



UTILIZAÇÃO DO PROCESSO DE NANOFILTRAÇÃO PARA CONCENTRAÇÃO DE COMPOSTOS DA SOJA

S. BENEDETTI¹, E. S. PRUDÊNCIO², K. REZZADORI¹, C.M. CAMELINI¹, M. PRONER¹,
L. A. FOGAÇA¹, R.S. LEITE³, J.M.G. MANDARINO³, J.C.C. PETRUS¹

¹ Universidade Federal de Santa Catarina, Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos

² Universidade Federal de Santa Catarina, Departamento de Ciências dos Alimentos

³ EMBRAPA SOJA

E-mail para contato: silviabene@gmail.com

RESUMO – A utilização da soja para a produção de alimentos aumentou nas últimas décadas devido ao forte apelo das pesquisas na área da saúde, destacando seus efeitos benéficos, quando consumidos regularmente. Com isso, os derivados da soja passaram a ganhar um destaque comercial, principalmente devido às suas características funcionais, contribuindo para a geração de novos produtos com essas mesmas propriedades. Dessa forma, esse trabalho teve como objetivo utilizar o processo de nanofiltração (NF) até o Fator de Redução Volumétrico (FRV) igual a 3, para concentrar os compostos funcionais de um extrato etanólico de soja (10% etanol) e verificar a eficiência do processo por meio da quantificação de isoflavonas presentes nos concentrados. Os resultados obtidos mostraram que o fluxo permeado médio obtido na nanofiltração foi de $9,2 \text{ L.m}^{-2}.\text{h}^{-1}$. Com relação ao processo de concentração, observou-se um fator de concentração de 3 vezes para os conjugados glicosil, de 2,4 vezes para os conjugados malonil e 1,3 vezes para as agliconas, significando que parte desses últimos compostos permeiam a membrana. Com relação às isoflavonas totais verificou-se um aumento de 60% no concentrado obtido a partir da nanofiltração. Conclui-se que a nanofiltração pode ser utilizada para a concentração de compostos bioativos presentes na soja com possibilidades utilizá-los nas indústrias alimentícia e farmacêutica.

1. INTRODUÇÃO

A soja (*Glycine max*) vem sendo muito consumida nas últimas décadas por ser um alimento promotor da saúde, pois contém importantes nutrientes, como proteínas, óleo e muitos compostos bioativos, tais como isoflavonas, fitoesteróis, saponinas e oligossacarídeos (Niamnuy *et al.*, 2011). Dessa forma, os derivados da soja passaram a ganhar destaque comercial, principalmente devido às propriedades funcionais creditadas às isoflavonas e,



assim, contribuindo para o desenvolvimento de novos produtos a base de soja (Behrens; Silva, 2004).

As isoflavonas são fitoestrógenos derivados de plantas e constituem a classe dos compostos chamados flavonóides. Esses compostos fenólicos têm estrutura química semelhantes ao estrogênio humano e se apresentam em quatro formas químicas: β -glicosídeos, malonil glicosídeos e acetil glicosídeos e nas formas não-conjugada aglicona; sendo que cada forma química possui três isômeros, ou seja, a genistina, a daidzina e a glicitina, totalizando doze isoflavonas (Chun *et al.*, 2008).

O perfil e teores de isoflavonas na soja e produtos da soja são influenciados por fatores genéticos, ambientais e de processamento, principalmente pelos tratamentos térmicos, processos fermentativos e processos de hidrólise, sendo todos estes controlados visando à obtenção de um produto final com propriedades nutricionais e funcionais adequadas (Li-Jun *et al.*, 2004). O tratamento hidrotérmico é um caminho para aumentar os níveis de agliconas da soja por meio da ativação da enzima β -glicosidase. Além da temperatura, o tempo de tratamento hidrotérmico tem grande influência na concentração final de agliconas (Sutil *et al.*, 2008).

