



**UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA**

MIRIAN CRISTINA MARETTI

**ASPECTOS TECNOLÓGICOS E AVALIAÇÃO CLÍNICA DA
AÇÃO HIPOCOLESTEROLÊMICA DE BISCOITOS
FORMULADOS COM FARINHA DE SOJA E
FARELO DE AVEIA**

Londrina
2008

MIRIAN CRISTINA MARETTI

**ASPECTOS TECNOLÓGICOS E AVALIAÇÃO CLÍNICA DA
AÇÃO HIPOCOLESTEROLÊMICA DE BISCOITOS
FORMULADOS COM FARINHA DE SOJA E
FARELO DE AVEIA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciência de Alimentos.

Orientadora: Profa. Dra. Maria Victória Eiras Grossmann

Londrina
2008

**Catálogo na publicação elaborada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca Central da Universidade Estadual de Londrina.**

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

M326a Maretti, Mirian Cristina.

Aspectos tecnológicos e avaliação clínica da ação hipocolesterolêmica de biscoitos formulados com farinha de soja e farelo de aveia / Mirian Cristina Maretti. – Londrina, 2008.
211f. : il.

Orientador: Maria Victória Eiras Grossmann.

Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, 2008.

Inclui bibliografia.

1. Alimentos funcionais – Teses. 2. Fibras na nutrição humana – Teses. 3. Panificação – Teses. 4. Biscoito – Indústria – Teses. 5. Colesterol Teses. I. Grossmann, Maria Victória Eiras. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos. III. Título.

CDU 664.6/.7

MIRIAN CRISTINA MARETTI

**ASPECTOS TECNOLÓGICOS E AVALIAÇÃO CLÍNICA DA
AÇÃO HIPOCOLESTEROLÊMICA DE BISCOITOS
FORMULADOS COM FARINHA DE SOJA E
FARELO DE AVEIA**

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Maria Victória E. Grossmann –
UEL/CCA/DCTA
Presidente / Orientador

Profa. Dra. Graciette Matioli – UEM/CCB/DFE
Membro

Prof. Dr. Décio Sabbatini Barbosa –
UEL/CCS/DPACT
Membro

Prof. Dr. Fábio Yamashita – UEL/CCA/DCTA
Membro

Profa. Dra. Sandra Garcia – UEL/CCA/DCTA
Membro

Londrina, 29 de fevereiro de 2008.

Aos meus amados pais, **Irene e César.**

Pela educação proporcionada e oportunidade de realizar mais esta etapa;
pelas esperas das minhas chegadas; fundamental apoio; orações.

Mãe, de presença constante, animadora e otimista.
A primeira a me incentivar ao estudo e crescimento como pessoa.

Pai, que diante de meus objetivos,
confiou em mim.

À vocês,
agradeço e dedico este trabalho

AGRADECIMENTO ESPECIAL

Aos 248 voluntários que se prontificaram a participar através da análise de sangue e, particularmente, aos 76 voluntários que realizaram o estudo clínico.

Agradeço a forma como se dedicaram, respeitaram e acreditaram em meu trabalho, bem como cada comentário, crítica, sugestão e elogio ao mesmo.

Sem a preciosa colaboração de todos, ele não teria sido completo.

Espero também ter contribuído de alguma forma,
com a qualidade de vida de vocês.

AGRADECIMENTOS

À Deus, sem o qual nada seria possível. Por me conceder forças e perseverança frente aos obstáculos; me proteger e ser luz a guiar meus passos.

À minha orientadora Profa. Dra. Maria Victória Eiras Grossmann pelo exemplar profissionalismo e disponibilidade com que conduziu este trabalho e pela honrosa oportunidade a mim concedida de sua realização.

À Profa. Dra. Marta de Toledo Benassi pela atenção dedicada no auxílio das análises sensoriais. Em especial pelo apoio e amizade.

Ao Prof. Dr. Rui Sérgio S. Ferreira da Silva pelo valioso apoio e atenção nas análises estatísticas do estudo clínico e sugestões no exame de qualificação.

Aos Professores da Banca Examinadora que com sugestões e correções colaboraram para o enriquecimento deste trabalho.

À CAPES, pela bolsa de doutorado.

À Indústria Barion, na pessoa do Diretor Industrial Sr. Roberto Barion, que gentilmente cedeu as instalações, para a produção dos biscoitos destinados ao estudo clínico. Agradeço especialmente a Engenheira de Alimentos Lisandra Pellegrinello Camargo pela amizade, grande apoio e valiosos conhecimentos transmitidos e ao Supervisor de Produção Ivan de Sales por dedicada atenção.

Às empresas SL Cereais e Alimentos Ltda. e Caramuru Alimentos por fornecer matérias-primas; a Empresa Duas Rodas pelos aromas e as Empresas Novozymes e ABF Ingredients Company pelas enzimas.

Ao Prof. M.Sc. Jair Aparecido de Oliveira do Dpto. de Bioquímica/UEL, pelo fundamental apoio e colaboração na liberação das coletas e análises de sangue dos voluntários.

À Profa. M.Sc. Vera Lucia Hideko Tatakijara, Chefe do Setor de Coleta de Sangue do HU e HC/UEL, pela amizade animadora, incentivo e disponibilidade em colaborar neste trabalho. Aos funcionários Vera Stolf, José Severino, Cláudia e Ricardo, pela

presteza e eficiência nas coletas de sangue dos voluntários

À Maria Suzete Vieira, Técnica de Segurança do Trabalho do IAPAR, pela exemplar dedicação, presteza e imprescindível colaboração junto aos voluntários do estudo clínico daquela Instituição.

Aos funcionários Nelson Heitor Fuzinato pelo exemplo de profissionalismo e competência com que realiza seu trabalho e à Berenice Figueiredo e Marli Piologo pela colaboração sempre que solicitadas.

Ao Coro do Campus da UEL que carinhosamente me acolheu, proporcionando-me queridas amizades e momentos de descontração.

À Mônica cuja peculiar amizade mineira e o jeito sereno de ver as coisas, foram preciosos em muitos momentos.

À Rafaela de sincera e generosa amizade e valiosas acolhidas; por compartilhar conversas e agradável convivência.

À Michele de amizade verdadeira, alegre e humana. Pelos muitos e bons 'cafés' e conversas.

Aos colegas e amigos de curso: Ana Paula, Carmen, Brígida, Cris Senna, Mery, Aniê, Cláudio, Lyssa, Elvis, Léia, Daniel, Valéria, Norma, Alexandre, Humberto, Lu Hayashi, Luiz, Cristina, Rafael, Fábio, Fernanda, Cassiana, Carol Calliari, Simone Fujii, Carol Bernardi e Suellen pela saudável convivência e troca de idéias.

Às amigas Sascha e Ligia pelas acolhidas em Curitiba/PR e Campinas/SP, desprendimento em colaborar, valorosa amizade e apoio ao longo do tempo.

À minha avó Ju pelas orações; ao meu irmão Mário, minha cunhada Claudete e minha prima Edna, pelo apoio e entusiasmo, cada qual a sua maneira e momento.

Aos queridos amigos que Londrina me trouxe: Naely Pizzi, os irmãos Rafael e Carina Assad, Luciene Matoba, Evandro Poças, Pablo Fonseca, Silvana Saris, Veridiana Borba (Nana) e Cris Borges que pela convivência e carinho se tornaram especiais e inesquecíveis. Valeu a força!!!

*“Só aqueles que têm coragem de caminhar,
podem viver todos os dias, na certeza de chegar”*

MARETTI, Mirian Cristina. **Aspectos tecnológicos e avaliação clínica da ação hipocolesterolêmica de biscoitos formulados com farinha de soja e farelo de aveia.** 2008. 211f. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) –Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2008.

RESUMO

As doenças circulatórias atingem as populações de países desenvolvidos e em desenvolvimento e uma de suas principais causas são os altos níveis de colesterol e triglicerídeos séricos. Este trabalho foi realizado com o objetivo de desenvolver uma formulação de biscoito, com a combinação de farinha desengordurada de soja (FDS) e farelo de aveia (FA) como ingredientes funcionais e testar, através de estudo de intervenção em humanos, a sua possível ação hipocolesterolêmica. Além desses dois ingredientes, também foi estudado o efeito de maltodextrina e de xilanases, como possíveis melhoradores de textura. A dureza e o diâmetro dos biscoitos aumentaram com teores maiores de maltodextrina, assim como maiores teores de FDS e FA proporcionaram aumento da umidade e da luminosidade dos biscoitos. A adição de xilanases ocasionou aumento na dureza dos biscoitos. Na análise descritiva de Perfil Livre, comparando-se três diferentes amostras, verificou-se que aquela com maior teor de FDS diferenciou-se das com maior teor de FA e com teores iguais de FDS e FA, sendo caracterizada como mais dura, de cor mais escura e apresentando sabor mais característico de biscoito integral/cereal. No entanto, não se observou diferença na aceitação. A formulação com maior teor de FA foi selecionada para a avaliação clínica. Esta foi realizada através de ensaio randomizado, duplo cego, com a participação de 82 voluntários hipercolesterolêmicos, divididos em dois grupos (Teste - GT e Controle - GC). Os voluntários consumiram biscoitos com FDS e FA (GT) e biscoitos sem estes ingredientes (GC), durante 28 dias (90g \pm 1g de biscoito/dia, correspondentes a 3,1g de β -glucana e 14,86g de proteína de soja no GT). Foram realizadas análises do perfil lipídico (Colesterol Total - CT, LDL-colesterol, HDL-colesterol e Triglicérides) dos voluntários, nos tempos 0 e 28 dias, para comparação, dentro de cada grupo e entre os grupos. Quando comparados no início e final do estudo, o GT apresentou reduções significativas de 11,24% nos valores de CT e 17,75% para LDL-c, enquanto que as variações de TG e HDL-c não foram significativas. No GC, as análises mostraram reduções significativas de 5,9% nos valores de CT e 11,01% em LDL-c e acréscimo de 8,72% nos valores de HDL-c. Para Triglicérides não ocorreu variação significativa. Constatou-se que antes do início do estudo os voluntários apresentavam hipercolesterolemia limítrofe (segundo os valores de referência da Sociedade Brasileira de Cardiologia) e que os valores finais de CT e de LDL-c, nos dois grupos, se enquadraram dentro da faixa ótima para CT e desejável para LDL-c. Concluiu-se que o produto testado apresentou ação hipocolesterolêmica e que, embora não tenha havido diferença significativa ao final da intervenção, entre o GC e GT, foi caracterizada uma tendência à ocorrência de maiores índices de redução do CT e LDL-c no GT.

Palavras-chave: Alimentos funcionais. Panificação. Colesterol. Intervenção em humanos.

MARETTI, Mirian Cristina. **Technological aspects and clinical evaluation of hypocholesterolemic action of biscuit formulated with soy flour and oat bran.** 2008. 211f. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2008.

ABSTRACT

The circulatory diseases reach the populations of developed and developing countries and one of their main causes are the high levels of cholesterol and serum triglycerides. This work was carried out with the objective of developing a biscuit formulation, combining defatted soy flour (DSF) and oat bran (OB) as functional ingredients and to test, through human intervention study, its possible hypocholesterolemic action. Beyond these two ingredients, also the effect of maltodextrin and xylanases were studied, as possible texture improvers. The hardness and the diameter of biscuits increased with increase of maltodextrin content and higher levels of DSF and OB provided increase in moisture and luminosity of biscuits. The addition of xylanases caused increase in the hardness of biscuits. In the descriptive analysis of Free Choice Profile, comparing three different samples, it was verified that the one with the bigger level of DSF was differentiated of the ones with bigger level of OB and same levels of DSF and FA, being characterized as harder, darker and presenting more characteristic flavor of integral/cereal biscuit. However, difference in the acceptance was not observed. The formulation containing higher level of OB was selected for clinical trial. This was carried out by a randomized double blind assay, with the participation of 82 hypercholesterolemic volunteers, divided in two groups (Test - TG and Control CG). The subjects consumed biscuits with DSF and OA (TG) and biscuits without these ingredients (CG), during 28 days (90g \pm 1g of biscuits/day corresponding the 3,1g of β -glucana and 14,86g of soy protein in TG). Analyses of the lipid profile (Total Cholesterol - TC, LDL-cholesterol, HDL-cholesterol and Triglyceride) of the volunteers had been carried out, in the times 0 and 28 days, for comparison, inside of each group and between the groups. When comparing the beginning and end of the study, the TG presented significant reductions of 11,24% for TC and 17,75% for LDL-c, while the variations for TG and HDL-c had not been significant. In the CG, the analyses showed significant reductions of 5,9% for TC and 11,01% for LDL-c and increase of 8,72% in the values of HDL-c. For Triglyceride significant variation did not occur. It was verified that while at the beginning of the study, the volunteers presented bordering hypercholesterolemia (according to values of reference of the Brazilian Society of Cardiology), the final values of TC and LDL-c, in the two groups, were inside the excellent range for TC, and desirable, for LDL-c. It was concluded that the tested product presented hypocholesterolemic action and although it was verified that at the end of the intervention did not have significant difference between the TG and CG it was characterized a trend to the occurrence of bigger indices of reduction of the TC and LDL-c in the TG.

Keywords: Functional foods. Breadmaking. Cholesterol. Human intervention.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Formulação inicial dos biscoitos (estudo exploratório).....	74
Tabela 2 – Formulação dos biscoitos (estudo de otimização)	75
Tabela 3 – Formulação dos biscoitos teste para ensaio clínico	81
Tabela 4 – Formulação dos biscoitos placebo para ensaio clínico	82
Tabela 5 – Faixas de concentração estabelecidas para FDS, FA, maltodextrina, lecitina de soja e água, para o planejamento de misturas usado no ensaio exploratório	85
Tabela 6 – Planejamento experimental para o estudo exploratório do efeito de cinco variáveis nas propriedades dos biscoitos, em proporções reais dos ingredientes na mistura e em pseudocomponentes	87
Tabela 7 – Faixas de concentração estabelecidas para FDS, FA e maltodextrina para o planejamento de misturas usado na otimização da formulação	88
Tabela 8 – Planejamento experimental para estudo das propriedades dos biscoitos, em proporções reais dos ingredientes na mistura e em pseudocomponentes	89
Tabela 9 – Composição centesimal aproximada (base seca) da farinha desengordurada de soja (FDS), farelo de aveia (FA) e farinha de trigo (FT).....	92
Tabela 10 – Teor de isoflavonas na farinha desengordurada de soja (FDS).....	93
Tabela 11 – Análise de alveografia na farinha de trigo especial.....	94
Tabela 12 – Proporção dos ingredientes na mistura ternária (em pseudocomponentes) e variáveis resposta do estudo exploratório	95
Tabela 13 – Coeficientes de regressão e análise de variância dos modelos matemáticos ajustados às variáveis resposta do estudo de exploratório	97
Tabela 14 – Coeficientes de regressão e análise de variância dos modelos matemáticos ajustados às variáveis resposta do estudo de otimização	98

Tabela 15 – Dureza dos biscoitos com diferentes doses da enzima Pentopan® Mono BG ¹	104
Tabela 16 – Dureza dos biscoitos com diferentes doses da enzima Veron Rye® ¹	105
Tabela 17 – Atributos de maior correlação ($r < -0,45$ ou $r > 0,45$) para cada provador na avaliação das amostras	110
Tabela 18 – Notas médias de aceitação das formulações testadas	111
Tabela 19 – Teores de β -glucana nas formulações F3, F6 e F9	112
Tabela 20 – Composição centesimal dos biscoitos teste e placebo	113
Tabela 21 – Características gerais dos voluntários distribuídos nos Grupos Teste ou Placebo, no início do estudo clínico	124
Tabela 22 – Distribuição dos voluntários (%) segundo o nível de escolaridade	126
Tabela 23 – Avaliação do peso corpóreo e do IMC dos voluntários do Grupo Teste e Grupo Placebo no início e final do estudo clínico	146
Tabela 24 – Perfil lipídico dos voluntários do Grupo Teste e Grupo Placebo no início e final do estudo clínico	147
Tabela 25 – Perfil lipídico inicial e final dos voluntários do Grupo Teste e Grupo Placebo	149
Tabela 26 – Características favoráveis e desfavoráveis de compra dos biscoitos (Grupo Teste e Grupo Placebo)	160
Tabela 27 – Sugestões, comentários e/ou críticas dos voluntários ao produto Estudado	161

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Mecanismo de ação da proteína de soja.....	61
Figura 2 – Possível influência da soja na concentração do colesterol.....	63
Figura 3 – Processamento industrial dos biscoitos.....	84
Figura 4 – Representação dos pontos experimentais do planejamento, em termos de valores reais	90
Figura 5 – Umidade dos biscoitos em função da FDS, FA e maltodextrina (em pseudocomponentes)	99
Figura 6 – Dureza dos biscoitos em função dos teores de FDS, FA e Maltodextrina (em pseudocomponentes).....	100
Figura 7 – Diâmetro dos biscoitos em função dos teores de FDS, FA e Maltodextrina (em pseudocomponentes)	102
Figura 8 – Luminosidade (L*) dos biscoitos em função dos teores de FDS, FA e Maltodextrina (em pseudocomponentes).....	103
Figura 9 – Configuração consenso das amostras para a equipe de Perfil Livre.....	107
Figura 10 – Configuração dos provadores	108
Figura 11 – Variância residual dos provadores	108
Figura 12 – Seleção dos voluntários para estudo clínico	120
Figura 13 – Distribuição dos voluntários segundo a faixa etária (anos), gênero e localidade de residência	125
Figura 14 – Consumo pelos voluntários quanto a alimentos fritos	127
Figura 15 – Tipos de óleo, azeite e/ou gordura consumidos diariamente pelos voluntários.....	127
Figura 16 – Consumo de alimentos ‘light’ pelos voluntários.....	128
Figura 17 – Consumo e tipos de leite consumidos pelos voluntários	129
Figura 18 – Consumo de biscoitos/bolachas pelos voluntários	130
Figura 19 – Tipos de biscoitos/bolachas consumidos pelos voluntários.....	130
Figura 20 – Consumo de frutas pelos voluntários	131
Figura 21 – Consumo de verduras/legumes pelos voluntários.....	131

Figura 22 – Consumo e formas de consumo de alimentos com soja pelos voluntários	132
Figura 23 – Consumo e formas de consumo de alimentos com aveia pelos voluntários	133
Figura 24 – Conhecimento dos voluntários a respeito de alimentos funcionais.....	133
Figura 25 – Ocorrência de hipertensão entre os voluntários	135
Figura 26 – Aferição e freqüência de aferição da Pressão Arterial pelos voluntários	136
Figura 27 – Prática de atividade física dos voluntários.....	137
Figura 28 – Ocorrência de tabagismo entre os voluntários	138
Figura 29 – Consumo de bebida alcoólica pelos voluntários.....	139
Figura 30 – Função Gástrica dos voluntários do Grupo Teste (A) e Grupo Placebo (B).....	141
Figura 31 – Função Intestinal dos voluntários do Grupo Teste (A) e Grupo Placebo (B).....	141
Figura 32 – Consistência das fezes dos voluntários do Grupo Teste (A) e Grupo Placebo (B)	141
Figura 33 – Realização e periodicidade de realização de exames laboratoriais pelos voluntários	142
Figura 34 – Ocorrência de doença cardiovascular familiar entre os voluntários	143
Figura 35 – Classificação do IMC dos voluntários.....	145
Figura 36 – Ocorrência de mudanças na dieta dos voluntários do Grupo Teste (A) e Grupo Placebo (B)	153
Figura 37 – Tipos de mudanças na dieta dos voluntários do grupo Teste (A) e grupo Placebo (B).....	153
Figura 38 – Ocorrência de mudanças no consumo de água e/ou outros líquidos pelos voluntários do Grupo Teste (A) e Grupo Placebo (B).....	154
Figura 39 – Tipos de mudanças no consumo de água e/ou outros líquidos pelos voluntários do Grupo Teste (A) e Grupo Placebo (B)	155
Figura 40 – Ocorrência de mudanças na prática de exercícios físicos pelos voluntários do Grupo Teste (A) e Grupo Placebo (B)	156

Figura 41 – Função Gástrica dos voluntários do Grupo Teste (A) e Grupo Placebo (B).....	156
Figura 42 – Função intestinal e alterações da função intestinal dos voluntários do Grupo Teste.....	157
Figura 43 – Função intestinal e alterações da função intestinal dos voluntários do Grupo Placebo.....	157
Figura 44 – Consistência das fezes dos voluntários do Grupo Teste e Grupo Placebo.....	159
Figura 45 – Perspectiva de compra dos biscoitos Teste e Placebo entre os voluntários	160

LISTA DE ABREVIATURAS

ADA: Associação Dietética Americana

ANVISA: Agência Nacional de Vigilância Sanitária

ANVS/MS: Agência Nacional de Vigilância Sanitária / Ministério da Saúde

CNS: Conselho Nacional de Saúde

CT: Colesterol Total

DCV: Doenças Cardiovasculares

EMBRAPA: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

FA: Farelo de aveia

FT: Farinha de trigo

FDA: Food and Drug Administration

FDS: Farinha Desengordurada de Soja FOSHU:

Foods for Specified Health Use HC: Hospital das
Clínicas

HDL: Lipoproteína de densidade alta

HDL-c: HDL-colesterol

HU: Hospital Universitário

IAPAR: Instituto Agrônomo do Paraná

IDL: Lipoproteína de densidade intermediária

IMC: Índice de Massa Corpórea

LDL: Lipoproteína de Baixa Densidade

LDL-c: LDL-colesterol

Lp(a): Lipoproteína A

OMS: Organização Mundial de Saúde

PA: Pressão Arterial

PAD: Pressão Arterial Diastólica

PAS: Pressão Arterial Sistólica

PTI: Protein Technologies International

PTS: Proteína Texturizada de Soja

QM: Quilomicron

SIM: Sistema de Informações de Mortalidade

SUS: Sistema Único de Saúde

TG: Triglicerídeos

VLDL: Lipoproteína de densidade muito baixa

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 – INTRODUÇÃO	22
CAPÍTULO 2 – OBJETIVOS	25
2.1 OBJETIVO GERAL.....	25
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	25
CAPÍTULO 3 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	26
3.1 ALIMENTOS FUNCIONAIS.....	26
3.2 SOJA	28
3.2.1 Soja como Alimento Funcional	30
3.2.1.1 Proteína de Soja.....	31
3.2.1.2 Isoflavonas	33
3.3 AVEIA	35
3.3.1 Aveia como Alimento Funcional	37
3.3.1.1 Fibras	38
3.4 PANIFICAÇÃO.....	39
3.4.1 Uso de farinhas mistas	39
3.4.2 Farinha de soja e farelo de aveia em produtos de panificação	41
3.4.3 Biscoitos	44
3.4.3.1 Processamento de Biscoitos	45
3.5 ENZIMAS	46
3.5.1 Hemicelulases	47
3.5.1.1 Xilanase (1,4-β-D-xylan xylanhydrolase, EC 3.2.1.8.)	47
3.5.2 Uso de enzimas em Panificação	48
3.6 COLESTEROL.....	50
3.6.1 Metabolismo do Colesterol	52
3.6.2 Hipercolesterolemia e Dieta	54
3.7 ESTUDOS DE INTERVENÇÃO EM HUMANOS	57
3.7.1 Utilização de proteína de soja	57

3.7.1.1 Mecanismos hipocolesterolêmicos atribuídos à soja.....	60
3.7.2 Utilização de β -glucana	65
3.7.2.1 Mecanismos hipocolesterolêmicos atribuídos à aveia.....	68
3.8 PLANEJAMENTO PARA MISTURAS.....	70
CAPÍTULO 4 – ESTUDO TECNOLÓGICO.....	73
4.1 MATERIAL E MÉTODOS	73
4.1.1 Material.....	73
4.1.2 Métodos.....	73
4.1.2.1 Formulação e Produção dos biscoitos.....	73
4.1.2.2 Produção de biscoitos com adição de enzimas.....	75
4.1.2.2 Análises.....	76
4.1.2.2.1 Umidade	76
4.1.2.2.2 Proteína.....	76
4.1.2.2.3 Lipídios	77
4.1.2.2.4 Cinzas	77
4.1.2.2.5 Fibra Alimentar	77
4.1.2.2.6 Carboidratos Metabolizáveis	77
4.1.2.2.7 Atividade de água.....	77
4.1.2.2.8 β -glucanas no farelo de aveia	78
4.1.2.2.9 Isoflavonas na farinha desengordurada de soja.....	78
4.1.2.2.10 Valor Calórico	78
4.1.2.2.11 Características dos biscoitos.....	78
4.1.2.2.12 Características da farinha de trigo.....	79
4.1.2.3 Análise Sensorial.....	79
4.1.2.3.1 Análise Descritiva de Perfil Livre	80
4.1.2.3.2 Análise de Aceitação	80
4.1.2.4 Produção dos biscoitos em escala industrial.....	81
4.1.2.5 Planejamento Experimental e Análise Estatística	85
4.1.2.5.1 Estudo das Características Físicas dos Biscoitos	85
4.1.2.5.2 Ensaios de otimização.....	87

4.1.2.5.3 Produção de biscoitos com adição de enzimas.....	91
4.1.2.5.4 Análise Sensorial.....	91
4.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO	92
4.2.1 Caracterização das matérias-primas	92
4.2.1.1 Composição química da FDS, FA e FT	92
4.2.1.2 Análise de Alveografia.....	94
4.2.2 Estudo exploratório das variáveis nas características dos biscoitos	94
4.2.3 Estudo de otimização das variáveis nas características dos biscoitos.....	98
4.2.4 Atividade de água.....	103
4.2.5 Análise da adição de enzimas.....	104
4.2.6 Análise Sensorial.....	106
4.2.6.1 Análise Descritiva de Perfil Livre	106
4.2.6.2 Análise de aceitação	111
4.2.7 Análise do teor de β -glucana nos biscoitos	111
4.2.8 Escolha do biscoito Teste.....	112
4.2.9 Composição Química e Valor Calórico.....	112
4.2.10 Porção de produto fornecida aos voluntários	114
CAPÍTULO 5 – ESTUDO CLÍNICO	115
5.1 CASUÍSTICA E MÉTODOS	115
5.1.1 Tipo de Estudo	115
5.1.2 Fonte de Dados.....	116
5.1.3 Local do Estudo.....	117
5.1.4 População de Estudo	118
5.1.4.1 Seleção dos Voluntários.....	118
5.1.5 Exames Clínicos.....	120
5.1.5.1 Dosagens Laboratoriais.....	121
5.1.5.1.1 Determinação do Perfil Lipídico.....	122
5.1.6 Análise Estatística	123
5.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO	124
5.2.1 Características dos voluntários	124

5.2.2 Perfil dos Voluntários Seleccionados – Questionário Inicial.	125
5.2.3 Hábitos Alimentares	127
5.2.3.1 Consumo de Alimentos Específicos	127
5.2.3.2 Hábitos Pessoais	134
5.2.4 Adesão ao Estudo	144
5.2.5 Avaliação do Peso Corpóreo e Índice de Massa Corpórea	145
5.2.6 Avaliação do Perfil Lipídico	146
5.2.7 Efeitos Complementares da Intervenção – Questionário Final	152
5.2.8 Perspectiva de compra dos biscoitos	159
CAPÍTULO 6 – CONCLUSÕES	162
CAPÍTULO 7 – CONSIDERAÇÕES FINAIS	164
CAPÍTULO 8 – REFERÊNCIAS	165
ANEXOS	192
Anexo A – Aprovação do Comitê de Ética	192
Anexo B – Valores de referência (mg/dL) para o diagnóstico de dislipidemia em adultos (>20 anos)	193
Anexo C – Classificação do Índice de Massa Corporal (IMC) segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS, 1997)	194
APÊNDICES	196
Apêndice A – Questionário para Provedores	196
Apêndice B – Carta de Consentimento	197
Apêndice C – Ficha de atributos	198
Apêndice D – Ficha de aceitação	199
Apêndice E – Gráficos Preditos	200
Apêndice F – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	202
Apêndice G – Questionário Inicial	203

Apêndice H – Questionário Final.....	207
Apêndice I – Informações sobre a 1º etapa de entrega de biscoitos aos voluntários.....	208
Apêndice J – Informações sobre a 2º etapa de entrega de biscoitos aos voluntários	209
Apêndice K – Informações sobre a 3º etapa de entrega de biscoitos aos voluntários.....	210

CAPÍTULO 1 INTRODUÇÃO

A crescente demanda por alimentos ricos em fibras está associada com diversos resultados benéficos para o organismo humano. Alterações nas funções gastrointestinais, na sensação de saciedade, aumento da massa fecal - diminuindo assim o desconforto causado pelo sintoma de constipação intestinal, prevenção de algumas doenças crônicas, redução dos níveis de colesterol e o fato comprovado de que dietas ricas em fibras, reduzem o risco de doenças cardiovasculares, são alguns desses benefícios (KRAUSE; MAHAN, 2002; LÓPEZ *et al.*, 1997; MILLER *et al.*, 1994).

As doenças circulatórias, dentre elas as cardiovasculares, matam anualmente, mais pessoas do que várias causas conjuntas de morte (KRUMMEL, 2002). No Brasil, são as responsáveis pelo maior número de óbitos sendo que em 2000, segundo dados do Sistema de Informações de Mortalidade (SIM) do Ministério da Saúde, corresponderam a mais de 27% desse total, representando 65% do total de mortes na faixa etária de 30 a 69 anos de idade, atingindo a população adulta em plena fase produtiva (Ministério da Saúde, 2008; 2004) No Sistema Único de Saúde (SUS), essas doenças foram responsáveis, em 2002, por mais de 1,2 milhão de internações, representaram 10,3% do total de internações e 17% dos gastos financeiros (ARAÚJO; FERRAZ, 2005).

Doenças cardiovasculares atingem não só países desenvolvidos, onde há maior incidência, mas também a população de países em desenvolvimento e uma de suas principais causas são os altos níveis de colesterol e triglicerídeos séricos, ou seja, hipercolesterolemia e hipertrigliceremia, respectivamente (STEBENS, 1989). Embora a maioria das mortes ocorra em pessoas com mais de 65 anos de idade, o grande número de mortes prematuras tem levado a extensas pesquisas para a sua prevenção (KRUMMEL, 2002).

A ingestão de fibras alimentares, encontradas principalmente em cereais integrais, leguminosas e frutas, permitiu que estes alimentos pudessem ser incluídos na categoria dos alimentos funcionais, pois a sua utilização dentro de uma dieta equilibrada pode prevenir e reduzir o risco de algumas doenças, como as coronarianas (GIUNTINI; LAJOLO; MENEZES, 2003). As fibras alimentares são

consideradas um complexo de fibras solúveis, celulose, hemiceluloses e polissacarídeos solúveis em água (TURLEY; DAGGY; DIETSCHY, 1991) e produtos formulados com soja e aveia destacam-se como ricos em proteínas e fibras alimentares.

Diversos estudos têm mostrado que o consumo de fibras solúveis, como as β -glucanas em produtos de aveia, reduz o colesterol total sangüíneo e as concentrações de LDL-colesterol (KARMALLY *et al.*, 2005; BROWN *et al.*, 1999; ROMERO *et al.*, 1998; ANDERSON; BRIDGES, 1993; RIPSIN *et al.*, 1992). Acredita-se, portanto, na propriedade destas fibras influenciarem na redução dos riscos de doenças cardiovasculares, alterando os níveis de lipídios sangüíneos, o colesterol sérico e a razão de lipoproteínas de alta e de baixa densidade (HDL/LDL) em indivíduos com hipercolesterolemia, principalmente devido à sua ação no aumento da viscosidade do conteúdo do intestino delgado (DUSS; NYBERG, 2004; DAVY *et al.*, 2002).

Da mesma forma, com a realização de estudos, o potencial da proteína de soja foi analisado na diminuição dos níveis de colesterol, quanto à redução do conteúdo de lipídios séricos e metabolismo de lipoproteínas, como consequência do consumo de produtos a base de soja (JENKINS *et al.*, 2000; WONG *et al.*, 1998; NAGATA *et al.*, 1998; PAZZUCCONI, DELLA MURA; SIRTORI, 1997; ANDERSON; JOHNSTONE; COOK-NEWELL., 1995).

Mudanças de hábitos alimentares com o intuito de incluir mais fibra dietética na alimentação diária, através do consumo de cereais integrais, frutas e vegetais, torna-se às vezes difícil por requerer uma mudança no estilo de vida e, uma alternativa para melhorar a ingestão de fibras, seria enriquecer alimentos que já fazem parte da alimentação diária das pessoas.

Assim, podemos destacar atualmente os produtos formulados com farinhas e farelos, cuja mistura resulta em um alimento nutritivo, rico em fibras, proteínas, carboidratos e lipídios, apresentando-se como produto energético e de sabor agradável.

Neste contexto, muitos dos produtos de confeitaria são usados como fonte de incorporação de nutrientes para sua maior diversificação. Embora não constitua um alimento básico como o pão, biscoitos são produtos populares de

confeitaria, aceitos e consumidos por pessoas de qualquer idade e de todos os níveis sociais, e sua longa vida-de-prateleira permite que sejam produzidos em grande quantidade e largamente distribuídos (BRUNO; CAMARGO, 1995; CHEVALLIER *et al.*, 2000). Isto se deve principalmente à forma pronta para serem consumidos, bom valor nutricional, além de possuírem grande variedade e custo acessível (SHUDA; VETRIMANI; LEELAVATHI, 2007). Assim, o produto torna-se um bom veículo para o enriquecimento com ingredientes ativos (fibras, proteínas de soja, outros), por já fazer parte da alimentação da população.

Porém, na substituição parcial da farinha de trigo por fontes protéicas e fibras é possível que ocorram problemas tecnológicos na produção de biscoitos. Fontes protéicas, de soja por exemplo, ao serem adicionadas tornam a massa mais forte, aumentando seu tempo de desenvolvimento. Ocorre ainda a queda na estabilidade e um grande aumento na absorção de água, provocado pela grande quantidade de grupos hidrofílicos nas proteínas de soja, que necessitam de muita água para se hidratar. Assim, é necessário aumentar a quantidade de água na formulação, para que a massa não fique seca e quebradiça (EMBRAPA, 1994a). A adição de fibra alimentar modifica a absorção de água e as propriedades de mistura da farinha de trigo, interferindo no tempo de mistura rápida do processo e nas características tecnológicas como volume, cor, umidade e dureza.

De acordo com Hosney (1990), a percentagem de farinha de trigo necessária para garantir bons resultados em farinhas mistas, depende da qualidade e da quantidade da proteína do trigo, bem como da natureza do produto envolvido. Para Silva (1997) é necessário, portanto, que as fontes escolhidas para integrar farinhas mistas, sejam pesquisadas quanto à composição química e características físicas e nutricionais, para desenvolvimento de tecnologia que permita seu uso em produtos de panificação de forma eficiente.

CAPÍTULO 2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver um biscoito com potenciais propriedades hipocolesterolêmicas, pela combinação de farinha desengordurada de soja e farelo de aveia, em substituição parcial à farinha de trigo, buscando comprovar sua ação através de estudo de intervenção em humanos.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Otimizar uma formulação de biscoito contendo farinha desengordurada de soja e farelo de aveia.
- Avaliar as características químicas, físicas, físico-químicas e sensoriais do biscoito desenvolvido.
- Testar as características tecnológicas do biscoito em escala industrial.

CAPÍTULO 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 ALIMENTOS FUNCIONAIS

Os alimentos funcionais ou nutracêuticos fazem parte de uma nova concepção de alimentos, diante do aumento da expectativa de vida da população e a preocupação com doenças crônicas. Segundo Boatright e Lei (1999), o alimento funcional refere-se a alimentos processados que, além de nutrir, contêm ingredientes que atuam em funções específicas do organismo.

Particularmente tem havido uma explosão do interesse dos consumidores por alimentos específicos ou componentes alimentares ativos fisiologicamente, afim de melhorar a saúde. Obviamente, todos os alimentos são funcionais, por proporcionarem sabor, aroma ou valor nutritivo, entretanto, durante a última década, o termo funcional como aplicado aos alimentos, tem adotado uma conotação diferente, que é a de proporcionar um benefício fisiológico adicional, além daquele de satisfazer as necessidades nutricionais básicas (HASLER, 1998).

Um alimento pode ser chamado funcional quando apresentar um componente alimentar (sendo um nutriente ou não) que afeta uma ou um número limitado de funções no organismo de forma específica bem como ter efeitos positivos (BELLISLE *et al.*, 1998) ou apresentar efeito fisiológico ou psicológico além do efeito nutricional tradicional (CLYDESDALE, 1997).

O termo alimentos funcionais foi primeiramente introduzido no Japão em meados de 1980 e se refere aos alimentos processados contendo ingredientes que auxiliam funções específicas do organismo, além de serem nutritivos. Até esta data, o Japão era o único país a formular um processo de regulação específico para os alimentos funcionais. Conhecidos também como “FOSHU” - Alimentos para Uso Específico de Saúde (“Foods for Specified Health Use”), estes alimentos são qualificados e trazem um selo de aprovação do Ministério de Saúde e Previdência Social Japonês (ARAI, 1996).

Nos Estados Unidos existe uma extensa terminologia para denominar os alimentos funcionais, sendo os mais utilizados (em %): Medical Food (61%), Nutraceuticals (59%), Functional Food (55%), Nutritional Food (52%), Pharmafood (41%), Designer Food (39%), Fitness Food (39%), Therapeutic Food (34%), entre outros (CHILDS, 1994).

O papel terapêutico e profilático destes alimentos, tem gerado discussões mundiais no esforço de regulamentação e incentivo a maior número de pesquisas na área, que se voltam para fontes de fibras alimentares, alimentos de baixa caloria e sódio, alimentos antioxidantes, minerais, alguns oligossacarídeos e vitaminas (DUXBURY; SWIENTEK, 1992; BROCK, 1993).

No contexto atual da Ciência de Alimentos e do consenso da relação alimentação-saúde-doença, existe grande solicitação por alimentos que além de fornecer os nutrientes indispensáveis ao organismo, proporcionem benefícios adicionais à saúde. A denominação nutracêuticos, comum na literatura, poderia induzir confusão nos consumidores, e por isso, no Brasil, a utilização do termo “alimento” ou “ingrediente funcional” é recomendada pela Vigilância Sanitária (CÂNDIDO; CAMPOS, 1995; COLLI, 1998).

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), vinculada ao Ministério da Saúde, regulamentou através da Resolução ANVS/MS nº 19/99 as Propriedades Funcionais de um alimento como *“aquela relativa ao papel metabólico ou fisiológico que o nutriente ou não nutriente tem no crescimento, desenvolvimento, manutenção e outras funções normais do organismo humano”* (ANVISA, 1999).

Uma definição bastante abrangente é a proposta por Sgarbieri e Pacheco (1999): *“qualquer alimento, natural ou preparado, que contenha uma ou mais substâncias, classificadas como nutrientes ou não nutrientes, capazes de atuar no metabolismo e na fisiologia humana, promovendo efeitos benéficos para a saúde, podendo retardar o estabelecimento de doenças crônico-degenerativas e melhorar a qualidade e a expectativa de vida das pessoas”*.

As novas gerações mais preocupadas com a saúde têm feito dos alimentos funcionais o carro chefe da indústria alimentícia dos Estados Unidos. Porém, como não há consenso no que constitui um alimento funcional, as

estimativas da magnitude deste mercado variam significativamente (MEYER, 1998). Entretanto, mais significativo é o potencial destes alimentos de promover a saúde e reduzir os custos de sua assistência.

3.2 SOJA

Há muitos séculos a soja é um importante constituinte da dieta dos povos orientais e desde a década de 1970, tem sido utilizada em todo o mundo como suplemento protéico de alta qualidade e baixo custo (SASSON, 1993). É uma alternativa alimentar viável por ser classificada como um dos principais alimentos fornecedores de proteína, possuindo boas propriedades funcionais, o que a torna um bom ingrediente para ser incorporado em muitos alimentos, aumentando seu valor nutritivo e contribuindo diretamente para a alimentação da população de países industrializados (BONATO; BONATO, 1987; SASSON, 1993). Entretanto, considerando o alto valor protéico da soja e a carência nutricional de grande parcela da população brasileira, torna-se evidente o paradoxo existente entre a grande produção de soja e seu baixo consumo (BONATO; BONATO, 1987).

No Brasil, segundo produtor mundial de soja, cerca de 70% do farelo de soja é destinado à exportação e os 30% restantes utilizados em ração animal e uma proporção reduzida como matéria-prima industrial na forma de isolados e concentrados protéicos (GENOVESE; LAJOLO, 2002). Devido ao alto consumo de óleo de soja, torna-se necessária à exportação dos excedentes da indústria de esmagamento de grãos (ROESSING, 1995). Isto significa que o país exporta um percentual considerável de proteína de boa qualidade.

A soja participa da dieta humana através do consumo do próprio grão e de alimentos elaborados a partir destes. Segundo Sgarbieri (1996), os grãos de soja de elevado valor nutritivo, se caracterizam por conter pouco ou nenhum amido, cerca de 20% de óleo e 40% de proteína.

O consumo de pratos à base de soja pela população brasileira não é significativo se comparado ao do feijão. Por outro lado, Liener (1994) afirma que

indivíduos com dietas diferenciadas, como os vegetarianos e indivíduos intolerantes à lactose e/ou alérgicos às proteínas do leite, consomem quantidades significativas de derivados de soja.

A presença de compostos orgânicos da soja que originam sabores e odores indesejáveis, aliados à problemas de flatulência e fatores antinutricionais, ainda é uma grande barreira na aceitação destes produtos pelos consumidores (JIMENEZ; ELIAS; BRESSANI, 1985). Carrão-Panizzi (2001) afirma que a falta de produtos com qualidade à base de soja no mercado e o sabor característico que apresentam, têm limitado a sua aceitabilidade. Porém essa situação está mudando face à disponibilidade de tecnologias que favorecem a melhora do sabor, as quais incluem tratamento térmico dos grãos no processamento, ou o melhoramento genético para eliminação da enzima lipoxigenase, responsável pelo desenvolvimento do sabor característico.

A funcionalidade de suas proteínas faz com que seus derivados sejam utilizados como ingredientes em diversos produtos, tais como molhos, sopas, tofu, miso, tempeh e produtos cárneos industrializados. Os derivados protéicos de soja, como farinhas desengorduradas, texturizados, concentrados e isolados protéicos, são utilizados também na produção de diversos alimentos industrializados, como os produtos de panificação (GENOVESE; LAJOLO, 2001) e em razão da alta qualidade da sua proteína, a farinha de soja é largamente empregada na produção de alimentos infantis e para diabéticos (GONÇALVES, 1992).

O uso na alimentação humana da proteína de soja, na forma de farinha desengordurada, começou há muitos anos e seu uso atual é, principalmente, como complemento ou aditivo para fornecer propriedades funcionais desejáveis em produtos alimentares (VISSER; THOMAS, 1987; SIPOS, 1990).

Devido à proteína ser uma rica fonte de lisina, a farinha oferece especial valor, como complemento a todas as fontes protéicas deficientes nesse aminoácido essencial (SGARBIERI, 1996; VISSER; THOMAS, 1987).

A farinha desengordurada de soja é produzida a partir do resíduo da extração do óleo dos grãos de soja e pode ser considerada como um dos mais importantes produtos industrializados da soja, devido ao fato de ser largamente

utilizada no enriquecimento protéico de diversos alimentos, bem como empregada na obtenção de produtos como isolado protéico, concentrado protéico e proteína texturizada de soja (PTS). A porcentagem de proteína da farinha desengordurada é maior que da farinha integral, devido a retirada do óleo. A diferença do teor protéico entre a farinha desengordurada, o isolado e o concentrado protéico, depende do grau de extração dos outros componentes não protéicos existentes na soja (EMBRAPA, 1994b). Portanto, quanto menor o grau de extração dos demais componentes, menor o conteúdo protéico. Desta forma, a farinha desengordurada tem menor conteúdo protéico quando comparada ao concentrado e isolado protéico de soja, como comprovado no estudo de Lui *et al.*, 2003, que obtiveram valores de proteína de 56, 72,7 e 95,2% na farinha desengordurada, concentrado e isolado protéico, respectivamente.

3.2.1 Soja como Alimento Funcional

A partir dos anos 90, após a constatação científica de que a soja possui compostos biologicamente ativos, que atuam na prevenção de doenças mantendo a saúde, tem-se verificado um crescente e significativo interesse pela soja como fonte alimentar (CARRÃO-PANIZZI, 2001).

A soja e seus derivados apresentam grande potencial no mercado de alimentos funcionais devido à presença de compostos bioativos, como as isoflavonas, as quais têm sido largamente estudadas quanto aos seus efeitos biológicos benéficos à saúde humana, tais como: atividade estrogênica, anti-estrogênica (especialmente sobre os sintomas da síndrome de climatério e da osteoporose), hipocolesterêmica e anticarcinogênica (LUI *et al.*, 2003).

Por conter substâncias fisiologicamente ativas essenciais à saúde (proteínas, vitaminas, ácidos graxos polinsaturados e minerais), a soja pode ser considerada um dos alimentos que oferece as maiores possibilidades para o desenvolvimento de produtos funcionais (CHILDS, 1995). Os ácidos graxos de soja podem minimizar a incidência de doenças cardiovasculares (DCV), por reduzirem a

agregação das plaquetas e a quantidade de triglicérides no organismo. Além disso, apresentariam outros possíveis benefícios, como melhoria das atividades visual e cerebral (INGREDIENTS, 1999; ROE, 1992). Por sua vez, as proteínas de grãos de soja são tidas como funcionais, principalmente por apresentarem efeito hipocolesterolêmico, ou seja, reduzem os níveis de colesterol em indivíduos com hipercolesterolemia (CERUTTI, 1991; ANDERSON, 1996; MESSINA; BARNES; SETCHELL, 1997).

O fato de alimentos à base de soja poderem ajudar na diminuição dos riscos ou no tratamento de várias enfermidades crônico-degenerativas, indica maior facilidade em sua incorporação à dieta dos consumidores (CERUTTI, 1991).

No Brasil, a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) vem desenvolvendo variedades de soja próprias para o consumo humano com melhor sabor, alto teor de proteína, redução de fatores antinutricionais e melhoria dos aspectos físicos dos grãos, tais como tamanho e hilo claro, o que evita o escurecimento do produto quando processado. Da mesma forma, os Institutos de Pesquisas e Universidades, com o objetivo de obter produtos mais saudáveis, sem toxinas, colesterol e com menos gordura, têm procurado desenvolver produtos à base de proteína de soja, que possam suceder com vantagens, os convencionais à base de proteína animal (SOUZA; VALLE; MORENO, 2000).

3.2.1.1 Proteína de Soja

Existem muitas razões para se adicionar derivados protéicos de soja em formulações alimentares, entre elas, as características funcionais tecnológicas, que aperfeiçoam a aparência e a qualidade comestível dos produtos formulados (ANDRES, 1981). Em termos nutricionais constata-se sua quantidade e qualidade protéicas, com um alto conteúdo de aminoácidos essenciais, particularmente lisina, leucina e isoleucina, possuindo apenas deficiência em dois aminoácidos, cistina e metionina (EMBRAPA, 1994c).

Em 4 de maio de 1998, a *Protein Technologies International* (PTI, de St. Louis, Missouri) solicitou ao FDA um pedido de alegação de promoção de saúde para os produtos que contêm proteína da soja, quanto à redução do risco de doenças coronarianas. Baseado em um nível diário eficaz de 25g de proteína da soja, a PTI propôs que a quantidade de proteína da soja necessária para qualificar um alimento, de sustentar a alegação de promoção de saúde é de 6,25g. Em 12 de agosto daquele ano, o FDA aceitou a petição da PTI, colocando-o em processo de formulação de uma proposta de regulamentação (HASLER, 1998).

Em outubro de 1999, o FDA emitiu um documento autorizando as indústrias a informar nos rótulos a alegação de saúde em alimentos contendo proteína de soja, atestando o papel deste componente na redução do risco de DCV. O FDA concluiu que, alimentos contendo proteína de soja, associados a uma dieta com baixo teor de gordura saturada, podem reduzir o risco de DCV, pela diminuição dos níveis de colesterol. Para que possa ser mencionada a alegação de saúde no rótulo, os produtos devem conter no mínimo 6,25g de proteína de soja por porção, o que representa um quarto dos 25g/dia encontrados pelos pesquisadores, como tendo efeito saudável para o coração (FDA, 1999).

A Associação Dietética Americana (ADA) apresenta alguns níveis de ingestão de alimentos funcionais ou componentes de alimentos para promover ótimo estado de saúde, e sugere 25g/dia de proteína de soja para redução dos níveis de colesterol e 60g/dia para redução dos sintomas decorrentes da menopausa (ADA, 1999).

3.2.1.2 Isoflavonas

Isoflavonas são fenóis heterocíclicos estruturalmente similares aos esteróides estrogênicos. Devido ao fato de serem elas estrogênios fracos, as isoflavonas podem agir como anti-estrogênios por competir com os estrogênios endógenos de ocorrência natural e que são mais potentes (por ex., 17 β -estradiol) ao ligarem-se ao receptor de estrogênio. Isso pode explicar porque populações que consomem quantidades significativas de soja, como no Sudeste da Ásia, por exemplo, têm um risco reduzido de câncer (MESSINA; BARNES; SETCHELL, 1997).

As dietas japonesas contêm 10 vezes mais soja que as dos norte-americanos e os japoneses são, em todo o mundo, os mais longevos e com a mais baixa incidência de câncer e doenças cardíacas. Atualmente existem muitos produtos comerciais à base de soja benéficos à saúde e estes produtos são fontes de antioxidantes e estrógenos que possuem na sua composição isoflavonas glicosiladas ou na forma de acetila e malonil- β -glicosil isoflavonas (COWARD *et al.*, 1993; WANG; MURPHY, 1994).

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 (COWARD *et al.*, 1993; WANG; MURPHY, 1996). O aquecimento promove a conversão das formas malonil glicosídeos a acetil glicosídeos, e enzimas do tipo β -glicosidases, presentes naturalmente na soja ou produzidas por microrganismos inoculados em produtos fermentados, podem hidrolisar os β -glicosídeos, liberando glicose e agliconas (PANDJAITAN; HETTIARACHCHY; JU, 2000; WANG; MURPHY, 1996).

As isoflavonas são os maiores componentes fenólicos em soja, sendo encontradas em concentrações que vão de 0,1 a 5mg/g (COWARD *et al.*, 1993), e esta variação está ligada a fatores genéticos, locais de plantio e condições climáticas (BARNES, 1998; CARRÃO-PANIZZI *et al.*, 1999).

O grão de soja contém basicamente três tipos de isoflavonas que se apresentam normalmente em quatro diferentes formas, ou seja, glicosiladas (daidzina, genistina e glicitina); formas acetilglicosiladas (acetildaidzina, acetilgenistina e acetilglicitina); formas malonilglicosiladas (malonildaidzina,

malonilgenistina e malonilglicetina) (KUDOU *et al.*, 1991) e na forma estrutural não conjugada, aglicona (daidzeína, genisteína e gliciteína). Soja e farinha desengordurada de soja contêm principalmente malonil-glicosil isoflavonas, com menores quantidades das formas β -glicosiladas e somente traços de acetil-glicosil conjugados (BARNES, 1998).

Diversas classes de anti-carcinogênicos têm sido identificadas nos grãos de soja, incluindo inibidores de protease, fitoesteróis, saponinas, ácidos fenólicos, ácidos fítics e isoflavonas (MESSINA; BARNES, 1991). As isoflavonas compreendem as agliconas daidzeína, genisteína e gliciteína, os respectivos β -glicosídeos e os conjugados malonil-glicosídeos e acetil-glicosídeos (KUDOU *et al.*, 1991).

Os efeitos das isoflavonas variam de tecido para tecido e em cada tipo, estas apresentam afinidade por receptores específicos. Tais efeitos ainda não são suficientemente elucidados a nível molecular. Entretanto, estudos têm demonstrado que as isoflavonas possuem mecanismos gerais de ação que podem interferir no metabolismo de muitos nutrientes (ANDERSON; GARNER, 1997). Um possível mecanismo de ação geral das isoflavonas inclui efeitos estrogênicos e anti-estrogênicos, regulação da atividade de proteínas (especialmente das tirosina quinases), regulação do ciclo celular e efeitos antioxidantes (KURZER; XU, 1997).

Estudos em humanos, animais e sistemas de culturas de células sugerem que as isoflavonas, especificamente a genisteína e a daidzeína desempenham um papel importante na prevenção de doenças crônicas tais como, osteoporose, doenças do coração, câncer e diabetes (ESTEVES; MONTEIRO, 2001).

