

EFEITO DO ÍON CÚPRICO NO SABOR DO «LEITE DE SOJA»^{1/}

Sebastião Hühn ^{2/}

Adão José R. Pinheiro ^{3/}

1. INTRODUÇÃO

Atualmente, o Brasil é o segundo produtor e o segundo exportador mundial de soja. Em sua quase totalidade, ela é exportada para países que a adotam normalmente em sua alimentação diária.

Embora sejam indiscutíveis as vantagens do emprego da soja na alimentação humana, no Brasil ela é pouco utilizada, talvez por terem os brasileiros herdado hábitos alimentares de povos europeus, africanos e indígenas, apreciadores de carnes, gorduras animais, arroz e feijão, de gosto bem diferente do da soja.

Calcula-se que uma criança deva consumir em média 500 ml de leite por dia para um crescimento mínimo adequado. No entanto, na América Latina não se dispõe de quantidade suficiente desse alimento, sendo gastas, anualmente, grandes somas na importação de produtos lácteos, já que a produção interna é insuficiente para cobrir as necessidades.

A importância da soja como fonte de proteína na nutrição reside no seu alto teor de aminoácidos essenciais, particularmente lisina, leucina e isoleucina, de acordo com WOLF *et alii* (14), SHELEF *et alii* (11) e LIENER *et alii* (7).

A principal diferença entre a proteína da soja e a proteína do leite bovino ou humano é seu menor conteúdo de aminoácidos sulfurados. Porém, essa deficiência, característica da proteína da maioria dos produtos de soja, pode algumas ve-

^{1/} Parte da tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, pelo primeiro autor, como um dos requisitos para a obtenção do grau de «Magister Scientiae».

Recebido para publicação em 17-10-1978.

^{2/} Fazenda Experimental — EMBRAPA — 36155 — Coronel Pacheco — MG.

^{3/} Universidade Federal de Viçosa — Departamento de Tecnologia de Alimentos — 36570 — Viçosa — MG.

zes ser minimizada pela combinação de tais produtos com outras fontes protéicas não carentes daqueles aminoácidos, conforme LIENER *et alii* (7).

No entanto, vários fatores dificultam o emprego da soja em larga escala, destacando-se, dentre eles, os inibidores de tripsina, as hemaglutininas, as saponinas, os causadores de bócio e de flatulência, as enzimas e, principalmente, o sistema lipoxigenase, responsável pelo sabor e aroma característicos («flavor»), presentes não só na soja crua como também em seus derivados, principalmente o «leite». Esse «flavor» provém dos lipídios, pela ação da enzima lipoxigenase sobre os ácidos graxos insaturados, principalmente os ácidos linoléico e linolênico de acordo com citações de KLEIN *et alii* (5), LAGOCKI *et alii* (6), PUPO *et alii* (10) e WILKENS *et alii* (13).

WALLACE *et alii* (12), por meio de tratamento térmico com vários teores de umidade, estudaram a ação da lipoxigenase sobre concentrados protéicos de trigo e verificaram que um pequeno aumento no conteúdo de umidade faz aumentar acentuadamente a sensibilidade da enzima ao calor.

Trabalhando com 16% de umidade, 90% da atividade da lipoxigenase foram destruídos em 30 minutos, a 65°C. NELSON *et alii* (9) verificaram que, em tecidos crus de cotilédones de soja danificados, além dos lipídios é liberada a enzima lipoxigenase. Quando os tecidos apresentam umidade de até 13%, a enzima não catalisa a oxidação instantânea do substrato. Porém, se se adicionar água, a reação ocorrerá rapidamente, produzindo um «flavor» oxidativo, aceitável somente para os orientais.

O «leite de soja», preparado segundo método tradicional, consiste na maceração de soja em grão em água (250 g/750 ml), durante 18 horas. Entretanto, o leite elaborado por esse método sofre restrições de aceitação por parte dos consumidores, em razão do seu sabor, desagradável para a grande maioria. Os agentes mascarantes comumente utilizados para encobrir o «flavor» característico da soja não têm obtido sucesso, em virtude de tornarem o «leite de soja» enjoativo, quando consumido com frequência. Recentemente, PUPO *et alii* (10), usando método de maceração em soluções de NaHCO_3 0,08% e soluções de NaOH 0,05 N, verificaram que as amostras de «leite de soja» obtidas pelo método em que se empregou bicarbonato de sódio foram as preferidas. Diminuiu o gosto estranho e o «leite» apresentou sabor mais agradável.