Além da ingestão dos compostos funcionais através dos alimentos, também se torna interessante a obtenção ou isolados protéicos e concentrados de isoflavonas encapsulados, obtidos a partir de extratos de soja e resíduos da indústria processadora de soja, que podem ser utilizados, com orientação médica, complementando a dieta. De acordo com os métodos de processamento, as isoflavonas da soja podem ser obtidas de duas formas: concentrados de isoflavonas ou concentrados ou isolados de proteínas de soja enriquecidos com isoflavonas. Os concentrados de isoflavonas são tipicamente preparados por extração com solventes orgânicos, e muitas vezes em combinação com técnicas de cromatografia (Chang, 2002). Embora esses produtos apresentem pureza relativamente alta, o uso de grandes quantidades de solventes não só causa prejuízos econômicos, ambientais e preocupações de segurança, mas também afeta a qualidade dos componentes da soja alterando suas propriedades funcionais. Uma alternativa é fabricar produtos de proteína de soja que contenham quantidades substanciais de isoflavonas. Como a maioria dos isoflavonas da soja é na forma de glicosídeos, que são solúveis em água, o processamento de soja convencional para produção de tofu, por exemplo, tende a incorrer em perdas elevadas de isoflavonas, e normalmente apenas uma pequena fração (<30%) é recuperada na final produto (Wang; Murphy, 1996). Portanto, na produção de isolados protéicos enriquecidos com isoflavonas, os glicosídeos devem ser convertidos na forma mais hidrofóbica, ou seja, em agliconas, a fim de ligá-las às proteínas com maior firmeza (Chang, 2002; Sutil, 2006).

Concentrados e/ou isolados contendo propriedades funcionais, obtidos a partir de Processos de Separação por Membranas (PSM) vêm sendo investigados (Cassini *et al.*, 2010), onde destes, tem-se a ultrafiltração destacando-se na concentração de compostos dos extratos de soja. Uma das razões descritas na literatura para o seu emprego seria relativa ao uso de temperaturas menores do que as normalmente aplicadas nos processos convencionais de

concentração, como a evaporação. Dessa forma, é creditada às menores temperaturas utilizadas, a manutenção dos componentes funcionais a serem concentrados. Por outro lado, tem se verificado que o emprego da nanofiltração, outro PSM, que faz uso de membranas com menores diâmetros de poros, é mais eficiente na concentração de compostos funcionais dos mais variados extratos.

Nesse contexto, foi estudada a utilização do tratamento hidrotérmico em extrato etanólico de soja para o aumento do teor de agliconas e posterior concentração utilizando o processo de nanofiltração, visando à obtenção de um concentrado com altos teores de isoflavonas, para utilização como ingrediente funcional na indústria de alimentos e farmacêutica.

2. METODOLOGIA

2.1. Elaboração do extrato de soja

Para a elaboração do extrato aquoso de soja, pesou-se 100 g de grãos em um erlemeyer de 2 L e adicionou-se água destilada e etanol na proporção 9:1 (solução alcoólica 10 %). Após, submeteu-se a tratamento hidrotérmico a 50 °C por 15 h com agitação de 120 rpm, em shaker com agitação orbital (Modelo TE-421, TECNAL®, Piracicaba, SP, Brasil). Em seguida, a mistura foi triturada em liquidificador por 5 min e submetida a duas etapas de filtração, sendo a primeira realizada em filtro de náilon (BRASHOLANDA®, Pinhais, PR, Brasil), visando à retirada das partículas maiores, e a segunda em filtro a vácuo em tela de poliamida com abertura de 7 µm (TEGAPE®, Curitiba, PR Brasil). O extrato foi então congelado em freezer a -18 °C por 24 h. Depois se retirou do freezer e deixou-se descongelando por 12 h, enquanto ocorria também o processo de decantação de partículas sólidas que poderiam causar o *fouling* da membrana, ou seja, o bloqueio dos poros da membrana pelo acúmulo e deposição de solutos do extrato. Em seguida, separou-se o sobrenadante do material sólido precipitado e submeteu-se o extrato parcialmente clarificado ao processo de nanofiltração.

2.2. Nanofiltração (NF)

Os ensaios da NF do extrato de soja foram realizados em duplicata em uma unidade operando com fluxo tangencial, à temperatura de 20± 2 °C e pressão transmembrana de 6 bar. Utilizou-se uma membrana orgânica de polifluoreto de vinilideno com ponto molar de corte da ordem 150-300 g mol⁻¹ e área filtrante útil de 0,9 m² (Modelo HL2521TF, GE Osmonics®, Filadélfia, EUA). Dez litros de extrato de soja foram submetidos à NF por aproximadamente 35 min, sendo este o tempo necessário para concluir a operação de concentração em um sistema sem reciclo de permeado, atingindo um Fator de Redução Volumétrico (FRV) igual a