O *diabetes mellitus* é uma síndrome caracterizada por níveis elevados de glicose sangüínea em situações de jejum, de forma crônica; além disso é acompanhado por alterações no metabolismo de carboidratos, lipídios e proteínas, sendo essas alterações uma consequência do déficit da secreção ou da ação da insulina (PALLARDO, 1977). Nas células, os receptores para insulina são enzimas estimuladas por ela própria, com atividade de proteína tirosina quinase. O mecanismo geral de ação da insulina inicia-se com a ligação deste hormônio aos receptores tirosina quinases na membrana celular. A ligação da insulina a estes

receptores, que é dependente das concentrações plasmáticas de glicose, desencadeia uma série de respostas intracelulares que irão culminar, entre outras coisas, no estímulo à secreção da própria insulina (ALBERTS; BRAY; LEWIS, 1997).

3.3 AVEIA

Diversos estudos vêm revelando as propriedades tecnológicas, sensoriais, nutricionais e funcionais vantajosas quanto à utilização da aveia na alimentação humana. Entretanto, segundo Karam (1999), os produtos de aveia existentes no mercado são limitados em número e desconhecidos quanto às formas de preparo pela maioria da população. De acordo com Wood *et al.* (1989), como forma de consumo humano, as indústrias que processam aveia produzem o farelo obtido pela moagem da aveia e posterior separação da farinha por peneiragem e aspiração.

A aveia destaca-se dentre os cereais por fornecer excelente valor nutricional. Constitui-se em grande parte, de princípios indispensáveis ao organismo humano, como proteínas (variando de 12,4 a 24,5% no grão descascado), lipídios, aminoácidos, vitaminas e sais minerais, e principalmente, pela composição de fibras alimentares, que são de alta qualidade, como a β -glucana. Estas condições levaram especialistas a elegerem a aveia como o cereal mais nutritivo que a natureza oferece à alimentação humana (LÀSZTITY, 1998).

Na aveia, a fibra alimentar total varia entre 7,1 e 12,1%. Esta variação deve-se aos vários métodos de determinação utilizados e às diferenças entre cultivares (FROLICH; NYMAN, 1988). No farelo, o conteúdo de fibra alimentar é de 15 a 19%. Deste total, 34 a 48% são fibras solúveis e o restante insolúveis (SHINNICK; LONGACRE; INK, 1988).

O conteúdo de carboidratos (incluindo celulose e polissacarídeos) pode chegar a 75-80% do peso seco, sendo o amido o componente principal. Contém ainda altas proporções de polissacarídeos não amiláceos, principais constituintes das fibras alimentares, com destaque para as (1-3) (1-4)- β -D-glucanas, reconhecida como uma fibra solúvel que possui efeitos hipocolesterolêmicos comprovados (LÀSZTITY, 1998; MILLER *et al.*, 1993).

As β -glucanas são polissacarídeos lineares, não ramificados, compostos por unidades de glicose β -D-glicopiranosil, unidos por ligações glicosídicas $\beta(1-4)$ e $\beta(1-3)$. A estrutura resultante é um polissacarídeo composto principalmente de unidades de β -1,3 celotriosil e celotetraosil (WOOD; WEISZ; BLACKWELL, 1994). As ligações $\beta(1-4)$ respondem, aproximadamente, por 70% das ligações glicosídicas e ocorrem em seqüência de duas ou três unidades de glicose, interrompidas por uma ligação $\beta(1-3)$ isolada (WOOD WEISZ; BLACKWELL, 1994).

A β -glucana compõe a estrutura das paredes celulares que compõem os grãos de aveia. Seu teor é variável, pois depende do cultivar e do tipo de processamento, além de ser influenciado por fatores genéticos e ambientais. A aveia integral sem casca contém 3,4 a 4,9% de β -glucanas. Porém Aman (1987), Lim, White e Frey (1992) e Manthey, Hareland e Huseby (1999) estudaram as causas de variação do teor desta fibra e encontraram valores médios entre 4,0 e 5,5% de β -glucanas. De Sá *et al.* (1998), estudando a variação no conteúdo de β -glucanas em cultivares de aveia brasileira, observaram grande variabilidade entre as amostras de cada cultivar e encontraram valores médios que variaram de 4,3 a 6,5%.

Entretanto, de todos os produtos derivados da aveia, as maiores concentrações de β -glucanas são encontradas no farelo com teores que variam de 5,81 a 8,89%; no farelo comercialmente disponível pode variar de 7 a 10%, no farelo de aveia enriquecido de 10,9 a 16,6%, nos flocos médios e finos em torno de 5% e na goma de aveia aproximadamente 78% (WOOD; WEISZ; BLACKWELL 1994).

O farelo de aveia, segundo a definição da AMERICAN ASSOCIATION OF CEREAL CHEMISTS (AACC, 1989), deve conter não mais de 50% da matéria prima original (taxa de extração), no mínimo 16% de fibra alimentar total (base seca) sendo que desta, no mínimo 33% deve ser solúvel e conter no mínimo 5,5% de β -glucana (base seca).

3.3.1 Aveia como Alimento Funcional

Através da concordância científica de que o consumo de aveia pode reduzir o colesterol total e a lipoproteína de baixa densidade (LDL), reduzindo assim o risco de doenças cardíacas coronarianas, o FDA considerou a aveia em janeiro de 1997, como o primeiro alimento específico com alegação de promoção de saúde, em resposta a uma petição submetida pela *Quaker Oats Company* (Chicago, EUA). Em sua petição de alegação, a *Quaker Oats Company* sintetizou 37 ensaios de intervenção clínica em humanos, conduzidos entre 1980 e 1995. A maioria destes estudos revelou reduções estatisticamente significativas no colesterol total e colesterol-LDL em pessoas com hipercolesterolemia que consumiram uma dieta americana típica ou uma dieta com baixo teor em gorduras. A quantidade diária de farelo ou farinha de aveia consumida nestes estudos variou de 34 a 123g. A *Quaker Oats* determinou que 3g de β -glucana seriam necessárias para alcançar uma redução de 5% do colesterol no plasma, uma quantidade equivalente a aproximadamente 60g de farinha de aveia ou 40g de farelo de aveia (peso bruto) (FDA, 1997).

De acordo com Jenkins *et al.* (2002) e Keogh *et al.* (2003), a quantidade recomendada de β -glucana varia de estudo para estudo e, de modo geral, as diminuições mais significativas dos níveis plasmáticos de colesterol total e LDL-colesterol, ocorreram com o emprego de doses entre 3 a 6g/dia.

Com a autorização do FDA, a rotulagem de produtos à base de aveia passou a ter as seguintes informações: "*Dietas ricas em aveia ou farelo de aveia e pobres em gordura saturada e colesterol podem reduzir o risco de doenças coronárias*" (FDA, 1997).

Além dos efeitos sobre o colesterol, o consumo de aveia pode diminuir a absorção de glicose, o que é benéfico para diabéticos e pode estimular funções imunológicas, tanto *in vitro* quanto *in vivo*, além disso, reduz a glicemia pós-prandial (WÜRSCH; PI-SUNYER, 1997; HALLFRISCH; BEHALL, 2000). Por esta razão, a exemplo do estudo de Tapola *et al.* (2005), diversos estudos prospectivos investigam o potencial das β -glucanas na prevenção e tratamento adjuvante do diabetes mellitus tipo II. Para Anderson e Chen (1986); McDonald, Shinnick e Ink

(1992) e Wood (1993), existem também evidências de que estas fibras agem como protetoras ao desenvolvimento de câncer de cólon.

3.3.1.1 Fibras

As fibras alimentares passaram a ter sua importância reconhecida, e serem recomendadas na alimentação, devido ao aumento da incidência de algumas doenças crônicas (obesidade, doenças cardiovasculares, diabetes, hipercolesterolemia, entre outras) que surgiram em populações dos centros urbanos de países industrializados, à medida que os alimentos naturais foram sendo substituídos pelos processados e refinados. A migração das populações rurais para os centros urbanos causou profundas modificações nos hábitos alimentares dos indivíduos, ganhando popularidade a alimentação à base de carnes, cereais refinados e açúcar, pobres em fibra alimentar (BURKITT apud PEREZ e GERMANI, 2007).

No Brasil, o Ministério da Saúde, através da Portaria n.41, de 14 de janeiro de 1988, definiu Fibras Alimentares como sendo *"qualquer material comestível de origem vegetal que não seja hidrolisado pelas enzimas endógenas do trato digestivo humano, determinado segundo o método enzimático gravimétrico 985.19 da AOAC, 15ª edição, 1990 ou edição mais atual"* (BRASIL, 1988).

A fibra é constituída pela soma de polissacarídeos e lignina de vegetais que não são digeridos pelas enzimas digestivas do homem (PETERSON, 1992). Podem ser classificadas em fibras solúveis e insolúveis, quanto a sua solubilidade em água. Esta classificação apresenta importância quanto a sua ação, pois os efeitos fisiológicos das fibras solúveis são diferentes das fibras insolúveis. As fibras solúveis retardam o esvaziamento gástrico, a absorção da glicose e reduzem o colesterol no soro sanguíneo, minimizando o risco de doenças cardiovasculares. As fibras insolúveis aceleram o trânsito intestinal, aumentam o peso e volume das fezes, aliviando algumas desordens divergentes, podendo ajudar a evitar o câncer de cólon contribuindo para a redução do risco de doenças do trato gastrointestinal (ANDERSON, 1985).

As β -glucanas são fibras basicamente solúveis, tendo porém uma

proporção variável de material insolúvel, ocorrem nos cereais, principalmente cevada e aveia e estão contidas no endosperma da semente (MILLER *et al.*, 1993; WESTERLUND; ANDERSON; AMAN, 1993; WOOD; WEISZ; BLACKWELL, 1994).

Todavia, diversas substâncias vêm sendo testadas e incorporadas na produção de pães e biscoitos e entre elas as fibras têm considerável potencial, visto a importância tecnológica como agentes de corpo na produção de alimentos. Fibras alimentares obtidas de várias fontes, como: cacau, farelo de soja, fibra de soja e de aveia, celulose em pó e farinha de jatobá (WHITTICK, 1989; SILVA, SILVA e CHANG, 1998), são materiais que podem ser utilizados como agentes de volume na produção de massas e biscoitos, nos quais se substitui parcialmente a farinha de trigo.

3.4 PANIFICAÇÃO

3.4.1 Uso de farinhas mistas

Vários fatores devem ser considerados na utilização de farinhas mistas para produção de alimentos e, as características destas farinhas, devem reduzir ao máximo os efeitos da substituição para se obter alimentos com cor aceitável, sabor agradável e boa textura (BARBOSA, 2002).

Na década de 1960, a utilização de farinhas mistas tinha como objetivo a substituição parcial da farinha de trigo para redução das importações desse cereal. Depois, as pesquisas com farinhas mistas foram direcionadas para a melhoria da qualidade nutricional de produtos alimentícios e para suprir a necessidade dos consumidores por produtos diversificados (TIBURCIO, 2000).

Em muitas regiões onde o trigo cultivado não é suficiente para atender ao consumo da população, a incorporação de outras farinhas ao trigo é realizada por razões econômicas (NAVICKS, 1987), sem que se deixe de ressaltar, porém, a importância da utilização de uma farinha que possa oferecer ao consumidor um produto de boa qualidade sensorial e nutricional (SILVEIRA, 1981). Quanto aos valores nutricionais, segundo Carrão-Panizzi e Mandarino (1998), a

combinação de cereais e leguminosas permite a complementação dos aminoácidos essenciais obtendo-se uma composição protéica com melhor qualidade.

Para Leitão, Vitti e Mori (1977), a preparação de farinhas mistas com farinha de soja parece ser técnica, nutricional e economicamente viável. Bressani (1981) investigou o efeito da farinha de soja como suplemento protéico a grãos de cereais e constatou que o Coeficiente da Eficiência Protéica (PER) de cereais como, milho, arroz, farinha de trigo e grão de trigo apresentou valores inferiores quando comparado com o PER destes cereais combinados com a farinha de soja.

As proteínas da soja diferem significativamente das de cereais em muitas de suas propriedades químicas e físicas. A soja não contém nem as proteínas solúveis em álcool (prolaminas) semelhantes à gliadina do trigo, nem as proteínas semelhantes à glutenina. Por esse motivo, as proteínas da farinha de soja não possuem as propriedades do trigo de formar massa viscoelástica. Dentre as farinhas dos diferentes cereais, apenas a do trigo tem a propriedade de formar massa viscoelástica que retém o gás produzido durante a fermentação e nos primeiros estágios de cozimento do pão, dando origem a um produto leve. As proteínas, mais especificamente as formadoras do glúten, são as principais responsáveis por esta característica própria do trigo. O glúten é composto por duas frações protéicas: a gliadina e a glutenina. A gliadina apresenta pouca ou nenhuma resistência à extensão e é extremamente gomosa quando hidratada, sendo, portanto, responsável pela coesividade da massa. A glutenina é formada por várias cadeias ligadas entre si, é elástica, mas não coesiva e fornece a massa a propriedade de resistência à extensão (SGARBIERI, 1996; HOSENEY, 1990).

Farinhas de soja integral e fracionada são disponíveis comercialmente em grandes volumes e podem ser substituídas em parte por farinha de trigo em uma variedade de alimentos cozidos ou assados, sendo que os produtos suplementados mais freqüentemente são pães, biscoitos e bolos (CHAVAN; KADAN, 1993).

3.4.2 Farinha de soja e farelo de aveia em produtos de panificação

Um dos usos mais importantes da soja é como ingrediente em produtos de cereais, tais como os de panificação, pois o perfil de aminoácidos essenciais da soja é complementar ao da maioria dos cereais (LEITÃO; VITTI; MORI, 1977). Por ser deficiente nos aminoácidos sulfurados cistina e metionina e abundante dos demais (especificamente lisina), a soja torna-se um potencial enriquecedor do trigo, que é deficiente em lisina e contém suficiente quantidade de aminoácidos sulfurados (EMBRAPA, 1994b).

A farinha desengordurada de soja é utilizada na formulação de alguns produtos de panificação, entre eles na produção de pães, massas de bolos e biscoitos mais maleáveis, fáceis de manusear e menos viscosas. Em pães, a coloração fica mais atraente, com melhor qualidade alimentícia e maior vida de prateleira, devido à grande retenção de água. O fato de ser desengordurada permite que seja armazenada por mais tempo devido ao seu baixo conteúdo de matéria graxa (1%) e por não transmitir gosto estranho ao produto, aliado ao seu melhor conteúdo e qualidade protéica (EMBRAPA, 1994c).

Diversos estudos foram realizados sobre a formulação e propriedades físicas de pães enriquecidos, produzidos com farinha de trigo e soja. Estudos de análise sensorial demonstraram, em geral, que pães de soja e trigo têm sabor mais acentuado se os níveis de farinha de soja aumentarem de 10 a 15%. Buck, Walker e Watson (1987) observaram que pães contendo 20% de farinha de soja fracionada tiveram sabor mais forte do que o pão de trigo (controle). Ryan *et al.* (2002) observaram que o pão suplementado com 12% de farinha de soja texturizada teve significativamente gosto residual mais forte do que o pão de trigo (controle), enquanto o pão contendo 12% de farinha de soja texturizada, extraída por solvente, não foi diferente significativamente do pão de trigo controle. King *et al.* (2001) observaram sabor de grão cru mais acentuado em pães preparados com farinha de soja do que em pães de trigo (controle). Dhingra e Jood (2001) observaram que os pães de trigo com 0-10% de farinha de soja tiveram sabor aceitável, mas aqueles com 15-20% de farinha de soja tiveram notas de sabor menores do que os controles.

A substituição de parte da farinha de trigo por farelo de arroz, fibra de milho, resíduos da indústria de cerveja, sementes de girassol, farelo de trigo e aveia tem sido relatado por vários autores na elaboração de biscoitos (JAMES; COURTNEY; LORENZ, 1989; ARTZ *et al.*, 1990, RASCO *et al.*, 1990; BAJAJ; KAUR; SIDHU, 1991; LEELAVATHI; RAO, 1993; CAMPBELL; KETELSEN; ANTENUCCI, 1994).

Porém, na substituição parcial da farinha de trigo por fontes protéicas e fibras, é possível que ocorram problemas tecnológicos na produção de biscoitos. Normalmente utiliza-se a farinha de soja desengordurada (FDS) que ao ser adicionada a uma massa de biscoito, em substituição a uma parte da farinha de trigo, torna a massa mais dura e aumenta seu tempo de desenvolvimento, ocorrendo ainda a queda na estabilidade e um considerável aumento na absorção de água, provocado pela grande quantidade de grupos hidrofílicos nas fibras e nas proteínas de soja, que necessitam de muita água para se hidratar. Assim, é necessário aumentar a quantidade de água na formulação, para que a massa não fique seca e quebradiça. A adição de fibra alimentar modifica ainda as propriedades de mistura da farinha de trigo, interferindo no tempo de mistura rápida do processo e nas características tecnológicas como volume, cor, umidade e dureza. Porém, do ponto de vista nutricional é altamente desejável, pois aumenta o teor de proteínas e de aminoácidos a ser ingerido (EMBRAPA, 1994a).

Dependendo do tipo e da qualidade da farinha mista utilizada, da qualidade da farinha de trigo, do tipo de biscoito, da formulação e procedimento utilizados, pode-se permitir um determinado nível de substituição da farinha de trigo. Biscoitos doces produzidos com 10% de FDS praticamente não apresentam alterações em suas dimensões, mas a 20 ou 30% de substituição, a textura, a granulidade da superfície e o espalhamento dos biscoitos sofrem mudanças significativas. Os biscoitos produzidos com FDS apresentam um aumento no seu teor de proteínas e de cinzas e também no conteúdo de aminoácidos essenciais, embora após o cozimento os aminoácidos essenciais, especialmente lisina, sofram uma redução. Do ponto de vista sensorial, os biscoitos produzidos com até 10% FDS são considerados bons, semelhantes ao padrão (sem farinha de soja), apresentando boa cor, aroma, sabor e textura (EMBRAPA, 1994a).

A FDS pode ser utilizada como agente branqueador com o intuito de melhorar as características sensoriais referentes ao sabor. Acima de 20% de substituição já se nota um pronunciado "beany flavor". Assim, o nível de substituição mais aceitável, tanto do ponto de vista tecnológico como sensorial, está em torno de 10% de FDS (EMBRAPA, 1994a).

Quanto à aveia, seus produtos podem ser utilizados como ingredientes na panificação devido às suas excelentes propriedades de absorção de umidade, o que retarda o envelhecimento de pães, bolos e biscoitos. Além disso, derivados de aveia têm propriedade de estabilizar componentes lipídicos em razão de suas características antioxidantes. Trata-se do único cereal cuja proteína apresenta balanço de aminoácidos relevantes sob o ponto de vista nutricional, além do teor protéico superior ao dos demais cereais. Além de propriedades fisiológicas, o cereal dispõe de propriedades físicas importantes para aplicação em produtos alimentícios, tais como a solubilidade e viscosidade (GUTKOSKI; PEDÓ, 2000; HOSENEY, 1990; WEBSTER, 1986).

Gutkoski e El-Dash (1999) sugerem que durante o processamento e desenvolvimento de novos produtos de aveia, algumas das preocupações sejam tornar o grão adequado ao consumo humano, com sabor agradável, longa vida-de-prateleira e bom valor nutricional. As enzimas hidrolíticas e oxidativas presentes naturalmente no grão devem ser inativadas; o amido, parcialmente pré-gelatinizado; e o sabor característico de aveia, realçado. Para isso é necessário que se combinem os processos tecnológicos e se induzam as modificações físico-químicas, funcionais e nutricionais.

3.4.3 Biscoitos

Carvalho Júnior (2001) define biscoito como o produto seco e aerado, elaborado a partir de uma massa constituída basicamente por farinha de trigo, açúcar, gordura e fermento biológico ou agentes químicos de crescimento, modelada em pequenas unidades e assada. Segundo a ANVISA, biscoitos são produtos obtidos pela mistura de farinha, amido e/ou fécula com outros ingredientes submetidos a processos de amassamento e cocção, fermentados ou não, podendo apresentar cobertura, recheio, formato e textura diversos (BRASIL, 2005).

Embora não constitua um alimento básico como o pão, os biscoitos são aceitos e consumidos por pessoas de qualquer idade. Sua longa vida-de-prateleira permite que sejam produzidos em grande quantidade e largamente distribuídos. Um produto destas características aliado a sua enorme diversidade, apresenta-se como um bom veículo para o estudo de farinhas mistas, seja por razões econômicas ou nutricionais. Nutricionalmente, as farinhas procedentes de boa qualidade protéica podem ser adicionadas para fortificar os biscoitos, tornando sua proteína mais balanceada. Essas vantagens, no entanto, só serão desfrutadas se, do ponto de vista tecnológico, for possível adicionar farinhas sem prejuízo na qualidade do produto. Os consumidores costumam aceitar este tipo de produto, desde que ele faça parte de seus hábitos alimentares, seja saboroso e de boa qualidade e que seu preço esteja em condições de competir com o do produto convencional (VITTI; GARCIA; OLIVEIRA, 1988).

3.4.3.1 Processamento de Biscoitos

Todos os biscoitos passam, basicamente, pelas mesmas etapas de processamento e todos contêm algum agente de aeração ou crescimento, para que o produto final não seja excessivamente duro, mas tenha textura agradável à mastigação. Apesar da grande variedade, segundo o tipo de agente de aeração empregado, os biscoitos podem ser agrupados em dois tipos principais: fermentados e não fermentados. Os "crackers" são fermentados biologicamente, enquanto que os demais não são fermentados, mas apenas aerados por adição de agentes químicos (EMBRAPA, 1994a).

Segundo a EMBRAPA (1994a), os biscoitos não-fermentados compreendem uma ampla gama de produtos, bastante diversos entre si, como os biscoitos semidoces duros, os recheados e os "wafers". Além da formulação, a maior diferença entre eles está no tipo de moldagem ou formação a que são submetidos. Segundo esse critério, podem ser agrupados nos seguintes tipos: biscoitos formados por estampagem; biscoitos formados por rolos; biscoitos cortados por fio; biscoitos formados por deposição.

A mistura da massa dos biscoitos é realizada em misturadores especiais e tem as seguintes funções: homogeneização dos ingredientes para formar massa uniforme, dispersão e formação de soluções de um sólido num líquido, desenvolvimento do glúten da farinha e aeração da massa, deixando-a menos densa (MORETTO; FETT, 1999).

Em biscoitos semidoces duros, cortados por fio, Moretto e Fett (1999) afirmaram que a mistura da massa neste tipo de produto é muito mais importante do que em qualquer outro, pois esta deve ser suficientemente comprimida para assegurar a total homogeneização dos ingredientes no estágio de creme, mas não deve causar quebra das células de ar da estrutura. Se a massa for misturada em excesso, pode ocorrer quebra da emulsão, favorecendo a água livre para o desenvolvimento excessivo do glúten. Neste tipo de biscoito, a massa antes de ser cortada é formada por dois rolos corrugados que giram no mesmo sentido e velocidade, empurrando-a contra uma matriz. A massa, saindo da matriz de forma contínua, é cortada por arames em unidades, que são depositadas sobre a esteira

do forno que passa logo abaixo.

A operação de cozimento ou assamento do biscoito é realizada com o objetivo de remover a umidade, propiciar cor e uma série de reações químicas e físicas, que originarão o produto final. A cor é obtida graças a função de caramelização dos açúcares, principalmente na superfície do produto, o que também ajuda a melhorar o sabor. Com relação às funções químicas e físicas, durante o processo ocorre a hidratação e gelatinização parcial do amido da farinha, bem como a combinação química de certos materiais protéicos e carboidratos e isto é importante por resultar em sabor agradável. Porém, para que aconteça, necessita-se de baixa temperatura e tempo (MORETTO; FETT, 1999).

3.5 ENZIMAS

Enzimas são substâncias naturais envolvidas em todos os processos bioquímicos que ocorrem nas células vivas; um tipo especial de proteínas produzidas dentro das células dos organismos vivos e, portanto, consistem em cadeias de aminoácidos unidas por ligações peptídicas. Como todas as outras proteínas, as enzimas se formam por cadeias longas de aminoácidos unidos por ligações peptídicas e articulados em estruturas tridimensionais.

As enzimas alimentares são usadas para a produção de um grande leque de produtos e ingredientes alimentícios. Podem tornar os alimentos mais nutritivos, saborosos, digestivos ou mais atraentes, como na clarificação da cerveja, por exemplo. São utilizadas também para aumentar a segurança e a preservação dos alimentos, contribuindo para sua maior durabilidade e redução da necessidade de aditivos. O uso de enzimas em processos de tecnologia de alimentos é vantajoso, pois dentre outras razões, elas são específicas, não necessitam de temperaturas elevadas para a reação e não formam subprodutos indesejáveis. A degradação dos principais polímeros constituintes da parede das células vegetais envolve a participação de enzimas, cujas ações envolvem celulase, hemicelulase, pectinase, etc (DA-SILVA; FRANCO; GOMES, 1997).

3.5.1 Hemicelulases

Na natureza são vários os organismos capazes de produzir as hemicelulases, dentre eles bactérias (aeróbias, anaeróbias), fungos (mesofílicos, termofílicos e extremofílicos), algas, protozoários, gastrópodes e artrópodes. Essas enzimas podem ser produzidas por uma série de razões, tais como aumentar a variedade de fontes primárias de carbono ou como parte da estratégia para colonizar ou infectar células vegetais ou mesmo microorganismos (PRADE, 1995).

Segundo Da-Silva, Franco e Gomes (1997), este nome não se refere a uma enzima específica, mas a um grupo amplo de enzimas envolvidas na degradação das hemiceluloses. Uma vez que estas são constituídas de vários polímeros, formados por diferentes resíduos de açúcares, a sua degradação completa também necessita de enzimas específicas. Para uma hidrólise completa são necessárias diversas enzimas como β -1-4-endoxilânase, β -xilosidase, α -L-arabinofuranosidase, α -glucuronidase, acetil-xilana esterase e ácido fenólico esterase (BEG *et al.*, 2001).

3.5.1.1 Xilanase (1,4- β -D-xylan xylanhydrolase, EC 3.2.1.8)

É uma endo-enzima que degrada aleatoriamente a xilana, principal polímero das hemiceluloses constituído de unidades de D-xilose, liberando xiloligossacarídeos (DA-SILVA; FRANCO; GOMES, 1997).

Vários microorganismos que utilizam xilana como fonte de carbono e energia, produzem xilanases. A maioria dos fungos fitopatógenos produz enzimas, incluindo xilanases, que degradam polissacarídeos da parede celular vegetal. O efeito da utilização dessas enzimas é o amaciamento da região de penetração em decorrência da degradação parcial de estruturas da parede celular (MEDEIROS; HANADA; FILHO, 2003).

Por se tratar de um heteropolissacarídeo, a conversão enzimática de xilana a seus componentes monoméricos requer a participação sinérgica de várias enzimas, algumas atuando sobre a cadeia principal, outras sobre as ramificações.

As endo- β -D-xilanases (1,4- β -D-xilana xilanolase, EC 3.2.1.8), que agem aleatoriamente na cadeia principal de xilana para produzir xilooligossacarídeos de vários tamanhos. A atividade das endo-xilanases contribui para atuação de outras enzimas do complexo xilanolítico, pois a presença de grandes quantidades de substituintes dificulta a formação do complexo enzima-substrato. As xilanases clivam porções internas da cadeia principal de xilana, liberando substrato para atuação das β -xilosidades. Estas últimas atuam sobre fragmentos (oligossacarídeos) de xilana e sobre as extremidades não redutoras da xilana (FERREIRA FILHO, 2004).

Quanto ao mecanismo de ação, as xilanases são conhecidas por hidrolisarem seus substratos com retenção da configuração do carbono anomérico. Esse mecanismo é chamado de "double displacement", enquanto o mecanismo de hidrólise que gera a inversão da configuração é chamado de "single displacement". A grande maioria das xilanases pertencem às famílias F/10 e G/11 e apresenta o mecanismo de "double displacement" (WHITERS, 2001). As xilanases, assim como outras enzimas que hidrolisam a parede celular, podem possuir em sua estrutura um ou mais módulos de ligação a carboidrato. A função desses domínios de ligação a substratos é promover o alinhamento da enzima solúvel com o polissacarídeo insolúvel aumentando, deste modo, a concentração de enzimas no ponto de ataque e a eficiência catalítica (FERREIRA FILHO, 2004).

3.5.2 Uso de enzimas em Panificação

Durante muitas décadas, adicionaram-se enzimas à farinha para a produção de pão. Essas enzimas suplementadas, usadas para melhorar o pão, afetam, de fato, seu volume, sabor, aroma, estrutura da casca e do miolo, maciez e vida de prateleira (DZIEZAK, 1991).

A farinha de trigo contém cerca de 2-3% de pentosanas, polissacarídeos compostos principalmente de D-xilose e L-arabinose. Estes polissacarídeos existem na forma solúvel e insolúvel. A forma solúvel melhora a qualidade do pão. As pentosanas insolúveis, entretanto, impedem o desenvolvimento do glúten que é de vital importância na formação da estrutura do pão e, conseqüentemente, reduzem o volume e prejudicam sua textura (DZIEZAK,

1991). Aplicação de pentosanases (xilanase/arabinosidases) à farinha leva à degradação das pentosanas, melhorando o manuseio da massa e dando um produto final com maior volume e melhor estrutura do miolo (DA-SILVA; FRANCO; GOMES, 1997). A mistura de pentosanases e β -glucanases também melhora a qualidade de pães com fibra. Essas enzimas hidrolisam as pentosanas e β -glucanas de cereais, resultando com isso, em um melhor manuseio da massa, redução no ressecamento e no tempo de mistura, além de um aumento no volume do pão. A alfa-amilase hidrolisa o amido (amilose), dando origem a açúcares solúveis usados pela levedura para produzir etanol e gás. Este último faz o pão crescer e lhe confere textura agradável, com miolo mais leve (DZIEZAK, 1991).

Alguns autores relataram que a utilização de xilanase em pães aumentou a umidade final do produto. Avaliando a utilização de xilanase na fabricação de pão, Shah, Shah e Madamwar (2006) obtiveram resultados de 32,3% (controle) para 40,5% (pães com xilanase) com relação à umidade final em pães frescos, enquanto que o nível ideal de umidade destes pães segundo Kamaliya e Kamaliya (2001), é entre 35 e 40%. Da mesma forma, Jiang *et al.* (2005a) também obtiveram aumento da umidade final de 29,4% (controle) para 34,5% em pães de trigo suplementados com xilanase de *Thermomyces lanuginosus* CAU44. Entretanto, Courtin, Gelders e Delcour (2001) relataram a diminuição no teor de umidade em pães de trigo adicionados com xilanase.

Segundo Shah, Shah e Madamwar (2006), a medida mais importante da qualidade final em pães é seu volume. O possível uso de xilanase de *Aspergillus foetidus* MTCC 4898 como um melhorador de pão foi testado em pão de trigo integral, sendo que xilanase parcialmente purificada foi usada durante a mistura de farinha de trigo. Os autores analisaram os efeitos da adição de xilanase na fase de fermentação e na qualidade final de pães e observaram a diminuição de 11% na absorção de água e em torno de 28,5% de aumento da massa. O conteúdo de umidade final do pão (40,5%) foi maior que o tratamento controle (32,3%). Também foi significativo o aumento do volume específico em torno de 56%. A avaliação sensorial indicou melhorias no sabor, suavidade e aceitabilidade global. A análise de perfil de textura confirmou as mudanças de reologia e também foram observadas melhorias em coesividade e diminuição da elasticidade e gomosidade. Por sua vez Maat *et al.* (1992) observaram a eficiência de xilanase na qualidade do pão quanto

ao aumento do seu volume específico. Este resultado foi obtido quando amilase foi utilizada em combinação com xilanase.

Na preparação de biscoitos tipo cookie, Uysal *et al.* (2007) substituíram entre 0 a 30% da farinha de trigo por fibras de maçã, limão, trigo e farelo de trigo e adicionaram 0,4% de enzima xilanase. Os autores verificaram que o aumento no conteúdo de fibra, resultou na diminuição da expansão e que, a adição de 0,4% da enzima xilanase, aumentou a expansão quando comparada às amostras controle (sem adição de enzima), além de reduzir os valores de dureza das amostras.

3.6 COLESTEROL

O colesterol ($C_{27}H_{46}O$) é uma molécula planar e um dos mais importantes esteróis encontrados nos tecidos animais. Está presente nas membranas entre a porção de hidrocarbonetos dos fosfolipídios e sua presença afeta a mobilidade da membrana. Apesar de insolúvel em água é facilmente extraído de tecidos com clorofórmio, éter etílico, éter de petróleo, benzeno ou álcool etílico a quente. Praticamente inexistente nos vegetais, ocorrendo apenas raramente em plantas superiores às quais contém outros tipos de esteróis, conhecidos como fitosteróis (LEHNINGER; NELSON; COX, 1995).

As origens do colesterol no organismo humano podem ser diversas e esta substância pode tornar-se perigosa e letal se, houver desequilíbrio no organismo, provocada não somente por fatores de risco, mas também por problemas genéticos como, defeitos dos receptores LDL (lipoproteínas de baixa densidade) e falta ou excesso de certas enzimas que regulam o metabolismo (MONTGOMERY; CONWAY; SPECTOR, 1994; LEHNINGER; NELSON; COX, 1995).

O colesterol é sintetizado no fígado e excretado na circulação como componente das LDL. Os lipídios que circulam na corrente sangüínea (triacilglicerol e fosfolipídios) e o colesterol livre ou esterificado estão associados a proteínas na forma de macromoléculas complexas, que fazem o transporte dos lipídios dos locais de absorção ou de degradação para os locais de utilização e eliminação (ARAÚJO, 2004).

Além do fígado, o colesterol pode ser sintetizado em todos os tecidos e sua biossíntese, contribui para o colesterol sérico. Uma concentração elevada de colesterol em presença de uma taxa normal de triglicerídeos é quase sempre devida a uma excessiva concentração de LDL (FRANCO, 1997). A concentração do colesterol plasmático é variável, refletindo a diferença entre as taxas de síntese e taxa de destruição, sendo o fígado o principal responsável pela manutenção do nível do colesterol (NIXDORF, 1996).

O colesterol é parte da dieta, tanto na forma livre quanto na forma esterificada com ácidos graxos. O seu nível no plasma, em muitas pessoas, mantém-se inalterado mesmo depois de ingerido e este mecanismo de controle diminui a quantidade sintetizada de colesterol quando se aumenta sua ingestão (ARAÚJO, 2004).

Entretanto, esta substância não pode ser totalmente banida da alimentação, pois em níveis médios, é um produto bastante necessário ao organismo humano. As lipoproteínas têm a função de solubilizar os lipídeos e transportá-los pelo sangue. Os lipídeos são responsáveis pelo armazenamento de 95% de energia (LEHNINGER; NELSON; COX, 1995; WAITZBERG; BORGES, 2000). O colesterol é importante ainda para a produção de ácidos biliares (cólico, quenodesoxicólico, desoxicólico e litocólico), que auxiliarão na digestão destes lipídios. Além disso, é o precursor dos hormônios sexuais (testosterona, androsterona, progesterona, estradiol), além de ser um dos principais formadores das membranas do organismo e apresentar propriedades anti-inflamatória (cortisona), cardiotônica (digitoxigenina) e anti-raquítica (vitamina D) (LEHNINGER; NELSON; COX, 1995; ETTINGER, 2002).

Encontrado nos tecidos animais em altas concentrações e armazenado sob forma livre e esterificada, a manutenção dos níveis normais de colesterol no sangue é de grande importância fisiológica (FRANCO, 1997). É uma substância complexa que apresenta inúmeras funções no organismo, porém, ocorrendo problemas no seu metabolismo pode acarretar aumento de sua concentração sanguínea, conseqüentemente, doenças coronarianas como arterosclerose, além de causar hipertensão arterial e formação de cálculos biliares (LUDKE; LÓPEZ, 1999).

3.6.1 Metabolismo do Colesterol

A maior parte do colesterol do organismo, aproximadamente 75%, origina-se da biossíntese (colesterol endógeno), enquanto apenas 25% são fornecidos pela dieta (colesterol exógeno). Quando a alimentação é rica em colesterol, ocorre um bloqueio da sua síntese endógena (MILES, 1989). Por outro lado, a redução muito acentuada de colesterol-alimento pode aumentar sua síntese endógena. O colesterol na luz intestinal pode ter sua origem, além da dieta, também da bile que carrega 1 a 2g/dia, e das secreções ou da descamação das células da mucosa intestinal. Na ausência da bile, não ocorrerá absorção do colesterol (HARPER, 1993).

Segundo Champe e Harvey (1994), os mecanismos regulatórios devem existir para balancear a taxa de síntese de colesterol dentro do organismo contra sua taxa de excreção. O desbalanço nesta regulação pode conduzir a uma elevação na circulação dos níveis de colesterol no plasma, causando então a doença da artéria coronária, enquanto secreção excessiva na bile resulta em precipitação do colesterol no ducto biliar, ocasionando a doença denominada colelitíase.

Através da HMG-CoA redutase, a enzima marcapasso na síntese do colesterol, há diferentes tipos de controles metabólicos e dentre eles destacam-se:

- inibição por feedback: O colesterol é um inibidor por feedback da HMG-CoA redutase, ocasionando diminuição da síntese do colesterol.

- regulação hormonal: Através do complexo cascata de atividade e inibição da enzima semelhante à regulação de síntese de glicogênio, nos quais sofrem efeito dos hormônios insulina e glucagon.

- inibição por drogas: Lovastatina e Mevastatina são inibidores competitivos da HMGCoA redutase e são utilizadas para pacientes com hipercolesterolemia.

O colesterol é transportado no plasma pelas lipoproteínas que são sintetizadas no fígado e intestino. As lipoproteínas do plasma sangüíneo são classificadas de acordo com suas densidades em cinco grandes grupos: Quilomícron

(QM), Lipoproteínas de densidade muito baixa (Very Low-Density Lipoproteins, VLDL), Lipoproteínas de densidade intermediária (Intermediate-Density Lipoproteins, IDL), Lipoproteínas de densidade baixa (Low density lipoproteins, LDL) e Lipoproteínas de densidade alta (High density lipoproteins, HDL) (KRIS-ETHERTON *et al.*, 1988).

Os quilomícrons transportam os lipídios absorvidos do intestino para os tecidos; as VLDLs transportam os lipídios produzidos no fígado para o tecido adiposo; as LDLs transportam o colesterol sintetizado no fígado para os tecidos; e as HDLs realizam o transporte do colesterol dos tecidos para o fígado (ARAÚJO, 2004). O LDL constitui o principal componente do pool de ésteres de colesterol no organismo humano e este componente é freqüentemente referido como “mau colesterol” (SMITH; PINCKNEY, 1991).

O colesterol “ruim” ou “mau colesterol” (LDL) e o VLDL são os principais causadores do bloqueio das artérias coronarianas. Homens na faixa de 35 a 57 anos, que tenham níveis elevados de colesterol, tem 4 vezes mais chances de morrer de doenças cardíacas do que aqueles com taxas normais. Ocorre que monócitos aderem ao endotélio e penetram na parede entre as células que se retraem expondo o subendotélio à corrente sangüínea, havendo aderência de plaquetas e migração e proliferação de células musculares lisas, formando a estria gordurosa (NIXDORF, 1996).

Entretanto, o HDL que são as mais densas partículas das lipoproteínas plasmáticas, é o “bom colesterol”, pois apesar de ser constituído de 15% de ésteres de colesterol, ele apresenta apenas 4% de triglicerídeos (TG). Além disso, ele atua como a principal via de degradação do colesterol pela conversão a ácidos biliares no fígado. Estes são liberados no intestino delgado, onde auxiliam na absorção dos lipídios para formarem os quilomícrons. Os ácidos biliares são reabsorvidos durante a absorção lipídica. Assim, as principais vias de excreção do colesterol do organismo são: (1) conversão a ácidos biliares, no qual é excretado nas fezes, onde é formado o coprostanol (principal esteroide das fezes) por ação microbiana; (2) secreção de colesterol na bile, no qual é transportado ao intestino para eliminação e, (3) uma fração menor do colesterol é convertida em hormônios esteróides, sofrendo eliminação urinária (LUDKE; LÓPEZ, 1999).

3.6.2 Hipercolesterolemia e Dieta

A hipercolesterolemia é a condição do colesterol acima do normal (ETTINGER, 2002), resultante de qualquer alteração nas inter-relações que ocorrem no metabolismo das lipoproteínas (em sua formação, transporte ou degradação), dos receptores ou enzimas, bem como por ingestão calórica aumentada e inadequada na proporção de ácidos graxos ou secundárias a outros fatores como diabetes, hipertensão arterial sistêmica, obesidade e estresse (WAITZERG; BORGES, 2000).

Em indivíduos normais, o organismo compensa um nível de ingestão de colesterol da dieta por transformações na síntese, degradação e excreção do composto. Porém, deve-se ressaltar que, a quantidade sintetizada e metabolizada pelo organismo diariamente (850mg), é bem maior que a quantidade normalmente consumida na dieta (300 a 400mg/dia), da qual cerca de apenas 50% é absorvida. O nível de colesterol é influenciado, em menor proporção, pela quantidade de colesterol na dieta e, mais significativamente, pela quantidade de lipídeos saturados da dieta (CONNOR *et al.*, 1989; MAHAN; ARLIN, 1994).

Alimentos como carnes, ovos e leite podem aumentar o nível de colesterol no sangue. Entretanto outros componentes da dieta também podem resultar em efeitos semelhantes como, por exemplo, gorduras e açúcares. Pesquisadores têm verificado maior correlação entre doenças coronarianas, em função da existência de triglicerídeos no sangue, resultado do consumo de óleos saturados e açúcares do que pela presença de colesterol (POTTER, 1973).

O National Cholesterol Education Program - Dietary Advice, recomenda que o teor de colesterol no sangue humano seja menor que 200 mg/dL e o LDL menor que 130mg/dL para indivíduos que apresentem um ou mais dos seguintes fatores de risco, como: hipertensão, obesidade, diabetes, histórico familiar com enfermidades coronarianas e tabagismo (WARDLAN; INSEL, 1993).

Questões têm sido levantadas sobre a extensão da influência da dieta sobre o colesterol e a relação deste com as doenças coronarianas. Liu *et al.* (2000) observaram no *Women's Health Study (Estudo Saúde da Mulher)*, realizado com quase 40.000 mulheres profissionais de saúde, que os mais altos consumos de vegetais e frutas (exceto batata) estavam associados ao risco mais baixo de DCV,

principalmente infarto. Segundo Araújo (2004), a hipótese de que a hipercolesterolemia é a principal causa de DCV tem sido atribuída à ingestão de lipídios. Entretanto, nos últimos anos, a relação entre os produtos oriundos da oxidação de lipídios e as DCV têm obtido considerável suporte científico; ou seja, lipídios oxidados são mais prejudiciais às artérias que o lipídio nativo.

O colesterol está associado com o processo de aterosclerose, constituindo um dos principais componentes da placa aterosclerótica, considerando-se a aterosclerose um importante problema patológico, não só pelas suas conseqüências, como pela incidência em grande número de indivíduos e causa de óbito em diversas partes do mundo (FRANCO, 1997).

A aterosclerose é uma doença que se desenvolve nas paredes das artérias e também pode ser desencadeada por fatores genéticos, ambientais e/ou nutricionais (PATEL *et al.*, 2001). Entre as desordens metabólicas lipídicas, a aterosclerose é uma das que provocam lesões e podem levar a cirurgias de ponte safena. Neste processo, ocorre injúria do endotélio provocada pela oxidação da LDL. Além disso, um processo inflamatório é evidenciado, bem como acúmulo de células espumosas, tecido conjuntivo, colágeno e coagulação sanguínea (BERLINER *et al.*, 1995; MARTINEZ; LOURENÇO, 1996).

A maioria das pessoas com colesterol elevado não têm nenhum sintoma até que a aterosclerose cause estreitamento significativo das artérias que alimentam o coração (artérias coronárias) e o cérebro (artérias cerebrais). O resultado deste entupimento pode levar à dor torácica relacionada ao coração (angina) ou outros sintomas de doença coronariana, como também sintomas associados à diminuição do suprimento de sangue para o cérebro (ataques isquêmicos transitórios ou derrame cerebral).

Porém as lipoproteínas de alta densidade (HDL) têm um papel protetor contra o desenvolvimento da aterosclerose, impedindo a oxidação das lipoproteínas de baixa densidade (LDL). Assim, a relação inversa entre risco para eventos ateroscleróticos e níveis maiores de HDL, podem ser decorrentes da presença de enzimas associadas às HDL que protegem contra a oxidação das LDL, além da atuação no transporte reverso de colesterol (MARTINEZ; LOURENÇO, 1996).

A dietoterapia ocupa papel de destaque na aterosclerose, devendo ser aplicada de modo individual, relacionada com a gravidade e o estado clínico do paciente, considerando-se os fatores de risco. Dietas pobres em gorduras saturadas e em colesterol podem reduzir a taxa de colesterol sanguíneo de 10 a 15% em pacientes com hipercolesterolemia (FRANCO, 1997).

Há evidências que sugerem que fibras na dieta podem reduzir o colesterol sérico, por se ligarem aos ácidos biliares, ou favorecerem o crescimento de uma microbiota que produza ácidos biliares secundários, que não são bem absorvidos como os primários (MAHAN; ARLIN, 1994; WOLEVER *et al.*, 1994). Tanto a ingestão de fibras como de vegetais indigeríveis tem sido preconizada na aterosclerose, por aumentarem a excreção de ácidos biliares neutros (IMAIZUMI *et al.*, 1993).

3.7 ESTUDOS DE INTERVENÇÃO EM HUMANOS

3.7.1 Utilização de proteína de soja

Segundo Carroll (1991), os primeiros estudos que analisaram a possibilidade de proteínas diminuírem o colesterol sanguíneo, foram realizados na década de 1940. Esses estudos mostraram que uma dieta contendo 38% de proteínas, sob a forma de caseína (proteína encontrada no leite de vacas), causava aterosclerose em coelhos. No entanto, quando a caseína foi substituída por farinha de soja (que continha 50% de proteína), a doença não se desenvolveu naqueles animais. Estudos realizados em seres humanos demonstraram que proteína de soja, substituindo proteínas animais na dieta, podem diminuir os níveis sanguíneos de colesterol total, LDL-colesterol e triglicerídeos, entre indivíduos com hipercolesterolemia, mas a proteína tem pouco efeito em pessoas com níveis normais de colesterol sanguíneo e, dietas ricas em proteínas e com baixo teor de gordura, foram capazes de reduzir o colesterol em 20% ou mais. O efeito da proteína da soja sobre o colesterol sanguíneo foi semelhante em homens e mulheres, mas pode ser maior nos mais jovens do que em idosos.

O primeiro estudo demonstrativo das propriedades hipocolesterolêmicas em produtos com soja foi descrito por Hodges *et al.* em 1967 (apud SIRTORI *et al.*, 1995). Desde então, a maioria dos trabalhos foram desenvolvidos efetuando-se a troca parcial ou total das proteínas animais da dieta por preparações à base de proteína da soja. Geralmente estes estudos foram realizados entre três a seis semanas num modelo cruzado, sendo os próprios pacientes controle de si mesmos (SIRTORI *et al.*, 1995).

Jenkins *et al.* (2000) estudaram o conteúdo dos lipídios séricos e a redução da densidade de oxidação de lipoproteínas através do consumo de cereais matinais a base de soja. O estudo foi realizado com 25 indivíduos hiperlipidêmicos, que receberam através dos cereais matinais, 36g/dia de proteína de soja e 168mg/dia de isoflavonas, além de cereais matinais sem soja (controle). Cada cereal foi consumido por três semanas, em um estudo cruzado randomizado, com intervalo de duas semanas entre cada tratamento. Os resultados mostraram que não houve

diferença significativa nos lipídios séricos entre os tratamentos após três semanas. A única diferença significativa foi de um aumento de $3,8\% \pm 1,5\%$ no nível de apolipoproteína A-1 no grupo controle ($p=0,021$). Entretanto, a redução do LDL-colesterol foi constatada quando se comparou os dois tratamentos ao tratamento controle, na razão de redução do LDL colesterol de $9,2\% \pm 4,3\%$ ($p=0,042$) no cereal provido com proteína de soja e $8,7\% \pm 4,2\%$ ($p=0,050$) no cereal contendo isoflavona.

Pazzucconi *et al.* (1997) analisaram a redução do LDL colesterol em 21 pacientes, sendo oito homens e 13 mulheres, com idades entre 23 e 70 anos, que apresentavam hipercolesterolemia severa, através da suplementação de 7% de proteína de soja em leite de vaca, tendo como tratamento controle o leite de vaca comum. O critério de seleção dos pacientes foi que apresentassem níveis de colesterol total (CT) entre $>300\text{mg/dL}$ e $<400\text{mg/dL}$ e triglicerídeos (TG) $<300\text{mg/dL}$. Após quatro semanas, em uma dieta padrão de baixa gordura, os pacientes foram designados, ao acaso, entre quatro semanas com uma dieta de leite de vaca ou uma dieta com leite de soja. Após o período de quatro semanas de intervalo, as duas dietas foram trocadas. Inicialmente, após duas semanas e ao final de cada período da dieta, o CT, TG, LDL-colesterol foram mensurados. Os resultados mostraram que a suplementação com proteína de soja reduziu o LDL-c de 5% a 11% quando os pacientes receberam o leite com soja entre o primeiro e segundo tratamento. Entretanto, este decréscimo não atingiu significância estatística. Os autores concluíram que considerando os dados obtidos com o tratamento de leite de soja, observa-se que o decréscimo de LDL-c foi de 7,5% ($p=0,05$), de modo que se torna efetiva a adição deste suplemento em dietas para pacientes com hipercolesterolemia severa.

Wong *et al.* (1998) realizaram um estudo com 13 homens normocolesterolêmicos e 13 homens hipocolesterolêmicos com idades entre 20 e 50 anos que foram designados ao acaso e analisados em estudo cruzado. Cada grupo de indivíduos foi alimentado com proteína de soja e proteína animal por cinco semanas. Após um período de quarentena de 10 a 15 semanas, os indivíduos foram alimentados alternadamente por cinco semanas. O efeito hipocolesterolêmico da proteína de soja foi independente da idade, peso corporal, pré-tratamentos de concentrações de plasma lipídico e seqüência de tratamento da dieta. Os resultados

indicaram que a dieta com proteína de soja aumentou o efeito hipocolesterolêmico em homens normocolesterolêmicos e hipercolesterolêmicos, associando a proteína a um decréscimo estatisticamente significativo da concentração de LDL-colesterol ($p=0,029$).

Nagata *et al.* (1998) examinaram a relação entre o consumo de proteína de soja e a concentração de colesterol sérico total em 1242 homens e 3596 mulheres, todos japoneses. O consumo de produtos de soja e vários alimentos e nutrientes foram avaliados através de um questionário semiquantitativo de frequência alimentar. Amostras de sangue foram coletadas dos indivíduos para medir a concentração do colesterol sérico total e uma tendência significativa ($p=0,0001$) foi observada quanto ao decréscimo da concentração do colesterol total associada a um aumento do consumo de produtos com soja em homens considerando sua idade, fumante ou não fumante, ingestão total de caloria, proteína e gordura. A mesma tendência, também foi notada em mulheres mais idosas, em situação de menopausa com maior índice de massa corporal. Os dados encontrados sugeriram que produtos de soja tiveram papel homeostático no colesterol humano.

Anderson, Johnstone e Cook-Newell (1995), analisaram através de uma meta-análise, o potencial da proteína de soja na diminuição dos níveis do LDL-colesterol através de 38 estudos (34 com adultos e 4 com crianças) com a participação de 730 voluntários. Entre as fontes de proteína de soja, 20 estudos utilizaram isolado protéico de soja, 15 usaram proteína texturizada de soja e três combinaram o isolado e a proteína texturizada de soja. O consumo médio de proteína de soja foi de 47g/dia (entre 17-124g/dia), sendo que 15 estudos utilizaram mais de 31g/proteína de soja/dia. Em 19 estudos, a proteína de soja e a dieta controle foram consideradas e comparadas com os respectivos consumos de gordura total, gordura saturada, colesterol e peso corporal. Os resultados mostraram que adultos e crianças tiveram respostas similares em relação às dietas, bem como que os tipos de proteína de soja fornecida (isolado versus proteína de soja texturizada) não tiveram efeito significativo. Através de análise estatística observou-se que a proteína de soja teve efeito significativo quando comparada ao tratamento controle, e que esta proteína foi associada com 9,3% na redução do colesterol total, 12,3% no LDL-colesterol e 10,5% em triglicérides, com um pequeno, porém insignificante aumento (2,4%) da proteína de alta-densidade (HDL). Análises de

regressão linear indicaram que o nível limiar de ingestão de soja, no qual os efeitos sobre os lipídeos do sangue se tornaram significativos foi de 25g/dia.

