 3. Valor nutricional. 4. Análise sensorial. I. Carpes, Solange Teresinha, orient. II. Schmidt, Carla Adriana Pizarro, coorient. III. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos. IV. Título.

CDD (22. ed.) 660.281



Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Câmpus Pato Branco
Gerência de Ensino e Pesquisa
**Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de
Processos Químicos e Bioquímicos**



TERMO DE APROVAÇÃO

Título da Dissertação nº XXX

**Desenvolvimento de pão de forma com *kinako* e semente de chia
(*Salvia hispanica*)**

por

DÉBORA GIARETTA

Dissertação apresentada às 14 horas 00 min. do dia 28 de agosto de 2014 como requisito parcial para obtenção do título de MESTRE EM PROCESSOS QUÍMICOS E BIOQUÍMICOS, Linha de Pesquisa – QUÍMICA DE ALIMENTOS, Programa de Pós-Graduação em Processos Químicos e Bioquímicos (Área de Concentração: Química de Alimentos) da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Pato Branco. O candidato foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho

Banca examinadora:

Prof. Dr. Ivane Benetti Tonial XXX
UTFPR

**Prof. Dr. Vanderlei Aparecido de
Lima**
UTFPR

**Prof. Dr. Tatiane Luiza Cadorin
Oldoni**
UFPR

Prof. Dr. Solange Teresinha Carpes
UTFPR
Orientador

Visto da Coordenação:

Prof. Dra. Raquel Dalla Costa
Coordenador do PPGTF

Ao meu maior incentivador, por quem tenho um grande amor, pai (em meu coração), te dedico...

À Deus ofereço...

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a DEUS que me concedeu o dom da vida e trilhou os meus caminhos para que tudo isso fosse possível.

Aos meus pais que depositaram em mim confiança, amor, carinho e apoio incondicional em todas as minhas escolhas, Isabel Pilonetto Giaretta e especialmente ao meu pai Cezar Ancelmo Giaretta que não pode estar presente, a quem quero continuar dando muito orgulho. A minha irmã Denise Giaretta. Obrigada!

Ao meu noivo Marcelo Rodrigo Zatta, pelo amor, dedicação, compreensão e companheirismo.

À toda a minha família que me acompanhou nesta trajetória e sempre torceu por mim.

Aos meus amigos e colegas de turma, especialmente a Camila Giongo que cedeu gentilmente os grãos de soja.

As minhas orientadoras, Prof. Dra. Solange Teresinha Carpes e Prof. Dra. Carla Adriana Pizarro Schimidt, que com competência, paciência, profissionalismo, dedicação, esforço e confiança, me conduziram aos caminhos certos à concretização desse trabalho, do qual sempre irei me orgulhar.

A todos os professores do PPGTP que me ajudaram com seus conhecimentos e experiências, sem os quais grande parte deste trabalho não seria possível, à vocês, meu respeito e admiração. Professores como vocês, que se preocupam e lutam pelo sucesso de seus alunos, servem de inspiração para meu desempenho enquanto ser humano e profissional.

A toda equipe dos Laboratórios de Química da UTFPR campus - Pato Branco e aos professores e técnicos dos Laboratórios da UTFPR – campus Francisco Beltrão que gentilmente cederam o espaço, materiais e ainda o auxílio necessário para a realização das etapas experimentais.

E não podendo esquecer, meu profundo agradecimento também a aqueles que direta ou indiretamente, ajudaram na realização desse trabalho. Muito Obrigada.

Agradeço à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, CAPES, pela bolsa concedida durante os anos do curso.

“A educação é um processo social, é desenvolvimento. Não é a preparação para a vida, é a própria vida.” (John Dewey)

RESUMO

GIARETTA, Débora. **Produção de farinha de kinako a partir de variedade de soja BRS 257 e desenvolvimento e caracterização de pão de forma com kinako e chia (*Salvia hispânica*)**. 2014. 134 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) – Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, PR, 2014.

O *kinako* é uma farinha integral obtida a partir do grão de soja torrada e moída. Esta farinha tem elevada qualidade nutricional em função do conteúdo de proteínas, fibras, ácidos graxos insaturados e compostos bioativos como as isoflavonas. As isoflavonas estão presentes na soja principalmente nas formas conjugadas (β -glicosídicas, acetil e malonil) e, em menor proporção, nas formas livres (agliconas). Diversos estudos comprovam a eficiência das isoflavonas agliconas na prevenção de doenças crônicas. Algumas tecnologias têm sido empregadas para a conversão das isoflavonas β -glicosídicas em agliconas através de altas temperaturas. Neste contexto, o presente trabalho objetivou a conversão de isoflavonas contidas no *kinako* utilizando o processo de torra, buscando melhorar a qualidade nutricional e as propriedades biológicas para posterior uso como ingrediente em produtos panificados. A torra foi conduzida através de delineamento fatorial 2^2 , com 4 pontos axiais e 4 repetições no ponto central, totalizando assim 12 corridas, para verificar os efeitos das variáveis tempo em minutos e temperatura em graus celcius sobre o teor de isoflavonas no *kinako*. O processo contribuiu para melhorar o perfil de isoflavonas especialmente no tratamento 8 (200 °C por 31 min), convertendo as isoflavonas conjugadas em agliconas. A partir do *kinako* obtido no tratamento 8, juntamente com 2 % de chia, semente rica em ácidos graxos insaturados, foram elaboradas quatro formulações de pães variando a quantidade de *kinako* (0, 10, 20 e 30 %). Mediante análise sensorial não se observou diferença significativa ($p > 0,05$) para a formulação padrão e com 10 % de *kinako* acrescida de 2 % de semente de chia. A conversão das isoflavonas do *kinako* por processo de torra mostrou ser uma estratégia promissora para agregar valor nutricional juntamente com a semente de chia em pães.

Palavras-chave: Isoflavonas da soja, ácidos graxos, valor nutricional, análise sensorial.

ABSTRACT

GIARETTA, Débora. **Kinako production of flour from soybean cultivar BRS 257 and the development and characterization of bread with kinako and chia (Salvia Hispanic)**. 2014. 134 f. Dissertation (Master in Technology of Chemical and Biochemical Processes) – Post Graduation Program in Technology of Chemical and Biochemical Processes, Federal University of Technology of Paraná. Pato Branco, PR, 2014.

The kinako is an integral flour obtained from the seed of roasted and ground soybean. This flour has high nutritional quality according to the content of protein, fiber, unsaturated fatty acids and bioactive compounds such as isoflavones. The isoflavones in soy are present mainly in conjugated forms (β -glucosides, acetyl and malonyl) and, to a lesser extent, in the free form (aglycone). Several studies have demonstrated the efficacy of isoflavone aglycone in the prevention of chronic diseases. Some technologies have been employed for the conversion of β -glucosides isoflavones in aglycones através high temperatures. In this context, this paper aims at conversion of isoflavones present in kinako using the roasting process, seeking to improve the nutritional quality and biological properties for later use as an ingredient in baked goods. Roasting was performed using a factorial design with 22, with the variables Temperature ($^{\circ}\text{C}$) and time (min) of exposure. The process contributed to increased levels of protein, lipid and crude fiber besides improving the profile of isoflavones especially in treatment 8 (200 $^{\circ}\text{C}$ for 31 min), converting conjugated isoflavones in aglycones. From the kinako 8 obtained in the treatment along with 2% chia seed rich in unsaturated fatty acids breads four formulations varying the amount of kinako (0, 10, 20 and 30%) were prepared. By sensory analysis no significant difference ($p > 0.05$) for the standard formulation with 10% plus 2% kinako chia seed was observed. The conversion of isoflavones from kinako by the roasting process proved to be a promising strategy for adding nutritional value along with the chia seed bread.

Keywords: Soy Isoflavones, fatty acids, nutritional value, sensory analysis.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Ilustração da semente de chia	36
Figura 2 - Estrutura dos ácidos linoléico (a) e linolênico (b).	39
Figura 3 - Ficha utilizada para avaliação sensorial.....	57
Figura 4 - Superfície de resposta e curva de contorno para a luminosidade (L^*) da farinha <i>Kinako</i> em função da temperatura e do tempo de aquecimento.	62
Figura 5 - Superfície de resposta e curva de contorno para a cor vermelho (a^*) da farinha <i>Kinako</i> em função da temperatura e do tempo de aquecimento.	63
Figura 6 - Superfície de resposta e curva de contorno para a cor amarelo (b^*) da farinha <i>Kinako</i> em função da temperatura e do tempo de aquecimento.	63
Figura 7 - Superfície de resposta e curva de contorno para a isoflavona daidzina da farinha <i>Kinako</i> em função da temperatura e do tempo de aquecimento.	69
Figura 8 - Superfície de resposta e curva de contorno para a isoflavona glicitina da farinha <i>Kinako</i> em função da temperatura e do tempo de aquecimento.	70
Figura 9 - Superfície de resposta e curva de contorno para a isoflavona genistina da farinha <i>Kinako</i> em função da temperatura e do tempo de aquecimento.	71
Figura 10 - Superfície de resposta e curva de contorno para a isoflavona acetildaidzina da farinha <i>Kinako</i> em função da temperatura e do tempo de aquecimento.	72
Figura 11- Superfície de resposta e curva de contorno para a isoflavona acetilglicitina da farinha <i>Kinako</i> em função da temperatura e do tempo de aquecimento.	73
Figura 12 - Superfície de resposta e curva de contorno para a isoflavona acetilgenistina da farinha <i>Kinako</i> em função da temperatura e do tempo de aquecimento.	74
Figura 13 - Superfície de resposta e curva de contorno para a isoflavona daidzeína da farinha <i>Kinako</i> em função da temperatura e do tempo de aquecimento.	75
Figura 14 - Superfície de resposta e curva de contorno para a isoflavona gliciteína da farinha <i>Kinako</i> em função da temperatura e do tempo de aquecimento.	76
Figura 15 - Superfície de resposta e curva de contorno para a isoflavona genisteína da farinha <i>Kinako</i> em função da temperatura e do tempo de aquecimento.	76

Figura 16 - Histogramas dos valores obtidos para cor na escala do ideal onde 1 – Muito menos que o ideal, 2 – Menos que o ideal, 3 – Ideal, 4 – Mais que o ideal e 5 – Muito mais que o ideal.	91
Figura 17 - Histogramas dos valores obtidos para sabor na escala do ideal onde 1 – Muito menos que o ideal, 2 – Menos que o ideal, 3 – Ideal, 4 – Mais que o ideal e 5 – Muito mais que o ideal. F1: formulação controle (sem adição de <i>kinako</i>); F2: 10% de <i>Kinako</i> ; F3: 20% de <i>Kinako</i> ; F4: 30% de <i>Kinako</i>	92
Figura 18 - Histogramas dos valores obtidos para textura na escala do ideal onde 1 – Muito menos que o ideal, 2 – Menos que o ideal, 3 – Ideal, 4 – Mais que o ideal e 5 – Muito mais que o ideal. F1: formulação controle (sem adição de <i>kinako</i>); F2: 10% de <i>Kinako</i> ; F3: 20% de <i>Kinako</i> ; F4: 30% de <i>Kinako</i>	93
Figura 19 - Histogramas dos valores obtidos para aparência na escala do ideal onde 1 – Muito menos que o ideal, 2 – Menos que o ideal, 3 – Ideal, 4 – Mais que o ideal e 5 – Muito mais que o ideal. F1: formulação controle (sem adição de <i>kinako</i>); F2: 10% de <i>Kinako</i> ; F3: 20% de <i>Kinako</i> ; F4: 30% de <i>Kinako</i>	94
Figura 20 - Histogramas dos valores obtidos para odor na escala do ideal onde 1 – Muito menos que o ideal, 2 – Menos que o ideal, 3 – Ideal, 4 – Mais que o ideal e 5 – Muito mais que o ideal. F1: formulação controle (sem adição de <i>kinako</i>); F2: 10% de <i>Kinako</i> ; F3: 20% de <i>Kinako</i> ; F4: 30% de <i>Kinako</i>	94
Figura 21 - Gráficos obtidos com base nos resultados de avaliação por meio de escala do ideal. Na imagem pode-se observar com base em dois fatores principais, a localização das três diferentes formulações de Pão e a amostra Padrão, bem como os vetores individuais de cada provador e o posicionamento relativo de cada um dos 5 atributos sensoriais avaliados. F1: formulação controle (sem adição de <i>kinako</i>); F2: 10% de <i>Kinako</i> ; F3: 20% de <i>Kinako</i> ; F4: 30% de <i>Kinako</i>	95
Figura 22 - Dendrograma ilustrativo de Resultado da Árvore Hierárquica de Clusters, mostrando a proximidade entre os resultados de preferência hedônica entre os pães avaliados pela escala hedônica, sendo que 1 = F1: formulação controle (sem adição de <i>Kinako</i>); 2 = F2: 10% de <i>Kinako</i> ; 3 = F3: 20% de <i>Kinako</i> e 4 = F4: 30% de <i>Kinako</i>	97
Figura 23 - Gráfico obtido com base nas notas dadas aos produtos com base na escala hedônica. Valores de 1 a 4 significam rejeição, 5 indiferença e 6 a 9 aceitação. F1: formulação controle (sem adição de <i>Kinako</i>); F2: 10% de <i>Kinako</i> ; F3: 20% de <i>Kinako</i> ; F4: 30% de <i>Kinako</i>	99

Figura 24 - Mapa de Preferência Interno mostrando a opinião dos provadores pelos vetores e as amostras de pão enriquecidas com *Kinako* em comparação com uma formulação controle nos pontos. F1: formulação controle (sem adição de *Kinako*); F2: 10% de *Kinako*; F3: 20% de *Kinako*; F4: 30% de *Kinako*..... 100

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Perfil nutricional do grão de soja expressos por 100 g de matéria seca.	24
Tabela 2 - Estruturas químicas de três agliconas de isoflavonas de soja e os seus principais glicosídeos respectivos.	30
Tabela 3 - Classificação média da cultivar BRS 257.	33
Tabela 4 - Composição de sementes de chia	38
Tabela 5 - Delineamento fatorial com 2 ² , mostrando os ensaios, as variáveis codificadas, X1 e X2, as variáveis reais, T(°C) e tempo (min).	44
Tabela 6 - Formulação dos pães.	54
Tabela 7 - Análise de variância para as respostas parâmetro de cor: luminosidade L* (amostra mais clara ou mais escura), a* (diferença do vermelho e do verde) e b* (diferença do azul e do amarelo) em farinha de <i>Kinako</i>	61
Tabela 8 - Modelos gerados por regressão linear múltipla sobre as respostas -parâmetros de cor - luminosidade L* (amostra mais clara ou mais escura), a* (diferença do vermelho e do verde) e b* (diferença do azul e do amarelo) em farinha de <i>Kinako</i> , conforme seus respectivos tratamentos provenientes do delineamento.	61
Tabela 9 – Teor de isoflavonas para a cultivar BRS 257 em base seca	64
Tabela 10 - Níveis codificados e valores reais para o delineamento CCRD (Central Composite Rotatable Design) com 12 ensaios e respectivos teores de isoflavonas quantificadas por CLAE nas farinhas de <i>Kinako</i>	66
Tabela 11 - Análise de variância para as respostas: daidzina, glicitina, genistina, acetil daidzina, acetil glicetina, acetil genistina, daidzeína, gliciteína e genisteína em farinha de <i>Kinako</i> submetidas aos tratamentos conforme CCRD.	67
Tabela 12 - Modelos gerados por regressão linear múltipla sobre as respostas daidzina, glicitina, genistina, acetil daidzina, acetil glicetina, acetil genistina, daidzeína, gliciteína e genisteína em farinha de <i>Kinako</i> submetidas aos tratamentos conforme CCRD.	68
Tabela 13 - Total de isoflavonas em mg/100 g do grão de soja (ensaio 0) e das farinhas de soja torradas conforme delineamento experimental proposto.	78
Tabela 14 - Composição química da soja BRS 257, <i>kinako</i> A8 e semente de chia.	80
Tabela 15 - Composição mineral da soja BRS 257, deste trabalho e valores encontrados na literatura	81

Tabela 16 - Resultados da composição mineral do <i>kinako</i> A8 e semente de chia em base seca.....	82
Tabela 17 - Perfil de ácidos graxos (AG) ¹ da soja BRS 257, <i>kinako</i> A8 e semente de chia.	83
Tabela 18 – Análises microbiológicas do <i>Kinako</i> A8.....	87
Tabela 19 - Resultados das análises microbiológicas realizadas nos pães.	88
Tabela 20 - Resultados médios das notas atribuídas para os diferentes atributos sensoriais avaliados na análise sensorial por meio da escala do ideal de 5 pontos, realizada comparando as três formulações de pão (F2, F3 e F4) com o produto controle (F1).....	90
Tabela 21 - Resultados do percentual de concordância das notas atribuídas para os diferentes atributos sensoriais avaliados na análise sensorial por meio da escala do ideal de 5 pontos, realizada com as formulações de pão integral.	96
Tabela 22 - Resultados médios da avaliação hedônica e do percentual de concordância das notas atribuídas às formulações de pão integral.	98
Tabela 23 - Resultados da composição químico-bromatológica dos pães F1 e F2. ...	101
Tabela 24 - Resultados da composição mineral dos pães F1 e F2.....	103
Tabela 25 - Perfil de ácidos graxos dos pães F1 e F2.	104
Tabela 26 – Teor de isoflavonas para o pão F1 em base seca.....	105

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
2 OBJETIVOS	19
2.1 OBJETIVO GERAL	19
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	19
3 REFERENCIAL TEÓRICO	21
3.1 SOJA	21
3.1.1 Composição nutricional da soja.....	23
3.1.2 Fatores antinutricionais da soja.....	26
3.1.3 Isoflavonas da soja.....	28
3.2 CULTIVAR BRS 257	31
3.3 KINAKO	33
3.4 SEMENTE DE CHIA	35
3.4.1 Composição nutricional da semente de chia	36
3.4.2 Ácidos graxos da semente de Chia	38
3.5 O PÃO NA DIETA HUMANA	41
4 MATERIAL E MÉTODOS	43
4.1 MATERIAL	43
4.1.1 Soja	43
4.1.2 Semente de chia	43
4.2 MÉTODOS	43
4.2.1 Planejamento	43
4.2.2 Elaboração do <i>KINAKO</i>	44
4.2.3 Colorimetria	44
4.2.4 Análises de caracterização química da soja, das farinhas e da semente de chia	45
4.2.5 Análises microbiológicas	49
4.2.6 Composição centesimal	50
4.2.6.1 Umidade	50
4.2.6.2 Cinzas	51
4.2.6.3 Proteína.....	51
4.2.6.4 Lipídios.....	52
4.2.6.5 Fibra bruta	53

4.2.7 Teor de Minerais	54
4.2.8 Formulação do pão de forma	54
4.2.9 Análises microbiológicas do pão	55
4.2.10 Análise sensorial	55
4.2.1.1 Análises de caracterização química do pão	58
4.2.12 Composição centesimal do pão	58
4.2.13 Minerais do pão	59
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	60
5.1 COLORIMETRIA DAS FARINHAS DE <i>KINAKO</i>.....	60
5.2 TEOR DE ISOFLAVONAS DO GRÃO DE SOJA BRS 257 E DAS FARINHAS DE <i>KINAKO</i>	64
5.3 PARÂMETROS QUÍMICO-BROMATOLÓGICOS E MINERAL DA SOJA BRS 257, <i>KINAKO</i> A8 E SEMENTE DE CHIA	79
5.4 PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS (AG) DA SOJA BRS 257, <i>KINAKO</i> A8 E SEMENTE DE CHIA.....	82
5.5 CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS PARA O <i>KINAKO</i> A8	87
5.6 CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS PARA OS PÃES ELABORADOS	88
5.7 ANÁLISE SENSORIAL DOS PÃES ELABORADOS	89
5.8 PARÂMETROS QUÍMICO-BROMATOLÓGICOS E MINERAL DOS PÃES F1 E F2	101
5.9 PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS (AG) DOS PÃES FP E F1	104
5.10 TEOR DE ISOFLAVONAS DO PÃO F1	105
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	107
REFERÊNCIAS.....	108
APÊNDICE.....	127

1 INTRODUÇÃO

A soja [*Glycine max* (L.) Merrill] possui uma composição nutricional completa, contém proteínas, lipídios, carboidratos complexos, oligossacarídeos, fibras solúveis e insolúveis, composição mineral apreciável, além de vitaminas e fitoquímicos importantes em diferentes atividades metabólicas como as isoflavonas (SILVA; CARRÃO-PANIZZI; PRUDÊNCIO, 2009).

Pertencente aos flavonóides, as isoflavonas são metabólitos especializados (reconhecidos como metabólitos secundários) importantes e presentes naturalmente em grãos de soja [*Glycine max* (L.) Merrill] (FIECHTER et al., 2013; KIM et al., 2005). Estes metabólitos especializados têm sido investigados no âmbito da saúde, pois estão associados à redução do risco de alguns tipos de câncer como, de ovário, pulmão, próstata e cólon (LEE et al., 2014; ZHANG et al., 2013; DONG et al., 2013; KIM et al., 2012). As isoflavonas interferem na redução de peso corporal, glicemia e controle de insulina na pós-menopausa (ZHANG et al., 2013) e também auxiliam no aumento da densidade óssea mineral em mulheres (SONG; PAIK; JOUNG, 2008; LIU et al., 2009).

As isoflavonas presentes nos grãos de soja apresentam-se em quatro formas químicas, somando assim doze isômeros: as agliconas, daidzeína, genisteína e gliciteína; os β -glicosídeos, daidzina, genistina e glicitina; os derivados glicosilados acetilados, 6''-O-acetildaidzina, 6''-O-acetilgenistina, 6''-O-acetilglicitina e os derivados glicosilados malonilados, 6''-O-malonildaidzina, 6''-O-malonilgenistina e 6''-O-malonilglicitina (LEE et al., 2003).

A distribuição destas doze isoflavonas encontradas na soja é influenciada por muitos fatores, incluindo genótipos, ano e local de colheita, período de armazenamento e condições ambientais (KIM et al., 2014; MORRISON et al., 2010; LEE et al., 2003). O grão de soja *in natura* contém principalmente isoflavonas na forma de glicosídeos e baixo percentual de forma agliconas (LEE; LEE, 2009). Porém, em produtos à base de soja mudanças na distribuição dos compostos de isoflavonas são dependentes das condições de processamento, principalmente da temperatura de tratamento (LIMA; IDA, 2014).

Tratamentos térmicos são utilizados para converter as isoflavonas β -glicosídicas e glicosilados malonilados em agliconas. Estas agliconas são absorvidas

mais rapidamente e em maiores quantidades do que suas formas glicosídicas, pois estes compostos livres de açúcar possuem menor peso molecular e conseqüentemente podem ser absorvidos diretamente pelo intestino (OKABE; SHIMAZU; TANIMOTO, 2011; KANO et al., 2006; KAWAKAMI et al., 2005; IZUMI et al., 2000).

Dentre as diferentes variedades de soja cultivadas, algumas são específicas para o consumo humano. A variedade BRS 257 foi desenvolvida no Brasil através da EMBRAPA por melhoramento genético para o consumo específico de humanos. Esta variedade de soja é isenta da enzima lipoxigenase, responsável por apresentar sabor adstringente aos produtos alimentícios à base de soja. Os grãos desta variedade sem as isoenzimas lipoxigenases L1, L2 e L3, podem prevenir a oxidação enzimática que atua sobre os ácidos graxos poliinsaturados catalisando a adição de oxigênio à cadeia hidrocarbonatada poliinsaturada (BARROS, 2012; EMBRAPA, 2018).

Do grão de soja é possível se obter uma variedade de produtos derivados, entre eles o *Kinako*, uma farinha de soja muito consumida no Japão, que possui um sabor desejável, sem qualquer odor de feijão cru ou gosto amargo (KATO et al., 1981). Esta farinha processada mantém naturalmente o alto teor de proteína, fibras e outros nutrientes. A farinha de *Kinako* pode ser adicionada ao iogurte, vitaminas, tortas, bolos, confeitos, panificação, molhos, dentre outros (SEDIYAMA, 2009). No Japão é utilizada na fabricação de massas (pastéis de arroz) ou em mistura com o arroz (OETTERER et al., 2006). Possui até duas vezes mais proteína que a farinha de trigo, fibras e baixo teor de carboidratos (SEDIYAMA, 2009).

Considerando a melhora do perfil nutricional nos produtos panificados especialmente o pão (média 33,5 kg/per capita) a substituição da farinha de trigo branca pela farinha *kinako* no pão, pode enriquecer o produto para fornecimento de nutrientes e componentes especiais ABIP (2009).

Para melhorar ainda mais este perfil nutricional a semente da planta chia, rica em fibras solúveis, importante componente de uma dieta, também pode ser utilizada como componente de alimentos panificados.

Devido a essa elevada quantidade de fibras, a semente de chia tem efeito mucilaginoso, ou seja, absorve água, formando um gel no estômago, que leva a uma lenta conversão de polissacarídeos complexos em carboidratos mais simples aumentando a sensação de saciedade, prevenindo e controlando o diabetes,

reduzindo hipercolesterolemia e ocasionando mudanças benéficas na função intestinal (REYES-CAUDILLO, 2008).

Desta forma o objetivo do presente trabalho foi avaliar a influência da temperatura e do tempo de aquecimento, por delineamento central composto rotacional (DCCR), no processo de conversão de isoflavonas β -glicosídicas e glicosilados malonilados em agliconas em farinha de *Kinako*, obtida a partir do grão de soja BRS 257, bem como avaliar as características químicas, microbiológicas e sensoriais do pão integral à base de *kinako* e chia (*Salvia hispanica*).

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Este estudo tem por objetivos: (1) estudar a influência da temperatura e do tempo de aquecimento na produção de farinha integral de soja torrada, *Kinako*, por meio de delineamento fatorial; (2) elaboração de uma nova formulação de pão de forma com farinha de soja integral, kinako, enriquecido com semente de chia.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar o teor de isoflavonas da soja BRS 257;
- Aplicar o delineamento fatorial 2^2 , com quatro pontos axiais e quatro repetições no ponto central para o *Kinako*;
- Elaborar as farinhas de soja integral torradas denominadas *Kinako* e determinar seus teores de isoflavonas;
- Realizar a medição das coordenadas de cor para todos os tratamentos do *Kinako*;
- Determinar o teor de ácidos graxos na farinha de *Kinako* que apresentar o maior teor de isoflavonas agliconas, bem como na grão de soja BRS 257 e na semente de chia;
- Determinar a composição centesimal e mineral da farinha *Kinako* com maior teor de isoflavonas agliconas, bem como do grão de soja BRS 257 e da semente de chia;
- Realizar análise microbiológica da farinha *Kinako* com maior teor de isoflavonas agliconas, bem como realizar a análise sensorial dos pães de forma integral;
- Elaborar pães de forma com semente de chia e com a farinha *Kinako* que apresentar o maior teor de isoflavonas agliconas em diferentes concentrações;
- Determinar as características microbiológicas, dos produtos panificados;

- Determinar a composição centesimal e mineral do pão de forma integral que obtiver maior aceitação;
- Determinar o teor de isoflavonas e ácidos graxos do pão de forma integral que obtiver maior aceitação.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 SOJA

Planta da família *Leguminosae*, cuja espécie cultivada é classificada como *Glycine max* (L.) Merrill, a soja tem origem no Leste Asiático. Inicialmente foi cultivada na China, no Japão, na Indonésia e na Manchúria, com ampla adaptação em climas subtropical e tropical (SEDIYAMA, 2009).

Na Europa este grão chegou por volta do século XV e início do XVI. Nos Estados Unidos, o primeiro relato de seu cultivo ocorreu em 1804. No Brasil, a soja chegou por volta de 1882, mas somente em 1908, com a chegada dos primeiros imigrantes japoneses, trazendo seus hábitos alimentares é que essa cultura foi realmente iniciada (SEDIYAMA, 2009).

Atualmente a soja, no Brasil, é um dos produtos agrícolas de maior importância econômica, tendo atingido volumes recordes nos últimos anos. Em 2012, o país foi o segundo maior produtor mundial de soja, com 65,8 milhões de toneladas, em uma área de aproximadamente 24,9 milhões de hectares (ha), o que corresponde a uma produtividade média de 2,6 mil quilogramas por hectare (kg/ha) (FAO, 2014). Essa produção tende a crescer nos próximos anos, de acordo com a projeção para 2020/21 (BRASIL, 2011).

Nesse contexto, o Brasil alcança papel relevante no processo de abastecimento mundial. Ainda não é o maior produtor mundial de soja, tendo em vista que os Estados Unidos lideram o ranking da colheita. Mas, não se pode ignorar seu destaque produtivo que está bem a frente do terceiro colocado, a Argentina (FAO, 2014).

A produção anual brasileira é liderada pelos estados de Mato Grosso, Paraná, Rio Grande do Sul e Goiás. Estes produzem 82,0 % da soja nacional (BRASIL, 2011).

Uma grande cultura para a temporada de verão, a soja possui em sua vagem, dois a quatro grãos, é escura e felpuda, necessita de temperaturas altas e água abundante para seu perfeito desenvolvimento. Inversamente a outros cultivos proporciona nitrogênio ao solo, pois em suas raízes, crescem colônias de bactérias que convertem nitrato em nitrogênio e, por isso, é utilizada como cultivo alternativo no

Brasil, especialmente em rodízio com o trigo, cultivado em meses de inverno (SALINAS, 2002).

Dos grãos de soja podem-se obter vários produtos derivados, sendo os chineses os primeiros a processar o grão, que eram esmagados para retirada do óleo, utilizado como alimento, e sua farinha empregada inicialmente como fertilizante e na alimentação animal, posteriormente na alimentação humana (SEDIYAMA, 2009).

No cenário brasileiro, a soja é um componente essencial na fabricação de rações animais e adquire importância crescente na alimentação humana. O consumo doméstico de soja em grão segue em aumento e deverá atingir 45,6 milhões de toneladas no final da projeção (2020/21), representando 52,7 % da produção. O consumo projeta-se crescimento a uma taxa anual de 1,9 % (BRASIL, 2011).

A soja e os seus produtos derivados vêm sendo amplamente estudados devido não somente ao seu valor nutricional, mas também devido as suas propriedades funcionais na indústria de alimentos, porque exerce ação moduladora em determinados mecanismos fisiológicos através de suas proteínas e isoflavonas (LEE et al., 2014; ZHANG et al., 2013; DONG et al., 2013; KIM et al., 2012; CIABOTTI, 2006).

O reconhecimento da soja como fonte de proteína de alta qualidade, bem como de outros nutrientes essenciais a alimentação humana, como minerais e vitaminas, tem despertado o interesse do consumo na dieta humana *in natura* ou por intermédio de alimentos enriquecidos com essa leguminosa (SEDIYAMA, 2009).

É fato que além do Japão e da China, outros países da Europa e os Estados Unidos têm utilizado produtos à base de soja como alimento funcional, devido às várias atividades fisiológicas que esta leguminosa apresenta (PARK et al., 2001). A soja tem uma utilização ampla e diversificada em produtos alimentícios e ingredientes para panificação (BOWLES, 2005).

Os benefícios da soja para a saúde são amplamente reconhecidos em todo o mundo e atualmente, a demanda por "alimentos saudáveis" ou "alimentos funcionais" está aumentando em muitos países (SONG; PAIK; JOUNG, 2008; LIU et al., 2009). A soja oferece benefícios potenciais para várias doenças que afligem os seres humanos. Muitos estudos têm sido realizados sobre o positivo aspecto dos componentes de soja possuir várias características, tais como anticancerígenos, antiateroscleróticos, promotores da diminuição de glicose no sangue, antibacterianos, antioxidantes, e

agentes antifúngicos, inibidores de proteína tirosina quinase, e de aromatase (LEE et al., 2003; MANDARINO, 2010).

Na alimentação do brasileiro, a soja adquire importância crescente, devido ao elevado potencial de produção, baixo custo e alto valor nutricional. Este grão, tem sido destacada como importante fonte proteica vegetal, sendo um de seus principais produtos a farinha desengordurada, a farinha de soja integral, o isolado e o concentrado protéico de soja, utilizados principalmente como melhoradores tecnológicos de alimentos industrializados e substituintes da proteína animal (LIU, 2000).

Esta demanda por produtos à base de soja aumentou a partir de outubro de 1999, quando a FDA (*Food and Drug Administration*) destacou os benefícios da dieta rica em alimentos contendo soja e seus derivados. Alegando que a ingestão de 25 g de proteína de soja pode ajudar a reduzir o risco de doenças cardíacas, quando associada com uma dieta com baixos teores de gordura total, gordura saturada e colesterol (FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 1999).

3.1.1 Composição nutricional da soja

A composição da soja varia de acordo com a cultivar e com os fatores climáticos como temperatura, umidade de solo e luminosidade (MORAIS, 1996). Também são considerados como fatores de grande importância na variação dos componentes químicos dessa leguminosa oleosa, os fatores genéticos, grupo de maturação, altitude, latitude e época de semeadura (BORÉM, 1999). Além disso, as variações na composição podem ser influenciadas por ataque de pragas e insetos (MORAIS, 1996).

Em sua composição (Tabela 1) encontram-se em torno de 30 a 45 % de proteína, podendo atingir valores próximos a 53 % (SEDIYAMA, 2009). Enquanto o teor de proteínas na maioria das leguminosas está ao redor de 20 a 25 % (LUI, 2000).

A variação no teor de aminoácidos é relativamente pequena entre as cultivares, muitos aminoácidos essenciais da soja aparecem em quantidades semelhantes às das proteínas do ovo, entretanto observa-se pequena deficiência nos aminoácidos sulfurados como a metionina e a cisteína. Considerando que a soja é indicada, a exemplo de outros vegetais como o arroz e o feijão, como complemento

alimentar (SEDIYAMA, 2009). Essa deficiência é facilmente compensada pois a lisina, aminoácido que ao contrário, aparece em quantidades muito altas, combinando-se muito bem para incrementar o valor biológico em misturas de 20% de soja e 80% de farinha de trigo (SALINAS, 2002).

A aprovação do FDA para permitir que os produtos que contenham pelo menos 6,25 gramas (g) de proteína de soja na porção, possam trazer alegações de saúde sobre a associação entre a proteína de soja e redução do risco de doença cardíaca coronária, levam a um grande aumento nas vendas de alimentos enriquecidos com soja e isoflavonas (SETCHELL et al., 2001).

Tabela 1 - Perfil nutricional do grão de soja expressos por 100 g de matéria seca.

Composição química dos grãos de soja	
Carboidrato complexo (g)	21,0
Carboidrato simples (g)	9,0
Proteína (g)	36,0
Gordura total (g)	19,0
Gordura saturada (g)	2,8
Gordura monoinsaturada (g)	4,4
Gordura poliinsaturada (g)	11,2
Estaquiose (mg)	3,3
Rafinose (mg)	1,6
Fibra insolúvel (g)	10,0
Fibra solúvel (g)	7,0
Cálcio (mg)	276,0
Magnésio (mg)	280,0
Potássio (mg)	1,797
Ferro (mg)	16,0
Zinco (mg)	4,8

Fonte: Mateos-aparicio et al., (2008).

Destaca-se que a inclusão de proteína de soja em uma dieta contendo pouca gordura saturada e colesterol pode reduzir o risco de doenças cardíacas através da diminuição dos níveis de colesterol no sangue. Segundo a Food and Drug Administration (1999) as dietas de baixo teor em gordura saturada e colesterol que incluem 25 g de proteína de soja por dia pode reduzir o risco de doença cardíaca.

A maioria das leguminosas é pobre em lipídeos, porém a soja é uma exceção, por ter a maior quantidade de lipídeos, fornecendo aproximadamente 47 % do valor energético através de lipídeos (LIU, 1997).

O teor de lípideos varia entre 13 a 25 %, podendo chegar a 28 %. O óleo da soja representa 92 % do consumo de óleo comestível, apresenta boa digestibilidade e não contém colesterol. Os lípideos da soja são compostos por ácidos graxos saturados, monoinsaturados e poliinsaturados. Segundo Sedyma (2009) o teor médio dos ácidos graxos saturados é de 11 % para o palmítico e 4 % para o esteárico. O monoinsaturado oleico representa 25 % enquanto o poliinsaturado linoléico representa 50 % e o poliinsaturado linolênico 6 a 8 %. Na composição dos lípideos, observa-se de 1 a 3 % de substâncias não saponificáveis como esteróides, tocoferóis e vitamina A.

Os carboidratos representam 34 % dos componentes totais do grão de soja, constituída por galactanas, pentosanas, hemicelulose e celulose, e são menos estudadas em razão de sua pouca utilização. No entanto, os açúcares livres correspondem a 8 % do total, sendo esta fração constituída de sacarose (60 %), rafinose (4 %) e estaquiase (36 %) (SEDIYAMA, 2009).

A sacarose é a único carboidrato assimilável pelo organismo, e que apresenta valor nutricional. A estaquiase e a rafinose são oligossacarídeos complexos presentes na soja que não são digeridos ou utilizados como nutrientes diretos pelos humanos, porém são fontes de nutrientes para os micro-organismos benéficos presentes no intestino delgado. Este tipo de flora intestinal é considerada benéfica para a saúde, pois em conjunto com as fibras, podem reduzir o risco de câncer do cólon e outras doenças intestinais. Entretanto, esses carboidratos, quando degradados pelas bactérias intestinais, liberam gás e provocam desconforto e flatulência (SILVA, 2009).