3. O FRV foi calculado através da razão entre o volume inicial de extrato etanólico de soja utilizado na alimentação (L) e o volume final de concentrado após a NF (L). Durante a NF foi medido o fluxo do permeado (J) ($L \cdot h^{-1} \cdot m^{-2}$), a cada cinco min e calculado de acordo com a Equação 1, onde V_p (L) é o volume de permeado coletado durante o intervalo de tempo t (h) e A_p (m^2) é a área da superfície de permeação da membrana. Após cada experimento o equipamento foi higienizado com solução alcalina pH 11, de acordo com as instruções do fabricante.

$$J = V_p / tA_p \quad (L \cdot h^{-1} \cdot m^{-2}) \quad (1)$$

2.3. Determinação de isoflavonas

A extração das isoflavonas do extrato de soja foi realizada conforme metodologia proposta por Carrão-Panizzi *et al.* (2002), com modificações. Para extração de isoflavonas, utilizou-se uma alíquota de 1,5 mL de amostra adicionada de 2,5 mL de solução extratora (70 % de etanol e 0,1 % de ácido acético). Os tubos contendo as amostras e a solução extratora foram agitados em “Vortex” (Modelo MA162, MARCONI[®], Piracicaba, SP, Brasil) e submetidos à extração por 1 h em temperatura ambiente, sendo que neste período sofreram agitação a cada 15 min. Em seguida, os tubos foram colocados em banho ultrassônico (Modelo USC5000, UNIQUE[®], Indaiatuba, SP, Brasil) por 30 min. Uma alíquota de 1,5 mL deste extrato foi transferida para tubos de microcentrífuga refrigerada (Modelo 5417R, EPENDORFF[®], São Paulo, Brasil) e centrifugados a 20.800 g por 15 min, em temperatura de 4 °C. O sobrenadante foi filtrado através de membranas com poros de 0,45 μm (MILLIPORE[®], Billerica, MA, EUA), sendo 20 μL do extrato filtrado injetados no cromatógrafo. A separação e a quantificação das isoflavonas foram realizadas de acordo com a Berhow (2002), utilizando Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), com detector de arranjo de fotodiodo (Modelo 996) e injetor automático de amostras (Modelo 717 Plus) da WATERS[®] (Milford, EUA). Utilizou-se nesta etapa uma coluna de fase reversa (YMC Pack ODS-AM[®], 250 mm x 0,4 mm de diâmetro). Para a separação das isoflavonas, adotou-se o sistema de gradiente linear binário, tendo como fases móveis: (a) metanol contendo 0,025 % de ácido trifluoroacético (TFA) (fase A) e (b) água ultrapura (MILLIPORE[®], Billerica, MA, EUA) contendo 0,025% de TFA (fase B). A condição inicial do gradiente foi de 20% para a fase A, atingindo 90% em 35 min, seguido de limpeza da coluna com 100 % de fase A durante 5 min para, em seguida, retornar a 20% e permanecer nestas condições por até 60 min. A vazão da fase móvel foi de 1 mL min^{-1} e a temperatura durante a corrida foi de 25 °C. Para a detecção das isoflavonas, ajustou-se o comprimento de onda do detector para 254 nm. O *software* utilizado para controle do equipamento e aquisição de dados foi *Millenium 32* (versão 3.05.01) (GCLC[®] Toronto, Pickering, ON, Canadá). Para a identificação e quantificação dos picos correspondentes a cada uma das isoflavonas foram utilizadas curvas de calibração com regressão linear baseados nas áreas dos picos, com padrões externos de daidzina, daidzeína, genistina, genisteína, glicetina, gliciteína, malonil daidzina, malonil

genistina e malonil glicitina, todos solubilizados 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, respectivamente. Os resultados de isoflavonas do extrato etanólico de soja foram expressos mg isoflavona/mL de extrato. Todas essas análises foram realizadas em triplicata.

2.4. Análise estatística

A análise de variância (ANOVA) e o teste de Tukey (5 % de significância) foram empregados na análise dos dados através do software STATISTICA 7.0 (2004) (StatSoft Inc., Tulsa, OK, EUA), e os resultados foram expressos como médias ± desvio padrão.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Nanofiltração

O comportamento do fluxo do permeado (J) durante a NF do extrato de soja é mostrado na Figura 1. Esse comportamento é típico de processos de filtração com membranas, como observado por Hódur *et al.* (2009) na concentração de produtos similares, a partir de extratos aquosos. De acordo com Noordman *et al.* (2003), alimentos líquidos com altos teores de proteínas tendem a apresentar esse comportamento. Além disso, este declínio pode ser causado pela formação da camada de polarização e ao *fouling*, ambos os fenômenos normalmente presentes nos processos de separação por membranas (Van der Bruggen *et al.*, 2008).