3.7.1.1 Mecanismos hipocolesterolêmicos atribuídos à soja

Alguns dos mecanismos hipocolesterolêmicos atribuídos a soja são discutidos a seguir.

Torres, Torre-Villalvazo e Tovar (2006), afirmam que numerosos avanços têm sido feitos para explicar os mecanismos pelos quais a proteína da soja, exerce efeitos benéficos sobre as concentrações séricas de colesterol e triglicerídeos e que, existem vários fatores que devem ser considerados. Esses fatores incluem a quantidade de proteína da dieta, hormônios como a insulina e glucagon, transcrição de fatores como SREBPs (sterol regulatory element binding proteins) e receptor LXRA que compreendem a quantidade de lipídios nas células, enzimas envolvidas na lipogênese, captação e transporte do colesterol, bem como das enzimas responsáveis pela produção de ácidos biliares. O principal efeito da proteína da soja no metabolismo do colesterol ocorre no fígado, no entanto, o tecido adiposo, intestino, rim e pâncreas parecem desempenhar um papel importante no metabolismo lipídico (Figura 1).

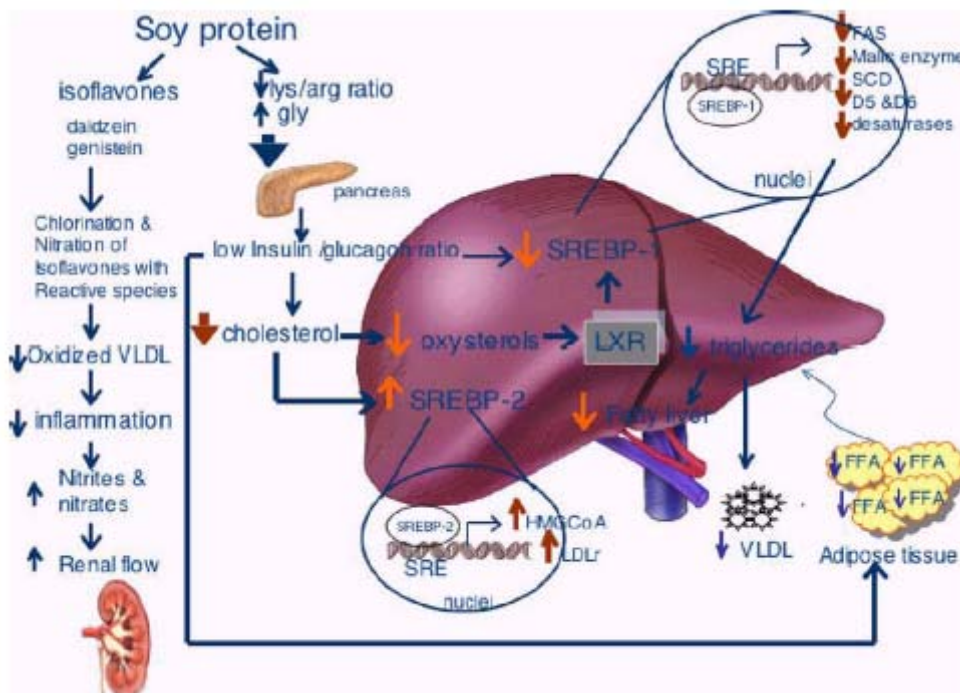


Figura 1 - Mecanismo de ação da proteína de soja (TORRES; TORRE-VILLALVAZO; TOVAR, 2006).

A Figura 1 ilustra que o consumo da proteína de soja diminui a razão insulina/glucagon e reduz a expressão de SREBP-1, que por sua vez diminui a expressão de genes lipogênicos. As isoflavonas estimulam SREBP-2, aumentando a liberação de colesterol sérico. A baixa concentração de colesterol hepático reduz as concentrações de oxisterol, prevenindo a estimulação do LXR-a, o qual reduz a expressão SREBP-1. Como consequência do consumo de proteína de soja, há uma diminuição da concentração de partículas de VLDL. Além disso, a redução dos níveis de colesterol sérico, observados com dietas com proteína de soja, previne lesões renais, diminuindo a resposta inflamatória e aumentando a produção de óxido nítrico (TORRES; TORRE-VILLALVAZO; TOVAR, 2006).

Diversos estudos têm sugerido que o efeito hipocolesterolêmico de proteínas vegetais, em particular da soja, é atribuído à alta excreção fecal de esteróides como uma consequência da redução da absorção intestinal (NAGATA; ISHIWAKI; SUGANO, 1982; HUFF; CARROLL, 1980). Uma grande excreção fecal de esteróides pode levar a um aumento na produção de ácidos biliares a partir do colesterol plasmático, reduzindo assim seus próprios níveis. Porém, para alguns

pesquisadores, este aumento na excreção de ácidos biliares fecais não justificaria tal efeito hipocolesteremiante, visto que a proteína da soja poderia estimular a atividade da enzima hidroximetilglutaril coenzima A redutase (HMGCoA redutase), enzima chave na biossíntese do colesterol (NAGATA; ISHIWAKI; SUGANO, 1982).

Entretanto, estudos realizados principalmente em ratos e coelhos, têm fornecido evidência que a proteína de soja aumenta a excreção fecal de sais biliares, relativo à caseína (POTTER, 1995), visto que coelhos, que são sensíveis à hipercolesterolemia, absorveram colesterol mais facilmente quando alimentados com caseína do que quando alimentados com proteína de soja e, coelhos alimentados com uma dieta de caseína, excretaram menos neutro esteróides e produziram menos ácidos biliares do que os animais alimentados com uma dieta de proteína de soja (CARROLL, 1982; HUFF; CARROLL, 1980). Além disso, coelhos alimentados com caseína excretaram principalmente colesterol, enquanto que aqueles alimentados com proteína de soja excretaram coprostanol, que não é absorvido e aumenta a quantidade de colesterol excretado, sugerindo que a proteína de soja favoreceu a conversão bacteriana do colesterol em coprostanol. Animais em que a proteína de soja foi fornecida, sintetizaram cerca de duas vezes mais colesterol do que aqueles alimentados com caseína (HUFF; CARROLL, 1980). Isto foi devido a um aumento na expressão mRNA de LDLr e HMG-CoA redutase, aumentando a absorção e síntese de colesterol, respectivamente (TOVAR *et al.*, 2002). POTTER (1995) explica que o resultado fisiológico produziu um ambiente no qual o colesterol é "retirado" do organismo. Neste estado, o metabolismo hepático do colesterol modifica-se para fornecer colesterol para uma melhor síntese de ácidos biliares. A biossíntese do colesterol aumenta a atividade dos receptores da lipoproteína de baixa densidade (LDL) e o resultado é um aumento da remoção do colesterol do sangue, através dos receptores LDL, reduzindo assim, as concentrações de colesterol sérico, em especial a fração LDL (Figura 2). Entretanto, TORRES, TORRE-VILLALVAZO e TOVAR (2006), argumentam que mais pesquisas são necessárias para entender os efeitos da proteína de soja, sobre os mecanismos moleculares da síntese dos ácidos biliares e dos transportes.

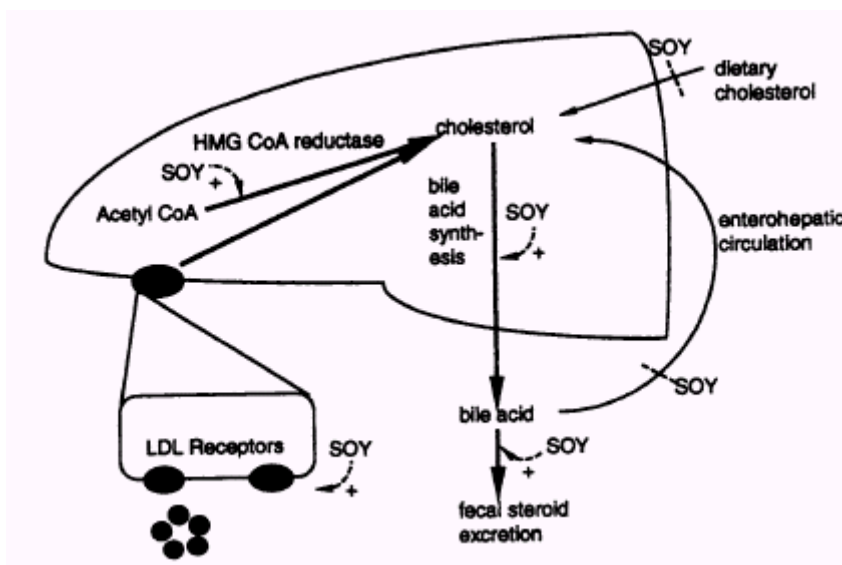


Figura 2 - Possível influência da soja na concentração do colesterol (POTTER, 1995).

Segundo Anderson (2003), um dos possíveis mecanismos hipocolesterolêmicos da soja, seria a interação de pequenos peptídeos (liberados no intestino e absorvidos através da circulação portal pela hidrólise da proteína da soja), com os receptores da LDL. Estes peptídeos elevariam a expressão do RNA mensageiro dos receptores da LDL, aumentando a depuração desta lipoproteína.

Para Potter (1995) e Balmir *et al.* (1996), o efeito hipocolesterolêmico da soja, pode ser devido também a componentes não protéicos na proteína de soja, como fibras, ácido fítico, minerais e isoflavonas e a variedade da pureza dessas proteínas vegetais usadas também é questionada. De acordo com Belleville (2002), as proteínas de soja são geralmente usadas como isolado protéico que contém componentes não protéicos associados com as proteínas da soja, que podem ser responsáveis pela ação da redução do colesterol.

Os diferentes efeitos de proteínas vegetais e animais em níveis de lipídios séricos, parecem ser causadas em grande parte, por diferenças na sua composição de aminoácidos (YOUNG, 1991). Entretanto, proteína isolada de soja complementada com sete aminoácidos, indispensáveis para níveis comparáveis aos encontrados em proteínas animais, não conseguiram produzir uma resposta hipocolesterolêmica (CARROLL, 1982). Estes resultados indicam a possibilidade de que não apenas a proteína, mas também os fitoquímicos associados com a proteína,

principalmente isoflavonas, estão envolvidas no mecanismo para reduzir as concentrações de lipídios séricos (KOTSOPOULOS *et al.*, 2000; SEWELL; HOLLENBECK; BRUCE, 2002). No entanto, algumas evidências são controversas. O pleno efeito das proteínas da soja sobre o metabolismo lipídico foi observado quando a proteína da soja continha isoflavonas, o que indica que ambos os componentes são necessários para reduzir os lipídios do sangue (CARROLL, 1982). Devido às interações complexas entre proteínas e isoflavonas, o mecanismo/mecanismos através dos quais a proteína de soja exerce seus efeitos benéficos sobre o metabolismo lipídico não é/são totalmente compreendidos (TORRES; TORRE-VILLALVAZO; TOVAR, 2006).

Proteínas animais tendem a ter uma maior proporção de aminoácidos essenciais do que proteínas vegetais, com exceção de arginina, que é geralmente mais elevada nas proteínas vegetais (CARROLL, 1982). Kritchevsky *et al.* (1987) sugeriram que a razão lisina/arginina em uma proteína, poderia ser um fator determinante da sua capacidade aterogênica. A composição de aminoácidos dietéticos de proteínas parece ser um fator importante nos seus efeitos sobre níveis plasmáticos de colesterol em coelhos (KATAN; VROOMEN; HERMUS, 1982) e ratos (TANAKA; SUGANO, 1989), mas estudos em que as misturas de aminoácidos foram testadas na alimentação de coelhos, mostraram pouca correlação entre a razão lisina/arginina no colesterol e plasma (CARROLL, 1981). De acordo com Woodward e Carroll (1985), outras propriedades das proteínas, tais como a sua digestibilidade, podem também influenciar os resultados, apesar do estudo de Kuyvenhoven *et al.* (1989), sobre efeitos de caseína e proteína de soja no colesterol sérico, em relação à sua digestibilidade em coelhos, ter sugerido que este não pode ser um fator determinante.

Sanchez *et al.* (1985), através de estudo com humanos alimentados com uma dieta de proteínas vegetais, observaram reduções significativas no colesterol sérico e na razão lisina/arginina no plasma. As concentrações plasmáticas de uma série de outros aminoácidos também foram correlacionadas com o nível do colesterol sérico. Os autores sugeriram que aminoácidos podem alterar a secreção de hormônios, como a insulina e glucagon, que por sua vez pode afetar os níveis de colesterol sanguíneo, alterando a atividade da enzima HMG CoA redutase, limitando sua taxa da síntese do colesterol.

As DCV são menos freqüentes em mulheres na pré-menopausa, quando comparadas a homens e mulheres na pós-menopausa. Este efeito protetor é atribuído aos estrógenos, e um dos mecanismos de ação estaria relacionado ao metabolismo das lipoproteínas plasmáticas. Os estrógenos reduzem o colesterol da LDL e aumentam o colesterol da HDL. Outros mecanismos potenciais de ação dos estrógenos incluiriam a proteção contra a oxidação da LDL, a diminuição da Lipoproteína A (Lp(a)), a potencialização da fibrinólise e o aumento da sensibilidade à insulina (POTTER, 1995). Acredita-se que substâncias antioxidantes possam interferir em diferentes níveis destes eventos e possuam diferentes mecanismos primários de ação. Do ponto de vista químico, compostos polifenólicos (como os flavonóides existentes na soja) são os mais promissores antioxidantes naturais, no que diz respeito à inibição das modificações aterogênicas da LDL (KAPIOTIS *et al.*, 1997). Mesmo que o mecanismo de ação destes flavonóides não esteja totalmente esclarecido, é atribuída a genisteína e daidzeína, a proteção contra a oxidação da LDL (CLARKSON, 2002).

3.7.2 Utilização de β -glucana

A ação de β -glucanas de cereais na diminuição da taxa de colesterol plasmático, principalmente em indivíduos hipercolesterolêmicos, tem sido investigada em diversos estudos. Segundo Davy *et al.* (2002) a propriedade de fibras solúveis atuarem na redução dos riscos de DCV é, em parte, devido a estas favorecerem modificações nas lipoproteínas e nos níveis de lipídios sangüíneos. Para Duss e Nyberg (2004), a ação das β -glucanas ocorre principalmente devido ao aumento da viscosidade do conteúdo do intestino delgado.

Karmally *et al.* (2005) conduziram em americanos hispânicos, um estudo aleatorizado visando a diminuição de colesterol e utilizaram cereal de farelo de aveia contendo β -glucana versus cereal de milho sem fibra solúvel. O estudo foi realizado por onze semanas com 152 homens e mulheres com idades entre 30 a 70 anos, cujos níveis de LDL-colesterol encontravam-se na faixa entre 120 a 190mg/dL e triglicerídeos <400mg/dL. Após a primeira etapa da dieta por cinco semanas, os participantes foram submetidos ao consumo dos dois cereais por seis semanas. A

dose diária de β -glucana foi de 3g. Ao final do experimento, o consumo do cereal com aveia foi associado à redução dos níveis de plasma sanguíneo do colesterol total ($-10,9 \pm 21,6\text{mg/dL}$; $-4,5\%$) e LDL-colesterol ($-9,4 \pm 20,3\text{mg/dL}$; $-5,3\%$). O consumo de cereal com milho não afetou tampouco o colesterol total ($+1,2 \pm 18,3\text{mg/dL}$; $1,1\%$) ou o LDL colesterol ($+1,2 \pm 17,5\text{mg/dL}$; $2,2\%$). Diferenças entre os efeitos dos dois cereais no colesterol total e no LDL-colesterol foram significativas ($p= 0,0003$ e $p= 0,0007$, respectivamente).

Romero *et al.* (1998) estudaram homens do Norte do México, com idades entre 20 e 45 anos, sendo 36 homens com colesterol total $<200\text{mg/dL}$ e 30 homens hipercolesterolêmicos (colesterol $>220\text{mg/dL}$). Durante 8 semanas foram determinados os efeitos da fibra solúvel de psyllium e do farelo de aveia, em relação ao decréscimo do LDL-colesterol desta população, através do consumo de 100g/dia de biscoitos tipo 'cookie' (equivalente a 1,3 e 2,6g/dia de fibra solúvel em psyllium e farelo de aveia, respectivamente). Os indivíduos foram distribuídos ao acaso em três grupos, sendo fornecido ao grupo controle farelo de trigo e aos outros dois grupos, psyllium e farelo de aveia. A concentração do LDL-colesterol foi reduzida, em média de 22,6% e 26% no grupo psyllium e farelo de aveia, respectivamente ($p<0,001$), enquanto que uma redução de 8,4% foi observada em indivíduos hipercolesterolêmicos do grupo controle. Os efeitos nos níveis de triglicérides foram observados entre os tratamentos das três dietas, exceto para indivíduos hipercolesterolêmicos suplementados com farelo de aveia quando uma redução de 28% nos triglicérides foi observada após 8 semanas ($p<0,01$). Os resultados indicaram que o psyllium e a farelo de aveia foram eficazes na redução do LDL-colesterol em indivíduos normais e hipercolesterolêmicos.

Keenan *et al.* (1991), baseando-se na taxa de LDL-colesterol, analisaram homens e mulheres com idades entre 20 e 70 anos, através de dieta suplementada com 28g/dia de aveia, cereais com trigo e um terceiro grupo controle (sem dieta específica). Após o fornecimento das dietas, a análise dos lipídios sanguíneos demonstrou significativa redução do colesterol total ($-2,2\%$) e LDL-colesterol ($-3,9\%$) no grupo que utilizou aveia. O grupo que utilizou trigo resultou em aumentos de 3,3% de colesterol total e 4,0% de LDL-colesterol, enquanto que o grupo controle apresentou aumentos de 6,0% de colesterol total e 6,4% de LDL-

colesterol. Concluiu-se que a adição de 28g/dia de aveia proporcionou uma redução significativa no CT e no LDL-c em indivíduos hipercolesterolêmicos.

Ripsin *et al.* (1992) realizaram estudo testando o efeito do consumo de produtos de aveia na redução dos níveis de colesterol total do sangue. Foram estudados 20 indivíduos distribuídos ao acaso que tiveram suas dietas controladas, sendo que 10 indivíduos tiveram critério de seleção quanto ao nível de colesterol total do sangue. Para o grupo controle utilizou-se trigo. A redução foi verificada em indivíduos que apresentavam maiores níveis de colesterol (≥ 229 mg/dL), particularmente quando a dose de 3g ou mais de fibra solúvel foi empregada, concluindo-se que a incorporação de aveia em produtos da dieta pode causar redução nos níveis de colesterol sanguíneo.

Davy *et al.* (2002) examinaram os efeitos do consumo de aveia e de trigo no plasma lipídico e LDL-colesterol, analisando 36 homens com idades entre 50 e 75 anos que foram distribuídos ao acaso, para consumirem diariamente por 12 semanas, cereais de aveia ou trigo providos de 14g de fibra. Antes e após a intervenção, o plasma lipídico e as lipoproteínas foram mensurados através de exames de ressonância magnética nuclear. Os dados mostraram que a aveia comparada com o trigo proporcionou redução do LDL-colesterol, modificando o triglicerol sanguíneo e as concentrações de HDL-colesterol.

3.7.2.1 Mecanismos hipocolesterolêmicos atribuídos à aveia

A exemplo do que ocorre com a proteína da soja, alguns autores sugerem que o mecanismo de ação hipocolesterolêmica da β -glucana de aveia não se encontra ainda totalmente elucidado.

Para explicar a ação das fibras solúveis, na redução dos níveis séricos de colesterol e triglicerídeos em ratos e humanos, foram propostos diversos mecanismos (JUDD; TRUSWELL, 1992). As fibras, sozinhas ou em combinação, podem atuar da seguinte forma: (a) alterando a digestão e a absorção dos lipídeos dietéticos e/ou aumentando a excreção fecal dos ácidos biliares e esteróis neutros, agindo como seqüestrantes dos ácidos biliares; (b) aumentando a produção de ácidos graxos de cadeia curta no cólon, devido a fermentação e/ou (c) diminuindo a porcentagem de ácidos biliares primários na bile, embora aumentem a de ácidos biliares secundários (TOPPING, 1991). As fibras solúveis se complexam com os ácidos biliares no intestino delgado e são resgatados no cólon e aí convertidos por bactérias, em ácidos biliares secundários (ANDERSON; JONES; RIDDELL-MASON, 1994). Também ocorre aumento na síntese do colesterol hepático devido à regulação da homeostase do colesterol corporal total (ARJMANDI *et al.*, 1992).

Segundo Wood (1993), fibras que são solúveis em água, porém resistentes aos processos digestivos humanos, têm a propriedade de formar soluções viscosas e géis quando em contato com água. Caruso e Menezes (2000) explicam que tal mecanismo provoca a diminuição da absorção do bolo alimentar e retardo do esvaziamento gástrico, resultantes da adesão de líquidos às suas fibras solúveis e aumento na viscosidade, o que diminui sua digestão pelas enzimas pancreáticas. De acordo com Jenkins *et al.* (2002), este efeito tem demonstrado reduzir o índice glicêmico dos alimentos ingeridos e a absorção de colesterol.

Para Wood (1993), o mecanismo de ação, que ainda não estava totalmente esclarecido, poderia ser devido a um dos seguintes fatores ou a uma conjunção deles, tais como: alteração do metabolismo e secreção de ácidos biliares; modificação das concentrações de ácidos graxos de cadeia curta; diminuição da digestão de lipídios e mudanças nos níveis de hormônios pancreáticos e gastrointestinais.

Fibras vegetais parecem aumentar a excreção de ácidos biliares e esteróis neutros através da ligação destes esteróis, impedindo a sua reabsorção e muitas fibras têm propriedades distintas dos ácidos biliares vincutivo, *in vitro* (STORY; KRITCHEVSKY, 1976a, 1976b apud ANDERSON; CHEN, 1999). Normalmente, entre 95 e 99% dos ácidos biliares são reabsorvidos e reinseridos na circulação enterohepática (DOWLING, 1973 apud ANDERSON; CHEN, 1999). O fígado pode reagir à redução de absorção por desviar colesterol, lipoproteína de síntese dos ácidos biliares e assim secretar menos lipoproteína colesterol. Embora isso possa representar um mecanismo para contribuir com os efeitos hipocolesterolêmicos de fibras vegetais, duas falhas impedem de aceitar isso como o principal mecanismo. Primeiro, o fígado tem a capacidade de aumentar a produção dos ácidos biliares por quase 10 vezes, em condições de desvio biliar onde todos os ácidos biliares são perdidos com colestiramina e tratamento intensivo. A ingestão de pectina, por exemplo, reduz significativamente as concentrações séricas de colesterol, apenas com pequenos aumentos na excreção dos ácidos biliares. O aumento de 35% na excreção dos ácidos biliares representa apenas um aumento em excreção fecal de 100-150mg/dia e o fígado deverá ser capaz de compensar esta perda facilmente. Em segundo lugar, *in vitro*, a ligação de ácidos biliares por fibras não está bem correlacionada com seus efeitos hipocolesterolêmicos. Assim, não se pode concluir que ácidos biliares vinculados por fibras e posterior excreção fecal, desempenham um papel fundamental na redução das concentrações do colesterol sérico (ANDERSON; CHEN, 1999).

Para Hallfrisch e Behall (2000), estudos sugerem que a ação da β -glucana na diminuição dos níveis de colesterol e da glicemia pós-prandial ocorre em razão da sua alta viscosidade. A esse respeito, Keogh *et al.* (2003) esclarecem que ao entrar em contato com a água, a β -glucana forma um gel que torna o bolo alimentar mais viscoso, contribuindo para uma menor absorção da glicose e do colesterol. O menor contato do colesterol da dieta com o epitélio intestinal favorece, ainda, sua conversão em ácidos biliares que serão excretados pelas fezes. Segundo Anderson *et al.* (2002), outros estudos propõem um mecanismo de ação adicional: a redução da síntese hepática de colesterol por ácidos graxos de cadeia curta, produzidos pela ação da β -glucana no cólon.

3.8 PLANEJAMENTO PARA MISTURAS

O estudo de planejamento de misturas tem encontrado larga aplicação na ciência, na engenharia e particularmente na indústria. Visto como uma tecnologia de qualidade para atingir a excelência de um produto em termos de racionalização de custo e aceleração do ciclo de desenvolvimento, é um instrumento usado para otimizar produtos e processos, melhorar a transferência dos produtos da pesquisa e desenvolvimento para a manufatura e, efetivamente, solucionar problemas de fabricação (GRAF; SAGUY, 1991; BARROS NETO; SCARMINIO; BRUNS, 1996; SCHABBACH *et al.*, 2003).

Experimentos com misturas são empregados em várias áreas para o desenvolvimento de produtos. O desenvolvimento de qualquer produto alimentar envolvendo mais de um ingrediente requer algumas formas particulares de experimentos para mistura, ao contrário de experimentos fatoriais (THOMPSON, 1981).

A partir de um planejamento de misturas, a resposta ou propriedade muda somente quando são feitas alterações nas proporções dos componentes que fazem parte dessa mistura, ou seja, não é possível variar um ingrediente ou componente enquanto se mantêm todos os demais constantes. Portanto, a finalidade principal de se utilizar essa metodologia é verificar como as respostas ou propriedades de interesse são afetadas pela variação das proporções dos componentes da mistura. Nesse caso, as proporções dos componentes (X_i) não são independentes, pois a soma de todas elas sempre tem que totalizar 100% (BARROS NETO, 1996). Assim que a proporção de um componente é alterada, isto ocorre também com pelo menos um dos outros componentes, uma vez que a soma de todos os componentes (X) é sempre 1,0 (ou 100%) (Equação 1). Por este motivo, delineamentos experimentais convencionais não podem ser aplicados, pois, nestes, as variáveis são independentes umas das outras (MONTGOMERY; VOTH, 1994; BARROS NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2003).

$$X_i > 0, \quad X_1 + X_2 + X_3 + \dots + X_q = 1,0 \quad (\text{Eq. 1})$$

A consideração básica é que a propriedade considerada depende exclusivamente das frações dos componentes na mistura (x_i , que variam entre 0 e 1 e cuja soma é igual à unidade), e não da quantidade da mistura (a propriedade é intensiva). Ou seja, o valor da propriedade (ou sua resposta) é função das proporções desses componentes e é inteiramente determinado por elas (MYERS; MONTGOMERY, 2002; CORNELL, 2002).

Segundo Piepel e Cornell (1994), um planejamento típico para experimento com mistura envolve etapas como: definição dos objetivos do experimento, seleção dos componentes na mistura e algum outro fator para ser estudado, identificação de alguma limitação do componente na mistura ou outros fatores especificando a região experimental, especificação da resposta a ser medida, proposta de uma forma de modelo e outros fatores selecionados para o estudo, seleção de um planejamento experimental que seja suficiente - não somente para ajustar o modelo proposto, mas também permitir um teste da adequação do modelo.

O delineamento de misturas pode ser entendido como um caso especial da metodologia do cálculo de superfícies de resposta, a qual utiliza ferramentas estatísticas e matemáticas para modelar, simular e otimizar uma determinada propriedade de uma mistura em função de seus componentes. A função resposta (superfície) pode geralmente ser expressa, na forma canônica, como um polinômio de primeiro, segundo ou terceiro grau (MYERS; MONTGOMERY, 2002; CORNELL, 2002). Com os resultados obtidos no delineamento de misturas pode-se utilizar polinômios simplificados, que definem uma superfície de resposta, para relacionar a propriedade de interesse às diversas proporções utilizadas. Isso possibilita a previsão quantitativa das propriedades de qualquer formulação no sistema estudado, fazendo somente alguns experimentos (SCHABBACH *et al.*, 2003). Nesse sentido, a abordagem do delineamento de misturas visa à diminuição do número de experimentos necessários para determinação de propriedades ótimas do sistema em estudo, tais como as propriedades reológicas.

O número e a localização dessas misturas selecionadas no espaço fatorial em que se representam as composições são, normalmente, definidos por uma rede de pontos uniformemente espaçados, conhecido como arranjo simplex $\{q, m\}$, onde q é o número de componentes e m é o parâmetro de espaçamento no

arranjo. A equação polinomial obtida por regressão, só pode ser considerada como modelo válido da propriedade, quando os erros (diferença entre os valores experimentais e os preditos pela equação) estão distribuídos aleatoriamente em torno de uma média zero, com uma variância constante. De posse de um modelo válido, uma estimativa da propriedade pode ser calculada para qualquer outra mistura dos mesmos q componentes, sem necessidade, portanto, de determinação experimental (MYERS; MONTGOMERY 2002; CORNELL, 2002).

CAPÍTULO 4 ESTUDO TECNOLÓGICO

4.1 MATERIAL E MÉTODOS

4.1.1 Material

Na formulação dos biscoitos, utilizou-se farinha desengordurada de soja (FDS), fornecida pela Caramuru Alimentos (Apucarana/PR) e farelo de aveia (FA), fornecido pela SL Cereais e Alimentos Ltda (Mauá da Serra/PR). Outros ingredientes, como: gordura vegetal, açúcar, bicarbonato de sódio, farinha de trigo especial (FT), lecitina de soja, maltodextrina, ovo em pó e farinha de milho (fubá amarelo), foram adquiridos no comércio local. Os aromas foram cedidos pela Empresa Duas Rodas e as enzimas xilanases Pentopan® Mono BG e Veron Rye®, pelas Empresas Novozymes e ABF Ingredients Company, respectivamente.

4.1.2 Métodos

4.1.2.1 Formulação e produção dos biscoitos

Inicialmente, visando a otimização das formulações de biscoitos, avaliou-se o efeito da FDS, FA, água, emulsificante (lecitina de soja) e maltodextrina, mantendo os demais componentes em proporção constante. O processo de elaboração dos biscoitos seguiu o macrométodo AACC 10-50D (AACC, 1995), com adaptações, e a relação dos ingredientes utilizados encontra-se na Tabela 1.

Tabela 1 - Formulação inicial dos biscoitos (estudo exploratório).

Ingredientes	Peso (g)
Farinha desengordurada de soja (FDS)	20 – 40 ^A
Farelo de aveia (FA)	20 – 40 ^A
Maltodextrina	2 – 15 ^A
Lecitina de soja	0,1 – 0,6 ^A
Água	30 – 40 ^A
Açúcar	75
Farinha de trigo (FT)	60
Margarina	22
Ovo em pó	12
Fermento em pó químico (bicarbonato de sódio)	7

^A A soma dos componentes é igual a 100.

A massa foi processada em batedeira planetária (Arno, São Paulo, Brasil) misturando-se inicialmente a margarina e o açúcar, em velocidade baixa, por 30 segundos. Em seguida, adicionou-se os demais ingredientes sólidos e a água, misturando em velocidade média, por dois minutos. Obtida a massa, esta foi estendida com rolo até a espessura de 5mm e moldada com o auxílio de forma circular de 4cm de diâmetro. Os biscoitos foram assados a $180\pm 2^{\circ}\text{C}$, por 25 minutos.

Após a saída do forno (Brastemp, São Paulo, Brasil) modelo Quality, os biscoitos foram resfriados à temperatura ambiente ($22\pm 2^{\circ}\text{C}$) e acondicionados em pequenos sacos de polipropileno biorientado laminado, que foram selados e conservados em temperatura ambiente, em caixa de papelão lacrada, até o momento das análises.

Com a realização das análises nos testes preliminares, as variáveis FDS, FA e maltodextrina foram selecionadas para um novo estudo, por terem apresentado significância nas características de dureza e expansão dos biscoitos. Os ingredientes e seus teores empregados neste estudo estão apresentados na Tabela 2. As faixas de variação de FDS, FA e maltodextrina foram estabelecidas com base no estudo preliminar.

Tabela 2 - Formulação dos biscoitos (estudo de otimização).

Ingredientes	Peso (g)
Farinha desengordurada de soja (FDS)	27,6 – 62,1 ^A
Farelo de aveia (FA)	27,6 – 62,1 ^A
Maltodextrina	1,4 – 10,3 ^A
Lecitina de soja	0,5
Água	75
Açúcar	75
Farinha de trigo (FT)	60
Margarina	22
Ovo em pó	12
Fermento em pó químico (bicarbonato de sódio)	7

^A A soma dos componentes é igual a 100.

4.1.2.1.1 Produção de biscoitos com adição de enzimas

Foram realizados testes de produção dos biscoitos com a adição das enzimas Pentopan® Mono BG e Veron Rye®, através da Formulação 6, selecionada após realização do ensaio de otimização das formulações. As doses utilizadas da enzima Pentopan® Mono BG foram 0; 0,002; 0,004; 0,008; 0,012; 0,016 e 0,020% e da enzima Veron Rye® 0; 0,010; 0,015; 0,020; 0,025 e 0,030%. Todas as dosagens foram calculadas em relação ao peso total das farinhas (FDS + FA + FT).

As enzimas na forma de pó foram misturas às farinhas e posteriormente a massa, durante a adição dos ingredientes sólidos. Após a obtenção da massa, esta foi colocada para descanso durante 30 minutos, para possibilitar a ocorrência da ação das enzimas. Em seguida, a massa foi estendida com rolo até a espessura de 5mm e moldada com o auxílio de forma circular de 4cm de diâmetro. Os biscoitos foram assados a $180\pm 2^{\circ}\text{C}$, por 25 minutos.

A enzima Pentopan® Mono BG é uma enzima indicada para utilização com farinha de trigo. Obtida a partir de culturas específicas de *Aspergillus oryzae*, possui atividade mínima > 2500FXU-W/g, com dosagem recomendada de 10-20g/100kg de farinha.

A enzima Veron Rye® é uma enzima celulolítica utilizada para o tratamento de farinha de centeio na produção de pães com mais de 50% de farinha de centeio. A enzima é obtida a partir de culturas específicas de *Trichoderma reesei*, com atividade mínima > 160CX/mg. Massas produzidas com a enzima Veron Rye® são caracterizadas pelo bom manuseio e satisfatória tolerância à fermentação. A dosagem recomendada é de 10-20g/100kg de farinha.

As diferentes dosagens de ambas enzimas, foram utilizadas visando determinar os melhores valores com relação a dureza do produto.

4.1.2.2 Análises

Foram realizadas análises químicas na matéria-prima (FDS, FA e FT) e nos biscoitos, quanto à umidade, proteína, lipídios, cinzas e fibra alimentar. Realizou-se ainda análise do teor de β -glucanas no farelo de aveia e de isoflavonas na farinha desengordurada de soja.

Nos biscoitos dos estudos exploratório e de otimização, as análises realizadas foram de umidade, dureza e expansão (diâmetro e espessura). No estudo de otimização foram realizadas ainda análises de cor e atividade de água. Nos biscoitos selecionados para análise sensorial, realizou-se análises do teor de β -glucana. Em biscoitos de marcas comerciais que continham farinha de soja ou farelo de aveia em sua composição, foram realizadas análises de umidade, dureza e atividade de água.

4.1.2.2.1 Umidade

O teor de umidade foi determinado utilizando-se estufa regulada a 105°C, até peso constante, segundo o método 931.04 descrito pela AOAC (1997).

4.1.2.2.2 Proteína

Foi determinada pelo método de Kjeldahl 920.152 da AOAC (1997). Neste método, por meio de digestão ácida, o nitrogênio da amostra foi transformado em amônia, a

qual foi posteriormente coletada por destilação e finalmente dosada por titulação. O teor de proteína foi estimado multiplicando-se pelo fator de 6,25.

4.1.2.2.3 Lipídios

Determinado através de extração contínua com solvente em aparelho de Soxhlet, durante 5 horas, conforme o método 922.06 descrito pela AOAC (AOAC, 1997).

4.1.2.2.4 Cinzas

O teor de cinzas foi calculado após a calcinação da amostra em mufla a temperatura de 550°C durante cinco horas, segundo o método 920.26 da AOAC (1997).

4.1.2.2.5 Fibra Alimentar

A análise de fibra alimentar foi realizada segundo o método oficial-gravimétrico, tampão MES-TRIS 991.43 da AACC (1990), determinando-se fibra alimentar total, fibra solúvel e fibra insolúvel.

4.1.2.2.6 Carboidratos Metabolizáveis

Determinados pelo cálculo da diferença entre 100% e a soma total dos valores de porcentagem encontrados para os demais componentes, ou seja, $100 - (\text{umidade} + \text{proteínas} + \text{lipídios} + \text{cinzas} + \text{fibras totais})$.

4.1.2.2.7 Atividade de água

A determinação da atividade de água nos biscoitos foi realizada em triplicata, em aparelho Aqua-Lab, digital, modelo CX-2, fabricado pela Decagon Devices Inc., EUA, à temperatura constante ($22 \pm 1^\circ\text{C}$).

4.1.2.2.8 β -glucanas

A análise de β -glucanas foi realizada segundo o método 995.16 da AOAC (AOAC, 2005).

4.1.2.2.9 Isoflavonas na farinha desengordurada de soja

A análise do teor de isoflavona na farinha desengordurada de soja foi realizada no Laboratório de Análises Físico-Químicas e Cromatográficas da EMBRAPA Soja (Londrina/PR), através da adaptação do método de extração descrito por Carrão-Panizzi, Góes-Favoni e Kikuchi (2002) e do método de quantificação realizado por Berhow (2002).

4.1.2.2.10 Valor calórico

O valor calórico dos biscoitos foi calculado a partir dos dados de composição centesimal aproximada. No cálculo foram utilizados os clássicos fatores de conversão de Atwater, ou seja, 4 kcal.g⁻¹ para carboidratos e proteínas e 9kcal.g⁻¹ para lipídios (WATT; MERRILL, 1963).

4.1.2.2.11 Características dos biscoitos

A determinação de dureza dos biscoitos foi realizada em analisador de textura TA-XT2i (Texture Technologies Corp., Scarsdale, NY) com o software XTRAD Texture Expert para a análise dos dados. Cada amostra de biscoito foi disposta horizontalmente numa plataforma, e cortada ao meio com “probe” tipo faca, com velocidades pré-teste, teste e pós-teste de 5,0mm/s, força do “trigger” de 0,20N e 5,0mm de distância, registrando-se a força de ruptura ou quebra (dureza). Cada biscoito apresentava em média 10mm de altura e 40mm de diâmetro. Foram realizadas seis determinações em cada formulação, em amostras selecionadas de forma aleatória.

Para o cálculo do Fator de expansão (Diâmetro/Espessura), foram realizadas medidas de diâmetro e espessura em seis biscoitos provenientes de uma

mesma fornada e amostradas de forma aleatória, sendo estas determinadas com paquímetro.

A cor dos biscoitos foi medida em aparelho Photovolt (modelo 575), utilizando o filtro Y, com intensidade de luz iluminante C (luz do dia nublado – 6774K) e padrão de calibração branco para 75% de reflectância e preto para 0% de reflectância. Foram efetuadas quatro leituras em quatro biscoitos e os resultados convertidos no sistema CIELAB, expressos como luminosidade (L^*), a^* (vermelho⁺-verde⁻) e b^* (amarelo⁺-azul⁻).

4.1.2.2.12 Características da farinha de trigo

A análise de alveografia na farinha de trigo foi realizada no Laboratório de Fisiologia Vegetal do IAPAR (Instituto Agrônomo do Paraná), em Londrina/PR. As características viscoelásticas foram determinadas em Alvéógrafo da marca Chopin, modelo NG (Vileneuve-la-Garenne Cedex, França), segundo o método 54-30A da AACC (1995). As propriedades analisadas foram tenacidade (elasticidade) (P), extensibilidade (L) e força do glúten (W), que indica a força ou trabalho mecânico necessário para expandir a massa.

4.1.2.3 Análise Sensorial

A partir dos resultados das análises físico-químicas, foram selecionadas três formulações (F3, F6 e F9) que apresentavam características diferenciadas quanto à composição química e dureza instrumental, para avaliação sensorial.

As análises foram iniciadas 48 horas após a elaboração das amostras. Os biscoitos foram dispostos em prato de fundo branco e codificados com números de três dígitos. A ordem de apresentação foi aleatorizada e entre as provas foi oferecida água. Os testes foram realizados em cabines individuais, com luz branca.

Para seleção e caracterização das equipes, foi entregue um questionário de coleta de dados de faixa etária, escolaridade e hábitos de consumo referentes a produtos de soja e aveia, bem como o interesse em participar do teste (Apêndice A). Junto ao questionário, foi solicitado aos provadores que assinassem a Carta de Consentimento, aceitando participar do projeto na qualidade de provador do produto (Apêndice B).

4.1.2.3.1 Análise descritiva de Perfil Livre

Foram empregados quatorze provadores não treinados. Para levantamento dos atributos, foi utilizado o método de rede (MOSKOWITZ, 1983), em 2 sessões, sendo que, em cada sessão, foi apresentado um par de amostras para que os provadores apontassem as similaridades e diferenças. Os pares (formulações F3 e F6, F6 e F9) foram apresentados de maneira a levantar o maior número de atributos possíveis, com relação à aparência, aroma, sabor e textura. Os atributos desenvolvidos pela equipe foram diferenciados e o número levantado variou de cinco a dez, com uma média de sete. Após o levantamento de atributos, foram montadas, com cada provador, a ficha e a lista de definição dos atributos e fez-se uma sessão simulando a apresentação real, para que os provadores alterassem, se necessário, as definições, termos e extremos de escala. O Apêndice C mostra como exemplo uma ficha de atributos utilizada pelo provador na avaliação do produto.

4.1.2.3.2 Análise de Aceitação

A aceitação foi avaliada com a participação de 50 provadores. Foi utilizada escala hedônica estruturada de nove pontos com termos verbais no meio e nos extremos, sendo 1, atribuído para desgostar muitíssimo e 9, para gostar muitíssimo (Teixeira; Menert; Barberta, 1987). A ficha de avaliação encontra-se no Apêndice D.

4.1.2.4 Produção dos biscoitos em escala industrial

A formulação F6 (maior teor de aveia) foi escolhida para ser produzida em escala industrial, por conter o maior teor de β -glucana entre as três formulações avaliadas na análise sensorial de aceitação. Esta formulação passou a ser denominada de “biscoito teste”. Além desta formulação, foi desenvolvida também a formulação do biscoito placebo que continha farinha de milho (fubá amarelo) em sua formulação.

A escolha de fubá para a produção do biscoito placebo, deveu-se a coloração deste ingrediente ser próxima da coloração da farinha desengordurada de soja, o que favoreceu aos biscoitos placebo uma aparência bastante semelhante a do biscoito teste, sendo esta característica desejável para o estudo clínico.

Para o cálculo da formulação do biscoito placebo, substituiu-se metade da quantidade das farinhas (FDS+FA+FT) por uma parte de fubá. Assim, uma parte foi calculada em farinha de trigo e a outra parte em fubá. As formulações utilizadas para a produção dos biscoitos teste e placebo, estão apresentadas nas Tabelas 3 e 4, respectivamente.

Tabela 3 - Formulação dos biscoitos teste para o ensaio clínico.

Ingredientes	Peso (%)
Farinha desengordurada de soja (FDS)	11,52
Farelo de aveia (FA)	21,94
Maltodextrina	3,10
Açúcar	18,91
Farinha de trigo (FT)	15,13
Lecitina de soja	0,13
Margarina	5,55
Ovo em pó	3,03
Fermento em pó químico	1,77
Água	18,91
Total	100

Tabela 4 - Formulação dos biscoitos placebo para o ensaio clínico.

Ingredientes	Peso (%)
Farinha de milho (Fubá amarelo)	24,30
Maltodextrina	3,10
Açúcar	18,91
Farinha de trigo (FT)	24,30
Lecitina de soja	0,13
Margarina	5,55
Ovo em pó	3,03
Fermento em pó químico	1,77
Água	18,91
Total	100

Os biscoitos teste e placebo foram produzidos em escala industrial na Indústria Barion, localizada em Colombo/PR, para serem consumidos pelos voluntários do estudo clínico durante 28 dias.

A indústria dispunha de planta piloto para panificação, com os seguintes equipamentos: batedeira da marca Record (Record, São Paulo, Brasil), com capacidade para 150kg de massa, forno contínuo tipo túnel da marca Fraruvi (Serpac, Paraná, Brasil) e esteira de resfriamento da marca Serpac (Serpac, Paraná, Brasil).

Para o processamento da massa, misturou-se inicialmente a margarina e o açúcar na batedeira por 5 minutos. Em seguida, adicionou-se os demais ingredientes sólidos e a água, até a obtenção de uma massa homogênea, por cerca de 15-20 minutos. Cada massa foi dividida em cinco partes iguais para a adição dos aromas de banana, baunilha, côco, canela e maçã. A quantidade de cada aroma utilizado seguiu a especificação do fabricante, ou seja, 100g/100kg de massa para aroma de canela; 150g/100kg de massa para aroma de banana; 200g/100kg de massa para aroma de baunilha; 500g/100kg de massa para os aromas de côco e maçã, respectivamente. Este mesmo procedimento foi realizado na massa de biscoito teste e na massa de biscoito placebo.

Após a obtenção da massa, esta foi levada ao alimentador do forno, que depositou-a nos rolos moldadores. Em seguida, a massa cortada por fios de arame de 0,02 polegadas de diâmetro formou os biscoitos, que foram depositados sobre a esteira de arame traçado com dimensões de 1m de largura por 30m de comprimento, para o assamento. A temperatura de assamento foi de 190-240°C durante 8 minutos. Após a saída do forno, os biscoitos foram resfriados através de esteira (elevador), e em seguida, acondicionados em sacos plásticos com 3kg do produto e em caixas de papelão, para o transporte até a empacotadora.

O empacotamento foi realizado em sacos laminados com a quantidade de $90g \pm 1g$, através de empacotadora da marca Bosch (Bosch, São Paulo, Brasil). Após o empacotamento, as embalagens receberam etiqueta de identificação com o sabor do biscoito que continham.

O processamento industrial está ilustrado na Figura 3.

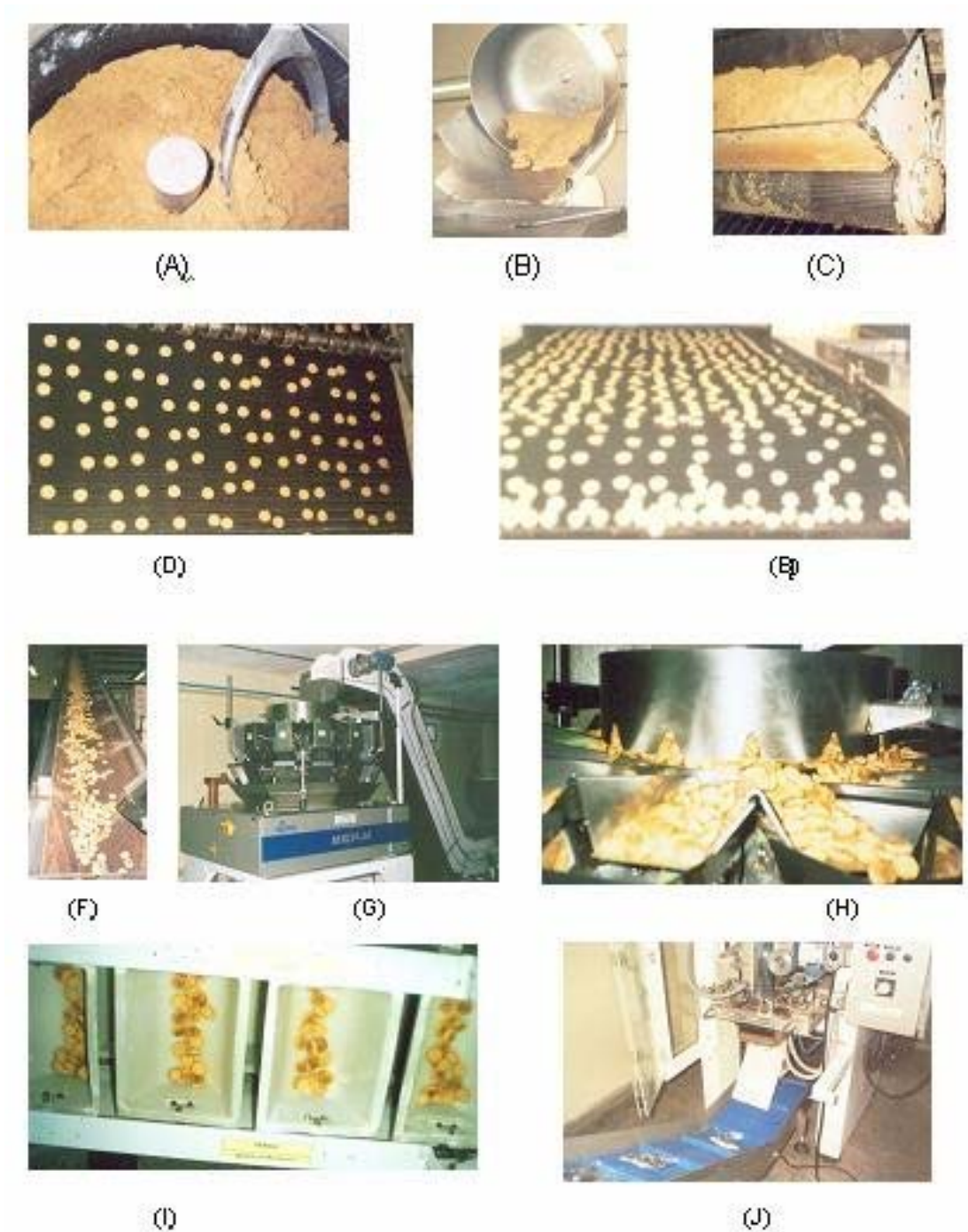


FIGURA 3 - Processamento industrial dos biscoitos.

(A) Aspecto da massa do biscoito teste (FDS + FA); (B) Depósito da massa para molde e corte; (C) Massa depositada para corte; (D) Biscoitos na entrada do forno; (E) Biscoitos na saída do forno; (F) Biscoitos na esteira (elevador) para resfriamento; (G) Empacotadora Bosch; (H) Acondicionamento dos biscoitos nas balanças de pesagem da empacotadora; (I) Condução dos biscoitos para embalagem; (J) Embalagem do produto.

4.1.2.5 Planejamento Experimental e Análise Estatística

4.1.2.5.1 Estudo das Características Físicas dos Biscoitos

Seleção de variáveis significativas

Foi empregado planejamento para misturas com cinco componentes (variáveis), com restrições para os níveis mínimo e máximo (BARROS NETO; SCARMINIO; BRUNS NETO, 2003). As variáveis foram FDS, FA, maltodextrina, lecitina de soja e água. Os níveis mínimo e máximo das variáveis (Tabela 5) foram estabelecidos a partir de ensaios preliminares.

Tabela 5 - Faixas de concentração estabelecidas para FDS, FA, maltodextrina, lecitina de soja e água, para o planejamento de misturas usado no ensaio exploratório.

Componente	Mínimo (% p/p)	Máximo (% p/p)
Farinha Desengordurada de Soja (FDS)	20	40
Farelo de Aveia (FA)	20	40
Maltodextrina	2	15
Lecitina de soja	0,1	0,6
Água	30	40

Com estas especificações, os pseudocomponentes (x) foram definidos pela seguinte expressão (BARROS NETO; SCARMINIO; BRUNS NETO, 2003):

$$x_i = \frac{c_i - a_i}{1 - \sum_{i=1}^q a_i}$$

$$\text{onde } 0 \leq a_i \leq c_i \quad \sum_{i=1}^q a_i < 1 \quad i = 1, 2, 3, \dots, q$$

x_i = teor do componente, em termos de pseudocomponente

c_i = proporção real do componente

a_i = limite inferior da concentração do componente

Para os ingredientes em estudo, resultaram as expressões:

$$x_{\text{FDS}} = \frac{c_{\text{FDS}} - 0,20}{0,279}$$

$$x_{\text{FA}} = \frac{c_{\text{FA}} - 0,20}{0,279}$$

$$x_{\text{Maltodextrina}} = \frac{c_{\text{Maltodextrina}} - 0,02}{0,279}$$

$$x_{\text{Água}} = \frac{c_{\text{Água}} - 0,001}{0,279}$$

$$x_{\text{Lecitina}} = \frac{c_{\text{Lecitina}} - 0,30}{0,279}$$

O planejamento experimental consistiu de vinte e um ensaios (formulações). Foram introduzidas três repetições do ensaio 21 (formulações 21A, 21B e 21C) para repetição do ponto central. Os ensaios foram realizados ao acaso, determinando-se a média aritmética das repetições. Os teores de cada ingrediente dos ensaios, em valores reais e também em pseudocomponentes estão apresentados na Tabela 6.

