



UNIVERSIDADE  
ESTADUAL DE LONDRINA

---

TAHIS REGINA BAÚ

**DESENVOLVIMENTO, CARACTERIZAÇÃO E  
ESTABILIDADE DE PRODUTO DE SOJA FERMENTADO  
COM CULTURA DE KEFIR E ADIÇÃO DE FIBRAS**

---

Londrina  
2012

TAHIS REGINA BAÚ

**DESENVOLVIMENTO, CARACTERIZAÇÃO E  
ESTABILIDADE DE PRODUTO DE SOJA FERMENTADO  
COM CULTURA DE KEFIR E ADIÇÃO DE FIBRAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, nível Mestrado, da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência de Alimentos

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dra. Elza Louko Ida  
Co-orientadora: Prof<sup>a</sup> Dra. Sandra Garcia

Londrina  
2012

**Catálogo elaborado pela Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central da  
Universidade Estadual de Londrina**

**Dados Internacionais de Catalogação -na-Publicação (CIP)**

B337d Baú, Tahis Regina.  
Desenvolvimento, caracterização e estabilidade de produto de soja fermentado com cultura de kefir e adição de fibras / Tahis Regina Baú. – Londrina, 2012.  
126 f. : il.

Orientador: Elza Iouko Ida.  
Co-orientador: Sandra Garcia  
Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, 2012.  
Inclui bibliografia.

1. Alimentos – Avaliação sensorial – Teses. 2. Probióticos – Teses. 3. Soja – Teses. 4. Fibras – Análise – Teses. 5. Grãos de Kefir – Teses. 6. Tecnologia de alimentos – Teses. I. Ida, Elza Iouko. II. Garcia, Sandra. III. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos. III. Título.

CDU 664:6/.7

TAHIS REGINA BAÚ

**DESENVOLVIMENTO, CARACTERIZAÇÃO E ESTABILIDADE DE  
PRODUTO DE SOJA FERMENTADO COM CULTURA DE KEFIR E  
ADIÇÃO DE FIBRAS**

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof<sup>â</sup> Dr<sup>â</sup> Elza louko Ida  
UEL - Londrina - PR

---

Prof<sup>â</sup> Dr<sup>â</sup> Alessandra Machado Lunkes  
UTFPR - Francisco Beltrão - PR

---

Prof<sup>â</sup> Dr<sup>â</sup> Sandra Helena Prudencio  
UEL - Londrina - PR

Londrina, 27 de fevereiro de 2012.

*Aos meus pais, Claudete e Sérgio, que não mediram  
esforços para garantir a educação de seus filhos.  
Aos meus irmãos, Luciana, Denise e Sérgio Júnior, pelo  
incentivo e auxílio nos momentos difíceis.  
Ao meu esposo Lucas, pelo carinho, compreensão e  
paciência.*

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus pela fé e força para suportar os momentos difíceis e por não me deixar desistir dos meus sonhos.

À Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Elza Louko Ida, pela orientação, compreensão, incentivo e valiosos ensinamentos.

À Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Sandra Garcia, pela co-orientação, colaboração, auxílio e amizade.

Ao Programa de Pós-graduação em Ciência de Alimentos da Universidade Estadual de Londrina pela oportunidade de realização do mestrado.

Aos Professores do Programa de Pós-graduação em Ciência de Alimentos, pelos ensinamentos.

Aos funcionários do departamento pela ajuda dispensada.

À UTFPR – Universidade Tecnológica Federal do Paraná pela concessão de afastamento integral para realização da pós-graduação.

Ao CNPq - Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, pela concessão da bolsa de mestrado.

À Cooperativa Sementes Paraná, pela doação da cultivar de soja.

À empresa Clerici-Sacco®, pela doação da cultura starter de kefir.

Aos colegas e estagiários do Programa de Pós-graduação em Ciência de Alimentos, especialmente Angélica Ishikawa, Cleusa Weber, Danielle Honorato, Denis Marchi, Érika Kushikawa Saeki, Igor Fernando Escanfelli, Gislaine Simões, Marcela Lika Kobayashi, Maria Rita Porto, Neide Kamikaze e Raissa Curti Bonfante pela amizade e pelos momentos de descontração.

Às amigas Marines Paula Corso e Marianne Ayumi Shirai, por toda ajuda prestada, companheirismo e principalmente pelo carinho e grandiosa amizade.

Aos meus queridos pais, Claudete e Sérgio, por todo incentivo, apoio, amor, dedicação e esforços para minha formação profissional.