O J médio obtido alcançou 9,2 L·h⁻¹·m⁻², similarmente ao encontrado por Luo *et al.* (2009) na remoção do sal de molho de soja, empregando a NF, onde o fluxo médio foi de 6,64 L·h⁻¹·m⁻², embora as pressões de trabalho tenham sido maiores. Apesar de serem produtos diferentes, as similaridades entre os processos, com exceção da pressão utilizada, permitem a comparação entre os resultados. A menor pressão utilizada, em torno de 6 bar, normalmente não é característica de processos de NF, entretanto, são suficientes para que a filtração aconteça, e seja ainda mais interessante em decorrência dos menores gastos energéticos a baixas pressões (Mello *et al.*, 2010). Além disso, Chien *et al.* (2005), Rostagno *et al.* (2005) e Nufer *et al.* (2009) relatam que baixos tempos de processamento seriam ideais para a manutenção do teor de isoflavonas.

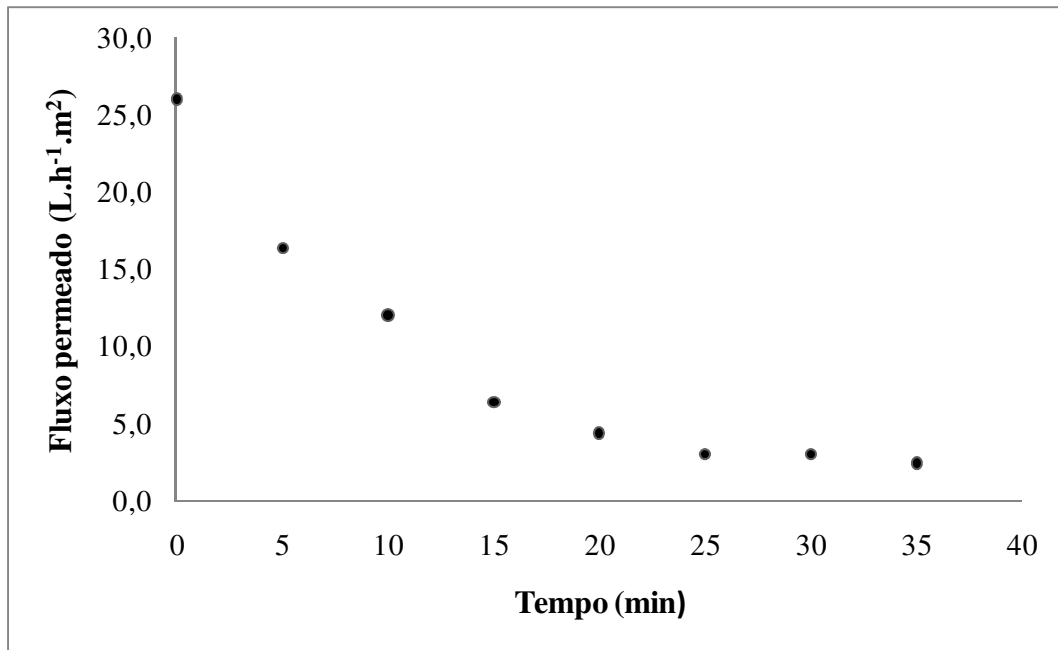


Figura 1- Fluxo do permeado (J) durante o processo de NF do extrato de soja.

3.2. Quantificação de isoflavonas

Os resultados da Tabela 1 mostram que o extrato de soja apresentou predominância de agliconas, com média de $6,60 \text{ mg mL}^{-1}$, correspondendo a 54% do total de isoflavonas presentes. Isso mostra que a adição de etanol na solução aquosa e o tratamento hidrotérmico foram eficientes para promover a extração e conversão das isoflavonas conjugadas em agliconas. Esses resultados foram superiores aos obtidos por Xu *et al.* (2004), que verificaram teores de agliconas em torno de 34% do total de isoflavonas, em resíduo líquido da produção de extrato de soja. De acordo com Rostagno *et al.* (2009), muitos parâmetros podem influenciar na extração dos compostos orgânicos, como a polaridade e quantidade de solvente, temperatura, massa e tipo de amostra e duração da extração. No caso das isoflavonas, outro parâmetro é a solubilidade ótima do analito no solvente de extração, pois é difícil encontrá-lo, uma vez que há muitas formas químicas com diferentes coeficientes de solubilidade em um dado solvente. Neste estudo, utilizou-se 10 % de etanol no preparo do extrato aquoso de soja como alternativa para melhorar a extração das isoflavonas do grão, uma vez que algumas isoflavonas, sobretudo as agliconas, tem baixa solubilidade em água (Lui *et al.*, 2003).