A casca da soja é uma excelente fonte de fibras, e contém 87 % das fibras contidas no grão, sendo 40 a 53 % celulose, 14 a 33 % hemicelulose e 1 a 3 % lignina. Estudos realizados com sete cultivares brasileiras apontaram uma variação de 6,13 a 7,06 % no teor de fibras (SEDIYAMA, 2009).

A celulose e a hemicelulose são os principais componentes da fração de uma dieta de origem vegetal, conhecidos como “fibra dietética”. A celulose é considerada como sendo o composto orgânico mais abundante na terra, consiste em moléculas lineares de pelo menos 3.000 unidades de glicopirranose unidas por ligações glicosídicas $\beta 1 \rightarrow 4$. As hemiceluloses estão intimamente associadas com a celulose, nas paredes vegetais. A lignina é o primeiro dos tecidos lenhosos, embora sua estrutura detalhada ainda não seja completamente compreendida, ela é

fundamentada na condensação de aldeídos aromáticos como vanilina, siringaldeído e *p*-hidroxibenzaldeído (COULTATE, 2004).

As fibras celulósicas tem em comum o fato de não serem decompostas no intestino delgado de mamíferos por enzimas digestivas. Contudo, podem ser, pelo menos em um certo grau, fracionadas por bactérias residentes no intestino grosso dos seres humanos (COULTATE, 2004).

A soja apresenta em sua composição uma boa fonte de minerais, entre eles magnésio (220-240 mg/100 g), fósforo (590-660 mg/100 g), ferro (2-18 mg/100 g) e cobre (12 ppm). Também apresenta frações importantes de cálcio, sódio, enxofre, iodo e zinco (SEDIYAMA, 2009).

Os teores de vitamina variam de acordo com a parte e o estágio da planta. Na soja madura, quando é observado 95 % das vagens maduras e o teor de umidade variando de 13 a 15 %, se tem ótimas fontes de vitamina E e K, tiamina, riboflavina e ácido fólico (SEDIYAMA, 2009).

3.1.2 Fatores antinutricionais da soja

Existem outros componentes naturais da soja, como os fatores antinutricionais. Estes podem desencadear efeitos fisiológicos adversos, ou ainda, reduzir a biodisponibilidade e absorção de alguns nutrientes. Um aspecto de grande importância é o desconhecimento dos níveis de tolerância do organismo humano frente a presença desses antinutrientes, bem como a diferença desta tolerância de um indivíduo a outro, influenciada ainda por fatores ambientais que atuam sobre a capacidade de detoxificação do organismo exposto (SILVA; SILVA, 1999).

Entre os principais fatores antinutricionais, encontram-se os inibidores de tripsina, que por serem, termolábeis, perdem seu efeito durante a cocção. Podem hipertrofiar os ácinos exócrinos pancreáticos de animais alimentados cronicamente com soja crua (SALINAS, 2002).

Porém, em um estudo realizado por Ribeiro (2010) o inibidor de tripsina da soja é um forte candidato para o desenvolvimento de drogas e uso em terapias que possam auxiliar no tratamento de doenças inflamatórias crônicas e agudas de caráter infeccioso ou não infeccioso. É eficaz no processo de injúria pulmonar aguda,

diminuindo o edema pulmonar, eventos hemorrágicos e níveis de atividade elastásica, reduzindo significativamente o influxo de células inflamatórias, dano tecidual e formação excessiva de exsudato. Esse estudo não revelou efeitos tóxicos ou deletérios em ensaios de toxicidade aguda em camundongos, não demonstrando alteração na massa dos órgãos, contagem celular sanguínea e níveis séricos de transaminases, demonstrando sua baixa toxicidade quando administrado periodicamente em concentrações de até 1000 µg/kg. Estes resultados sugerem que o inibidor de tripsina da soja pode ser indicado como um potencial agente farmacológico na terapia de muitas doenças inflamatórias.

Dentre estes fatores antinutricionais encontram-se as hemoaglutinas, porém sua atividade só foi comprovada *in vitro*. Supõe-se que os sucos digestivos as inibam (SALINAS, 2002).

Existem também as lectinas, que são glicoproteínas presentes em 1 % a 3 % na soja e de ampla distribuição nos alimentos de origem vegetal. Estas se ligam às células epiteliais da parede do intestino provocando problemas nutricionais porque interferem na absorção de nutrientes. Outras lectinas agem como inibidoras da síntese proteica. O cozimento prolongado ou aquecimento a seco pode reduzir a atividade deste composto (OETTERER, 2006).

Como a maior parte dos fatores antinutricionais é termolábil e humanos consomem apenas leguminosas após a cocção, eles não constituem um problema de saúde maior (OETTERER, 2006).

Nas leguminosas, o ácido fítico também conhecido como fitato exerce influência sobre a biodisponibilidade do ferro, evitando a complexação deste íon com a gastroferrina no estômago. Os fitatos também exercem influência na absorção de manganês, zinco e cálcio (SILVA; SILVA, 1999; SALINAS, 2002). Deste modo, podem provocar efeitos fisiológicos adversos ou diminuir a biodisponibilidade de certos nutrientes (SILVA; SILVA, 1999). Apesar de se enfatizar o efeito do fitato na absorção de minerais, ocasionado pela formação de quelatos com íons metálicos como o cálcio, ferro e zinco, esta mesma habilidade em ligar-se a minerais tem sido estudada com relação aos efeitos benéficos para o organismo humano. Os dados sobre fitato e prevenção de câncer e cálculos renais embora sejam ainda limitados, sugerem uma nova visão da ação do fitato no organismo humano, indicando que este possa ter um impacto positivo na dieta como antioxidante (SILVA; SILVA, 1999; HAN et al., 2012).

Os agentes de flatulência são responsáveis pela formação de *flatus* (acúmulo de gases no estômago e no intestino), ocorre na maioria dos casos após a ingestão de grãos e é um fator que diminui a aceitação das leguminosas na dieta em indivíduos que não produzem a enzima α -galactosidase, responsável pela hidrólise das ligações α -galactosídicas. Chegando ao intestino sem serem digeridos, os oligossacarídeos são fermentados pela microflora anaeróbia que os hidrolisa a monossacarídeos, produzindo gás carbônico, hidrogênio e metano (OETTERER, 2006).

As saponinas são amorfas, incolores e produzem soluções espumosas (SALINAS, 2002). A saponina encontra-se em baixas concentrações, 0,5 %, sendo associadas ao sabor adstringente, têm efeito hemolítico nas células vermelhas e são consideradas de menor importância como antinutricional (OETTERER, 2006). Podem ser divididas em dois grupos. As saponinas do grupo A estão presentes no eixo embrionário e são responsáveis pelo sabor adstringente da soja. As saponinas do grupo B estão presentes no eixo embrionário e cotilédones e são as responsáveis pelos benefícios à saúde. Alguns dos benefícios à saúde atribuídos às saponinas são: atividade antiviral contra o HIV, atividade quimioprotetora, imunoestimulatória, anticarcinogênica e redutor do colesterol (ISANGA; ZHANG, 2008).

Ainda que, alguns compostos bioativos na soja são relatados para ter alguns efeitos adversos para a saúde, segundo Isanga e Zhang (2008), os benefícios destes componentes bioativos excedem, de longe, os seus potenciais efeitos adversos.

Há também relatos de que os fitoestrógenos podem desencadear a puberdade precoce, como por exemplo a associação positiva de telarca (desenvolvimento do tecido mamário) precoce com consumo de fórmulas baseadas em soja (FRENITITULAER ET AL., 1986).

3.1.3 Isoflavonas da soja

Os inúmeros efeitos benéficos da soja e seus derivados não estão relacionados somente às suas proteínas, à fase oleosa e aos carboidratos, mas também à presença de outras substâncias, como as isoflavonas (GENOVESE et al., 2005).

As isoflavonas, metabólitos secundários (também conhecidos como metabólitos especializados) importantes de soja são compostos fenólicos

pertencentes à classe dos flavonóides (LEE et al., 2003). Estes compostos estão presentes em grãos de soja e apresentam-se em quatro formas químicas, somando assim doze isômeros: as agliconas: daidzeína, genisteína e gliciteína; os β -glicosídeos: daidzina, genistina e glicitina; e os derivados glicosilados acetilados: 6''-O-acetildaidzina, 6''-O-acetilgenistina, 6''-O-acetilglicitina e glicosilados malonilados: 6''-O-malonildaidzina, 6''-O-malonilgenistina e 6''-O-malonilglicitina (ÁVILA; ALBRECHT, 2010; LEE et al., 2003). Porém, em produtos à base de soja a distribuição dos compostos de isoflavonas depende das condições de processamento, principalmente a temperatura de tratamento do material (GOES-FAVONI et al., 2004).

A distribuição destas doze isoflavonas encontradas no grão de soja é influenciada por muitos fatores, incluindo genótipos, ano e locais de colheita, período de armazenamento e ambiente. O grão de soja *in natura* contém principalmente isoflavonas na forma glicosídica e baixo percentual de formas agliconas (LEE et al., 2004).

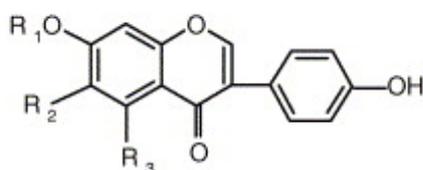
Mudanças na distribuição das isoflavonas nos alimentos à base de soja são dependentes das condições de processamento. A soja é composta por cerca de 70 a 80 % de malonil- β -glicosídeos, 5 % de acetil- β -glicosídeos, 25 % β -glicosídeos, e menos de 2 % agliconas. O tratamento térmico convencional diminui derivados de malonil em β -glicosídeos via intra-conversão, enquanto agliconas têm maior resistência ao calor (LEE; LEE 2009).

As isoflavonas podem sofrer transformações durante o processo de fabricação de ingredientes e alimentos à base de soja, havendo conversão parcial das formas esterificadas para as formas glicosiladas e agliconas. O aquecimento promove a conversão das formas malonil em acetil (WANG; MURPHY, 1996).

Estudos revelam que as isoflavonas agliconas da soja são absorvidas mais rapidamente e em maiores quantidades do que seus respectivos glicosídeos em humanos, pois as formas agliconas (livres de açúcar) podem ser diretamente absorvidas pelo intestino delgado.

As agliconas, daidzeína, genisteína e gliciteína são os três principais isoflavonas de soja (Tabela 2).

Tabela 2 - Estruturas químicas de três agliconas de isoflavonas de soja e os seus principais glicosídeos respectivos.



R1	R2	R3	Componentes
H	H	OH	Genisteína
Glicose	H	OH	Genistina
H	H	H	Daidzeína
Glicose	H	H	Daidzina
H	OCH3	H	Gliciteína
Glicose	OCH3	H	Glicitina

Fonte: Prabhakaran, (2006).

Setchell et al. (2001) constataram que as isoflavonas glicosídicas não são absorvidas intactas: a biodisponibilidade requer uma hidrólise inicial do açúcar, para que sejam transportadas pela circulação periférica. O estudo demonstrou que o tempo médio para alcançar o pico de concentração plasmática (t_{max}) das agliconas, genisteína e daidzeína foi de 5,2 e 6,6 horas (h), respectivamente, enquanto que para os correspondentes β -glicosídeos, o t_{max} foi retardado para 9,3 e 9,0 h, respectivamente, em consonância com a residência tempo necessário para a clivagem hidrolítica do radical glicosídeo para a biodisponibilidade. As isoflavonas agliconas (daidzeína e genisteína), são compostos mais prontamente disponíveis. A biodisponibilidade sistêmica da genisteína é muito maior do que a de daidzeína.

De acordo com Izumi et al. (2000), testes revelaram absorção superior de IFA (Isoflavonas agliconas) em seres humanos. Portanto, IFA são mais úteis do que IFG (isoflavonas glicosídicas) na manutenção de um alto nível de concentração de isoflavonas no plasma. A genisteína é absorvida de forma mais eficiente do que a daidzeína e uma concentração mais elevada desta no plasma é mantida. Revelando que produtos ricos em genisteína podem ser úteis na prevenção da osteoporose, sintomas da menopausa, doenças coronárias e câncer.

A aglicona genisteína, é a mais importante isoflavona no plasma dos homens, em um estudo com sete homens japoneses saudáveis após o consumo de uma dose única de farinha de soja torrada (*kinako*). O costume tradicional da

população japonesa em consumir produtos derivados da soja pode ser importante na prevenção de câncer (WATANABE et al., 1998)

Zhang et al. (2012) destaca o efeito anti-CSC (células-tronco do câncer) da genisteína e também confirma que esta, tem efeitos quimiopreventivos contra câncer de próstata, concluindo que a aglicona genisteína, um composto natural, não tem efeitos colaterais tóxicos combinados, e pode ser seguro para a prevenção e tratamento de câncer de próstata.

O consumo da soja está associado ao alívio dos sintomas da menopausa, prevenção da arteriosclerose, osteoporose e redução dos níveis de colesterol sanguíneo. Contém agentes que previnem o câncer, inibindo o início de tumores, promovem a prevenção de danos oxidativos, afetam a produção de hormônios esteróides, ocupando os receptores de estrógenos no organismo, assim como o metabolismo das prostaglandinas, impedindo o crescimento de tumores cancerígenos (OETTERER et al., 2006). De acordo com Lee et al. (2003) podem reduzir o risco de doenças cardiovasculares e melhorar a saúde do osso, estimulando a formação óssea osteoblástica e inibindo a reabsorção óssea osteoclástica.

3.2 CULTIVAR BRS 257

Com o objetivo de aumentar sua aceitação pelo consumidor, visto seus benefícios nutricionais, programas de melhoramento genético brasileiro têm desenvolvido linhagens de soja com ausência de enzimas responsáveis pelo odor e pelo sabor desagradável das cultivares tradicionais (REETZ et al., 2008; EMBRAPA SOJA, 2010). Os sabores e odores desagradáveis (*off flavor*) dos produtos da soja são atribuídos à ação das enzimas lipoxigenases, as quais, amplamente distribuída em uma grande variedade de plantas, responsáveis por um fator fisiológico importante na biossíntese de etileno e no amadurecimento dos frutos (RACKIS, 1979; JAEKEL et al., 2010).

Segundo Smith et al. (1985) as lipoxigenases são utilizadas como proteínas de reserva vegetativa no armazenamento temporário de nitrogênio e possuem função importante também no crescimento e desenvolvimento da planta com resposta a ferimentos e a danos causados por insetos-praga e patógenos; e contribuem na

biossíntese de moléculas regulatórias em plantas (HILDEBRAND, 1989; SIEDOW, 1991).

Lipoxigenases catalisam a dioxigenação estereoespecífica de ácidos graxos polinsaturados contendo o sistema cis,cis-1,4-pentadieno, com formação dos respectivos derivados hidroperóxidos, originando, assim, moléculas reativas com atividades fisiológicas pronunciadas (RACKIS, 1979).

As lipoxigenases de grãos de soja afetam as propriedades e qualidades de produtos alimentícios derivados, particularmente, pelas suas participações na formação dos compostos responsáveis pelos sabores indesejáveis característicos desses produtos. O “*beany flavor*”, sabor de feijão cru, origina-se da associação de compostos carbonílicos de cadeia curta com a fração protéica. Estes compostos orgânicos são produtos finais de uma série de reações, que se iniciam com a hidroperoxidação de ácidos graxos polinsaturados, catalisada por lipoxigenases (SILVA, 1999).

De acordo com Ciabotti (2007) observou-se, pelo teste triangular quanto aos aspectos sensoriais, diferença significativa ($p < 0,001$) entre o extrato de soja obtido de soja comum e o livre de lipoxigenase, supostamente ocasionada pela presença e ação das enzimas lipoxigenases nos grãos de soja comum, causando no produto sabor e odor indesejáveis. A ausência da enzima lipoxigenase nos grãos da soja, proporcionou sabor mais agradável no extrato obtido com este cultivar, o qual foi confirmado no teste de aceitação.

Segundo Ciabotti (2006) a composição centesimal das cultivares de soja comum e livre de lipoxigenase não se diferencia e o estudo mostra que, o conteúdo de proteína, lipídeos e fibras da soja livre de lipoxigenase foram semelhantes a soja convencional.

A cultivar utilizada para esta pesquisa foi a BRS 257 e a mesma apresenta características especiais quanto à reação a doenças, sendo resistente ao cancro da haste, à mancha olho-de-rã, ao mosaico comum da soja e podridão parda da haste. É moderadamente resistente ao oídio e ao nematóide de galha (*Meloidogyne incógnita*) e suscetível a podridão radicular de fitóftora, ao vírus da necrose da haste, ao nematóide de galha (*Meloidogyne javanica*) e ao nematóide de cisto (EMBRAPA SOJA, 2010).

Esta cultivar deve ser semeada preferencialmente no vigésimo quinto dia do mês de novembro ao quinto dia do mês de dezembro e sua maturação é tida como

semiprecoce. O peso médio de 100 grãos é 14,4 g com teor médio de proteína de 41,3% e 22,6% de lipídeos. As características do seu ciclo e densidade de semeadura estão relacionadas (Tabela 3) (EMBRAPA SOJA, 2010).

Tabela 3 - Classificação média da cultivar BRS 257.

Altitude	Ciclo (dias)*	Acamamento	Densidade de semeadura (plantas/m)** no PR
Até 500 metros	114 – 120	Moderadamente Resistente	12 – 16
500 a 800 metros	122 – 128	Moderadamente Resistente	12 – 16
Acima de 800 metros	130 – 140	Moderadamente Suscetível	10-12

* Característica que pode sofrer variação com o ano, região e época de semeadura. ** Espaçamento de 45 centímetros (cm).

Fonte: Embrapa soja, (2010).

A cultivar BRS 257 não apresenta as três enzimas lipoxigenases, permitindo assim a obtenção de produtos para a alimentação humana com melhor qualidade e sabor. As regiões de plantio mais indicadas são os estados, Rio Grande do Sul (RS), Santa Catarina (SC), Paraná (PR) e São Paulo (SP). Esta variedade de soja foi obtida através do cruzamento entre as cultivares BR93-32109 e BR94-23396 em experimentos de melhoramento genético na EMBRAPA SOJA de Londrina, Paraná (EMBRAPA SOJA, 2010).

Esta variedade possui crescimento determinado e disponibiliza matéria prima de excelente qualidade e sabor superior. Possui a cor do hilo marrom clara, a cor da flor branca e a pubescência cinza (EMBRAPA SOJA, 2010).

3.3 KINAKO

A soja processada dá origem a farinha de soja torrada, chamada *Kinako* em japonês, e em chinês, *tou-fen*. É uma farinha fina obtida de grão de soja torrados e moídos (KATO et al., 1981; OETTERER et al., 2006). A operação de torração estende-se até se conseguir o aroma desejado. A farinha de *Kinako* é obtida após a secagem

da soja em temperatura branda até que ela fique bem seca e adquira um pouco de cor, tomando o cuidado para que a mesma não escureça. Esta deve ter cheiro agradável de amendoim torrado (SEDIYAMA, 2009).

No *kinako* pode-se ou não remover a casca do grão tostado. Sua produção é feita em pequenas unidades fabris, fabricando-se, diariamente, em média 200 Kg de soja por instalação (SEDIYAMA, 2009).

O *kinako* é o grão de soja torrado e moído, enquanto a farinha de soja comum é feita após o tratamento térmico do grão, fervura seguida de choque em água fria. (EMBRAPA SOJA, 2013).

Muito consumido no Japão, tem um sabor desejável, sem qualquer odor de feijão cru ou gosto amargo (KATO et al., 1981). Esta farinha mantém naturalmente o alto teor de proteína, fibras e os outros compostos benéficos à saúde humana. Pode ser adicionado ao iogurte, vitaminas, tortas, bolos, confeitos, panificação, molhos, dentre outros (SEDIYAMA, 2009). No Japão é utilizado na fabricação de massas (pastéis de arroz) ou em mistura com o arroz (OETTERER et al., 2006). Possui até duas vezes mais proteína que a farinha de trigo, fibras e baixo teor de carboidratos. Pode ser obtida de forma artesanal e apresentar um sabor adstringente devido às enzimas presentes na soja convencional (SEDIYAMA, 2009). Este sabor, pode ser eliminado se utilizados grão livres de lipoxigenases.

No tratamento térmico, o sabor típico da soja geralmente diminui, embora a solubilidade da proteína decresça, e se observe o escurecimento da cor a temperaturas mais elevadas (KATO et al., 1981).

Nakamura et al. (2000) em um estudo onde foram analisados alimentos processados à base de soja no Japão, verificaram que o maior teor de isoflavonas foi encontrada em *kinako* e a menor foi encontrado em molho de soja. Porém a percentagem de aglicona tendeu a ser maior em *missô* (pasta de soja fermentada) e molho de soja, os quais são aquecidos e fermentados durante o processo de fabricação.

A farinha de soja integral é um ingrediente popular para panificação já que sua incorporação à massa proporciona uma crosta mais clara, e, mais importante, causa um aumento na vida de prateleira do produto. Além disso, a adição de farinha de soja em produtos alimentícios como os de panificação gera um aumento no teor protéico do produto elaborado, podendo ser utilizada onde existe certa carência protéica (BOWLES, 2005).

3.4 SEMENTE DE CHIA

As sementes de *Salvia hispanica* L., mais conhecidas como sementes de chia, foram um alimento básico importante para mesoamericanos em tempos pré-colombianos (BORNEO, 2010).

Chia, é uma planta da família das *Lamiaceae* nativa do México e da Guatemala. Esta cultura era cultivada por comunidades pré-colombianas, onde foi a terceira fonte econômica mais importante, ultrapassada apenas pelo milho (*Zea mays* L.) e feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). Estas sementes eram utilizadas como alimento na forma de semente ou farinha, bebida (mistura de sementes com água ou suco de limão), tinta e também para a medicina. No entanto, com o contato e a colonização espanhola, o cultivo das espécies diminuiu acentuadamente (AYERZA, 2005; IXTAINA, 2008; BORNEO, 2010; IXTAINA et al., 2011).

Além do México a chia também era consumida no sudoeste dos Estados Unidos. Em menor quantidade, na América do Sul e não muito conhecida na Europa (IXTAINA, 2008).

Em 1991, um grupo de produtores, cientistas e entidades comerciais associada no Projeto Noroeste Regional Argentina começaram novamente o cultivo de chia em pequena escala. Hoje em dia, semente de chia é uma fonte potencial de nutrientes para as indústrias alimentares e de animais (CAPITANI et al., 2012; MUÑOZ et al., 2012).

Hoje em dia, a chia é comercialmente cultivada no México, Bolívia, Argentina, Equador e Guatemala (IXTAINA, 2008).

No Brasil, o cultivo de chia ainda é muito discreto, existem somente pequenas plantações, no sudoeste do estado do Paraná, na cidade de Chopinzinho e Renascença.

É uma planta pouco tolerante a geadas e pode ser cultivada em estufas. Suas sementes são pequenas e possuem formato elipsoide (Figura 1) (IXTAINA, 2008; BORNEO, 2010). A planta produz sementes de cor marrom, preto e bege (sem pigmentação) (MUÑOZ et al., 2012). As sementes escuras apresentam em média 2,11, 1,32 e 0,81 milímetros (mm) e as sementes beges 2,15, 1,40 e 0,83 mm de

comprimento, largura e espessura respectivamente. Entre sementes beges e escuras, mil unidades possuem em média 1,312 gramas (IXTAINA, 2008).



Figura 1- Ilustração da semente de chia
Fonte: Google Imagens, (2013).

Embora a chia não seja um alimento popular, sua produção global está aumentando devido às suas propriedades de saudabilidade e bem-estar, seu teor de proteína, óleo, fibras e antioxidantes (MUÑOZ et al., 2012).

3.4.1 Composição nutricional da semente de chia

Cultivada por milhares de anos, avaliações recentes de suas propriedades e utilizações possíveis mostraram que ela tem um elevado valor nutricional com alto conteúdo de ácido linolênico, fibra dietética e proteína (BORNEO, 2010).

A semente da planta chia, é rica em fibras solúveis e, importante componente na dieta. Devido a essa elevada quantidade de fibras, a semente tem efeito mucilaginoso, ou seja, absorve água, formando um gel no estômago, que leva a uma lenta conversão de polissacarídeos complexos em carboidratos mais simples, aumentando a sensação de saciedade, prevenindo e controlando o diabetes, reduzindo hipercolesterolemia e ocasionando mudanças benéficas na função intestinal (REYES-CAUDILLO, 2008).

Segundo Va'Zquez-Ovando (2009), na semente de Chia, a fração rica em fibras possui 29,56 g/100 g de fibra bruta, 56,46 g/100 g de fibra dietética total sendo 53,45 g/100 g de fibra dietética insolúvel e 1,3 g/100 g de fibra dietética solúvel.

Sementes de chia em contato com água formam uma “cápsula transparente em torno da semente”, podendo reter até vinte e sete vezes seu peso em água. Devido a esta característica, a semente tem um grande potencial como um ingrediente funcional para ser utilizada como espessante em alimentos (MUÑOZ et al., 2012).

A chia tem 25-38 % de óleo em sua semente e, contém a maior proporção de ácido linolênico (60 %) de toda fonte vegetal conhecida (MUÑOZ et al., 2012; IXTAINA, 2011). Cerca de um terço desta semente é composta de ácidos graxos, e desses, duas partes é do ácido graxo poliinsaturado (PUFA), ácido linolênico (C18:3), mais conhecido como ômega-3, óleo essencial que o organismo humano é incapaz de produzir.

Segundo Taga et al. (1984); EFSA (2005, 2009) e Reyes-Caudillo (2008), a chia, têm uma enorme vantagem sobre as demais fontes de ômega-3, pois possui estabilidade devido a presença de antioxidantes naturais, como miricetina, quercetina, kaemferol e principalmente ácidos caféico e clorogênico. As sementes de chia possuem um importante papel como antioxidantes em produtos alimentares, devido à atividade de compostos fenólicos associados. Estes podem ser usados como antioxidantes naturalmente potentes ou ingredientes funcionais com aplicações comerciais, indicado para gorduras e óleos (REYES-CAUDILLO, 2008).

A chia possui em média 21 % de composição proteica, um nível sensivelmente superior a grãos como trigo (14 %), milho (14 %), arroz (8,5 %), aveia (15,3 %), cevada (9,2 %), e amaranto (14,8 %). A proteína desta semente é completa com muitos aminoácidos essenciais o que é muito raro para uma fonte vegetariana de proteína (EFSA, 2005, 2009). Além dessas propriedades a chia é uma boa fonte de vitaminas do complexo B, cálcio, fósforo, potássio, zinco e cobre (EFSA, 2005).

A composição centesimal da chia esta descrita na tabela 4. Em 2009, a chia foi aprovado como novo alimento pelo Parlamento Europeu e pelo Conselho Europeu. Não há nenhuma evidência de efeitos adversos ou de alergenicidade causados pela semente de chia (EFSA, 2005; MUÑOZ et al., 2012).

Tabela 4 - Composição de sementes de chia

Nutriente	Resultado Médio (%)	Amostras de origem / Data
Proteína	21,1 (15 - 25)	Bolívia, Santa Cruz Colheitas 2005 – 2008
	21,1 (20,8 – 21,3)	Bolívia, Santa Cruz, dez. 2008 Quatro remessas do Peru
Gordura	32,8 (30 - 35)	Bolívia, Santa Cruz Colheitas 2005 – 2008
	31,5 (31,5 – 32,6)	Bolívia, Santa Cruz, dez. 2008 Quatro remessas do Peru
Carboidrato	37,5 (26 – 41)	Bolívia, Santa Cruz Colheitas 2005 – 2008
	24,0 (18,0 - 30,0)	Bolívia, Santa Cruz Colheitas 2005 – 2008
Fibra bruta	19,4	Bolívia, Santa Cruz, dez. 2008
	27,8 (24,9 – 30,0)	Quatro remessas do Peru

Fonte: EFSA, (2009).

3.4.2 Ácidos graxos da semente de Chia

Ácidos graxos são constituintes de lipídios que podem ser também encontrados nas sementes de chia. O organismo humano é capaz de produzir ácidos graxos saturados e insaturados a partir de carboidratos e proteínas. Contudo, dois ácidos graxos insaturados não podem ser sintetizados e são, portanto, nutricionalmente essenciais: o ácido linoléico (18:2n-6, AL) e o ácido alfa-linolênico (18:3n-3, AAL) (Figura 2). Ambos são substratos para a produção de outros ácidos graxos insaturados do tipo ômega 6 e 3, que só é possível a partir de ácidos graxos de sua respectiva família ômega (PHILIPPI, 2008).

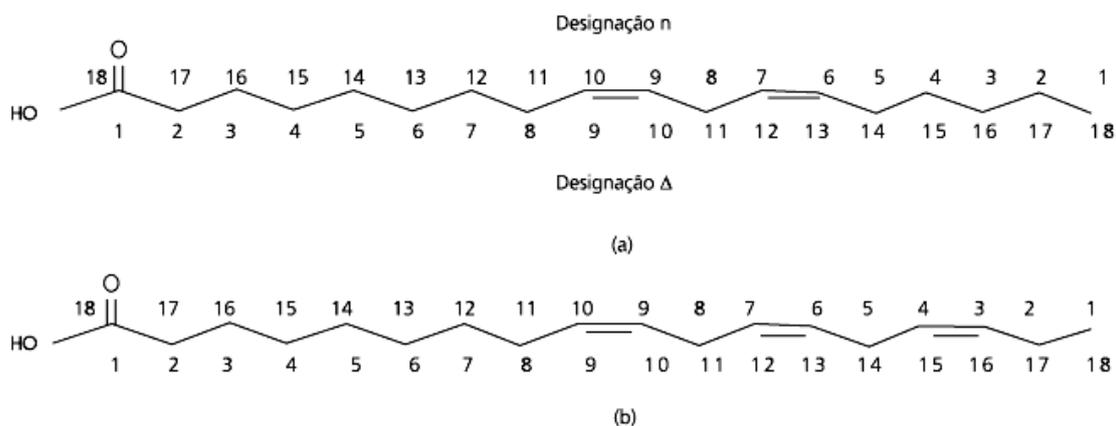


Figura 2 - Estrutura dos ácidos linoléico (a) e linolênico (b).

Fonte: Martin, (2006).

O termo ômega seguido de um número refere-se à posição da dupla ligação do ácido graxo. O aumento da cadeia carbônica e a inserção de novas duplas ligações geram ácidos graxos de cadeia longa. Considerando a impossibilidade de inserção de insaturações na extremidade metilênica da molécula, todos os ácidos derivados do ácido linoléico serão da série ômega 6 e os derivados do ácido alfa-linolênico, da série ômega 3 (DOLINSKY, 2009).

A produção de ácidos graxos insaturados a partir dos ácidos graxos linoleico e linolênico ocorre por intermédio das enzimas elongases e dessaturases. As elongases catalizam o alongamento da cadeia carbônica de ácidos graxos pela adição sequencial de pares de carbonos à extremidade delta, onde se encontra o grupo carboxílico. As dessaturases promovem a inserção de ligações duplas nas cadeias carbônicas, restrita a posições distanciadas pelo menos nove carbonos da extremidade onde se encontra o grupo carboxílico. Por esta razão o organismo humano não é capaz de sintetizar os ácidos linoleico e linolênico a partir de outros ácidos graxos, nem converter um ácido graxo ômega 6 em ômega 3 (PHILIPPI, 2008).

A partir do ácido linoleico é sintetizado outro ácido graxo importante do ponto de vista metabólico, o araquidônico (C 20:4, ômega 6). Este ácido, por sua vez, dá origem a eicosanóides da família ômega 6. A partir do ácido alfa-linolênico o organismo produz outros ácidos graxos da família ômega 3, altamente insaturados e metabolicamente importantes: o eicosapentaenoico (EPA, C 20:5) e o decosahexaenoico (DHA, C 22:6). O EPA e o DHA dão origem aos eicosanóides da família ômega 3 (PHILIPPI, 2008).

Em humanos, os ácidos AL e AAL são necessários para manter sob condições normais, as membranas celulares, as funções cerebrais e a transmissão de impulsos nervosos, participam também da transferência do oxigênio atmosférico para o plasma sanguíneo, da síntese da hemoglobina e da divisão celular (MARTIN, 2006).

O ácido graxo oleico também pertencente às séries ômega, mais conhecido como ômega-9, porém não é essencial, uma vez que pode ser sintetizado pelo organismo. O ácido oleico destaca-se como um dos mais amplamente distribuídos na natureza. Na ausência dos ácidos graxos essenciais, o corpo humano introduz uma dupla ligação entre os átomos do carbono 9, 10 do ácido esteárico para formar o oleico (VIANNI; BRAZ-FILHO, 1996).

Segundo Ayerza e Coates (2005) há evidências que consumo regular de ácidos graxos ômega-3 previne doenças cardiovasculares, aterosclerose e trombose, no entanto, a maioria dos estudos tem sido realizada com óleos de peixe. Neste contexto os autores realizaram um estudo com vinte e quatro ratos *Wistar* machos, e demonstraram que a chia, por conter ácido graxo α -linolênico, proporcionou um aumento do HDL (*High density lipoprotein*) colesterol bom e diminuiu significativamente o conteúdo de triglicerídeos no plasma sanguíneo dos ratos. Este estudo sugere que os lipídios da chia podem ser uma alternativa para vegetarianos, tais como as pessoas com alergias a peixes.

Em um estudo realizado por Poudyal et al. (2012) em ratos obesos verificaram que as sementes de chia são uma fonte de ácido α -linolênico e podem induzir redistribuição lipídica longe da cavidade abdominal, associada com cardioproteção e hepatoproteção. As sementes de chia também melhoram a tolerância a glicose e insulina, reduzem a adiposidade visceral, diminuem a esteatose hepática e reduzem fibrose cardíaca e hepática em ratos.

Observa-se também em um estudo realizado por Espada et al. (2007) que uma dieta com óleo de semente de chia reduziu significativamente o peso do adenocarcinoma na glândula mamária de ratos, ligado a um aumento na apoptose e na redução da mitose encontrada em tecidos tumorais. Estes dados mostram que o óleo de chia, uma fonte antiga e quase desconhecida de ômega-3, inibe o crescimento e a metástase do tumor neste modelo.

Já de acordo com Nieman et al. (2009), a ingestão de 50 g de sementes de chia por dia ocasionam um aumento significativo nos níveis plasmáticos de ômega-3, em homens e mulheres com sobrepeso. Porém neste mesmo estudo, os autores

verificaram que a ingestão de 50 g/dia de chia, durante 12 semanas por homens e mulheres com excesso de peso e obesidade não tiveram influência sobre a massa corporal ou sua composição, não atenuaram inflamação, não aumentaram a capacidade antioxidante do sangue, ou melhoraram o perfil lipídico no sangue em homens com excesso de peso e mulheres. Este estudo indica que a semente de chia deve estar aliada a uma alimentação saudável e balanceada.

De acordo com a *European Food Safety Authority* (EFSA), ao incluir chia no pão à um nível de 5 %, há o potencial de contribuir para uma melhor ingestão diária de ácidos graxos ômega-3 através de um alimento básico.

3.5 O PÃO NA DIETA HUMANA

O pão é um produto alimentício pré-histórico, basta recordar as inúmeras vezes em que é mencionado na Bíblia. A história do pão está diretamente relacionada com a história da humanidade. Existem achados arqueológicos de pães nas tumbas dos reis do Antigo Egito e pedaços de cereais moídos fermentados encontrados em vasilhas de cavernas que abrigaram o homem na antiguidade. Dados registram a utilização do pão e produtos a base de trigo há cerca de 3000 à 4000 anos a.C. em povos da Mesopotâmia e Egito (SALINAS, 2002; BOWLES, 2005).

Destaca-se também, a ampla distribuição do pão, nas diferentes culturas alimentares em todo mundo. Ainda que varie o tipo de cereal e a forma de produzi-lo. Praticamente não existem povos na Terra que não tenham o costume de acompanhar suas comidas com algum tipo de pão ou fazer dele um alimento básico em suas refeições diárias (SALINAS, 2002).

É um alimento processado que resulta grande importância do ponto de vista nutricional, por seu conteúdo proteico e por ser fonte de energia, devido ao seu elevado teor de carboidratos (QUAGLIA, 1991). O pão é um produto obtido pela cocção, em condições tecnologicamente adequadas, de uma massa fermentada ou não, preparada com farinha de trigo e ou outras farinhas que contenham naturalmente proteínas formadoras de glúten ou adicionadas das mesmas e água, podendo conter outros ingredientes opcionais. Sendo o pão de forma um produto obtido pela cocção

da massa em formas, apresentando miolo elástico e homogêneo, com poros finos e casca fina e macia (BRASIL, 2000).

Devido ao seu amplo consumo na dieta do brasileiro, em média 34,09 kg/per capita no ano de 2012 segundo a ABIP (2013), o pão revela-se um ótimo produto que pode ser enriquecido para fornecimento de nutrientes e componentes especiais.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 MATERIAL

4.1.1 Soja

A soja *Glycine max* (L.) Merrill utilizada para a produção de *Kinako*, foi a cultivar BRS 257 da safra de 2011/2012, cultivada em Ponta Grossa (25°05' S e 50°09' O), cidade localizada no centro do estado do Paraná (PR) e adquirida pela Fundação Meridional de Ponta Grossa, PR.

4.1.2 Semente de chia

Foi adquirida em comércio local da cidade de Pato Branco no estado do Paraná.

4.2 MÉTODOS

4.2.1 Planejamento

Foi utilizado delineamento fatorial 2^2 com quatro pontos axiais e quatro repetições no ponto central, totalizando-se 12 corridas (Tabela 5), para verificar os efeitos das variáveis tempo em minutos (min) e temperatura em graus Celsius (°C) sobre o teor de isoflavonas no *kinako*. A variável independente x_1 é a temperatura de torrefação (°C) e a variável x_2 é o tempo de torrefação (min).