Tabela 6 - Planejamento experimental para o estudo exploratório do efeito de cinco variáveis nas propriedades dos biscoitos, em proporções reais dos ingredientes na mistura e em pseudocomponentes.

Ensaio	Proporção dos Ingredientes na mistura ternária ⁽¹⁾									
	Em concentrações reais					Em pseudocomponentes				
	FDS (c ₁)	FA (c ₂)	Malto- dextrina (c ₃)	Lecitina (c ₄)	Água (c ₅)	FDS (X ₁)	FA (X ₂)	Malto- dextrina (X ₃)	Lecitina (X ₄)	Água (X ₅)
1	0,200	0,400	0,020	0,001	0,379	0,00	0,72	0,00	0,00	0,28
2	0,200	0,300	0,150	0,001	0,349	0,00	0,36	0,47	0,00	0,18
3	0,200	0,400	0,020	0,006	0,374	0,00	0,72	0,00	0,02	0,27
4	0,200	0,300	0,150	0,006	0,344	0,00	0,36	0,47	0,02	0,16
5	0,379	0,300	0,020	0,001	0,300	0,64	0,36	0,00	0,00	0,00
6	0,279	0,400	0,020	0,001	0,300	0,28	0,72	0,00	0,00	0,00
7	0,249	0,300	0,150	0,001	0,300	0,18	0,36	0,47	0,00	0,00
8	0,200	0,400	0,099	0,001	0,300	0,00	0,72	0,28	0,00	0,00
9	0,200	0,349	0,020	0,001	0,300	0,00	0,53	0,47	0,00	0,00
10	0,374	0,300	0,020	0,006	0,300	0,62	0,36	0,00	0,02	0,00
11	0,274	0,400	0,020	0,006	0,300	0,27	0,72	0,00	0,02	0,00
12	0,274	0,300	0,150	0,006	0,300	0,16	0,36	0,47	0,02	0,00
13	0,200	0,400	0,094	0,006	0,300	0,00	0,72	0,27	0,02	0,00
14	0,200	0,344	0,150	0,006	0,300	0,00	0,52	0,47	0,02	0,00
15	0,200	0,379	0,020	0,001	0,400	0,00	0,64	0,00	0,00	0,36
16	0,200	0,300	0,099	0,001	0,400	0,00	0,36	0,28	0,00	0,36
17	0,279	0,300	0,020	0,001	0,400	0,28	0,36	0,00	0,00	0,36
18	0,200	0,374	0,020	0,006	0,400	0,00	0,62	0,00	0,02	0,36
19	0,200	0,300	0,094	0,006	0,400	0,00	0,36	0,27	0,02	0,36
20	0,274	0,300	0,020	0,006	0,400	0,27	0,36	0,00	0,02	0,36
21	0,238	0,342	0,074	0,004	0,342	0,13	0,51	0,19	0,01	0,15
21A	0,238	0,342	0,074	0,004	0,342	0,13	0,51	0,19	0,01	0,15
21B	0,238	0,342	0,074	0,004	0,342	0,13	0,51	0,19	0,01	0,15
21C	0,238	0,342	0,074	0,004	0,342	0,13	0,51	0,19	0,01	0,15

Fonte: STAT SOFT (1995). ⁽¹⁾ X₁ + X₂ + X₃ = 1 ou 100%

As propriedades analisadas em cada ensaio foram: umidade, dureza e expansão (diâmetro e espessura) dos biscoitos.

4.1.2.5.2 Ensaio de otimização

Após a realização das análises dos testes preliminares, as variáveis FDS, FA e maltodextrina foram selecionadas por terem apresentado significância nas características de dureza e expansão dos biscoitos.

Foi empregado um novo planejamento para misturas com estas três variáveis, estabelecendo-se os níveis mínimo e máximo, apresentados na Tabela 7.

Tabela 7 - Faixas de concentração estabelecidas para FDS, FA e maltodextrina para o planejamento de misturas usado na otimização da formulação.

Componente	Mínimo (% p/p)	Máximo (% p/p)
Farinha Desengordurada de Soja	27,6	62,1
Farelo de Aveia	27,6	62,1
Maltodextrina	1,4	10,3

Para os ingredientes deste estudo, o cálculo dos pseudocomponentes resultou nas seguintes expressões:

$$X_{FDS} = \frac{C_{FDS} - 0,276}{0,434}$$

$$X_{FA} = \frac{C_{FA} - 0,276}{0,434}$$

$$X_{Maltodextrina} = \frac{C_{Maltodextrina} - 0,14}{0,434}$$

O planejamento selecionado consistiu de nove ensaios (formulações) (Tabela 8).

Tabela 8 - Planejamento experimental para estudo das propriedades dos biscoitos, em proporções reais dos ingredientes na mistura e em pseudocomponentes.

Ensaio	Proporção dos Ingredientes na mistura ternária ⁽¹⁾					
	Em concentrações reais			Em pseudocomponentes		
	FDS (c ₁)	FA (c ₂)	Malto- dextrina (c ₃)	FDS (X ₁)	FA (X ₂)	Malto- dextrina (X ₃)
1	0,621	0,276	0,103	0,79	0,00	0,21
2	0,276	0,621	0,103	0,00	0,79	0,21
3	0,621	0,365	0,014	0,79	0,21	0,00
4	0,365	0,621	0,014	0,21	0,79	0,00
5	0,621	0,321	0,059	0,79	0,10	0,10
6	0,321	0,621	0,059	0,10	0,79	0,10
7	0,493	0,493	0,014	0,50	0,50	0,00
8	0,449	0,449	0,103	0,40	0,40	0,21
9	0,471	0,471	0,059	0,45	0,45	0,10
9A	0,471	0,471	0,059	0,45	0,45	0,10
9B	0,471	0,471	0,059	0,45	0,45	0,10

Fonte: STAT SOFT (1995). ⁽¹⁾ X₁ + X₂ + X₃ = 1 ou 100%

Como os limites estabelecidos para as variáveis foram diferentes (Tabela 7), essas desigualdades definiram no interior do triângulo das concentrações um hexágono irregular, mostrado na Figura 4, em termos dos teores reais. Os pontos pertencentes aos vértices deste hexágono, os pontos médios de cada lado, juntamente com o ponto central, representam as misturas que foram estudadas.

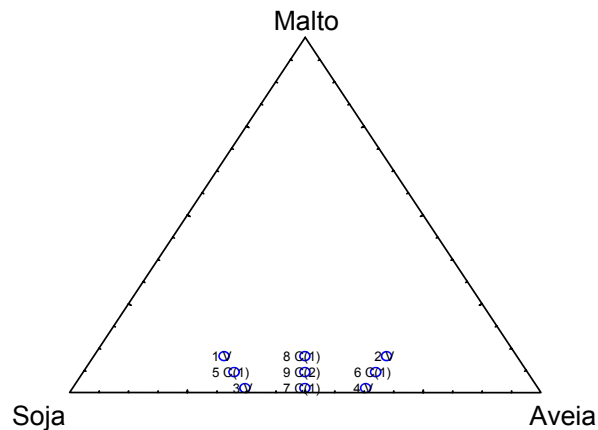


Figura 4 - Representação dos pontos experimentais do planejamento, em termos de valores reais.

Foram introduzidas duas repetições do ensaio 9 (formulações 9A e 9B) para o cálculo do erro puro e ajuste dos modelos. Os ensaios foram realizados ao acaso, determinando-se a média aritmética das repetições.

Após a execução do experimento e a coleta de dados, fez-se o ajuste de uma equação polinomial para cada resposta, estimando-se os respectivos coeficientes. Foi utilizado o modelo canônico de Scheffé para três componentes, conforme a Equação 2:

$$Y = \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{23} X_2 X_3 + \beta_{123} X_1 X_2 X_3 \quad \text{Eq. 2}$$

onde, Y é a variável dependente (resposta), β_1 , β_2 , β_3 , β_{12} , β_{13} , β_{23} , β_{123} são os coeficientes da regressão e X_1 , X_2 e X_3 são as variáveis dos componentes da mistura, sendo FDS, FA e Maltodextrina, respectivamente. Os valores positivos de β_{12} , β_{13} , β_{23} indicam sinergismo da interação dos componentes, enquanto que valores negativos indicam antagonismo. O polinômio preditivo para cada resposta foi considerado válido somente dentro do intervalo estudado, fixado pelos níveis extremos das variáveis dependentes.

As propriedades analisadas em cada ensaio foram: umidade, dureza, diâmetro e cor dos biscoitos. Os resultados de dureza do biscoito foram transformados para a função logarítmica, para possibilitar a modelagem.

Nos dois estudos (exploratório e de otimização), os modelos matemáticos ajustados a cada resposta foram submetidos à análise de variância (ANOVA) para determinar a significância do modelo de regressão em nível de 5% (teste F) e o coeficiente ajustado de determinação (R^2 ajustado) (CHEVALLIER *et al.*, 2000). Para estudo da significância dos efeitos individuais na variável resposta, as variáveis dependentes foram ajustadas em nível de 5% ($p \leq 0,05$). Para obtenção do planejamento experimental, análise dos dados e a construção de gráficos, utilizou-se o programa Statistica versão 7.1 (STATISTICA, 2006).

4.1.2.5.3 Produção de biscoitos com adição de enzimas

A análise estatística foi realizada através de programa SAS System versão 8.0 para a análise de variância (ANOVA) e posterior aplicação do teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

4.1.2.5.4 Análise Sensorial

Na realização do Perfil Livre, empregou-se um planejamento de blocos completos balanceado para três amostras. Foram realizadas três sessões onde cada provador avaliou um bloco (três amostras) por sessão, de forma que o delineamento inteiro foi apresentado uma vez, com um total de 3 provas por amostra para cada provador. Para análise dos dados, utilizou-se Análise Procrustes Generalizada empregando o programa Senstools Versão 2.3 (OP & P PRODUCT RESEARCH, 1998). Para caracterização e discriminação das amostras, considerou-se os atributos que apresentaram maiores correlações para cada provador (acima de $\geq |0,5|$), para efeito de interpretação da configuração de consenso.

Na análise de aceitação, o planejamento foi o de blocos completos e os resultados foram analisados por ANOVA, considerando-se como causa de variação amostra e provadores, e teste de média (Tukey, $p \leq 0,05$), empregando-se o programa Statistica 5.1 (STATISTICA, 1995).

CAPÍTULO 4 ESTUDO TECNOLÓGICO

4.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.2.1 Caracterização das matérias-primas

4.2.1.1 Composição química da FDS, FA e FT

Os resultados das análises químicas da FDS, FA e FT estão apresentados na Tabela 9.

Tabela 9 - Composição centesimal aproximada (base úmida) da farinha desengordurada de soja (FDS), farelo de aveia (FA) e farinha de trigo (FT).

Composição (%)	Produto		
	FDS	FA	FT
Umidade ¹	10,53 (0,11)	9,47 (0,06)	12,33 (0,07)
Proteína ¹	50,92 (0,43)	23,38 (0,34)	14,71 (0,71)
Lipídios ¹	0,99 (0,05)	7,14 (0,15)	0,80 (0,01)
Cinzas ¹	3,00 (0,01)	5,38 (0,01)	0,62 (0,01)
FAT ^{1,2}	31,59 (0,32)	26,93	2,31 (0,23)
Fibra Solúvel	2,49 (0,12)	10,11 ³	0,19 (0,06)
Fibra Insolúvel	29,10 (0,23)	16,82 (0,27)	2,13 (0,21)
Carboidratos ⁴	2,97	27,7	69,23

¹Média de três repetições. ²Fibra Alimentar Total. ³ β -glucana. ⁴Calculado por diferença. Desvio padrão entre parênteses.

Destaca-se na FDS, o alto teor de proteínas (50,92%) similar ao relatado por Gonzalez-Galan *et al.* (1991) e de fibras (31,59%), superior ao encontrado por Filisetti-Cozzi e Lajolo (1991).

Também o FA apresentou alto teor protéico (23,38%) e a concentração de β -glucanas (10,11%), próxima de 9,51% encontrada por De Sá, De Francisco e Soares (1998).

A composição da FT caracteriza uma matéria-prima com um teor protéico, superior ao exigido normalmente para a produção de biscoitos que, segundo Moretto e Fett (1999), deve ser em torno de 8 a 11%. Entretanto, a escolha foi proposital, pelo fato de que, nas formulações desenvolvidas, 60% desta farinha foi substituída por FDS e FA.

Os resultados da análise de isoflavonas na farinha de soja desengordurada podem ser observados na Tabela 10.

Tabela 10 - Teor de isoflavonas na farinha desengordurada de soja (FDS).

Isoflavonas	mg/100g ¹
Daidzina	36,29
Glicitina	15,45
Genistina	65,35
Malonil-Daidzina	26,29
Malonil-Glicitina	6,09
Malonil-Genistina	42,25
Acetil-Daidzina	6,95
Acetil-Genistina	22,77
Daidzeína	1,21
Genisteína	8,56
Total	231,21

¹ Média de duas repetições.

Os valores encontrados, com exceção das frações genistina e genisteína, foram inferiores aos encontrados por Góes-Favoni *et al.* (2004) que analisaram o teor de isoflavonas em produtos a base de soja e obtiveram, na farinha de soja desengordurada, valores de 55,7mg/100g (daidzina), 65,3mg/100g (genistina), 54,9mg/100g (malonil-daidzina), 103,9mg/100g (malonil-genistina), 4,9mg/100g (daidzeína) e 6,1mg/100g (genisteína). Wang e Murphy (1996) afirmam

que as diferenças observadas na concentração das diferentes isoflavonas, em produtos à base de soja, pode ser devido aos efeitos das condições ambientais e genéticas sobre a matéria-prima, bem como às condições de processamento, principalmente à temperatura de tratamento do material.

4.2.1.2 Análise de alveografia

A Tabela 11 apresenta os resultados da análise de Alveografia realizada na farinha de trigo.

Tabela 11 - Análise de alveografia na farinha de trigo especial.

Parâmetro	Valor*
P (mmH ₂ O) ^A	110
L (mm) ^B	50,5
P/L (mmH ₂ O/mm) ^C	2,18
W (10 ⁻⁴ J) ^D	219,5

^AP= Tenacidade; ^BL= Extensibilidade; ^CP/L = Relação entre P e L; ^DW= força do glúten.

*Valores médios obtidos de três repetições.

Os valores obtidos permitem afirmar que a farinha de trigo apresenta força do glúten acima do recomendado para este tipo de produto (GUARIENTI, 1996). Entretanto a relação Tenacidade/Extensibilidade (P/L) de 2,18 e o fato de ser utilizada em mistura com soja e aveia, possibilitaram seu uso na elaboração de biscoitos.

4.2.2 Estudo exploratório das variáveis nas características dos biscoitos

A Tabela 12 mostra os valores médios obtidos com as variáveis resposta do estudo exploratório.

Tabela 12 - Proporção dos ingredientes na mistura ternária (em pseudocomponentes) e variáveis resposta do estudo exploratório.

Ensaio	FDS	FA	Malto Dextrina	Lecitina	Água	Dureza (N)	D/E	Umidade (%)
F1	0,00	0,72	0,00	0,00	0,28	31,54	4,83	16,59
F2	0,00	0,36	0,47	0,00	0,18	99,13	4,42	10,06
F3	0,00	0,72	0,00	0,02	0,27	29,32	3,64	16,52
F4	0,00	0,36	0,47	0,02	0,16	109,88	3,73	11,17
F5	0,64	0,36	0,00	0,00	0,00	150,83	4,15	10,29
F6	0,28	0,72	0,00	0,00	0,00	114,55	4,44	11,46
F7	0,18	0,36	0,47	0,00	0,00	98,78	3,94	11,48
F8	0,00	0,72	0,28	0,00	0,00	199,37	4,71	7,32
F9	0,00	0,53	0,47	0,00	0,00	148,02	3,95	9,95
F10	0,62	0,36	0,00	0,02	0,00	98,63	3,59	10,53
F11	0,27	0,72	0,00	0,02	0,00	106,80	3,76	11,36
F12	0,16	0,36	0,47	0,02	0,00	99,52	4,08	10,68
F13	0,00	0,72	0,27	0,02	0,00	122,66	3,99	11,83
F14	0,00	0,52	0,47	0,02	0,00	107,59	3,90	11,00
F15	0,00	0,64	0,00	0,00	0,36	30,30	3,59	15,54
F16	0,00	0,36	0,28	0,00	0,36	91,08	4,03	11,60
F17	0,28	0,36	0,00	0,00	0,36	99,98	4,44	12,11
F18	0,00	0,62	0,00	0,02	0,36	38,53	4,24	14,39
F19	0,00	0,36	0,27	0,02	0,36	45,69	3,78	13,24
F20	0,27	0,36	0,00	0,02	0,36	49,20	4,09	13,94
F21	0,13	0,51	0,19	0,01	0,15	144,80	3,81	8,91
F21A	0,13	0,51	0,19	0,01	0,15	146,90	3,93	9,50
F21B	0,13	0,51	0,19	0,01	0,15	123,85	3,93	10,03
F21C	0,13	0,51	0,19	0,01	0,15	124,09	3,77	10,14

Nos resultados referentes a textura (dureza), observou-se que os valores variaram de 29,32 a 199,37N (Tabela 12), onde formulações com maiores níveis de FDS apresentaram em média valores mais elevados de textura, tendo como variáveis significativas a FDS e a maltodextrina (Tabela 13). De acordo com Sgarbieri (1996), as proteínas e a farinha de soja não possuem as propriedades de formar massa visco-elástica, podendo assim influenciar na elasticidade e consequentemente na dureza da massa.

Quanto a expansão, pode-se verificar que os valores da relação diâmetro/espessura variaram de 3,59 a 4,83 (Tabela 12) e que FDS e FA foram as variáveis significativas (Tabela 13). Através da análise das formulações, observa-se que formulações com maiores níveis de FA apresentaram em média valores mais elevados de expansão. Leelavathi e Rao (1993) observaram em biscoitos com alto teor de fibra alimentar, que o aumento da quantidade de farelo de trigo na

formulação favoreceu o aumento do fator de expansão. Da mesma forma, Sudha, Vetrimani e Leelavathi (2007) constataram aumento da relação diâmetro/espessura proporcionalmente aos teores de farelo de aveia em biscoitos, mostrando que o aumento do teor de fibra do farelo, influenciou diretamente na expansão do produto. Neste sentido, Gutkoski *et al.* (2007) afirmam que o fator de expansão varia com a qualidade das farinhas utilizadas e com o teor de fibra. Assim, é provável que, as fibras provenientes da FDS e do FA tenham contribuído para o aumento do fator de expansão dos biscoitos.

Em relação à umidade, houve uma variação de 7,32 a 16,59%, onde formulações com teores mais elevados de FA apresentaram em média, maiores teores de umidade (Tabela 12). Em contra partida, formulações com menor teor de FDS apresentaram aumento nos teores de umidade. Na Tabela 13 observa-se que FDS e FA foram as variáveis significativas. Os resultados encontrados são contrários ao comportamento normalmente apresentado por FDS e FA. Segundo EMBRAPA (1994a) ao ser adicionada a uma massa de biscoito, em substituição a uma parte da farinha de trigo, a FDS apresenta um considerável aumento na absorção de água, provocado pela grande quantidade de grupos hidrofílicos nas fibras e nas proteínas de soja, que necessitam de muita água para se hidratar. Da mesma forma, GUTKOSKI e PEDÓ (2000) colocam que produtos de aveia dispõem de excelentes propriedades de absorção de umidade e são utilizados como ingredientes na panificação, por retardarem o envelhecimento de pães, bolos e biscoitos.

Assim, os resultados da Tabela 13 demonstram que somente as variáveis FDS, FA e maltodextrina tiveram influência sobre as variáveis resposta analisadas e que as variáveis lecitina de soja e água não influenciaram.

Tabela 13 - Coeficientes de regressão e análise de variância dos modelos matemáticos ajustados às variáveis resposta do estudo de exploratório.

Coeficientes	Variáveis resposta		
	Y ₁	Y ₂	Y ₃
β_1	150,830*	4,115*	9,684*
β_2	1668,106	4,410*	12,683*
β_3	819,446*	4,146	8,696
β_4	-3159939	-9,115	24,132
β_5	1443,269	4,201	15,595
β_{12}	-3603,47	-	-
β_{13}	-2623,08	-	-
β_{14}	3248975	-	-
β_{15}	-3211,57	-	-
β_{23}	-4556,12	-	-
β_{24}	3247899	-	-
β_{25}	-6142,07	-	-
β_{34}	3247279	-	-
β_{35}	-4360,43	-	-
β_{45}	3248366	-	-
Significância do modelo (p)	0,004*	0,002*	0,012*
Falta de ajuste do modelo (p)	0,22	0,45	0,39
R ² ajustado	0,91	0,86	0,80

Modelo: $Y = \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{14} X_1 X_4 + \beta_{15} X_1 X_5 + \beta_{23} X_2 X_3 + \beta_{24} X_2 X_4 + \beta_{25} X_2 X_5 + \beta_{34} X_3 X_4 + \beta_{35} X_3 X_5 + \beta_{45} X_4 X_5$

X₁= FDS; X₂= FA; X₃= Maltodextrina; X₄= Lecitina de soja; X₅= Água;. Y₁= Dureza; Y₂= Fator de expansão (D/E); Y₃= Umidade. R² ajustado= coeficiente de determinação ajustado.

*significativo ao nível de 5%.

4.2.3 Estudo de otimização das variáveis nas características dos biscoitos

A Tabela 14 apresenta os resultados dos coeficientes de regressão e da análise de variância dos modelos matemáticos ajustados às variáveis resposta, relacionadas com a qualidade dos biscoitos.

Tabela 14 - Coeficientes de regressão e análise de variância dos modelos matemáticos ajustados às variáveis resposta do estudo de otimização.

Coeficientes	Variáveis resposta			
	Y ₁	Y ₂	Y ₃	Y ₄
β_1	16,699*	2,068*	4,171*	64,483*
β_2	19,971*	1,891*	4,166*	62,399*
β_3	-22,541*	3,586*	13,843*	53,484*
β_{12}	-28,981*	-	-	-
β_{13}	28,287*	-2,382*	-13,369*	-
β_{23}	-	-	-11,223*	-
β_{123}	137,57*	-7,906*	7,384*	-
Significância do modelo (p)	0,002*	0,006*	0,015*	0,007*
Falta de ajuste do modelo (p)	0,75	0,09	0,44	0,91
R ² ajustado	0,91	0,81	0,80	0,64

Modelo: $Y = \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{23} X_2 X_3 + \beta_{123} X_1 X_2 X_3$

$X_1 = FDS$; $X_2 = FA$; $X_3 = Maltodextrina$. $Y_1 =$ Umidade; $Y_2 =$ Log dureza do biscoito; $Y_3 =$ Diâmetro; $Y_4 =$ Luminosidade (L*). R² ajustado= coeficiente de determinação ajustado. *significativo ao nível de 5%.

Os três ingredientes estudados, foram significativos para a umidade dos biscoitos e o modelo ajustado apresentou-se significativo (p=0,002), explicando 91% da variação. O bom ajuste do modelo foi comprovado pela análise de valores preditos em relação aos valores observados, apresentando pequena variação, como mostra o Apêndice E. A Tabela 14 mostra ainda, que as interações β_{12} , β_{13} e β_{123} foram significativas. O coeficiente negativo da interação entre FDS e FA (β_{12}) indica uma ação antagônica, contribuindo para a diminuição da umidade do biscoito. Na Figura 5 observa-se que a variação da umidade foi de 8,77 a 13,16% e que maiores

teores de FDS e FA proporcionaram aumento nos valores de umidade. Em análises de biscoitos comerciais que continham em sua composição farinha de soja, obtiveram-se valores entre 5,72 e 5,89% de umidade. As formulações testadas neste trabalho podem ter apresentado valores mais elevados de umidade, em relação aos dos biscoitos comerciais, devido a ter em sua composição o FA e a FDS, cujos altos teores de fibra, podem estar favorecendo esse aumento, uma vez que as fibras tendem a reter água. Tais resultados estão de acordo com os encontrados por Perez e Germani (2007), Jeltema, Zabik e Thiel (1983) e Oliveira e REYES (1990), que verificaram ter havido um incremento na umidade dos biscoitos à medida que se aumentou o teor de fibras, indicando que ocorreu maior retenção de água nos mesmos, em virtude das características hidrofílicas da fibra. De acordo com Smith e Circle (1972), uma das características da farinha de soja é a capacidade de grande retenção de água, o que favorece a qualidade alimentícia e o prolongamento da vida de prateleira. Gutkoski e Pedó (2000) afirmam que a aveia é usada como ingrediente na panificação pela excelente capacidade de absorção de água, o que contribui para aumentar o rendimento e retardar o envelhecimento.

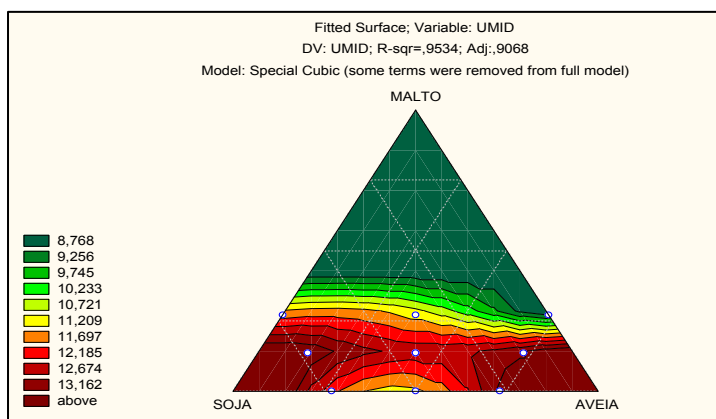


Figura 5 - Umidade dos biscoitos em função da FDS, FA e maltodextrina (em pseudocomponentes).

Quanto à dureza dos biscoitos, de acordo com a análise de variância apresentada na Tabela 14, observa-se que todas as variáveis (FDS, FA e maltodextrina) foram significativas. O modelo ajustado foi significativo ($p=0,006$) e o coeficiente de determinação ajustado foi de 81%. Foi comprovado que os valores preditos aproximaram-se dos valores observados (Apêndice E). Os coeficientes negativos das interações entre FDS e maltodextrina (β_{13}) e também da interação

ternária indicam uma ação antagônica (Tabela 14), contribuindo para a diminuição da dureza do biscoito. Os resultados variaram de 84,99 a 217,83N, que correspondem aos valores de Log de 1,89 a 2,32, observando-se que os maiores valores obtidos para a dureza dos biscoitos ocorreram em teores maiores de maltodextrina (Figura 6). Analisando-se biscoitos comerciais, cuja composição continha farinha de soja, pode-se observar valores de dureza entre 24,67 e 40,53N. Diferenças podem estar relacionadas com os níveis de substituição da farinha de trigo por farinha de soja.

O emprego da maltodextrina como ingrediente é recomendado para diminuir a dureza dos biscoitos. Porém, neste caso o efeito foi contrário, talvez porque o teor usado pode ter sido insuficiente para causar o efeito desejado. Pode-se observar que todas as formulações estudadas tiveram valores altos de dureza, se comparados com os biscoitos tradicionais (comerciais), e isto pode estar relacionado não só ao maior teor protéico, mas também ao aumento do conteúdo de fibras, indicando que as diferentes concentrações de proteínas e fibras das formulações, não tornaram possível a percepção dos efeitos da ação da maltodextrina. McWatters *et al.* (2003) atribuíram a textura mais dura em biscoitos ao aumento do conteúdo de proteína e sua interação durante o desenvolvimento da massa e assamento dos mesmos.

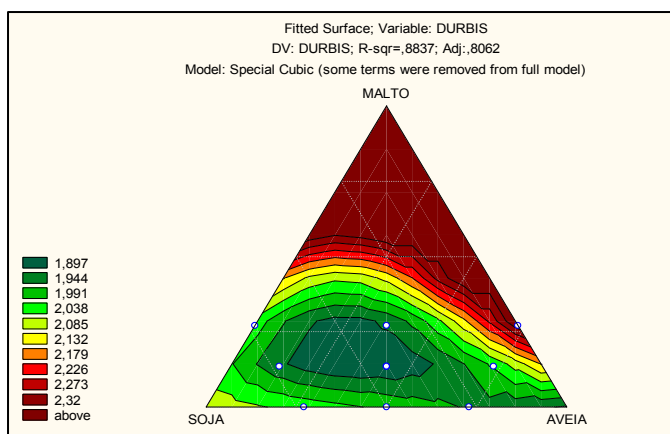


Figura 6 - Dureza dos biscoitos em função dos teores de FDS, FA e Maltodextrina (em pseudocomponentes).

Com relação ao fator de expansão, não foi possível obter o ajuste de um modelo. Desta forma, somente os resultados referentes ao diâmetro foram

analisados, com valores variando de 4,15 a 4,60cm, onde pode-se observar que maiores valores encontram-se na região onde há maior teor de maltodextrina (Figura 7). Na Tabela 14, verifica-se que as três variáveis foram significativas, sendo este mesmo comportamento observado nas interações β_{13} , β_{23} e β_{123} . De acordo com a análise de variância, o modelo apresentou-se significativo ($p=0,02$) com o coeficiente de determinação ajustado de 80%. A comparação entre valores observados e valores preditos confirmou o baixo ajuste (Apêndice E). Com relação à modelagem da massa, pode-se observar que formulações com teores de FDS mais elevado apresentaram massas mais duras (ou firmes), enquanto que em formulações com teores mais elevados de FA, as massas apresentaram-se mais moles. Desta forma, tais características afetaram diretamente na modelagem e conseqüentemente no diâmetro dos biscoitos.

A esse respeito, Kissel, Prentice e Yamazaki (1975) afirmam que o fenômeno de expansão de biscoitos é primariamente físico e controlado pela capacidade dos componentes de absorver água. Assim, o acréscimo de componentes que possuem maior capacidade de reter água, do que a farinha de trigo (como é o caso da FDS e do FA), resulta em uma competição pela água livre presente na massa do biscoito, limitando a taxa de expansão. A EMBRAPA (1994a) coloca que na utilização de farinhas protéicas como a de soja, há uma tendência em tornar a massa mais forte, podendo prejudicar sua extensibilidade em níveis de substituição mais elevados. Por sua vez, Huber (1991) afirma que as características de expansão, são diretamente influenciadas pela pureza da fibra e que o conteúdo de proteína, teor de lipídios, solubilidade e tamanho de partícula, influenciam a expansão que pode ser esperada quando se adiciona fibra à formulação. Além disso, fontes de fibras com partículas menores, exibem mais alto grau de expansão.

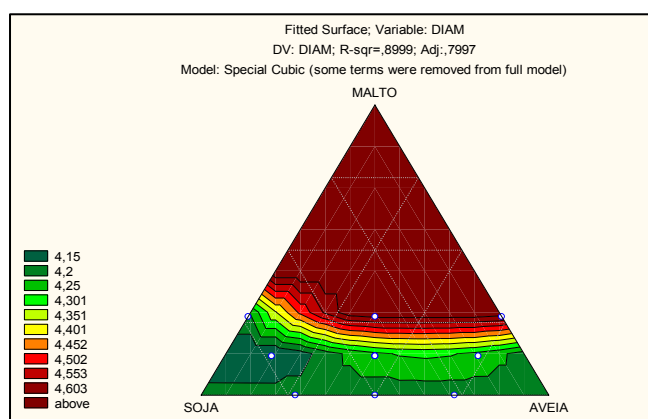


Figura 7 - Diâmetro dos biscoitos em função dos teores de FDS, FA e Maltodextrina (em pseudocomponentes).

Quanto à cor dos biscoitos, pode-se observar na Figura 8 que a variação de luminosidade (L^*) ocorreu entre 59,95 a 63,41, onde teores maiores de FDS e FA proporcionaram aumento dos valores. É possível observar na Tabela 14 que as três variáveis (FDS, FA e maltodextrina) foram significativas, bem como o modelo ($p=0,007$), sendo o coeficiente de determinação ajustado de 64%. Os valores preditos podem ser observados no Apêndice E. Apesar dos teores diferenciados de FDS e FA das diferentes formulações, pode-se observar que os valores de luminosidade não apresentaram grande variação, podendo-se afirmar que, independente dos teores, o produto apresenta coloração semelhante. As medidas de a^* e b^* ($\tan^{-1}(b^*/a^*)$) também foram realizadas, porém não foi possível ajustar um modelo aos dados experimentais. Valores próximos quanto à luminosidade foram encontrados por Singh e Mohamed (2007), que ao testarem a mistura de glúten e proteína de soja em biscoitos, obtiveram resultados entre 64 e 66,3. Com relação a diferenças na coloração, Gutkoski *et al.* (2007) também não encontraram diferença na luminosidade de biscoitos de aveia enriquecidos com concentrado de β -glucanas. Segundo os autores, a coloração de biscoitos pode ser afetada pelos ingredientes empregados na formulação, principalmente o teor de açúcar, o tempo e a temperatura de assamento, promovendo as reações de Maillard e caramelização, variação esta que não foi constatada nos estudos aqui apresentados.

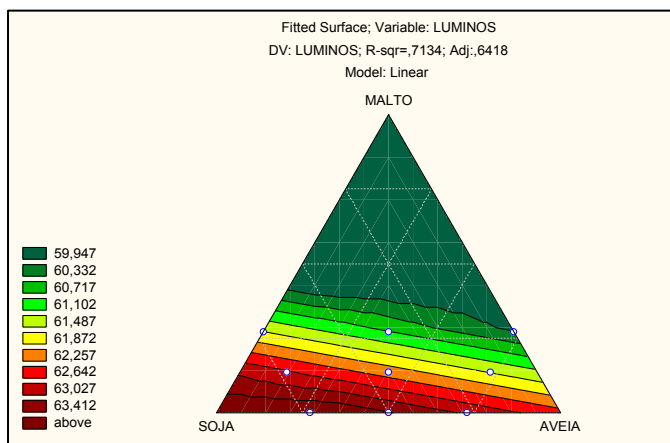


Figura 8 - Luminosidade (L^*) dos biscoitos em função dos teores de FDS, FA e Maltodextrina (em pseudocomponentes).

4.2.4 Atividade de água (a_w)

Na análise de atividade de água dos biscoitos, foram obtidos valores médios de 0,651 para biscoitos produzidos com FDS e FA e 0,405 para biscoitos comerciais, que continham farinha de soja em sua formulação. Gallagher, Kenny e Arendt (2005), ao produzirem biscoitos com proteína concentrada encontraram valores que variaram de 0,15 a 0,29 de atividade de água, ficando também abaixo aos encontrados nos biscoitos produzidos com FDS e FA.

A diferença dos valores encontrados pode ter ocorrido devido ao maior teor de fibras, proteína e conseqüente retenção de umidade contidos nos biscoitos com FDS e FA, o que proporcionou aumento da água livre no produto e desta forma, valores mais elevados de atividade de água quando comparados a biscoitos comerciais.

A análise da atividade de água expressa o teor de água do produto que se encontra no estado livre. Park, Bin e Brod (2001) colocam que a determinação da atividade de água é uma das medidas mais importantes no processamento e análise dos produtos “*in natura*” ou processados, devido à sua influência quanto à qualidade e estabilidade do produto.

Levandowsky (1981) coloca que valores abaixo de 0,60 são recomendados para atividade de água em biscoitos, por não ocorrer multiplicação de

microrganismos. Entretanto, mesmo com valores de a_w pouco mais elevados nos biscoitos com FDS e FA, não foi verificada a ocorrência de microrganismos, o que favoreceu a manutenção da estabilidade e qualidade do produto.

4.2.5 Análise da adição de enzimas

As Tabelas 15 e 16 apresentam os resultados das análises de dureza dos biscoitos, testados com as enzimas Pentopan® Mono BG e Veron Rye®.

Tabela 15 - Dureza dos biscoitos com diferentes doses da enzima Pentopan® Mono BG¹.

Dose (%)	Dureza ² (N)
0	48,17e
0,002	80,06cd
0,004	88,88bc
0,008	114,92a
0,012	76,18d
0,016	94,26b
0,020	121,37a
C.V. (%)	10,74

¹ Médias na mesma coluna, seguidas de letras diferentes, diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Tukey ao nível de 5% ($p \leq 0,05$) de probabilidade. ² Médias de seis repetições.

Tabela 16 - Dureza dos biscoitos com diferentes doses da enzima Veron Rye®¹.

Dose (%)	Dureza² (N)
0	48,17d
0,010	163,06a
0,015	136,58b
0,020	75,42c
0,025	138,27b
0,030	138,35b
C.V. (%)	8,54

¹ Médias na mesma coluna, seguidas de letras diferentes, diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Tukey ao nível de 5% ($p \leq 0,05\%$) de probabilidade. ² Médias de seis repetições.

Com relação aos valores de dureza encontrados nos testes com a enzima Pentopan® Mono BG, observa-se que todas as doses testadas apresentaram valores de dureza superior aos comparados com o tratamento controle (48,17N). As doses de 0,020 e 0,008%, cujos valores de dureza foram 121,37 e 114,92N, respectivamente, proporcionaram os maiores valores de dureza dos biscoitos, seguidas das doses 0,016, 0,004, 0,002 e 0,012% (Tabela 15).

Verifica-se nos resultados da Tabela 16, que todas as doses testadas da enzima Veron Rye®, apresentaram valores de dureza superiores quando comparadas ao tratamento controle (48,17N), proporcionando aumento da dureza nos biscoitos e que a dose de 0,010% foi a que apresentou maior valor de dureza (163,06N), entre todas testadas. Resultado semelhante foi encontrado nas doses de 0,030% (138,35N) e 0,025% (138,27N), respectivamente. A dose de 0,020% foi a que mais se aproximou do tratamento controle, entretanto também apresentou valor superior quando comparada a este.

Considerando a dureza como a característica mais importante para o consumidor, afetando assim diretamente na aceitabilidade do produto, é importante ressaltar que a utilização das duas enzimas testadas não é indicada, visto que todos os resultados encontrados foram superiores aos valores médios de dureza do tratamento controle.

Analisando outros trabalhos desenvolvidos, esperava-se melhores resultados com a utilização de enzima xilanase, a exemplo do estudo de Uysal *et al.* (2007) que, ao desenvolverem biscoitos tipo cookie com adição de xilanase, observaram que a enzima proporcionou redução dos valores de dureza dos biscoitos.

Provavelmente, os resultados encontrados com os biscoitos de FDS e FA tenham ocorrido pelo fato de não constar para a enzima Veron Rye® especificamente, indicação de sua utilização em produtos que contenham farinha de soja desengordurada e farelo de aveia, sendo esta enzima indicada na utilização de produtos de farinha de centeio. Quanto a enzima Pentopan® Mono BG, indicada para utilização com farinha de trigo, não foram encontradas citações na literatura, referentes a utilização desta enzima com estes ingredientes.

4.2.6 Análise Sensorial

4.2.6.1 Análise Descritiva de Perfil Livre

Com os resultados das análises físico-químicas, foram selecionadas três formulações (F3, F6 e F9) que apresentavam características diferenciadas quanto à composição química e dureza instrumental, para avaliação sensorial. Em sua composição química, as formulações F3 e F6 apresentavam maiores teores de soja e aveia, respectivamente, enquanto que a F9, apresentava estes dois componentes em proporções iguais. Com relação a dureza, as formulações F3, F6 e F9 apresentaram valores de 104,61, 92,07 e 77,77 N, respectivamente.

Os questionários de coleta de dados aplicados à equipe mostraram que esta foi composta principalmente por alunos (73%), jovens (93% com até 35 anos) e com alta escolaridade (93% com 3º grau completo) e consumidores freqüentes ou moderados de biscoitos/bolachas. Todos afirmaram gostar do sabor aveia e 79% do sabor soja, e que consumiam freqüente ou moderadamente alimentos com aveia (93%) e com soja (50%).

A análise dos dados foi feita empregando-se as duas primeiras dimensões, e o total da variância explicada foi de 30%. Esse valor de variabilidade explicada está em uma faixa usual para dados de Perfil Livre, onde os provadores não tem treinamento (OLIVEIRA; BENASSI, 2003). Na Figura 9, pode-se observar a configuração consenso utilizando-se atributos de aparência, aroma, sabor e textura. A amostra F3, formulação com maior teor de soja, foi discriminada das amostras F6 e F9.

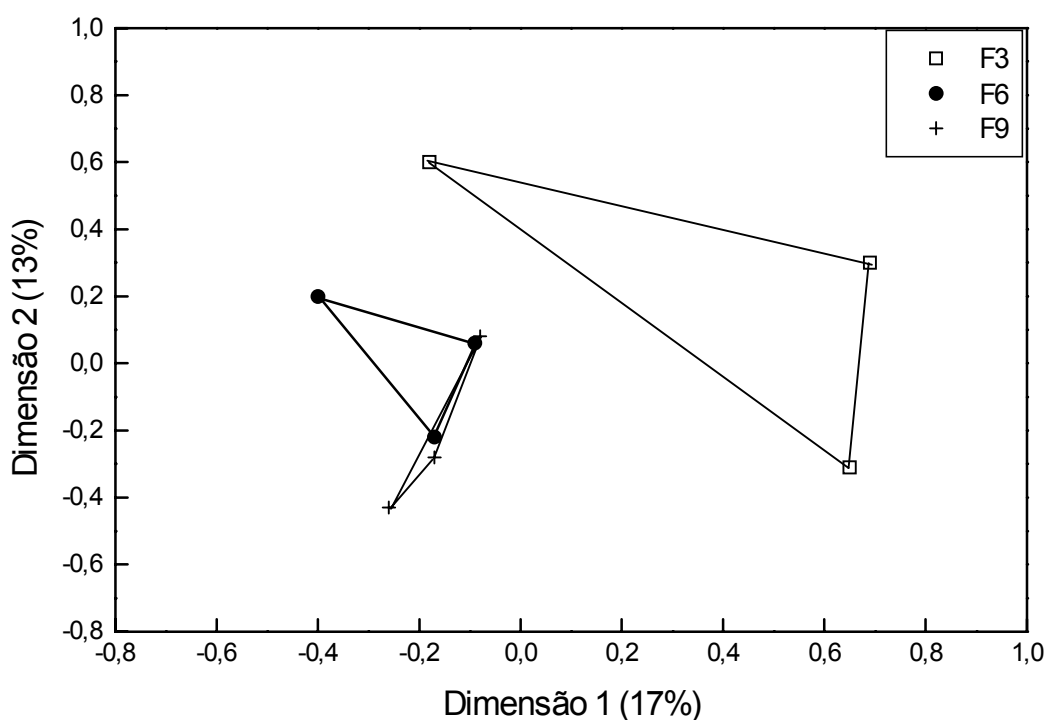


Figura 9 - Configuração consenso das amostras para a equipe de Perfil Livre.

F3= 0,79% FDS, 0,21% FA, 0% Maltodextrina; F6= 0,10% FDS, 0,79% FA, 0,10% Maltodextrina; F9= 0,45% FDS, 0,45% FA, 0,10% Maltodextrina.

Para avaliar a eficiência da equipe, foram consideradas a configuração dos provadores (Figura 10) e as variâncias residuais (Figura 11). Não se observou comportamento diferenciado no gráfico de provadores (Figura 10) e as porcentagens de variância residual foram semelhantes para a equipe e inferiores a 2% (Figura 11). Os gráficos individuais indicando as configurações de amostra por provador foram também avaliados e não se observou divergência na configuração das amostras. A avaliação da equipe indicou consenso entre os provadores, optando-se por manter todos os resultados.

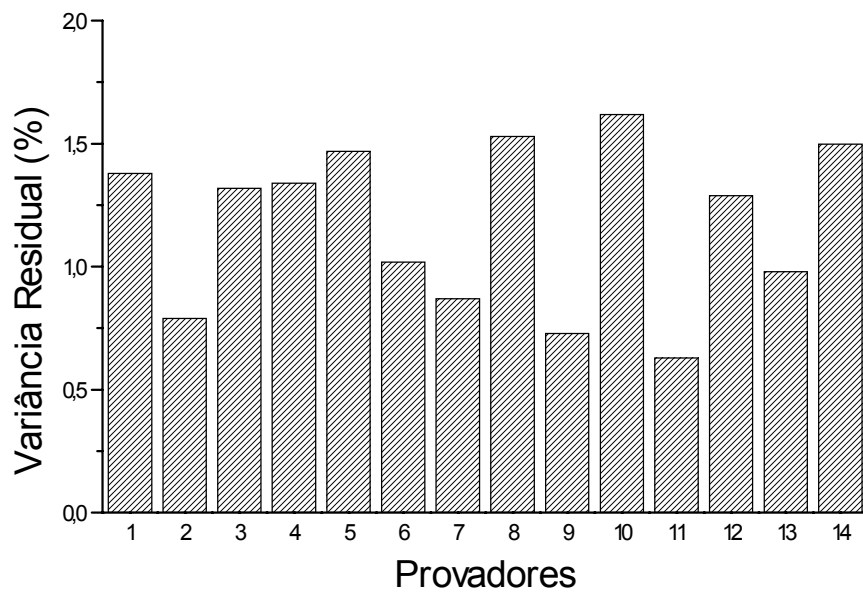


Figura 10 - Configuração dos provedores

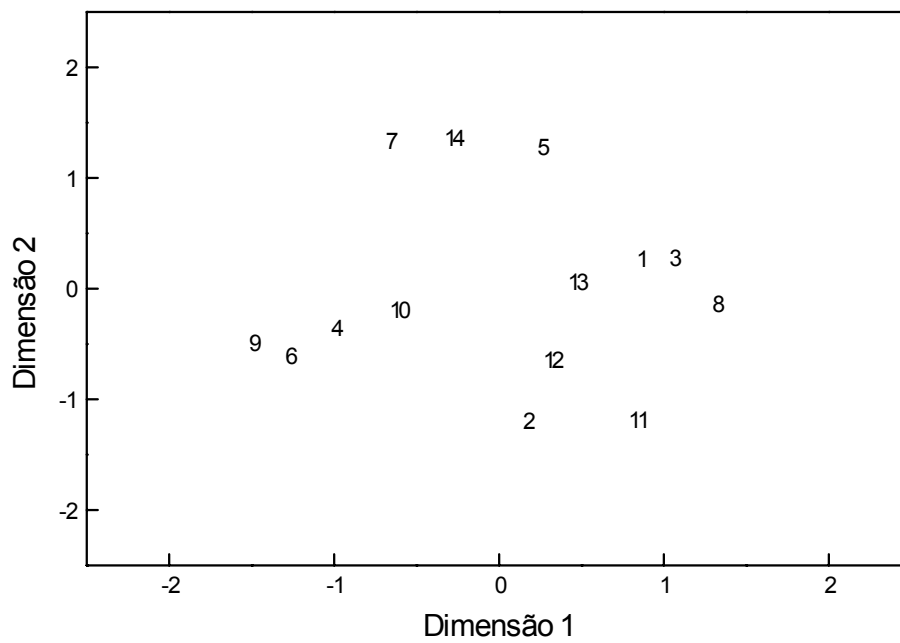


Figura 11 - Variância residual dos provedores.

A dimensão 1, responsável por 17% da variância, foi correlacionada com a cor escura, positivamente, e atributos de textura como maciez (negativamente) e dureza (positivamente). A dimensão 2, responsável por 13% da variância, foi correlacionada positivamente com atributo de sabor característico (de biscoito integral, de biscoito, de cereal) e negativamente com o sabor doce/adocicado. Os atributos de aroma contribuíram pouco para a diferenciação.

Os atributos que mostraram maior correlação para as duas dimensões estão descritos na Tabela 17. O critério utilizado na seleção foi considerar significativos os atributos com correlação, em módulo, superior a 0,45. A amostra F3 foi caracterizada como mais dura, com cor mais escura (amarelada, bege, caramelo, assado, tostado, marrom, corado) e como apresentando sabor mais característico de biscoito integral/cereal. As amostras F6 e F9 foram caracterizadas como sendo semelhantes: mais claras, macias e doce/adocicadas que F3.

Vários atributos levantados pela equipe para a homogeneidade da aparência (presença/ausência de grânulos, rachaduras e ranhuras) e aroma característico (associado com bolacha caseira, biscoito integral, soja, aveia, de cereal) não foram utilizados para discriminação das amostras, mas são importantes para caracterização dos produtos. Assim, todas as amostras apresentaram a aparência com grânulos/rachaduras e o aroma característico.

Tabela 17 - Atributos de maior correlação ($r < -0,45$ ou $r > 0,45$) para cada provador na avaliação das amostras.

Provador	Dimensão 1	Dimensão 2
1	Compacta (0,6) Cor amarelada (0,58) Aroma característico (0,57)	Brilho (-0,56) Aroma de ovo (0,59) Sabor característico (0,58)
2	Maciez (0,46)	Cor amarelada (-0,53) Ranhuras (-0,51) Aroma característico (0,8) Sabor característico (0,48)
3	Grânulos (0,93) Ranhuras (0,73) Macia (0,67)	Cor de assado (-0,78) Aroma de aveia (0,56) Aroma de soja (-0,64) Aroma de óleo (-0,54) Sabor de soja (-0,63) Sabor de aveia (0,51)
4	Aroma de biscoito (-0,55) Aroma de óleo (0,59) Sabor doce (0,77) Biscoito Integral (-0,62)	Aroma de óleo (0,45) Macia (0,73)
5	Cor caramelo (0,91) Maciez (-0,51) Partículas (0,82)	Aroma característico (-0,63) Sabor doce (-0,61)
6	Sabor característico (-0,5)	Sabor adocicado (-0,7)
7	Cor bege (0,72) Dureza (0,78) Esfarelenta (-0,63)	Porosidade (-0,8) Aroma salgado (-0,63) Sabor de aveia (0,5)
8	Cor marrom (0,52) Crocância (0,84)	Aroma não característico (0,59) Sabor característico (-0,65)
9	Sabor doce (-0,63) Grânulos (-0,53)	Rachaduras (-0,7) Sabor de cereal (-0,87) Macia (0,79)
10		Maciez (0,65)
11	Cor (0,53) Adocicado (0,91) Residual (0,67)	
12	Aroma doce (0,94) Sabor doce (0,56) Sabor característico (0,56) Macia (0,53)	
13	Cor bege (0,48) Aroma Adocicado (0,72)	
14	Aroma de soja (0,53) Sabor de soja (-0,55) Sabor de aveia (0,64)	

4.2.6.2 Análise de aceitação

Os dados coletados nos questionários aplicados à equipe, mostraram que os provadores eram potenciais consumidores do produto, visto que 94% afirmaram consumir moderada ou freqüentemente biscoitos e bolachas. Na equipe, 82% dos provadores apresentaram idade até 35 anos, 80% eram alunos e a maioria (94%) possuía nível de escolaridade igual ou superior ao 3º grau. Todos afirmaram gostar dos sabores soja e aveia, sendo que 46% dos provadores consumiam moderadamente alimentos com aveia e 38% alimentos com soja. O consumo freqüente destes alimentos foi citado por 12% dos provadores.

Com relação à aceitação, não foram observadas diferenças entre as três formulações (Tabela 18). Desta forma, torna-se possível escolher a formulação com melhores características tecnológicas para produção em escala, uma vez que as alterações nas formulações afetaram pouco as características sensoriais do produto, bem como sua aceitação.

Tabela 18 - Notas médias de aceitação das formulações testadas.

Formulação	Aceitação ¹
9	7,0 ^a
6	7,0 ^a
3	7,3 ^a

¹ Média de 50 provadores; letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ($p \leq 0,05$).

4.2.7 Análise do teor de β -glucana nos biscoitos

A Tabela 19 apresenta os teores de β -glucana nos biscoitos selecionados para avaliação sensorial (F3, F6 e F9).

Tabela 19 - Teores de β -glucana nas formulações F3, F6 e F9.

Formulação	Teor de β-glucana (g/100g)¹
F3 (Maior teor de soja)	1,38
F6 (Maior teor de aveia)	3,40
F9 (Teores iguais de soja e aveia)	2,54

¹ Média de três repetições

Resultados próximos aos encontrados nos biscoitos com FDS e FA foram obtidos por Gutkoski *et al.* (2007), que ao desenvolverem biscoitos tipo cookie, obtiveram valores de 1,14, 2,22 e 3,39% de β -glucana em formulações com níveis baixo, médio e alto de flocos de aveia, respectivamente.

4.2.8 Escolha do biscoito Teste

Para escolha do biscoito Teste, que foi produzido em escala industrial e consumido pelos voluntários do ensaio clínico, considerou-se as três formulações testadas sensorialmente (F3, F6 e F9) na análise de aceitação.