Tabela 1- Resultados (médias \pm desvio padrão) de isoflavonas nas amostras de extrato de soja (mg mL^{-1} em base líquida).

Amostra	Agliconas*			B-glicosídeos*		Malonil glicosídeos*		Totais
	Dai	Gly	Gen	G-Gen	G-Gly	M-Dai	M-Gen	
Extrato	2,57 ^a $\pm 0,03$	3,32 ^a $\pm 0,12$	0,71 ^a $\pm 0,01$	1,20 ^a $\pm 0,02$	0,55 ^a $\pm 0,00$	1,59 ^a $\pm 0,28$	2,23 ^a $\pm 0,05$	12,16 ^a $\pm 0,36$
FRV 1,5	1,85 ^b $\pm 0,05$	2,97 ^a $\pm 0,22$	0,38 ^b $\pm 0,02$	2,02 ^b $\pm 0,03$	1,43 ^b $\pm 0,03$	1,86 ^a $\pm 0,03$	2,92 ^b $\pm 0,07$	13,43 ^b $\pm 0,28$
FRV 2,0	1,83 ^{ab} $\pm 0,05$	3,20 ^a $\pm 0,33$	0,31 ^c $\pm 0,02$	2,51 ^c $\pm 0,06$	1,53 ^c $\pm 0,03$	2,43 ^b $\pm 0,08$	3,86 ^c $\pm 0,10$	15,66 ^c $\pm 0,64$
FRV 2,0	1,76 ^{ab} $\pm 0,02$	3,07 ^a $\pm 0,15$	0,29 ^c $\pm 0,01$	2,92 ^d $\pm 0,01$	1,73 ^d $\pm 0,03$	2,81 ^c $\pm 0,04$	4,71 ^d $\pm 0,03$	17,28 ^d $\pm 0,21$
FRV 3,0	1,78 ^c $\pm 0,01$	3,13 ^a $\pm 0,19$	0,30 ^c $\pm 0,01$	3,32 ^e $\pm 0,03$	2,04 ^e $\pm 0,01$	3,39 ^d $\pm 0,05$	5,59 ^e $\pm 0,08$	19,56 ^e $\pm 0,13$

*Dai=daizeína; Gly=gliciteína; Gen=genisteína; G-gen=genistina; G-gly=glicitina; M-dai=malonil daidzina; M-gen=malonil genistina

^{a,b} Letras minúsculas sobrescritas na mesma coluna indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as análises realizadas.

O tratamento hidrotérmico, sob condições de tempo e temperaturas controladas, favorecem a conversão das isoflavonas conjugadas em agliconas, através da hidrólise promovida pelas enzimas β -glicosidase. Carrão-Panizzi *et al.* (2003) avaliaram diferentes binômios tempo-temperatura para tratamento hidrotérmico de grãos de soja e observaram que as concentrações de daidzeína e genisteína aumentaram consideravelmente quando comparados à soja sem tratamento hidrotérmico. De acordo com esses autores, para otimização da tecnologia de processamento de alimentos funcionais à base de soja, tempo e temperatura são fatores fundamentais para ativar o desenvolvimento de agliconas. Dessa forma, sugere-se um pré-tratamento térmico dos grãos antes de iniciar o processamento, a fim de aumentar os teores das formas agliconas, que são as formas mais biodisponíveis. Ribeiro *et al.* (2007) relatam que maiores teores de agliconas conferem maiores benefícios à saúde dos consumidores de produtos de soja, já que de acordo com Pascual-Teresa *et al.* (2006), as agliconas são diretamente absorvidas no trato gastrointestinal apresentando maior bioatividade do que as formas conjugadas.