Tabela 5 - Delineamento fatorial com 2², mostrando os ensaios, as variáveis codificadas, X1 e X2, as variáveis reais, T(°C) e tempo (min).

Ensaio	X1	X2	T(°C)	t (min)
1	-1,00	-1,00	178,7	13,9
2	1,00	-1,00	221,3	13,9
3	-1,00	1,00	178,7	28,1
4	1,00	1,00	221,3	28,1
5	-1,41	0,00	170,0	21,0
6	1,41	0,00	230,0	21,0
7	0,00	-1,41	200,0	11,0
8	0,00	1,41	200,0	31,0
9	0,00	0,00	200,0	21,0
10	0,00	0,00	200,0	21,0
11	0,00	0,00	200,0	21,0
12	0,00	0,00	200,0	21,0

4.2.2 Elaboração do *KINAKO*

Os grãos inteiros de soja foram submetidos ao tratamento térmico com o intuito de avaliar os efeitos do tempo e da temperatura de torrefação sobre as doze diferentes formas de isoflavonas da farinha *Kinako* segundo o delineamento descrito no item 4.2.1 (tabela 5). Para cada ensaio, foram utilizadas 80 g de grãos de soja, que foram torrados em forno tipo mufla (Quimis), variando-se a temperatura e o tempo de torrefação. Posteriormente os grãos inteiros foram moídos em moinho Willey equipado com peneira de 40 mesh e as amostras das farinhas foram guardadas em freezer para posterior análise.

4.2.3 Colorimetria

As 12 amostras de *kinako* geradas pelo delineamento foram analisadas por colorimetria. As farinhas foram acondicionadas em placa de Petri de 6 cm de diâmetro (1 placa por amostra) e analisadas em colorímetro Minolta CR400 (Konica Minolta) no

sistema de cor CIELAB medindo os valores de L* (luminosidade ou brilho) que variam do preto total (0) ao branco total (100), os valores do croma a* variam do verde (-60) ao vermelho (+60) e os valores do croma b* variam do azul ao amarelo, ou seja, de -60 a +60, respectivamente. Foram realizadas três repetições por placa.

4.2.4 Análises de caracterização química da soja, das farinhas e da semente de chia

4.2.4.1 Extração de isoflavonas

A extração das isoflavonas foi realizada de acordo com a metodologia preconizada por Carrão-Panizzi et al. (2002). As isoflavonas foram extraídas a partir da farinha de soja desengordurada (FSD). Para tal propósito foram pesados 100 mg de FSD às quais foram adicionados 4,0 mL da solução de extração (70% de etanol e ácido acético 0,1 %). Os tubos contendo essa mistura foram agitados em agitador de tubos tipo Vortex por uma hora a 25 °C com intervalos de agitação de 15 min. Em seguida os tubos foram transferidos para um equipamento de ultrassom (UNIQUE, modelo USC 5.000), por um período de 30 min. Alíquotas de 1,5 mL dos extratos das amostras foram centrifugadas (Eppendorf, modelo 5417R) por 15 min a 20.800 g na temperatura de 5 °C. O sobrenadante foi filtrado por membrana de 0,45 µm (Millipore®, Billerica, MA, EUA). Todas as extrações foram realizadas em duplicatas.

4.2.4.2 Análise de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) de isoflavonas

A separação e a quantificação de isoflavonas dos grãos de soja in natura e da farinha de *kinako* foram realizadas na Embrapa Soja de acordo com Berhow (2002) com algumas modificações. Alíquotas de 20 µL foram injetadas em cromatógrafo líquido (Waters, modelo 2690) e para a separação das isoflavonas foi utilizada uma coluna C-18 de fase reversa (YMC-Pack ODS-AM) 250 mm X 4.6 mm e com partículas de 5,0 µm de diâmetro. Para separação das isoflavonas foi utilizado o sistema de

gradiente binário, onde a fase móvel “A” foi constituída de metanol contendo 0,025 % de ácido trifluoroacético (TFA) e a fase “B” de água ultrapura contendo 0,025 % de TFA. As condições iniciais do gradiente foram de 20 %, de fase “A”, atingindo os 90 % em 35 min., seguido por limpeza da coluna com 100 % de fase “A” durante 5 min. Para voltar em seguida à condição inicial de 20 % de fase “A”. O tempo total de análise foi de 60 min. A vazão da fase móvel foi de 1,0 mL. min⁻¹ e a temperatura durante a análise foi mantida em 25 °C. Para a detecção das isoflavonas, foi utilizado um detector de arranjo de fotodiodos (Waters, modelo W 996), onde o comprimento de onda foi ajustado para 260 nm. O software utilizado para controlar o equipamento e a aquisição de dados foi o Millennium 32 (versão 3.05.01) (GCLC ® Toronto, Pickering, ON, Canadá).

Para a identificação e quantificação dos picos correspondentes as 12 diferentes formas de isoflavonas foram utilizadas curvas de calibração e regressão linear com base nas áreas dos picos. Estas curvas de calibrações foram obtidas utilizando-se padrões (Sigma-Aldrich) externos de daidzina, daidzeína, genistina, genisteína, glicitina, gliciteína, malonil daidzina, malonil genistina, malonil glicitin, acetil daidzina, acetil genistina e acetil glicitina, os quais foram dissolvidos em metanol (grau cromatográfico) nas seguintes concentrações: 0,00625 mg.mL⁻¹; 0,0125 mg.mL⁻¹; 0,0250 mg.mL⁻¹; 0,0500 mg.mL⁻¹ e 0,1000 mg.mL⁻¹, para cada padrão das isoflavonas analisadas. Essas concentrações foram utilizadas após obterem-se o limite de quantificação (LQ) de 0,0015 mg.mL⁻¹ e o limite de detecção (LD) do equipamento de 0,0005 mg. mL⁻¹ com padrões de daidzeína e genisteína.

O teor de isoflavonas nas amostras foi expresso em mg de cada isoflavona.100 g⁻¹ de farinha de soja desengordurada (FSD). As determinações das isoflavonas por CLAE foram realizadas em duplicata.

4.2.4.3 Extração de ácidos graxos da cultivar BRS 257, semente de chia e *kinako*

A amostra de *kinako* A8 (a que apresentou maior teor de isoflavonas agliconas), grão de soja BRS 257 e semente de chia foram submetidas a extração dos ácidos graxos para posterior análise em cromatógrafo a gás.

Na extração dos lipídios as amostras foram descongeladas até temperatura ambiente (aproximadamente 25°C), e submetidas ao processo de extração dos lipídeos de acordo com o método proposto por BLIGH e DYER (1959), com uma mistura de clorofórmio, metanol e água em uma proporção de 2:2:1,8 (v/v/v), respectivamente.

Foram pesadas $15 \pm 0,1$ g de amostra em um béquer de 250 mL e adicionado 15 mL de clorofórmio e 30 mL de metanol e agitados por 5 minutos. Após a agitação foram adicionados mais 15 mL de clorofórmio, agitando a mistura por mais 5 minutos. A seguir fez-se a adição de 15 mL de água destilada à mistura, mantendo esta em agitação por mais 5 minutos. A mistura obtida foi filtrada a vácuo em funil de Büchner com papel filtro quantitativo, sendo ao resíduo adicionado mais 15 mL de clorofórmio, mantendo sob agitação por 5 minutos em agitador tipo vortex. O resíduo foi filtrado em papel de filtro e o béquer lavado com 10 mL de clorofórmio. O filtrado foi recolhido em funil de separação e deixado em repouso por 12 horas para separação das fases. Após esse tempo, a fase inferior contendo o clorofórmio e a matéria graxa, foi drenada para um balão de fundo chato de 500 mL previamente seco e pesado e o solvente evaporado em evaporador rotatório, com banho-maria à 34-36°C. A matéria graxa restante no balão foi pesada e o teor de lipídios determinado gravimetricamente.

Para a transesterificação dos ácidos graxos aproximadamente 200 mg da matéria graxa, foram transferidos para tubos tipo Falcon com capacidade de 50 mL e adicionado 5 mL de solução de metóxido de sódio (CH_3ONa) 1%, recém preparada, e homogeneizada em agitador de tubos do tipo "Vortex". A amostra permaneceu em repouso por uma hora à temperatura ambiente (± 24 °C) para que a reação de esterificação ocorresse, agitando os tubos a cada 15 minutos. Logo após, foi adicionado em cada tubo contendo as amostras, 1 mL de solução de ácido acético glacial 10% e 10 mL de heptano grau HPLC (2 adições de 5 mL, intercaladas com agitação e 5 minutos de repouso). Após repouso e separação das fases, o sobrenadante foi transferido (± 2 mL) para os *vials* próprios de injeção no cromatógrafo a gás .

4.2.4.4 Cromatografia Gasosa

Após a esterificação, os ácidos graxos presentes nas amostras em funções de éster metilados foram analisados e quantificados por padronização externa em cromatógrafo a gás (Thermo Scientific, modelo Trace GC Ultra) com auto-injetor de amostras, equipado com coluna capilar de sílica de 30 m de comprimento, 0,32 mm de diâmetro interno e filme com 0,2 µm de espessura marca (Supelco, modelo SP 2340). Foram analisados os ácidos graxos saturados (AGS) Palmítico (16:0), Esteárico (18:0) e Araquídico (20:0), ácidos graxos monoinsaturados (AGMI) Oléico (18:1n-9) e dos ácidos graxos poli-insaturados (AGPI) Linoléico (18:2n-6) e Linolênico (18:3n3) utilizando a técnica de cromatografia gasosa (CG) de acordo com as referências Abidi et al. (1999), Bannon et al. (1982), Christie (1989) e Rayford et al. (1994).

A corrida foi programada por cromatografia isotérmica a 170 °C entre 0 e 10 minutos, seguido de rampa até 220 °C com incrementos de 3 °C/min, finalizando com aumento para 250 °C (final da corrida), e retorno a 170°C em 3 minutos (re-equilíbrio térmico), com um detector de ionização de chama a temperatura de 300 °C e injetor regulado a 250 °C durante toda a análise. Após, foi injetado 2,0 µL do padrão Supelco FAME (Fatty Acid Methyl Esters) diluído, para posterior confecção de curva de calibração. Foram injetados 2,0 µL das amostras e regulado o fluxo de gases para 40 mL/min de nitrogênio, 40 mL/min de hidrogênio e 450 mL/min de ar sintético.

Para detecção e quantificação dos compostos foi utilizado o software Chromquest®, onde foram comparados os tempos de retenção para identificação dos picos nas amostras. A curva de calibração foi gerada com a integração automática dos picos dos padrões injetados, e com os valores das áreas e os dados de massa injetada previamente estabelecidos. Após, a integração automática dos picos das amostras, e com o fator de calibração gerado anteriormente, foram convertidas as áreas em teores dos respectivos ácidos graxos. O Limite de Quantificação (LQ) e Limite de detecção (LD) do equipamento equivalem a 100 ppm e 300 ppm respectivamente.

Os resultados foram expressos em porcentagem limites em porcentagem. Os ácidos graxos separados e quantificados foram Palmitico, Estearico, Oleico, Linoleico,

Linolênico e Araquidico. As determinações dos ácidos graxos foram realizadas em duplicata de extração e duplicata de análise por Cromatografia Gasosa (CG).

4.2.5 Análises microbiológicas

As análises microbiológicas foram feitas para o *kinako* com maior teor de isoflavonas (ensaio 8), sendo as analisadas as bactérias do grupo coliforme a 35 °C (coliformes totais) e Coliformes a 45 °C (termotolerantes), *Salmonella* sp. e bolores e leveduras no Laboratório de Qualidade Agroindustrial da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, câmpus Pato Branco.

O método utilizado para contagem de coliformes a 35 °C (coliformes totais) foi o do número mais provável (NMP). Primeiramente, inoculou-se 1 ml da diluição inicial em um tubo contendo 9 mL de água peptonada 0,1 %, para se obter a solução 10^{-2} e, da mesma forma, obter a solução 10^{-3} a partir desta. Estas três diluições foram inoculadas em séries de 3 tubos de ensaio contendo Caldo Lauril Sulfato Triptose (LST), uma série para cada. Os tubos foram incubados a $35\pm 0,5$ °C por período de 24 h. Após esse período com auxílio de uma alça de platina alíquotas da solução foi transferida para tubos contendo Caldo Verde Brilhante e Bile e incubados por $35\pm 0,5$ °C por um período de 24 a 48 h (SILVA et al., 2010).

Após a análise com o Lauril Sulfato triptose foram submetidos a contagem de coliformes a 45 °C (coliformes termotolerantes) pelo método NMP. Com auxílio de uma alça de platina a solução contida nos tubos de Lauril Sulfato Triptose foram transferidos para tubos contendo Caldo *Escherichia coli* (EC). Estas três diluições foram inoculadas em séries de 3 tubos de ensaio contendo Caldo EC uma série para cada. Os tubos foram incubados a $45\pm 0,5$ °C por período de 24 h (SILVA et al., 2010).

Para determinação de *Salmonella* sp. 25 g da amostra foi adicionada em 225 mL de Água Peptonada Tamponada (BPW) e incubada em estufa a 37 ± 1 °C por 18 ± 2 h. Em seguida, foi transferido 1 mL para um tubo contendo 10 mL de Caldo Tetracionato Muller Kauffmann Novobiocina (MKTTn) incubado a 37 ± 1 °C por 24 h e 0,1 mL para 10 mL de Caldo Rappaport-Vassilidis Soja (RVS) incubado a $41,5\pm 1$ °C por 24 h e o resultado expresso em presença ou ausência em 25 g (SILVA et al., 2010).

A contagem de bolores e leveduras foi determinada pelo método de contagem padrão em placas. 25 g da amostra foi homogeneizada em 225 mL de Água Peptonada 0,1% para se obter a diluição 10^{-1} , em seguida foi inoculado 1mL da diluição inicial em um tubo contendo 9 ml de água peptonada, para se obter a solução 10^{-2} e, da mesma forma, obter a solução 10^{-3} a partir desta. Em seguida foram inoculadas, 0,1 mL de cada diluição em placa com Ágar Dicloran Rosa de Bengala Cloranfenicol (DRBC), e incubadas a 22-25 °C por cinco dias. A contagem foi expressa em UFC g/ mL (SILVA et al., 2010).

4.2.6 Composição centesimal

A composição de umidade, cinzas, proteínas, lipídeos, fibra bruta e fibra alimentar total dos produtos foram determinados no Laboratório de Química da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, Câmpus Pato Branco. Os carboidratos foram calculados pela diferença de [100 g – a soma do conteúdo g de (umidade, cinzas, gordura total e proteínas)], neste caso não foi subtraído o valor de fibra alimentar.

4.2.6.1 Umidade

A umidade foi determinada em triplicata por secagem direta em estufa, onde aproximadamente 5,0 g de amostra foram pesadas em cadinhos previamente secos em estufa, resfriados e pesados e submetidos novamente à estufa a 105 °C até peso constante. O percentual de umidade (%U) pode ser obtido pela equação 1 (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

$$\%U = \left\{ \frac{(Pc + Pa) - Pd}{Pa} \right\} \cdot 100 \quad (1)$$

Onde:

Pc = amostra do cadinho;

Pa = Peso da amostra;

Pd = Peso depois da secagem.

4.2.6.2 Cinzas

Para o teor de cinzas foi utilizado uso do método de incineração dupla, no qual aproximadamente 3,0 g de amostra foram pesados em cadinhos de porcelana previamente calcinados e pesados. Posteriormente os cadinhos com amostras foram submetidos a mufla 550 °C, até obtenção de cinzas brancas por aproximadamente 4 horas. O percentual de cinzas (%Ci) pode ser obtido pela equação 2 (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

$$\%Ci = \left\{ \frac{(Pd - Pc)}{Pa} \right\} \cdot 100 \quad (2)$$

Onde:

Pc = amostra do cadinho;

Pa = Peso da amostra;

Pd = Peso depois da secagem.

4.2.6.3 Proteína

Aproximadamente 0,40 g (Pa) de amostra foram pesados e transferidos com papel de pesagem para o tubo de digestão juntamente com 1,0 g de mistura catalítica (sulfato de sódio anidro p.a + sulfato de cobre pentahidratado p.a - Na₂SO₄ + CuSO₄ 5H₂O – na proporção 10:1), 3 mL de ácido sulfúrico concentrado p.a (H₂SO₄) e 1 mL de peróxido de hidrogênio p.a, procedendo-se a digestão lenta (350 a 400 °C) até obter coloração levemente esverdeada. Posteriormente, destilaram-se as amostras digeridas em equipamento de destilação de Kjeldahl com prévia diluição da amostra

digerida com 10 mL de água destilada e a adição lenta de hidróxido de sódio (NaOH) 50 % até atingir coloração marrom escuro. Para a captação da amônia do destilado, utilizou-se erlenmeyer com 20 mL de solução de ácido bórico (H_3BO_3) 4 % adicionado de 3 gotas de indicador misto (0,2 g de vermelho de metila + 0,1 g de verde de bromocresol em 200 mL de álcool etílico a 70 %) durante a destilação. Titulou-se com H_2SO_4 0,01 N fatorado até coloração rósea. O percentual de nitrogênio total (%N) pode ser calculado pela equação 3 (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

$$\%N = \left(\frac{V \cdot N \cdot fc \cdot 0,014}{Pa} \right) \cdot 100 \quad (3)$$

Onde:

Pa = Peso da amostra;

N = normalidade da solução de H_2SO_4 (0,01);

V = Volume de H_2SO_4 0,01 N gastos na titulação amostra menos V de H_2SO_4 0,01 N gastos na titulação branco;

fc = fator de correção da solução de H_2SO_4 0,01 N.

O percentual de proteína bruta total (%PB) pode ser calculado pela equação 4 (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

$$\%PB = \%N \cdot fator \quad (4)$$

Onde:

fator = 6,25

4.2.6.4 Lipídios

Os lipídeos totais foram determinados pelo método gravimétrico. Aproximadamente 2,0 g de amostra foram extraídos com éter de petróleo à quente em aparelho Soxhlet, em balão previamente seco em estufa, por aproximadamente 4 h. O percentual de lipídeos (%Li) pode ser obtido pela equação 5 (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

(5)

$$\%Li = \left(\frac{Pd - Pb}{Pa} \right) \cdot 100$$

Onde:

Pa = Peso da amostra;

Pb = Peso do balão seco em estufa;

Pd = Peso do balão após a extração.

4.2.6.5 Fibra bruta

Aproximadamente 2,0 g de amostra foram pesadas em balão de fundo chato e previamente desengordurada em éter de petróleo. Procedeu-se a digestão ácida: onde 100 mL de solução de ácido sulfúrico (H₂SO₄) 0,255N, previamente aquecida em banho-maria, foi mantida por 30 minutos após atingir a fervura, após isso procedeu-se a filtração e lavagem da amostra com água destilada morna e captação da amostra devolvendo-a para o balão de digestão. Procedeu-se a digestão básica: onde 110 mL de solução de hidróxido de sódio (NaOH) 0,313N, previamente aquecida em banho-maria, foi mantida por 30 minutos após atingir a fervura, após isso procedeu-se a filtração em cadinho de Gooch contendo lã de fibra de vidro e lavagem da amostra com água destilada morna, lavagem com 20 mL de álcool etílico p.a. e 10 mL de éter etílico p.a. O resíduo juntamente com o cadinho de Gooch e a lã de vidro foram submetidos a estufa 105 °C até peso constante e sua massa medida (Pe) e submetido posteriormente a mufla a 550 °C até peso constante e a sua massa medida (Pm). O percentual de fibra bruta (%FB) pode ser obtido através da equação 6 (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

(6)

$$\%FB = \left(\frac{Pe - Pm}{Pa} \right) \cdot 100$$

Onde:

Pa = Peso da amostra;

4.2.7 Teor de Minerais

Os minerais foram determinados a partir da determinação do teor de cinza, descrita no ítem 4.2.6.2. As cinzas foram solubilizadas com 25 mL de HNO₃ 50%, aquecidas em banho-maria por 30 min e filtradas em balão volumétrico de 100 mL, lavando o cadinho com água deionizada quente. Após a aferição com H₂O deionizada quente, os minerais foram analisados em espectrofotômetro de absorção atômica, em comprimento de onda específico para cada mineral. Foram analisados teor de Fe, Ca, Zn, K, Na, Mg e Mn segundo a AOAC (2000).

4.2.8 Formulação do pão de forma

Foram elaboradas quatro formulações de pão de forma, com concentrações de 0, 10, 20 e 30 % de *Kinako* em substituição a farinha de trigo. A formulação 1 (F1) é a formulação (controle) padrão sem a adição de *Kinako*, a formulação F2, F3 e F4 contêm 10%, 20 e 30% de *Kinako* respectivamente e 2% de chia, conforme descrito (Tabela 6).

Para o preparo do pão de forma, os ingredientes foram adquiridos em comércio local e utilizados as mesmas marcas nas diferentes preparações.

Os pães foram elaborados (Figura X) e analisados quanto as características microbiológicas, sensoriais e físico-químicas.

Tabela 6 - Formulação dos pães

Ingredientes	F1 (%)	F2 (%)	F3 (%)	F4 (%)
Farinha de Trigo	100,0	90,0	80,0	70,0
Kinako	0,0	10,0	20,0	30,0
Chia	0,0	2,0	2,0	2,0
Água	60,0	60,0	60,0	60,0
Fermento biológico	1,5	1,5	1,5	1,5
Açúcar	4,0	4,0	4,0	4,0
Sal	1,8	1,8	1,8	1,8
Óleo	4,0	4,0	4,0	4,0
Reforçador	1,0	1,0	1,0	1,0

4.2.9 Análises microbiológicas do pão

A avaliação microbiológica foi realizada para liberar o produto para o consumo na análise sensorial, a qual foi realizada visando estabelecer as diferenças existentes entre o pão padrão e as três formulações adicionadas de *Kinako* e chia, bem como avaliar a proximidade dos produtos com base nos resultados buscando-se encontrar o produto preferido pelos consumidores.

Foram realizadas as análises de bactérias do grupo coliforme a 35 °C (coliformes totais) e Coliformes a 45 °C (termotolerantes), *Salmonella* sp. e análise de bolores e leveduras de acordo com SILVA et al. (2010) conforme descritos no item 4.2.5.

4.2.10 Análise sensorial

No processo de desenvolvimento e/ou inovação de produtos, os estudos sensoriais envolvendo a preferência de consumidores são de extrema importância e constituem a uma ferramenta necessária para a conquista de novos mercados (GUERRERO, 1999). Neste trabalho para avaliação sensorial dos produtos foram utilizados testes de aceitação (escala do ideal e hedônica), teste de preferência e intenção de compra.

Com a escala do ideal foram obtidas informações sobre qual seria a intensidade de determinado atributo sensorial considerado ideal pelo provador (MINIM, 2006). Neste caso, os atributos cor, odor, aparência, textura e sabor foram avaliados pelo julgador o quão próximos estavam do ideal, onde 1 = “muito menos que o ideal” e 5= “muito mais que o ideal” (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

Na escala hedônica, o provador expressa sua aceitação fazendo uma avaliação global do produto, seguindo escala estruturada de nove pontos, variando de 9 = “gostei muitíssimo” até 1 = “desgostei muitíssimo” (MINIM, 2006).

Utilizou-se também o teste de preferência visando identificar a amostra preferida e o teste de intenção de compra, onde os julgadores indicaram qual amostra comprariam se estivesse disponível para a venda no mercado (MINIM, 2006).

Em testes afetivos recomenda-se que o número de julgadores seja entre 50 e 100 (INTITUTO ADOLF LUTZ, 2008), portanto, a avaliação sensorial foi realizada com 100 provadores não treinados. Os provadores não treinados receberam as amostras codificadas com números de três dígitos casualizados, e foi solicitado avaliá-las com relação aos testes parâmetros descritos na Figura 3.

TESTE DE ACEITAÇÃO

Nome: _____ Data: ____/____/____

1) Você está recebendo quatro amostras codificadas de pão de forma adicionada de *kinako* (farinha integral de soja) e semente de chia (semente mexicana rica em ácidos graxos insaturados e com propriedades que ajudam a controlar a fome e estimulam a perda de peso). Por favor, avalie o produto de acordo com sua preferência tendo como base as escalas do ideal e hedônica, disponibilizadas a seguir:

ESCALA DO IDEAL

- 1 – Muito menos que o ideal
- 2 – Menos que o ideal
- 3 – Ideal
- 4 – Mais que o ideal
- 5 – Muito mais que o ideal

Amostras	Cor	Odor	Aparência	Textura	Sabor
157					
346					
864					
368					

2) Com base na escala hedônica realize a avaliação global do produto **levando em conta o conjunto do produto** com todos os atributos anteriormente avaliados.

ESCALA HEDÔNICA - AVALIAÇÃO GLOBAL DO PRODUTO

- 1 – Desgostei muitíssimo
- 2 – Desgostei muito
- 3 – Desgostei regularmente
- 4 – Desgostei ligeiramente
- 5 – Indiferente
- 6 - Gostei ligeiramente
- 7 - Gostei regularmente
- 8 - Gostei muito
- 9 - Gostei muitíssimo

Amostras	Nota escala Hedônica
157	
346	
864	
368	

Você gosta do produto? () Sim () Não

Entre as amostras qual foi a sua preferida? _____

Você compraria os produtos analisados aqui? () Sim () Não

Por quê? _____

Obrigada Pela Colaboração!!

Figura 3 - Ficha utilizada para avaliação sensorial.

Para a organização e validação dos dados experimentais dos testes de aceitação por escala hedônica e escala do ideal os dados coletados foram avaliados estatisticamente pela análise de variância (ANOVA), utilizando delineamento em blocos ao acaso (DBC) e suas médias comparadas pelo teste de Tukey considerando o nível de significância de 95% ($p < 0,05$). Estes dados foram analisados utilizando o software Assistat® versão 7.7 beta. Para o cálculo de Índice de Aceitabilidade do produto foi adotada a expressão: $IA (\%) = A \times 100 / B$, na qual, A= nota média obtida para o produto, e B= nota máxima dada ao produto. Segundo Dutcosky (2007), o IA com boa repercussão têm sido considerado $\geq 70\%$. Para a construção dos gráficos de análise de componentes principais foi utilizado o programa SensoMaker®.

4.2.1.1 Análises de caracterização química do pão

O pão com adição de *kinako* que obteve melhor aceitação sensorial foi submetido a análises para determinação e quantificação das isoflavonas. A extração das isoflavonas foi realizada de acordo com a metodologia preconizada por Carrão-Panizzi et al. (2002). A separação e a quantificação de isoflavonas foram realizadas por CLAE de acordo com a metodologia preconizada por Berhow (2002) conforme item 4.2.4.2. A formulação de pão padrão (FP) e a formulação com adição de *kinako* que obteve melhor aceitação sensorial foram submetidas a análise de ácidos graxos quantificados por Cromatografia Gasosa conforme item 4.2.4.4.

4.2.12 Composição centesimal do pão

A composição de umidade, cinzas, proteínas, lipídeos, fibra bruta e fibra alimentar total da FP e da formulação com adição de *kinako* que obteve melhor aceitação foram determinados no Laboratório de Química da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, Campus Pato Branco, conforme metodologia descrita nos itens 4.2.6. Os carboidratos foram calculados pela diferença

de [100 g – a soma do conteúdo g de (umidade, cinzas, gordura total e proteínas)], neste caso não foi subtraído o valor de fibra alimentar.

4.2.13 Minerais do pão

Foram determinados para os pães FP e para a formulação com adição de *kinako* que obteve melhor aceitação, os teores dos minerais, (Fe, Ca, Zn, K, Na, Cu, Mg e Mn) analisados em espectrofotômetro de absorção atômica, em comprimento de onda específico para cada mineral (AOAC, 2000) conforme descrito no item 4.2.6.6.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 COLORIMETRIA DAS FARINHAS DE *KINAKO*

Os parâmetros de cor como luminosidade L^* (amostra mais clara ou mais escura), a^* (diferença do vermelho e do verde) e b^* (diferença do azul e do amarelo) foram analisados nas 12 amostras de *kinako* produzidos segundo o delineamento fatorial. Segundo Barros Neto, Scarmínio e Bruns (2002) a maneira mais confiável para se avaliar numericamente a qualidade de ajuste de um modelo é através da Análise de Variância (ANOVA). Respectivamente na Tabela 7 e 8 estão apresentados os valores da ANOVA e os modelos gerados para cada parâmetro de cor analisado em farinhas de *kinako* produzidas de acordo com o delineamento proposto.

Observa-se que com relação ao parâmetro L^* o modelo foi considerado satisfatório por apresentar altos valores de regressão para o intervalo de confiança de 95 % ($p < 0,05$), indicando que aproximadamente 98,12 % da variação total em torno da média pôde ser explicada (Tabela 7). No estudo deste parâmetro a razão entre o F_{calc} e F_{tab} foi de 91,93. Segundo Box; Hunter; Hunter (1978), valores como estes demonstram que a regressão obtida não é apenas significativa, mas também útil para fins preditivos.

As equações mostradas na tabela 8 apresentam os modelos matemáticos das variáveis temperatura (T) e tempo (t) sobre as variáveis de resposta luminosidade (L^*), a^* e b^* considerando os parâmetros significativos e não significativos. A superfície de resposta e as curvas de contorno originadas destas equações encontram-se ilustradas nas figuras 4 a 6.

Na tabela 7 e 8, a ANOVA correspondente ao parâmetro de cor a^* - diferença do vermelho e do verde indica que 92,75 % da variação dos dados pode ser explicadas pelo modelo proposto. Enquanto que a análise de variância correspondente ao modelo para o parâmetro de cor b^* indica que a variação pode ser explicada em 95,15 % da variabilidade.

Tabela 7 - Análise de variância para as respostas parâmetro de cor: luminosidade L* (amostra mais clara ou mais escura), a* (diferença do vermelho e do verde) e b* (diferença do azul e do amarelo) em farinha de *Kinako*.

Parâmetros de cor	Fonte de variação	SQ	GL	Q ² médio	F _{calc}	R ²	F _{tabelado}
L*	Regressão	3200,97	1	3200,97	470,71	0,9812	5.12
	Resíduo	61,20	9	6,80	-		
	Total	3262,17	10	-	-		
a*	Regressão	84,64	3	28,21	29,88	0,9275	4.35
	Resíduo	6,61	7	0,94	-		
	Total	91,25	10	-	-		
b*	Regressão	317,06	2	158,53	78,58	0,9515	4.46
	Resíduo	16,14	8	2,02	-		
	Total	333,20	10	-	-		

Tabela 8 - Modelos gerados por regressão linear múltipla sobre as respostas -parâmetros de cor - luminosidade L* (amostra mais clara ou mais escura), a* (diferença do vermelho e do verde) e b* (diferença do azul e do amarelo) em farinha de *Kinako*, conforme seus respectivos tratamentos provenientes do delineamento.

Variável dependente	Modelo gerado	Coefficiente de determinação (R ² , %)
L*	$L^* = 52,77 - 15,76 x T^1 - 0,99 x T^2 - 12,08 x t^1 + 2,27 x t^2 - 1,48 x T x t$ (7)	98,12
a*	$a^* = 10,78 + 1,74xT^1 - 1,32xT^2 + 2,18xt^1 - 1,25xt^2 - 1,42xTxt$ (8)	92,75
b*	$b^* = 31,53 - 4,11xT^1 - 3,87xT^2 - 1,11xt^1 - 1,54xt^2 - 4,66xTxt$ (9)	95,15

As curvas de nível traçadas na Figura 4 indicam que, as maiores repostas para L^* foram obtidas nas condições de temperatura e tempo inferiores, 178,7 °C e 13,9 min, respectivamente. Isto se deve ao fato de que valores elevados de L^* revelam o quão próximo da cor branca a farinha se encontra. Em contrapartida, elevados valores de tempo e temperatura influenciam negativamente esta variável, sugerindo uma maior formação de pigmentos provavelmente devido a *reação de Maillard*, uma sequência de eventos, onde o açúcar é aquecido na presença de proteína ocasionando o escurecimento do grão (COULTATE, 2004).

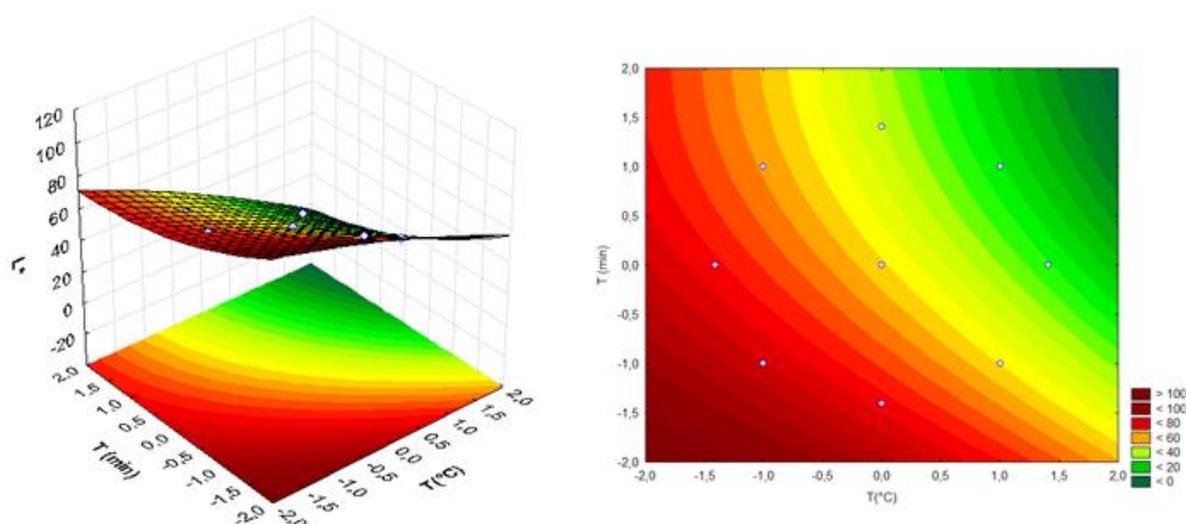


Figura 4 - Superfície de resposta e curva de contorno para a luminosidade (L^*) da farinha Kinako em função da temperatura e do tempo de aquecimento.

A Figura 5 representa a superfície de resposta e as curvas de contorno relacionadas com a coordenada de cor a^* onde parte de $-a$ (verde) até $+a$ (vermelho), temperatura (°C) e tempo (min.).

A Figura 6 ilustra a superfície de resposta e as curvas de contorno relacionadas com a coordenada de cor b^* onde parte de $-b$ (azul) até $+b$ (amarelo) juntamente com a temperatura (°C) e o tempo (min). As curvas de nível traçadas nas Figuras 5 e 6 indicam que, os valores de vermelho ($+a$) aumentaram com o aumento da temperatura, e com maior tempo. O mesmo aconteceu para os valores de amarelo ($+b$). Demonstrando que maiores tempos e temperaturas tendem para as cores vermelho (a^*) e amarelo (b^*).

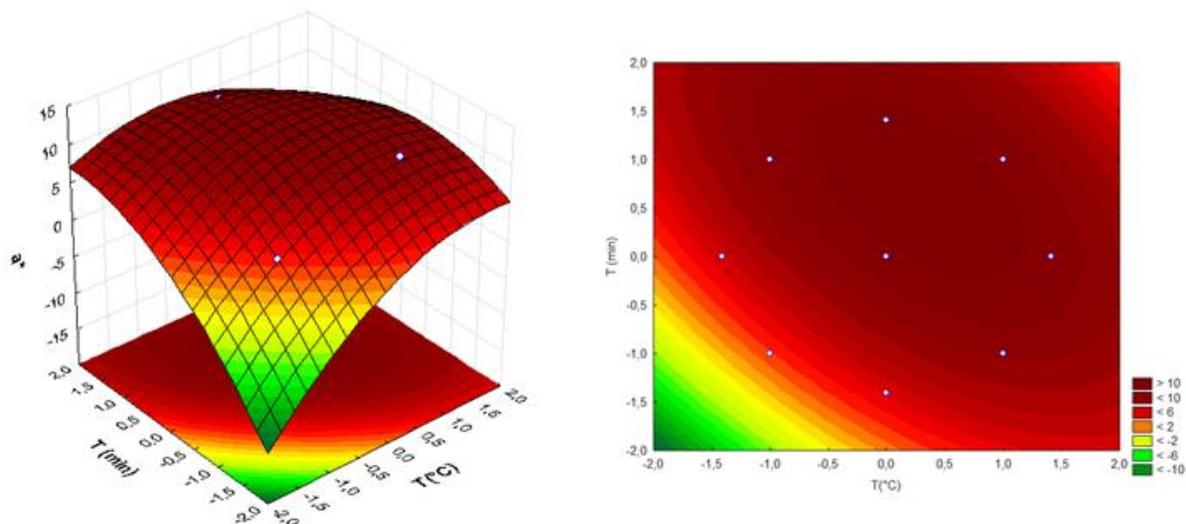


Figura 5 - Superfície de resposta e curva de contorno para a cor vermelho (a^*) da farinha *Kinako* em função da temperatura e do tempo de aquecimento.