Devido aos resultados da análise de aceitação não terem apresentado diferença significativa entre as formulações testadas, considerou-se então na escolha da formulação para produção em escala industrial, aquela que continha maior teor de β -glucana (3,40%), selecionando assim a Formulação 6.

4.2.9 Composição Química e Valor Calórico

Os resultados de composição química dos biscoitos Teste e Placebo estão expressos na Tabela 20.

Tabela 20 - Composição centesimal dos biscoitos teste e placebo.

Biscoito	Composição ¹ (%)					
	Umidade	Proteína	Lipídio	Cinzas	Fibras	Carboidratos
Teste	14,62	16,51	3,95	2,8	13,56	48,57
Placebo	15,67	6,88	2,71	1,5	3,1	70,14

¹ Média de três repetições.

Utilizando-se os fatores de conversão de Atwater (4 kcal.g⁻¹ para carboidratos e proteínas e 9 kcal.g⁻¹ para lipídios) (WATT; MERRILL, 1963), obteve-se o valor calórico de 295,9kcal/100g para o biscoito Teste e 332,5kcal/100g para o biscoito Placebo.

Analisando os rótulos de biscoitos comerciais que contém farinha de soja em sua composição, verificou-se valores de 413kcal/100g e 475 kcal/100g em biscoitos de farinha de soja orgânica e farinha de soja, respectivamente. Da mesma forma, biscoitos comerciais com farelo de aveia apresentaram valor calórico de 456 kcal/100g de produto.

Comparando-se estes valores com o valor obtido no biscoito Teste (295,9kcal/100g), observa-se que este apresentou redução de 28, 38 e 35% quando comparado aos biscoitos comerciais de farinha de soja orgânica, farinha de soja e farelo de aveia, respectivamente. Desta forma, devido ao reduzido valor calórico, o biscoito Teste pode ser enquadrado como um alimento 'light'.

Por meio da Portaria SVS/MS nº27/98 a ANVISA definiu que o termo light, pode ser empregado em alimentos que apresentem redução mínima de 25% no conteúdo de nutrientes dos alimentos comparados, ou no valor calórico total, em comparação com o alimento convencional (BRASIL, 1998a). Para que ocorra a redução de calorias é necessário que haja diminuição no teor de algum nutriente energético, podendo ser carboidratos, lipídios ou proteínas.

Pode-se verificar, também, que os elevados teores de fibras (13,56%), permitem afirmar que o biscoito Teste apresenta a alegação de alimento funcional, pois atende a exigência estabelecida pela ANVISA, através da Portaria SVS/MS nº27/98, que considera que para um produto pronto para o consumo, tenha

o atributo alto teor de fibras, deve conter no mínimo 6g de fibras/100g de sólidos (BRASIL, 1998b).

4.2.10 Porção de produto fornecida aos voluntários

Para o cálculo da porção de produto que seria fornecida aos voluntários do ensaio clínico, analisou-se o teor de β -glucana contido no biscoito Teste.

Considerou-se a alegação do FDA (1997) que cita o consumo de 3g de β -glucana/dia visando a redução dos níveis de colesterol sanguíneo. Desta forma, como o teor de β -glucana no biscoito da Formulação 6 (formulação escolhida) foi de 3,4g/100g (Tabela 19), verificou-se que para atender a exigência do consumo de 3g de β -glucana/dia, seria necessário consumir 88,24g/produto/dia. Entretanto, para efeitos de arredondamento, estabeleceu-se a quantidade por porção de 90g/produto/dia para consumo pelos voluntários.

Com relação ao teor de proteína de soja que seria fornecido aos voluntários, observou-se o valor de 16,51% de proteína (16,51g/100g de biscoito) da Formulação 6 (Tabela 20), obtendo-se assim, 14,86g/produto/dia, considerando a quantidade estabelecida de 90g/porção.

Desta forma, estabeleceu-se a porção de 90g/biscoito/dia, para os voluntários que consumiram o biscoito Teste e biscoito Placebo.

Analisando os valores calóricos obtidos nos biscoitos Teste (295,9kcal/100g) e Placebo (332,5kcal/100g), verifica-se que a porção diária de 90g forneceria aos voluntários, a quantidade de 266,31kcal/100g contidas no biscoito Teste e 299,25kcal/100g no biscoito Placebo. Assim, considerando a ingesta calórica total de 2000kcal/dia (ou 8400kJ), tem-se que o biscoito Teste forneceria 13,32% das necessidades diárias de ingestão de calorias enquanto que com o biscoito Placebo, os voluntários estariam consumindo em torno de 14,96% desta necessidade diária.

CAPÍTULO 5 ESTUDO CLÍNICO

5.1 CASUÍSTICA E MÉTODOS

Atendendo à legislação nacional vigente, no que se refere às normas de pesquisas em seres humanos, definidas pelo Conselho Nacional de Saúde (CNS), Resolução nº 196/96, o projeto deste estudo foi previamente submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da Universidade Estadual de Londrina, tendo sido aprovado sob parecer nº 062/07 (Anexo A).

5.1.1 Tipo de Estudo

Este estudo de intervenção do tipo experimental realizado por ensaio clínico aleatorizado, duplo cego, onde somente a orientadora da pesquisa sabia quem integrava o grupo experimental e o grupo controle, teve como período de abrangência os meses de maio a agosto/2007, totalizando 90 dias.

Os participantes assinaram termo de consentimento livre e esclarecido (Apêndice F) e responderam a dois questionários (Apêndices G e H), afim de se obter o perfil dos voluntários selecionados.

Os participantes foram distribuídos aleatoriamente nos dois grupos: Teste e Controle. O grupo Teste consumiu o biscoito com Farinha Desengordurada de Soja e Farelo de Aveia (FDS + FA) e o grupo Controle consumiu biscoito sem estes ingredientes, aqui nominado de biscoito placebo. Os grupos foram acompanhados simultaneamente e, devido à aleatorização, cada um dos participantes teve a mesma chance de entrar em um dos grupos. Ambos os grupos tiveram n igual a 41.

Durante 28 dias (período de consumo dos biscoitos), o produto foi entregue em três etapas aos voluntários, sendo na primeira 10 pacotes e na segunda e terceira etapas, nove pacotes em cada uma. O voluntário deveria ingerir

por dia, os biscoitos contidos em um pacote e, cada pacote, continha em média 90g ($\pm 1g$) de biscoito. Ambos os grupos seguiram a mesma rotina, ou seja, ingestão do produto ao longo do dia, sem horário pré-determinado.

Os pacotes de biscoito que deixaram de ser consumidos pelos voluntários, foram quantificados e classificados, de forma a se estabelecer critérios para avaliar a adesão, a seguir definidos:

- ✓ Adesão Ótima: nenhuma sobra
- ✓ Adesão Boa: sobra de até 2 pacotes
- ✓ Adesão Satisfatória: sobra de 3 pacotes
- ✓ Adesão Regular: sobra de 5 pacotes
- ✓ Adesão Ruim: sobra > 7 pacotes

Cada voluntário recebeu, a cada etapa, juntamente com os pacotes do produto, um informativo com as datas inicial e final de consumo dos biscoitos, a legenda dos sabores dos biscoitos que seriam consumidos, informações quanto a realização da coleta final de sangue e formas de contato com a pesquisadora (Apêndices I, J e K).

Os resultados dos exames de sangue obtidos nos tempos 0 e 28 dias, foram comparados dentro de cada grupo, de forma a verificar se o tratamento proporcionou mudanças significativas em relação ao valor inicial. Os resultados obtidos ao final dos 28 dias foram também comparados intergrupos, de forma a verificar se havia diferenças entre o Grupo Teste e o Grupo Controle.

5.1.2 Fonte de Dados

Os dados dos voluntários foram obtidos por meio de entrevistas, questionários, exames clínicos e dosagens laboratoriais.

Foram aplicados dois questionários, entregues aos voluntários para que os respondessem posteriormente. O primeiro (Apêndice G), chamado de “Questionário Inicial” por ter sido aplicado no início do ensaio clínico, abrangeu identificação pessoal, hábitos alimentares, história de moléstias atuais e moléstia

familiar. Após o término da ingestão do produto e na ocasião da coleta final de sangue, foi entregue o segundo questionário (Apêndice H), chamado de “Questionário Final”, que buscava verificar modificações em relação a hábitos de vida, principalmente referentes à dieta e prática de exercícios físicos, adesão ao tratamento, além de possíveis reações adversas durante o estudo.

No Questionário Inicial, nas questões que tratavam de frequência de consumo, o voluntário foi orientado a responder conforme as seguintes categorias:

- ✓ Consumo diário: 5 a 6 vezes ou mais por semana
- ✓ Consumo semanal: 3 vezes ou menos por semana
- ✓ Consumo esporádico: 1 vez ao mês
- ✓ Não consumia: ausência de consumo

Durante o período de ingestão do produto, foi realizado acompanhamento por meio de entrevistas informais com os voluntários com relação ao desenvolvimento do estudo.

5.1.3 Local do Estudo

O local de realização do estudo clínico foi o município de Londrina/PR. As coletas de sangue foram realizadas no Setor de Coleta de Sangue do Hospital das Clínicas (HC), da Universidade Estadual de Londrina (UEL), e no Ambulatório do Instituto Agrônomo do Paraná (IAPAR). As amostras de sangue coletadas foram encaminhadas ao Hospital Universitário (HU) da UEL, onde foram analisadas no Setor de Análises Clínicas.

Estes locais foram priorizados devido à facilidade de acesso dos participantes para as coletas das amostras de sangue, bem como pela disponibilidade e caráter científico dos mesmos.

5.1.4 População de Estudo

A população deste estudo consistiu de voluntários, entre eles acadêmicos, funcionários e professores da Universidade Estadual de Londrina, funcionários do HU e funcionários do IAPAR, todos residentes no município de Londrina ou região (com distância máxima de 30 km de Londrina).

Os voluntários foram contactados por mensagem eletrônica veiculada na internet, na qual eram convidados a participar do estudo, e por convite direto.

5.1.4.1 Seleção dos Voluntários

A seleção dos voluntários foi realizada durante os meses de maio e junho de 2007. A população de estudo foi constituída por 248 voluntários, sendo 134 da UEL e 109 do IAPAR.

Inicialmente foi realizada através de entrevista, uma seleção prévia dos voluntários. Estes foram questionados sobre o interesse em participar do estudo e quanto a histórico de doença crônica, uso de medicamentos hipolipemiantes ou antiobesidade e, ainda, gravidez ou intenção de engravidar durante o período do estudo, conforme os critérios estabelecidos para inclusão e exclusão. Nesta entrevista, os voluntários receberam explicações de como o estudo seria conduzido, salientando que parte deles receberia placebo, e enfatizando, também, a importância da manutenção do estilo de vida, principalmente em relação à dieta e atividade física. Foi dada a oportunidade aos voluntários de fazerem questionamentos, que foram prontamente respondidos. Nesta fase estavam aptos a fazer parte do estudo 248 voluntários, os quais foram convidados a participar e, neste momento, assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (Apêndice F).

Na segunda fase de seleção, foram agendadas as coletas de sangue destes voluntários, que deveriam estar em jejum de no mínimo 8 horas, a fim de realizar as primeiras dosagens do perfil lipídico.

Para a seleção de continuidade no estudo, foram estabelecidos critérios de inclusão e exclusão.

Foram incluídos no estudo, voluntários que apresentaram as seguintes características:

- Idade entre 20 e 65 anos;
- LDL-Colesterol entre 100 e 159 mg/dL;

Foram excluídos do estudo, voluntários que apresentaram uma ou mais dentre as seguintes características:

- Diabetes mellitus;
- História de outras doenças crônicas;
- Uso de medicamentos hipolipemiantes, hipoglicemiantes ou antiobesidade;
- Gravidez ou intenção de engravidar durante o período do estudo;
- LDL-Colesterol < 100 mg/dL e > 159 mg/dL;
- Valores de triglicerídeos (TG) acima de 400 mg/dL

No estabelecimento destes critérios, foram considerados os valores atuais de referência para dislipidemias, segundo a Sociedade Brasileira de Cardiologia (2001) (Anexo B).

A partir das dosagens laboratoriais, entrevista e exame clínico, permaneceram no estudo 82 voluntários, os quais foram efetivamente considerados como população do estudo.

Após a conclusão da seleção, realizou-se a aleatorização dos voluntários em dois grupos. Pode-se observar o detalhamento da seleção através do fluxograma apresentado na Figura 12.

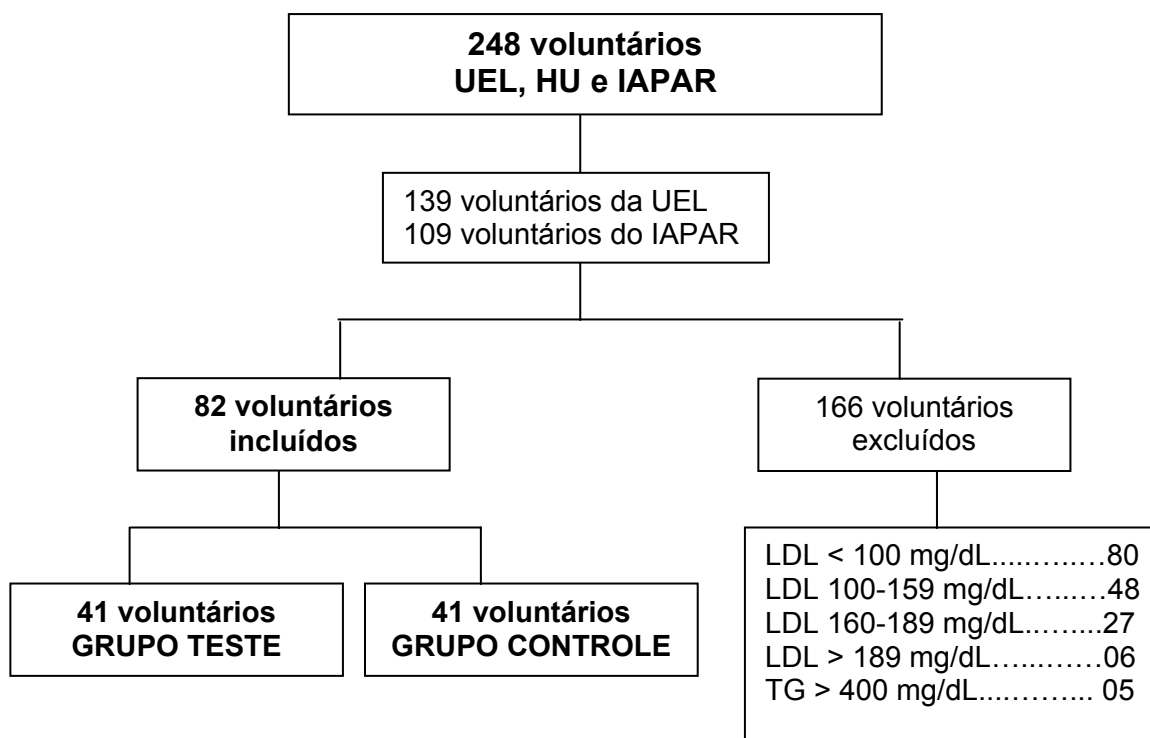


Figura 12 - Seleção dos voluntários para estudo clínico.

5.1.5 Exames Clínicos

Os exames clínicos deram ênfase à avaliação do peso corporal e altura para cálculo do índice de massa corpórea (IMC), além da aferição da pressão arterial.

O IMC é a medida antropométrica mais comumente utilizada para a determinação do excesso de peso, estando, ainda, associada a outros fatores de riscos cardiovasculares, como hipercolesterolemia e baixos níveis de lipoproteína de alta densidade (HDL) (BJÖRNTORP, 1987).

O IMC é também considerado, pela Organização Mundial de Saúde (OMS, 1997), como uma das medidas utilizadas para avaliar obesidade, sendo calculado pela fórmula: $\text{Peso (kg)} / \text{Altura}^2 \text{ (m)}$. É uma medida simples e reproduzível do grau de obesidade de um indivíduo, sendo utilizada para mensurar o nível de adiposidade em grandes estudos populacionais. Diversos estudos já demonstraram que quanto maior o IMC da população, maior é a prevalência de fatores de risco

cardiovascular (RABKIN *et al.*, 1997). Os valores de referência para o IMC encontram-se no Anexo C.

As medidas antropométricas foram realizadas utilizando balança Filizola® com capacidade para 150kg, sensibilidade de 100g. Para as medidas de peso, os voluntários encontravam-se com roupas leves e descalços. A altura (em metros) foi medida com uma régua extensível para 2,15m, considerando os voluntários descalços, em posição ereta e olhando para a frente.

A aferição da pressão arterial (PA) foi realizada com manômetros aneróides, periodicamente calibrados, contra manômetros de mercúrio e seguindo as orientações do Joint National Committee (1993). Considerou-se o 1º som de Korotkoff como a pressão arterial sistólica (PAS) e o 5º como pressão arterial diastólica (PAD). Para efeito de análise foi considerada a média de duas aferições, com correção para o perímetro braquial, segundo as fórmulas propostas por Maxwell (1992): PAS = sistólica aferida + [32-(1,05 x perímetro braquial)] e PAD = diastólica aferida + [22-(0,72 x perímetro braquial)]. Foram considerados hipertensos os indivíduos com PAS ≥ 160 mmHg e/ou PAD ≥ 95 mmHg (World Health Organization, 1998).

5.1.5.1 Dosagens Laboratoriais

As dosagens laboratoriais incluíram a avaliação do perfil lipídico: Colesterol Total (CT), LDL-colesterol (LDL-c), HDL-colesterol (HDL-c) e Triglicerídeos (TG).

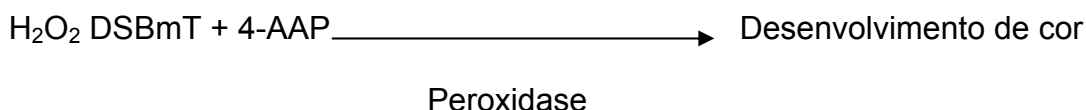
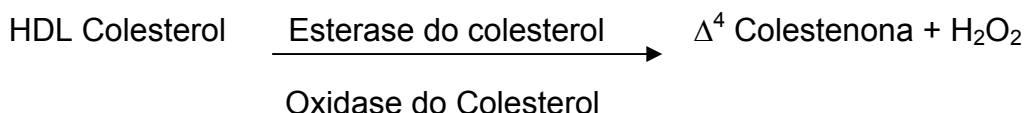
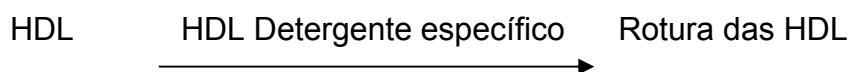
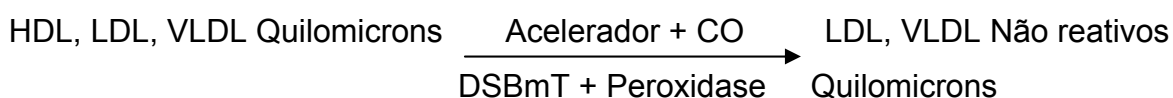
As amostras de sangue foram coletadas sempre no período da manhã, respeitando-se jejum de, no mínimo, 8 horas. Foram realizadas duas coletas, sendo uma antes de iniciar a intervenção e a outra após o término da mesma.

Os métodos bioquímicos utilizados para avaliação do perfil lipídico estão descritos a seguir.

5.1.5.1.1 Determinação do Perfil Lipídico

As dosagens do perfil lipídico dos voluntários foram realizadas mediante coleta de amostras de sangue venoso na prega do cotovelo, que em seguida foram transferidas para tubos a vácuo (BD vacutainer), com capacidade de 5,0 mL, com gel separador para obtenção de soro. Os ensaios bioquímicos foram processados em um sistema autoanalisador Dimension RxL - Dade Behring. Foram determinados o Colesterol Total, Colesterol HDL e Triglicerídeos, utilizando-se reagentes e protocolos do mesmo fabricante do equipamento. O Colesterol Total foi quantificado pela técnica da colesterol oxidase. O Colesterol HDL, pelo método homogêneo direto (detergente acelerador seletivo)*. Por sua vez, o Colesterol LDL foi calculado pela equação de Friedewald (FRIEDEWALD; LEVY; FREDRICKSON, 1972)**. Os Triglicerídeos foram analisados por meio de técnica enzimática bicromática, utilizando lipase e glicerol desidrogenase. Todos os valores obtidos foram expressos em mg/dL.

*Metodologia de Detergente Acelerador Seletivo



**TG/5 = valor de VLDL-c (colesterol contido nas VLDL) (Válido apenas para TG < 400 mg/dL)

5.1.6 Análise Estatística

Na análise dos dados de peso corpóreo e IMC, o planejamento foi o de blocos completos e os resultados foram analisados por ANOVA. Foi realizado teste de média (Tukey, $p \leq 0,05$), empregando-se o programa Statistica 5.1 (STATISTICA, 1995).

Os dados do perfil lipídico (CT, LDL-c, HDL-c e TG) foram analisados comparando amostras dependentes (amostra Teste Inicial e amostra Teste Final; amostra Placebo Inicial e Amostra Placebo Final) e independentes (amostra Teste Inicial e amostra Placebo Inicial; Amostra Teste Final e Amostra Placebo Final). Para mostrar que as hipóteses para o emprego de testes paramétricos (Teste T) foram cumpridas, foi aplicado o Teste de Normalidade (Shapiro-Wilks) e os Testes de Homogeneidade (Cochran, Hartley, Bartlett), para os dados de distribuição normal. Foram consideradas significativas as comparações cujo valor de p foi menor que 5% ($p < 0,05$). Na análise dos dados foi utilizado o programa Statistica versão 7.1 (STATISTICA, 2006).

CAPÍTULO 5 ESTUDO CLÍNICO

5.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.2.1 Características dos Voluntários

As características gerais dos voluntários dos Grupos Teste e Placebo, no início do estudo clínico, podem ser verificadas na Tabela 21.

Tabela 21 - Características gerais dos voluntários distribuídos nos Grupos Teste ou Placebo, no início do estudo clínico.

Parâmetros	Grupo Teste	Grupo Placebo
Número de voluntários	41	41
Gênero	19 homens e 22 mulheres	26 homens e 15 mulheres
Idade (anos) ¹	46,2 (8,66)	44,3 (10,39)
Peso (kg) ¹	75,90 (14,98)	73,67 (16,18)
IMC (Kg/m ²) ^{1,2}	27,28 (5,07)	25,58 (4,73)
PAS (mmHg) ^{1,3}	116 (1,81)	124 (1,70)
PAD (mmHg) ^{1,4}	77 (1,11)	83 (1,13)
Colesterol total (mg/dL) ¹	218,62 (22,52)	215,45 (24,15)
HDL-c (mg/dL) ¹	57,10 (13,01)	55,36 (10,54)
LDL-c (mg/dL) ¹	133,14 (15,81)	132,54 (16,28)
Triglicérides (mg/dL) ¹	141,90 (68,28)	137,79 (69,94)

¹Médias com desvio padrão entre parênteses.

²IMC- Índice de Massa Corpórea; ³PAS- Pressão Arterial Sistólica; ⁴PAD- Pressão Arterial Diastólica.

5.2.2 Perfil dos Voluntários Seleccionados – Questionário Inicial

Traçando-se o perfil dos 82 voluntários seleccionados, através das respostas obtidas com o Questionário Inicial (Apêndice G), observou-se as características apresentadas na Figura 13. A idade dos voluntários, cujo critério de avaliação estabelecido foi entre 20 e 65 anos, teve faixa etária predominante entre 40 e 49 anos (38,5%). Quanto ao gênero, pode-se observar maior participação masculina na amostra (54,9%). Com relação a localidade de residência dos voluntários, nota-se que a maioria residia no município de Londrina (93,9%).

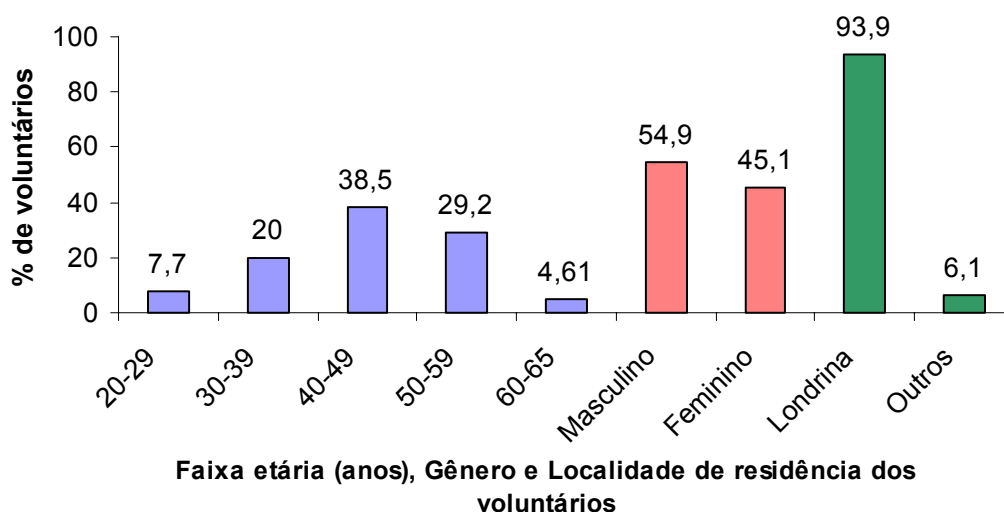


Figura 13 - Distribuição dos voluntários segundo a faixa etária (anos), gênero e localidade de residência.

Quanto ao nível de escolaridade, pode-se observar na Tabela 22 que participaram do estudo voluntários de todos os níveis, com a maioria possuindo o Ensino Médio Completo (21,54%), seguido do Ensino Fundamental Incompleto (20%) e Ensino Superior Completo (20%).

Tabela 22 - Distribuição dos voluntários (%) segundo o nível de escolaridade.

Nível de Escolaridade	(%) de voluntários
Ensino Fundamental Incompleto	20,0
Ensino Fundamental Completo	1,54
Ensino Médio Incompleto	1,54
Ensino Médio Completo	21,54
Ensino Superior Incompleto	12,31
Ensino Superior Completo	20,0
Especialização	9,23
Mestrado	6,15
Doutorado	7,69
Total	100

Analisando fatores de risco cardiovascular no Brasil, Polanczyk (2005) coloca que características sócio-demográficas, renda familiar e nível de escolaridade, têm sido relacionados ao desenvolvimento de doença cardiovascular e que, é conhecido que os fatores de risco tendem a ocorrer com maior frequência e maior número em populações com menor poder econômico e cultural, visto que estas associações ocorrem também em países desenvolvidos.

O mesmo autor relata ainda que dados recentes de um estudo americano, demonstraram que a presença de dois ou mais fatores de risco são mais freqüentes entre aqueles com baixa escolaridade (53%), em comparação com aqueles com curso superior (26%), e que a mesma situação pode ser encontrada em amostras populacionais brasileiras.

5.2.3 Hábitos Alimentares

5.2.3.1 Consumo de Alimentos Específicos

✓ Alimentos Fritos

O consumo pelos voluntários quanto a alimentos fritos pode ser observado na Figura 14, onde constata-se que 40,3% consumia de forma semanal estes alimentos.

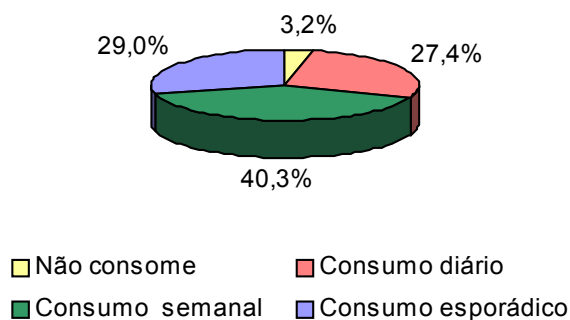


Figura 14 - Consumo pelos voluntários quanto a alimentos fritos.

✓ Tipos de óleo, gordura e/ou azeite

O óleo de soja foi apontado como o tipo de óleo mais utilizado na alimentação diária dos voluntários, como mostra a Figura 15. O azeite de oliva foi citado como consumido no tempero de saladas.

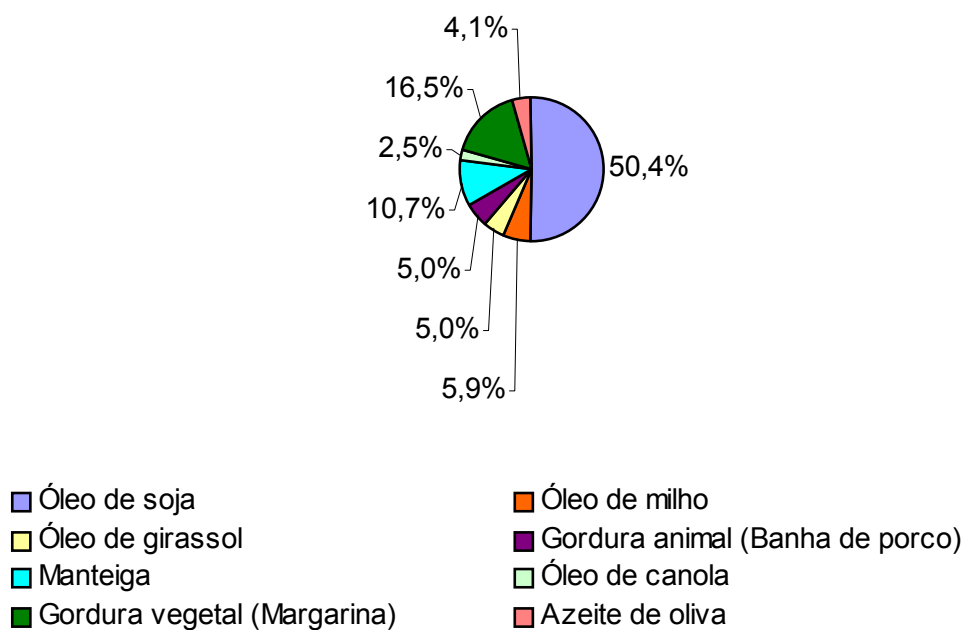


Figura 15 - Tipos de óleo, azeite e/ou gordura consumidos diariamente pelos voluntários.

✓ Alimentos 'Light'

Como observa-se na Figura 16, a maioria dos voluntários (53,1%), disse não consumir alimentos 'light'.

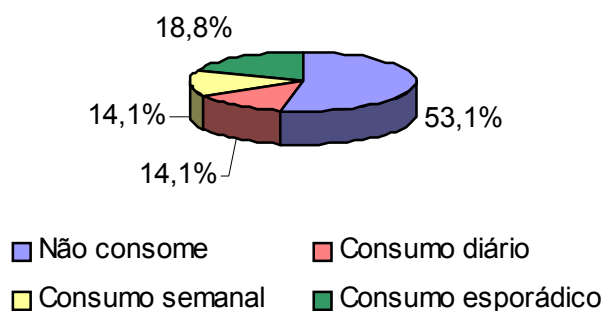


Figura 16 - Consumo de alimentos 'light' pelos voluntários.

✓ Leite

A Figura 17 mostra que a maioria dos voluntários (68,3%), consumia leite diariamente e que leite integral era o tipo mais consumido (59,3%).

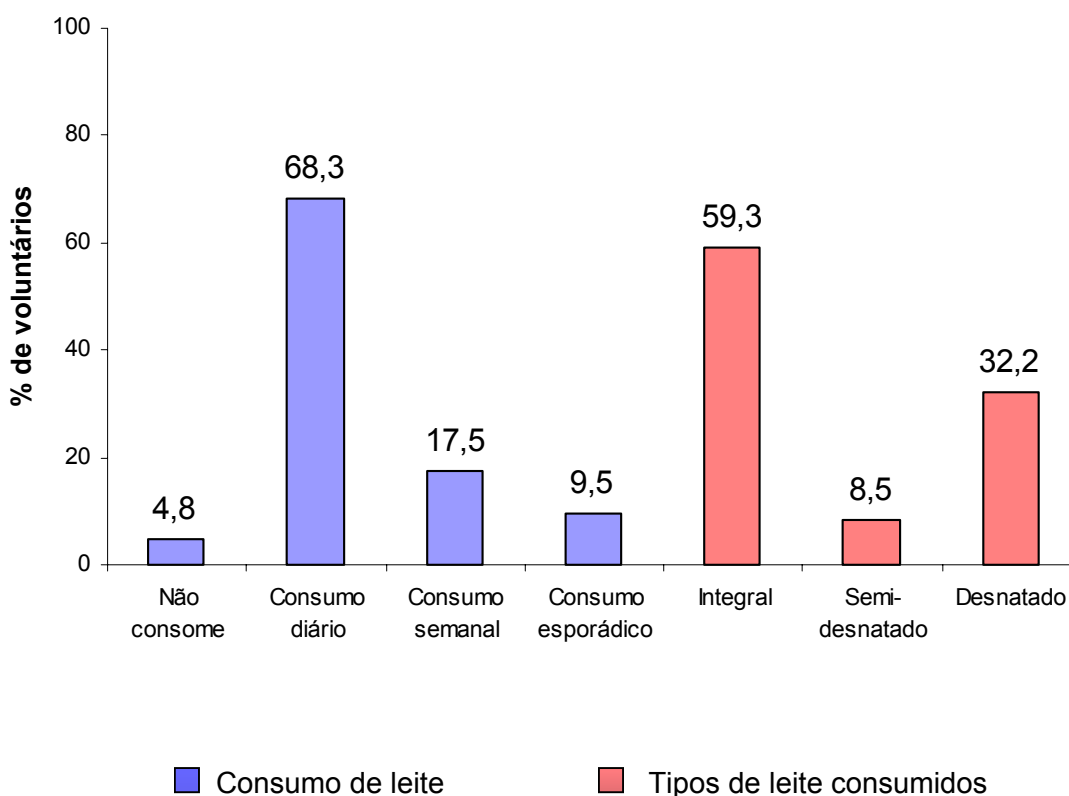


Figura 17 - Consumo e tipos de leite consumidos pelos voluntários.

A ocorrência de níveis alterados no perfil lipídico dos voluntários pode ter em suas causas, as seguintes práticas observadas: o consumo de alimentos fritos é semanal para 40,3% (Figura 14); 53,1% dos voluntários não consomem produtos 'light' (Figura 16); o consumo de leite integral é de 59,3% (Figura 17).

Com relação ao consumo de lipídios, a American Heart Association (2001a) recomenda que para indivíduos com DCV pré existentes seja de 25% a 35% (< de 7% saturados, até 10% poliinsaturados e < que 200mg de colesterol/dia). Gershoff *et al.* (1996) explicam que embora o excesso de lipídios seja prejudicial, observou-se que os povos mediterrâneos com quase 40% de ingestão de gorduras, provenientes na sua maior parte do azeite, apresentavam menor prevalência de DCV do que os de outros países como EUA e Holanda, cujo consumo era similar, mas proveniente das gorduras animais.

✓ Biscoitos/bolachas

A maioria dos voluntários consumia biscoitos/bolachas semanalmente (47,1%), como apresenta a Figura 18. Os tipos mais consumidos do produto eram 'Água e Sal' (23,7%), seguido do biscoito 'Maisena' (19,9%) (Figura 19).

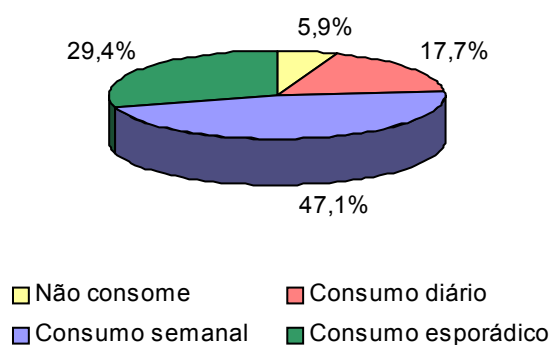


Figura 18 - Consumo de biscoitos/bolachas pelos voluntários.

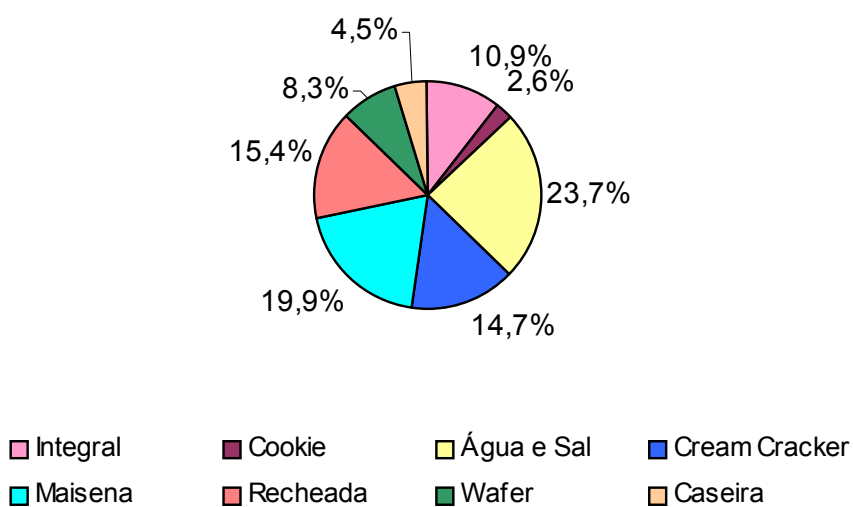


Figura 19 - Tipos de biscoitos/bolachas consumidos pelos voluntários.

A escolha do produto para fornecimento dos ingredientes testados foi bastante viável, uma vez que 47,1% consumiam biscoitos semanalmente (Figura 18), o que pode ter facilitado, de alguma forma, a participação do voluntário no estudo.

✓ Frutas e verduras/legumes

Nas Figuras 20 e 21A observa-se que 40,6% dos voluntários consumiam frutas e 67,2% consumiam verduras/legumes, ambos diariamente.

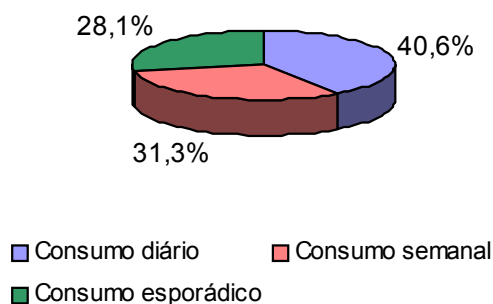


Figura 20 - Consumo de frutas pelos voluntários.

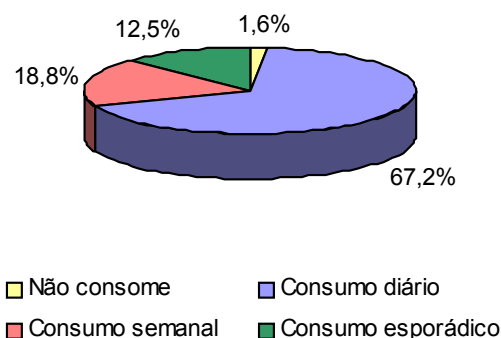


Figura 21 - Consumo de verduras/legumes pelos voluntários.

Estes valores de consumo diário são bastantes expressivos, visto que estes alimentos são ricos em fibras, que poderiam estar colaborando na redução de valores hipercolesterolêmicos.

A American Heart Association (2000) enfatiza o consumo de vegetais, frutas e grãos integrais, confirmando a importância das fibras alimentares na prevenção e controle das DCV.

✓ Alimentos com Soja

De acordo com a Figura 22, a maioria dos voluntários (38,7%), afirmou não consumir alimentos com soja. Entretanto, os voluntários que os consumiam preferiram estes alimentos na forma processada (65,8%).

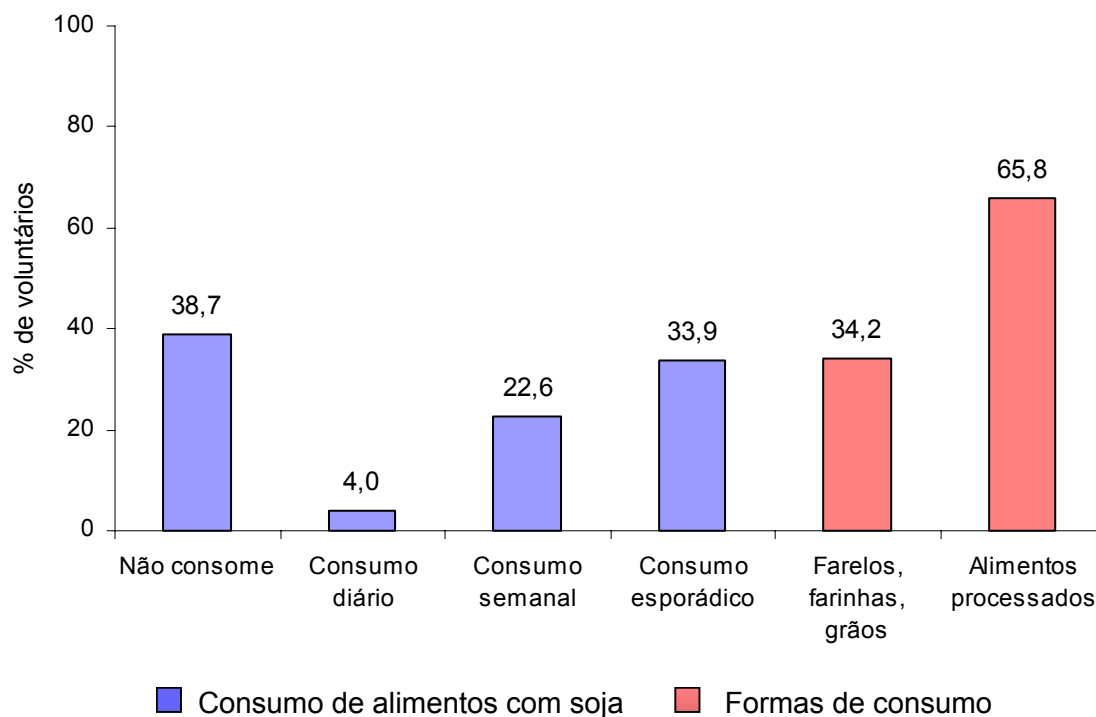


Figura 22 - Consumo e formas de consumo de alimentos com soja pelos voluntários.

✓ Alimentos com Aveia

Com relação ao consumo de alimentos com aveia, 46% dos voluntários responderam que não consumiam estes alimentos, como apresenta a Figura 23. Porém, 64,9% dos voluntários que consumiam, afirmaram que preferiam consumir aveia na forma de farelo, farinha e flocos.

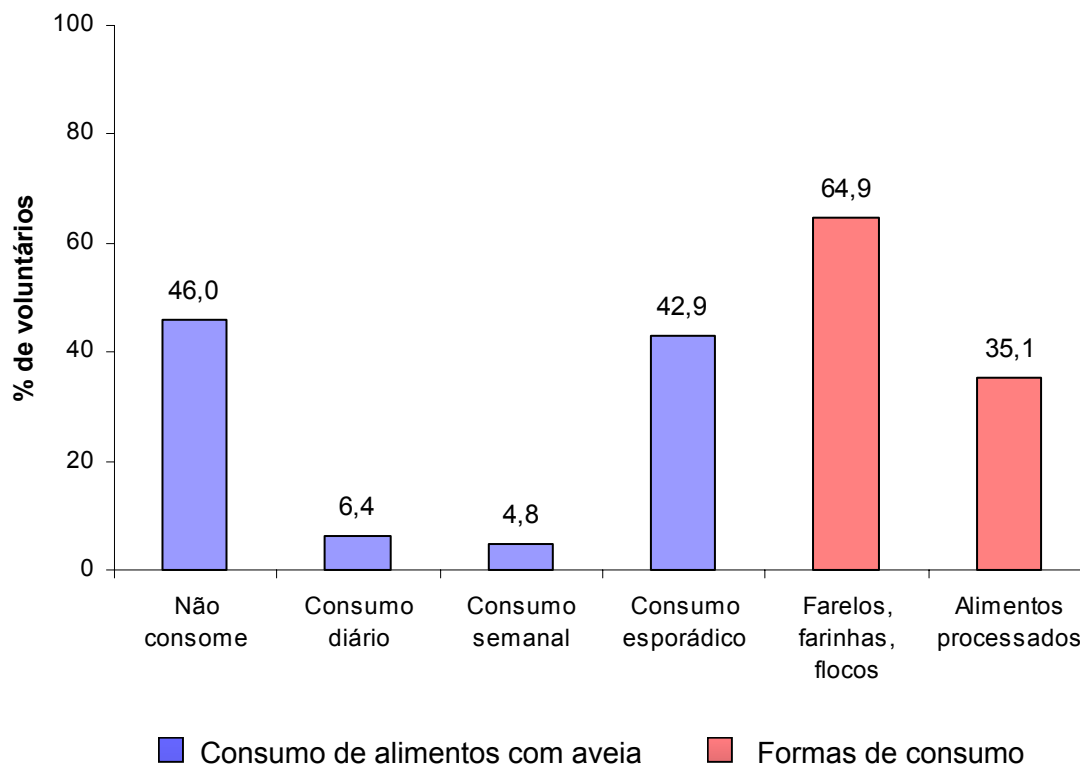


Figura 23 - Consumo e formas de consumo de alimentos com aveia pelos voluntários.

✓ Alimentos funcionais

Constatou-se que a maioria dos voluntários desconhecia a respeito de alimentos funcionais (44,1%), seguido de 35,6% que conhecia e consumia pouco este tipo de alimento (Figura 24).

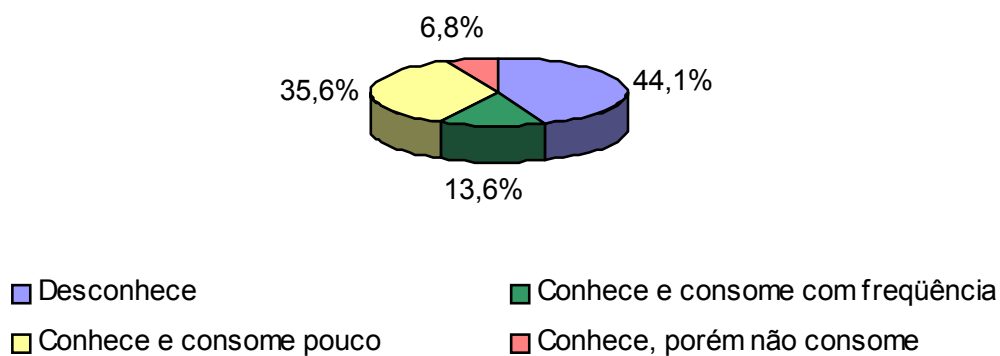


Figura 24 - Conhecimento dos voluntários a respeito de alimentos funcionais.

Observou-se que a maioria dos voluntários alegou não ter o hábito de consumir alimentos com soja (38,7%) e alimentos com aveia (46%), Figuras 22 e 23, respectivamente, o que sugere que estes alimentos ainda são de certa forma, pouco consumidos ou pouco conhecidos por grande parte dos consumidores. Da mesma forma, 44,1% responderam desconhecer o termo “Alimentos Funcionais”, ou conheciam e consumiam pouco (35,6%) (Figura 24).

5.2.3.2 Hábitos Pessoais

De acordo com as diretrizes da Sociedade Brasileira de Cardiologia (2001), os fatores de risco mais evidentes no panorama da saúde cardiovascular no Brasil são: tabagismo, hipertensão arterial sistêmica (HAS), *diabetes mellitus*, obesidade e dislipidemias. Ainda que o sedentarismo não tenha sido estratificado no panorama nacional, há algum tempo ele vem sendo mencionado por diversos autores como um importante fator de risco para as DCV.

Lima *et al.* (2000) coloca que estudos epidemiológicos têm sugerido que dentre os fatores de risco para DCV, estão alguns hábitos relacionados ao estilo de vida, como dieta rica em calorias, gorduras saturadas, colesterol, consumo excessivo de sal e de bebida alcoólica, além de tabagismo e sedentarismo.

Segundo Stehbens (1989), os fatores de risco mais importantes são: sexo masculino, idade avançada, hipertensão, fumo, diabetes, baixa atividade física, alto consumo de gordura e colesterol e o histórico familiar (genética). Este último é considerado principal, devido aos fatores de risco nas pessoas com tendência à hipercolesterolemia serem mais proeminentes, obrigando cautela a estes indivíduos quanto a alimentação.

Verificou-se que, além da ocorrência de hiperlipidemia, os voluntários apresentavam: sedentarismo (48,4%), obesidade (25%), consumo de bebida alcoólica semanal (31,8%) e diária (3,2%), além de tabagismo (10,9%). Todos estes fatores como anteriormente citados, são considerados preocupantes com relação ao surgimento e/ou agravamento de DCV.

O cálculo da obesidade é resultado da soma das obesidades grau 1 (moderada) e grau 2 (severa). Foram considerados sedentários os voluntários que não praticavam nenhum tipo de atividade física regular, tabagistas os que fumaram, no mínimo, 1 cigarro/dia nos últimos 6 meses e ex-tabagistas os que pararam de fumar há pelo menos 6 meses.

✓ Hipertensão

Na figura 25, observa-se que a maioria dos voluntários (73,3%) alegou não ser hipertensos e 24,4% responderam ser hipertensos, sendo que todos os hipertensos, afirmaram fazer uso de medicação para hipertensão.

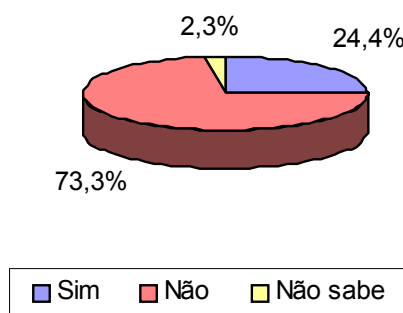


Figura 25 - Ocorrência de hipertensão entre os voluntários.

Entretanto, os valores médios da pressão arterial dos voluntários, apresentados na Tabela 21, não demonstram valores correspondentes a hipertensão na ocasião de aferição da pressão arterial (PAS e PAD). Este fato ocorreu provavelmente, devido ao uso da medicação para hipertensão pelos voluntários.

A Figura 26 mostra que 45,2% tinha o hábito de aferir a pressão arterial, porém a maioria (54,8%) não tinha este hábito. Quanto a periodicidade, 53,1% aferiam esporadicamente. É importante observar o alto índice de voluntários que não tinham o hábito de aferir a pressão arterial, visto ser este um controle importante com relação a DCV.

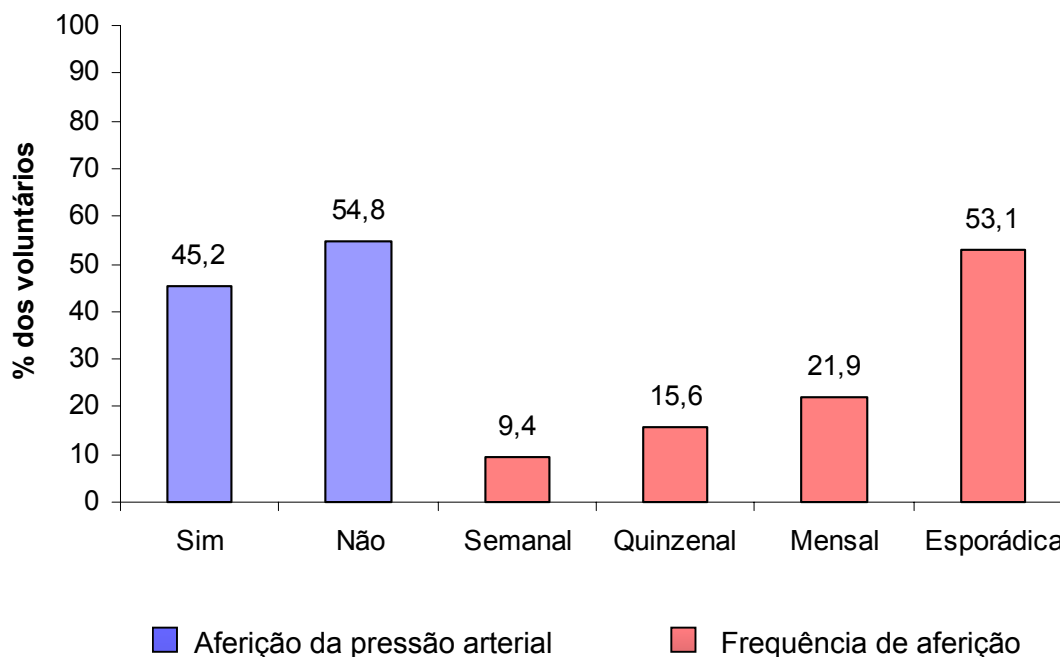


Figura 26 - Aferição e freqüência de aferição da pressão arterial pelos voluntários.