Considerando os diversos aspectos citados, particular atenção foi dispensada, neste trabalho, à modificação do processamento do «leite de soja», com a adição de íons cúpricos como agente inibidor do aparecimento de sabores estranhos, verificando-se, ainda, a influência desses íons sobre a composição do «leite».

2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido nos laboratórios do Departamento de Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Viçosa, com a finalidade de investigar a eficiência do íon cúprico como agente inibidor da formação de sabores estranhos durante a elaboração do «leite de soja» e seu efeito na composição química do «leite».

Utilizaram-se amostras de soja das seguintes variedades: Aliança, Mineira, IAC-2, Viçosa e Santa Rosa, produzidas pela Escola Superior de Agricultura da Universidade Federal de Viçosa. Os grãos, depois de selecionados, foram pesados (3.100 g de cada variedade) e misturados até uniformização. Posteriormente, amostras de 300 g da mistura foram colocadas em sacos plásticos, para elaboração do «leite de soja».

Após análise, e conhecido seu teor de cobre, os grãos tiveram seus níveis de íons cúpricos acrescidos, usando-se $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, para as concentrações de 0,2, 6, 12, 16 e 20 ppm de Cu^{++} , além da adição de uma solução de NaHCO_3 0,08%, antes de

serem submetidos ao tratamento térmico a 80°C, durante 15 minutos, segundo as normas do método tradicional, modificado por autores indianos, segundo BORGES (3). Obedeceu-se à seguinte rotina:

1.ª Etapa

1. Tomar 300 g de soja em grão;
2. Adicionar 62,5 ml de uma solução estoque de bicarbonato de sódio 0,64%, variando-se apenas os níveis de íons cúpricos, na seguinte ordem de adição: 0, 25, 75, 150, 200 e 250 ml de uma solução estoque de sulfato de cobre pentahidratado, de 40 ppm de íons cúpricos, e completar o volume, com água, até 500 ml;
3. Submeter a tratamento térmico a 80°C, durante 15 minutos.

2.ª Etapa

1. Eliminar as cascas e o excesso das soluções de sulfato de cobre e bicarbonato de sódio por meio de 3 lavagens sucessivas com 2 litros de água de cada vez;
2. Triturar os grãos em liquidificador, com 1.500 ml de água, durante 2 minutos;
3. Cozer à temperatura de 85 — 90°C, durante 15 minutos;
4. Adicionar 45 g de sacarose e 3 g de cloreto de sódio, isto é, 3% e 0,2%, respectivamente, ao volume final de «leite» (1.500 ml);
5. Filtrar em tecido de algodão, para eliminação dos resíduos;
6. Estocar a $4 \pm 2^\circ\text{C}$, até a realização do teste.

A degustação das amostras foi realizada por uma equipe de provadores constituída por 10 estudantes do Curso de Engenharia e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Viçosa, uma vez por dia, durante 10 dias. Esses provadores nunca haviam experimentado o «leite de soja».

Para o teste de preferência foi adotada uma escala hedônica de nove pontos, segundo a AMERICAN SOC. TESTING AND MATERIAL (1), levando-se em consideração, em conjunto, o sabor e o odor, conforme é mostrado a seguir:

Escala Hedônica

9. Gosta extremamente
8. Gosta muito
7. Gosta moderadamente
6. Gosta superficialmente
5. Indiferente
4. Desgosta superficialmente
3. Desgosta moderadamente
2. Desgosta muito
1. Desgosta extremamente

O delineamento experimental usado para o teste de preferência foi o de blocos casualizados, com 6 tratamentos, em 10 repetições. Para estudar os efeitos dos tratamentos sobre os teores de extrato seco total (EST), proteína bruta, gordura, densidade (g/cm^3), resíduo mineral fixo (RMF), cálcio e íons cúpricos (Cu^{++}) encontrados no «leite de soja», foi utilizado um delineamento inteiramente ao acaso, com 6 tratamentos, em 6 repetições. Para comparação entre as médias dos tratamentos usou-se o teste de Tukey, a 5% de probabilidade, segundo GOMES (4).

Os tratamentos foram: 0, 2, 12, 16 e 20 ppm de íons cúpricos (Cu^{++}), na forma de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$.