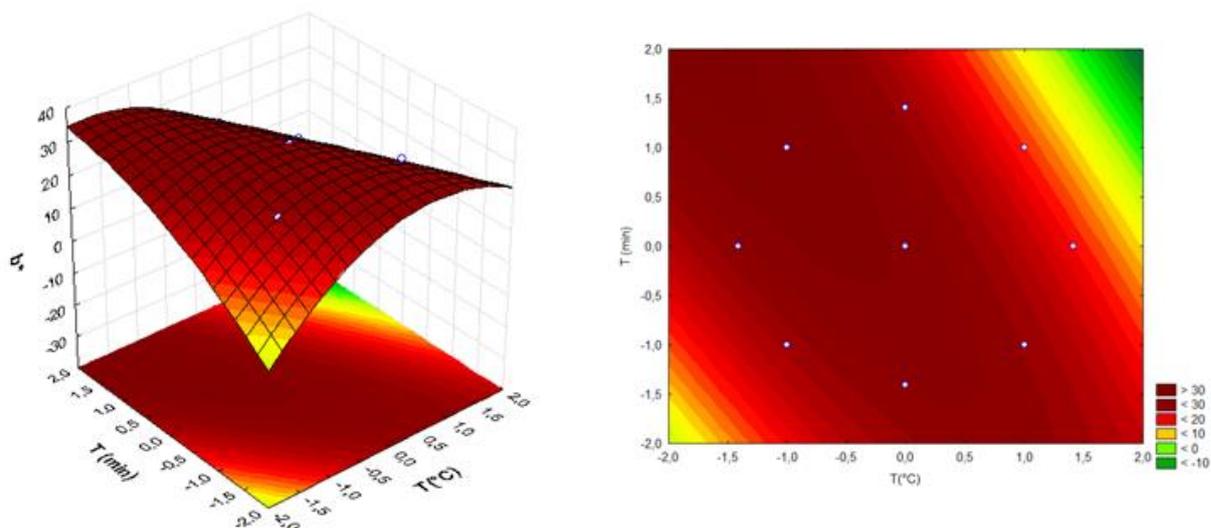


Figura 6 - Superfície de resposta e curva de contorno para a cor amarelo (b^*) da farinha *Kinako* em função da temperatura e do tempo de aquecimento.

A cor dos grãos de soja torrados se desenvolve pelas reações entre açúcares e aminoácidos, comumente denominadas *reações de Maillard*, que produzem pigmentos, como melaninas. A cor marrom se intensifica com o aumento da temperatura ou tempo de torrefação. Outra reação que também contribui com a cor marrom é a caramelização dos açúcares (BEMILLER, 2009; CASTRO et al., 2011).

5.2 TEOR DE ISOFLAVONAS DO GRÃO DE SOJA BRS 257 E DAS FARINHAS DE KINAKO

Pertencente à classe dos flavonóides, as isoflavonas são metabólitos especializados (reconhecidos como metabólitos secundários) importantes e presentes naturalmente em grãos de soja [*Glycine max* (L.) Merrill] (FIECHTER et al., 2013; KIM, et al., 2005). Estes metabólitos especializados têm sido investigados no âmbito da saúde, pois estão associados à redução do risco de alguns tipos de câncer como, de ovário, pulmão, próstata e cólon (LEE et al., 2014; ZHANG et al., 2013; DONG et al., 2013; KIM et al., 2012). As isoflavonas interferem na redução de peso corporal, glicemia e controle de insulina na pós-menopausa (ZHANG et al., 2013) e também auxiliam no aumento da densidade óssea mineral em mulheres (SONG; PAIK ; JOUNG, 2008; LIU et al., 2009).

Os grãos de soja *in natura* da cultivar BRS 257 foram caracterizados por CLAE (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência) para se determinar o perfil e o teor das diferentes formas de isoflavonas em mg/100 g⁻¹ de amostra em base seca e estão apresentados na Tabela 9.

Tabela 9 – Teor de isoflavonas para a cultivar BRS 257 em base seca

ISOFLAVONAS	mg/100 g¹
Daidzina	67,583
Glicitina	14,947
Genistina	60,983
Malonil-daidzina	87,501
Malonil-glicitina	22,581
Malonil-genistina	141,243
Acetil-daidzina	n.d
Acetil-glicitina	n.d
Acetil-genistina	n.d
Daidzeína	4,294
Gliciteína	16,536
Genisteína	3,286
TOTAL	418,95

¹média de 4 determinações. n.d: não detectado.

O perfil cromatográfico das isoflavonas quantificadas por cromatografia líquida de alta eficiência na cultivar BRS 257 mostraram a presença de isoflavonas β -glicosídicas conjugadas: daidzina, glicitina e genistina, os derivados malonil- β -glicosídeos-malonildaidzina, malonilglicitina e malonilgenistina e as agliconas daidzeína, gliciteína e genisteína (Tabela 9). As formas acetil (acetildaidzina, acetilglicitina e acetilgenistina) não foram identificadas no grão de soja in natura BRS 257 corroborando com vários estudos que afirmam que estas formas de isoflavonas se formam apenas após o tratamento térmico dos grãos de soja (Lima et al., 2014; Silva et al., 2012).

Galão et al. (2010) compararam o teor de isoflavonas em vinte cultivares de soja semeadas nas cidades de Londrina e Ponta Grossa, cidades localizadas no Estado do Paraná, Brasil e seus resultados foram semelhantes para esta cultivar BRS 257. A soja produzida na região de Londrina no estado do Paraná apresentou valores de 27,28, 11,48, 25,89, 142,36, 60,71, 134,46, 0 e 2,58 mg/100 g para as isoflavonas daidzina, glicitina, genistina, malonildaidzina, malonilglicitina, malonilgenistina, daidzeína e genisteína, respectivamente, representando um total de 404,76 mg/100 g. Enquanto que a soja da região de Ponta Grossa apresentou os resultados de 31,02; 8,81; 34,64; 109,70; 55,65; 186,89; 1,37 e 3,24 mg/100 g das isoflavonas daidzina, glicitina, genistina, malonildaidzina, malonilglicitina, malonilgenistina, daidzeína e genisteína, respectivamente, representando um total de 431,33 mg/100 g. Os resultados das isoflavonas de soja in natura para a cultivar BRS 257, dosadas por CLAE neste trabalho estão entre os valores acima citados.

A concentração das isoflavonas no *kinako* depende das condições de processamento, principalmente da temperatura e do tempo de exposição do grão de soja ao calor. Os tratamentos térmicos são utilizados para converter as isoflavonas β -glicosídicas e glicosilados malonilados em agliconas. Estas agliconas são absorvidas mais rapidamente pelo homem e em maiores quantidades do que suas formas glicosídicas, pois estes compostos livres de açúcar possuem menor peso molecular e conseqüentemente podem ser absorvidos diretamente pelo intestino (OKABE; SHIMAZU; TANIMOTO, 2011; KANO et al., 2006, KAWAKAMI et al., 2005; IZUMI, et al., 2000).

Os teores de isoflavonas determinadas por CLAE nas farinhas de *Kinako* em seus respectivos tratamentos térmicos conforme delineamento proposto neste estudo Central Composite Rotatable Design (CCRD) são apresentados na Tabela 10.

Tabela 10 - Níveis codificados e valores reais para o delineamento CCRD (Central Composite Rotatable Design) com 12 ensaios e respectivos teores de isoflavonas quantificadas por CLAE nas farinhas de *Kinako*.

Ensaio	x1	x2	T(°C)	t (min)	mg/100 g isoflavonas
1	-1	-1	178,7	13,9	294,50
2	1	-1	221,3	13,9	253,17
3	-1	1	178,7	28,1	282,25
4	1	1	221,3	28,1	141,28
5	-1,41	0	170,0	21,0	299,55
6	1,41	0	230,0	21,0	160,16
7	0	-1,41	200,0	11,0	286,38
8	0	1,41	200,0	31,0	203,19
9	0	0	200,0	21,0	280,85
10	0	0	200,0	21,0	273,40
11	0	0	200,0	21,0	269,59
12	0	0	200,0	21,0	275,54

A Tabela 11 apresenta a análise de variância (ANOVA) ao nível de 5% de significância para os nove tipos de isoflavonas: daidzina, glicitina, genistina, acetil daidzina, acetil glicitina, acetil genistina, daidzeína, gliciteína e genisteína presentes em farinha de *kinako* provenientes dos respectivos tratamentos realizados por CCRD . Os teores de isoflavonas sob os seus respectivos tratamentos foram dosados também por CLAE.

Tabela 11 - Análise de variância para as respostas: daidzina, glicitina, genistina, acetil daidzina, acetil glicetina, acetil genistina, daidzeína, gliciteína e genisteína em farinha de *Kinako* submetidas aos tratamentos conforme CCRD.

	Fonte de variação	SQ	GL	Q ² médio	F _{calc}	R ²	F _{tabelado}
Daidzina	Regressão	10350,99	1	10350,99	247,69	0,9649	5,12
	Resíduo	376,12	9	41,79	-		
	Total	10727,11	10	-	-		
Glicitina	Regressão	450,99	4	112,75	31,20	0,9541	4,53
	Resíduo	21,68	6	3,61	-		
	Total	472,67	10	-	-		
Genistina	Regressão	8975,15	1	8975,15	186,35	0,9539	5,12
	Resíduo	433,47	9	48,16	-		
	Total	9408,62	10	-	-		
Acetil daidzina	Regressão	2592,22	1	2592,22	514,44	0,9856	5,12
	Resíduo	45,35	9	-	-		
	Total	2637,57	10	-	-		
Acetil glicetina	Regressão	106,99	1	106,99	447,87	0,9802	5,12
	Resíduo	2,15	9	0,24	-		
	Total	109,14	10	-	-		
Acetil genistina	Regressão	2784,48	1	2784,48	321,78	0,9727	5,12
	Resíduo	77,8	9	8,65	-		
	Total	2862,36	10	-	-		
Daidzeína	Regressão	4299,39	1	4299,39	195,22	0,9559	5,12
	Resíduo	198,21	9	22,02	-		
	Total	4497,60	10	-	-		
Gliciteína	Regressão	5985,74	1	5985,74	89,58	0,9087	5,12
	Resíduo	601,36	9	66,82	-		
	Total	6587,10	10	-	-		
Genisteína	Regressão	1536,27	2	768,14	38,40	0,9056	4,46
	Resíduo	160,04	8	20,01	-		
	Total	1696,31	10	-	-		

Tabela 12 - Modelos gerados por regressão linear múltipla sobre as respostas daidzina, glicitina, genistina, acetil daidzina, acetil glicitina, acetil genistina, daidzeína, gliciteína e genisteína em farinha de *Kinako* submetidas aos tratamentos conforme CCRD.

Variável dependente	Modelo gerado	Coefficiente de determinação (R ² , %)
Daidzina	$Daidzin = 47,93 - 28,56T - 21,56t$ (10)	96,50
Glicitina	$Glycitin = -4,73T^1 + 2,51T^2 - 4,66t^1 + 3,11t^2 + 2,68Tt$ (11)	95,41
Genistina	$Genistin = 37,37 - 26,94T - 19,75xt$ (12)	95,39
Acetil daidzina	$Acetyl daidzin = 34,14 - 13,89T^1 - 6,02T^2 - 10,16t$ (13)	98,56
Acetil glicitina	$Acetyl glycitin = 3,12 - 2,50T - 2,58t$ (14)	98,02
Acetil genistina	$Acetyl genistin = 28,98 - 13,82T - 12,02t$ (15)	97,27
Daidzeína	$Daidzein = 34,19 + 17,96T + 14,47t$ (16)	95,59
Gliciteína	$Glycitein = 54,81 + 16,61T + 17,47t$ (17)	90,87
Genisteína	$Genistein = 33,13 + 8,40T^1 - 6,70T^2 + 8,54t$ (18)	90,56

As equações 10 a 18 (Tabela 12) representam os modelos matemáticos gerados das variáveis respostas: daidzina, glicitina, genistina, acetil daidzina, acetil glicitina, acetil genistina, daidzeína, gliciteína e genisteína em farinha de *Kinako* submetidas aos tratamentos conforme CCRD, em função das variáveis independentes: temperatura (T) e tempo (t) de torrefação.

Nove modelos (Tabela 12), um para cada isoflavona presente na farinha de *Kinako*, foram gerados pela metodologia de superfície de resposta (RSM). Os coeficientes de correlação dos modelos, R^2 , variaram de 90,56% a 98,56%. Estes valores para R^2 mostram que, 90,56% a 98,56% da variabilidade dos dados podem explicados pelos respectivos modelos propostos (Tabelas 11 e 12).

A superfície de resposta e as curvas de contorno originadas destas equações mostradas na Tabela 12 encontram-se ilustradas nas Figuras 7 a 15.

O modelo para a daidzina (Equação 10), gerado por regressão linear múltipla e suas superfícies de resposta e de contorno que ilustram como os fatores, temperatura e tempo afetaram sua resposta estão mostrados na Figura 7. Para este modelo, a análise de variância demonstrou que houve um bom ajuste, o pois o coeficiente de determinação foi de 96,49 %. (Tabela 12).

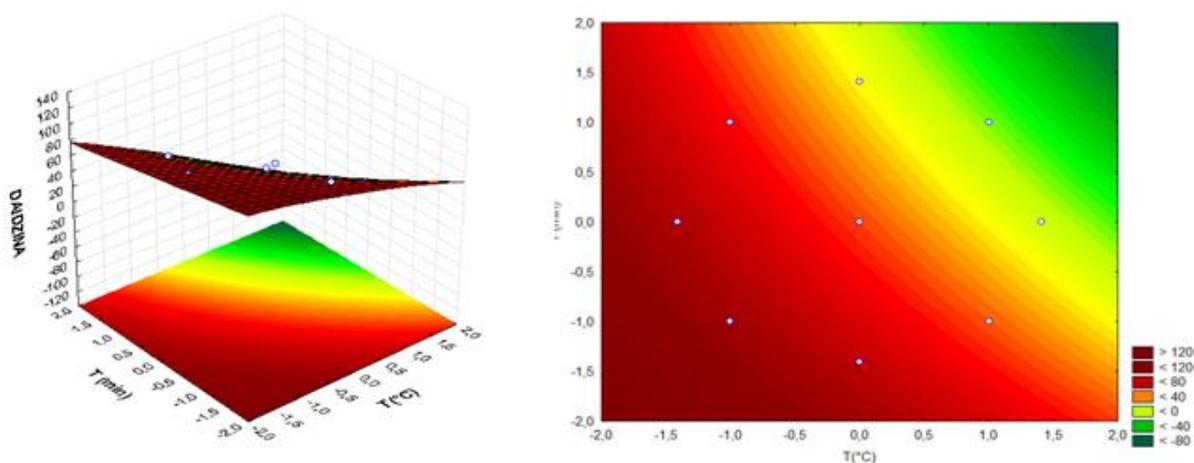


Figura 7 - Superfície de resposta e curva de contorno para a isoflavona daidzina da farinha *Kinako* em função da temperatura e do tempo de aquecimento.

O valor da isoflavona daidzina variou de acordo com os tratamentos de temperatura e tempo nos 12 ensaios realizados no delineamento fatorial.

As curvas de nível traçadas na Figura 7 indicam que, as maiores repostas para a isoflavona glicosídica daidzina foram obtidas nas condições de temperatura e tempo baixos. Isto se deve ao fato de que altas temperaturas e elevado tempo de exposição ao calor podem degradar esta isoflavona.

Já para a variável glicosídica glicitina (Tabela 11), o coeficiente de determinação foi de 95,41 % podendo também ser considerado um bom modelo gerado (Tabela 12, Equação 11). A Equação 11 corresponde a Figura 8 e ilustram a superfície de resposta e as curvas de contorno geradas pelo modelo relacionadas com o teor da isoflavona glicitina na forma conjugada glicosídica, em função da temperatura (°C) e o tempo (min).

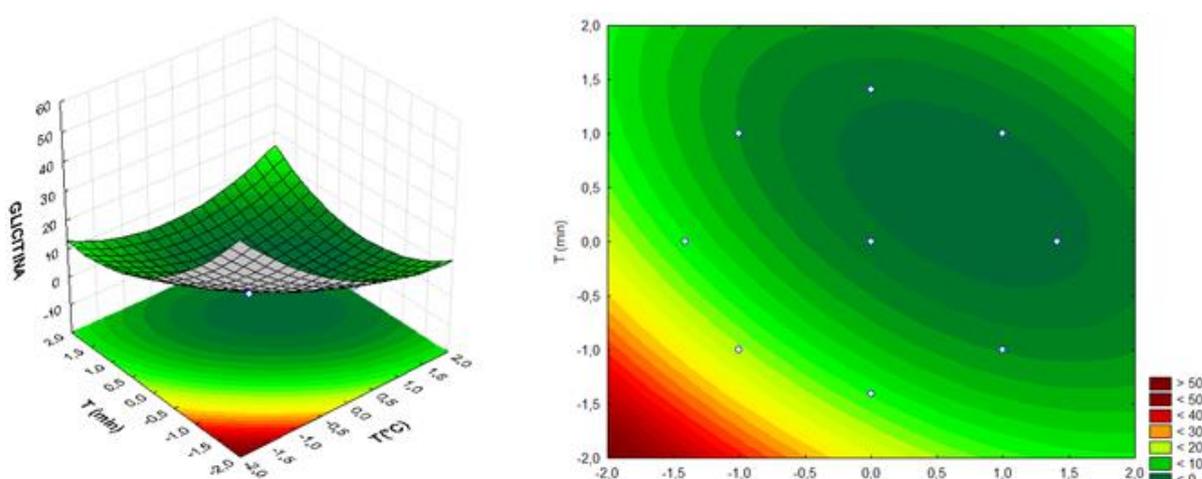


Figura 8 - Superfície de resposta e curva de contorno para a isoflavona glicitina da farinha *Kinako* em função da temperatura e do tempo de aquecimento.

A Figura 8 demonstra que maiores valores para isoflavona glicitina podem ser encontrados em tempo e temperatura inferiores, estes dados revelam que tempo e temperatura elevados influenciam negativamente na concentração desta variável.

A Equação 12 representa a Figura 9 e ilustram a superfície de resposta e as curvas de contorno relacionadas com a concentração de genistina, em função da

temperatura e o tempo de torrefação. A avaliação dos teores da isoflavona glicosídica genistina, apresentou alto coeficiente de determinação, 95,39 %.

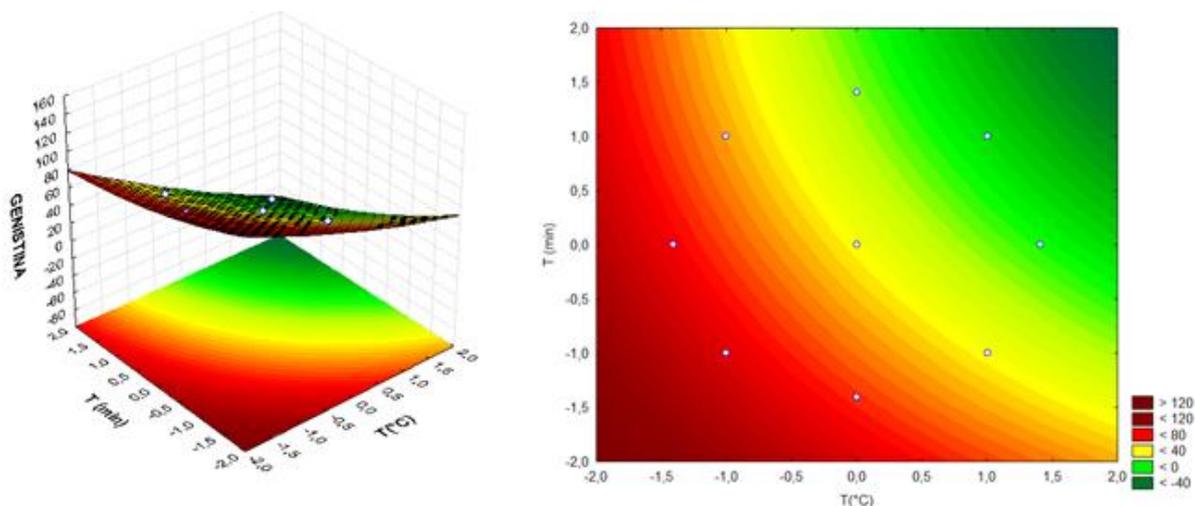


Figura 9 - Superfície de resposta e curva de contorno para a isoflavona genistina da farinha *Kinako* em função da temperatura e do tempo de aquecimento.

Observando a Figura 9 pode-se inferir que o maior percentual da isoflavona genistina foi obtido na faixa inferior de ambas variáveis (tempo e temperatura).

Segundo Eldridge (1982), Fukutake et al. (1996) e Mantovani et al. (2011) as isoflavonas daidzina, glicitina e genistina obtiveram suas concentrações reduzidas para valores elevados de temperatura e de tempo de exposição ao calor. Isto se deve ao fato de que estas formas glicosídicas encontram-se predominantemente na natureza e, são as principais formas encontradas no grão de soja, constituindo de 50 a 90 % dos flavonóides em farinha de soja.

De acordo com Galão et al. (2010) a 60 °C, as isoflavonas glicosídicas, daidzina e genistina obtiveram um aumento em sua concentração. Enquanto que para Lima et al. (2014) e Silva et al. (2012), as isoflavonas daidzina, glicitina e genistina também obtiveram suas concentrações reduzidas para valores elevados de temperatura e de tempo de exposição ao calor. Isto se deve ao fato de que estas formas glicosídicas encontram-se predominantemente na natureza e, são as principais formas encontradas no grão de soja.

Com base neste modelo, foram construídas superfícies de respostas para os derivados glicosilados acetilados, conforme Figuras 10, 11 e 12. Observa-se nas figuras citadas, que a elevação da temperatura e do tempo de exposição ao calor

reduz as concentrações destes compostos. Isto significa que, a região otimizada para as isoflavonas na forma acetil encontram-se na região de baixa temperatura e tempo menor de torrefação.

A análise de variância (ANOVA) obtida para a concentração da isoflavona acetil daidzina está apresentada na Tabela 11. O coeficiente de determinação da regressão (R^2) = 0,9856 para o modelo foi válido, indicando que 98,56% e da variabilidade dos dados observados podem ser explicados pelo modelo gerado (Tabela 12, Equação 13).

Conforme Barros Neto, Scarminio e Bruns (1995; 2001) e Khuri e Cornell (1996), o coeficiente de determinação (R^2) mede a proporção da variação total da resposta que é explicada pelo modelo. Desse modo, quanto maior o R^2 , isto é, quanto mais próximo de 1, menor será o erro e melhor será o modelo experimental.

A Equação 13 representa a Figura 10 e ilustram a superfície de resposta e as curvas de contorno relacionadas com a concentração de acetildaidzina, em função da temperatura e do tempo de torrefação. Observa-se que em temperatura elevada e alto tempo de exposição ao calor diminuem a concentração desta isoflavona na forma acetil. O coeficiente de determinação da regressão (R^2) = 98,56% para o modelo foi válido, pois apresenta coeficiente de determinação.

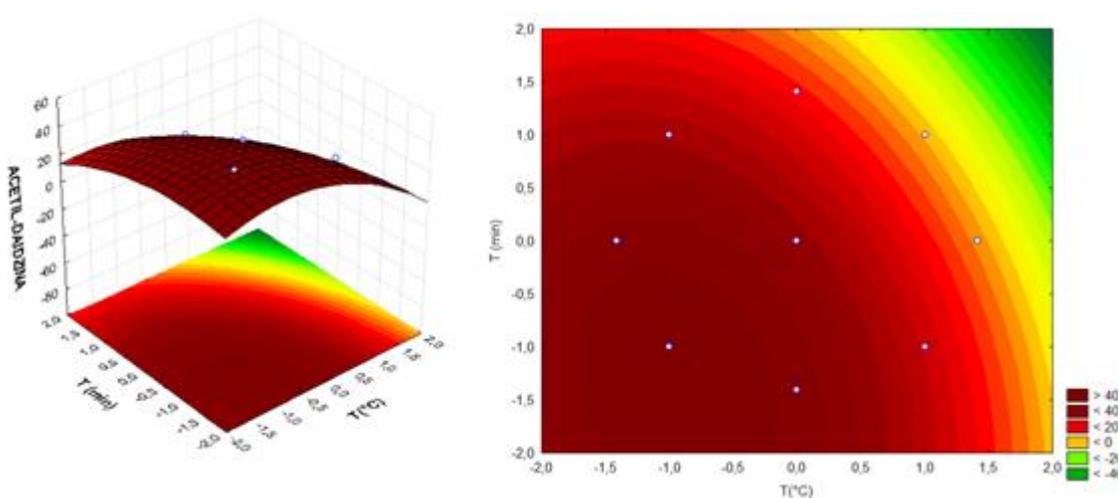


Figura 10 - Superfície de resposta e curva de contorno para a isoflavona acetildaidzina da farinha *Kinako* em função da temperatura e do tempo de aquecimento.

Com base na superfície de resposta para a resposta acetildaidzina observa-se que temperatura elevada e alto tempo de exposição ao calor diminuem a concentração desta isoflavona na forma acetil (Figura 10).

A análise de variância (ANOVA) obtida para a isoflavona acetilglicitina está apresentada na Tabela 11. O alto coeficiente de determinação, 98,02% mostra de 98,02% da variabilidade dos dados podem ser explicada pelo modelo gerado.

A Equação 14 corresponde a Figura 11 e demonstram a superfície de resposta e as curvas de contorno relacionadas com a concentração de acetilglicitina em função da temperatura e do tempo de torrefação.

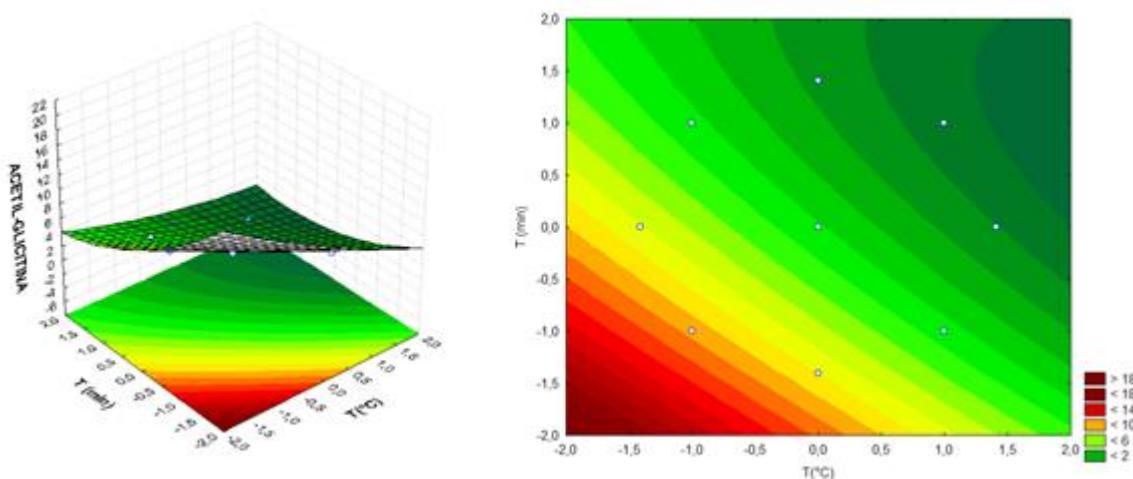


Figura 11- Superfície de resposta e curva de contorno para a isoflavona acetilglicitina da farinha *Kinako* em função da temperatura e do tempo de aquecimento.

A análise de variância (ANOVA) obtida para a isoflavona acetilgenistina está apresentada na Tabela 11, sendo que seu coeficiente de determinação, também foi alto, 97,27% (Tabela 12).

A Equação 15 corresponde à Figura 12 e demonstram a superfície de resposta e as curvas de contorno relacionadas com a concentração de acetilgenistina em função da temperatura e do tempo de torrefação.

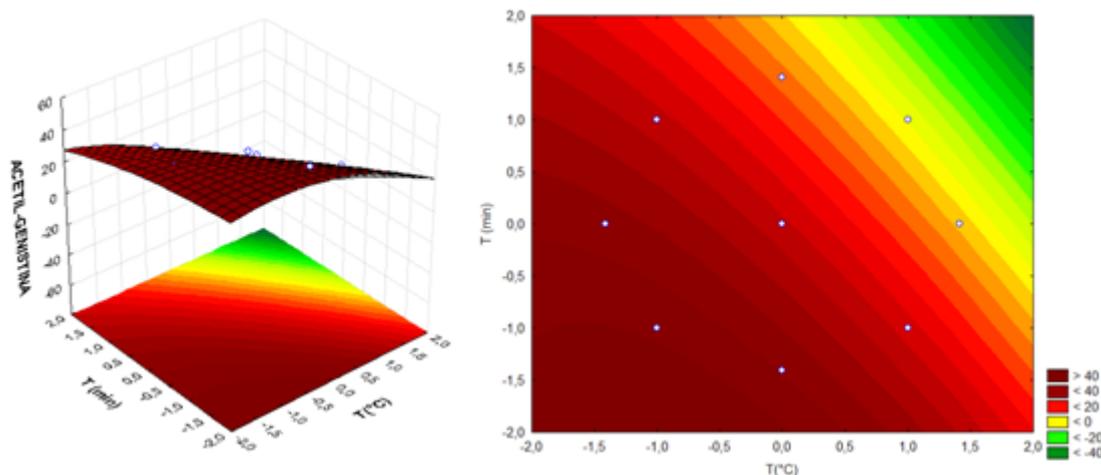


Figura 12 - Superfície de resposta e curva de contorno para a isoflavona acetilgenistina da farinha *Kinako* em função da temperatura e do tempo de aquecimento.

Estes resultados vão de encontro aos estudos de Lee et al. (2009), que menciona que o calor empregado para obtenção da farinha torrada ou extrusada é responsável por alterações no perfil de isoflavonas. Shao et al. (2009) também observa variação no perfil de isoflavonas do grão de soja se comparada a farinha de soja

As formas malonil não foram detectadas para todos os tratamentos nas farinhas, pois os glicosídeos malonil são muito sensíveis ao calor e facilmente convertem-se ao estado mais estável, as β -glicosídicas (SETCHELL, 1998).

A farinha de soja torrada, quando comparada ao grão, apresenta predominância de acetilglicosídeos em relação aos malonilglicosídeos, devido ao calor seco utilizado no processamento, o qual acarreta perda do dióxido de carbono (descarboxilação) dos malonilglicosídeos (FARAJ; VASANTHAN, 2004).

Aguiar et al. (2012) também demonstraram que o tratamento térmico de farinha de soja aumenta a quantidade de isoflavonas glicosídicas devido descarboxilação das formas conjugadas malonil correspondentes, após o tratamento térmico a 121^o C durante 30 minutos, todas as malonilisoflavonas foram convertidos em isoflavonas glicosídicas.

Aguiar et al. (2012) detectaram a conversão total de formas malonilglicosídicas nas temperaturas de 100^o C e 121^o C analisadas. Simonne et al. (2000) atribui essa conversão a várias etapas de processamento como em ebulição, branqueamento, congelamento e liofilização, que apresentaram redução de 40-60%. Setchell (1998)

considera essas formas de grande ocorrência natural, no entanto, formas instáveis de fácil degradação.

Nas Tabelas 11 e 12 pode-se observar que o modelo gerado, para a isoflavona aglicona daidzeína, cujo coeficiente de determinação foi de 95,59%, mostrando que 95,59% da variabilidade dos dados podem ser explicada pelo modelo. A Equação 16 representa a Figura 13 e demonstram a superfície de resposta e as curvas de contorno relacionadas com a concentração de daidzeína em função da temperatura e do tempo de torrefação.

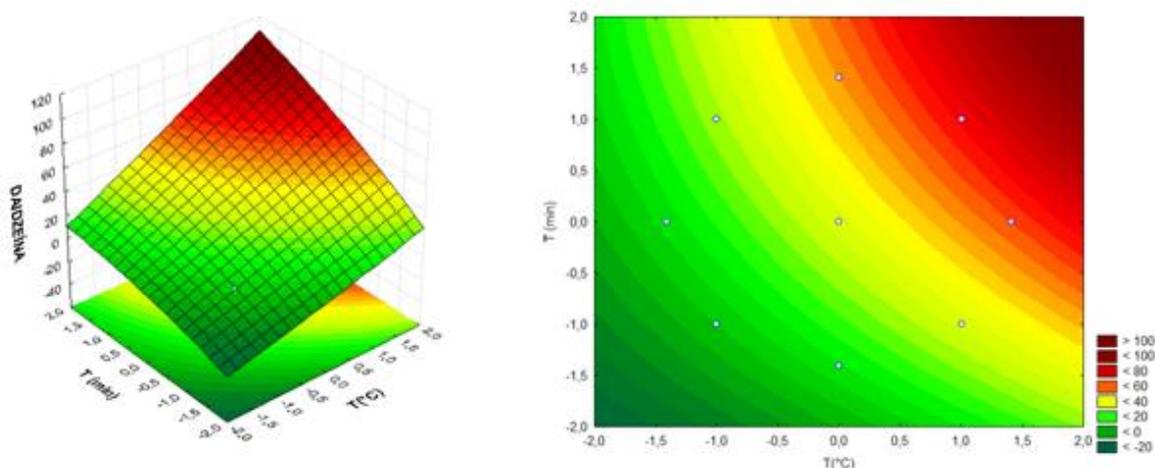


Figura 13 - Superfície de resposta e curva de contorno para a isoflavona daidzeína da farinha *Kinako* em função da temperatura e do tempo de aquecimento.

A análise de variância (ANOVA) obtida para a isoflavona gliciteína está apresentada na Tabela 11. Seu coeficiente de determinação foi de 90,87% (Tabela 12, equação 17).

A Figura 14 apresenta os resultados encontrados na equação 17 da Tabela 12 referentes aos ensaios para a isoflavona gliciteína em função da temperatura e do tempo de torrefação.

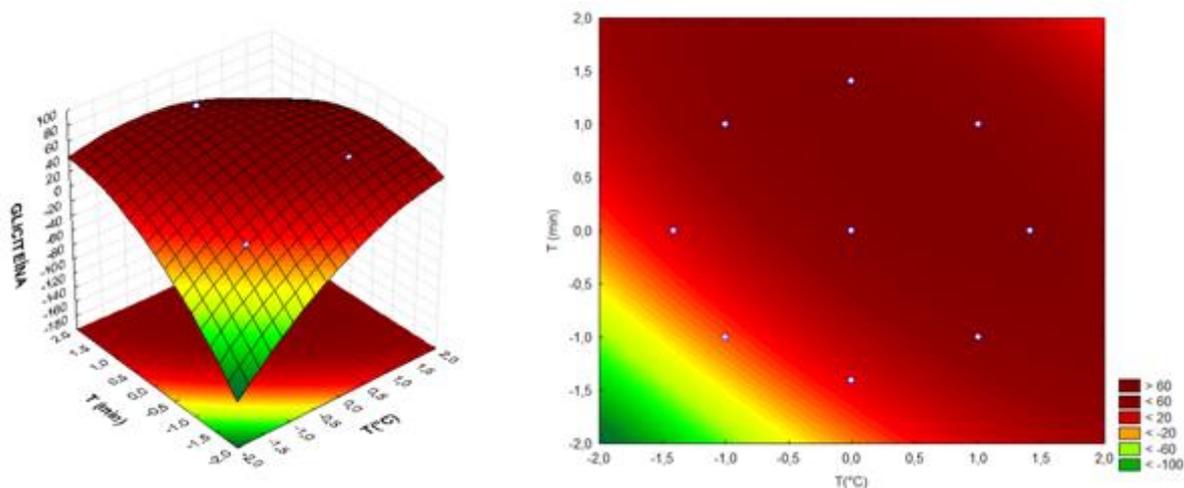


Figura 14 - Superfície de resposta e curva de contorno para a isoflavona gliciteína da farinha *Kinako* em função da temperatura e do tempo de aquecimento.

A Equação 18 representa a Figura 15, e demonstram a superfície de resposta e as curvas de contorno relacionadas com a concentração de genisteína em função da temperatura e do tempo de torrefação.

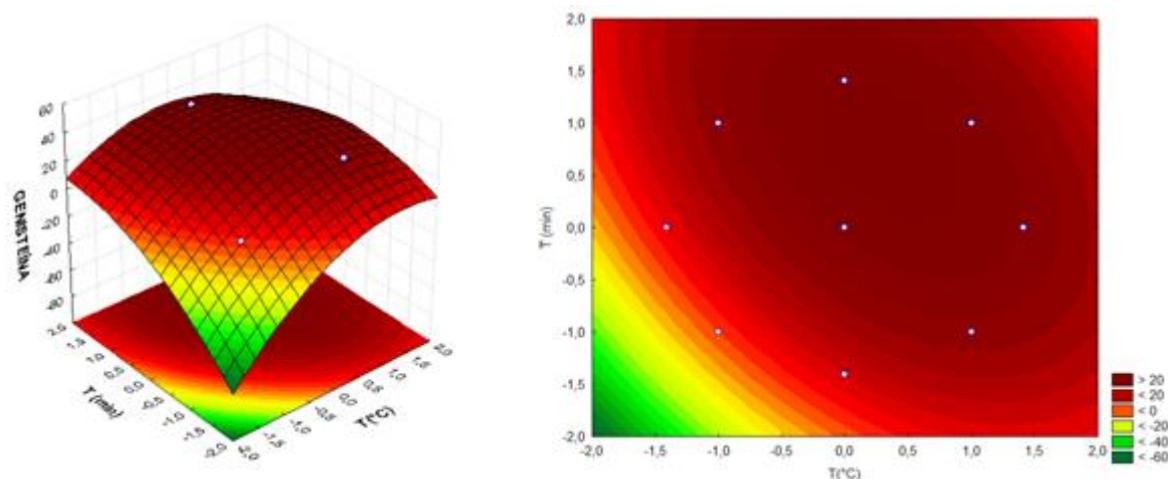


Figura 15 - Superfície de resposta e curva de contorno para a isoflavona genisteína da farinha *Kinako* em função da temperatura e do tempo de aquecimento.