Por ser considerada como um dos maiores fatores de risco para o desenvolvimento de complicações cardiovasculares, torna-se evidente a necessidade da análise e acompanhamento da hipertensão arterial sistêmica (HAS), particularmente em indivíduos que apresentam alterações no perfil lipídico.

Simões e Schmidt (1996) colocam que é relativamente bem conhecido na prática clínica, que regime pressórico persistente elevado ao longo do tempo mesmo naqueles indivíduos assintomáticos, resulta em importante morbidade e mortalidade decorrentes de DCV. Da doença hipertensiva não tratada provém duas formas de acometimento vascular degenerativo.

Primeiramente, aquelas diretamente associadas à hipertensão por si própria, podendo ser encaradas como complicações da história natural da doença hipertensiva. Estas complicações vasculares hipertensivas podem apresentar evolução fatal conseqüente à insuficiência renal, cardíaca e acidente vascular cerebral hemorrágico (KLAPAN, 1992 apud SIMÕES e SCHMIDT, 1996). Por outro lado, situam-se as alterações degenerativas do sistema vascular de natureza aterosclerótica que são agravadas ou aceleradas pela hipertensão arterial, particularmente, a doença arterial coronariana, pela sua elevada incidência. Desta forma, a doença hipertensiva constitui importante fator de risco para o desenvolvimento da doença aterosclerótica (SIMÕES; SCHMIDT, 1996).

✓ Prática de atividade física

Para a prática de atividade física, foram considerados os exercícios extras, praticados de forma regular e que não faziam parte das atividades rotineiras e diárias. A quantidade mínima foi de 30 minutos e a frequência igual ou superior a duas vezes por semana.

A maioria dos voluntários (51,6%), respondeu que praticava atividade física, ao menos duas vezes por semana, como mostra a Figura 27. Assim, tem-se um percentual de 48,4% de voluntários sedentários.



Figura 27 - Prática de atividade física dos voluntários.

Estudos envolvendo indivíduos adultos comprovaram que o estilo de vida sedentário é um comportamento claramente identificado com perfil lipídico desfavorável (BERLIN; COLDITZ, 1990; BLAIR *et al.*, 1996). Segundo Gidding (1999), O sedentarismo pode facilitar o aparecimento de obesidade, hipertensão arterial, baixas concentrações de HDL-C e aumento de TG, que são fatores que reconhecidamente se associam à doença aterosclerótica.

A atividade física e os hábitos alimentares adequados são considerados importantes mecanismos de protecção contra o surgimento e progressão dos fatores de risco que causam uma predisposição para doenças cardiovasculares (ESREY; JOSEPH; GROVER, 1996; HU *et al.*, 1997). O incentivo ao aumento da atividade física e da utilização de uma dieta equilibrada adequada têm desempenhado um papel significativo em vários programas que visam a prevenção e controle de doenças cardíacas (EATON *et al.*, 1995).

✓ Ocorrência de tabagismo

Foi considerado tabagista o voluntário que consumiu pelo menos um cigarro por dia no decorrer dos últimos seis meses, ex-tabagista aquele que abandonou o hábito há pelo menos seis meses e não tabagistas aqueles que nunca fumaram. Na Figura 28, observa-se que 65,6% dos voluntários nunca fumaram, 23,4% eram ex-tabagistas e 10,9% fumavam na época do estudo.

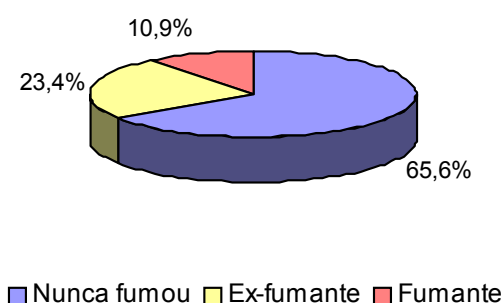


Figura 28 - Ocorrência de tabagismo entre os voluntários.

O tabagismo é considerado pela OMS como o mais importante fator de risco evitável de morbidade e de mortalidade (MULTIPLE..., 1982). Apesar da inalação de substâncias tóxicas produzidas pelo fumo, estar estreitamente associada ao aparecimento e ao desenvolvimento de alguns tipos de câncer e à manifestação de graves distúrbios respiratórios, as doenças cardiovasculares são as mais importantes conseqüências do uso de tabaco. Além disso, importantes alterações em mecanismos funcionais e metabólicos têm sido descritas para explicar os efeitos nocivos do tabaco no sistema cardiovascular, entre as quais modificações nas concentrações de lipídeos-lipoproteínas plasmáticas (GUEDES *et al.*, 2007), sendo capaz de produzir lesões endoteliais de forma direta, levando a uma maior oxidação de LDL e reduzindo a produção de HDL (SIMÃO *et al.*, 2002). Guedes *et al.* (2007) destacam que quando comparados aos não fumantes, os adultos fumantes tendem a apresentar um perfil plasmático aterogênico mais comprometido.

Embora o uso de tabaco seja considerado um dos mais importantes fatores de risco predisponentes ao aparecimento e desenvolvimento da

aterosclerose, os mecanismos agressores envolvidos com esse comportamento não estão totalmente elucidados (GUEDES *et al.*, 2007). No entanto, algumas ações reversíveis quanto à exposição ao uso de tabaco têm sido documentadas experimentalmente em adultos, como a indução a arritmias cardíacas por aumento da excitabilidade do miocárdio e maior liberação de catecolaminas, o aumento da concentração de monóxido de carbono na corrente sanguínea danificando o endotélio, a formação de carboxihemoglobina que desencadeia anoxemia nos tecidos, incluindo o miocárdio, e o aumento da agregação plaquetária (BURNS, 2003; KAMHOLZ, 2004).

A minimização ou a remoção dessas ações deletérias podem explicar os imediatos benefícios à saúde cardiovascular em consequência do abandono do uso de tabaco. Também, os adultos fumantes tendem a apresentar lesões ateroscleróticas mais freqüentemente e com maior gravidade que os não fumantes (PRICE *et al.*, 1999; BURNS, 2003). Essas lesões podem ser parcialmente explicadas pelas alterações observadas no perfil lipídico-lipoprotéico plasmático dos fumantes.

✓ Consumo de bebida alcoólica

O consumo de bebida alcoólica, independente da quantidade e do tipo é verificado na Figura 29, e ocorre em maior parte esporadicamente entre os voluntários (34,9%), seguido do consumo semanal (31,8%). Entretanto, um valor também considerável (30,2%) afirmou não consumir o produto e apenas 3,2% responderam que fazem uso de bebida alcoólica diariamente.

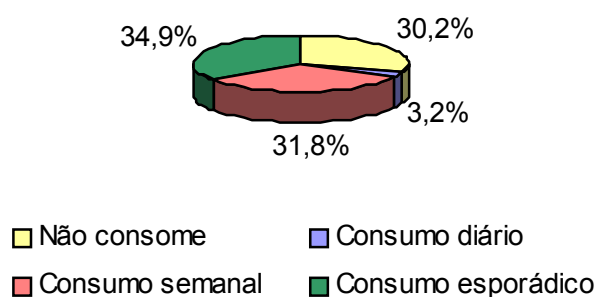


Figura 29 - Consumo de bebida alcoólica pelos voluntários.

Segundo Pearson (1996), o consumo moderado de álcool mostra-se benéfico na redução de risco para DCV visto que no estudo de Framingham, indivíduos com ingestão moderada (um a dois drinks diários) tinham menor taxa de mortalidade do que abstêmios e os que bebiam maior quantidade. O estudo sugeria ainda que a baixa incidência de DCV na França era devido ao consumo de vinho tinto, que compensaria o efeito negativo da alta ingestão de gorduras saturadas. No entanto, de acordo com Halsted (1997), alguns pesquisadores alertaram que a baixa incidência de DCV naquele país poderia estar relacionada a outros fatores comportamentais ou mesmo à alta ingestão de vegetais e frutas.

Ainda que possam existir vieses relacionados a fatores de estilo de vida nesses estudos, acredita-se que o consumo de quantidades moderadas de álcool tenha efeito protetor nas DCV, através do aumento da HDL-c e redução do fibrinogênio (KEY; APPLEBY, 2001). Porém, a American Heart Association (2001b) coloca que o consumo de mais de três drinks diários vem sendo relacionado a inúmeros efeitos adversos relacionados às DCV, como arritmia, hipertensão arterial, derrame hemorrágico (Acidente Vascular Cerebral Hemorrágico) e morte súbita e que o álcool pode possivelmente elevar as concentrações de triglicérides séricos, sugerindo então que seu consumo seja limitado a um drink diário para mulheres e dois para homens, sendo que um drink corresponde a 14g de álcool e pode ser definido como uma lata de cerveja ou um copo de vinho (120ml).

✓ Função Gástrica e Função Intestinal

Por relacionar-se com os resultados do questionário final, ou seja, resultados obtidos após o consumo dos biscoitos, a função gástrica e a função intestinal foram analisadas separadamente nos grupos de estudo, como mostram as Figuras 30A e 30B (função gástrica) e Figuras 31A e 31B (função intestinal).

✓ Função Gástrica



Figura 30 - Função Gástrica dos voluntários do Grupo Teste (A) e Grupo Placebo (B).

✓ Função Intestinal

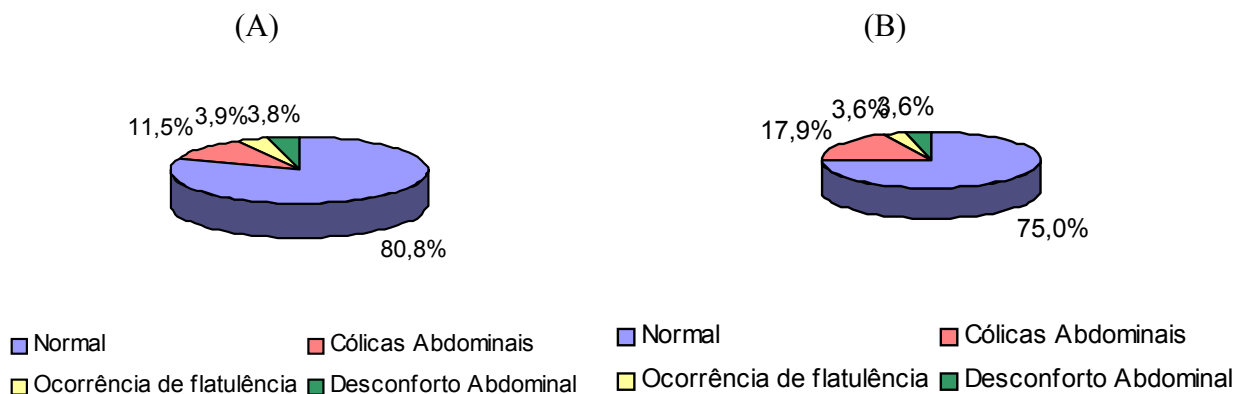


Figura 31 - Função Intestinal dos voluntários do Grupo Teste (A) e Grupo Placebo (B).

A função intestinal dos voluntários também foi avaliada quanto a consistência das fezes, como mostram as Figuras 32A e 32B.

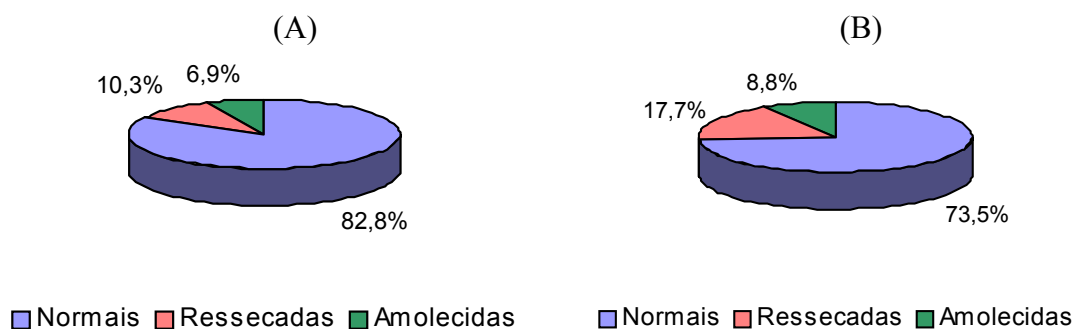


Figura 32 - Consistência das fezes dos voluntários do Grupo Teste (A) e Grupo Placebo (B).

✓ Realização de exames laboratoriais periódicos

A Figura 33 mostra que a maioria dos voluntários (80,3%), realiza exames laboratoriais periódicos e que a periodicidade de realização destes exames, acontece em sua maioria, 1 vez ao ano (54,8%).

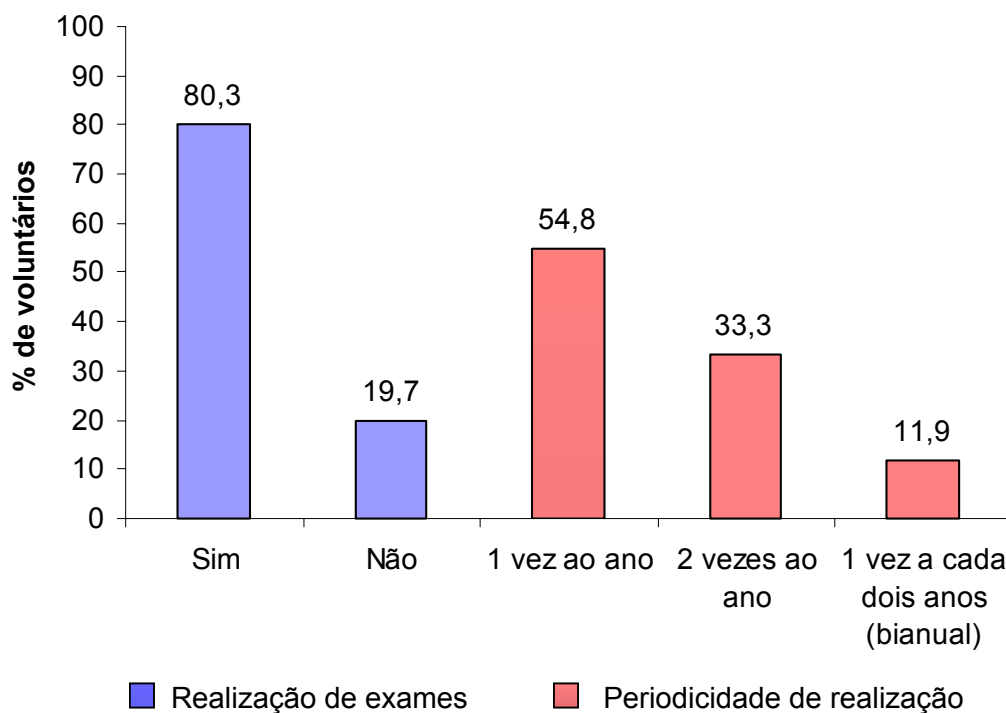


Figura 33 - Realização e periodicidade de realização de exames laboratoriais pelos voluntários.

Na realização de exames laboratoriais, os voluntários citaram os seguintes exames: Perfil Lipídico (Colesterol Total) 13,9%, Hemograma (20,5%), Ginecológico (Preventivo: 14,8% e Mamografia: 4,9%), Diabetes (13,1%), Urina (9%), Fezes (7,3%), Hormonal (4,1%), Eletrocardiograma (3,3%), Urografia (2,5%), Oftalmológico (2,5%), Próstata (2,5%), Ácido Úrico (0,8%) e HIV (0,8%).

✓ Doença cardiovascular familiar

Quanto a histórico familiar para DCV, apenas pais e irmãos foram

considerados, pelo maior grau de parentesco, e, dessa forma, pela maior concordância genética. Foram incluídos coronariopatias em tratamento, histórico de infarto, angioplastia e revascularização cirúrgica. Entre os voluntários, a ocorrência de doenças cardiovasculares familiar é 41,9% provenientes paterno (resposta de 13 voluntários), 35,5% materno (resposta de 11 voluntários) e 22,6% ocorre nos irmãos (resposta de 7 voluntários) (Figura 34).

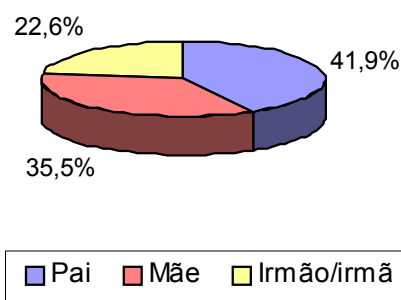


Figura 34 - Ocorrência de doença cardiovascular familiar entre os voluntários.

Quanto à frequência de realização de exames laboratoriais periódicos, observou-se que 80,3% dos voluntários tem esta prática e que ela ocorre ao menos 1 vez ao ano, para 54,8% (Figura 33). Entretanto, ainda é bastante modesta a realização de exame do perfil lipídico, sendo este apontado por apenas 13,9% dos voluntários. Nota-se, também, que sua realização deveria ser mais frequente, visto que o histórico familiar para doenças cardiovasculares entre os voluntários, indica ocorrência genética de origem paterna em 41,9% e materna em 35,5% (Figura 34).

O conhecimento quanto ao histórico familiar de DCV deve ser observado, pois segundo Maarle *et al.* (2002), indivíduos que não ingerem alimentos ricos em gorduras e não têm uma vida sedentária, também podem ser vítimas do colesterol, por herdarem esta substância dos familiares, constituindo-se numa doença genética referente a alteração do gene dos receptores do colesterol LDL, chamada de hipercolesterolemia familiar.

A hipercolesterolemia familiar é uma desordem autossômica dominante do metabolismo lipoprotéico com uma frequência estimada de 1 em 500 indivíduos em países ocidentais, que resulta em mortalidade excessiva por doença

arterial coronária. Seus portadores vão apresentar desde muito cedo, níveis elevados de colesterol, o que resulta no aparecimento, também muito precoce, de complicações cardiovasculares graves, decorrentes do colesterol que deposita-se nas paredes das artérias, originando a formação de placas lipídicas que impedem a passagem do sangue e promovem a aterosclerose (GOLDSTEIN; BROWN, 2001).

Como sinais de hipercolesterolemia familiar, o indivíduo pode apresentar valores superiores a 300mg/dL de Colesterol Total ou a 200 mg/dL de LDL-colesterol, além de histórico familiar de doença cardiovascular grave e precoce (antes dos 50 anos) e depósito de colesterol nos tendões, como nos tornozelos e dorso das mãos (algumas saliências em forma de nódulos) (MAARLE *et al.*, 2002).

5.2.4 Adesão ao Estudo

Dentre os 82 voluntários que iniciaram o estudo, 76 (92,7%) cumpriram integralmente os 28 dias de consumo dos biscoitos. A desistência de seis voluntários (quatro do Grupo Teste e dois do Grupo Placebo), ocorreu pelos seguintes motivos: período de férias (66,6%), agravamento de enxaqueca devido ao aroma dos biscoitos (16,7%), mudança nos hábitos alimentares por motivo de cirurgia gastro-intestinal (16,7%).

Dentre os voluntários que completaram o estudo, não foram identificados problemas relacionados à adesão ao mesmo, o que ficou evidenciado à medida que os voluntários relatavam o consumo dos biscoitos nas entrevistas pessoais, na ocasião das entregas de novas remessas do produto. Entretanto, buscou-se a confirmação dessa afirmação através das respostas do questionário final (Apêndice H), onde dentre outras questões havia o número de pacotes do produto ingeridos durante o estudo. Pode-se constatar que 90,8% dos voluntários tiveram ótima adesão ao estudo, ou seja, não houve sobra de produto e que 9,2% deixaram de consumir algum pacote. Destes voluntários (três do Grupo Teste e quatro do Grupo Placebo), 14,3% e 28,6% tiveram adesão boa ao estudo (sobra de um e dois pacotes, respectivamente) e 57,1% tiveram adesão satisfatória ao estudo (sobra de 3 pacotes).

Os resultados a seguir, referem-se aos 76 voluntários que concluíram o estudo clínico.

5.2.5 Avaliação do Peso Corpóreo e Índice de Massa Corpórea

Na Figura 35, observa-se que a maioria dos voluntários (39,5%), classifica-se no Índice de Massa Corpórea (IMC) normal, seguido de 34,2% que estavam com sobrepeso. Pode-se observar também, que 25% dos voluntários eram obesos, sendo 19,7% de grau 1 (obesidade moderada) e 5,3% de grau 2 (obesidade severa). Nenhum voluntário classificou-se no grau 3 (obesidade mórbida).

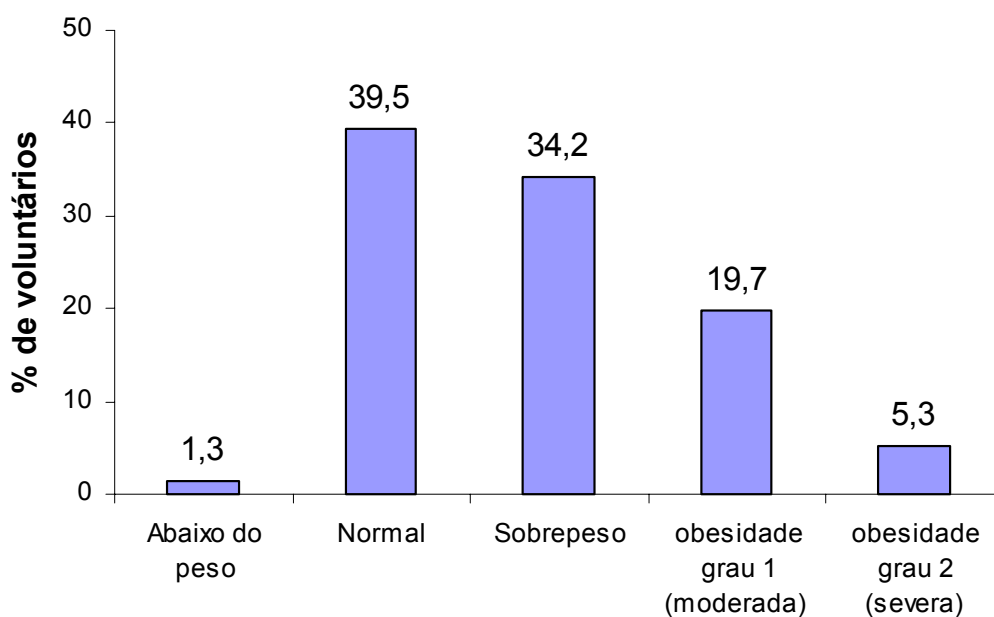


Figura 35 - Classificação do IMC dos voluntários.

Na Tabela 23, observa-se que de modo geral, os voluntários perderam 0,54 Kg durante o período do estudo. Porém, esta redução não foi suficiente significativa para causar alterações nos valores de IMC.

Tabela 23 - Avaliação do peso corpóreo e do IMC dos voluntários do Grupo Teste e Grupo Placebo no início e final do estudo clínico.

Parâmetros	Grupo Teste	
	Inicial	Final
Peso (Kg) ¹	73,64 (13,70)	73,37 (13,63)
IMC (Kg/m ²) ¹	26,67 (4,71)	26,56 (4,62)
	Grupo Placebo	
	Inicial	Final
Peso (Kg) ¹	73,36 (15,97)	73,09 (16,01)
IMC (Kg/m ²) ¹	25,73 (4,75)	25,63 (4,76)

¹Médias com desvio padrão entre parênteses. Não houve diferença significativa na comparação entre final e inicial (teste t, $p \leq 0,05$).

5.2.6 Avaliação do Perfil Lipídico

Para avaliação do perfil lipídico deste estudo clínico, foram realizados testes de homogeneidade e de distribuição normal, onde pode-se verificar que os dados obtidos com os voluntários, mostraram homogeneidade e distribuição satisfatória.

Através dos resultados apresentados na Tabela 24, verifica-se que quando comparados, no início e final do estudo, os resultados do Grupo Teste apresentaram reduções significativas de 11,24% nos valores de CT e 17,75% para LDL-c, enquanto que as variações de TG e HDL-c não foram significativas. No Grupo Placebo, as análises mostraram reduções significativas de 5,9% nos valores de CT e 11,01% em LDL-c e acréscimo de 8,72% nos valores de HDL-c. Para TG, não ocorreu variação significativa.

É possível ressaltar melhora no perfil lipídico dos voluntários, através dos resultados de CT e LDL-c.

Constatou-se que os voluntários apresentavam hipercolesterolemia limítrofe (219,65 mg/dL no Grupo Teste; 214,86 mg/dL no Grupo Placebo), ou seja,

entre 200-239 mg/dL, segundo os valores de referência da Sociedade Brasileira de Cardiologia (2001) (Anexo C). Observa-se, no entanto, que os valores finais de CT (194,97 mg/dL no Grupo Teste; 202,19 mg/dL no Grupo Placebo), além de representarem uma redução significativa, praticamente se enquadraram dentro da faixa ótima para CT (<200mg/dL).

Quanto aos valores de LDL-c, que inicialmente estavam também na categoria limítrofe (134,89 mg/dL no Grupo Teste; 132,78 mg/dL no Grupo Placebo), ou seja, entre 130-159 mg/dL (Anexo C), pode-se verificar que, embora os valores finais não tenham se enquadrado na faixa ótima (<100mg/dL), estes passaram a valores mais baixos (110,95 mg/dL no Grupo Teste e 118,16 mg/dL no Grupo Placebo), enquadrando-se na faixa desejável do LDL-c (100-129mg/dL). É provável que, com o aumento do período de consumo do produto, estes valores alcançassem maiores reduções, atingindo também a faixa ótima.

Tabela 24 - Perfil lipídico dos voluntários do Grupo Teste e Grupo Placebo no início e final do estudo clínico.

Parâmetros (mg/dL)	Dieta + Teste ²		
	Inicial	Final	Varição (%)
CT ¹	219,65 (23,29) ^A	194,97 (26,69) ^B	-11,24
HDL-c ¹	56,30 (13,31) ^A	58,03 (15,08) ^A	3,07
LDL-c ¹	134,89 (16,07) ^A	110,95 (18,84) ^B	-17,75
TG ¹	142,43 (70,98) ^A	129,35 (90,75) ^A	-9,18
	Dieta + Placebo ²		
	Inicial	Final	Varição (%)
CT ¹	214,86 (21,86) ^A	202,19 (24,66) ^B	-5,90
HDL-c ¹	54,59 (11,63) ^B	59,35 (15,06) ^A	8,72
LDL-c ¹	132,78 (16,44) ^A	118,16 (18,17) ^B	-11,01
TG ¹	137,62 (72,97) ^A	123,51 (61,35) ^A	-10,25

¹Médias com desvio padrão entre parênteses. ²Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa (p≤0,05).

Analisando a Tabela 25, verifica-se que os dois grupos apresentavam homogeneidade no início do estudo, o que comprova que dispunham de características semelhantes. Mesmo observando diferenças isoladas dentro de cada grupo analisado, em relação ao valor inicial (Tabela 24), ao investigarmos possíveis diferenças entre estes grupos, as mesmas não foram constatadas. Apesar disso, verificou-se uma tendência de melhores índices de redução de CT e de LDL-c no Grupo Teste.

Observando os valores de TG, nota-se o elevado valor do desvio padrão apresentado nos dois grupos. Este comportamento se deve ao fato de que, dentre todos os componentes do perfil lipídico, os triglicerídeos apresentam a variação mais elevada. O Segundo Consenso Brasileiro sobre Dislipidemias, considera que grandes variações nas dosagens de CT e TG podem ser analíticas, quando relacionadas a metodologia e procedimentos utilizados pelos laboratórios e pré-analíticas quando relacionadas a fatores intrínsecos do indivíduo, estilo de vida (obesidade, alimentação no dia anterior à coleta de sangue, idade, consumo de álcool, estresse, sedentarismo, tabagismo, entre outros) e que fatores pré-analíticos, especialmente os de origem biológica (idade, sexo e raça) são os principais responsáveis pela variabilidade dos resultados.

Com relação ao Grupo Placebo, não era esperado que este apresentasse reduções nos valores de perfil lipídico, uma vez que não há na literatura trabalhos que comprovem que farinha de milho influencie nestas diminuições. Provavelmente, estes resultados foram acarretados por outros fatores, como a prática de atividade física e mudança na dieta pelos voluntários.

Tabela 25 - Perfil lipídico inicial e final dos voluntários do Grupo Teste e Grupo Placebo.

Parâmetros (mg/dL)	Inicial	
	Dieta + Teste	Dieta + Placebo
CT ¹	219,65 (23,29)	214,86 (21,86)
HDL-c ¹	56,30 (13,31)	54,59 (11,63)
LDL-c ¹	134,89 (16,07)	132,78 (16,44)
TG ¹	142,43 (70,98)	137,62 (72,97)
	Final	
	Dieta + Teste	Dieta + Placebo
CT ¹	194,97 (26,69)	202,19 (24,66)
HDL-c ¹	58,03 (15,08)	59,35 (15,06)
LDL-c ¹	110,95 (18,84)	118,16 (18,17)
TG ¹	129,35 (90,75)	123,51 (61,35)

¹Médias com desvio padrão entre parênteses. Não houve diferença entre os Grupos Teste e Placebo (teste t, $p \leq 0,05$).

Anderson, Johnstone e Cook-Newell (1995) analisaram, através de uma meta-análise, o potencial da proteína de soja na diminuição dos níveis do LDL-colesterol, e chegaram a resultados bem próximos aos obtidos neste trabalho, uma vez que a proteína de soja foi associada com resultados significativos de 9,3% na redução do CT, 12,9% no LDL-c e 10,5% em TG, com um pequeno, porém não significativo aumento (2,4%) da proteína de alta-densidade (HDL).

Reynolds *et al.* (2006), também através de estudos de meta-análise, investigaram o efeito da suplementação da dieta com proteína de soja, na diminuição dos níveis de colesterol e concluíram que a suplementação foi associada com reduções significativas no colesterol total (-5,26 mg/dL), LDL-c (-4,25 mg/dL) e TG (-6,26 mg/dL), além de aumento significativo do HDL-c (0,77 mg/dL).

Ainda através de estudos de meta-análise, Lichtenstein *et al.* (2002) e Park *et al.* (2005), concluíram que produtos à base de soja, quando comparados à

proteína animal reduziram em média 7% os níveis de LDL-c discretamente elevados, 10% níveis de LDL-c moderadamente elevados e 24% níveis de LDL-c elevados. Os níveis de TG diminuíram 10% e não foi observada nenhuma mudança nos valores de HDL-c.

Apesar dos resultados anteriormente descritos terem mostrado reduções significativas no perfil lipídico, em estudos com humanos após a administração de proteína de soja, resultados controversos foram obtidos por Harrison *et al.* (2004). Ao realizarem estudo com 213 participantes (112 homens e 101 mulheres), que consumiram por 5 semanas, pães, barras de cereais ou biscoitos tipo cracker (2 fatias de pães + 2 barras de cereais ou 1 pacote de biscoitos por dia) fortificados com 25g de proteína de soja, e analisarem o perfil lipídico (CT, HDL-c, LDL-c e TG) e a pressão arterial, os autores constataram que a proteína de soja não influenciou em nenhum dos tratamentos e que, somente em mulheres, este ingrediente aumentou a pressão sistólica sanguínea em 5,9%. Além disso, afirmaram que são necessários estudos por períodos maiores, para verificar os efeitos a longo prazo de alimentos funcionais.

Por sua vez, Santana (2006) também não obteve resultados satisfatórios no perfil lipídico de pacientes que, através de estudo de intervenção, ingeriram farinha de soja e chá verde isoladamente, observando melhora dos níveis plasmáticos somente no grupo que consumiu os dois produtos associados.

Assim sendo, não existe consenso sobre os efeitos cardioprotetores da soja.

Os resultados de redução do CT e LDL-c com a ingestão de soja e aveia, obtidos neste estudo, foram superiores aos valores observados por Garcia *et al.* (2002), que ao realizarem estudo do comportamento do perfil lipídico, de dois grupos de homens (G1) e mulheres (G2) hipercolesterolêmicos, com o consumo de farelo de aveia em diferentes concentrações de β -glucanas, observaram que ambos os grupos tiveram uma diminuição significativa no nível de CT, quando comparado ao valor inicial. A diminuição no nível de CT na fase de suplementação com o farelo, entre os dias 30 e 60, foi 5,5% e 4,7% maior do que os valores conseguidos apenas com a dieta, no G1 e G2, respectivamente. Os níveis de LDL-c diminuíram

significativamente após o consumo de farelo de aveia, sendo 15,87% no G1 e 12,3% no G2.

Os resultados de redução de LDL-c obtidos no estudo, também foram superiores aos encontrados por Davidson *et al.* (1991), ao analisarem a resposta hipocolesterolêmica da β -glucana em uma dieta, através de estudo com 156 adultos com níveis de LDL-c acima de 160mg/dL, ou entre 130 e 160mg/dL com múltiplos fatores de risco, tendo distribuído os voluntários entre sete grupos. Seis grupos receberam alimentos com aveia ou farelo de aveia em doses de 28, 56 e 84g, e um grupo recebeu 28g de farinha sem β -glucana (controle). Na sexta semana de tratamento, foram observadas diferenças significativas nos níveis de LDL-c, entre o tratamento controle e os tratamentos que receberam 84g de farinha de aveia, 56 e 84g de farelo de aveia, com redução nos níveis de LDL-c de 10,1%, 15,9% e 11,5%, respectivamente.

Entretanto, Kerckhoffs, Hornstra e Mensink (2003), através de estudo clínico, administraram diariamente por 4 semanas, 5,9g de β -glucana de farelo de aveia em pão e biscoito e comprovaram que os tratamentos não tiveram efeitos favoráveis sobre o perfil lipídico dos voluntários, obtendo decréscimos de 6,18mg/dL no CT e de 4,64mg/dL nas concentrações de LDL-c, que não foram estatisticamente significativos. Com base nas meta-análises de Ripsin *et al.* (1992), os autores explicam que esperava-se que a ingestão diária de 3 ou mais gramas de β -glucana em farelo de aveia fosse diminuir as concentrações séricas de colesterol de indivíduos moderadamente hipercolesterolêmicos (>160mg/dL). Além disso, argumentam que é possível que os resultados de reduções de colesterol obtidos em estudos utilizando aveia, possam depender ou serem influenciados de acordo com a forma de incorporação e/ou quantidade de β -glucana administrada no alimento. Assim, o modo de administração parece ser um fator importante.

Neste sentido, Lovegrove *et al.* (2000) constataram, também, que as concentrações de LDL-c não foram afetadas pela dose mínima diária de 3g de β -glucana, recomendada pelo FDA, quando foram consumidas com produtos lácteos (iogurte ou leite com baixo teor de gordura). Beer, Arrigoni e Amado (1995) também não encontraram efeito hipocolesterolêmico na ingestão diária de 9g de β -glucana de aveia, quando misturada em creme instantâneo. Outro estudo, no entanto, observou

reduções significativas nas concentrações séricas de LDL-c quando β -glucana de farelo de aveia foi fornecida com uma bebida láctea (ÖNNING *et al.*, 1999).

Horn *et al.* (2001), desenvolvendo estudo para investigar o sinergismo entre aveia e soja, em 127 mulheres em pós menopausa com hipercolesterolemia moderada, estudaram quatro grupos, sendo eles: aveia leite; soja trigo; soja aveia; trigo leite, que ingeriram estas dietas durante seis semanas. Os resultados indicaram que, ao final do estudo, os valores de CT e LDL-c decresceram nos grupos soja aveia e leite aveia, porém nos níveis de HDL-c não houve alteração. O CT reduziu em 8,12mg/dL no grupo aveia soja e 9,28mg/dL no grupo aveia leite (ou aproximadamente 3%), respectivamente. O LDL-c reduziu 10,43 e 8,88mg/dL nos grupos aveia soja e aveia leite, respectivamente, ou aproximadamente, 5 e 6,5%, respectivamente. Entretanto, todos estes resultados de interação não foram estatisticamente significativos. Não houve mudanças nos valores de CT, LDL-c e HDL-c nos grupos soja trigo e leite trigo.

Como pode-se constatar, os efeitos fisiológicos das fibras dietéticas no metabolismo dos lipídios têm sido amplamente investigados e a maioria dos estudos ressalta as propriedades hipocolesterolêmicas das fibras solúveis (ROY; VEJA-LOPEZ; FERNANDEZ, 2000). Segundo Grizard, Dalle e Barthomeuf (2001), há comprovações de que o consumo de 3-15g/dia de diversas fibras solúveis, incluindo fibra de aveia e de soja reduzem os níveis de colesterol e glicose no sangue em torno de 5 a 15%, indicando-nos assim, que a diminuição de 11,24% nos valores de CT obtida neste estudo, encontra-se dentro dos níveis de redução citados pelos autores.

5.2.7 Efeitos Complementares da Intervenção – Questionário Final

As respostas dos 76 voluntários que participaram integralmente do estudo clínico, obtidas através do Questionário Final (Apêndice H), estão apresentadas a seguir.

✓ Mudanças na alimentação (dieta)

As mudanças na dieta normal dos voluntários foram analisadas separadamente nos grupos de estudo (Teste e Placebo), como mostram as Figuras 36A e 36B. Observa-se que voluntários do Grupo Teste afirmaram maior ocorrência na mudança de dieta (34,5%), quando comparados aos voluntários do Grupo Placebo (20%). Os tipos de mudanças na dieta dos voluntários de ambos os grupos e seus índices, estão nas Figuras 37A e 37B.

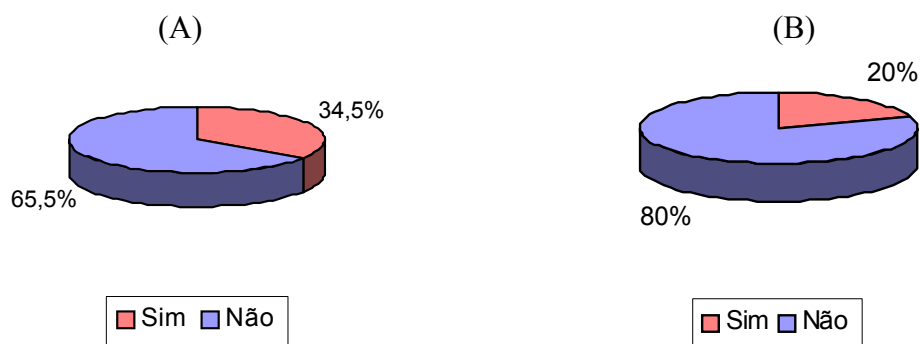


Figura 36 - Ocorrência de mudanças na dieta dos voluntários do Grupo Teste (A) e Grupo Placebo (B).

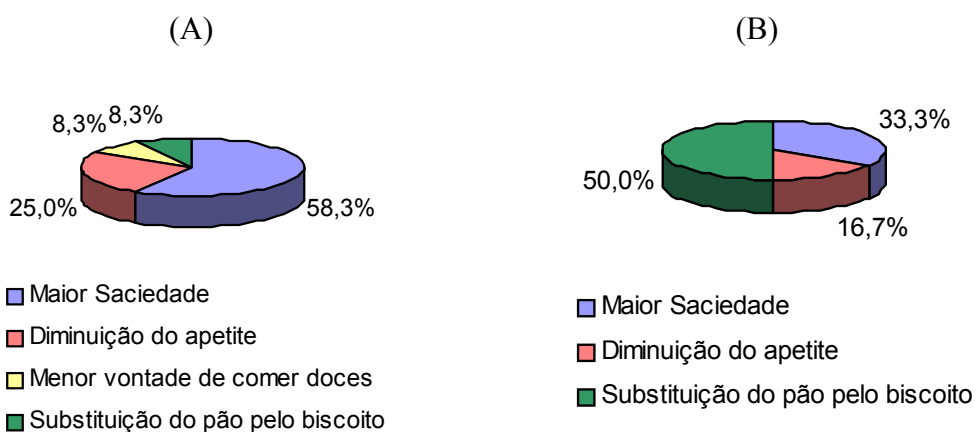


Figura 37 - Tipos de mudanças na dieta dos voluntários do Grupo Teste (A) e Grupo Placebo (B).

A mudança na dieta dos voluntários, indicando em sua maior proporção aumento de saciedade, deve-se principalmente a ingestão do aumento de fibra, através de β -glucana contida nos biscoitos testes. A esse respeito, Hallfrisch e Behall (2000) ressaltam que ao retardar o esvaziamento gástrico e aumentar o bolo fecal, a β -glucana promove maior saciedade e contribui para o bom funcionamento do intestino.

✓ Mudanças no consumo de água e/ou outros líquidos

As Figuras 38A e 38B apresentam os índices de mudanças ocorridas no consumo de água e/ou outros líquidos, pelos voluntários do Grupo Teste e Grupo Placebo, respectivamente. Nota-se que os voluntários do Grupo Teste, responderam ter havido maior aumento no consumo de água (30,3%), em comparação aos voluntários do Grupo Placebo (14,5%).

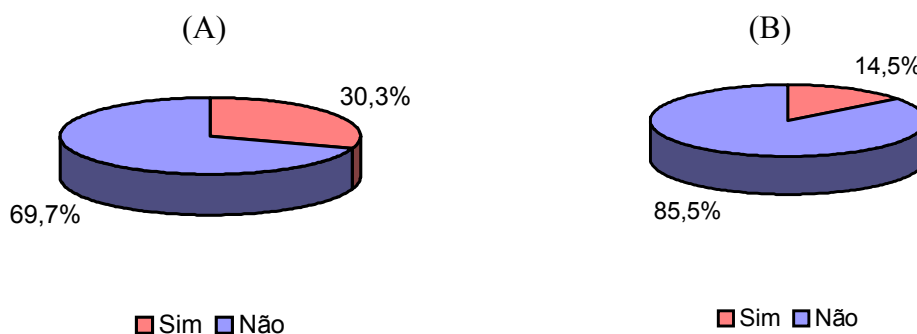


Figura 38 - Ocorrência de mudanças no consumo de água e/ou outros líquidos pelos voluntários do Grupo Teste (A) e Grupo Placebo (B).

Os tipos de mudanças no consumo de água e/ou outros líquidos pelos voluntários de ambos os grupos e seus índices, estão na Figura 39. Os índices foram calculados a partir do número de voluntários que alegaram a ocorrência de mudanças, sendo 23 no Grupo Teste e 11 no Grupo Placebo.

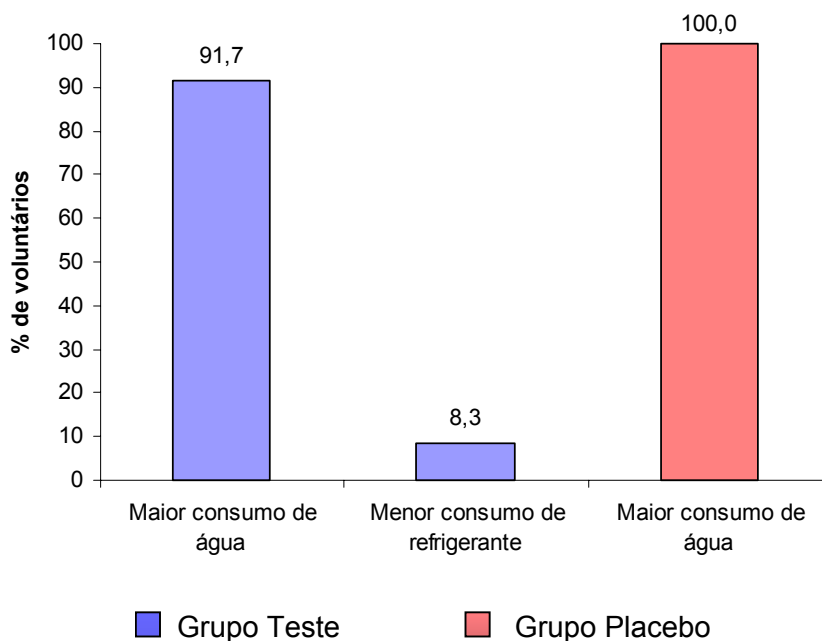


Figura 39 - Tipos de mudanças no consumo de água e/ou outros líquidos pelos voluntários do Grupo Teste e Grupo Placebo.

A ocorrência de mudanças na dieta dos voluntários, mostra que o biscoito teste favoreceu maior saciedade (58,3%) e diminuição do apetite (25%), quando comparado ao biscoito placebo (Figura 37). Provavelmente, o teor maior de fibras colaborou para o destaque destes índices. Também as mudanças no consumo de água (Figura 39), quanto ao seu aumento, pode ter sido consequência do maior volume de ingestão de fibras.

✓ Mudanças na prática de atividade física

Os índices de mudanças ocorridas quanto a prática de atividade física, dos voluntários dos Grupos Teste e Placebo, podem ser observados nas Figuras 40A e 40B, respectivamente. Os voluntários do Grupo Teste tiveram índice menor de mudança nas atividades físicas (13,3%) quando comparados aos voluntários do Grupo Placebo (16,7%). Os voluntários de ambos os grupos que afirmaram mudanças, responderam que aumentaram a prática de caminhadas.

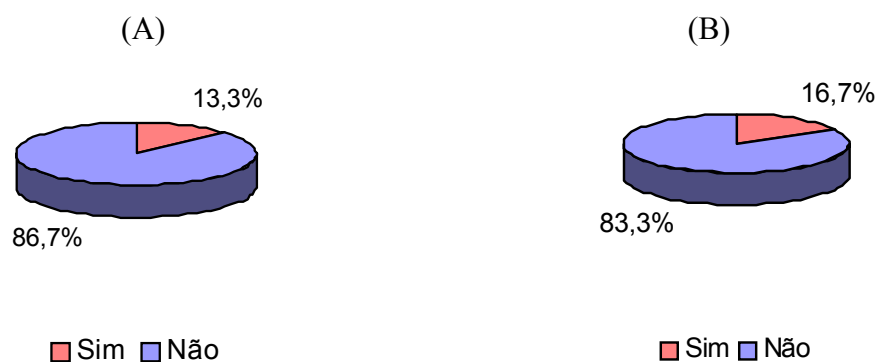


Figura 40 - Ocorrência de mudanças na prática de exercícios físicos pelos voluntários do Grupo Teste (A) e Grupo Placebo (B).

✓ Função Gástrica

A função gástrica dos voluntários manteve-se normal em 96,3% dos participantes do Grupo Teste e 96,7% do Grupo Placebo, conforme observa-se nas Figuras 41A e 41B.

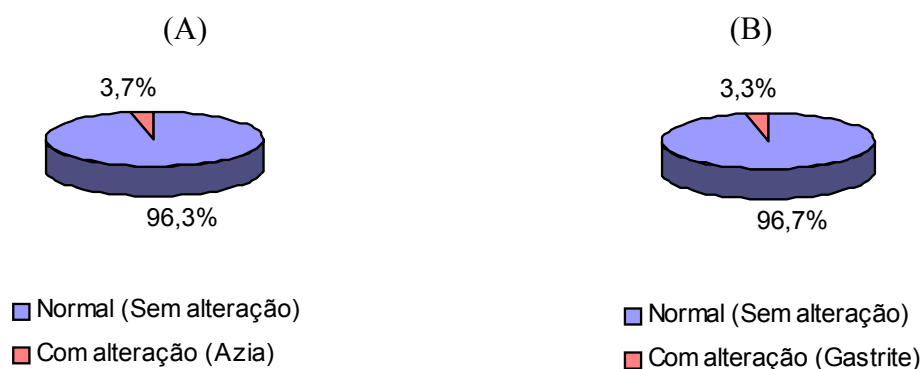


Figura 41 - Função Gástrica dos voluntários do Grupo Teste (A) e Grupo Placebo (B).

✓ Função Intestinal

A Figura 42 apresenta o comportamento da função intestinal e suas alterações com relação aos voluntários do Grupo Teste, enquanto que a Figura 43 esboça os valores do Grupo Placebo.

Observa-se que o índice de alteração intestinal do Grupo Teste foi 2 vezes maior (32%), quando comparado ao Grupo Placebo (16,7%). Verifica-se também que enquanto o Grupo Teste teve 47% de aumento de evacuações, o Grupo Placebo apresentou 50% de diminuição na frequência de evacuações.

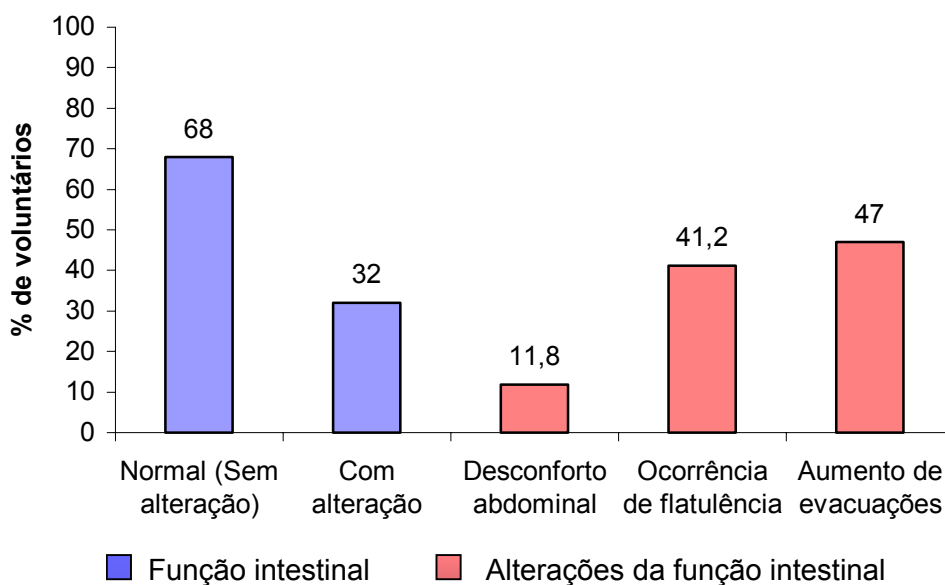


Figura 42 - Função intestinal e alterações da função intestinal dos voluntários do Grupo Teste.

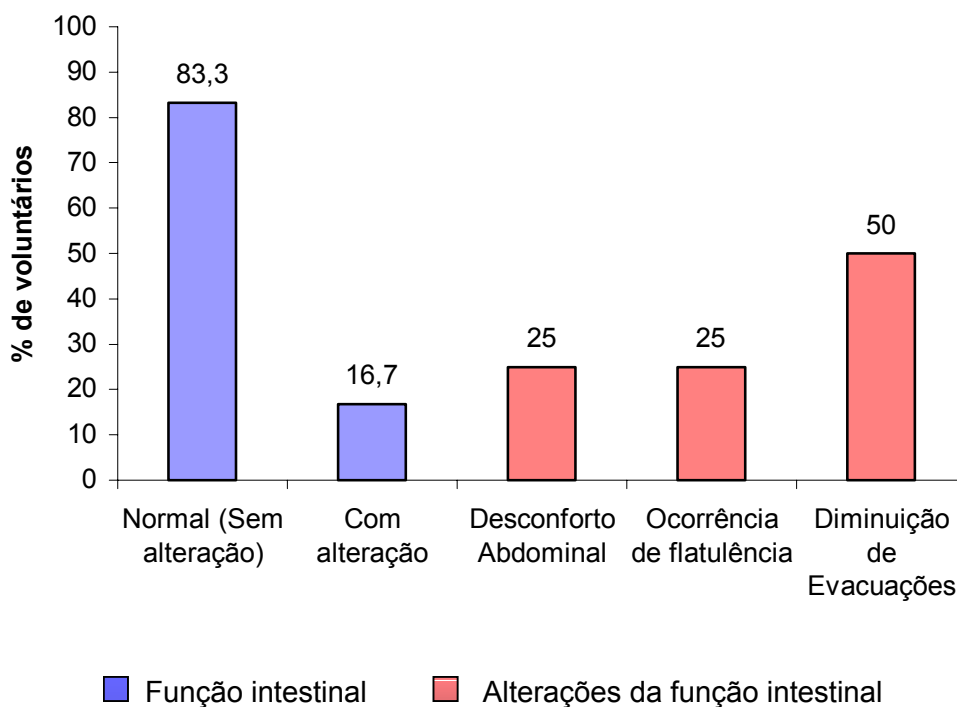


Figura 43 - Função intestinal e alterações da função intestinal dos voluntários do Grupo Placebo.

✓ Consistência das fezes

Observa-se na Figura 44, que a consistência das fezes teve índice maior com relação a consistência normal, nos voluntários do Grupo Teste (91,2%), enquanto que nos voluntários do Grupo Placebo, este índice é de 73,3%. Os voluntários do Grupo Teste não alegaram consistência ressecada das fezes, sendo este índice de 22,1% no Grupo Placebo.