Aos meus irmãos Luciana, Denise e Sérgio Júnior e ao meu esposo Lucas, pelo incentivo e carinho dedicado

A todos aqueles que não foram citados aqui, mas que colaboraram e torceram para que mais uma etapa da minha vida fosse vencida.

*De tudo ficaram três coisas:  
A certeza de que estamos sempre começando ...  
A certeza de que é preciso continuar ...  
A certeza de que seremos interrompidos antes de terminar ...*

*Portanto, devemos:  
Fazer da interrupção ... um caminho novo  
Da queda ... um passo de dança  
Do medo ... uma escada  
Do sonho ... uma ponte  
Da procura ... um encontro  
**(Fernando Sabino)***

BAÚ, T.R. **Desenvolvimento, caracterização e estabilidade de produto de soja fermentado com cultura de kefir e adição de fibras**. 2012. 126 p. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual de Londrina. Londrina, 2012.

## RESUMO

A adição de fibras em produtos fermentados, além de exercer efeitos benéficos ao nosso organismo, pode alterar as características físicas, químicas, microbiológicas e a estabilidade do produto armazenado. O objetivo deste trabalho foi otimizar a formulação de produtos fermentados de soja com cultura de kefir e adição de fibras de soja, aveia e trigo, bem como caracterizar o produto otimizado e avaliar a sua estabilidade por 28 dias a 4°C. Para otimização foi aplicado o planejamento de misturas simplex-centróide e avaliada as funções respostas de acidez, viscosidade, sinerese, firmeza e contagem de *Lactococcus lactis*. O produto otimizado foi caracterizado quanto a composição química, cor, aceitação sensorial e estabilidade por meio de medidas de pH, acidez, viscosidade, firmeza, sinerese e contagens dos micro-organismos da cultura de kefir. A partir dos modelos matemáticos, superfície de resposta e desejabilidade foi obtido um produto fermentado ótimo e formulado com 3% de fibra de soja. Este produto apresentou composição química e cor distintas em relação ao produto fermentado sem adição de fibras. Os atributos de cor, aroma, textura, sabor e aceitação global apresentaram maior aceitação para o produto fermentado sem adição de fibras. A firmeza e sinerese foram adequadas no produto armazenado por 28 dias a 4°C, porém com aumento da viscosidade. O crescimento das bactérias lácticas foi favorecido e, pela contagem de *Lactococcus lactis*, este produto fermentado com adição de 3% de fibras de soja pode ser considerado um probiótico.

**Palavras-chave:** Fibras. Kefir. Produto de soja fermentado. Otimização de formulação. Armazenamento. Probiótico.

BAÚ, T.R. **Development, characterization and stability of fermented soy product with culture kefir and fiber.** 2012. 126 p. Dissertation (Master's Degree in Food Science) – Londrina State University. Londrina, 2012.

## ABSTRACT

The fiber addition in fermented products, have beneficial effects to our human organism and , can change the physical, chemical, microbiological and stability of the stored product. The objective of this study was to optimize the formulation of soy fermented products with kefir and addition of soy, oats and wheat fibers, as well as to characterize the optimized product and assess its stability for 28 days at 4 °C. Was applied to optimize the simplex-centroid mixtures design and assessed the response functions of acidity, viscosity, syneresis, firmness and count of *Lactococcus lactis*. The product was characterized and optimized chemical composition, color, sensory acceptance and stability through measures pH, acidity, viscosity, firmness, syneresis and count of kefir micro-organisms. From the mathematical models, response surface and desirability of a fermented product obtained was great and made with 3% soy fiber. This product presented chemical composition and color distinct in relation to the fermented product without fiber addition. The color, aroma, texture, flavor and overall acceptability attributes showed higher acceptance for the product fermented without added fibers. The firmness and syneresis were adequate in the product stored for 28 days at 4 °C, but with increase in viscosity. The growth of lactic bacteria was favored and, by count the *Lactococcus lactis*, this fermented product with 3% of soy fibers can be considered a probiotic.