A avaliação dos teores de extrato seco total, resíduo mineral fixo, densidade, gordura e proteína bruta foi feita de acordo com a A.O.A.C. (2). Os teores de cálcio e cobre foram determinados por espectrofotometria de absorção atômica, utilizando-se espectrofotômetro PERKIN-ELMER, modelo 290, segundo o método recomendado pelo fabricante.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados médios dos testes de degustação encontram-se no Quadro 1; no Quadro 2 são comparadas as médias dos tratamentos referentes ao teste de preferência. Os resultados da análise de variância do teste de preferência pelo «leite de soja» encontram-se no Quadro 3.

QUADRO 1 - Resultados médios dos testes de degustação pelo painel de provadores, expressos numa escala hedônica de nove pontos, para os seis tratamentos						
Repetições (dias)	Níveis de Íons Cu^{++} (ppm)					
	0	2	6	12	16	20
1	3,2	5,5	6,1	8,7	5,8	6,0
2	3,2	6,6	5,9	8,8	6,2	6,3
3	3,2	7,1	6,9	8,6	5,9	6,4
4	2,7	4,9	5,6	9,0	6,1	5,5
5	2,9	6,7	5,9	8,9	6,3	5,8
6	2,9	6,0	6,2	8,6	6,0	5,7
7	2,8	6,0	5,9	8,4	6,3	5,7
8	3,1	5,6	6,0	8,4	6,5	5,9
9	3,3	5,7	6,0	8,5	5,5	6,0
10	2,3	4,5	5,5	8,9	6,0	5,4
Média	2,96	5,96	6,00	8,68	6,06	5,87

No Quadro 4 são apresentados os valores residuais médios dos íons cúpricos no leite de soja, para cada tratamento. O Quadro 5 resume os valores médios dos testes de preferência em que tomaram parte os 10 provadores, durante 10 dias. Os resultados da análise de variância do efeito dos íons cúpricos sobre os teores de extrato seco total, proteína bruta, gordura, densidade, resíduo mineral fixo, cálcio e cobre encontrados no «leite de soja» são apresentados no Quadro 6.

A análise de variância (Quadro 3) demonstrou serem significativos ($P < 0,01$) os efeitos dos tratamentos no sentido de evitar o aparecimento dos sabores estranhos durante o processamento do «leite de soja».

O aumento na concentração do íon cúprico resultou em significativa diminuição do sabor e do aroma característicos da soja. Esse efeito se verificou em todos os tratamentos, principalmente naquele ao qual foram adicionados 12 ppm de íons cúpricos.

O teste de Tukey apontou diferenças de aceitação do «leite de soja». O tratamento que obteve maior preferência por parte dos painelistas foi aquele com 12 ppm de íons cúpricos, certamente por ter revelado melhor sabor e aroma, em relação aos demais (Quadro 2). Os tratamentos com 2, 6, 16 e 20 ppm de íons cúpricos não diferiram entre si, diferindo, porém, da testemunha.

QUADRO 2 - Efeito dos tratamentos sobre o teste de preferência pelo "leite de soja"

Tratamentos (ppm Cu ⁺⁺)	Médias dos Escores
0	2,96 c
2	5,96 b
6	6,00 b
12	8,68 a
16	6,06 b
20	5,87 b

As médias seguidas da mesma letra não diferem significativamente, ao nível de 5%, pelo teste de Tukey.

QUADRO 3 - Resumo da análise de variância do teste de preferência pelo "leite de soja"

Fontes de Variação	Graus de Liberdade	Quadrados Médios
Repetição	9	0,402238
Tratamentos	5	32,8199**
Resíduo	45	0,142862

** Significativo ao nível de 1% de probabilidade.

O tratamento a que foram adicionados 16 ppm de íons cúpricos não apresentou qualquer sabor ou aroma característico de soja. O que se verificou foi um sabor ligeiramente salgado, detectado por todo o grupo de provadores. Vale salientar que a concentração de cloreto de sódio adicionado foi a mesma em todos os tratamentos, isto é 0,2%.

No tratamento a que foram adicionados 20 ppm de íons cúpricos foi detectado um sabor de ranço.

A análise de variância (Quadro 6) revelou diferença significativa ($P < 0,01$) entre os tratamentos apenas para o residual de íons cúpricos encontrado no «leite de soja». No Quadro 5 observa-se que o menor teor de íons cúpricos foi o do tratamento

testemunha, resultado já esperado. Os maiores teores de Cu^{++} foram observados nos tratamentos a que foram adicionados 16 e 20 ppm desse íon, embora tenham sido estatisticamente iguais pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. Os tratamentos com 2, 6 e 12 ppm de íons cúpricos não diferiram entre si, diferindo, porém, da testemunha e daquele com 20 ppm de íons cúpricos. Pode-se depreender que a aplicação de níveis crescentes de íons cúpricos na primeira etapa de elaboração do «leite de soja» redundou em retenção gradativa daqueles íons pelas sementes, evitando-se sabores e odores estranhos.