Comparando-se estes valores aos observados nas Figuras 32A e 32B, verifica-se que o aumento na ingestão de fibras através do biscoito Teste, pode ter provocado o aumento do índice de consistência normal das fezes, nos voluntários deste grupo, enquanto que no Grupo Placebo este índice manteve-se praticamente inalterado. Nota-se também que o biscoito Teste colaborou ainda para que a consistência de fezes ressecadas não ocorresse após o estudo, sendo que este índice era de 10,3% antes da sua realização.

Provavelmente, o aumento do índice de consistência de fezes ressecadas no Grupo Placebo, comparando-se o início do estudo (17,7%) e seu final (22,1%), deve-se ao fato de que os biscoitos consumidos neste Grupo, continham menor teor de fibras (3,1g/100g de biscoito) quando comparado ao biscoito Teste (13,56g/100g de biscoito), como pode ser observado na Tabela 20. Assim, estes teores podem ter influenciado diretamente na diminuição das evacuações dos voluntários do Grupo Placebo, como mostra a Figura 43.

O comportamento apresentado pelos voluntários do Grupo Teste, pode ser explicado pela citação de CAVALCANTI (1989), ao colocar que as propriedades físico-químicas das frações das fibras alimentares produzem diferentes efeitos fisiológicos no organismo, como por exemplo, regularizar o funcionamento intestinal. O autor afirma ainda que as fibras solúveis são responsáveis, por exemplo, pelo aumento da viscosidade do conteúdo intestinal e redução do colesterol plasmático, e que fibras insolúveis aumentam o volume do bolo fecal, reduzem o tempo de trânsito no intestino grosso e tornam a eliminação fecal mais fácil e rápida.

A literatura cita ainda que desde há muito tempo, o efeito laxativo da fibra é conhecido e nesse sentido, farelos de cereais, que são fontes ricas de fibra,

têm sido indicados para o tratamento da constipação intestinal crônica. Como consequência, vários produtos fibrosos têm surgido na forma de produtos dietéticos ou alimentícios com a finalidade de atender às pessoas que necessitam de um suplemento de fibra na dieta (GORCZYCA; ZABIK, 1979; JELTEMA; ZABIK; THIEL, 1983).

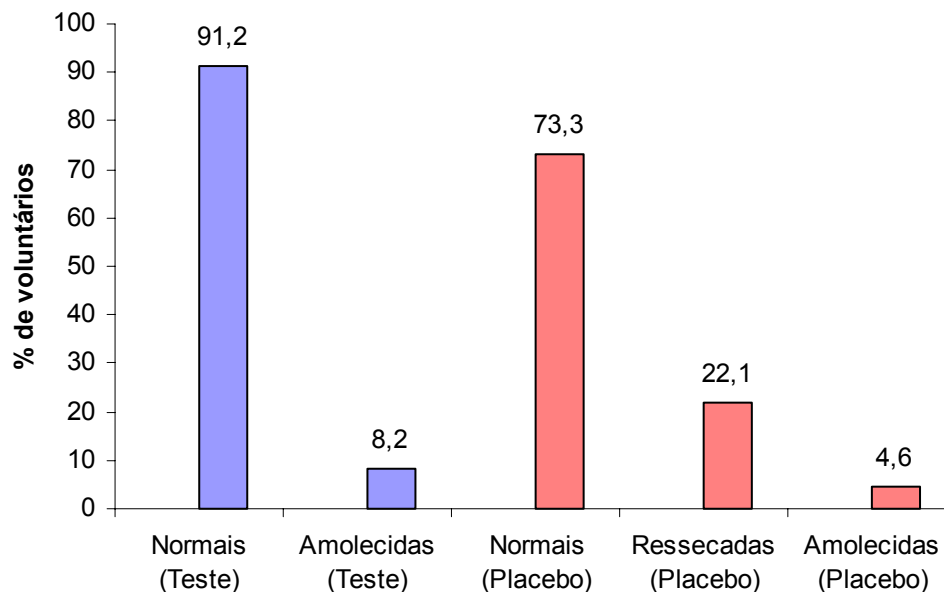


Figura 44 - Consistência das fezes dos voluntários do Grupo Teste e Grupo Placebo.

5.2.8 Perspectiva de compra dos biscoitos

A perspectiva de compra de ambos biscoitos entre os voluntários, está apresentada na Figura 45. Observa-se que o biscoito Teste, obteve maior intenção de compra (85,4%) quando comparado ao biscoito Placebo (62,1%).

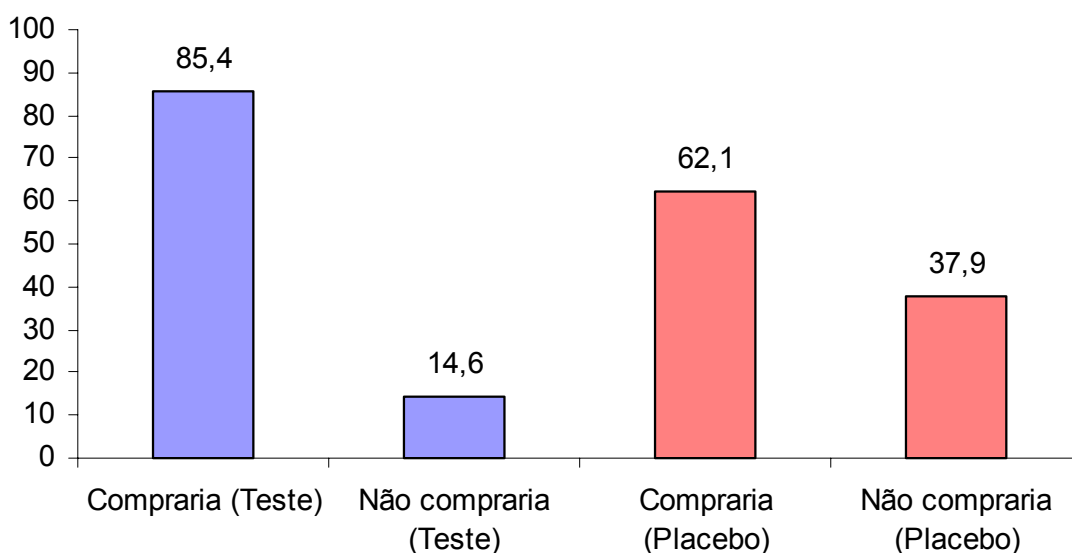


Figura 45 - Perspectiva de compra dos biscoitos Teste e Placebo entre os voluntários.

As características favoráveis e desfavoráveis de compra de ambos biscoitos estão apresentadas na Tabela 26.

Tabela 26 - Características favoráveis e desfavoráveis de compra dos biscoitos (Grupo Teste e Grupo Placebo).

GRUPO TESTE		GRUPO PLACEBO	
Características favoráveis ^A	%	Características favoráveis ^B	%
Sabor	31,4	Sabor	55,6
Produto saudável	28,6	Produto saudável	44,4
Consistência de fibra	14,2		
Opção p/ substituir o pão	8,6		
Regulou o intestino	5,7		
Aparência	5,7		
Baixo teor de gordura	2,9		
Praticidade	2,9		
Características desfavoráveis ^C	%	Características desfavoráveis ^D	%
Não consome biscoito	50,0	Não consome biscoito	45,4
Dureza do produto	33,3	Dureza do produto	27,3
Desconforto abdominal	16,7	Sabor	27,3

^A % de 35 respostas; ^B % de 6 respostas; ^C % de 18 respostas; ^D % de 11 respostas.

As sugestões, comentários e/ou críticas dos voluntários relacionam-se ao produto e encontram-se na Tabela 27. Entretanto, ressalta-se que 18,4% (14 voluntários) comentaram que através do estudo, tiveram a primeira oportunidade de realizar um exame de perfil lipídico.

Tabela 27 - Sugestões, comentários e/ou críticas dos voluntários ao produto estudado.

GRUPO TESTE ^A	
Características	%
Poderia ser comercializado	35,0
Melhorar a textura	28,6
Produzir também no sabor salgado	21,4
Outros sabores (Ex: chocolate)	7,5
Ocorrência de espinhas	7,5
GRUPO PLACEBO ^B	
Características	%
Boa variedade de sabores	27,2
Poderia ser comercializado	18,2
Produzir também no sabor salgado	18,2
Boa consistência	18,2
Melhorar a textura	9,1
Melhorar o sabor	9,1

^A % de 14 respostas; ^B % de 11 respostas

CAPÍTULO 6 CONCLUSÕES

- ✓ Foi possível desenvolver biscoitos com boa aceitabilidade, pela substituição de 60% de farinha de trigo por farinha de soja desengordurada e farelo de aveia.
- ✓ A ação hipocolesterolêmica do produto desenvolvido foi comprovada através de estudo clínico de intervenção em humanos, por alterações significativas nos níveis plasmáticos de Colesterol Total e LDL-colesterol.
- ✓ A mesma ação hipocolesterolêmica também foi observada para o Placebo, não havendo diferença significativa entre os dois grupos ao final do estudo. Apesar disso, verificou-se uma tendência de melhores índices de redução de Colesterol Total e de LDL-colesterol no Grupo Teste.
- ✓ Mesmo sendo a dureza a característica mais importante para o consumidor, amostras selecionadas com diferentes formulações e diferentes durezas, tiveram mesma aceitabilidade. Desta maneira, tornou-se possível escolher a formulação com melhores características de processamento para a produção em escala, uma vez que foram observadas massas mais moles e massas mais duras com relação à modelagem.
- ✓ Foi possível, através da análise descritiva de Perfil Livre, realizar a caracterização dessas amostras mostrando, inclusive, que estas apresentaram pouca diferenciação com relação aos atributos estudados, com exceção apenas da amostra com maior teor de farinha de soja, caracterizada como mais dura, de cor mais escura e apresentando sabor mais característico de biscoito integral/cereal.
- ✓ A formulação desenvolvida em laboratório e posteriormente utilizada no estudo clínico, apresentou desempenho satisfatório quando produzida em escala industrial, indicando a possibilidade de produção desta formulação em larga escala.

✓ O presente estudo não nos permite afirmar que a associação de farinha de soja e farelo de aveia, possa diminuir os riscos de doenças cardiovasculares em humanos. Todavia contribue para melhor entendimento de como poderiam atuar de forma preventiva, quando estes compostos fossem administrados em conjunto. Se a farinha de soja e o farelo de aveia mostraram-se eficientes na propriedade hipocolesterolêmica, ao ponto de que níveis elevados passassem a ser pouco alterados quanto ao LDL-colesterol e, níveis ótimos tenham sido alcançados para CT, é possível que fatores como: o aumento do período de ingestão do produto, o controle da dieta e da prática de atividade física dos voluntários, além de outros fatores inseridos, por exemplo, acréscimo nos teores de β -glucana e da proteína de soja (como sugeriram alguns estudos), possam fornecer resultados mais satisfatórios. De qualquer forma, os resultados obtidos neste estudo são vistos como promissores e estimulantes para a realização de futuros trabalhos.

CAPÍTULO 7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante dos resultados promissores encontrados no presente trabalho, com relação ao efeito hipocolesterolêmico dos biscoitos testados, sugere-se que novos estudos sejam realizados com o aumento do período de consumo do produto, visando observar se este fator é preponderante para que parâmetros do perfil lipídico, como o LDL-c, se enquadrem em faixa ótima de valores de referência da Sociedade Brasileira de Cardiologia.

Também sugere-se que sejam realizados estudos incluindo voluntários que apresentem valores de LDL-Colesterol entre 100 e 189 mg/dL, ou seja, valores nas faixas Desejável, Limítrofe e Alto (segundo a Sociedade Brasileira de Cardiologia), para que o efeito nos valores Altos (160-189 mg/dL) de LDL-c também seja investigado.

A realização destes estudos favorecerá a análise de formas de diminuição de riscos de doenças circulatórias, dentre elas as cardiovasculares, responsáveis, segundo o Ministério da Saúde, pelo grande número de óbitos na população adulta brasileira em plena fase produtiva. Esta prevenção contribuiria ainda na diminuição das internações e gastos financeiros pelo Sistema Único de Saúde (SUS).

CAPÍTULO 8 REFERÊNCIAS

AACC – AMERICAN ASSOCIATION OF CEREAL CHEMISTS. **Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists**. 9.ed. Saint Paul, v.2, 1995.

AACC – AMERICAN ASSOCIATION OF CEREAL CHEMISTS. Committee adopts oat bran definition. **Cereal Food World**, Saint Paul, v.34, n.12, 1989. 1034p.

ADA. AMERICAN DIETETIC ASSOCIATION. Functional foods – Position of ADA. **Journal American Dietetic Association**. v.99, n.10, p.1278-1285, 1999.

ALBERTS, B.; BRAY, D.; LEWIS, J. **Biologia molecular da célula**. 3.ed. Porto Alegre: Artes Médicas, 1997. 1294 p.

AMAN, P. The variation in chemical composition in swedish oats. **Acta Agriculturae Scandinavica**, v.37, n.3, p.347-352, 1987.

AMERICAN HEART ASSOCIATION. AHA Scientific Statement. Dietary guidelines. Revision 2000. **A statement for healthcare professionals from the nutrition committee of the American Heart Association**. Circulation 2000. n.102, p.2284-2299. 2000.

AMERICAN HEART ASSOCIATION. AHA Scientific Statement: **Summary of the scientific conference on dietary fatty acids and cardiovascular health**. Conference summary from the nutrition committee of The American Heart Association. Circulation 2001. v.103, n.7, p.1034-1039. 2001a.

AMERICAN HEART ASSOCIATION. AHA Science Advisory. Wine and your heart. **A science advisory for healthcare professionals from the nutrition committee, council on cardiovascular nursing of The American Heart Association**. Circulation 2001. v.103, n.3, p.472-475. 2001b.

ANDERSON, D. Antioxidant defenses against reactive oxygen species causing genetic and other damage. **Mutation Research**, Amsterdam, v.350, n.1, p.103-108, 1996.

ANDERSON, J.J.B.; GARNER, S.C. Phytoestrogens and human function. **Nutrition Today**, v.32, n.6, p.232-239, 1997.

ANDERSON, J.W. Physiological and metabolic effects of dietary fiber. **Federation Proceedings**, Washington, v.44, n.14, p.2902-2906, 1985.

ANDERSON, J.W. Diet first, then medication for hypercholesterolemia. **The Journal of the American Medical Association**. v.290, n.4, p.531-533. 2003.

ANDERSON, J.W.; BRIDGES, S.R. Hipcholesterolemia effects of oat bran in humans. In: WOOD, P. J. (ed). **Oat Bran**. St. Paul, Minnesota, USA: American Association of Cereal Chemists, Inc., p. 139-157. 1993.

ANDERSON, J.W.; CHEN, W.L. Cholesterol-lowering properties of oat products. In.: HEBSTER, F.H. **Oats: Chemistry and Technology**. American Association Of Cereal Chemists, Inc. St. Paul, Minnesota, USA, p.309-333. 1986.

ANDERSON, J.W.; JOHNSTONE, B.M.; COOK-NEWELL, M.E. Meta-analysis of the effects of soy protein intake on serum lipids. **New England Journal Medicine**. v.333, p.276-282. 1995.

ANDERSON J.W., JONES, A.E.; RIDDELL-MASON, S. Ten different dietary fibers have significantly different effects on serum and liver lipids of cholesterol-fed rats. **Journal of Nutrition**. v.124, n.1, p.78-83, 1994.

ANDRES, C. Functionality of milk proteins, soy concentrates, and/or soy isolates at reduced costs. **Food Processing**, v.42, n.11, p.86-87, 1981.

ANVISA - AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução nº 19, de 30 de abril de 1999 (Republicada em 10/12/1999). Disponível em <http://www.anvisa.org.br>. Consulta em 20 jun. 2004.

AOAC - **ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS**. Official methods of analysis. 16.ed. Gaithersburg. 1997.

ARAI, S. Studies on functional foods in Japan - State of the art. **Biosci. Biotech. Biochem**. v.60, p.9-15. 1996.

ARAÚJO, D.V.; FERRAZ, M.B. Impacto econômico do tratamento da cardiopatia isquêmica crônica no Brasil: o desafio da incorporação de novas tecnologias cardiovasculares. **Arquivo Brasileiro de Cardiologia**. v.85, p.1-2. 2005.

ARAÚJO, J.M.A. **Química de Alimentos**. Teoria e Prática. Viçosa. 3.ed. Editora UFV, 2004, 475p.

ARJMANDI, B.H.; CRAIG, J.; NATHANI, S.; REEVES, R.D. Soluble dietary fiber and cholesterol influence in vivo hepatic and intestinal cholesterol biosynthesis in rats. **Journal of Nutrition**. v.122, p.1559-1565, 1992.

ARTZ, W.E.; WARREN, C.C.; MOHRING, A.E.; VILLOTA, R. Incorporation of corn fiber into sugar snap cookies. **Cereal Chemistry**, v.67, n.3, p.303-305, 1990.

BAJAJ, M.; KAUR, A.; SIDHU, J. S. Studies on the development of nutritious cookies utilizing sunflower kernels and wheat germ. **Plant Foods Human Nutrition**, v.41, n.4, p.381-387, 1991.

BALMIR, F.; STAACK, R.; JEFFREY, E.; JIMENEZ, M.D.B.; WANG, L.; POTTER, S.M. An extract of soy flour influences serum cholesterol and thyroid hormones in rats and hamsters. **Journal Nutrition**. v.126. p.3046-3053. 1996.

BARBOSA, M.C. A. **Avaliação tecnológica de massas alimentícias de farinha mista de trigo e soja sem lipoxigenases**. Viçosa, 2002. 100 p. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal de Viçosa (UFV).

BARNES, S. Evolution of the health benefits of soy isoflavones. **Proceedings Society Experimental Biological Medicine**, v.217, n.3, p.386-392, 1998.

BARROS NETO, B.; SCARMINIO, I. E.; BRUNS, R.E. **Planejamento e Otimização de Experimentos**, 2.ed., Editora da Unicamp, Campinas, SP (1996).

BARROS NETO, B.; SCARMINIO, I.S.; BRUNS, R.E. **Como modelar misturas**. In.: Como fazer experimentos: pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria. 2.ed. Campinas: Editora da UNICAMP, 2003. p.301-347.

BEER, M.U.; ARRIGONI, E.; AMADO, R. Effects of oat gum on blood cholesterol levels in healthy young men. **European Journal Clinical Nutrition**. v.49, p.517-522. 1995.

BEG, Q.K.; KAPOOR, M.; MAHAJAN, L.; HOONDAL, G.S. Microbial xylanases and their industrial applications: a review. **Appl Microbiol Biotechnology**. v.56, p.326-338. 2001.

BELLEVILLE, J. Hypocholesterolemic effect of soy protein. **Nutrition**. v.18, n.7/8, p.684-686, 2002.

BELLISLE, F.; DIPLOCK, AT.; HORNSTRA, G.; KOLETZKOS, B.; ROBERFROID,

M. B.; SALMINEN, S.; SARIS, W. H. M. Functional food science in Europe. **British Journal of Nutrition**. v.80, n.1, p. 1-193, 1998.

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

BERLIN, J.A.; COLDITZ, G.A. A meta-analysis of physical activity in the prevention of coronary heart disease. **American Journal of Epidemiology**. v.132, p.612-628, 1990.

BERLINER, J.A.; NAVAB, M.; FOGELMAN, A.M.; FRANK, J.S.; DEMER, L.L.; EDWARDS, P.A.; WATSON, A.D.; LUSIS, A.J. Atherosclerosis: basic mechanism: oxid inflammation and genetic. **Circulation**. v.91, n.32, p.2488-2496, 1995.

BJÖRNTORP, P. Classification of obese patients and complications related to the distribution of surplus fat. **American Journal of Clinical Nutrition** 45 (supl 5): 1120-1125. 1987.

BLAIR, S.N.; HORTON, E.H.; FONTANEZ, N.; HOLLEREAN, S.; MATHEUS, K.; ROHEIM, P.S. et al. Physical activity, nutrition, and chronic disease. **Medicine Science Sports Exercices**. v.28, n.3, p.335-349, 1996.

BOATRIGT, W.L.; LEI, C. Compounds contributing to the "beany" odor of aqueous solutions of soy protein isolates. **Journal of Food Science**. v.64, n.40, p.667-670, 1999.

BONATO, E.R.; BONATO, A.L.V. **A soja no Brasil: História e Estatística**. Londrina: EMBRAPA, 1987. 53p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria ANVISA, nº 27, de 13 de janeiro de 1998, aprova o **Regulamento referente à Informação Nutricional Complementar (declarações relacionadas ao conteúdo de nutrientes)**. Disponível em: <http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=97>. Acesso em 06 mar. 2008. a

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria ANVISA, nº 27, de 13 de janeiro de 1998, aprova o **Regulamento referente à Informação Nutricional Complementar (alimentos com alegações de**

propriedades funcionais). Disponível em:
http://www.anvisa.gov.br/legis/portarias/27_98.htm. Acesso em 01 set. 2005. b

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 263, de 22 de setembro de 2005. Aprova o regulamento técnico para produtos de cereais, amidos, farinhas e farelos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 23 set. 2005.

BRESSANI, R. The role os soybeans in food systems. **Journal of American Oil Chemists Society**. v.58, p.392-400, 1981.

BROK, A. Van den. Functional foods: the japanese approach. **International Food Ingredientes**. n.1/2, p.4-9, 1993.

BROWN, L.; ROSNER, B.; WILLETT, W.; SACKS, F. Cholesterol-lowering effects of dietary fiber: a meta-analysis. **American Journal Clinical Nutrition**. v.69, p.30-42. 1999.

BRUNO, M.E.C.; CAMARGO, C.R.O. Enzimas proteolíticas no processamento de biscoitos e pães. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.29, n.2, p.170-178, 1995.

BUCK, J.S; WALKER, C.E.; WATSON, K.S. Incorporation of corn gluten meal and soy into various cereal-based foods and resulting product functional, sensory and protein quality. **Cereal Chemistry**. v.64, n.4, p.264-269. 1987.

BURNS, D.M. Tobacco-related diseases. **Seminars in Oncology Nursing**. v.19, n.4, p.244-249, 2003.

CAMPBELL, L.A., KETELSEN, S.M., ANTENUCCI, R.N. Formulating oatmeal cookies with calorie-sparing ingredients. **Food Technology**. v.48, n.5, p.98, p.102-105, 1994.

CÂNDIDO, L.M.B.; CAMPOS, A.M. Alimentos funcionais - Uma revisão. **Boletim da SBCTA**, v.29, n.2, p.1993-203, 1995.

CARRÃO-PANIZZI, M. C.; GOES-FAVONI, S. P.; KIKUCHI, A. Extration time for soybean isoflavone determination. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v.45, p.515-518, 2002.

CARRÃO-PANIZZI, M.C. (Org.) **ANAIS...** 1. Simpósio Brasileiro sobre Benefícios da Soja para a Saúde Humana. Londrina: Embrapa Soja, 2001. 47p. (Documentos/Embrapa Soja).

CARRÃO-PANIZZI, M.C.; BELÉIA, A.P.; KITAMURA, K.; OLIVEIRA, M.C.N. Effects of genetics and environment on isoflavone content of soybean from different regions of Brazil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v.34, n.10, p.1787-1795, 1999.

CARRÃO-PANIZZI, M.C.; MANDARINO, J.M.G. **Soja: Potencial de Uso na Dieta Brasileira**. Londrina: EMBRAPA-CNPSo, 1998. 16p. (Embrapa-CNPSo. Documentos, 113).

CARROLL, K. K. Soy protein and atherosclerosis. **Journal American Oil Chemistry Society**. v.58, p.416-419. 1981.

CARROLL K. K. Hypercholesterolemia and atherosclerosis: effect of dietary protein. **Fed Proc**. v.41, p.2792-2796. 1982.

CARROLL, K. K. Review of clinical studies on cholesterol-lowering response to soy protein. **Journal of the American Dietetic Association**. v.91, n.7, p.820-828. 1991.

CARUSO, L; MENEZES, E.W. Glycemic index of foods. **Journal Brazilian Society Food Nutrition**. n.19/20, p.49-64, 2000.

CARVALHO JÚNIOR, D. **Tecnologia de biscoitos, qualidade de farinhas e função dos ingredientes**. Granotec do Brasil. Núcleo de Desenvolvimento e Tecnologia. São Paulo. 2001. 64p.

CAVALCANTI, M.L.F. Fibras alimentares. **Revista de Nutrição PUCAMP**. v.2, p.88-97. 1989.

CERUTTI, P.A. Oxidant stress and carcinogenesis. **European Journal of Clinical Investigation**. Oxford, v.21, n.1, p.1-5, 1991.

CHAMPE, P.C., HARVEY, R.A. **Lippincott's illustrated reviews: biochemistry**, 2.ed. Philadelphia: Lippincott, 1994. 443p.

CHAVAN, J.K., KADAN, S.S. Nutritional enrichment of bakery products by supplementation with nonwheat flours. **Critical Review Food Science Nutrition**, v.33, n.3, p.189-226, 1993.

- CHEVALLIER, S.; COLONNA, P.; DELLA VALLE, G.; LOURDIN, D. Contribution of major ingredients during baking of biscuit dough systems. **Journal of Cereal Science**, v.31, p.241-252, 2000.
- CHILDS, N.M. Functional foods and market entry. **The World of Ingredients**. Chicago, v.1, n.1, p.36-39, 1994.
- CHILDS, N.M. Comercialising nutraceuticals and functional foods. **The World of Ingredients**. Chicago, v.2, n.7, p.38-45, 1995.
- CLARKSON, T. B. Soy, soy phytoestrogens and cardiovascular disease. **Journal of Nutrition**. v.132, n.3, p.566S-569S. 2002.
- CLYDESDALE, F. A proposal for the establishment of scientific criteria for health claims for functional foods. **Nutrition Review**. v.55, p.413-422, 1997.
- COLLI, C. Nutracêutico é uma nova concepção de alimento. **Informativo da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição**, Ano 7, n.1, p.1-2, 1998.
- CONNOR, S.L.; GUSTAFSON, J.R.; ARTAUD-WILD, S.M.; CLASSIK-KOHN, C.J.; CONNOR, W.E. The cholesterol-saturated fat index for coronary prevention: background, use, end a comprehensive table of foods. **Journal of the American Dietetic Association**. v.89, n.6, p.807-816, 1989.
- CORNELL, J.A. **Experiments with mixtures**: designs, models and the analysis of mixture data, New York: John Wiley and Sons, 3.ed., 2002.
- COURTIN, C.W., GELDERS, G.G., DELCOUR, J.A. Use of two endoxylanases with different substrate selectivity for understanding arabinoxylan functionality in wheat flour breadmaking. **Journal of Cereal Chemistry**, v.78, p.564-571. 2001.
- COWARD, L.; BARNES, N.C.; SETCHELL, K.D.R.; BARNES, S. Genistein, daidzein, and their β -glycoside conjugates: Antitumoral isoflavones in soybean foods *from* American and Asian diets. **Journal or Agriculture and Food Chemistry**. v.41, n.11, p.1961-1967, 1993.
- DA-SILVA, R.; FRANCO, C.M.L.; GOMES, E. Pectinases, hemicelulases e celulases, ação, produção e aplicação no processamento de alimentos: revisão. **Boletim da SBCTA**. v.31, n.2, p.249-260, 1997.

DAVIDSON, M.H.; DUGAN, L.D.; BURNS, J.H.; BOVA, J.; STORV, K.; DRENNAN, K.B. The hypocholesterolemic effects of beta-glucan in oatmeal and oat bran. A dose-controlled study. **The Journal of the American Medical Association**. v.265, n.14, p.1833-1839. 1991.

DAVY, B.M.; DAVY, K.P.; HO, R.C.; BESKE, S.D.; DAVRATH, L.R.; MELBY, C.L. High-fiber oat cereal compared with wheat cereal consumption favorably alters LDL-cholesterol subclass and particle numbers in middle-aged and older men. **American Journal Clinical Nutrition**. v.76, p.351-358, 2002.

DE SÁ, R.M.; DE FRANCISCO, A.; SOARES, F.C.T. Concentração de b-glucanas nas diferentes etapas do processamento da aveia (*Avena sativa* L.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.18, n.4, p.425-427, 1998.

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

DRAKE, M.A.; GERARD, P.D.; CHEN, X.Q. Effects of sweetener, sweetener concentration, and fruit flavor on sensory properties of soy fortified yogurt. **Journal Sensory Stud**. v.16, n.4, p.393-405. 2001.

DUSS, R.; NYBERG, L. Oat soluble fibers (β -glucans) as a source for healthy snack and breakfast foods. **Cereal Foods World**. v.49, n.6, p.320-325, 2004.

DUXBURY, D.D.; SWIENTEK, R.J. Eating Healthy trend spurs therapeutic foods. **Food Processing**. n.1, p.22-30, Mar., 1992.

DZIEZAK, J.D. Enzymes: catalysts for food processes. **Food Technology**. v.45, p.78-85, 1991.

EATON, C.B.; LAPANE, K.L.; GARBER, C.E. et al. Physical activity, physical fitness, and coronary heart disease risk factors. **Med. Sci. Sports Exerc**. v.27, p.340-346, 1995.

ELDRIDGE, A. C. Determination of isoflavones in soybean flours, protein-concentrates, and isolates. **Journal of the American Chemical Society**, v.183, p.90, 1982.

EMBRAPA - EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Tecnologia de farinhas mistas: uso de farinhas mistas na produção de**

biscoitos. EL-DASH, A; GERMANI, R. (Ed.), EMBRAPA, CTAA: Brasília, v.6, 1994a.

EMBRAPA - EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA.

Tecnologia de farinhas mistas: uso de farinha mista de trigo na produção de pães. EL-DASH, A; CABRAL, L.C.; GERMANI, R. (Ed.), EMBRAPA, CTAA: Brasília, v.3, 1994b.

EMBRAPA - EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA.

Tecnologia de farinhas mistas: uso de farinhas mistas na produção de massas alimentícias. EL-DASH, A; GERMANI, R. (Ed.), EMBRAPA, CTAA: Brasília, v.5, 1994c.

ESREY, K.L.; JOSEPH, L.; GROVER, S.A. Relationship between dietary intake and coronary heart disease mortality: Lipid Research Clinics Prevalence Follow-up Study.

Journal of Clinical Epidemiology. v.49, n.2, p.211-216, 1996.

ESTEVES, E.A.; MONTEIRO, J.B.R. Efeitos benéficos das isoflavonas de soja em doenças crônicas. **Revista de Nutrição.** v.14, n.1, p.43-52, 2001.

ETTINGER, S. Macronutrientes: carboidratos, proteínas e lipídeos. In: MAHAN, L. K.; ESCOTT-STUMP, S. **Krause: Alimentos, nutrição & dietoterapia.** 10.ed. São Paulo: Roca, 2002. p.30-64. (cap. 3).

FDA. Food and Drug Administration, HHS. Food labeling. Health claims: oats and coronary disease. **Federal Register,** v.62, n.15, p.3583-3601. 1997.

FDA. Food and Drug Administration. Food labeling: Health claims: soy protein and coronary heart disease. HHS: final rule. **Federal Register.** v.64, p.57700-57733. 1999.

FERREIRA FILHO, E.X. Xilanases. In.: SAID, S. PIETRO, C.L.R. **Enzimas como agentes biotecnológicos.** Ribeirão Preto: 2004. p.137-148.

FILISSETTI-COZZI, T.M.C.C.; LAJOLO, F.M. Fibra alimentar insolúvel, solúvel e total em alimentos brasileiros. **Revista Farmácia Bioquímica.** USP. Jun. 1991 vol.27, n.1, p.83-99.

FRANCO, G. **Tabela de composição química dos alimentos.** 9.ed. São Paulo: Atheneu, 1997, 307p.

FRIEDEWALD, W.T.; LEVY, R.I.; FREDRICKSON, D.S. Estimation of the concentration of low density lipoprotein cholesterol in plasma without use of the preparative ultracentrifuge. **Clinical Chemistry**. n.18. p.499-502. 1972.

FROLICH, W.; NYMAN, M. Minerals, phytate and dietary fibre in different fractions of oat-unique grain. **Journal of Cereal Science**, v.7, n.1, p.73-82, 1988.

GALLAGHER, E.; KENNY, S.; ARENDT, E.K. Impact of dairy protein powders on biscuit quality. **European Food Research Technology**. v.221, p.237-243. 2005.

GARCIA, L.; DE FRANCISCO, A.; OGLIARI, P. J.; RAGUZZONI, J.C Efeito de diferentes concentrações de farelo de aveia sobre o nível sérico de colesterol de homens e mulheres. In: XXII Reunião da Comissão Brasileira de Pesquisa de aveia, 2002, Passo Fundo. **Anais da XXII Reunião da Comissão Brasileira de Pesquisa de aveia**. Passo Fundo: UPF, 2002. p.548-549.

GENOVESE, M.I.; LAJOLO, F.M. Determinação de isoflavonas em derivados de soja. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.21, n.1, p.86-93, 2001.

GENOVESE, M.I.; LAJOLO, F.M. Isoflavones in soy based foods consumed in Brazil: levels, distribution, and estimated intake. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 5987-5993, 2002.

GERSHOFF, S. et al. **Challenging heart disease**. The Tufts University guide to total nutrition. 5.ed. New York: Harper Perennial, 1996. p.231-244.

GIDDING, S.S. Preventive Pediatric Cardiology. Tobacco, Cholesterol, Obesity, and Physical Activity. **Pediatric Clinics of North America**. v.46, n.2, p.253-262S, 1999.

GIUNTINI, E.B.; LAJOLO, F.M.; MENEZES, E.W. Potencial de fibra alimentar em países ibero-americanos: alimentos, produtos e resíduos. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, v.53, n.1, p.1-7, 2003.

GÓES-FAVONI, S.P.; BELÉIA, A.D.P.; CARRÃO-PANIZZI, M.C.; MANDARINO, J.M.G. Isoflavonas em produtos comerciais de soja. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.24, n.4, p.582-586, 2004.

GOLDSTEIN, J.L.; BROWN, M.S. Familial hypercholesterolemia. In: SCRIVER, C.H.; BEAUDET, A.L. eds. **The metabolic and molecular bases of inherited disease**. New York: McGraw-Hill, Medical Publishing Division, 2001.

- GONÇALVES, P.E. **Livro dos Alimentos**. Martins Fontes, São Paulo, 1992, p.101.
- GONZALEZ-GALAN, A.; WANG, S.H.; SGARBIERI, V.C.; MORAES, M.A.C. Sensory and nutritional properties of cookies based on wheat-rice-soybean flours baked in a microwave oven. **Journal of Food Science**, v.56, n.6, p.1699-1701, 1991.
- GORCZYCA, C.G.; ZABIK, M.E. High fiber sugar-snap cookies containing cellulose and coated cellulose products. **Cereal Chemistry**, St. Paul, v.56. p.537-540. 1979.
- GRAF, E.; SAGUY, I. **Food product development – From concept to the marketplace**. New York: AVI, 1991, 441p.
- GRIZARD, D.; DALLE, M.; BARTHOMEUF, C. Changes in insulin and corticosterone levels may partly mediate the hypolipidemic effect of guar gum and low-molecular weight pectin in rats. **Nutritional Researches**, v.21, n.8, p.1185-1190, 2001.
- GUARIENTI, E. M. **Qualidade Industrial de Trigo**. 2.ed., Passo Fundo: Embrapa Trigo, 1996. 27 p.
- GUEDES, D.P.; GUEDES, J.E.R.P.; BARBOSA, D.S.; OLIVEIRA, J.A. Uso de tabaco e perfil lipídico-lipoprotéico plasmático em adolescentes. **Revista da Associação Médica Brasileira**. v.53, n.1, p.59-63, 2007.
- GUTKOSKI, L.C.; EL-DASH, A.A. Efeito do cozimento por extrusão na estabilidade oxidativa de produtos de moagem de aveia. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.34, n.1, p.119-127. 1999.
- GUTKOSKI, L.C.; IANISKI, F.; DAMO, T.V.; PEDO, I. Biscoitos de aveia tipo cookie enriquecidos com concentrado de β -glicanas. **Brazilian Journal of Food Technology**. v.10, n.2, p.104-110, 2007.
- GUTKOSKI, L.C.; PEDO, I. **Aveia**: composição química, valor nutricional e processamento. São Paulo: Varela, 2000. 96p.
- HALLFRISCH, J.; BEHALL, K. M. Mechanisms of the Effects of Grains on Insulin and Glucose Responses. **Journal of the American College of Nutrition**, v.19, n.3, p.320S–325S, 2000.
- HALSTED, C.H. Alcohol: efectos clínicos y nutricionales. In: ZIEGLER, E.E.; FILLER, J.L.J. (Eds.) **Conocimientos actuales sobre nutrición**. 7.ed. Washington: International Life Sciences Institute Press, 1997; 584-593.

HARRISON, R. A.; SAGARA, M.; RAJPURA, A.; ARMITAGE, L.; BIRT, N.; BIRT, C. A.; YAMORI, Y. Can foods with added soya-protein or fish-oil reduce risk factors for coronary disease? A factorial randomised controlled trial. **Nutrition Metabolism Cardiovascular Disease**. v.14. p.344-350, 2004.

HORN, L. V.; LIU, K.; GERBER, J.; GERSIDE, D.; SCHIFFER, L.; GERNHOFER, N.; GREENLAND, P. Oats and soy in lipid-lowering diets for women with hypercholesterolemia: Is there synergy? **Journal American Diet Association**. v.101, n.11, p.1319-1325. 2001.

HOSENEY, R.C. **Principles of Cereal Science and Technology**. St. Paul: American Association of Cereal Chemists, AACC, p.76-87. 1990.

HU, F.B.; STAMPFER, M.J.; MANSON, J.E. et al. Dietary fat intake and risk of coronary heart disease in women. **New England Journal Medicine**. v.337, p.1491-1499, 1997.

HUBER, G.R. Carbohydrates in extrusion processing. **Food Technology**, v.45, n.3, p.160-168, 1991. HUFF, M. W.; CARROLL, K. K. Effects of dietary protein on turnover, oxidation, and absorption of cholesterol, and on steroid excretion in rabbits. **Journal of Lipid Research**. v.21. p.546-558, 1980.

IMAIZUMI, K.; ABE, K.; KUROIWA, C.; SUGAWO, M. Fat containing stearic acid increases fecal neutral steroid excretion and catabolism of low density lipoproteins without affecting plasma cholesterol concentration in hamsters fed a cholesterol – containing diet. **Journal of Nutrition**. v.123, n.10, p.1693-1702, 1993.

INGREDIENTS - Product update. **Food Technology**. v.53, n.6, p.70, 1999.

JAMES, C., COURTNEY, D. L. D., LORENZ, K. Rice bran-soy blends as protein supplements in cookies. **International Journal Food Science Technology**, v.24, n.5, p.495-502, 1989.

JELTEMA, M.A; ZABIK, M.E.; THIEL, L.J. Prediction of cookie quality from dietary fiber components. **Cereal Chemistry**, v.60, n.3, p.227-230, 1983.

JENKINS, D.J.A.; KENDALL, C.W.C.; VIDGEN, E.; VUKSAN, V.; JACKSON, C.; AUGUSTIN, L.S.A.; LEE, B.; GARSETTI, M.; AGARWAL, S.; RAO, A.V.; CAGAMPANG, G.B.; FULGONI III, V. Effect of Soy-Based Breakfast Cereal on Blood

Lipids and Oxidized Low-Density Lipoprotein. **Metabolism**. v.49, n.11, p.1496-1500. 2000.

JENKINS, D.J.A.; KENDALL, C.W.C.; VUKSAN,V.; VIDGEN, E.; PARKER, T.; FAULKNER, D.; MEHLING, C.C.; GARSETTI, M.; TESTOLIN, G.; CUNNANE, S.C.; RYAN, M.A.; COREY, P.N. Soluble fiber intake at a dose approved by the US Food and Drug Administration for a claim of health benefits: serum lipid risk factors for cardiovascular disease assessed in a randomized controlled crossover trial. **American Journal Clinical Nutrition**. v.75. n.5, p.834-839. 2002.

JIANG, Z.Q., YANG, S.Q., TAN, S.S., LI, L.T., LI, X.T. Characterization of a xylanase from the newly isolated thermophilic *Thermomyces lanuginosus* CAU44 and its application in bread making. **Letters in Applied Microbiology**. v.41, p.69-76. 2005.

JIMENEZ, M.J.M.; ELIAS, L.G.; BRESSANI, R. *et al.* Estudos bioquímicos y nutricionales de la semilla germinada de soya. **Archivo Latino Americano de Nutricion**, v.35, n.3, p.481-491, 1985.

JOINT NATIONAL COMMITTEE. The Fifth Report of the Joint National Committee on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Pressure. **Archive International Medicine**. n.153. v.2. p.154-183. 1993.

JUDD, P. A.; TRUSWELL, A. S. Comparasion of the effects of high and low methoxyl pectin on blood and faecal lipids in man. **British Journal of Nutrition**. v.48, n.3, p.451-458, 1992.

KAMALIYA, M.K., KAMALIYA, K.B. **Baking: Science and Industry**. V. 1 e 2. Publicado por Kamaliya, M.K., Anand, India, p. 1-695. 2001.

KAMHOLZ, S.L. Pulmonary and cardiovascular consequences of smoking. **Medical Clinics of North America**. v.88, n.6, p.1415-1430, 2004.

KAPIOTIS, S.; HERMANN, M.; HELD, I.; SEELOS, C.; EHRINGER, H.; GMEINER, B.M.K. Genistein, the dietary-derived angiogenesis inhibitor, prevents LDL oxidation and protects endothelial cells from damage by atherogenic LDL. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**. v.17, p.2868-2874.,1997.

KARAM, L.B. **Avaliação da farinha de aveia combinada com diferentes amidos modificados para produção de “snack”**. Londrina, 1999. 89p. Dissertação

(Mestrado em Ciência de Alimentos) – Londrina: Universidade Estadual de Londrina: UEL, 1999.

KARMALLY, W.; MONTEZ, M.G.; PALMAS, W.; MARTINEZ, W.; BRANSTETTER, A.; RAMAKRISHNAN, R.; HOLLERAN, S.F.; HAFFNER, S.M.; GINSBERG, H.N. Cholesterol-lowering benefits of oat-containing cereal in Hispanic Americans. **Journal of the American Dietetic Association**. v.105, n.6, p.967-970. 2005.

KATAN, M. B.; VROOMEN, L. H. M.; HERMUS, R. J. J. Reduction of casein-induced hypercholesterolaemia and atherosclerosis in rabbits and rats by dietary glycine, arginine and alanine. **Atherosclerosis**. v.43, p.381-391. 1982.

KEENAN, J.M.; WENZ, J.B.; MYERS, S.; RIPSIN, C.; HUANG, Z.Q. Randomized, controlled, crossover trial of oat bran in hypercholesterolemic subjects. **Journal of the American Board of Family Practice**. v.33, n.6, p.600-608, 1991.

KEOGH, G. F.; COOPER, G. J. S.; MULVEY, T. B.; MCARDLE, B. H.; COLES, G. D.; MONRO, J. A.; POPPITT, S. D. Randomized controlled crossover study of the effect of a highly β -glucan-enriched barley on cardiovascular disease risk factors in mildly hypercholesterolemic men. **American Journal Clinical Nutrition**. v.78. p.711-718. 2003.

KERCKHOFFS, D. A. J. M.; HORNSTRA, G.; MENSINK, R. P. Cholesterol-lowering effect of β -glucan from oat bran in mildly hypercholesterolemic subjects may decrease when β -glucan is incorporated into bread and cookies. **American Journal Clinical Nutrition**. v.78, p.221-227. 2003.

KEY, T.J.; APPLEBY, P.N. Vegetarianism, coronary risk factors and coronary heart disease. In: SABATÉ, J. (Ed.) **Vegetarian Nutrition**. USA: CRC Press, 2001. p.33-54.

KING, J.M.; CHIN, S.M.; SVENDSEN, L.K.; REITMEIER, C.A., JOHNSON, L.A., FEHR, W.R. Processing of lipoxygenase-free soybeans and evaluation in foods. **Journal of the American Oil Chemists' Society**. v.78, n.4, p.353-360. 2001.

KISSEL, L.T.; PRENTICE, N.; YAMAZAKI, W.T. Protein enrichment of cookie flours with wheat gluten and soy flour derivatives. **Cereal Chemistry**. v.52, n.6, p.638-649, 1975.

KOTSOPOULOS, D.; DALAIS, F.S.; LIANG, Y.L.; MCGRATH, B.P.; TEEDE, H. J. The effects of soy protein containing phytoestrogens on menopausal symptoms in postmenopausal women. **Climacteric**. v.3, p.161-167. 2000.

KRAUSE, M.V.; MAHAN, L.K. **Alimentos, nutrição e dietoterapia**. 10.ed. São Paulo: Roca, 2002. 981p.

KRIS-ETHERTON, P.M.; KRUMMEL, D.; RUSSELL, M.E.; DREON, D.; MACKEY, S.; BORCHERS, J.; WOOD, P.D. The effect of diet on plasma lipids, lipoproteins and coronary heart disease. **Journal of the American Dietetic Association**. v.88, n.11, p.1373, 1988.

KRUMMEL, D. Nutrição na doença cardiovascular. In: MAHAN, L K; ESCOTT-STUMP, S.; In.: **KRAUSE. Alimentos, nutrição e dietoterapia**, 10.ed. São Paulo: Roca, 2002. p. 539-568.

KUDOU, S.; SHIMOYAMADA, M.; IMURA, T.; UCHIDA, T.; OKUBO, K. A new isoflavone glycoside in soybean seeds (*Glycine max* Merrill), glycitein 7-O-beta-D-(6"-O-acetyl)-glucopyranoside. **Agricultural and Biological Chemistry**. v.55, n.3, p.859-860, 1991.

KURZER, M.S.; XU, X. Dietary phytoestrogens. **Annual Review of Nutrition**, Palo Alto, v.17, p.353-381, 1997.

KUYVENHOVEN, M. W.; ROSZKOWSKI, W. F.; WEST, C. E.; HOOGENBOOM, R., VOS, R.; BEYNEN, A. C.; VAN der MEER, R. Digestibility of casein, formaldehyde-treated casein and soya-bean protein in relation to their effects on serum cholesterol in rabbits. **British of Journal Nutrition**. v.62, p.331-342. 1989.

LÀSZTITY, R. Oat grain – A wonderful reservoir of natural nutrients and biologically active substances. **Food Review International**. v.14, n.1, p.99-119, 1998.

LEELAVATHI, K.; RAO, H.P. Development of high fibre biscuits using wheat bran. **Journal of Food Science and Technology**, v.30, n.3, p.187-191, 1993.

LEHNINGER, A. L., NELSON, D. L., COX, M. M. **Princípios de Bioquímica**. 2. ed. São Paulo: Sarvier, 1995.

LEITÃO, R.F.F.; VITTI, P.; MORI, E.E.M. Mistura de trigo, milho, mandioca e soja em pastas alimentícias. **Boletim do Instituto de Tecnologia de Alimentos**, v.50, p.187-204, 1977.

- LEVANDOWSKY, M. **The Quarterly Review of Biology**. v.56, n.2, p.204, 1981.
- LICHTENSTEIN, A. H.; JALBER, S.M.; ADLERCREUTZ, H.; GOLDIN, B.R.; RASMUSSEN, H.; SCHAEFER, E.J.; et al. Lipoprotein responde to diets high in soy or animal protein with and without isoflavones in moderately hypercholesterolemic subjects. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v.22, p.1852-1858. 2002.
- LIENER, I.E. Implications of antinutritional components in soybean foods. **Critical Review Food Science Nutrition**, v.34, p.31-67, 1994.
- LIM, H.S.; WHITE, P.J.; FREY, K.J. Genotipic effects on b-glucan content of oat lines grown in two consecutive years. **Cereal Chemistry**, v.69, n.3, p.262-265, 1992.
- LIMA, F. E. L.; MENEZES, T. N.; TAVARES, M. P.; SZARFARC, S.C.; FISBERG, R.M. Ácidos graxos e doenças cardiovasculares: uma revisão. **Revista Nutrição**. v.13, n.2, p.73-80, 2000.
- LIU, S.; MANSON, J.E.; LEE, I.; COLE, S.R; HENNEKINS, C.H.; WILLETT, W.C. et al. Fruit and vegetable intake and risk of cardiovascular disease: the women's health study. **American Journal Clinical Nutrition**, v.72, n.4, p.922-928, 2000.
- LÓPEZ, G.; ROS, G.; RINCÓN, F.; PERIAGO, M. J.; MARTÍNEZ, C.; ORTUNO, J. Propiedades funcionales de la fibra dietética. Mecanismos de acción en el tracto gastrointestinal. **Archivo Latinoamericano de Nutricion**, v.47, n.3, p.203-207, 1997.
- LOVEGROVE, J.A.; CLOHESSY, A.; MILON, H.; WILLIAMS, C.M. Modest doses of β -glucan do not reduce concentrations of potentially atherogenic lipoproteins. **American Journal Clinical Nutrition**. v.72, p.49-55. 2000.
- LUDKE, M.C.M.M.; LÓPEZ, J. Colesterol e composição dos ácidos graxos nas dietas para humanos e na carcaça suína. **Ciência Rural**. v.29, n.1, p.181-187, 1999.
- 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. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.23, Supl., p.206-212, 2003.
- MAARLE, M. C. van; STOUTHARD, M.E.A.; MHEEN, P.J.M.; KLAZINGA, N.S.; BONSEL, G.J. Follow up after a family based genetic screening programme for

familial hypercholesterolaemia: is screening alone enough? **BMJ**. v.324:1367-1368, 2002.

MAAT, J.; ROZA, M.; VERBAKEL, J.; STAM, H.; DA-SILVA, M.J.S.; EGMOND, M.R.; HAGEMANS, M.L.D.; vanGARCOM, R.F.M.; HESSING, J.G.M.; vanDERHONDEL, C.A.M.J.J.; vanROUERDAM, C. **Xylanases and their application in bakery**. In: VISSER, J.; BELDMAN, G.; vanSOMEREN, M.A.K.; VORAGEN, A.G.J. (eds.) *Xylans and xylanases*. Elsevier, Amsterdam, p. 349-360. 1992.

MAHAN, K.L.; ARLIN, M.T. **Krause: Alimentos, nutrição e dietoterapia**. 8.ed. São Paulo: Roca, 1994. p.766-825.

MANTHEY, F.A.; HARELAND, G.A.; HUSEBY, D.J. Soluble and insoluble dietary fiber content and composition in oat. **Cereal Chemistry**, v.76, n.3, p.417-420, 1999.

MARTINEZ, T.L.R., LOURENÇO, D.M. **Avaliação e conduta nos riscos trombo e aterogênico**. São Paulo: Art Plus, 1996. 164p.

MAXWELL, M.H.; WAKS, A.U.; SCHROTH, P.C.; KARAM, M.; DORNFELD, L.P. Error in blood pressure measurement due to incorrect cuff size in obese patients. **Lancet**. v.2, p. 33-35. 1992.

McDONALD, A.; SHINNICK, F.; INK, S. Review of the effects of oats on human health. In: BARR, A. R. (ed.). **The changing role of oats in human and animal nutrition. 4. International Oat Conference**. v.1. Adelaide, Austrália: Int. Oat Conference Committee, 1992. p.1-8.

McWATTERS, K. H.; QUEDRAOGO, J. B.; RESURRECCION, V. A.; HUNG, Y. C.; PHILLIPS, R. D. Physical and sensory characteristics of sugar cookies containing a mixture of fonio (*Digitaria exilis*) and cowpea (*Vigna unguiculata*) flours. **International Journal of Food Science and Technology**, v.38, n.4, p.403-410. 2003.

MEDEIROS, R. G., HANADA. R., FILHO, E. X. F. Production of xylan-degrading enzymes activities from fungal species isolated of Amazon forest. In: **International Biodeterioration and Biodegradation**. v.52, 2003.

MESSINA, M.; BARNES, S. The role of soy products in reducing risk of cancer. **Journal of the National Cancer Institute**. v.83, p.541-546. 1991.

MESSINA, M., BARNES, S., SETCHELL, K.D.R. Phytoestrogens and breast cancer.

Lancet. London, v.350, p.971-972, 1997.

MEYER, A. The 1998 top 100 ® R&D survey. **Food Processing.** v.58, n.8, p.32-40. 1998.

MILES, R. D. Eggs important in diet, unfairly criticized as heart disease risk. **Feedstuffs,** p.26-51, 1989.

MILLER, S.S.; WOOD, P.J.; PIETRZAK, L.N.; FULCHER, R.G. Mixed linkage b-glucan, protein content, and kernel weight in *Avena* species. **Cereal Chemistry.** v.70, n.2, p.231-233, 1993.