Após a NF do extrato de soja, verificou-se aumento de 38 % ($p < 0,05$) dos teores de isoflavonas totais presentes no concentrado. Assim como esperado, tanto no extrato de soja como no concentrado, não foram detectados acetil glicosídeos. Nas demais isoflavonas presentes, com exceção das agliconas, as concentrações aumentaram com o FRV, porém esse aumento não foi proporcional ao FRV alcançado. Com relação às agliconas, isso pode ter ocorrido porque, segundo Wang e Murphy (1996) e Suárez *et al.* (2009), pode ocorrer associação das isoflavonas com as proteínas da soja, que podem ficar adsorvidas na superfície da membrana. Além disso, o ponto molecular da membrana é muito próximo (150 a 300 g mol⁻¹) das massas molares das agliconas, que variam entre 200 e 300 g mol⁻¹. Este resultado sugere, para uma próxima etapa, a utilização de uma membrana de nanofiltração com ponto molecular de corte menor de 200 g mol⁻¹. Os teores dos conjugados glicosídeos tiveram um aumento de 77 % e 64 % para glicitina e genistina, respectivamente, comparando o extrato inicial com o concentrado obtido no FRV igual a 3. Já para os conjugados malonil, observou-se um aumento de 60 % e 53 % para malonil genistina e malonil daidzina, respectivamente.

Enfim, vale salientar que quando comparada a outros processos de concentração, a NF além de ser conduzida a baixas temperaturas, reduz o consumo de energia, conseguindo preservar as propriedades funcionais de compostos de interesse, neste caso as isoflavonas.

4. CONCLUSÃO

O tratamento hidrotérmico da soja a 50 °C permitiu obtenção de um extrato etanólico com alto teor de agliconas, comprovando sua eficiência para a conversão das isoflavonas. O processo de nanofiltração do extrato etanólico de soja apresentou um fluxo permeado médio de 9,2 L·h⁻¹·m⁻² e possibilitou a concentração das isoflavonas até FRV igual a 3, sobretudo os conjugados β-glicosídeos e malonil glicosídeos. Já com relação às agliconas, observou-se um comportamento diferente das demais isoflavonas. Esses resultados demonstraram que é viável a utilização da nanofiltração na concentração de isoflavonas e também sugerem a utilização de outras membranas com diferentes tamanhos de poro para concentração de todos os isômeros, sobretudo as agliconas.

5. REFERÊNCIAS

BEHRENS, J.H.; SILVA, M.A.A.P. Atitude do consumidor em relação à soja e produtos derivados. *Cien Tecnol Alim*, v. 24, p. 431-439, 2004.

BERHOW, M.A. Modern analytical techniques for flavonoid determination. In: BUSLIG, B.S.; MANTHEY, J.A. *Flavonoids in the Living Cell*. New York: Klusher, 2002. 505 p.

- CARRÃO-PANIZZI, M. C.; GÓES-FAVONI, S.P.; KIKUCHI, A. Extraction time for isoflavone determination. *Braz Arch of Biol Techn*, v. 45, n. 4, p. 515-518, 2002.
- CARRÃO-PANIZZI, M. C.; SIMÃO, A.S.; KIKUCHI, A. Efeitos de genótipos, ambientes e de tratamentos hidrotérmicos na concentração de isoflavonas agliconas em grãos de soja. *Rev Pesq Agropec Bras*, v. 38, n. 8, p. 897-902, 2003.
- CASSINI, A.S.; TESSARO, I.C.; MARCZAK, L.D.F.; PERTILE, C. Ultrafiltration of wastewater from isolated soy protein production: a comparison of three UF membranes. *J Clean Prod*, v. 18, p. 260-265, 2010.
- CHANG, S.K.C. 2002. Isoflavones from soybeans and soy foods. In: SHI, J.; MAZZA, G.; LEMAGUER, M. *Functional Foods: Biochemical and Processing Aspects*. Boca Raton: CRC Press, 2002. V.2, p 39-69.
- CHIEN, J.T.; HSIEH, H.C.; KAO, T.H.; CHEN, B.H. Kinetic model for studying the conversion and degradation of isoflavones during heating. *Food Chem*, v. 91, p. 425-434, 2005.
- CHUN, J.; KIM, J.S.; KIM, J.H. Enrichment of isoflavone aglycones in soymilk by fermentation with single and mixed cultures of *Streptococcus infantarius* 12 and *Weissella* sp. *Food Chem*, v. 109, p. 278-284, 2008.
- HODÚR, C.; KERTÉSZ.; BESZÉDES, S.; LÁSZLÓ, Z.; SZABÓ, G. Concentration of marc extracts by membrane techniques. *Desalination*, v.241, p.265-271, 2009.
- LI-JUN, Y.; LI-TE, L.; ZAI-GUI, L.; TATSUMI, E.; SAITO, M. Changes in isoflavone contents and composition of sufu (fermented tofu) during manufacturing. *Food Chem*, v. 87, p. 587-592, 2004.
- LUO, J.; DING, L.; CHEN, X.; WAN, Y. Desalination of soy sauce by nanofiltration. *Sep Purif Technol*, v. 66, p. 429-437, 2009.
- LUI, M.C.Y.; AGUIAR, C.L.; ALENCAR, S.M.; SCAMPARINI, A.R.P.; PARK, Y.K. Isoflavonas em isolados e concentrados protéicos de soja. *Cien Tecnol Alim*, v. 23, p. 206-212, 2003.
- MELLO, B.C.B.S.; PETRUS, J. C.C.; HUBINGER, M.D. Concentration of flavonoids and phenolic compounds in aqueous and ethanolic propolis extracts through nanofiltration. *J Food Eng*, v.96, p.533-539, 2010.
- NIAMNUY, C.; NACHAISIN, M.; LAOHAVANICH, J.; DEVAHASTIN, S. Evaluation of bioactive compounds and bioactivities of soybean dried by different methods and conditions. *Food Chem*, v. 129, p. 899-906, 2011.