QUADRO 4 - Valores residuais médios de íons Cu^{++} , em ppm, apresentados pelo "leite de soja", para cada nível de cobre adicionado

Nível de cobre (ppm)	Repetições (dias)					
	1	2	3	4	5	6
0	0,090	0,080	0,100	0,080	0,090	0,070
2	2,080	2,058	2,108	2,083	2,058	2,083
6	2,170	2,192	2,170	2,142	2,150	2,183
12	2,330	2,330	2,375	2,358	2,350	2,330
16	2,580	2,500	2,458	2,433	2,508	2,483
20	2,670	2,642	2,658	2,683	2,670	2,670

Pode-se observar, no Quadro 4, que a quantidade de cobre de um (1) litro de «leite» de qualquer um dos tratamentos a que foram adicionados 2, 6, 12, 16 e 20 ppm de íons cúpricos atende às necessidades diárias do organismo humano adulto, segundo a National Academy of Sciences (8), não ultrapassando os limites máximos de tolerância fixados pela Comissão Nacional de Normas e Padrões de Alimentos (CNNPA).

4. RESUMO E CONCLUSÕES

Utilizou-se uma mistura de 5 variedades de soja, com a finalidade de investigar a eficácia do íon cúprico como agente inibidor de aparecimento de sabores estranhos durante a elaboração do «leite de soja» e, ainda, a influência desse íon sobre a composição do «leite».

Os tratamentos constituíram-se de 6 níveis de íons cúpricos, nas seguintes concentrações: 0, 2, 6, 12, 16 e 20 ppm, na forma de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$.

Para comparar o efeito do íon cúprico, foi usado como testemunha o «leite de soja», preparado segundo as normas do método tradicional, modificado.

QUADRO 5 - Efeito do tratamento sobre o residual de íons cúpricos encontrados no "leite de soja"

Níveis de Cobre Aplicados (ppm)	Médias do Residual
0	0,09 d
2	2,08 c
6	2,17 c
12	2,33 bc
16	2,49 ab
20	2,67 a

As médias seguidas da mesma letra não diferem significativamente, ao nível de 5%, pelo teste de Tukey.

A análise dos resultados obtidos mostrou que os tratamentos nos quais se empregou Cu^{++} apresentaram melhoria significativa do «flavor» do «leite de soja», em relação à testemunha ($P < 0,01$). O tratamento que recebeu 12 ppm de íons cúpricos destacou-se com a maior aceitação por parte dos painelistas, certamente por ter revelado melhor sabor e aroma.

O efeito do íon cúprico sobre os teores de extrato seco total, proteína bruta, gordura, densidade, residuo mineral fixo e cálcio encontrados no «leite de soja» não se mostrou significativo, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de F. Entretanto, a análise de variância revelou diferença significativa ($P < 0,01$) para o residual de íons cúpricos encontrados no «leite».

Os resultados obtidos neste trabalho permitem formular as seguintes conclusões:

1. A adição de 12 ppm de íons cúpricos e de bicarbonato de sódio, em combinação com o tratamento térmico, na primeira etapa de elaboração do «leite de soja», melhora significativamente o «flavor» do «leite», tornando-o mais suave ao paladar.
2. A modificação do método tradicional modificado, pela adição do íon cúprico e do bicarbonato, apresenta uma série de vantagens, em virtude de não implicar maceração prolongada dos grãos na primeira etapa de elaboração do «leite de soja», reduzindo-a de 8 — 24 horas para 15 minutos.
3. O «leite» resultante da adição de íons cúpricos a todos os níveis (2, 6, 12 e 20 ppm) pode ser usado como alimento humano, uma vez que os teores de cobre nele encontrados satisfazem os padrões de tolerância aceitáveis para o organismo humano adulto. Além dessa vantagem, esse produto poderá ter outras aplicações, tais como: matéria-prima para a fabricação de iogurtes, leites aromatizados, sorvetes, bombons, sucedâneo à alimentação de bezerros ou até mesmo em misturas com leite animal, com a finalidade de equilibrar seu

valor nutricional e, ao mesmo tempo, contribuir para a redução do custo de leite bovino, aspecto bastante importante para a economia nacional.