A análise de variância (ANOVA) obtida para a isoflavona genisteína está apresentada na Tabela 11, indicando que 90,56% da variabilidade dados podem ser explicadas pelo modelo (Tabela 12, equação 18).

Pode-se observar nas Figuras 13, 14 e 15 apresentaram respostas bem variadas segundo os tratamentos aplicados. Estes indicam que a presença das

isoflavonas agliconas daidzeína, gliciteína e genisteína aumentam nas faixas de temperatura e tempo elevados, pois os coeficientes dos modelos são positivos. A análise dos dados demonstra que houve conversão das isoflavonas glicosídicas para as formas agliconas.

As isoflavonas agliconas em especial a daidzeína e a genisteína, que são encontradas sob a forma não conjugada exercem no organismo atividade biológica e biodisponibilidade importante (PRITCHETT et al., 2008; GARDNER; CHATTERJEE; FRANKE, 2009; CHEONG et al., 2014; PARK et al., 2014)

Resultados obtidos por Xu et al. (2002) demonstraram que ocorre redução nos teores de glicosídeos desesterificados e formação de agliconas e acetilglicosídeos em aquecimento a 135°C. Os autores verificaram ainda que há diminuição drástica da forma glicosídica em temperatura superior a 185°C.

Carrao-panizzi et al. (2003) após os tratamentos térmicos na semente de soja observaram que as concentrações de agliconas nestas aumentaram oito vezes. Lee et al. (2009) demonstram valores superiores das isoflavonas agliconas quando utilizados temperaturas de torrefação de 200 °C por 21 minutos.

Com este trabalho, de otimização das condições de extração das isoflavonas obtido pelo delineamento experimental (central composite rotational design (CCRD)), e análise de dados pela metodologia de superfície de resposta (RSM) foi possível obter as melhores condições de extração das isoflavonas agliconas para então prosseguir com os experimentos posteriores, como a caracterização físico-química e microbiológica da melhor farinha de *kinako* e para a elaboração do pão integral. Desta forma, a farinha de *kinako* obtida na condição de torrefação de 200°C por 31 minutos e denominada *Kinako* A8, foi a escolhida por apresentar altos teores de isoflavonas gliciteína (71,00 mg/100 g), daidzeína (59,77 mg/100 g) e em especial genisteína (41,10 mg/100 g), se comparados aos demais tratamentos (Tabela 13). Esta farinha, A8, foi utilizada para a formulação do pão integral enriquecido com semente de chia. Nesta farinha, também foi realizadas análises microbiológicas, físico-químicas, minerais e determinação de seu perfil de ácidos graxos.

Tabela 13 - Total de isoflavonas em mg/100 g do grão de soja (ensaio 0) e das farinhas de soja torradas conforme delineamento experimental proposto.

Ensaio	DAIDZINA	GLICITINA	GENISTINA	M- DAIDZINA	M- GLICITINA	M- GENISTINA	A- DAIDZINA	A- GLICITINA	A- GENISTINA	DAIDZEÍNA	GLICITEÍNA	GENISTEÍNA
0	67,583	14,947	60,983	87,501	22,581	141,243	0,000	0,000	0,000	4,294	16,536	3,286
1	85,100	16,382	77,725	0,000	0,000	0,000	49,011	9,223	44,884	7,075	0,000	5,095
2	42,299	1,839	32,576	0,000	0,000	0,000	26,774	3,015	26,029	33,048	56,156	31,437
3	64,122	3,789	57,569	0,000	0,000	0,000	29,849	3,840	31,798	22,127	45,735	23,419
4	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	61,190	49,666	30,429
5	85,763	13,756	79,574	0,000	0,000	0,000	41,662	7,058	42,304	9,624	12,783	7,025
6	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	65,107	64,138	30,914
7	84,825	16,148	78,221	0,000	0,000	0,000	39,199	8,659	45,789	8,519	0,000	5,023
8	7,686	0,000	3,877	0,000	0,000	0,000	14,267	0,000	5,485	59,765	71,004	41,103
9	54,289	2,599	44,139	0,000	0,000	0,000	36,406	3,534	32,220	30,937	46,343	30,384
10	43,937	0,000	33,247	0,000	0,000	0,000	34,322	2,999	27,542	37,023	59,421	34,909
11	45,623	0,000	34,771	0,000	0,000	0,000	31,739	2,849	27,210	34,571	58,704	34,120
12	38,359	0,000	28,474	0,000	0,000	0,000	31,543	2,299	19,257	36,729	83,094	35,789

5.3 PARÂMETROS QUÍMICO-BROMATOLÓGICOS E MINERAL DA SOJA BRS 257, KINAKO A8 E SEMENTE DE CHIA

Os resultados da caracterização química-bromatológica da soja BRS 257, *Kinako* A8 e semente de chia em base seca estão demonstrados na Tabela 13.

A cultivar de soja BRS 257 apresentou apreciáveis conteúdos de proteínas, lipídeos, conteúdo mineral e fibras. O conteúdo protéico encontrado na cultivar de soja, empregada no presente trabalho foi similar ao descrito na literatura. Foram verificados teores de $39,6 \pm 0,2$ % de proteínas, valor próximo ao descrito por Santos et al. (2010) (38,9 %). Alves et al. (2011) verificou que em amostras da mesma cultivar foram encontrados teores 42,2 % de proteína.

Da mesma forma, os valores encontrados em relação a resíduo mineral e umidade estão de acordo com dados da literatura. O teor de resíduos mineral obtido foi de $5,4 \pm 0,1$ % (Tabela 13). Para Alves et al. (2011) e Benassi et al. (2011) esta composição varia entre 5,63 % a 6,00 %.

Neste estudo, foram encontrados menores conteúdos de lipídeos ($15,7 \pm 0,4$ %) na soja BRS 257 quando comparado a dados da literatura. Alves et al. (2011) e Benassi et al. (2011) verificaram respectivamente conteúdos de 21,2 % e 23,8 % de lipídeos em grãos de soja BRS 257. Benassi et al. (2011) relatam conteúdos de 6,6 % de fibras, este inferior ao encontrado $16,0 \pm 0,3$ %. O conteúdo de carboidratos calculados por diferença, neste trabalho foi de 31,3 % e a umidade encontrada no grão foi de $8,0 \pm 0,5$ %.

Cabe ressaltar, que mesmo tratando-se de cultivar similar (BRS 257) diferenças na composição química podem ocorrer devido a vários fatores que interferirem na composição da soja, tais como o clima, localidade, época de cultivo, tipo de solo e adubação utilizada, entre outros que podem exercer influência no crescimento dos grãos levando a diversidade de teores dos nutrientes.

Na farinha de *kinako* foi encontrado um teor de lipídeos de $22,9 \pm 0,0$ % e $47,2 \pm 1,0$ % de proteínas e $5,4 \pm 0,1$ % de umidade (Tabela 13). De acordo com Bahls et al. (2011) o *Kinako* contém 51,8 % de proteína, valor próximo encontrado no presente trabalho. Já o conteúdo de lipídeos foi semelhante a 23,0 % encontrado por Bahls et al. (2011).

Bahls et al. (2011) verificaram um conteúdo de fibra bruta semelhante (19,9 %) ao encontrado neste estudo ($19,0 \pm 0,4$ %) para o *kinako* elaborado a partir do grão de soja BRS 257. Com relação ao teor de carboidratos foi encontrado 19,2 % de açúcares, valor inferior ao referenciado por Bahls et al. (2011), que encontrou 25,4 % de açúcares.

Tabela 14 - Composição química da soja BRS 257, *kinako* A8 e semente de chia.

Parâmetros físico-químicos	Soja BRS 257 (g / 100 g) ¹	<i>Kinako</i> A8 (g / 100 g) ¹	Semente de chia(g / 100 g) ¹
Proteína	39,6 \pm 0,2	47,2 \pm 1,0	19,9 \pm 0,6
Resíduo Mineral	5,4 \pm 0,1	5,2 \pm 0,3	5,6 \pm 0,2
Fibra Bruta	16,0 \pm 0,3	19,0 \pm 0,4	20,5 \pm 0,1
Lipídeos	15,7 \pm 0,4	22,9 \pm 0,0	37,0 \pm 0,2
Umidade	8,0 \pm 0,5	5,4 \pm 0,1	6,4 \pm 0,4

¹média de 3 determinações \pm o desvio padrão.

Como pode ser visto na Tabela 13, o *kinako* oriundo do grão de soja BRS 257 apresentou similaridade no conteúdo de resíduo mineral e melhora no conteúdo de proteínas, fibras e lípidios se comparado ao grão *in natura*, possuindo, portanto, boa qualidade nutricional e potencial para uso como ingrediente em formulações de produtos alimentícios. Proporcionalmente, ocorreu uma redução no teor de carboidratos das farinhas de grãos tratados termicamente (38,5 %) em relação ao do grão *in natura* (18,3 %).

Segundo Shankarayana et al. (1974), os açúcares participam juntamente com os aminoácidos das proteínas de reações de *Maillard* e caramelização durante o processo de torração, então, se degradam e originam vários compostos voláteis. Esta degradação provocada pela reação de *Maillard* influenciou principalmente a variação dos teores de proteínas.

Para a semente de chia o teor de proteína encontrado foi $19,9 \pm 0,6$ % (Tabela 13) e encontra-se dentro da faixa referenciada (AYERZA; COATES, 2009). Ayerza e Coates (2011) também relatam valores que variam numa faixa de 15,95 a 26,03 % para as proteínas.

O teor de lipídios $37,0 \pm 0,2$ % encontrado na semente de chia (Tabela 13) utilizada na formulação do pão integral está acima aos encontrados por Ayerza e

Coates (2011), onde variam de 29,98 a 33,5 %. Esta diferença pode ser devida às diferenças de cultivo (AYERZA, 2009).

Com relação ao teor de umidade e cinzas (resíduo mineral), a semente de chia apresenta cerca de 6,4 % e $5,8 \pm 0,2$ % respectivamente (Tabela 13), valores similares aos encontrados por Ferreira (2013) 7,8 e 5,1 % respectivamente.

O valor de fibra bruta na chia foi de $20,5 \pm 0,1$ (Tabela 13), e está de acordo com valores encontrados na literatura, que variam de 19,4 a 30 % (EFSA, 2009). Os carboidratos representam um total de 31,1 %, valor dentro da faixa referenciada, a qual varia de 26 a 41 % (EFSA, 2009).

Os resultados demonstrados na Tabela 13 revelam que a semente de chia, apresentando alto teor de proteínas, fibras e lipídios, podendo ser considerada um alimento com alta qualidade nutricional.

Os resultados da caracterização mineral da soja BRS 257, em base seca estão demonstrados na Tabela 14. A cultivar de soja BRS 257 apresentou apreciável conteúdo mineral, sendo similar ao descrito na literatura (BENASSI; PRUDENCIO, 2013) os quais encontraram para cálcio, magnésio, potássio, ferro, zinco e manganês respectivamente valores de $177,3 \pm 7,6$, $197,2 \pm 13,9$, $1127,7 \pm 58,4$, $9,0 \pm 1,2$, $4,5 \pm 0,7$ e $3,6 \pm 0,3$ mg/100 g.

Tabela 15 - Composição mineral da soja BRS 257, deste trabalho e valores encontrados na literatura

Minerais	Soja BRS 257 (mg / 100 g) ¹	Soja BRS 257 Benassi; Prudencio (mg/100 g) ¹
Cálcio	$240,3 \pm 4,3$	$177,3 \pm 7,6$
Magnésio	$257,1 \pm 3,0$	$197,2 \pm 13,9$
Sódio	$6,3 \pm 0,2$	-
Potássio	$1675,4 \pm 10,7$	$1127,7 \pm 58,4$
Ferro	$13,6 \pm 0,1$	$9,0 \pm 1,2$
Manganês	$3,3 \pm 0,2$	$3,6 \pm 0,3$
Zinco	$4,8 \pm 0,1$	$4,5 \pm 0,7$

¹média de 3 determinações \pm o desvio padrão.

Para o *kinako* A8 e para a semente de chia o conteúdo mineral está expresso na Tabela 15. A torrefação dos grãos de soja promoveu um aumento da concentração mineral se comparada aos grãos *in natura*, resultando em uma melhora da qualidade nutricional para o produto final. Esta afirmação é válida exceto para o mineral ferro que teve a sua concentração reduzida de $13,6 \pm 0,1$ % para $13,1 \pm 0,2$ % (Tabela 15).

O *kinako* produzido possui teor dos minerais cálcio ($328,29 \pm 4,3$ %) e ferro ($13,1 \pm 0,2$ %) similares ao comercializado pela empresa Good Soy[®], que relata valores de 330 % e 11 % para o cálcio e ferro respectivamente.

Para Özcan e Juhaimi (2014), o cálcio apresenta valores entre 2.891 ± 146 a $409,5 \pm 60$ %, o magnésio varia de $171,4 \pm 13$ a 1714 ± 13 % e o potássio de $1.654,7 \pm 693$ a $1.954,0 \pm 274$.

Tabela 16 - Resultados da composição mineral do *kinako* A8 e semente de chia em base seca.

Minerais	<i>Kinako</i> A8 (mg / 100 g) ¹	Semente de chia (mg / 100g) ¹
Cálcio	$328,29 \pm 4,3$	$676,28 \pm 11,0$
Magnésio	$288,31 \pm 3,0$	$467,59 \pm 17,0$
Sódio	$6,99 \pm 0,2$	$2,49 \pm 0,2$
Potássio	$1.732,86 \pm 10,7$	$950,50 \pm 1,7$
Ferro	$13,10 \pm 0,2$	$51,85 \pm 0,3$
Manganês	$3,63 \pm 0,2$	$6,13 \pm 0,1$
Zinco	$4,97 \pm 0,1$	$7,80 \pm 0,1$

¹média de 3 determinações \pm o desvio padrão.

O resultado dos minerais para a semente de chia encontrados no presente trabalho diferem dos encontrados por Gohara et al. (2013), onde encontra valores superiores para cálcio 889.21 ± 37.63 , zinco 6.94 ± 0.12 e potássio $9.399.08 \pm 37.34$. E, valores inferiores para os minerais, ferro 4.85 ± 0.20 , magnésio 255.74 ± 9.07 e manganês 1.83 ± 0.15 .

O valor de cálcio ($676,28 \pm 11,0$) está dentro da variação encontrada por Llorent-Martínez et al. (2013) onde este pode variar de 450 a 750 % tendo uma média de 580 ± 20 %. O mesmo acontece para o magnésio onde o valor encontrado $467,59 \pm 17,0$ % está dentro da variação 330 a 510 % e potássio onde o valor encontrado de $950,50 \pm 1,7$ está dentro da variação 700 a 1.100 %.

Entende-se que variações nutricionais para a semente de chia podem ocorrer devido a inúmeros fatores como, clima, localidade, época de cultivo, tipo de solo e adubação utilizada, entre outros, alterando assim o perfil dos nutrientes encontrados.

5.4 PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS (AG) DA SOJA BRS 257, *KINAKO* A8 E SEMENTE DE CHIA

A Tabela 16 apresenta a composição dos ácidos graxos encontrados no grão de soja BRS 257, *Kinako A8* e semente de chia analisados por cromatografia gasosa (CG).

Tabela 17 - Perfil de ácidos graxos (AG)¹ da soja BRS 257, *kinako A8* e semente de chia.

Perfil (% do total de AG)¹	Soja BRS 257	<i>Kinako A8</i>	Semente de chia
Ag saturados (AGS)			
Palmítico (C16:0)	12,58 ±0,4	12,84 ±0,2	7,64 ±0,0
Esteárico (C18:0)	3,56 ±0,0	3,67 ±0,0	2,76 ±0,0
Araquídico (C20:0)	0,36 ±0,0	0,37 ±0,0	0,26 ±0,0
Σ AGS	16,50 ±0,4	16,88 ±0,2	10,66 ±0,0
Ag monoinsaturado (AGMI)			
Oleico (C18:1)	18,28 ±0,8	19,15 ±0,0	6,39 ±0,1
Ag poli-insaturados (AGPI)			
Linoléico (C18:2n-6)	53,81 ±0,8	55,95 ±0,0	19,54 ±0,4
Linolênico (C18:3n-3)	11,41 ±1,9	8,02 ±0,1	63,41 ±0,3
Σ AGPI	65,22 ±1,2	63,97 ±0,2	82,95 ±0,1
Razão			
AGPI/AGS	3,96 ±0,1	3,79 ±0,0	7,78±0,0
n-6/n-3	4,83 ±0,9	6,98 ±0,1	0,31 ±0,0

¹média de 4 determinações ± o desvio padrão (%).

Os valores de ácidos graxos apresentados na tabela 16 para o grão de soja BRS 257 vão de encontro com os dados de Silva et al. (2010), os quais encontraram 11,90 % de AGS palmítico no grão inteiro, 3,68% de AGS esteárico, 20,15 % de AGMI oleico, 56,46 % de AGPI linoleico e 6,63 % de AGPI linolênico, estes dados estão próximos dos valores encontrados para a mesma cultivar no presente trabalho (Tabela 16).

Os dados encontrados neste estudo também corroboram com a pesquisa realizada por Galão et al. (2014) que apresenta para BRS 257, 13,34% de AGS palmítico, 4,03 % de AGS esteárico e 0,01 % de AGS araquídico. O AGMI oleico apresentou valor de 14,48 % e os AGPI ômega-6 e ômega-3, 58,60% e 7,86% respectivamente.

De acordo com Vieira, Cabral e Paula (1999) a cultivar também brasileira EMBRAPA-4 apresentou 9,27 % de AGS palmítico e 2,87 % de AGS esteárico valores inferiores aos encontrados para a cultivar BRS 257, $12,58 \pm 0,4$ % e $3,56 \pm 0,0$ % respectivamente. Esta cultivar também apresentou valor superior de AGMI oleico (39,93 %) se comparado ao valor de $18,28 \pm 0,8$ % encontrado para a BRS 257.

Os teores de AGPI relatados no presente estudo se revelam bem superiores para o ômega-6 ($53,81 \pm 0,8$) e para o ômega-3 ($11,41 \pm 1,9\%$) (Tabela 16) se comparados aos encontrados para a cultivar EMBRAPA-4 (42,46 e 4,64 %), indicando que a cultivar BRS 257 destinada ao consumo humano apresenta valores satisfatórios dos ácidos graxos essenciais ômega-6 e ômega-3.

Os valores de ácidos graxos do grão de soja *in natura* foram similares aos do *kinako* indicando que o processo térmico não promoveu alterações expressivas no perfil de ácidos graxos exceto para os AGPI (Tabela 16).

De acordo com Simão, Lozovoy e Dichi (2014) em um estudo sobre o efeito do *kinako* sobre o metabolismo da glicose em sessenta e cinco mulheres com síndrome metabólica demonstrou que o consumo de *kinako* em doses de 29,14 g / dia provocou a diminuição do colesterol LDL e dos triglicerídeos após 45 e 90 dias.

A semente de chia, dentre as matérias-primas estudadas, foi a que apresentou valor de AGPI n-3 (ácido linolênico) mais expressivo ($63,41\% \pm 0,3$) (tabela 16). Os resultados encontrados para a semente de chia estão de acordo com os relatados em um estudo realizado por Marineli et al. (2014) com óleo de semente de chia chilena, onde foram observados para os AGS 16:0, 18:0 e 20:0 valores de 7,07 %, 3,36 % e 0,29 % respectivamente, para o AGMI 18:1, 7,04 % e para os AGPI 18:2 e 18:3 os valores foram de 18,23 % e 62,80 %.

A razão dos AGPI n-6/n-3 encontrada por Galão et al. (2014) para a semente de soja BRS 257 foi 7,46 %, sendo superior a encontrada neste trabalho ($4,83\% \pm 0,9$) (Tabela 16). No *kinako* a razão encontrada foi superior ao valor da semente *in natura* crua ($6,98 \pm 0,1$), indicando que a temperatura (200 °C) e o tempo de exposição (31 min) influenciaram na relação n-6/n-3. Visto que houve um aumento na quantidade de AGPI ômega-6 de 2,14% e uma diminuição na quantidade de AGPI ômega-3 de 3,39% (Tabela 16). A semente de chia foi a matéria-prima analisada que obteve relação n-6/n-3 inferior ($0,31 \pm 0,0$) se comparada ao grão de soja BRS 257 e ao *kinako* A8, este resultado vai de encontro ao de Marineli et al. (2014) que apresenta uma razão n-6/n-3 de 0,29.

Estudos revelam que menores taxas de n-6/n-3 são altamente vantajosas para a saúde dos consumidores (Lands, 2014; Bonafe et al., 2011). E, com base nesta afirmação os valores encontrados revelam que a semente chia na dieta humana diária parece ser realmente benéfica.

Tem-se que os ácidos graxos ômega-6 (n-6), poli-insaturados (PUFA) (por exemplo, o ácido araquidônico (AA)) e o ácido graxo omega-3 (n-3) também PUFA (por exemplo, o ácido eicosapentaenóico (EPA)) são precursores de moléculas de lípidos mediadores de sinalização, denominados "eicosanóides", que têm um papel importante na regulação da inflamação. Em geral, os eicosanóides derivados de n-6 PUFAs são pró-inflamatórios, enquanto eicosanóides derivados de n-3 PUFAs são anti-inflamatórios (PATTERSON et al., 2012).

Estes ácidos graxos competem pelas mesmas enzimas durante as reações de dessaturação e alongamento da cadeia carbônica, influenciando o produto final dos ácidos graxos. Apesar de essas enzimas terem maior afinidade pelos ácidos ômega-3, a conversão do ácido alfa-linolênico (pertencente à família ômega-3) em ácido eicosapentaenóico (EPA) e docosahexaenóico (DHA) é fortemente influenciada pelos níveis de ácido linoleico (pertencente à família ômega-6) na dieta. Portanto, as alterações dietéticas atuais de ingestão de n-6 e n-3 PUFA mostram que a razão média de n-6 e n-3 de 15: 1, está associada com maior metabolismo de n-6 PUFAs em comparação com PUFA n-3. Coincidindo com este aumento na proporção de (n-6): (n-3) PUFA estão o aumento de doenças inflamatórias crônicas, como doença hepática não alcoólica, doenças cardiovasculares, obesidade, doença inflamatória intestinal, artrite reumatóide, e doença de Alzheimer (PATTERSON et al., 2012).

Simopoulos (2002) recomenda uma razão n-6/n-3 menor que 4,0. Seu estudo aponta que na prevenção de doença cardiovascular, uma razão n-6/n-3 de 4/1 foi associada com uma redução de 70 % na mortalidade. Uma razão de 2,5 / 1 reduziu a proliferação celular retal em pacientes com câncer de cólon-retal. Uma relação menor de ômega-6/ômega-3 foi associada com risco reduzido de câncer de mama em mulheres. Uma razão de 2-3/1 suprimiu proporcionalmente a inflamação em pacientes com artrite reumatoide, e uma proporção de 5/1 tem um efeito benéfico sobre os doentes com asma, e, uma proporção de 10/1 pode ter consequências negativas para a saúde.

Ainda segundo Simopoulos (2002) deve-se encorajar um maior consumo de AGPI n-3 e menor consumo de AGPI n-6 na dieta ocidental, pois considerando que,

em dietas ocidentais, a proporção de n-6/n-3 é de 15/1-16,7/1, estas são deficientes em ômega-3 e têm quantidades excessivas de ômega-6 em comparação com a dieta oriental. Quantidades excessivas de AGPI ômega-6 e uma razão ômega-6/ômega-3 muito elevada, como é encontrado em dietas ocidentais de hoje, podem promover a patogênese de muitas doenças, incluindo doenças cardiovasculares, câncer e doenças inflamatórias autoimune. O aumento dos níveis de AGPI ômega-3 (na relação omega-6/omega-3 baixo) exercem efeitos supressivos.

Já Lands (2014), não estabelece uma razão ômega-6/ômega-3 ideal, porém recomenda uma Necessidade Média Estimada (EAR) de ácido linoleico de aproximadamente 0,1 % da energia alimentar diária e um Limite Superior Tolerável de Ingestão (UL), perto de 2% da energia alimentar diária sem probabilidade de risco de efeitos adversos à saúde.

Há evidências de acordo com a WORLD HEALTH ORGANIZATION (2008) de que o n-3 em conjunto com os demais AGPI, podem contribuir para a prevenção da doença coronária, e possivelmente outras doenças degenerativa relacionados ao envelhecimento. O AGPI n-6 em conjunto com uma dieta saudável, contribui para uma boa saúde a longo prazo, diminuindo as concentrações de colesterol total e de colesterol LDL e, portanto, fazendo decrescer o risco de doença coronariana.

Outro índice utilizado para avaliar o valor nutricional de óleos e gorduras é a razão entre ácidos graxos poli-insaturados/saturados (AGPI/AGS), cujos valores inferiores a 0,45 têm sido considerados como indesejáveis à dieta por sua potencialidade na indução do aumento de colesterol sanguíneo (DEPARTMENT OF HEALTH & SOCIAL SECURITY, 1984). Kang et al. (2005) descrevem que é desejável manter uma razão (AGPI/AGS) mínima de aproximadamente 1,0 -1,5 para se reduzir o risco de doenças cardiovasculares.

Neste estudo, os valores encontrados para a razão de AGPI/AGS foram de 3,96 ±0,1 %, 3,79 ±0,0 % e 7,78±0,0 % para amostras de grão de soja in *natura*, *kinako* e semente de chia respectivamente, podendo estes ser considerados alimentos saudáveis (Tabela 16).

O grão de soja BRS 257, o *kinako* bem como a semente de chia apresentaram valores expressivos de AGI (ácidos graxos insaturados), revelando que o consumo destes incorporam a dieta diversos benefícios, como efeitos mais favoráveis sobre os níveis de triglicérides e HDL, redução da colesterolemia, risco reduzido em desenvolver diabetes, redução de risco de doenças cardiovasculares, diminuição

discreta da pressão arterial e possivelmente desempenham um papel relevante na prevenção da hipertensão arterial, em uma dieta associada a um estilo de vida saudável (SANTOS, 2013).

5. 5 CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS PARA O *KINAKO A8*

A análise microbiológica da farinha foi realizada com o intuito de verificar se a mesma enquadra-se na legislação vigente RDC N° 12 de 2 de janeiro de 2001 (BRASIL, 2001). E com a finalidade de atestar a segurança das amostras para posterior elaboração do produto panificado.

Os resultados obtidos para bolores e leveduras, contagem de Coliformes a 35°C, Coliformes a 45°C e *Salmonella* sp. encontram-se na Tabela 17.

Tabela 18 – Análises microbiológicas do *Kinako A8*

Parâmetros	Resultados
Bolores e Leveduras	2,0x10 ¹ UFC g/mL
<i>Salmonella</i> sp.	Ausência
Coliformes totais a 35 °C	<3,0 NMP g/mL
Coliformes Termotolerantes a 45 °C	<3,0 NMP g/mL

UFC – Unidade Formadora de Colônia; NMP – Número Mais Provável.

A amostra apresentou-se em condições sanitárias satisfatórias de acordo com a legislação brasileira, que estabelece para farinhas a tolerância de 10² NMP/g para Coliformes a 45 °C e ausência de salmonelas em 25 g.

O regulamento técnico sobre padrões microbiológicos RDC N° 12 de 2 de janeiro de 2001 (BRASIL, 2001), não estabelece padrões para bolores e leveduras em farinhas em pó ou flocadas. No entanto, esta análise é relevante, visto que estes micro-organismos são indicadores da qualidade e segurança dos alimentos. De acordo com esse critério, as baixas contagens encontradas evidenciam uma boa condição higiênica nos produtos analisados.

Esta mesma legislação também não estabelece parâmetros para os coliformes totais a 35 °C, porém tem-se que baixas contagens indicam boas práticas de manipulação e adequada condição higiênico-sanitária.

Zanatta, Schlabit e Ethur (2010) encontraram $5,5 \times 10^3$ UFC/g para farinha de beterraba, $4,2 \times 10^4$ UFC/g para farinha de cenoura e $1,3 \times 10^4$ UFC/g para farinha de espinafre, estes valores estão acima dos encontrados para o *kinako* A8 ($2,0 \times 10^1$ UFC/g). Estes mesmos autores também encontraram ausência de *Salmonella* sp. (em 25 g) e <3 NMP/g para Coliformes Termotolerantes a 45 °C nas três farinhas elaboradas.

Os resultados demonstraram qualidade microbiológica satisfatória, confirmando as boas condições higiênico-sanitárias nas etapas do processamento, cuidado nas operações de limpeza e sanitização dos utensílios e equipamentos e da higiene dos manipuladores, demonstrando que esta farinha pode ser utilizada como ingrediente para produtos processados.

5.6 CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS PARA OS PÃES ELABORADOS

Antes da realização da análise sensorial os pães elaborados foram avaliados visando garantir a sua qualidade microbiológica. Para tanto, as análises recomendadas pela legislação vigente RDC N° 12 de 2 de janeiro de 2001 (BRASIL, 2001) para o produto foram realizadas e seus resultados encontram-se descritos (Tabela 18).

Tabela 19 - Resultados das análises microbiológicas realizadas nos pães.

Análises	Formulações				Parâmetros
	F1	F2	F3	F4	RDC N° 12 de 2 de Janeiro de 2001
<i>Salmonella</i> sp.	Ausência em 25 g				
Coliformes totais a 35 °C	$<1,0 \times 10^1$ UFC/g	Não há			
Coliformes Termotolerantes a 45 °C	$<1,0 \times 10^1$ UFC/g	$1,0 \times 10^2$			

UFC – Unidade Formadora de Colônia; F1: formulação controle (sem adição de *kinako* e *chia*); F2: 10% de *Kinako* e 2% de *chia*; F3: 20% de *Kinako* e 2% de *chia*; F4: 30% de *Kinako* e 2% de *chia*.

As amostras apresentaram-se em condições sanitárias satisfatórias de acordo com a legislação brasileira para pão sem recheio e sem cobertura e produtos de panificação (Tabela 18).

Cantuária et al. (2008), verificaram que pães de forma enriquecidos com *okara* (subproduto da fabricação do leite de soja) estavam abaixo dos limites microbiológicos estabelecidos pela legislação brasileira RDC N° 12 de 2 de janeiro de 2001, portanto aptos para o consumo. Vieira et al. (2010) nas análises microbiológicas realizadas para as formulações de pão tipo chá com 0, 5, 10 e 15% de fécula de mandioca, também não detectaram ocorrências de coliformes a 45° e *Salmonella* sp. em níveis acima dos padrões estabelecidos pela legislação brasileira.

No estudo realizado por Azevedo et al. (2011) os coliformes totais e fecais estiveram ausentes em pães de forma elaborados com 5% de soro de leite em pó, apresentando-se em conformidade com a legislação brasileira RDC N° 12 de 2 de janeiro de 2001.

Os resultados encontrados demonstraram qualidade microbiológica satisfatória, confirmando as boas condições higiênico-sanitárias nas etapas do processamento, cuidado nas operações de limpeza e sanitização dos utensílios, equipamentos e da higiene dos manipuladores, demonstrando que os pães podem ser utilizados para realização de análise sensorial.

5.7 ANÁLISE SENSORIAL DOS PÃES ELABORADOS

Os resultados da análise sensorial dos pães foram obtidos com base na comparação destes por meio de duas escalas sensoriais tradicionalmente conhecidas, a saber, escala do ideal e escala hedônica.

A escala do ideal utilizada tem 5 pontos, onde os valores 1 e 2 significam um produto inferior ao considerado ideal pelo provador para o atributo avaliado, o valor 3 que representa o ideal e portanto a quantidade do atributo suficiente, representando o valor buscado pelo provador como valor que satisfaz o que ele procura no produto e valores 4 e 5 mais que o ideal ou seja atributos que estão com seus valores

sensoriais acima do que os provadores esperam do produto e que portanto poderiam ser reduzidos quantitativamente no produto.

A Tabela 19 apresenta os resultados médios obtidos como resultados da análise sensorial realizada com base na escala do ideal com 100 provadores.

Tabela 20 - Resultados médios das notas atribuídas para os diferentes atributos sensoriais avaliados na análise sensorial por meio da escala do ideal de 5 pontos, realizada comparando as três formulações de pão (F2, F3 e F4) com o produto controle (F1).

Atributos Sensoriais	Médias \pm desvio padrão das notas obtidas na escala do ideal			
	F1	F2	F3	F4
Cor	3,31 ^a \pm 0,76	3,24 ^{ab} \pm 0,85	3,00 ^{bc} \pm 0,96	2,79 ^c \pm 1,16
Odor	3,12 ^a \pm 0,76	2,98 ^{ab} \pm 1,02	2,86 ^b \pm 0,89	2,86 ^b \pm 0,86
Aparência	3,32 ^a \pm 0,76	3,19 ^{ab} \pm 0,88	3,04 ^b \pm 0,93	2,66 ^c \pm 1,01
Textura	3,19 ^a \pm 0,83	3,16 ^a \pm 0,91	3,12 ^a \pm 0,90	2,76 ^b \pm 1,16
Sabor	3,20 ^a \pm 0,86	2,91 ^a \pm 1,06	2,59 ^b \pm 1,09	2,52 ^b \pm 1,16

F1: formulação controle (sem adição de *kinako*); F2: 10% de *Kinako*; F3: 20% de *Kinako*; F4: 30% de *Kinako*. Médias seguidas por letras iguais nas linhas não diferem estatisticamente ao nível de 5% de probabilidade ($p < 0,05$).

Pode-se observar que apesar da preferência ter sido pelo pão branco tradicional utilizado como padrão, não se pode observar diferença significativa ao nível de 5% entre ele e o produto obtido pela Formulação 2 (com 10% de *kinako*) para nenhum dos atributos sensoriais avaliados.

O produto com a formulação 3 (contendo 20% de *kinako*) só foi considerado igual ao padrão para o atributo textura sendo que a formulação 4 (contendo 30% de *kinako*) apresentou-se diferente do padrão para todos os atributos sensoriais avaliados. Estes resultados mostram que a adição do *kinako* acima de 10% modificou a percepção sensorial, mas na proporção utilizada na formulação 2 seria tão ideal quanto o padrão para os cinco atributos avaliados.

Neste teste para o atributo cor observou-se que a maioria dos provadores considerou os produtos como ideal, sendo que a F1 (formulação controle, sem a adição de *kinako*) apresentou-se ideal para 63 % das respostas, 19% mais que ideal e 10 % muito mais que o ideal. Já para a formulação F2 (pães com 10% de *kinako*), 43 % afirmam que a amostra é ideal, 32 % mais que ideal e 6 % muito mais que o ideal (Figura 16).

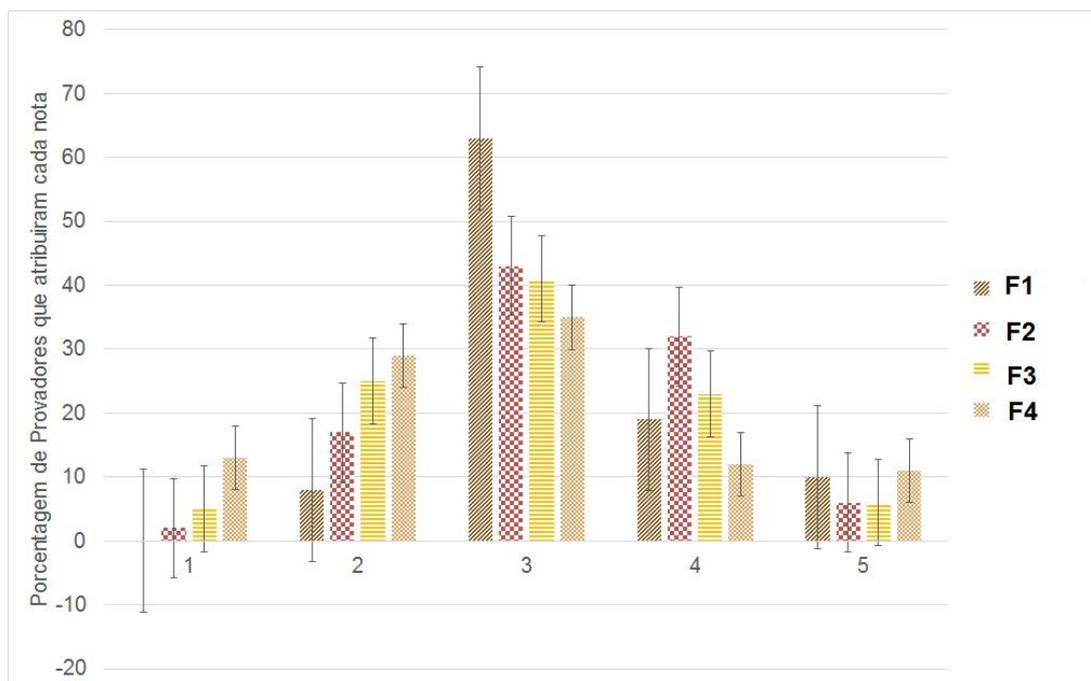


Figura 16 - Histogramas dos valores obtidos para cor na escala do ideal onde 1 – Muito menos que o ideal, 2 – Menos que o ideal, 3 – Ideal, 4 – Mais que o ideal e 5 – Muito mais que o ideal. F1: formulação controle (sem adição de *kinako*); F2: 10% de *Kinako*; F3: 20% de *Kinako*; F4: 30% de *Kinako*.