MILLER, W.C.; NIEDERPRUEM, M.G.; WALLACE, J.P.; LINDEMAN, A.K. Dietary fat, sugar, and fiber predict body fat content. **Journal of the American Dietetic Association.** v.94, n.6, p.612-615, 1994.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Análise de Situação de Saúde. **Saúde Brasil 2004: uma análise da situação de saúde.** Brasília: Ministério da Saúde, 2004.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Departamento de Informação e Informática do Sistema Único de Saúde (DATASUS). **Informações sobre mortalidade e informações demográficas.** Acesso em 25 janeiro 2008. Disponível em <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi>

MONTGOMERY, D.C.; VOTH, S.R. Multicollinearity and leverage in mixture experiments. **Journal of Quality Technology,** v.26, n.2, p. 96-108, 1994.

MONTGOMERY, R, CONWAY, T. W., SPECTOR, A. A. **Bioquímica: uma abordagem dirigida por casos.** 5.ed. São Paulo: Artes Médicas, 1994.

MORETTO, E.; FETT, R. **Processamento e análise de biscoitos.** São Paulo: Varela, 1999. 97p.

MOSKOWITZ, H.R. Product testing and sensory evaluation of foods – Marketing and R&D Approaches. **Food and Nutrition Press.** 1983, 605p.

Multiple risk factor intervention trial. Risk factor changes and mortality results. Multiple Risk Factor Intervention Trial Research Group. **The Journal of the American Medical Association.** v.248, n.12, p.1465-1477, 1982.

MYERS, R.H., MONTGOMERY, D.C. **Response surface methodology**: process and product optimization using designed experiments, New York: John Wiley and Sons, 2002.

NAGATA Y, ISHIWAKI N, SUGANO M. Studies on the mechanism of antihypercholesterolemic action of soy protein and soy protein-type amino acid mixtures in relation to the casein counterparts in rats. **Journal of Nutrition**. v.112. 1614-1625. 1982.

NAGATA, C.; TAKATSUKA, N.; KURISU, Y.; SHIMIZU, H. Decreased serum total cholesterol concentration is associated with high intake of soy products in Japanese men and women. **Journal Nutrition**. v.128, n.2, p.209-213. 1998.

NAVICKS, L. L. Corn flour addition to wheat flour dough effect on rheological properties. **Cereal Chemistry**, v.64, n.4, p.307-310, 1987.

NIXDORF, S.L. Colesterol: do corpo à mesa. Maringá, 1996. 76p. **Dissertação** (Mestrado em Ciências) – Maringá: Universidade Estadual de Maringá: UEM, 1996.

OLIVEIRA, S.P.; REYES, F.G.R. Biscoito com alto teor de fibra de milho: Preparo, caracterização química e tecnológica e teste de aceitabilidade. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.10, n.2, p.273-286, 1990.

OLIVEIRA, A. P. V.; BENASSI, M. T. Perfil Livre: uma opção para Análise Sensorial Descritiva. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas, v.37, n.1, p.66-72, 2003.

ÖNNING, G.; WALLMARK, A.; PERSSON, M.; AKESSON, B.; ELMSTAHL, S.; ÖSTE, R. Consumption of oat milk for 5 weeks lowers serum cholesterol and LDL cholesterol in free-living men with moderate hypercholesterolemia. **Ann Nutrition Metabolic**. v.43, p.301-309. 1999.

OP & P PRODUCT RESEARCH, **Senstools Versão 2.3**. Utrecht: OP & P Product Research, 1995-1998. CD room.1998).

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. Obesity epidemic puts millions at risk from related diseases. Press Release WHO/46, 1997. Disponível em: <<http://www.who.int/archives/inf-pr-1997/en/pr97-46.html>>. Acesso em 13 jul. 2007.

PALLARDO, J.P.M. **Avances em diabetes**. Madrid: Grupo Aula Médica, 1977. 269p.

- PANDJAITAN, N.; HETTIARACHCHY, N.; JU, Z.Y. Enrichment of genistein in soy protein concentrate with b-glucosidase. **Journal of Food Science**. v.65, n.3, p.403-407. 2000.
- PARK, K.J.; BIN, A.; BROD, F.P.R. Obtenção das isotermas de sorção e modelagem matemática para a pêra bartlett (*Pyrus sp.*) com e sem desidratação osmótica. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.21, n.1, p.73-77, 2001.
- PARK, D.; HUANG, T.; FRISHMAN, W.H. Phytoestrogens as cardioprotective agents. **Cardiology**, v.13, p.13-17, 2005.
- PATEL, R.P.; BOERSMA, B.J.; CRAWFORD, J.H.; HOGG, N.; KIRK, M.; KALYANARAM, B.; Antioxidant mechanisms of isoflavones in lipid systems: paradoxical effects of peroxy radical scavenging. **Free Radical Biology & Medicine**. v.31, n.12, p.1570-1581, 2001.
- PAZZUCCONI, F.; DELLA MURA, N.; SIRTORI, C.R. Soy protein diet supplementation reduces LDL cholesterol in severely hypercholesterolemic patients. **Atherosclerosis**, v.135, Suppl.1, pp.18-18(1), 1997.
- PEARSON, T.A. **Alcohol and heart disease**. American Heart Association. Circulation 1996. v.94, n.11, p.3023-3025, 1996.
- PEREZ, P.M.P.; GERMANI, R. Elaboração de biscoitos tipo salgado, com alto teor de fibra alimentar, utilizando farinha de berinjela (*Solanum melongena*, L.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v.27, n.1, p.186-192, 2007.
- PETERSON, M.P. Composition and Nutritional Characteristics Oat Grain and Product. In: MARSHALL, H.G.; SOLLELLS, M. S. (Ed.) **Oat science and technology**. Madison: American Society of Agronomy, Inc., p.266-287. 1992.
- PIEPEL, G.F.; CORNELL, J.A. Mixture experiment approaches: examples, discussion and recommendations. **Journal of Quality Technology**, v.26, n.3, p.177-196, 1994.
- POLANCZYK, C.A. Fatores de risco cardiovascular no Brasil: os próximos 50 anos! **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**. v.84, n.3, p.199-201, 2005.
- POTTER, N.N. **Food Science**. 2.ed. Westport: AVI Publishers, 1973.
- POTTER, S.M. Overview of proposed mechanisms for the hypocholesterolemic effect

of soy. **Journal of Nutrition**. v.125 (suppl.3), p.606S-611S, 1995.

PRADE, R. A. **Xylanases: from biology to biotechnology**. In: Biotechnology and Genetic Engineering. v.13, 1995.

PRICE, J.F.; MOWBRAY, P.I.; LEE, A.J.; RUMLEY, A.; LOWE, G.D.O.; FOWKES, F.G.R. Relationship between smoking and cardiovascular risk factors in the development of peripheral arterial disease and coronary artery disease; Edinburgh Artery Study. **European Heart Journal**. v.20, n.5, p.344-353, 1999.

RABKIN, S.W.; CHEN, Y.; LEITER, L.; LIU, L.; REEDER, B.A. Risk factor correlates of body mass index. **Canadian Medical Association Journal**. 157(suppl. 1):S26-31. 1997.

RASCO, B.A., RUBENTHALER, G., BORHAN, M., DONG, F.M. Baking properties of bread and cookies incorporating distillers or brewers grain from wheat or barley. **Journal of Food Science**, v.55, n.2, p.424-429, 1990.

REYNOLDS, K.; CHIN, A.; LEES, K. A.; NGUYEN, A.; BUJNOWSKI, D. HE, J. A meta-analysis of the effect of soy protein supplementation on serum lipids. **The American Journal of Cardiology**. v.98, p.633-640, 2006.

RIPSIN, C.M.; KEENAN, J.M. The effects of dietary oat products on blood cholesterol. **Trends in Food Science and Technology**, v.3, p.137-141, 1992.

RIPSIN, C.M.; KEENAN, J.M.; JACOBS JR, D.R.; ELMER, P.J.; WELCH, R.R.; VAN HORN, L.; LIU, K.; TURNBULL, W.H.; THYE, F.W.; KESTIN, M. Oat products and lipid lowering: a meta-analysis. **The Journal of the American Medical Association**. v.267, n.24, p.3317-3325, 1992.

ROE, D.A. Effects of drugs and vitamins needs. **Annals of New York Academy Science**, New York, v.669, p.156-163, 1992.

ROESSING, A.C. Situação mundial de oleagiosas. **Informe Econômico CNPSo**, v.2. p.9-10. Londrina: EMBRAPA-CNPSo, 1995.

ROMERO, A.L.; ROMERO, J.E.; GALAVIZ, S.; FERNANDEZ, M.L. Cookies enriched with psyllium or oat bran lower plasma LDL Cholesterol in normal and hypercholesterolemic men from Northern Mexico. **Journal of the American College of Nutrition**. v.17, n.6, p.601-608. 1998.

- ROY, S.; VEJA-LOPEZ, S.; FERNANDEZ, M.L. Gender and hormonal status affect the hypolipidemic mechanisms of dietary soluble fiber in guinea pigs. **Journal of Nutrition**, v.130, n.3, p.600-607, 2000.
- RYAN, K.J.; HOMCO-RYAN, C.L.; JENSON, J.; ROBBINS, K.L.; PRESTAT, C.; BREWER, M.S. Effect of lipid extraction process on performance of texturized soy flour added wheat bread. **Journal of Food Science**. v.67, n.6, p.2385-2390, 2002.
- SANCHEZ, A.; HORNING, M.C.; SHAVLIK, G.W.; WINGELETH, D.C.; HUBBARD, R.W. Changes in levels of cholesterol associated with plasma amino acids in humans fed plant proteins. **Nutrition Reports International**. v.32, p.1047-1056. 1985.
- SANTANA, M.P. **Efeitos do uso da soja e chá verde (*Camellia sinensis*) sobre o perfil lipídico e estresse oxidativo em indivíduos dislipidêmicos**. 2006. Mestrado (Medicina e Ciências da Saúde). Universidade Estadual de Londrina, Londrina.
- SASSON, A. **Alimentando o mundo de amanhã**. Rio de Janeiro: Imago/UNESCO Ed., 1993. 381p.
- SCHABBACH, L.M., OLIVEIRA, A.P.N.; FREDEL, M.C.; HOTZA, D., Seven-component lead-free frit formulation. **American Ceramic Society Bulletin**. 82, p.47-50, 2003.
- SEGUNDO CONSENSO BRASILEIRO SOBRE DISLIPIDEMIAS. Recomendações para o exame do perfil lipídico para clínicos e laboratórios. **Atheros**. v.10, n.4, p.109-120, 1999.
- SEWELL, A.; HOLLENBECK, C.B.; BRUCE, B. The effects of soy-derived phytoestrogens on serum lipids and lipoproteins in moderately hypercholesterolemic postmenopausal women. **Journal Clinical Endocrinology Metabolic**. v.87, p.118-121. 2002.
- SGARBIERI, V.C. **Proteínas em alimentos protéicos: propriedades–degradações–modificações**. São Paulo: Varela, 1996.
- SGARBIERI, V.C.; PACHECO, M.T.B. Revisão: alimentos funcionais fisiológicos. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.2, n.1-2, p.7-19, 1999.
- SHAH, A.R.; SHAH, R.K.; MADAMWAR, D. Improvement of the quality of whole wheat bread by supplementation of xylanase from *Aspergillus foetidus*. **Bioresource Technology**, v.97, n.16, p.2047-2053, 2006.

SHINNICK, F.L.; LONGACRE, M.J.; INK, S.L. Oat fiber: composition versus physiological function in rats. **Journal of Nutrition**, v.118, n.2, p.144-151, 1988.

SHUDA, M.L.; VETRIMANI, R.; LEELAVATHI, K. Influence of fibre from different cereals on the rheological characteristics of wheat flour dough and on biscuit quality. **Food Chemistry**, v.100, n.4, p.1365-1370, 2007.

SILVA, M.R. **Caracterização química e nutricional da farinha de jatobá (*Hymenaea stigonocarpa* Mart.):** desenvolvimento e otimização de produtos através de testes sensoriais afetivos. Campinas, 1997. 154 p. Tese (Doutorado em Ciência da Nutrição) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP).

SILVA, M.R.; SILVA M.A.A.P.; CHANG, Y.K. Utilização da farinha de jatobá (*Hymenaea stigonocarpa* Marl.) na elaboração de biscoitos tipo cookie e avaliação de aceitação por testes sensoriais afetivos univariados e multivariados. **Ciência Tecnologia de Alimentos**. v.18, n.1, p.25-34, 1998.

SILVEIRA, E.T.F.; TRAVAGLINI, D.A.; VITTI, P.; CAMPOS, S.D.S.; AGUIRRE, J.M.; FIGUEIREDO, I.B.; SHIROSE, I. Farinha composta de resíduo do extrato de soja e de arroz em mistura com trigo para uso em panificação. **Boletim do ITAL**, v.18, n.4, p.509-542, 1981.

SIMÃO, M.; NOGUEIRA, M.S.; HAYASHIDA, M.; CESARINO, E.J. Doenças cardiovasculares: perfil de trabalhadores do sexo masculino de uma destilaria do interior paulista. **Revista Eletrônica Enfermagem**. v.4, n.2, p.27-35, 2002.

SIMÕES, M. V.; SCHMIDT, A. Hipertensão arterial como fator de risco para doenças cardiovasculares. **Medicina**, Ribeirão Preto, v.29, p.214-219, 1996.

SINGH, A.; MOHAMED, A. Influence of gluten–soy protein blends on the quality of reduced carbohydrates cookies. **LWT - Food Science and Technology**, v.40, n.2, p.353-360, 2007.

SIPOS, E.F. Usos comestibles de la proteína de soja. **Soya noticias – Asociacion Americana de Soya**, Mexico, v.19, n.220, p.1-18, 1990.

SIRTORI, C.R.; LOVATI, M.R.; MANZONI, C.; MONETTI, M.; PAZZUCCONI, F.; GATTI, E. Soy and cholesterol reduction: clinical experience. **Journal of Nutrition**. 125: 598S-605S. 1995.

SMITH, A.K.; CIRCLE, S.J. **Soybeans: Chemistry and Technology**. Westport: AVI, 1972. 470p.

SMITH, R.L., PINCKNEY, E.R. **The cholesterol conspiracy**, Missouri, Wanen H. Green, Inc., 1991, 388 p.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA. III Diretrizes Brasileiras sobre Dislipidemias e Diretriz de Prevenção da Aterosclerose do Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 77 (supl. III), p. 1-191, 2001.

SOUZA, G.; VALLE, J.L.E.; MORENO, I. Efeitos dos componentes da soja e seus derivados na alimentação humana. **Boletim SBCTA**. v.34, n.2, p.61-69, 2000.

STATISTICA for windows v.5.1 – Tulsa: **Statsoft**, Inc. Software, v.II. 1995.

STATISTICA for windows v.7.1 – Tulsa: **Statsoft**, Inc. Software, 2006.

STEBBENS, W.J. Diet and atherogenesis. **Nutrition Reviews**, v.47, n.1, p.1-12, 1989.

SUDHA, M.L.; VETRIMANI, R.; LEELAVATHI, K. Influence of fibre from different cereals on the rheological characteristics of wheat flour dough and on biscuit quality. **Food Chemistry**, v.100, n.4, p. 1365-1370, 2007.

TANAKA, K.; SUGANO, M. Effects of addition of sulfur-containing amino acids and glycine to soybean protein and casein on serum cholesterol levels of rats. **Journal Nutrition Science Vitaminol**. v.35, p.323-332. 1989.

TAPOLA, N. et al. Glycemic responses of oat bran products in type 2 diabetic patients. **Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases**. v.15, n.4, p.255-261, 2005.

TEIXEIRA, E.; MENERT, E. M.; BARBERTA, P. A. **Análise sensorial de alimentos**. Florianópolis: UFSC, 1987. 180 p.

THOMPSON, D.R. Designing mixture experiments- A review. **Transaction of the Assae**, v.24, n.4, p. 1077-1086, 1981.

TIBURCIO, D.T.S. **Enriquecimento protéico de farinha de mandioca com farinha de soja de sabor melhorado: desenvolvimento e avaliação nutricional de um novo**

produto. Viçosa, 2000. 67 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal de Viçosa.

TOPPING, D.L.; Soluble fiber polysaccharides: effects on plasma cholesterol and colonic fermentation. **Nutrition Reviews**. v.49, p.195-203, 1991.

TORRES, N.; TORRE-VILLALVAZO, I.; TOVAR, A.R. Regulation of lipid metabolism by soy protein and its implication in diseases mediated by lipid disorders. **Journal of Nutritional Biochemistry**. v.17, p.365-373, 2006.

TOVAR, A.R.; MURGUÍA, F.; CRUZ, C.; HERNÁNDEZ-PANDO, R.; AGUILAR-SALINAS, C.A.; PEDRAZA-CHAVARRI, J. et al. A soy protein diet alters hepatic lipid metabolism gene expression and reduces serum lipids and renal fibrogenic cytokines in rats with chronic nephritic syndrome. **Journal of Nutrition**. v.132, p.2562-2569. 2002.

TURLEY, S.D., DAGGY, B.P., DIETSCHY, J. Cholesterol-lowering action of psyllium mucilloid in the hamster: sites and possible mechanisms of action. **Metabolism**. v.40, p.1063-1073, 1991.

UYSAL, H.; BILGIÇLI, N.; ELGÜN, A.; IBANOGLU, S.; HERKEN, E.N.; DEMIR, M.K. Effect of dietary fibre and xylanase enzyme addition on the selected properties of wire-cut cookies. **Journal of Food Engineering**. v.78, n.3, p.1074-1078, 2007.

VISSER, A.; THOMAS, A. Review soya protein products – their processing, functionality and application aspects. **Food Reviews International**. New York, v.3, n.1-2, p.1-32, 1987.

VITTI, P. **Avaliação tecnológica dos produtos elaborados com farinha de trigo (pão, macarrão, biscoito)**. Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL), Campinas, 1992. 42p.

VITTI, P.; GARCIA, E.E.C.; OLIVEIRA, L.M. **Tecnologia de Biscoitos**. Manual Técnico n.1, ITAL, Campinas, 1988, 86p.

WAITZBERG, D.L.; BORGES, V.C. Gorduras. In: WAITZBERG, D.L. (Editor). **Nutrição Oral, Enteral e Parenteral na Prática Clínica**. 3.ed. São Paulo: Atheneu; 2000. p. 55-78.

WANG, H.; MURPHY, P. Isoflavone content in commercial soybean foods. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v.42, p.1666-1673, 1994.

WANG, H.J.; MURPHY, P.A. Mass balance study of isoflavones during soybean processing. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.44, p.2377-2383, 1996.

WARDLAN, G.M.; INSEL, P.M. Perspectives in nutrition. 2.ed. Missouri: **Mosby Year Book**, 1993.

WATT, B.; MERRILL, A.L. **Composition of foods: raw, processed, prepared**. Washington, DC: Consumer and Food Economics Research Division / Agricultural Research Service, 1963. 198p. (Agriculture Handbook, 8).

WEBSTER, F.H. Oat utilization: past, present, and future. In: WEBSTER, F.H. **Oats Chemistry and Technology**. Saint Paul: American Association of Cereal Chemists, p.413-426, 1986.

WESTERLUND, E.; ANDERSSON, R.; AMAN, P. Isolation and chemical characterization of water-soluble mixed-linked β -glucans and arabinoxylans in oat milling fractions. **Carbohydrate Polymers**. v.20, p.115-123, 1993.

WHITTICK, L. Fashionable fibra. **Food, Flavourings, Ingredients, Packaging and Processing**, v.4, n.11, p.25-29. FSTA 90-07-GOO04, 1989.

WHITERS, S.G. Mechanisms of glycosyl transferases and hydrolases. In: **Carbohydrate Polymers**. v. 44, 2001.

WOLEVER, T.M.S.; JENKINS, D.J.A.; MULLER, S.; BOCTOR, D.L.; RANSOM, T.P.P.; PATTEN, R.; CHAO, E.S.M.; McMILLAN, K.; FULGONI, V. Method of administration influences the serum cholesterol-lowering effect of psyllium. **American Journal of Clinical Nutrition**. v.59, n.5, p.1055-1059, 1994.

WOLF, W.J.; COWAN, J.C. **Soybeans as a food source**. Cleveland, Ohio, CRC, 1977.

WONG, W.W.; SMITH, E.O.; STUFF, J.E.; HACHEY, D.L.; HEIRD, W.C.; POWNELL, H.J. Cholesterol-lowering effect of soy protein in normocholesterolemic and hypercholesterolemic men. **American Journal of Clinical Nutrition**. v.68, n.6 (Suppl.), p.1385S-1389S. 1998.

WOOD, P.J. *et al.* Large scale preparation and properties of oat fractions enriched in (1-3) (1-4)- β -D-glucan. **Cereal Chemistry**. Saint Paul, v.66, n.2, p.97-103, 1989.

WOOD, P. J. **Oat Bran**. St. Paul, Minnesota, EUA: American Association of Cereal Chemists, Inc, 1993.

WOOD, P.J.; WEISZ, J.; BLACKWELL, B.A. Structural studies of (1-3), (1-4)- β -d-glucans by ¹³C-nuclear magnetic resonance spectroscopy and by rapid analysis of cellulose-like regions using high-performance anion-exchange chromatography of oligosaccharides released by lichenase. **Cereal Chemistry**. v.71, n.3, p.301-307, 1994.

WOODWARD, C.J.H.; CARROLL, K.K. Digestibilities of casein and soya-bean protein in relation to their effects on serum cholesterol in rabbits. **Brazilian Journal Nutrition**. v.54. p.355-366. 1985.

World Health Organization - Geographical variation in the major risk factors of coronary heart disease in men and women aged 35-64. The MONICA project. World Health Statistics Q. v.41. p. 115-137. 1998.

WÜRSCH, P.; PI-SUNYER, F.X. The role of viscous soluble fiber in the metabolic control of diabetes. A review with special emphasis on cereals rich in β -glucan. **Diabetes Care**, v.20, n.11, p.1774-1780, 1997.

YOUNG, V.R. Soy protein in relation to human protein and amino acid nutrition. **Journal American Dietetic Association**. v.91. p.828-825. 1991.

ANEXOS

ANEXO A – Aprovação do Comitê de Ética

193

ANEXO A - Aprovação do Comitê de Ética



COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA ENVOLVENDO SERES HUMANOS
 Universidade Estadual de Londrina/ Hospital Universitário Regional Norte do Paraná
Registro CONEP 268

Parecer N° 062/07 CAAE N° 0041.0.268.000-07	Londrina, 06 de junho de 2007.
PESQUISADOR: MIRIAN CRISTINA MARETTI	
<p>Ilma Sra,</p> <p>O "Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da Universidade Estadual de Londrina/ Hospital Universitário Regional Norte do Paraná" de acordo com as orientações da Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde/MS, <u>APROVA</u> a execução do projeto:</p> <p align="center">“Farinha de soja e farelo de aveia como ingredientes funcionais em biscoitos”.</p> <p>Informamos que a Sra. deverá comunicar, por escrito, qualquer modificação que ocorra no desenvolvimento da pesquisa, bem como deverá ser apresentado ao CEP/UEL relatório final da pesquisa.</p>	
Situação do Projeto: APROVADO	
<p align="center">Atenciosamente,</p> <p align="center">  Prof.ª. Dra. Nilza Maria Diniz Coordenadora Comitê de Ética em Pesquisa-CEP/UEL </p>	

Campus Universitário: Rodovia Crisó Garcia Cid (PR 445), km 380 - Fone (043) 371-4099 PARANÁ - Fax 328-4440 - Caixa Postal 6.001 - CEP 86051-990 - Internet <http://www.uel.br>
 Hospital Universitário/Centro de Ciências da Saúde: Av. Robert Koch, 60 - Vila Operária - Fone (043) 381-2060 PARANÁ - Fax 337-4041 e 337-7495 - Caixa Postal 791 - CEP 86038-440
 LONDRINA - PARANÁ - BRASIL

Form. Código 11.764 - Formato A4 (210x297mm)

193

ANEXO B - Valores de referência (mg/dL) para o diagnóstico de dislipidemia em adultos (>20 anos).

Valores de referência (mg/dL) para o diagnóstico de dislipidemia em adultos (>20 anos).

Lipídeos	Categorias					
	Ótimo	Desejável	Limítrofe	Alto	Muito Alto	Baixo
CT	< 200		200 - 239	≥ 240		
HDL-c		> 60				< 40
LDL-c	< 100	100 - 129	130 - 159	160 - 189	≥190	
TG	< 150		150 - 200	201 - 499	≥ 500	

Fonte: Sociedade Brasileira de Cardiologia (2001).

ANEXO C - Classificação do Índice de Massa Corporal (IMC) segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS, 1997).

- _ IMC < 18,5 Kg/m² : abaixo do peso
- _ IMC de 18,5 a 24,9 Kg/m² : normal
- _ IMC de 25,0 a 29,9 Kg/m² : sobrepeso
- _ IMC de 30,0 a 34,9 Kg/m² : obesidade grau 1, moderada
- _ IMC de 35,0 a 39,9 Kg/m² : obesidade grau 2, severa
- _ IMC ≥ 40 Kg/m² : obesidade grau 3, mórbida

APÊNDICES

APÊNDICE A - Questionário para Provadores

QUESTIONÁRIO PARA PROVADORES

Desejamos formar uma equipe de provadores para avaliar biscoitos. Ser um provador não exigirá de você nenhuma habilidade excepcional, não tomará muito seu tempo e não envolverá nenhuma tarefa difícil. A prova será realizada no Laboratório de Análise Sensorial do DCTA, leva em torno de 15 minutos e você poderá fazê-la no horário que tiver maior disponibilidade. Se tiver qualquer dúvida, ou necessitar de informações adicionais, entre em contato com a doutoranda Mirian Maretti, ramal 4425, (e-mail: micrisma@hotmail.com).

Nome _____

Telefone para contato / e mail: _____

1- Faixa etária

- () 15-25
 () 25-35
 () 35-50
 () acima de 50 anos

2- Sexo

- () masculino
 () feminino

3- Ocupação

- () aluno _____
 () funcionário
 () professor
 () outro _____

4- Escolaridade

- () 1º grau
 () 2º grau
 () 3º grau
 () outro _____

5. Gosta de biscoito: () Sim () Não

6. Gosta do sabor soja: () Sim () Não

7. Gosta do sabor aveia: () Sim () Não

8- Frequência de Consumo de Biscoito:

- () Nunca
 () Ocasionalmente - _____ vezes por ano
 () Moderadamente - _____ vezes por mês
 () Frequentemente - _____ vezes por semana

Produtos de panificação que costuma consumir _____

9- Experiência como provador:

Já participou de algum teste sensorial? () Não () Sim
 Aceitação ()
 Discriminativo ()
 Descritivo ()

APÊNDICE B - Carta de Consentimento**CARTA DE CONSENTIMENTO**

Eu, _____,
R.G. _____, aceito participar do Projeto Biscoito na
qualidade de provador do produto. Estou informado que serão avaliados
biscoitos de soja e aveia.

Entendo que, ao participar, estarei colaborando no desenvolvimento de
uma Tese de Doutorado, e, portanto, no treinamento e formação de um
profissional.

Londrina, de _____ de 2006.

Assinatura do Provador

APÊNDICE C - Ficha de Atributos

NOME:	_____		AMOSTRA:	_____
<p>Prove cada amostra avaliando os atributos de aparência, aroma, sabor e textura marque nas escalas abaixo.</p>				
APARÊNCIA				
		pouco		muito
Cor	---	-----	-----	---
		menos		mais
Porosidade	---	-----	-----	---
		nenhum		muitos
Pontos escuros	-----	-----	-----	---
AROMA				
		pouco		muito
Salgado	---	-----	-----	---
		pouco intenso		mais intenso
Desagradável	---	-----	-----	---
SABOR				
		menos intenso		mais intenso
Aveia	---	-----	-----	---
		pouco intenso		mais intenso
Doce	---	-----	-----	---
		nenhum		intenso
Amido cru	-----	-----	-----	---
TEXTURA				
		menos		mais
Dureza	---	-----	-----	---
		menos		mais
Esfarelenta	---	-----	-----	---
Comentários:	_____			

APÊNDICE D - Ficha de Aceitação

NOME: _____ DATA: ____/____/____

Você está recebendo uma amostra de biscoito contendo ingredientes a base de soja e aveia. Por favor, avalie a aparência, prove e use a escala abaixo para indicar o quanto você gostou ou desgostou.

Amostra _____

9- gostei muitíssimo

8-

7-

6-

5- nem gostei/nem desgostei

4-

3-

2-

1- desgostei muitíssimo

Cite o que você **mais gostou** na amostra: _____Cite o que você **menos gostou** na amostra: _____

APÊNDICE E - Gráficos Preditos

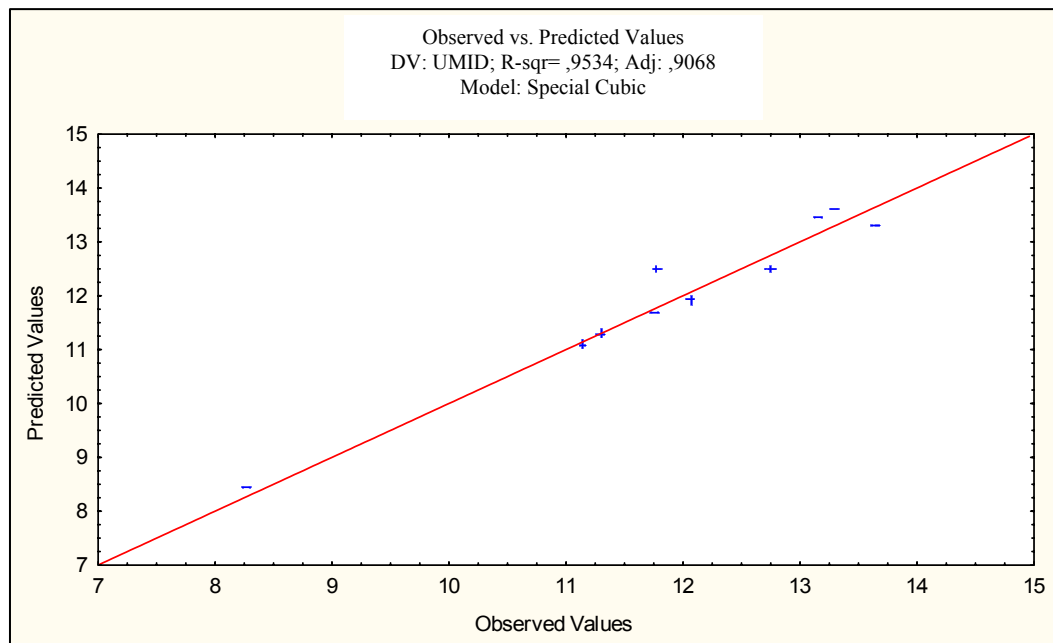


Figura 1 – Umidade dos biscoitos em função dos valores observados e valores preditos.

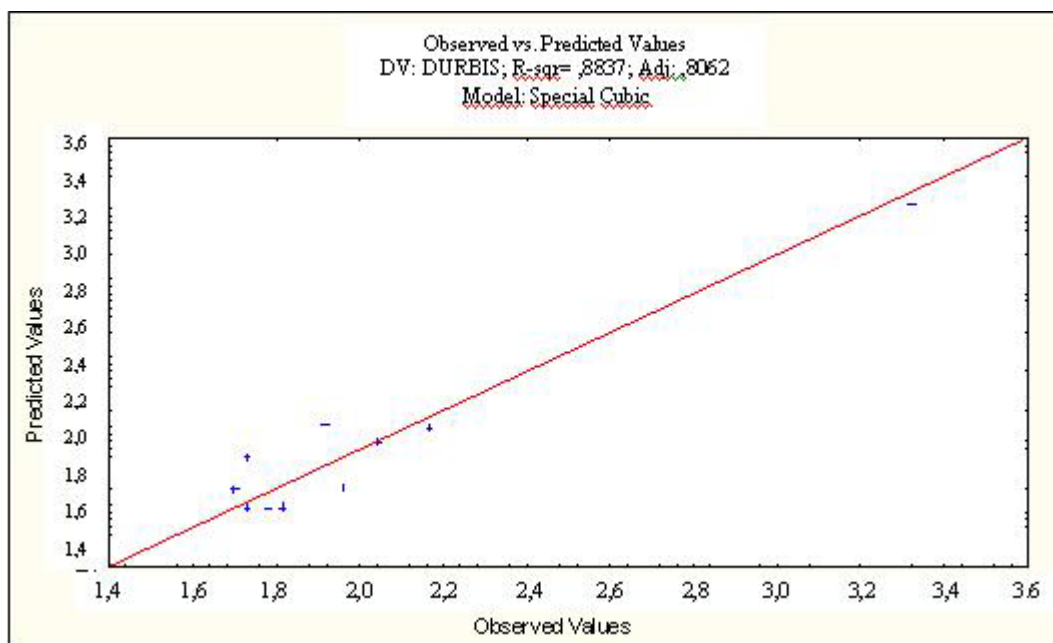


Figura 2 – Dureza dos biscoitos em função dos valores observados e valores preditos.

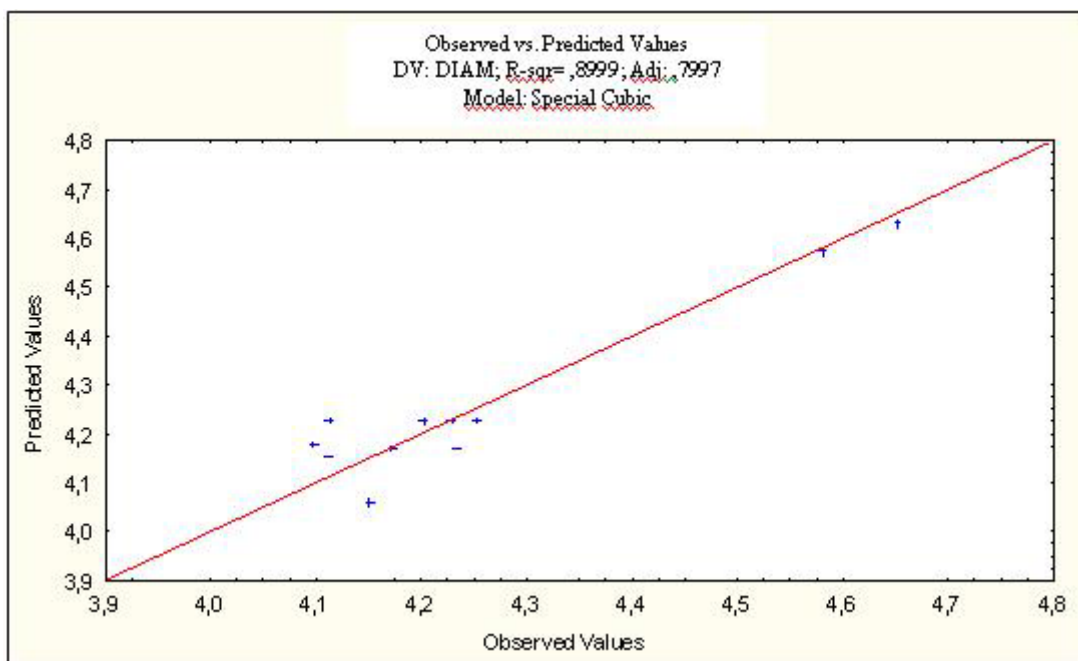


Figura 3 – Diâmetro dos biscoitos em função dos valores observados e valores preditos.

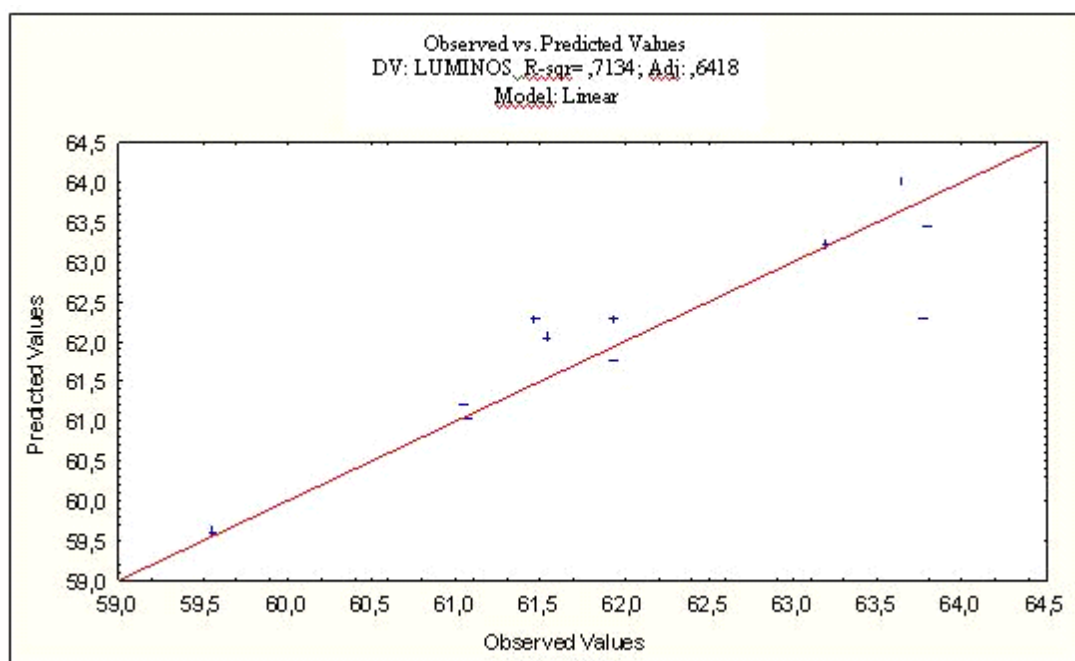


Figura 4 – Luminosidade (L^*) dos biscoitos em função dos valores observados e valores preditos.

APÊNDICE F - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO****PROJETO DE PESQUISA: Farinha de soja e farelo de aveia como ingredientes funcionais em biscoitos (Projeto “BISCOITOS”).**

Responsável pelo projeto: Mirian Cristina Maretti

Eu, _____
RG _____, declaro que em ____/____/____, concordei em participar como voluntário (a) no grupo de estudo do projeto acima nomeado.

O responsável pelo projeto explicou-me o seguinte:

1. O estudo implica em colher amostras de sangue para análises bioquímicas.
2. A minha participação neste estudo é voluntária, tendo a liberdade para recusar ou retirar meu consentimento a qualquer momento.
3. O sigilo da minha participação, assim como todas as informações obtidas serão preservadas.
4. Ao longo da pesquisa, que será realizada no período de 28 dias, deverei ingerir o biscoito com soja e aveia ou o placebo (biscoito de fubá). A escolha para um ou outro produto será realizada de forma aleatória pela orientadora da pesquisa e, após o fornecimento, a ingestão dos mesmos deverá ser diária.

O contato com a pesquisadora Mirian Cristina Maretti poderá ser realizado pelos telefones (43) 3324-4519; 9955-1589 ou pelo e-mail micrisma@hotmail.com

Londrina, _____ de _____ de 2007.

Assinatura do Voluntário (a)

Assinatura da Pesquisadora Responsável

APÊNDICE G - Questionário Inicial

QUESTIONÁRIO INICIAL PARA VOLUNTÁRIOS DO ESTUDO CLÍNICO REFERENTE AO PROJETO DE PESQUISA: FARINHA DE SOJA E FARELO DE AVEIA COMO INGREDIENTES FUNCIONAIS EM BISCOITOS (PROJETO “BISCOITOS”) DOUTORANDA: MIRIAN CRISTINA MARETTI – UEL/CCA/DCTA

Este questionário é direcionado aos voluntários do Projeto “Biscoitos” e contém 19 questões referentes a hábitos alimentares e pessoais e condições de saúde.

Ressaltamos que estas informações são sigilosas, ou seja, somente os pesquisadores responsáveis pelo desenvolvimento desta pesquisa terão acesso a elas, ficando totalmente inacessíveis a pessoas alheias à pesquisa, por questões éticas. Desta forma, solicitamos que todas estas informações sejam repassadas de forma transparente.

I IDENTIFICAÇÃO

Nome:			
Idade:	Data de Nascimento:/...../.....	Sexo: ()M ()F	Estado Civil:
Endereço:		Nº:	Apto:
Bairro:	CEP:	Cidade:	
Fone Residencial:		Celular:	
E-mail:			
Profissão			

II ESCOLARIDADE

- | | |
|--|--|
| <input type="checkbox"/> Ensino Fundamental Incompleto | <input type="checkbox"/> Ensino Fundamental Completo |
| <input type="checkbox"/> Ensino Médio Incompleto | <input type="checkbox"/> Ensino Médio Completo |
| <input type="checkbox"/> Ensino Superior Incompleto | <input type="checkbox"/> Ensino Superior Completo |
| <input type="checkbox"/> Especialização | <input type="checkbox"/> Mestrado () Doutorado |

III CONSUMO DE ALIMENTOS ESPECÍFICOS

1. Alimentos fritos

- Não consome
 Consumo diário (5 a 6 vezes ou mais por semana)
 Consumo semanal (3 vezes ou menos por semana)
 Consumo esporádico (1 vez ao mês)

2. Tipos de óleo/gordura/azeite que consome diariamente

- Óleo de soja
 Óleo de milho
 Óleo de girassol
 Gordura animal (banha de porco)
 Manteiga
 Gordura vegetal (margarina)

Outro (s):

3. Alimentos 'Light' (alimentos com teor reduzido de gordura)

- Não consome
 Consumo diário (5 a 6 vezes ou mais por semana)
 Consumo semanal (3 vezes ou menos por semana)
 Consumo esporádico (1 vez ao mês)

4. Leite

- Não consome
 Consumo diário (5 a 6 vezes ou mais por semana)
 Consumo semanal (3 vezes ou menos por semana)
 Consumo esporádico (1 vez ao mês)

Tipo(s) de leite que consome:

- Integral Semi-desnatado Desnatado

5. Biscoitos/bolachas

- Não consome
 Consumo diário (5 a 6 vezes ou mais por semana)
 Consumo semanal (3 vezes ou menos por semana)
 Consumo esporádico (1 vez ao mês)

Tipos de biscoito/bolacha que consome:

- Integral Cookie Água e Sal Cream cracker
 Maizena Recheada Wafer "Caseira"

Outros:.....

6. Frutas

- Não consome
 Consumo diário (5 a 6 vezes ou mais por semana)
 Consumo semanal (3 vezes ou menos por semana)
 Consumo esporádico (1 vez ao mês)

7. Verduras / Legumes

- Não consome
 Consumo diário (5 a 6 vezes ou mais por semana)
 Consumo semanal (3 vezes ou menos por semana)
 Consumo esporádico (1 vez ao mês)

8. Alimentos de ou com Soja (Exceto óleo de soja)

- Não consome
 Consumo diário (5 a 6 vezes ou mais por semana)
 Consumo semanal (3 vezes ou menos por semana)
 Consumo esporádico (1 vez ao mês)

Formas de consumo:

- Farelos, farinhas, grãos
 Alimentos preparados ("leite" de soja, pães, biscoitos, iogurtes, sucos, proteína texturizada de soja (PTS), tofu, natô, missô, etc...)

9. Alimentos de ou com Aveia

- Não consome
 Consumo diário (5 a 6 vezes ou mais por semana)
 Consumo semanal (3 vezes ou menos por semana)
 Consumo esporádico (1 vez ao mês)

Formas de consumo:

- () Farelo, farinha, flocos
 () Alimentos preparados (pães, biscoitos, barras de cereais, etc..)

10. A respeito de “Alimentos Funcionais”, você:

- () Desconhece, não sabe do que se trata.
 () Conhece e consome com frequência.
 () Conhece e consome pouco.
 () Conhece, porém não consome.

IV HÁBITOS PESSOAIS

11. Pratica Atividade Física?*

- () Sim () Não

*Obs.: Considera-se atividade física, os exercícios extras que são praticados de forma regular e que não fazem parte da atividade diária, com tempo de duração mínimo de 30 minutos e a frequência igual ou superior a duas vezes por semana.

12. Com relação ao Tabagismo, você:

- () Nunca fumou
 () Ex-fumante (fumou mas não fuma atualmente)
 Há quanto tempo deixou de fumar:.....
 () Fumante (fuma atualmente)
 Quantidade diária de cigarro:.....

13. Bebida Alcoólica*

- () Não consome
 () Consumo diário (5 a 6 vezes ou mais por semana)
 () Consumo semanal (3 vezes ou menos por semana)
 () Consumo esporádico (1 vez ao mês)

*Obs: Independentemente do tipo de bebida e da quantidade de consumo.

V CONDIÇÕES DE SAÚDE

14. Você é hipertenso? (Tem pressão alta)

- () Sim () Não () Não sei

Se for hipertenso, faz uso de medicação para hipertensão?

- () Sim () Não

15. Você tem o hábito de aferir a pressão arterial?

- (....) sim (....) não

Se tem, com que frequência?

- (....) semanalmente (....) quinzenalmente
 (....) mensalmente (....) esporadicamente

16. Realiza exames laboratoriais periódicos?

() Sim () Não
Nº de vezes: () 1 vez/ano () 2 vezes/ano () 1 vez a cada 2 anos (bianaual)
Quais exames:

17. Com relação a doenças cardiovasculares (DCV) citadas abaixo, indique em qual(is) membro(s) da sua família elas ocorrem:

DCV: Coronariopatias em tratamento, história de infarto, angioplastia e revascularização cirúrgica.

Membro da família: (....) pai (....) mãe (....) irmão/irmã

18. Função Gástrica

() normal
Alguma alteração:.....

19. Função Intestinal

() normal
Alguma alteração:.....

Consistência das fezes:

() normais () ressecadas () amolecidas

APÊNDICE H - Questionário Final

QUESTIONÁRIO FINAL PARA VOLUNTÁRIOS DO ESTUDO CLÍNICO REFERENTE AO PROJETO DE PESQUISA: FARINHA DE SOJA E FARELO DE AVEIA COMO INGREDIENTES FUNCIONAIS EM BISCOITOS (PROJETO “BISCOITOS”) DOUTORANDA: MIRIAN CRISTINA MARETTI – UEL/CCA/DCTA

Este questionário é direcionado aos voluntários do Projeto “Biscoitos” e contém 8 questões referentes à realização do estudo clínico.

Estas informações são sigilosas e somente os pesquisadores responsáveis pelo desenvolvimento da pesquisa, terão acesso a elas, ficando totalmente inacessíveis a pessoas alheias, por questões éticas. Desta forma, solicitamos que todas estas informações sejam repassadas de forma transparente.

Nome: _____

1. Você sentiu alguma mudança em sua alimentação normal a partir do consumo dos biscoitos? () Sim () Não
Qual (is)?.....

2. Alguma mudança no consumo de água e/ou outros líquidos a partir do consumo dos biscoitos? () Sim () Não
Qual (is)?.....

3. Após a entrega do exame de sangue ou após o início do consumo dos biscoitos, houve alguma mudança com relação a pratica de atividade física? () Sim () Não
Qual (is)?.....

4. A partir do consumo dos biscoitos, como se comportou sua função gástrica?
(.....) Normal (não houve alteração) (.....) houve alteração
Se houve alteração, o que ocorreu?.....

5. A partir do consumo dos biscoitos, como se comportou sua função intestinal?
(.....) Normal (não houve alteração) (.....) houve alteração
Se houve alteração, o que ocorreu?

Consistência das fezes:
() normais () ressecadas () amolecidas

6. Durante o estudo, você deixou de consumir algum pacote do produto?
(.....) sim (.....) não Quantos?_____

7. Se o biscoito que você consumiu estivesse à venda, você o compraria?
(.....) Sim (.....) Não
Motivo:

8. Se desejar, esteja a vontade para fazer sugestões, comentários e/ou críticas que julgar pertinentes. (Favor usar o verso da folha se necessário)
.....

**“PREZADO (A) VOLUNTÁRIO (A): MUITO OBRIGADA POR SUA VALIOSA COLABORAÇÃO!
VOCÊ CONTRIBUIU COM A PESQUISA CIENTÍFICA!”**

APÊNDICE I - Informações sobre a 1º etapa de entrega de biscoitos aos voluntários

PREZADO(A) VOLUNTÁRIO(A) DO PROJETO “BISCOITOS” Solicitamos sua atenção para os seguintes pontos:

1. Você está recebendo nesta 1º etapa, 10 (dez) pacotes de biscoitos para serem consumidos 1 (um) a cada dia, a começar no dia **16/07 (segunda-feira) com término dia 25/07/07 (quarta-feira)**.

2. Os sabores dos biscoitos correspondem aos seguintes códigos:

B- Banana; BN- Baunilha; CN- Canela; C- Côco; M- Maçã

3. O consumo do produto poderá ser feito ao longo do dia, sem horários pré-determinados. Sugerimos, inclusive, que o mesmo seja incorporado ao café da manhã, em substituição a pães e biscoitos já consumidos como de costume, ou ainda, que seja utilizado como lanche da tarde. Não importa o horário de consumo. O importante é que todo o conteúdo de 1 (um) pacote seja ingerido diariamente.

4. Para o bom êxito desta pesquisa, ressaltamos que somente o VOLUNTÁRIO(A) é quem deverá ingerir o produto fornecido.

5. Lembramos que os 2 (dois) grupos que estão sendo analisados (Grupo Teste e Grupo Controle) tem igual significância para este estudo, uma vez que estamos cientes de que poderemos obter resultados totalmente inesperados, já que estamos desenvolvendo um estudo. Portanto, é imprescindível que todos(as) os(as) voluntários(as) estejam cientes de sua importância nesta pesquisa científica.

6. O contato com a pesquisadora Mirian Cristina Maretti poderá ser realizado pelos telefones (43) 3324-4519; 9955-1589 ou pelo e-mail micrisma@hotmail.com

Muito obrigada pela colaboração!

Mirian Cristina Maretti
Doutoranda em Ciência de Alimentos
Universidade Estadual de Londrina

APÊNDICE J - Informações sobre a 2º etapa de entrega de biscoitos aos voluntários

PREZADO(A) VOLUNTÁRIO(A) DO PROJETO “BISCOITOS”

Solicitamos sua atenção para os seguintes pontos:

1. Você está recebendo nesta 2º etapa, 9 (nove) pacotes de biscoitos para serem consumidos 1 (um) a cada dia, a começar no dia **26/07 (quinta-feira) com término dia 03/08/07 (sexta-feira).**

2. Os sabores dos biscoitos correspondem aos seguintes códigos:

B- Banana; BN- Baunilha; CN- Canela; C- Côco; M- Maçã

3. O princípio ativo do produto consumido anteriormente permanece o mesmo.

4. Para o bom êxito desta pesquisa, ressaltamos que somente o VOLUNTÁRIO(A) é quem deverá ingerir o produto fornecido.

5. O contato com a pesquisadora Mirian Cristina Maretti poderá ser realizado pelos telefones (43) 3324-4519; 9955-1589 ou pelo e-mail micrisma@hotmail.com

Muito obrigada pela colaboração!

Mirian Cristina Maretti
Doutoranda em Ciência de Alimentos
Universidade Estadual de Londrina

APÊNDICE K - Informações sobre a 3º etapa de entrega de biscoitos aos voluntários

PREZADO(A) VOLUNTÁRIO(A) DO PROJETO “BISCOITOS”

Solicitamos sua atenção para os seguintes pontos:

1. Você está recebendo nesta 3º (e última) etapa, 9 (nove) pacotes de biscoitos para serem consumidos 1 (um) a cada dia, a começar no dia **04/08 (sábado) com término dia 12/08/07 (domingo)**.

2. Os sabores dos biscoitos correspondem aos seguintes códigos:

B- Banana; BN- Baunilha; CN- Canela; C- Côco; M- Maçã

3. O princípio ativo do produto consumido anteriormente permanece o mesmo.

4. Para o bom êxito desta pesquisa, ressaltamos que somente o VOLUNTÁRIO(A) é quem deverá ingerir o produto fornecido.

5. Estamos agendando a data da coleta de sangue para o último exame de colesterol. Para os(as) voluntários(as) da UEL, a coleta será realizada no Hospital das Clínicas (HC), no Setor de Coleta de Sangue (o mesmo setor onde foi realizada a 1º coleta). Para os(as) voluntários(as) do IAPAR, a coleta será realizada no Ambulatório do IAPAR.

É imprescindível o comparecimento em **jejum de no mínimo 8 horas**.

A data de sua coleta está agendada para o dia:

_____/_____/_____

6. O contato com a pesquisadora Mirian Cristina Maretti poderá ser realizado pelos telefones (43) 3324-4519; 9955-1589 ou pelo e-mail micrisma@hotmail.com

Muito obrigada pela colaboração!
Mirian Cristina Maretti
Doutoranda em Ciência de Alimentos
Universidade Estadual de Londrina