QUADRO 6 - Resumo da análise de variância do efeito de íon cúprico sobre os teores de EST, proteína bruta, gordura, densidade, RMF, cálcio e cobre encontrados no "leite de soja"

Efeito do Íon Cúprico	F.V.	G.L.	Q.M.
EST	Tratamento	5	0,0928510 NS
	Resíduo	30	0,111911
Proteína Bruta	Tratamento	5	0,354480 NS
	Resíduo	30	0,453236
Gordura	Tratamento	5	0,0797776 NS
	Resíduo	30	0,0321110
Densidade	Tratamento	5	0,0278639 NS
	Resíduo	30	0,0279883
RMF	Tratamento	5	0,000771669 NS
	Resíduo	30	0,000640555
Cálcio	Tratamento	5	24,4444 NS
	Resíduo	30	292,777
Cu ⁺⁺	Tratamento	5	4,67632 **
	Resíduo	30	0,0294311

** - Significativo ao nível de 1% de probabilidade.
NS - Não significativo.

5. SUMMARY

A study was made on the effect of the cupric ion as an inhibitor to the formation of off-flavors during the manufacture of soybean milk, and the influence of this ion on the composition of the soybean milk.

Six levels of the cupric ion added as $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ were tested: 0, 2, 6, 12, 16 and 20 ppm. All soybean milk thus obtained was compared to soybean milk prepared by the traditional modified method.

Analysis of the results showed significant flavor improvements when the cupric ion was used as compared to the traditional soybean milk ($P < 0.01$).

When 12 ppm of the cupric ion were used, the acceptance by the panelists was the highest, certainly because of the much better flavor of the milk as compared to other treatments.

Total solids, total N, fat, density, ash and calcium were not significantly influenced (F test, 5% level) when the cupric ion was added to the soybean milk. However, the analysis of variance showed a significant ($P < 0.01$) difference for residual cupric ions found in the soybean milk.

Copper content of the test soybean milk was below the tolerance level for adults.

6. LITERATURA CITADA

1. AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. *Manual on sensory testing methods*. Philadelphia, 1968. 77 p. (Special Publication, 434).
2. A.O.A.C. *Analytical chemist*. 12 ed. Washington, 1975. 1094 p.
3. BORGES, J.M. *Contribuição ao estudo do leite de soja*. São Paulo, s. ed., 1958. 202 p. (Tese de catedrático).
4. GOMES, F.P. *Curso de estatística experimental*. 4 ed. Piracicaba, Nobel, 1973. 403 p.
5. KLEIN, B.P. Isolation of lipoxygenase from split peaseeds, snapbeans and peas. *J. Agr. Food Chem.*, 24(5):338-342. 1976.
6. LAGOCKI, J.W., EMKEN, E.A., LAW, J.H. & KEZDY, F.J. Kinetic analysis of the action of soybean lipoxygenase on linoleic acid. *J. Biol. Chem.*, 251(19):6001-6006, 1976.
7. LIENER, I.E. Nutritional value of food protein products. In: SMITH, A. K. & CIRCLE, S.J. *Soybeans: chemistry and technology*. Westport, Conn, AVI, 1972. v. 1, cap. 7.
8. NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES. *Recommended dietary allowances*. 8. ed. Washington, 1974. 128 p.
9. NELSON, A.I., STEINBERG, M.P. & WEI, L.S. Illinois process for preparation of soymilk. *J. Food Sci.*, 41(1):57-61. 1976.
10. PUPO, L.M., CHAIB, M.A., GARRUTI, R.S. & PEREIRA, L. Estudo sensorial do leite de soja. *Rev. Bras. Tecn.*, 6(3):111-116. 1975.
11. SHELEF, L.A. & MORTON, L.R. Soybean protein foods. Use and acceptance in institutional feeding. *Food Tech.*, 30(4):44-50. 1976.
12. WALLACE, J.M. & WHEELER, E.L. Lipoxygenase inactivation in wheat protein concentrated by heat-moisture treatments. *J. Am. Assoc., of Cer. Chem.*, 49(1):92-97. 1972.
13. WILKENS, W.F., MATTICK, L.R. & HAND, D.B. Effect of processing method

on oxidative off-flavors of soybean milk. *Food Tech.*, 21(1):86-89. 1967.

14. WOLF, W.J. & COWAN, J.C. *Soybean as a food source*. Cleveland, Ohio, CRC Press, 1975. 101 p.