Para avaliação do atributo sabor, a Figura 17 demonstra que a maioria dos provadores consideraram os produtos como ideal, sendo que o F1 (formulação controle) apresentou-se ideal para 49 % das respostas, mais que ideal 25 % e muito mais que o ideal 7 %. Já para a formulação F2 (contendo 10% de *kinako*), 45 % afirmam que a amostra é ideal, 26 % mais que ideal e 8 % muito mais que o ideal e para a formulação F3 a amostra é ideal para 37 % das respostas, 12 % mais que ideal e muito mais que o ideal 8 %.

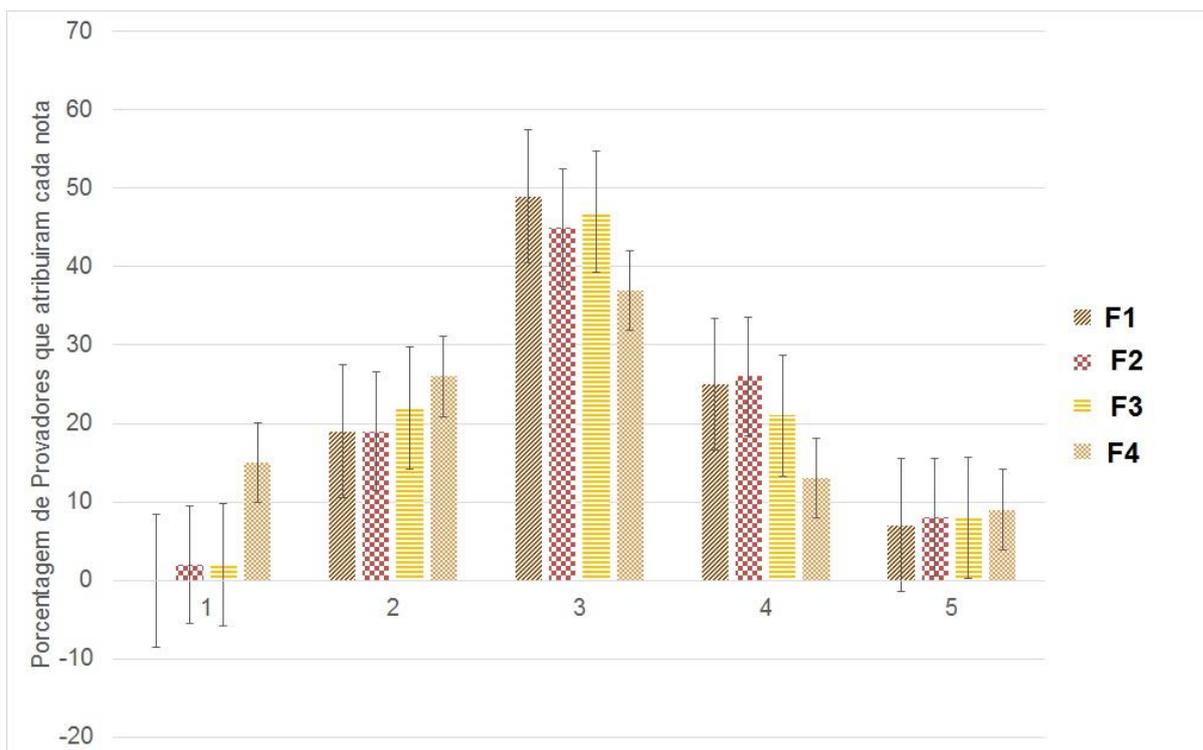


Figura 17 - Histogramas dos valores obtidos para sabor na escala do ideal onde 1 – Muito menos que o ideal, 2 – Menos que o ideal, 3 – Ideal, 4 – Mais que o ideal e 5 – Muito mais que o ideal. F1: formulação controle (sem adição de *kinako*); F2: 10% de *Kinako*; F3: 20% de *Kinako*; F4: 30% de *Kinako*.

A Figura 18, para avaliação da textura demonstra que a formulação F1 (pão sem a adição de *kinako*) está mais próxima do ideal (49 %), seguida da formulação F3 (47 %) e da formulação F2 (45 %). Porém, 25 % dos avaliadores acreditam que a formulação F1 é mais que ideal, 26 % a formulação F2, 21% a formulação F3 e apenas 13 % acreditam que a formulação F4 é mais que ideal.

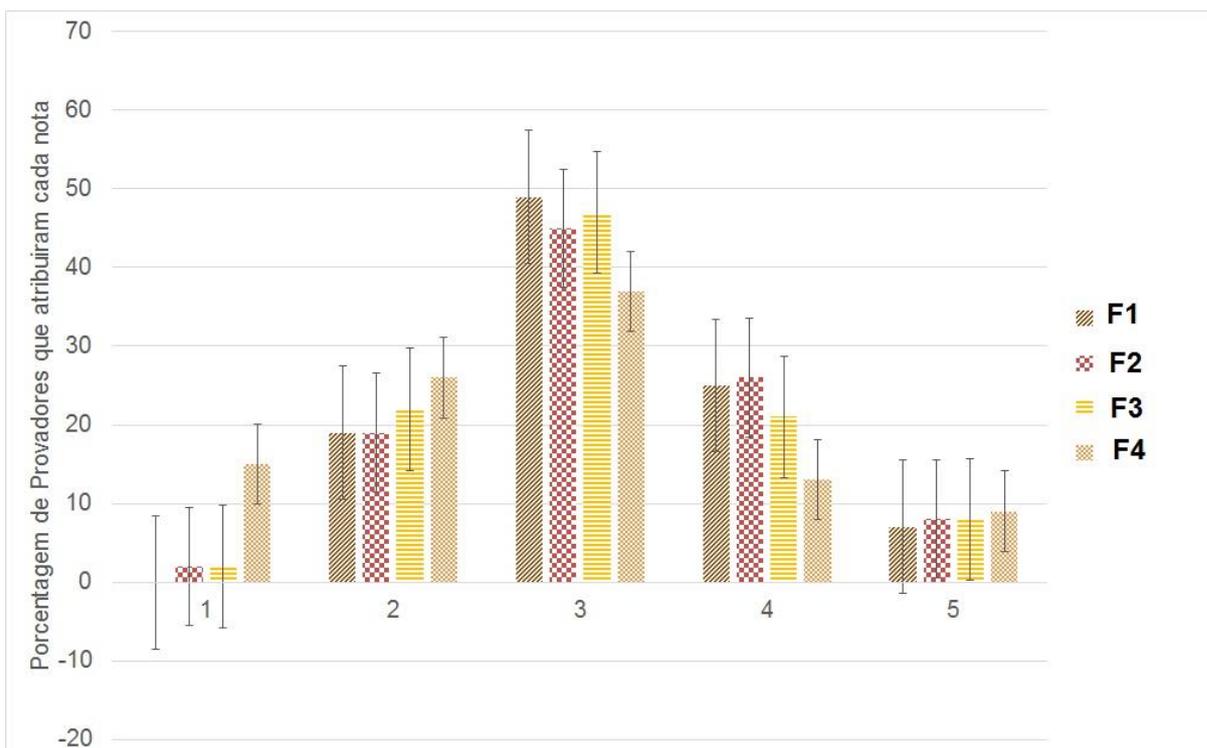


Figura 18 - Histogramas dos valores obtidos para textura na escala do ideal onde 1 – Muito menos que o ideal, 2 – Menos que o ideal, 3 – Ideal, 4 – Mais que o ideal e 5 – Muito mais que o ideal. F1: formulação controle (sem adição de *kinako*); F2: 10% de *Kinako*; F3: 20% de *Kinako*; F4: 30% de *Kinako*.

A aparência é uma das primeiras características observadas pelos consumidores (FANATICO et al., 2005). A avaliação da aparência foi realizada para identificar a influência da adição de *kinako* neste parâmetro. Observa-se que a avaliação de ideal na aparência foi reduzindo a medida em que se adicionou *kinako*. A formulação controle F1 (sem a adição de *kinako*) apresentou-se mais próximo do ideal (60 %) (Figura 19).

Para o atributo odor, a formulação que mais se aproxima do ideal é a formulação F1 (sem adição de *kinako*), onde 57 % das respostas dos julgadores estão classificadas como ideal, 20 % mais que o ideal e 5 % muito mais que o ideal. Já, a formulação F2 (contendo 10% de *kinako*) obteve 26 % das respostas como ideal, 32 % mais que ideal e 5 % muito mais que ideal (Figura 20).

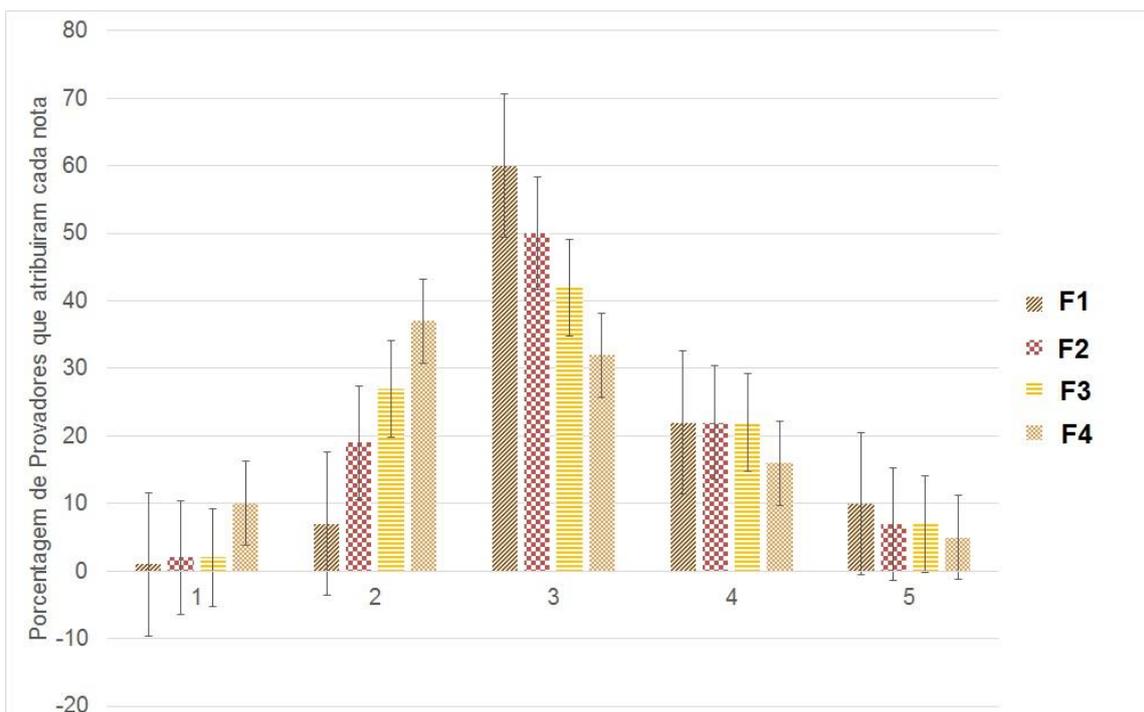


Figura 19 - Histogramas dos valores obtidos para aparência na escala do ideal onde 1 – Muito menos que o ideal, 2 – Menos que o ideal, 3 – Ideal, 4 – Mais que o ideal e 5 – Muito mais que o ideal. F1: formulação controle (sem adição de *kinako*); F2: 10% de *Kinako*; F3: 20% de *Kinako*; F4: 30% de *Kinako*.

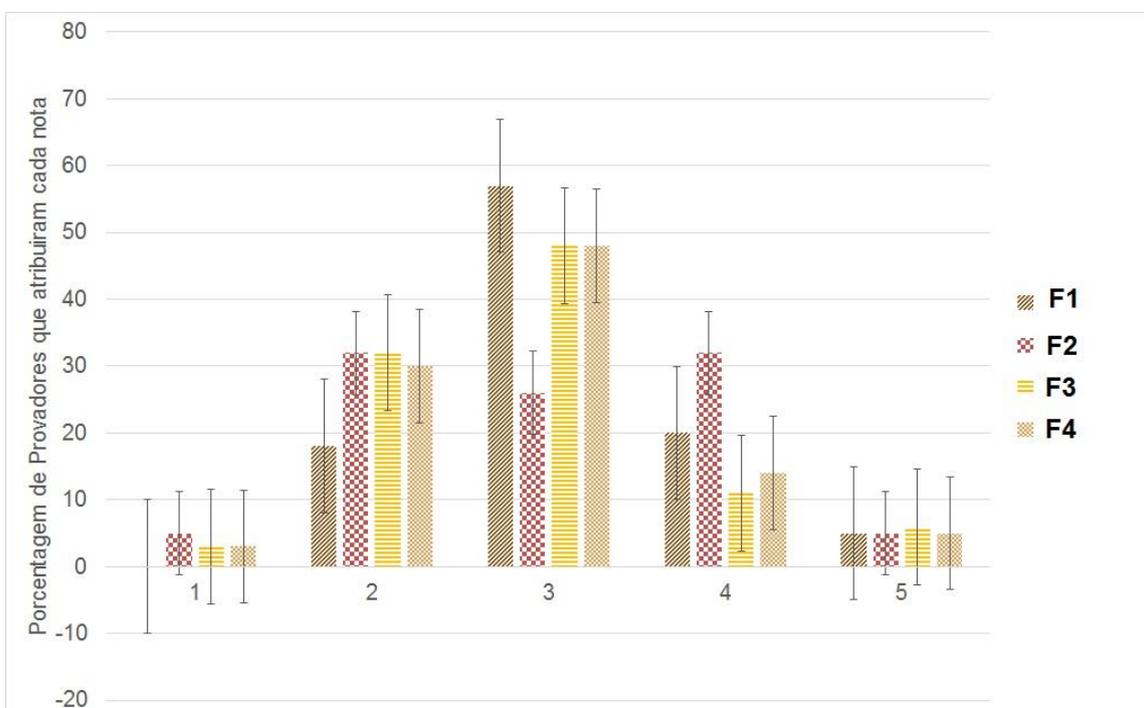


Figura 20 - Histogramas dos valores obtidos para odor na escala do ideal onde 1 – Muito menos que o ideal, 2 – Menos que o ideal, 3 – Ideal, 4 – Mais que o ideal e 5 – Muito mais que o ideal. F1: formulação controle (sem adição de *kinako*); F2: 10% de *Kinako*; F3: 20% de *Kinako*; F4: 30% de *Kinako*.

Para explorar de maneira mais completa os dados da análise sensorial, realizou-se um agrupamento dos provadores por meio da análise multivariada. Essa análise fornece um mapa de preferência interno de três fatores (*three-way preference mapping*) conforme descrito por Nunes, Pinheiro e Bastos (2011) e Nunes (2012), e pode ser utilizada para verificar o posicionamento das amostras em relação à preferência dos provadores e aos atributos avaliados, sendo que no caso deste estudo foi feita com base nas notas dadas ao produto pela escala do ideal.

O valor de concordância entre os provadores indicado por essa técnica foi de 81,05% e a variância foi de 42,64 %, a separação foi realizada com base nos dois principais fatores capazes de explicar essa variância.

Na Figura 21, resultante da aplicação da técnica, observa-se que existe um direcionamento maior dos provadores na direção da amostra controle (F1). Fica claro também o direcionamento maior para a formulação F2 (com 10% de *kinako*) do que para as demais formulações (F3 e F4), obtendo-se como resultado que esta seria a formulação preferida quando se fosse consumir um produto enriquecido.

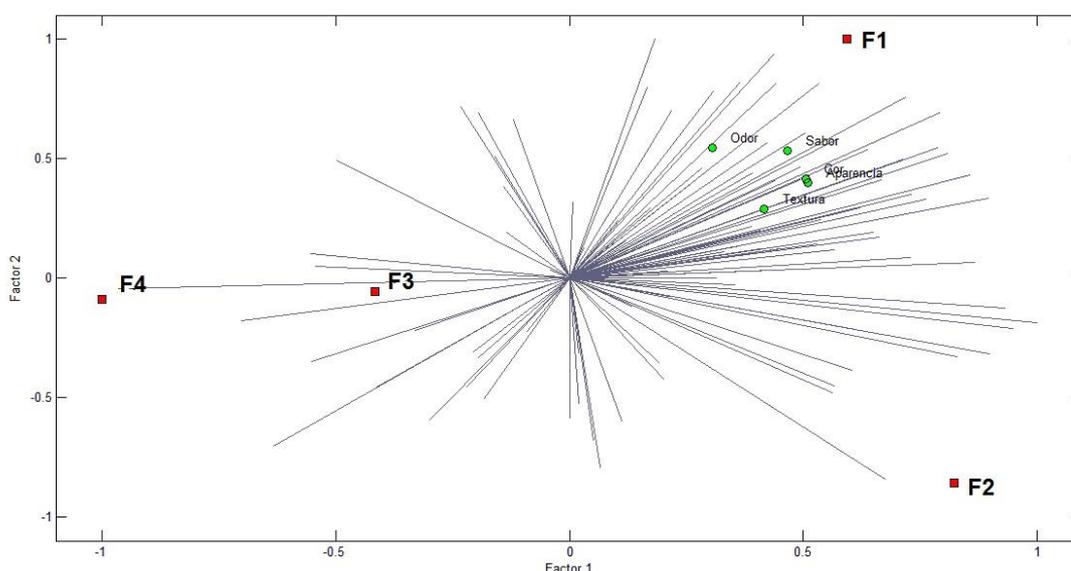


Figura 21 - Gráficos obtidos com base nos resultados de avaliação por meio de escala do ideal. Na imagem pode-se observar com base em dois fatores principais, a localização das três diferentes formulações de Pão e a amostra Padrão, bem como os vetores individuais de cada provador e o posicionamento relativo de cada um dos 5 atributos sensoriais avaliados. F1: formulação controle (sem adição de *kinako*); F2: 10% de *Kinako*; F3: 20% de *Kinako*; F4: 30% de *Kinako*.

Em relação a concordância entre os provadores, pode-se notar que a amostra controle F1 (sem adição de *kinako*) apresentou para todos os atributos valores superiores de concordância, isso pode ser explicado pela facilidade que as pessoas têm em direcionar suas preferências quando conhecem bem o produto e tem claramente definido o que esperam dele. Já para os demais produtos houve bastante discordância entre as preferências dos provadores como se pode observar nos resultados apresentados na Tabela 20.

Tabela 21 - Resultados do percentual de concordância das notas atribuídas para os diferentes atributos sensoriais avaliados na análise sensorial por meio da escala do ideal de 5 pontos, realizada com as formulações de pão integral.

Atributos Sensoriais Avaliados	Coeficiente de Concordância das notas obtidas na escala do ideal			
	F1	F2	F3	F4
Cor	55,83	39,27	33,47	25,00
Odor	49,97	30,14	42,16	42,84
Aparência	54,86	39,08	35,39	32,67
Textura	43,10	38,08	39,59	25,35
Sabor	41,32	28,02	31,58	25,10

Obs. Coeficiente de concordância calculado de acordo com SILVA; DUARTE; CAVALCANTI-MATA (2010). F1: formulação controle (sem adição de *Kinako*); F2: 10% de *Kinako*; F3: 20% de *Kinako*; F4: 30% de *Kinako*.

Quando perguntado aos provadores, qual o produto preferido ficou clara a preferência pelo produto controle F1 (sem adição de *kinako*), que foi escolhido por 48 % dos provadores, isso pode ser facilmente explicado pelo fato deste pão ser o pão branco caseiro geralmente consumido,. No entanto, o resultado de preferência para a formulação F2 foi de 32 % o que pode significar um bom resultado de preferência para esse produto, já as outras duas formulações (F3 e F4) apresentaram um percentual de preferência bem menor, sendo de aproximadamente 10 % para cada uma delas.

Esses resultados mostraram-se consistentes com a avaliação hedônica realizada pela escala hedônica de 9 pontos, indo de valores desde 1 - Desgostei muitíssimo; 5 – Indiferente até 9 - Gostei muitíssimo. Esta escala foi utilizada para avaliar a preferência dos consumidores ao avaliarem os atributos como um todo, realizando uma avaliação global.

A análise de *cluster* é um processo de separação de uma população heterogênea em vários subgrupos mais homogêneos. Nesse agrupamento, não

existem classes pré-definidas, os elementos são agrupados de acordo com a semelhança que apresentam. Dessa forma, um dendrograma (Figura 22) pôde ser obtido por meio de uma análise de *clusters* por agrupamento hierárquico, baseado nas notas hedônicas fornecidas pelos 100 provadores aos pães degustados.

Através do dendrograma de similaridade apresentado na Figura 22, e do conhecimento prévio sobre a estrutura dos dados, pode-se determinar uma distância de corte para definir quais serão os grupos formados, nesse estudo avaliou-se que o interesse é apresentar dados que comprovem a proximidade dos resultados de preferência entre a amostra controle (F1) e a formulação F2 (com 10% de *kinako*), que juntas formaram um *cluster*, podendo-se também observar que as duas outras formulações (F3 e F4), formaram outro *cluster*, para tanto poder-se-ia escolher a distância euclidiana de corte como o valor 5 para isso o que nos mostraria claramente a segmentação do produto em dois grupos distintos.

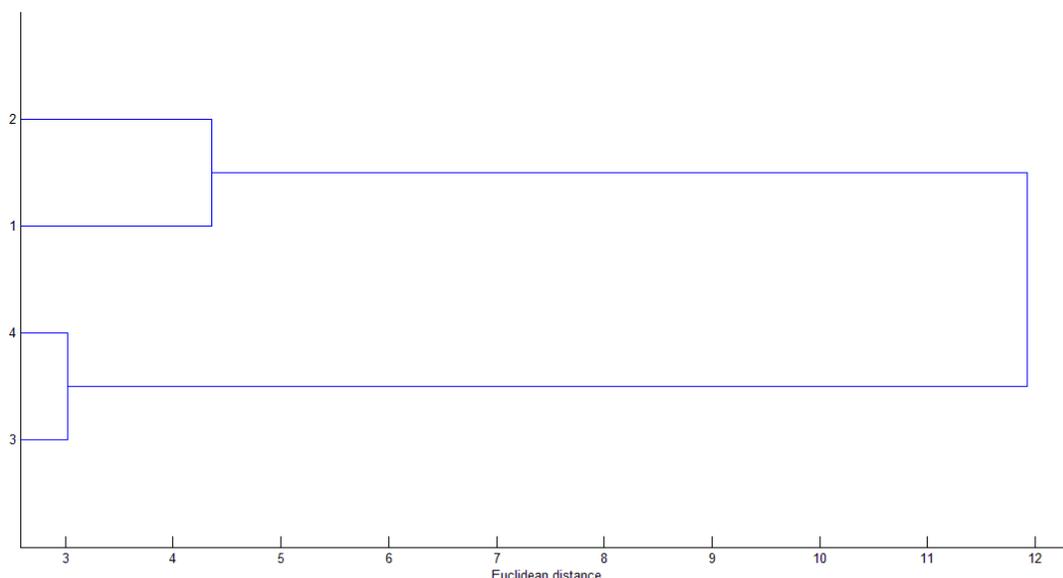


Figura 22 - Dendrograma ilustrativo de Resultado da Árvore Hierárquica de Clusters, mostrando a proximidade entre os resultados de preferência hedônica entre os pães avaliados pela escala hedônica, sendo que 1 = F1: formulação controle (sem adição de *Kinako*); 2 = F2: 10% de *Kinako*; 3 = F3: 20% de *Kinako* e 4 = F4: 30% de *Kinako*.

Os resultados médios obtidos das notas hedônicas fornecidas podem ser observados na Tabela 21. Estes corroboram com Dantas et al. (2010) na avaliação da aceitação global de formulações de bolo de soja utilizando escala hedônica

estruturada de nove pontos, onde afirmam que a boa aceitação (nota média acima de 6,5) dos bolos elaborados com a substituição parcial da farinha de trigo por farinha de soja demonstra a viabilidade da produção de bolos agregando proteína proveniente da soja, contribuindo para a otimização do consumo humano dessa leguminosa.

Natal et al. (2013) afirmam que a concentração de farinha de soja integral adicionados às formulações de pães de batata enriquecidos com farinha de soja integral afeta a sua aceitação global. A aceitação foi menor a medida que se acrescentou farinha de soja integral. No entanto, todas as formulações foram bem aceitas pelos consumidores, uma vez que esta adição também contribui para o aumento do valor nutricional e acrescenta características funcionais ao alimento, pois a soja é rica em nutrientes e tem propriedades nutritivas funcionais.

Pereira et al. (2013) em teste de aceitação global por escala hedônica de pão de batata isento de glúten enriquecido com farinha de chia observaram que os produtos apresentaram boa aceitação, com índice de aceitabilidade maior que 70%, sendo a formulação com 25 % de farinha de chia a mais aceita se comparada a formulação padrão e a formulação com 50 % de farinha de chia.

Tabela 22 - Resultados médios da avaliação hedônica e do percentual de concordância das notas atribuídas às formulações de pão integral.

Cálculos Sensoriais Avaliados	F1	F2	F3	F4
Avaliação Global	6,73 ^a ± 1,48	6,47 ^a ± 1,47	5,05 ^b ± 1,90	4,86 ^b ± 2,15
Coefficiente de Concordância	34,58	32,88	22,55	13,42
Índice de Aceitabilidade	74,78	71,89	56,11	54,00

Médias ± desvio padrão das notas obtidas na escala hedônica e % de concordância e aceitabilidade Obs. Médias seguidas por letras iguais nas linhas não diferem estatisticamente ao nível de 5% de probabilidade ($p < 0,05$). F1: formulação controle (sem adição de *Kinako*); F2: 10% de *Kinako*; F3: 20% de *Kinako*; F4: 30% de *Kinako*.

O produto que apresentou maior coeficiente de concordância (CC) e maior Índice de Aceitação (IA), foi o produto controle, porém, nota-se também que estatisticamente ao nível de 5 % de probabilidade, pelo teste de comparação de médias de *Tukey* a formulação F2, adicionada de 10 % de *kinako* e 2% de chia, não diferiu sensorialmente do pão padrão. Tendo também essa mesma formulação apresentado um índice de aceitabilidade de 71,89 %, sendo que segundo Dutcosky (2007), uma boa repercussão sensorial têm sido obtida quando os produtos alcançam

um IA maior ou igual a 70%, o que segundo o autor seria o suficiente para poder lançar o produto no mercado.

Na Figura 23 observam-se os percentuais de aceitação, indiferença e rejeição dos três produtos contendo farinha de *kinako* em comparação com o pão controle, sem a adição de *kinako*.

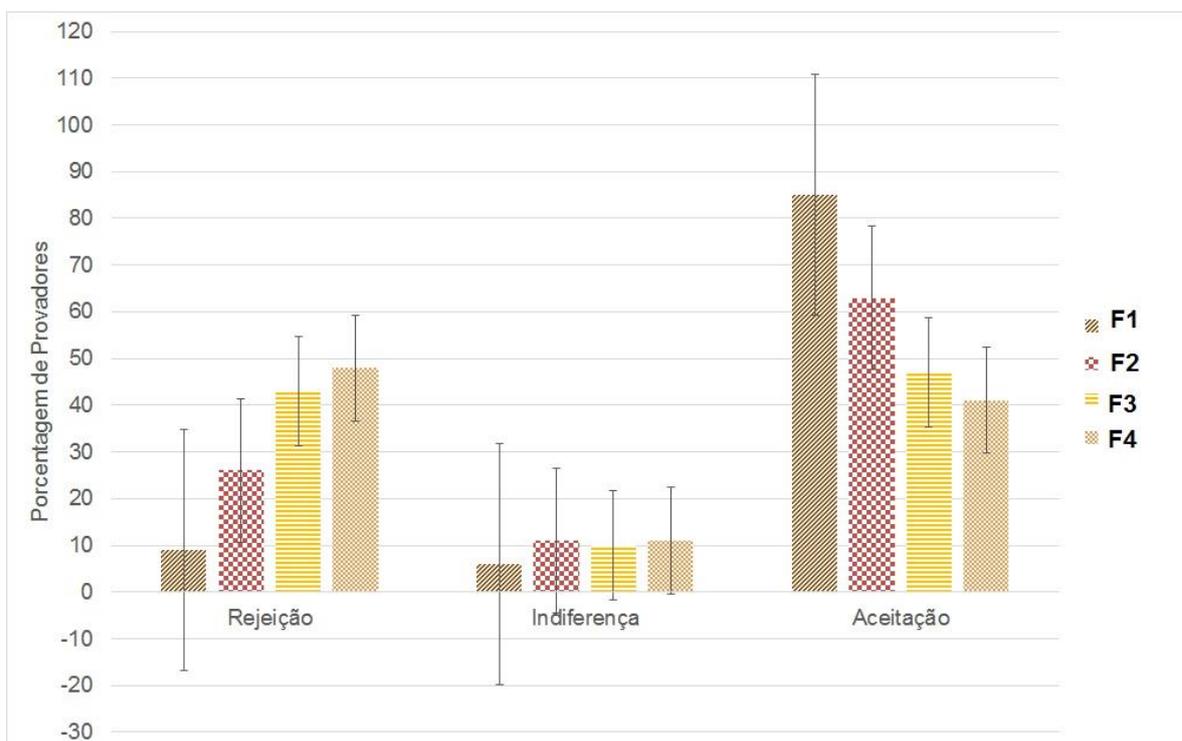


Figura 23 - Gráfico obtido com base nas notas dadas aos produtos com base na escala hedônica. Valores de 1 a 4 significam rejeição, 5 indiferença e 6 a 9 aceitação. F1: formulação controle (sem adição de *Kinako*); F2: 10% de *Kinako*; F3: 20% de *Kinako*; F4: 30% de *Kinako*.

De acordo com o que se pode observar a adição dos percentuais crescentes de *kinako* reduziram proporcionalmente a aceitação dos produtos (Figura 23). Com base igualmente nos resultados de preferência dos consumidores, pode-se construir um mapa de preferência interno, o qual tem como base uma análise de componentes principais (ACP) (Figura 24).

O mapa de preferência interno identifica a principal variação extraindo as duas primeiras dimensões da preferência (MININ, 2006). No caso deste estudo a soma dos dois principais componentes foi capaz de explicar 84,84 % da variação contida nos dados. Os provadores se segmentaram com maior intensidade no primeiro e quarto quadrantes o que deixou claro o direcionamento da preferência para a formulação F1

(amostra controle, sem adição de *kinako*) e a formulação F2 (contendo 10 % de *kinako*) Padrão e F1. O primeiro componente conseguiu explicar 68,84 % da variação e relacionou-se de forma inversa com o que os provadores buscaram como qualidade, já o segundo componente, representou apenas 15,16 % e foi responsável por diferenciar um pouco o produto controle F1 da formulação F2. Dessa forma o distanciamento entre as amostras na horizontal representou uma maior diferença entre elas, sendo que na vertical uma menor variação (Figura 24).

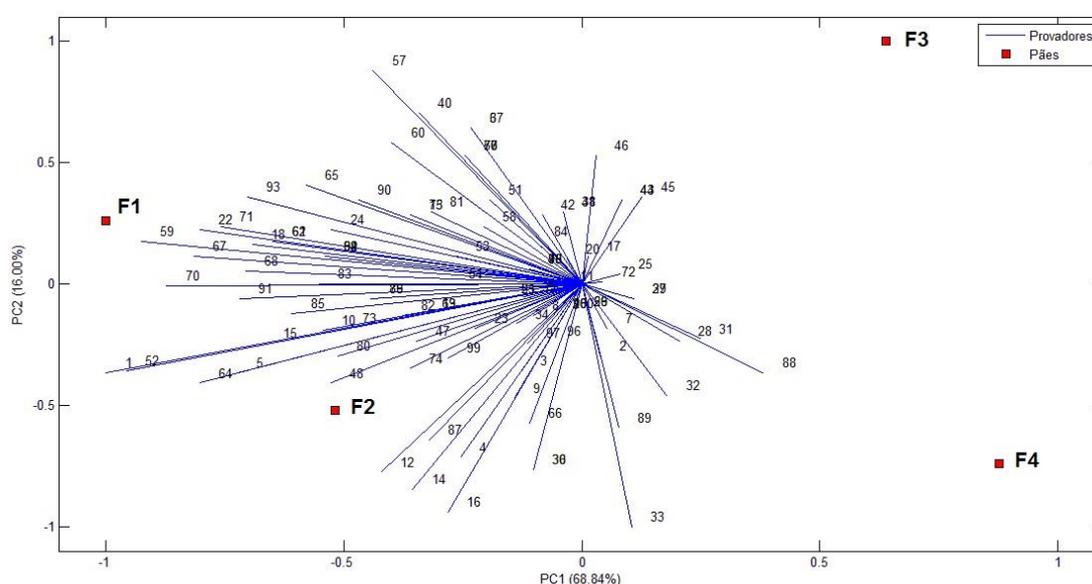


Figura 24 - Mapa de Preferência Interno mostrando a opinião dos provadores pelos vetores e as amostras de pão enriquecidas com *Kinako* em comparação com uma formulação controle nos pontos. F1: formulação controle (sem adição de *Kinako*); F2: 10% de *Kinako*; F3: 20% de *Kinako*; F4: 30% de *Kinako*

Dantas et al. (2009) na análise de componentes principais, gerados a partir dos dados obtidos no teste de aceitação das quatro formulações de pães de soja elaborados com diferentes cultivares explicou 70% da variação total entre as amostras, sendo que o primeiro componente principal explicou 40% e o segundo 30%. Estes resultados também demonstraram que pães elaborados com farinha de soja obtida a partir de cultivares com ausência de lipoxigenases (UFVTN-105 e BRS-213) foram as mais aceitas, enquanto que a formulação elaborada com o cultivar de soja convencional (Embrapa 48) apresentou-se como a menos aceita pelos consumidores.

O estudo realizado por Natal et al. (2013) onde também utiliza o mapeamento de preferência em pães de batata enriquecidos com farinha de soja integral corrobora

com o presente estudo, indicando uma maior aceitação do controle e da formulações com 30 % de farinha de soja se comparadas as formulações com 50 % e 70 % de farinha de soja.

5.8 PARÂMETROS QUÍMICO-BROMATOLÓGICOS E MINERAL DOS PÃES F1 E F2

A amostra de pão controle (F1) formulado sem a adição de *kinako* e o pão formulado com 10 % de *kinako* (F2) - formulação escolhida por apresentar a melhor aceitação pelos provadores foram submetidos às análises físico-químicas, com o objetivo de caracterizar a composição química destes produtos.

Os resultados da caracterização química-bromatológica dos pães F1 (controle) e do pão F2 (pão contendo 10 % de *kinako*) estão na Tabela 22. Pode-se verificar que a substituição parcial da farinha de trigo pelo *kinako* e a incorporação de semente de chia aumentaram significativamente ($p < 0,05$) os teores de proteínas, resíduo mineral e fibras (Tabela 22).

Tabela 23 - Resultados da composição químico-bromatológica dos pães F1 e F2.

Parâmetros físico-químicos	F1 (g / 100 g) ¹	F2 (g / 100 g) ¹
Proteína	7,8 ^b ±0,0	9,4 ^a ±0,2
Resíduo Mineral	1,9 ^b ±0,0	2,2 ^a ±0,1
Fibra Bruta	2,8 ^b ±0,2	7,3 ^a ±0,1
Lipídeos	3,1 ^a ±0,1	3,4 ^a ±0,3
Umidade	28,9 ±0,2	32,7 ±0,5

¹média de 3 determinações ± o desvio padrão. Médias com letras iguais, na mesma linha, não diferem entre si estatisticamente ao nível de 5% de significância. F1: Formulação controle, sem a adição de *kinako*, F2: formulação contendo 10% de *kinako*.

O pão F2 apresentou teores médios de umidade superiores (32,7 ±0,5) ($p < 0,05$) à formulação controle (28,9 ±0,2) (Tabela 22). Esse resultado demonstra que a incorporação de *kinako* na formulação favoreceu maior retenção de água no produto final. Isto pode estar relacionado diretamente ao aumento da absorção de água, principalmente devido ao grande número de grupos hidroxila presentes na estrutura das fibras alimentares, permitindo maior interação com a água por meio de ligações

de hidrogênio (BORGES et al., 2011). Estes dados podem ser comparados com os de Esteller e Lannes (2005) onde afirmam que em pães tradicionais, a umidade situa-se em valores próximos a 30 %. Rocha e Santiago (2009) afirmam que em pães elaborados com 25 % de casca e polpa de baru a umidade média é de $32,67 \pm 0,57$ %.

Devido a incorporação de *kinako*, observou-se incremento no conteúdo de cinzas no pão F2 em comparação ao controle (F1). Esta diferença é atribuída aos minerais presentes no *kinako* e na semente de chia. Este incremento também pode ser observado por Rocha e Santiago (2009) em pães elaborados com casca e polpa de baru, onde a formulação padrão de pão apresentou um resíduo mineral de $1,90 \pm 0,2$ % e a formulação com 25 % de casca e polpa de baru apresentou $2,00 \pm 0,0$ %.

Não houve diferença significativa ($p < 0,05$) no teor de lipídios entre a formulação padrão F1 e a formulação F2, apesar da grande quantidade de lipídios no *kinako* e na semente de chia. Os lipídios estão presentes em quantidade insuficientes na formulação F2 para representar um aumento expressivo (Tabela 22).

A incorporação de *kinako* e semente de chia aumentou significativamente ($p < 0,05$) o valor de fibra bruta na F2 em aproximadamente 260 % em relação ao controle (F1). Resultados semelhantes foram obtidos por Lupatini et al. (2011) em biscoitos farinha de casca de maracujá e *okara* oriundo das cultivares BRS 267 e 232.