- NOORDMAN, T.R.; KOOIKER, K.; BEL, W.; DEKKER, M.; WESSELINGH, J.A. Concentration of aqueous extracts of defatted soy flour by ultrafiltration: Effect of suspended particles on the filtration flux. *J Food Eng*, v. 58, p. 135-141, 2003.
- NUFER, K.R.; ISMAIL, B.; HAYES, K.D. The effects of processing and extraction conditions on content, profile, and stability of isoflavones in a soymilk system. *J Agr Food Chem*. v.57, n. 4, p. 1213-1218, 2009.
- PASCUAL-TERESA, S.; HALLUND, T.J.; TALBOT, D.; SCHROOT, J.; WILLIAMS, C.M.; BUGEL, S.; CASSIDY, A. Absorption of isoflavones in humans: effects of food matrix and processing. *J Nutr Biochem*, v. 17, p. 257–264, 2006.
- ROSTAGNO, M.A.; PALMA, M.; BARROSO, C.G. Short-term stability of soy isoflavones extracts: Sample conservation aspects. *Food Chem*, v. 93, p. 557-564, 2005.
- ROSTAGNO, M. A.; VILLARESA, A.; GUILLAMÓNA, E.; GARCÍA-LAFUENTE, A.; MARTÍNEZA, J.A. Review: Sample preparation for the analysis of isoflavones from soybeans and soy foods. *J Chromatogr*, v. 1216, n. 1, p. 2-29, 2009.
- SUÁREZ, E.; LOBO, A.; ALVAREZ, S.; RIERA, F.A.; ÁLVAREZ, R. Demineralization of whey and milk ultrafiltration permeate by means of nanofiltration. *Desalination*, v.241, p.272-280, 2009.
- SUTIL, G. *Tratamento Hidrotérmico e Ação da Enzima β -glicosidase na Formação de Agliconas em Soja*. 2006. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Programa de Pós Graduação em Engenharia de Alimentos, UFSC, Florianópolis.
- SUTIL, G. A.; MANDARINO, J.M.; LAURINDO, J.B.; BENASSI, V.; GÓES-FAVONI, S.; PETRUS, J.C.C. Effect of hidothermal treatment and pH on the formation of aglycones em soybean. *Eur Food Res Technol*, v. 227, p. 1729-1731, 2008.
- VAN DER BRUGGEN, B.; MÄNTTÄRI, M.; NYSTRÖM, M. Drawbacks of applying nanofiltration and how to avoid them: A review. *Sep Purif Technol*, v. 63, p. 251–263, 2008.
- XU, L.; LAMB, K.; LAYTON, L.; KUMAR, A. A membrane-based process for recovering isoflavones from a waste stream of soy processing. *Food Res Int*, v. 37, p. 867-874, 2004.
- WANG, H-J; MURPHY, P. A. Mass balance study of isoflavones during soybean processing. *J Agr Food Chem*, v. 44, p. 2377-2383, 1996.