A diminuição significativa nos carboidratos do pão F2 ($44,93 \pm 0,6$ %) se comparada à formulação controle ($55,60 \pm 0,6$ %) pode ser interpretada como redução no teor de amido. Conforme afirmam Queji, Schemin e Trindade (2006), esse componente desempenha uma função importante no processo de panificação por contribuir na formação da estrutura, textura e consistência do miolo, no aumento de volume e também no envelhecimento de pães. Os resultados, no entanto, encontram-se em acordo com aqueles verificados por Lima (2007) e Borges et al. (2011) ao utilizarem farinha integral de linhaça na elaboração de pães de forma e pão de sal, respectivamente. Škrbic et al. (2009) também obtiveram redução no teor de carboidratos ao produzirem pães a partir de farinhas mistas de trigo refinado e integral. Para tais autores, as farinhas integrais e seus derivados geralmente apresentam menor quantidade desse componente.

Conforme afirmam Carvalho e Alfenas (2008), o elevado consumo de carboidratos tem sido associado ao aumento da obesidade, às dislipidemias, à intolerância à glicose/ diabetes mellitus e à resistência insulínica, estando entre os fatores de risco das doenças cardiovasculares. Alimentos com alto índice glicêmico,

como é o caso dos derivados de grãos refinadas, como pães brancos por exemplo, estão positivamente associados ao ganho de peso e proporcionam maior aumento da glicemia pós-prandial por serem digeridos e absorvidos mais rapidamente pelo organismo (POWELL; HOLT; MILLER, 2002; LIU et al., 2003; JIMÉNEZ-CRUZ et al., 2004).

Os resultados da caracterização mineral do pão controle F1 e do pão F2 estão na Tabela 23. Observa-se que a formulação F2 apresentou valores superiores ($p < 0,05$) para os minerais, cálcio, magnésio, sódio, potássio e manganês em relação à formulação controle (F1) (Tabela 23).

Tabela 24 - Resultados da composição mineral dos pães F1 e F2.

Minerais	F1 (mg/100 g) ¹	F2 (mg/100 g) ¹
Cálcio	54,66 ^b ± 3,5	131,00 ^a ± 5,2
Magnésio	33,33 ^b ± 1,5	60,00 ^a ± 2,0
Sódio	411,33 ^b ± 3,5	484,33 ^a ± 4,0
Potássio	84,66 ^b ± 3,0	151,66 ^a ± 3,5
Ferro	3,13 ^a ± 0,1	2,83 ^a ± 0,1
Manganês	0,52 ^b ± 0,0	1,65 ^a ± 0,0
Zinco	2,10 ^a ± 0,1	0,73 ^b ± 0,1

¹média de 3 determinações ± o desvio padrão. Médias com letras iguais, na mesma linha, não diferem entre si estatisticamente ao nível de 5% de significância. F1: Formulação controle, sem a adição de *kinako*, F2: formulação contendo 10% de *kinako*.

Dhingra e Jood (2001) em seu estudo também verificaram aumento na quantidade mineral de pães preparados a partir de farinha de trigo e farinha de soja em relação ao controle (somente farinha de trigo). Pães com 10 % de farinha de soja apresentaram 81.4±0.13 % de cálcio, 8.89±0.26 % de ferro e 3.80±0.32 % de zinco.

Em pães integrais adicionados de semente de girassol Skrbic e Filipcev (2008) também encontram valores superiores de minerais se comparados a formulação controle (pão branco). Estes descrevem valores de ferro (5,17 ± 0,37) manganês (3,04 ± 0,15 %), zinco (2,68 ± 0,10 %), potássio (742 ± 31,2 %), sódio (708 ± 15,3 %), cálcio (134 ± 1,8 %) e magnésio (89.8 ± 0.34 %) na adição de 12 % de semente de girassol.

5.9 PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS (AG) DOS PÃES FP E F1

A Tabela 24 apresenta a composição dos ácidos graxos encontrados nos pães F1: Formulação controle, sem a adição de *kinako* e F2: formulação contendo 10% de *kinako*. A partir dos resultados obtidos pela análise cromatográfica, foi possível observar que a adição *kinako* a (10 %) e semente de chia (2 %) provocaram redução significativa ($p < 0,05$) no teor de ácidos graxos saturados, monoinsaturado e razão-6/n-3 com um aumento significativo ($p < 0,05$) de ácidos graxos polinsaturados e razão AGPI/AGS (Tabela 24).

Tabela 25 - Perfil de ácidos graxos dos pães F1 e F2.

<i>Perfil (% do total de AG)¹</i>	Pão F1	Pão F2
AG Saturados (AGS)		
Palmítico (C16:0)	15,08 ^a ± 0,6	14,13 ^b ± 0,2
Esteárico (C18:0)	5,41 ^a ± 0,2	4,70 ^b ± 0,0
Araquídico (C20:0)	0,40 ^a ± 0,0	0,38 ^a ± 0,0
Σ AGS	20,89 ^a ±0,9	19,21 ^b ± 0,2
AG Monoinsaturado (AGMI)		
Oleico (C18:1)	24,53 ^a ±0,4	23,02 ^b ± 0,0
AG Polinsaturados (AGPI)		
Linoleico (C18:2n-6)	49,63 ^b ± 1,2	51,72 ^a ± 0,1
Linolênico (C18:3n-3)	4,96 ^b ± 0,1	6,05 ^a ± 0,0
Σ AGPI	54,59 ^b ± 1,3	57,77 ^a ± 0,1
Razão		
AGPI/AGS	2,62 ^b ± 0,1	3,01 ^a ± 0,0
n-6/n-3	10,01 ^a ± 0,0	8,55 ^b ± 0,0

¹média de 4 determinações ± o desvio padrão. ^{a,b}Médias com letras iguais, na mesma linha, não diferem entre si estatisticamente ao nível de 5% de significância. F1: Formulação controle, sem a adição de *kinako*, F2: formulação contendo 10% de *kinako*.

Estes dados indicam que a mudança no perfil lipídico de ácidos graxos do pão F2 em relação ao controle F1 foi favorável especialmente a redução da razão n-6/n-3. Skrbic e Filipcev (2008) encontraram em pães integrais adicionados de 8 % de semente de girassol uma razão n-6/n-3 insatisfatória de 13.

Costantini et al. (2014) em pães adicionados de 10 % de farinha de semente de chia encontram uma razão n-6/n-3 ótima de 0,31. Indicando que uma maior adição de semente de chia ao produto elaborado neste estudo pode aumentar a quantidade de lipídios totais e diminuir de forma favorável a razão n-6/n-3.

5.10 TEOR DE ISOFLAVONAS DO PÃO F1

A Tabela 25 representa os teores de isoflavonas em mg/100 g⁻¹ de amostra em base seca do pão F1, adicionado de 10 % de *kinako* e chia. Foi possível perceber que o cozimento do pão (F1) contendo 10 % de *kinako* contribuiu para a redução no teor das isoflavonas totais (Tabela 25). Observa-se que em temperatura elevada, comum durante o cozimento do pão, diminuem as concentrações das isoflavonas na forma malonil e acetil (Tabela 25).

Tabela 26 – Teor de isoflavonas para o pão F1 em base seca

ISOFLAVONAS	mg/100 g¹
Daidzina	0,74
Glicitina	n.d
Genistina	1,01
Malonil-daidzina	n.d
Malonil-glicitina	n.d
Malonil-genistina	n.d
Acetil-daidzina	n.d
Acetil-glicitina	n.d
Acetil-genistina	n.d
Daidzeína	5,40
Gliciteína	10,39
Genisteína	4,65
TOTAL	22,20

¹média de 4 determinações ± o desvio padrão. F1, pão adicionado de 10% de *kinako* e semente de chia. N.d: não detectado.

Shao et al. (2009) avaliaram a quantidade de isoflavonas presentes nas várias etapas da fabricação de pães, mistura de ingredientes secos, massa homogênea, massa após a primeira fermentação, massa após a segunda fermentação e o pão de soja. A quantidade de isoflavonas totais não mudou significativamente ao longo das fases de produção de pão, embora ocorreram mudanças significativas nos padrões

de glicosilação. Ocorreram conversões em quase todas as fases (exceto cozimento), aumento das concentrações de agliconas (genisteína, daidzeína e gliciteína) e diminuição das formas glicosídicas e acetilglicosídeos, provavelmente devido à hidrólise enzimática. No entanto nestas etapas, as reduções não foram significativamente afetadas pelo processo de fabrico de pão em qualquer uma das variedades de soja para malonilglicosídeos (malonilgenistina e malonildaidzina).

Assar a massa em 171 °C por 37 min não causou perda significativa de isoflavonas agliconas ou totais, mas aconteceu diminuição significativa de malonilglicosídeos e aumento b-glicosídeos e acetilglicosídeos, independentemente da variedade de soja, se comparadas a etapa anterior (Shao et al., 2009).

Zhang et al. (2003) em pães com substituição de 49% de farinha de trigo por uma fórmula com farinha de soja e leite de soja pó encontraram um total de 34,2 % de isoflavonas glicosídicas, 33,8 % de isoflavonas malonilglicosídicas, 7,7 % de isoflavonas acetilglicosídicas e 24,3 % de isoflavonas agliconas. Estes valores diferem dos valores encontrados para o pão do presente estudo (ausência das formas malonil e acetil) pois os ingredientes e suas respectivas quantidades utilizadas nas formulações são diferentes.

Zhang et al. (2012) estudaram a capacidade de extratos de isoflavonas serem incorporados no pão de soja integral e em duas frações, miolo e crosta, em modular a proliferação de células metastáticas de câncer de próstata em humanos.

O conteúdo total de isoflavonas nas duas frações de pão de soja foram semelhantes, no entanto, as suas formas foram alteradas. As frações de pão de soja continham diferentes níveis de isoflavonas agliconas, prevalecendo maior quantidade na crosta do pão. A crosta de pão de soja foi o único extrato testado que reduziu significativamente proliferação celular de células metastáticas de câncer. O pão de trigo (miolo, crosta e pão como um todo) aumentou a proliferação em todas as frações testadas. Os mecanismos propostos pelos quais isoflavonas de soja pode reduzir a proliferação de células cancerígenas pode incluir a atividade antioxidante das isoflavonas, alteração de a distribuição do ciclo celular, a indução de enzimas de desintoxicação, e regulação da função imune (Zhang et al., 2012).

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O processo de torra utilizando o grão de soja BRS 257 ocasionou escurecimento da farinha de soja integral (*kinako*) conforme aumento do tempo e da temperatura de torrefação possivelmente devido a Reação de *Maillard*.

O presente estudo demonstrou uso potencial e melhoria das propriedades benéficas a saúde no *kinako* se comparado ao grão de soja *in natura*. Esses benefícios são relativos à melhora dos teores de proteínas totais, lipídios e fibra bruta.

O processamento para obtenção do *kinako* ainda se apresentou eficiente em todos os tratamentos para conversão de isoflavonas nas formas glicosídicas em isoflavonas agliconas, especialmente no tratamento A8 (200 °C por 31 minutos). Dessa forma, o processo de torra do grão de soja ocasiona melhoria na biodisponibilidade de compostos funcionais e nutricionais, como as isoflavonas. Além de possuir excelentes quantidades de ácidos graxos monoinsaturados e polinsaturados.

A semente de chia apresenta-se como ótima fonte de fibra bruta e lipídios especialmente ácidos graxos polinsaturados e razão ômega 6/ômega 3.

A partir dos resultados promissores obtidos, constitui-se viável a utilização do *kinako* estudado como ingrediente alimentício promissor para a agregação de nutrientes. Além de atuar na substituição em quantidade apropriada de outros ingredientes, como farinhas, em produtos panificados.

A semente de chia também se revela como alimento benéfico na elaboração de produtos panificados, melhorando as características nutricionais do mesmo.

Essa substituição pode ser realizada com o objetivo de reduzir a ingestão de carboidratos simples, aumentar quantidade de proteínas e fibras podendo assim, reduzir os níveis de colesterol no sangue. Incrementar o teor de proteínas e fibras, acrescentar minerais ao produto fabricado, melhorar o perfil de ácidos graxos insaturados e razão ômega 6/ ômega 3, além do aproveitamento de todas as atividades biológicas benéficas efetivas que as isoflavonas em suas configurações moleculares agliconas oferecem. É válida também sua incorporação em dietas especiais livres de determinados ingredientes como o glúten.

REFERÊNCIAS

ABIDI, S.L.; LIST, G.R.; RENNICK, K.A. Effect of genetic modification on the distribution of minor constituents in canola oil. **Journal of American Oil Chemistry Society**, v. 76, n.4, p.463-467, 1999

ABIP - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS DE PANIFICAÇÃO.
Disponível em: <www.abip.org.br/>. Acesso em: 05 mar. 2013.

AGUIAR, C. L.; HADDAD, R.; EBERLIN, M. N.; CARRÃO-PANIZZI, M. C.; TSAI, T. M.; PARK, Y. K. Thermal behavior of malonylglucoside isoflavones in soybean flour analyzed by RPHPLC/DAD and eletrospray ionization mass spectrometry. **LWT - Food Science and Technology**, v. 48, p. 114 – 119, 2012.

ALVES, F. P.; OLIVEIRA, M. A.; MANDARINO, J. M. G.; BENASSI, V. T.; SEIBEL, N. F. **Composição centesimal de grãos de soja de oito diferentes cultivares**. In: VI Jornada Acadêmica da Embrapa Soja, 2011, Londrina, Documentos Embrapa Soja, 2011. p. 327-329.

AOAC. Association of Official Analytical Chemist International. **Official Methods of Analysis of AOAC International**. 17.ed. Gaithersburg, MD, 1170p. 2000.

ÁVILA, M.R.; ALBRECHT, L.P.; Isoflavonas e a Qualidade das Sementes de Soja. **Informativo ABRATES**. v. 20, n.12, p.015 - 029, 2010.

AYERZA R. The seed's protein and oil content, fatty acid composition, and growing cycle length of a single genotype of chia (*Salvia hispanica* L.) as affected by environmental factors. **Journal of Oleo Science**, v.58, n. 7, p. 347-54, 2009.

AYERZA, R.; COATES, W. Ground chia seed and chia oil effects on plasma lipids and fatty acids in the rat. **Nutrition Research**, v. 25, p. 995–1003, 2005.

AYERZA, R.; COATES, W. Influence of environment on growing period and yield, protein, oil and -linolenic content of three chia (*Salvia hispanica* L.) selections. **LWT - Food Science and Technology**, v. 50, p. 723-731, 2013.

AYERZA, R.; COATES, W. Protein content, oil content and fatty acid profiles as potential criteria to determine the origin of commercially grown chia (*Salvia hispanica* L.). **Industrial Crops and Products**, v. 34, p. 1366– 1371, 2011.

AYERZA, R.; COATES, W. Chia - Rediscovering a Forgotten Crop of the Aztecs. Arizona: **The University of Arizona Press**, 2005.

AZEVEDO, F. L. A. A.; SILVA, A. D. F.; MACIEL, J. F.; MOREIRA, R. T.; FARIAS, L. R. G. Avaliação Sensorial de Pão de Forma Elaborado Com Soro de Leite Em Pó . Revista **Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v.13, n.1, p.37-47, 2011.

BAHLS, L. D.; VENTURINI, D.; SCRIPES, N. A.; LOZOVVOY, M. A. B.; SIMÃO, T. N. C.; SIMÃO, A. N. C.; DICI, I.; MORIMOTO, H. K.. Avaliação do consumo de uma baixa quantidade diária de soja no estresse oxidativo, no perfil lipídico e inflamatório e na resistência à insulina em pacientes com síndrome metabólica. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 55, n.6, p. 399-405, 2011.

BANNON, C. D.; BREEN, G.J.; HAI, N.T.; HARPER, N. L; CZONYIC, C. **Journal of Chromatography**, v.247, p.71, 1982.

BARRIOS, E. X.; COSTELL, E. Review: Use of Methods of research into consumers' Opinions and Attitudes in Food Research. **Food Science and Technology International**, v. 10, p. 359-371, dec, 2004.

BARROS NETO. B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Como fazer experimentos: pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria**. Campinas: UNICAMP, 2001, 480 p.

BARROS NETO. B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Planejamento e otimização de experimentos**. 2 ed. Campinas: UNICAMP, 1995. 299 p.

BARROS, É. A. **Estudo de lipoxigenases em extrato hidrossolúvel de soja (Glycine max (L.) Merr.) submetidos a diferentes tratamentos**. 2012. 75f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônomicas, Botucatu, 2012.

BEMILLER, J. N. Carbohydrate Analysis. In: NIELSEN, S. S. **Food Analysis**. 4 ed., West Lafayette, Springer, 2009.

BENASSI, V. T. **Seleção de cultivares de soja para produção de tofu de acordo com as características físicas, químicas, nutricionais e sensoriais do produto**. 2011. 184f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – UEL - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2011.

BENASSI, V. T.; PRUDENCIO, S. H. Impactos do Processamento de Soja Na Retenção de Minerais, Isoflavonas e Proteínas em Tofus. **Alimentos e Nutrição: Brazilian Journal of Food and Nutrition**, v. 24, n. 1, p. 51-59, jan./mar. 2013.

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

BILL L. Historical perspectives on the impact of n-3 and n-6 nutrients on health. **Progress in Lipid Research**, v. 55, p. 17–29, 2014.

BLIGH, E. G.; DYER, W. J. A rapid method for total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, v.37, p.911-917, 1959.

BONAFE, E. G., AGUIAR, A.C., BOROSKI, M., MONTEIRO, J., SOUZA, N. E., MATSUSHITA, M., et al. Quantification of EPA and DHA in seafood of the south coast of Brazil. **Nutrition and Food Science**, v. 41, p. 401–411, 2011.

BORÉM, A. **Melhoramento de espécies cultivadas**. Viçosa: UFV, 1999, 969 p.

BORGES, J.T.S, PIROZI M.R; PAULA C.D., RAMOS D.L., CHAVES J.B.P. Caracterização físico-química e sensorial de pão de sal enriquecido com farinha integral de linhaça. **Boletim Ceppa**, v. 29, n.1, p. 83-96, 2011.

BORNEO, R.; AGUIRRE, A.; LEÓN, A. E. Chia (*Salvia hispanica L*) Gel Can Be Used as Egg or Oil Replacer in Cake Formulations. **Journal of the American Dietetic Association**. v.10, p. 946-949, 2010.

BOWLES, S. **Utilização do subproduto da obtenção de extrato aquoso de soja – okara em pães do tipo francês**. 2005. 82 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2005.

BOX, G. E. R, HUNTER, W. G. & HUNTER, J. S. **Statistics forexperimenters**. John Wiley, New York, 1978, 653 p.

BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Agência Portaria RDC nº 90, de 18 de outubro de 2000. **Regulamento técnico para fixação de**

identidade e qualidade do pão. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 2000.

BRASIL. **Brasil Projeções do Agronegócio 2010/2011 a 2020/2021.** Brasília, DF: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, p. 59, 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução RDC n.12, de 2 de janeiro de 2001: regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Disponível em: BUSLIG, B. S.; MANTEHY, J. A. **Flavonoids in the living cell.** New York: Kluwer Academic, p 61-76, 2002.

CANTUÁRIA, C. M.; RIBEIRO, S. C. A.; RIBEIRO, C. F. A.; PARK, KI. J.; ARAÚJO, E. A. F. Perfil Sensorial de Pães de Forma Enriquecidos com Okara. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v.10, n.2, p.111-120, 2008.

CAPITANI, M.I; SPOTORNO, V.; NOLASCO, S.M.; TOMÁS M.C. Physicochemical and functional characterization of by-products from chia (*Salvia hispanica* L.) seeds of Argentina. **Food Science and Technology**, v. 45, p. 94 -102, 2012.

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

CARRAO-PANIZZI, M. C.; SIMAO, A. S.; KIKUCHI, A.. Efeitos de genótipos, ambientes e de tratamentos hidrotérmicos na concentração de isoflavonas agliconas em grãos de soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 38, n. 8, 2003.

CARVALHO, G.Q.; ALFENAS, R.C.G. Índice glicêmico: uma abordagem crítica acerca de sua utilização na prevenção e no tratamento de fatores de risco cardiovasculares. **Revista de Nutrição**, v.21, n.5, p. 577-587, set.-out. 2008.

CASTRO, R.; DE Sá, M.; DAIUTO, É.; CASTRO, G. Avaliação sensorial dos grãos de três cultivares de amendoim torrado por um período de doze meses armazenamento. **Global Science and Technology**. v. 04, n. 03, p.11 – 20, 2011.

CHEONG, S. H.; FURUHASHI, K.; ITO K.; NAGAOKA, M.; YONEZAWA, T.; MIURA, Y.; YAGASAKI, K. Daidzein promotes glucose uptake through glucose transporter 4 translocation to plasma membrane in L6 myocytes and improves glucose homeostasis in Type 2 diabetic model mice. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 25, n.2, p.136–143, 2014.

CHRISTIE, W.W. **Gas chromatography and lipids: A practical guide**, p.191 1989.

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

CIABOTTI, S.; BARCELOS, M. de F. P.; PINHEIRO, NA C. M.; CLEMENTE, P. R.; LIMA, M. A. C. Características sensoriais e físicas de extratos e tofus de soja comum processada termicamente e livre de lipoxigenase. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n.3, p. 643-648, 2007.

COULTATE, T. P. **Alimentos: a Química de seus componentes**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2004, 368 p.

COWARD, L.; BARNES, N. C.; SETCHELL, K. D. R.; BARNES, S. Genistein, daidzein, and their β -glycoside conjugates: antitumor isoflavones in soybean foods from american and asian diets. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 41, p. 1961-1967, 1993.

DANTAS, M. I. S.; SILVA, M. G.; PINTO, C. R. R.; PEREIRA, C. A. S.; MINIM V. P. R.; BITTENCOURT, M. C. B.. Farinhas de soja sem lipoxigenase agregam valor sensorial em bolos. **Revista Ceres**, v. 57, n. 2, apr. 2010.

DANTAS, M. I. S.; ANDRADE, G. F.; PIOVESAN, N. D.; MARTINO, H. S. D. Farinhas mistas de trigo e de soja agregam valor nutricional e sensorial em pães. **Rev Inst Adolfo Lutz**, v. 68, n.2, p. 209-14, 2009.

DEPARTMENT OF HEALTH AND SOCIAL SECURITY. **Diet and cardiovascular disease**. Report on health and social subjects, HMSO, London,.v 28., p. 443–456, 1984.

DHINGRA, S.; JOOD, S. Organoleptic and nutritional evaluation of wheat breads supplemented with soybean and barley flour. **Food Chemistry**, v. 77, n. 4, p. 479-488, 2001.

DONG, X., XU, W., SIKES, R. A.; WU, C. Combination of low dose of genistein and daidzein has synergistic preventive effects on isogenic human prostate cancer cells when compared with individual soy isoflavone. **Food Chemistry**, v. 141, p. 1923–1933, 2013.

DOLINSKY, Manuela. **Nutrição funcional**. São Paulo: Roca, 2009, 216 p.

Natal, D. I. G.; Dantas, M. I. S.; Vidigal, M. C. T. R. ; Ribeiro, S. M. R.; Silva, R. R.; Martino, H. S. D. Physical and sensorial properties of potato breads fortified with whole soybean flour. **Revista Chilena de Nutrición**, v. 40, n. 1, p. 62-70, 2013.

DUTCOSKY, S. D. **Análise Sensorial de Alimentos**. 2.ed. Curitiba, PR: Champagnat, 2007, 239 p.

DUTCOSKY, S. D. **Análise sensorial de alimentos**. Curitiba: Champagnat, 1996, 57 p.

EFSA. Scientific opinion of the panel on dietetic products nutrition and allergies on a request from the European Commission on the safety of 'chia seed (*Salvia hispanica*) and ground whole chia seed' as a food ingredient. **The EFSA Journal**, 2009, 996 p.

EFSA. Opinion of the scientific panel on dietetic products, nutrition and allergies on a request from the Commission related to the safety of chia (*Salvia hispanica* L.) seed and ground whole chia seed as a novel food ingredient intended for use in bread. **The EFSA Journal**, 2005, 278 p.

ELDRIDGE, A. C. Determination of isoflavones in soybean flours, protein-concentrates, and isolates. **Journal of the American Chemical Society**, v. 30, n.2, p 353–355, 1982.

EMBRAPA SOJA. **Cultivares de Soja Regiões Sul e Central do Brasil 2010/2011**. Londrina: Embrapa Soja, 2010.

EMBRAPA SOJA. **Soja na Alimentação**. Disponível em: <http://www.cnpso.embrapa.br/soja_alimentacao/index.php?pagina=24>. Acesso em 29 mai. 2013.

ESPADA, C.E.; BERRA, M.A.; MARTINEZ, M.J.; EYNARD, A.R.; PASQUALINI, M.E. Effect of Chia oil (*Salvia Hispanica*) rich in o-3 fatty acids on the eicosanoid release, apoptosis and T-lymphocyte tumor infiltration in a murine mammary gland adenocarcinoma. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v. 77, p. 21–28, 2007.

ESTELLER, M. S.; LANNES, S. C. S. Parâmetros complementares para fixação de identidade e qualidade de produtos panificados. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 4, dec. 2005.

EUROMONITOR INTERNATIONAL LATIN AMERICA. **Fortificação de Alimentos com Ômega-3 Mostra Forte Crescimento**. Disponível em: <www.euromonitor.com>. Acesso em: 15 mai. 2012.

FANATICO, A. C.; CAVITT, L. C.; PILLARI, P. B.; EMMERT, J. L.; OWENS, C. M. Evaluation of slower-growing broiler genotypes grown with and without access: meat quality. **Poultry Science**, v. 84, n. 11, p. 1785-90, 2005.

FAO - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION. **Production**. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#ancor>>. Acesso em: 14 mai. 2012.

FARAJ, A.; VASANTHAN, T. Soybean isoflavones: effects of processing and health benefits. **Food Reviews International**, v. 20, p. 51-75, 2004.

FERREIRA, T. R. B. **Caracterização nutricional e funcional da farinha de chia (*Salvia hispanica*) e sua aplicação no desenvolvimento de pães**. 2013. 109f. Dissertação (Mestrado). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2013.

FIECHTER, G.; OPACAK, I.; RABA, B.; MAYER, H.K. A new ultra-high pressure liquid chromatography method for the determination of total isoflavone aglycones after enzymatic hydrolysis: Application to analyze isoflavone levels in soybean cultivars. **Food Research International**, v. 50, p. 586–592, 2013.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. Food labeling: Health claims: Soy protein and coronary heart disease. **Federal Register**, v. 64, n. 206, p. 57700 – 57733, 1999.

FUKUTAKE, M.; TAKAHASHI, M.; ISHIDA, K.; KAWAMURA, H.; SUGIMURA, T.; WAKABAYASHI, K. Quantification of genistein and genistin in soybeans and soybean products. **Food and Chemical Toxicology**, v. 34, n. 5, p. 457-461, 1996.

GALÃO, O. F.; CARRÃO-PANIZZI, M.C.; MANDARINO J. M. G. ; LEITE, R.L. . Teor de isoflavonas em vinte cultivares de soja semeadas em Londrina e Ponta Grossa. **Jornada Acadêmica da Embrapa Soja**, v. V, p. 127-129, 2010.

GALÃO, O. F.; CARRÃO-PANIZZI, M. C.; MANDARINO, J. M. G.; SANTOS JÚNIOR, O. O.; MARUYAMA, S. A.; FIGUEIREDO, L. C.; BONAFE, E. G. VISENTAINER, J. V. Differences of fatty acid composition in brazilian genetic and conventional soybeans (*Glycine max* (L.) Merrill) grown in different regions. **Food Research International**, v. 62, p. 589-594, 2014.

GARDNER, C.D.; CHATTERJEE, L.M.; FRANKE, A.A. Effects of isoflavones supplements vs. soy foods on blood concentrations of genistein and daidzein in adults. **Journal of Nutrition Biochem**, v. 20, p. 227–234, 2008.

GENOVESE, M. I.; HASSIMOTTO, N. M. A.; LAJOLO, F. M. Isoflavone profile and antioxidant activity of Brazilian soybean varieties. **Food Science and Technology International**. London, v. 11, n. 3, p. 205-211, 2005.

GOES-FAVONI, S. P. de. BELEIA, A. D. P.; CARRAO-PANIZZI, M. C.; MANDARINO, J. M. G. Isoflavonas em produtos comerciais de soja. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 24, n. 4, dez. 2004.

GOHARA, A. K.; SOUZA, A. H. P.; RODRIGUES, A. C.; STROHER, G. L.; GOMES, S. T. M.; SOUZA, N. E.; VISENTAINER, J. V.; MATSUSHITA, M. Chemometric methods applied to the mineral content increase in chocolate cakes containing chia and azuki. **Journal Brazilian of the Chemical Society**, v. 4, n. 5, p. 771-776, 2013.

GRÜN, I. U.; LI, C. A. K.; LIN, B.; ZHANG, J.; LAKDAS, N. F. Changes in the profile of Genistein, Daidzein, and their Conjugates during Thermal Processing of Tofu. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, p. 2839-2843, 2001.

GUERRERO, L. Estudios de consumidores: análisis de los errores más habituales. **In: ALMEIDA, T.C.A. et al. Avanços em análise sensorial**. São Paulo: Varela, 1999. 286p. p.121-129.

HAN, B.K.; CHOI, H.J.; PARK, Y.S. Antimicrobial and Antioxidative Activities of Phytic Acid in Meats . **Food Engineering Progress**, v. 16, n.2, p. 145-150, 2012.

HILDEBRAND, D.F. Lipoxygenases. **Physiologia Plantarum**, v.76, p. 249- 253, 1989.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ (São Paulo, SP). **Métodos físico-químicos para análise de alimentos: normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. 4. ed. Brasília: ANVISA, 2008.

ISANGA, J.; ZHANG, G. N. Soybean bioactive components and their implications to Health - a review. **Food Reviews International**, v. 24, n. 2, p. 252-276, 2008.

IXTAINA, V. Y. A.; VEGA, S. M.; NOLASCO, M. C.; TOMAS, M.; GIMENO, E.; BARZANA, A. Supercritical carbon dioxide extraction of oil from Mexican chia seed (*Salvia hispanica* L.): characterization and process optimization. **Journal Supercritical Fluids**, v. 55, p. 192-199, 2005.

IXTAINA, V. Y.; SUSANA M.; NOLASCO, MABEL C.; TOMAS M. Physical properties of chia (*Salvia hispanica* L.) seeds. **Industrial crops and products**, v. 28, p. 286-293, 2008.

IXTAINA, V. Y., MARTÍNEZ, M. L., SPOTORNO, V., MATEO, C. M., MAESTRI, D. M., DIEHL, B. W., NOLASCO, S. M.; TOMAS, M. C. Characterization of chia seed oils obtained by pressing and solvent extraction. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 24, p. 166-174, 2011.

IZUMI, T.; PISKULA, M. K.; OSAWA, S.; OBATA, A.; TOBE, K.; SAITO, M.; KATAOKA, S.; KUBOTA, Y.; KIKUCHI, M. Soy isoflavones aglycones are absorbed faster and in higher amounts than their glucosides in humans. **Journal of Nutrition**, v. 130, p. 1695-1699, 2000.

JAEKEL, L. Z.; RODRIGUES, R. da S.; SILVA, A. P. da. Avaliação físico-química e sensorial de bebidas com diferentes proporções de extratos de soja e de arroz. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 2, 2010.

JIMÉNEZ-CRUZ, A.; TURNBULL, W. H.; BACARDI-GASCÓN, M.; ROSALES-GARAY, P. A high-fiber, moderate-glycemic index, Mexican style diet improves dyslipidemia in individuals with type 2 diabetes. **Nutrition Research**, v. 24, n. 1, p. 19-27, 2004.

VIEIRA, J. C.; MONTENEGRO, F. M.; LOPES, A. S.; PENA, R. S. Influência da Adição de Fécula de Mandioca nas Características do Pão Tipo Chá. **Ceppa**, v. 28, n. 1, 2010.

KANG, M. J.; SHIN, M. S.; PARK, J. N.; LEE, S. S. The effects of polyunsaturated:saturated fatty acids ratios and peroxidisability index values of dietary fats on serum lipid profiles and hepatic enzyme activities in rats. **British Journal of Nutrition**, v. 94, p. 526-532, 2005.

KANO M, TAKAYANAGI T, HARADA K, SAWADA S, ISHIKAWA F. Bioavailability of isoflavones after ingestion of soy beverages in healthy adults. **Journal of Nutrition**, 136, 2291–2296, 2006.

KATO, H.; Y. DOI, T.; TSUGITA, K.; KOSAI, T.; KAMYA T.; KURATA T. Changes in volatile flavour components of soybeans during roasting. **Food Chemistry**, v. 7, p. 87-94, 1981.

KHURI, A. I.; CORNELL, J. A. **Response surface: design and analyses**. 2 ed. New York: Marcel Dekker Inc., 1996.

KIM, E.-H.; LEE, O.-K.; KIM, J. K.; KIM, S.-L.; LEE, J.; KIM, S.-H.; CHUNG, I.-M. Isoflavones and anthocyanins analysis in soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) from three different planting locations in Korea. **Field Crops Research**, v. 156, p. 76–83, 2014.

KIM, G.-N.; SONG, J.-H.; KIM, E.-S.; CHOI, H.-T.; JANG, H.-D. Isoflavone content and apoptotic effect in HT-29 cancer cells of a soy germ extract. **Food Chemistry**, v. 130, p. 404–407, 2012.

KIM, J. J.; KIM, S. H.; HAHN, S. J.; CHUNG, I. M. Changing soybean isoflavone composition and concentrations under two different storage conditions over three years. **Food Research International**, v. 38, p. 435–444, 2005.

LEE, S. J.; AHN, J. K.; KIM, S. H.; KIM, J. T.; HAN, S. J.; JUNG, M. Y.; CHUNG, I. M. Variation in Isoflavone of Soybean Cultivars with Location and Storage Duration. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 3382–3389, 2003.

LEE, A. H.; SU, D.; PASALICH, M.; TANG, L.; BINNS, C. W.; QIU, L. Soy and isoflavone intake associated with reduced risk of ovarian cancer in southern Chinese women. **Nutrition Research**, v. 434, n. 4, p. 302 – 307, 2014.

LEE, J. H.; RENITA, M.; FIORITTO, R. J.; ST. MARTIN, S. K.; SCHWARTZ, S. J.; VODOVOTZ, Y. Isoflavone characterization and antioxidant activity of Ohio soybean. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n.9, p. 2647–2651, 2004.

LEE, S. J.; AHN, J.K.; KIM, S.H.; KIM, J.T.; HAN, S.J.; JUNG, M.Y.; CHUNG, I.M. Variation in isoflavone of soybean cultivars with location and storage duration. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.51, n. 11, p. 3382-3389, 2003.

LEE, S. W.; LEE J. H. Effects of oven-drying, roasting, and explosive puffing process on isoflavone distributions in soybeans. **Food Chemistry**, v. 112, p. 316–320, 2009.

LEE, S. J.; YAN, W.; AHN, J.K.; CHUNG, I. M. Effects of year, site, genotype and their interactions on various soybean isoflavones. **Field Crops Research**, v. 81, p. 181–192, 2003.

LIMA, C. C. **Aplicação das farinhas de linhaça (*Linum usitatissimum* L.) e maracujá (*Passiflora edulis* Sims f. *fl. avicarpa* Deg.) no processamento de pães com propriedades funcionais**. 2007. 148 p. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal Ceará, Fortaleza, 2007.

LIMA, F. S.; IDA E. I. Optimisation of soybean hydrothermal treatment for the conversion of b-glucoside isoflavones to aglycones. **LWT - Food Science and Technology**, v. 56, p. 232-239, 2014.

LIU, J.; HO, S. C.; SU, Y.-X.; CHEN, W.-Q.; ZHANG, C.-X.; CHEN, Y.-M. Effect of long-term intervention of soy isoflavones on bone mineral density in women: A meta-analysis of randomized controlled trials. **Bone**, v. 44. P. 948–953, 2009.

LIU, S.; WILLETT, W. C.; MANSON, J. E.; HU, F. B.; ROSNER, B.; COLDITZ, G. Relation between changes in intakes of dietary fiber and grain products and changes in weight and development of obesity among middle-aged women. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 78, n.5, p. 920-927, 2003.

LIU, K. Expanding soybean food utilization. **Food Technology**. Chicago, v. 54, n. 7, p. 46-58, 2000.

LIU, K. **Soybeans: Chemistry, Technology and Utilization**. New York: Chapman and Hall, 1997, 532 p.

LLORENT-MARTÍNEZ, E.J.; FERNÁNDEZ-DE CÓRDOVA, M.L.; ORTEGA-BARRALES, P.; RUIZ-MEDINA, A. Characterization and comparison of the chemical composition of exotic superfoods. **Microchemical Journal**, v. 110, p. 444–45, 2013.

LUPATINI, A. L. et al. Desenvolvimento de biscoitos com farinha de casca de maracujá amarelo e okara. **Revista Ciências Exatas e Naturais**, Guarapuava, v. 13, n. 3, p. 317-329, 2011.

MANDARINO, J. M. G. Compostos Antinutricionais da Soja: Caracterização e Propriedades Funcionais. In: COSTA, N. M. B.; ROSA, C. O. B. **Alimentos funcionais: componentes bioativos e efeitos**. Rio de Janeiro: Rubio, 2010. p. 177-192.

MANTOVANI, D.; CARDOZO F. L. ; CORAZZA, M.L ; ZANIN, G. M. ; TAZINAFO, N. M ; COSTA, S. C. . Presença de isoflavonas glicosídicas em resíduo industrial e sua bioconversão enzimática para transformação em compostos isoflavonas agliconas. **Revista brasileira de tecnologia agroindustrial**, v. 5, p. 606-617, 2011.

MANTOVANI, Daniel. **Bioconversão de isoflavonas glicosídicas em isoflavonas agliconas do melão de soja**. (Dissertação de Mestrado). UEM - Universidade Estadual do Paraná. Maringá, p. 74. 2010.

MARINELI, R. da S.; MORAES, É. A.; LENQUISTE, S. A.; GODOY, A. T.; EBERLIN, M. N.; MARÓSTICA, M. R. Jr. Chemical characterization and antioxidant potential of Chilean chia seeds and oil (*Salvia hispanica* L.). **LWT - Food Science and Technology**, xxx, 2014.

MARTIN, C. A.; ALMEIDA, V. V. de; RUIZ, M. R., et. al. Ácidos graxos poliinsaturados ômega-3 e ômega-6: importância e ocorrência em alimentos. **Revista de Nutrição**, v. 19, n. 6, p. 761-770, 2006.

MATEOS-APARICIO, I.; REDONDO CUENCA, A.; VILLANUEVA-SUÁREZ, M.J. et al. Soybean, a promising health source. **Nutrición Hospitalaria**, v. 23, n. 4, p. 305-12, 2008.

MINIM, V. P. R. **Análise Sensorial: Estudos com consumidores**. Viçosa: UFV, 2006. 225p.

KANO, M.; TAKAYANAGI, T.; HARADA, K.; SAWADA, S.; ISHIKAWA, F. Bioavailability of Isoflavones after Ingestion of Soy Beverages in Healthy Adults. **The Journal of Nutrition**, v. 136, p. 2291–2296, 2006.

MORAIS, A. A. C. de; SILVA, A. L. da. **Soja e suas aplicações**. Rio de Janeiro: Medsi, 1996.

MORRISON, M. J.; COBER, E. R.; SALEEM, M. F.; MCLAUGHLIN, N. B.; FRÉGEAU-REIDA, J.; MAA, B. L.; WOODROW, L. Seasonal changes in temperature and precipitation influence isoflavone concentration in short-season soybean. **Field Crops Research**, v. 117, p. 113–121, 2010.

MUÑOZ, L. A.; COBOS A.; DIAZ O.; AGUILERA, J. M. Chia seeds: Microstructure, mucilage extraction and hydration. **Journal of Food Engineering**, v. 108, p. 216–224, 2012.

NAKAMURA, Y.; TSUJI, S.; TONOGAI, Y. Determination of the levels of isoflavonoids in soybeans and soy-derived foods and estimation of isoflavonoids in the Japanese daily intake. **Journal of AOAC International**, v.83, n.3, p.635-650, 2000.

NIEMAN, D. C.; CAYEA, E. J.; AUSTIN, M. D.; HENSON, D. A.; MCANULTY, S. R.; JIN, F. Chia seed does not promote weight loss or alter disease risk factors in overweight adults. **Nutrition Research**, v. 29, p. 414–418, 2009.

NUNES, C.A. et al. Relating consumer acceptance to descriptive attributes by three-way external preference mapping obtained by parallel factor analysis (PARAFAC). **Journal of Sensory Studies**, Malden, v.27, n.4, p.209-216, 2012.

NUNES, C.A.; PINHEIRO, A.C.M.; BASTOS, S.C. Evaluating consumer acceptance tests by three-way internal preference mapping obtained by parallel factor analysis (PARAFAC). **Journal of Sensory Studies**, Malden, v.26, n.2, p.167-174, 2011.

OETTERER, M.; Regitano-d'Arce, M. A. B.; SPOTO M. H. F. **Fundamentos de Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Barueri: Manole, 2006.

OKABE, Y.; SHIMAZU, T.; TANIMOTO, H. Higher bioavailability of isoflavones after a single ingestion of aglycone-rich fermented soybeans compared with glucoside-rich non-fermented soybeans in Japanese postmenopausal women. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 91, p. 658–663, 2011.

OLIVEIRA, M. I. O. Protein, Oil, and Isoflavone Contents in Lipoxygenase- and Kunitz Trypsin Inhibitor-Deficient Soybean Seeds. **Chromatographia**, v. 66, n.7, p.521-527, 2007.

ÖZCANA, M. M.; JUHAIMI, F. A.; Effect of sprouting and roasting processes on some physico-chemical properties and mineral contents of soybean seed and oils. **Food Chemistry**, v. 154, p. 337–342, 2014.

PARK, Y. K.; AGUIAR, C. L.; ALENCAR, S. M.; MASCARENHAS, H. A. A.; SCAMPARINI, A. R. P. Avaliação do teor de isoflavonas em soja Brasileira. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.3, n.3, p. 156-160, 2001.

PARK, K.; KIM, Y. I.; SHIN, K. O.; SEO, H. S.; KIM, J. Y.; MANN, T.; ODA, Y.; LEE, Y. M.; HOLLERAN, W. M.; ELIAS, P. M.; UCHIDA, Y. The dietary ingredient, genistein, stimulates cathelicidin antimicrobial peptide expression through a novel S1P-dependent mechanism. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 25, n.7, p. 734-40, 2014.

PATTERSON, E.; WALL, R.; FITZGERALD, G. F.; ROSS, R. P.; STANTON, C. Health implications of high dietary omega-6 polyunsaturated Fatty acids. **Journal of Nutrition and Metabolism**, v. 2012, p. 539-426, 2012.

PEREIRA, B. S.; PEREIRA, B. S.; CARDOSO, É. S.; MENDONÇA, J. O. B.; SOUZA, L. B.; SANTOS, M. P.; ZAGO, L.; FREITAS, S. M. L.; Análise físico-química e sensorial do pão de batata isento de glúten enriquecido com farinha de chia. **Demetra Alimentação, Nutrição & Saúde**, v. 8, n.2, p. 125-136, 2013.

PHILIPPI, Sonia T. **Pirâmide dos Alimentos: fundamentos básicos da nutrição**. 1ed. São Paulo: Manole, 2008.

POUDYAL, H.; PANCHAL, S. K.; WAANDERS J.; WARD, L.; BROWN, L. Lipid redistribution by α -linolenic acid-rich chia seed inhibits stearoyl-CoA desaturase-1 and induces cardiac and hepatic protection in diet-induced obese rats. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 23, p. 153–162, 2012.

POWELL, K.F.; HOLT, S.H.; MILLER, J.C.B. International table of glycemic index and glycemic load values: 2002. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.76, n.1, p.5-56, 2002.

PRABHAKARAN, M. P.; HUI, L. S.; PERERA, C.O. Evaluation of the composition and concentration of isoflavones in soy based supplements, health products and infant formulas. **Food Research International**, v. 39, n.6, p.730–738, 2006.

PRITCHETT, L. E.; ATHERTON, K. M.; MUTCH, E.; FORD, D. Glucuronidation of the soyabean isoflavones genistein and daidzein by human liver is related to levels of UGT1A1 and UGT1A9 activity and alters isoflavone response in the MCF-7 human breast cancer cell line. **Journal of Nutrition Biochemistry**, v. 19, p. 739–745, 2008.

QUAGLIA, G. **Ciencia y tecnología de la panificación**. Zaragoza: Acribia, 1991. 485p.

QUEJI, M.F.D.; SCHEMIN, M.H.; TRINDADE, J.L.F. Propriedades reológicas da massa de farinha de trigo adicionada de alfa-amilase. UEPG. **Ciências Exatas e da Terra, Ciências Agrárias e Engenharias**, v.12, p.21-29, 2006.

RACKIS, J. J.; SESSA, D. J; HONIG, D. H. Flavor problems of vegetable food proteins. J. Amer. **Oil chem.**, v. 56, n. 6, p. 262-271, 1979.

RAYFORD, W. E.; THOMAS. D.I.; ELAM, L.M.; WALKER, S.M. Analytical chemical support soybean uniform test analysis. **Agricultural Research Service**, p. 17-26, 1994.

REETZ, L. R. et al. **Anuário Brasileiro de soja 2008**. Santa Cruz do Sul: Gazeta Santa Cruz, 2008, 136 p.

REYES-CAUDILLO, E.; TECANTE A.; VALDIVIA-LO´PEZ, M. A. Dietary fibre content and antioxidant activity of phenolic compounds present in Mexican chia (*Salvia hispanica* L.) seeds. **Food Chemistry**, v. 107, p. 656–663, 2008.

RIAZ, M.N. **Soy Applications in Food**. 1ª ed. London, Ed Taylor e Francis, 2006.

RIBEIRO, JANNISON KARLLY CAVALCANTE. **Novas propriedades do SKTI (Inibidor de tripsina de soja): Inibição para elastase neutrofílica humana e efeitos no processo de injúria pulmonar aguda**. 2010. 86f. Dissertação (Mestrado). Natal: Universidade Federal do Rio Grande do Norte, 2010.

ROCHA, Lorena Santana; CARDOSO SANTIAGO, Raquel de Andrade. Implicações nutricionais e sensoriais da polpa e casca de baru (*Dipterix Alata* vog.) na elaboração de pães. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 29, n. 4, 2009.

SALINAS, R.D. **Alimentos e Nutrição: Introdução à Bromatologia**. 3.ed. Porto Alegre: Artmed, 2002.

SANTOS, H. M. C.; OLIVEIRA, M. A.; OLIVEIRA, A. F.; OLIVEIRA, G. B. A. Composição centesimal das cultivares de soja BRS232, BRS257 e BRS258 cultivadas em sistema orgânico. **Revista Brasileira de Pesquisa em Alimentos**, Campo Mourão, v. 1, n. 2, p. 117-119, jul. 2010.

SANTOS R.D., GAGLIARDI A.C.M., XAVIER H.T., MAGNONI C.D., CASSANI R., LOTTENBERG A.M. I Diretriz sobre o consumo de gorduras e saúde cardiovascular. **Arquivo Brasileiro de Cardiologia**, São Paulo, v. 100, n. 1, supl. 3, jan. 2013.

SEDIYAMA, T. **A soja BCRSM em Cristalina: a pesquisa aumentando a produtividade.** Cristalina: Gráfica Universitária, 2005.

SEDIYAMA, T. **Tecnologias de produção e usos da soja.** Londrina: Mecenas, 2009.

SETCHELL, K. D. R. Phytoestrogens: the biochemistry, physiology, and implications for human health of soy isoflavones. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 68, p. 1333-1346, 1998.

SETCHELL, K. D. R.; BROWN, N. M.; DESAI, P.; ZIMMER-NECHEMIAS, L.; OLFE, B. E.; BRASHEAR, W. T.; KIRSCHNER, A. S.; CASSIDY, A.; HEUBI, J. E. Bioavailability of pure isoflavones in healthy humans and analysis of commercial soy isoflavone supplements. **Journal of Nutrition**, v. 131, p. 1362S-1375S, 2001.

SHANKARAYANA, M. L.; RAGHAVEN, B.; ABRAHAM, O.; NATARAJAN, C. P. Complex nature of coffee aroma. **Indian Coffee**, Bangalore, v. 38, n. 4, p. 84-92, 1974.

SHAO, S., DUNCAN, A.M., YANG, R., MARCONE, M.F., RAJCAN, I.; TSAO, R. Tracking isoflavones: From soybean to soy flour, soy protein isolates to functional soy bread. **Journal of Functional Foods**, v. 1, n. 1, p. 119-127, 2009.

SIEDOW, J.N. Plant lipoxygenase: structure and function. **Annual Review of Plant Physiology**, v. 42, p. 145-188, 1991.

SILVA, C. E.; CARRÃO-PANIZZI, M. C.; MANDARINO, J. M. G.; LEITE R. S.; MÔNACO, A. P. A. Teores de isoflavonas em grãos inteiros e nos componentes dos grãos de diferentes cultivares de soja (*Glycine max* (L.) Merrill). **Brazilian Journal of Food Technology**, v.15, n. 150-156, 2012.

SILVA, C.E.; CARRÃO-PANIZZI, M.C.; MANDARINO, J.M.G.; OLIVEIRA, M.A.; LEITE, R.S.; OLIVEIRA, G.B.A; MOREIRA, A.A.; SANTOS, H.M.C.; MÔNACO, A.P.A. Avaliação de ácidos graxos da soja: grão inteiro, casca, cotilédones e hipocótilo. (Embrapa Soja. Documentos, 323), **Embrapa Soja**, 2010. p. 31-34.

SILVA, F. A. S.; DUARTE, M. E. M.; CAVALCANTI, M. E. R. M. Nova metodologia para interpretação de dados de análise sensorial de alimentos. **Revista Engenharia Agrícola**, v. 30, n. 5, p. 967-973, set./out. 2010.

SILVA, F.B. **Caracterização da "via das lipoxigenases" de folhas de soja submetidas a insetos-pragas**. 1999. 67f. Dissertação (Mestrado). Viçosa: UFV, 1999.

SILVA, J. B.; CARRÃO-PANIZZI, M. C.; PRUDÊNCIO, S. H. Chemical and physical composition of grain-type and food-type soybean for food processing. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, n. 7, p. 777-784, 2009.

SILVA, L. H. da. **Efeito da fermentação utilizando *aspergillus oryzae* sobre as características funcionais, tecnológicas e físico-químicas da farinha de soja integral e aplicação em pão de forma funcional**. 2009. 240 f. Tese (Doutorado). Campinas: Universidade Estadual de Campinas, 2009.

SILVA, M. R.; SILVA, M. A. A. P. Fatores antinutricionais: inibidores de proteases e lectinas. **Revista de Nutrição**, v.13, n.1, p.3-9, 2000.

SILVA, Neusely da, et al. **Manual de métodos de análises microbiológicas de alimentos**. São Paulo: Varela, 2010.

SIMÃO A.N.; LOZOVYOY M. A.; DICHI, I. Effect of soy product kinako and fish oil on serum lipids and glucose metabolism in women with metabolic syndrome. **Nutrition**, v. 30, p.112 –115, 2014.

SIMONNE, A. H.; SMITH, M.; WEAVER, D. B.; VAIL, T., BARNES, S.; WEI, C. I.; Retention and changes of soy isoflavones and carotenoids in immature soybean seeds (Edamame) during processing. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, p. 6061-6069, 2000.

SIMOPOULOS, A.P. The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 56, n.8, p.365-79, 2002.

ŠKRBIĆ, B.; FILIPCEV, B. Nutritional and sensory evaluation of wheat breads supplemented with oleic-rich sunflower seed. **Food Chemistry**, v.108, n.1, p.119-129, may 2008.

ŠKRBIĆ, B.; MILOVAC, S.; CODIG, D.; FILIPČEV, B. Effects of hull-less barley flour and flakes on bread nutritional composition and sensory properties. **Food Chemistry**, v.115, n.3, p.982-988, aug. 2009.

SMITH, P. K.; KROHN, R. I.; HERMANSON, G. T.; MALLIA, A. K.; GARTNER, F. H.; PROVENZANO, M. D.; FUJIMOTO, E. K.; GOEKE N. M.; OLSON, B. J.; KLENK D. C. Measurement of protein using bicinchoninic acid. **Analytical Biochemistry**, New York, v. 15, p. 76-85, 1985.

SONG, Y. J.; PAIK, H. Y.; JOUNG, H. Soybean and soy isoflavone intake indicate a positive change in bone mineral density for 2 years in young Korean women. **Nutrition Research**, v. 28, p. 25–30, 2008.

TAGA, S. M.; MILLER, E. E.; PRATT, D. E. Chia Seeds as a Source of Natural Lipid Antioxidants. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 61, n. 5, p. 928-931, 1984.

TEIXEIRA, R. C.; SEDIYAMA, T.; ANDRADE, M.A.S.; DEL GIUDICE, M. P. **O melhoramento da soja para alimentação humana e agroindústria. Dia de campo sobre cultura as Soja**. Boletim Técnico 3. Florestal: Imprensa Universitária p. 47-49, 1997.

TSURUGASAKI W, NAKAMURA S, OSADA K. Comparison of regulative functions between dietary soy isoflavones aglycone and glucoside on lipid metabolism in rats fed cholesterol. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 16, p. 205–212, 2005.

VA'ZQUEZ-OVANDO, A.; ROSADO-RUBIO, G.; CHEL-GUERRERO, LUIS.; BETANCUR-ANCONA, D. Physicochemical properties of a fibrous fraction from chia (*Salvia hispanica* L.). **Food Science and Technology**, v. 42, p. 168–173, 2009.

VIANNI, R.; BRAZ-FILHO, R. Ácidos Graxos Naturais: Importância e Ocorrência em Alimentos. **Química Nova**, v.19, n. 4, p.400-4007, 1996.

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

WATANABE, S. YAMAGUCHI, M.; SOBUE, T.; TAKAHASHI, T.; MIURA, T.; ARAI, Y.; MAZUR, W.; WĀHĀLĀ K.; ADLERCREUTZ, H. Pharmacokinetics of Soybean Isoflavones in Plasma, Urine and Feces of Men after Ingestion of 60 g Baked Soybean Powder (Kinako). **Journal of Nutrition**, v. 128, p. 1710–1715, 1998.

WENDT, S. C. **Análise da Mudança de Cor em Concretos Submetidos a Altas Temperaturas como Indicativo de Temperaturas Alcançadas e da Degradação Térmica**. 2006. 183 f. Dissertação (Mestrado) Porto Alegre: PPGEC/UFRGS. 2006.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Joint FAO/WHO. **Expert Consultation on Fats and Fatty Acids in Human Nutrition**. Geneva, 2008.

XU, Z.; WU, Q.; GODBER, S. J. Stabilities of daidzin, glycitin, genistin and generation of derivatives during heating. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 7402-7406, 2002.

KAWAKAMI, Y.; TSURUGASAKI, W.; NAKAMURA, S.; OSADA, K. Comparison of regulative functions between dietary soy isoflavones aglycone and glucoside on lipid metabolism in rats fed cholesterol. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 16, p. 205 – 212, 2005.

ZANATTA, C. L.; SCHLABITZ, C.; ETHUR, E. M. Avaliação Físico-Química e Microbiológica de Farinhas Obtidas a Partir de Vegetais não Conformes à Comercialização. **Alimentos e Nutrição**, v. 21, n. 3, p. 459-468, 2010.

ZHANG, L.; LI, L.; JIAO, M.; WU, D.; WU, K.; LI, X.; ZHU, G.; YANG, L.; WANG, X.; HSIEH, J. T.; HE, D. Genistein inhibits the stemness properties of prostate cancer cells through targeting Hedgehog–Gli1 pathway. **Cancer Letters**, v. 57, p. 323, 48, 2012.

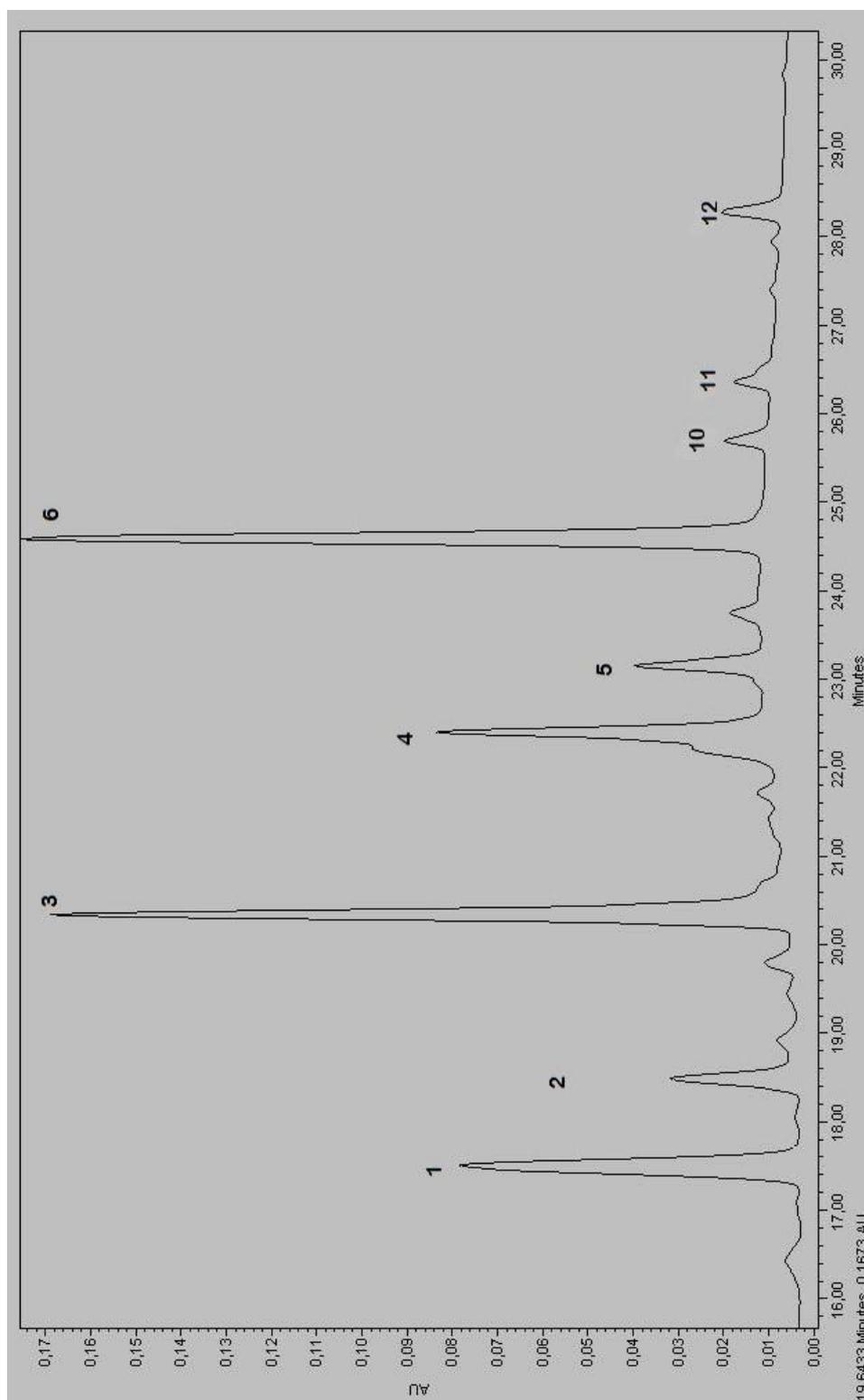
ZHANG, Y.; ZHONG, H.; LV, Z.; ZHANG, M.; ZHANG, T.; LI, Q.; LI, K. Anti-hepatitis B virus and anti-cancer activities of novel isoflavone analogs. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 62, p. 158-167, 2013.

ZHANG, Y.-B.; CHEN, W.-H.; GUO, J.-J.; FU, Z.-H.; YI, C.; ZHANG, M.; NA, X.L. Soy isoflavone supplementation could reduce body weight and improve glucose metabolism in non-Asian postmenopausal women: A meta-analysis. **Nutrition**, v. 29, p. 8–14, 2013.

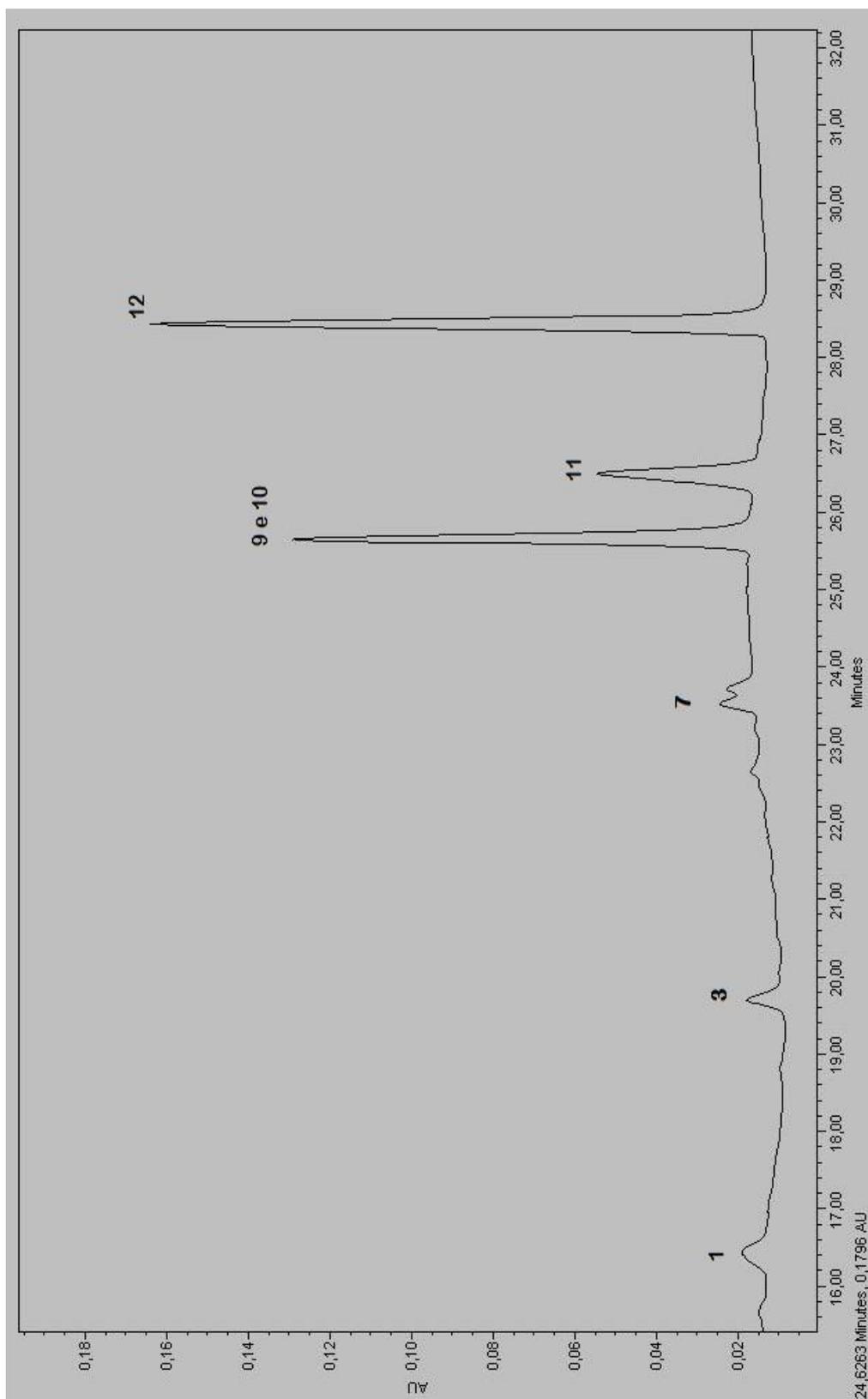
ZHANG, Y. C.; ALBRECHT, D.; BOMSER, J.; SCHWARTZ, S. J.; VODOVOTZ, Y. Isoflavone Profiles and Biological Activity of Soy Bread. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 26, 2003.

APÊNDICE

APÊNDICE A – CROMATOGRAMA DE ISOFLAVONAS DO GRÃO DE SEOJA BRS
257

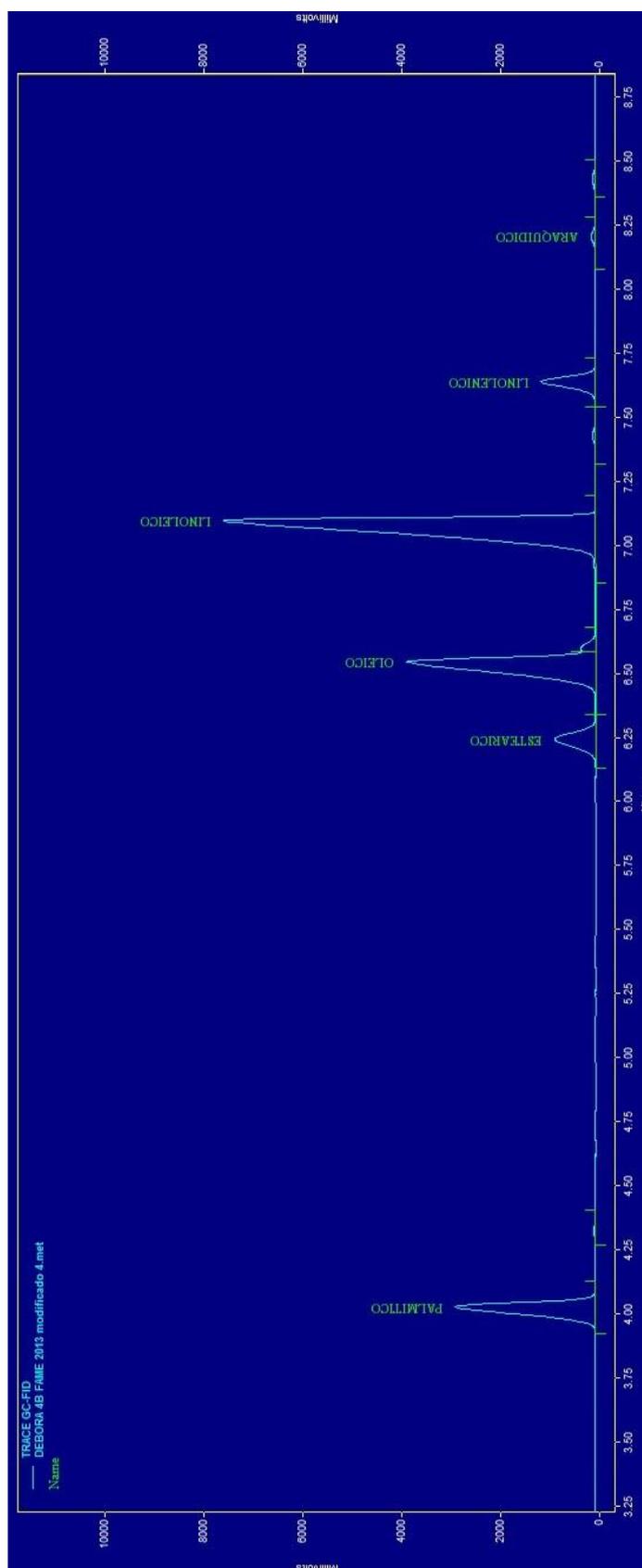


1 - glicosil daidzina; 2 - glicosil glicitina; 3 - glicosil genistina; 4 - malonil daidzina; 5 - malonil glicitina; 6 - malonil genistina; 10 - daidzeína; 11 - gliciteína; 12 - genisteína.

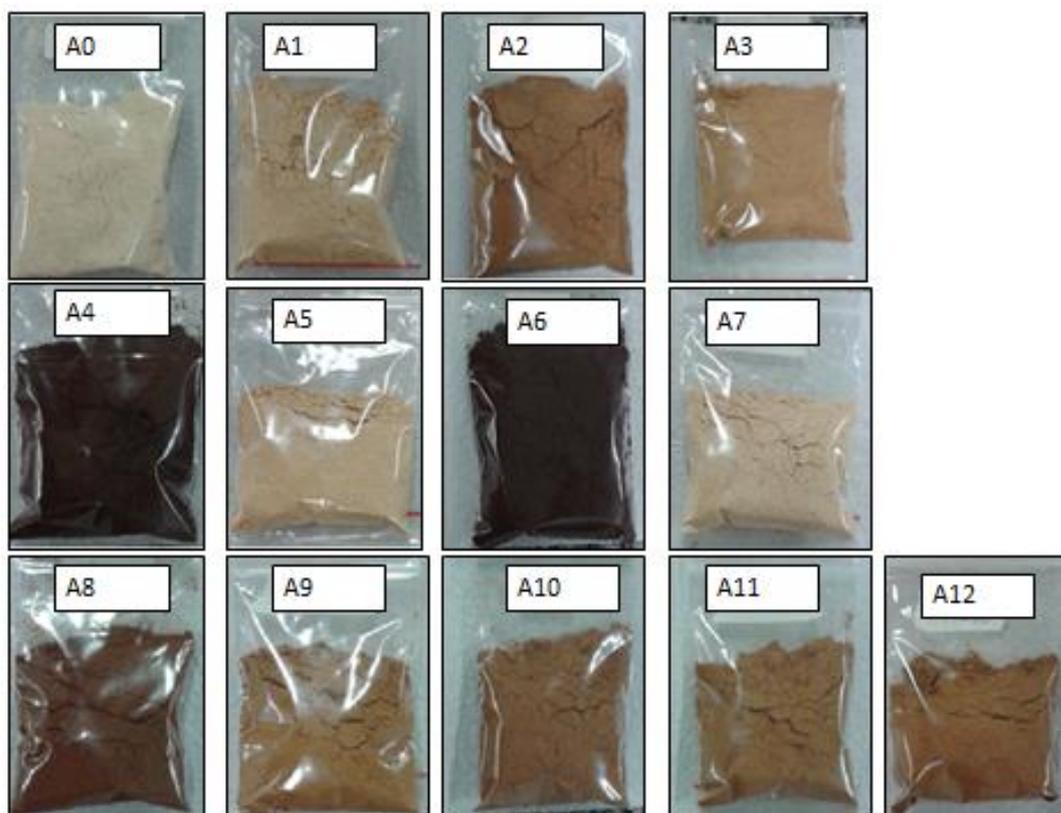
APÊNDICE B – CROMATOGRAMA DE ISOFLAVONAS DO *KINAKO* A8

1 - glicosil daidzina; 3 - glicosil genistina; 7 - acetil daidzina; 9 - acetil genistina; 10 – daidzeína; 11 – gliciteína; 12 – genisteína.

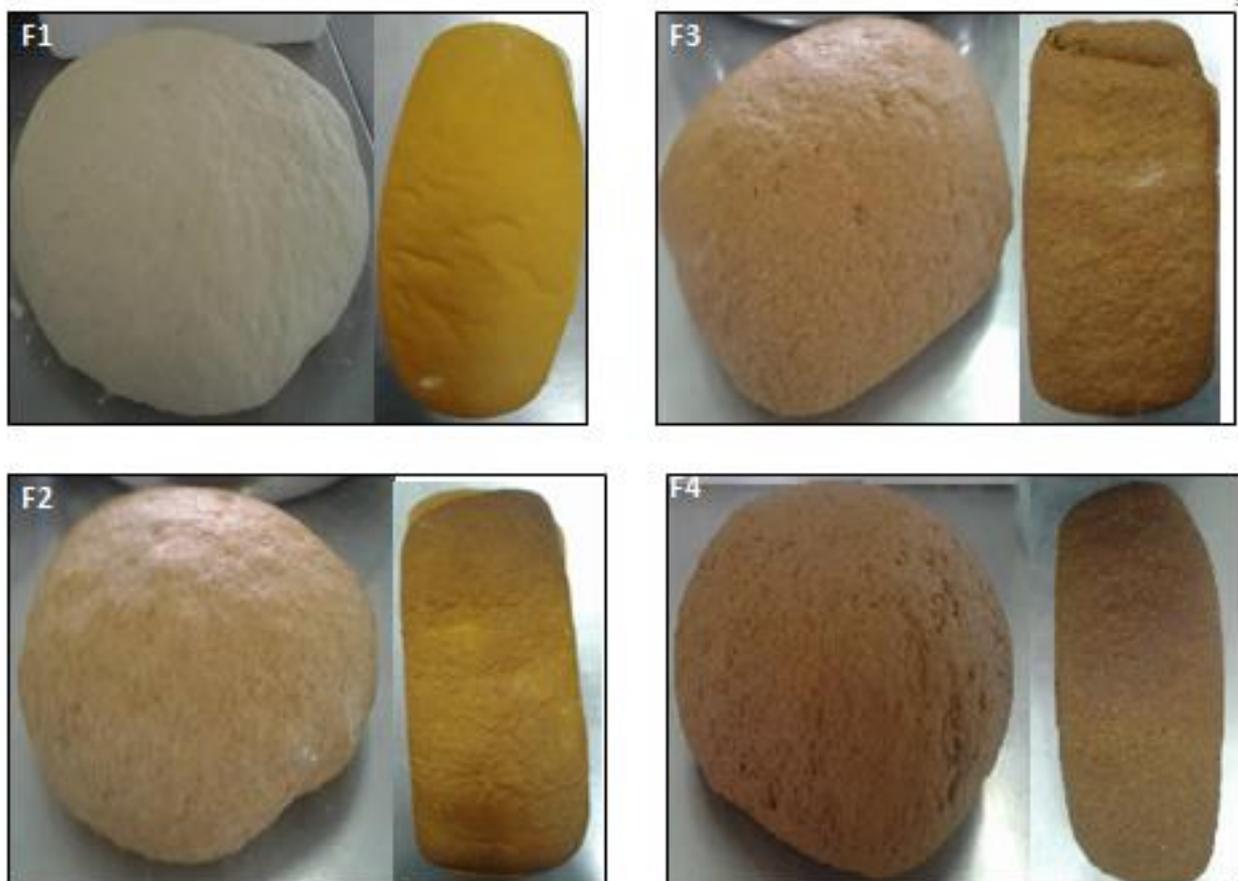
APÊNDICE C – CROMATOGRAMA DOS ÁCIDOS GRAXOS



APÊNDICE D – ILUSTRAÇÕES DAS FARINHAS ELABORADAS DE ACORDO COM O DELINEAMENTO EXPERIMENTAL PROPOSTO.



APÊNDICE E – ILUSTRAÇÕES DOS PÃES ELABORADOS.



F1: formulação padrão; F2: 10 % de kinako e 2 % de semente de chia; F3: 20 % de kinako e 2 % de semente de chia; F4: 30 % de kinako e 2 % de semente de chia

APÊNDICE F – GRÁFICO DE ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS (PCA)
PARA PERFIL LIPÍDICO