**Keywords:** Fibers. Kefir culture. Soy fermented product. Formulation optimization. Storage. Probiotic.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1</b> - Planejamento experimental de misturas do tipo simplex-centróide.....	36
<b>Figura 2</b> - Obtenção do extrato hidrossolúvel de soja .....	42
<b>Figura 3</b> - Desenvolvimento dos produtos fermentados de soja.....	43
<b>ARTIGO A:</b> OTIMIZAÇÃO DA FORMULAÇÃO DE PRODUTOS FERMENTADOS DE SOJA COM KEFIR E FIBRAS APLICANDO O PLANEJAMENTO DE MISTURAS SIMPLEX-CENTRÓIDE.....	71
<b>Figura 1</b> - Planejamento experimental de misturas do tipo simplex-centróide.....	87
<b>Figura 2</b> - Superfície de resposta para $y_1$ =acidez (g de ácido láctico.100g <sup>-1</sup> de amostra) <b>(a)</b> , $y_2$ =viscosidade ( <i>centipoise</i> ) <b>(b)</b> , $y_3$ =sinerese (mL de exsudato.100g <sup>-1</sup> ) <b>(c)</b> , $y_4$ =firmeza (N) <b>(d)</b> e $y_5$ =contagem de <i>Lactococcus lactis</i> (log UFC.g <sup>-1</sup> ) <b>(e)</b> para misturas contendo fibra de soja, fibra de aveia e trigo .....	88
<b>Figura 3</b> - Proporções ótimas para a acidez ( $y_1$ ), viscosidade ( $y_2$ ), sinerese ( $y_3$ ), firmeza ( $y_4$ ), e contagem de <i>Lactococcus lactis</i> ( $y_5$ ) utilizando o parâmetro de desejabilidade .....	89

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Micro-organismos com propriedades probióticas .....	32
<b>Tabela 2</b> - Ingredientes para formulação dos produtos fermentados de soja.....	42
<b>Tabela 3</b> - Planejamento experimental simplex-centróide para desenvolvimento de produtos fermentados de soja com cultura de kefir contendo diferentes fontes de fibras .....	44
<b>ARTIGO A:</b> OTIMIZAÇÃO DA FORMULAÇÃO DE PRODUTOS FERMENTADOS DE SOJA COM KEFIR E FIBRAS APLICANDO O PLANEJAMENTO DE MISTURAS SIMPLEX-CENTRÓIDE.....	71
<b>Tabela 1</b> - Composição química das fibras de soja, aveia e trigo .....	85
<b>Tabela 2</b> - Características funcionais das fibras de soja, aveia e trigo .....	85
<b>Tabela 3</b> - Parâmetros de cor das fibras de soja, aveia e trigo .....	85
<b>Tabela 4</b> - Planejamento experimental simplex-centróide e respectivas respostas para acidez, viscosidade, sinerese, firmeza e contagem de <i>Lactococcus lactis</i> .....	86
<b>Tabela 5</b> - Coeficientes de regressão e análise de variância dos modelos matemáticos ajustados às variáveis resposta .....	86
<b>ARTIGO B:</b> CARACTERIZAÇÃO E ESTABILIDADE DE PRODUTO DE SOJA FERMENTADO COM KEFIR E FIBRA DE SOJA .....	90
<b>Tabela 1</b> - Composição química dos produtos fermentados de soja com kefir e adição de 3% de fibra de soja .....	104
<b>Tabela 2</b> - Parâmetros de cor e análise sensorial dos produtos fermentados de soja com kefir .....	104
<b>Tabela 3</b> - Valores de pH e acidez dos produtos fermentados de soja com kefir durante o armazenamento a 4°C.....	105
<b>Tabela 4</b> - Valores de viscosidade, firmeza e sinerese dos produtos fermentados de soja com kefir durante o armazenamento a 4°C .....	106
<b>Tabela 5</b> - Contagens de bactérias lácticas, <i>Lactococcus lactis</i> , <i>Leuconostoc</i> sp e leveduras dos produtos fermentados de soja com kefir durante o armazenamento a 4°C.....	107

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	13
<b>2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	15
2.1 CARACTERÍSTICAS GERAIS DA SOJA.....	15
2.2 COMPOSTOS BIOATIVOS DA SOJA .....	17
2.3 <i>BEANY FLAVOR</i> E FATORES ANTINUTRICIONAIS .....	18
2.4 EXTRATO HIDROSSOLÚVEL DE SOJA.....	20
2.5 OKARA.....	21
2.6 ALIMENTOS FUNCIONAIS.....	21
2.7 FIBRA ALIMENTAR .....	22
2.7.1 Fibra de Soja.....	24
2.7.2 Fibra de Aveia .....	24
2.7.3 Fibra de Trigo .....	25
2.7.4 Componentes da Fibra de Soja, Aveia e Trigo.....	25
2.7.5 Propriedades Tecnológicas das Fibras em Produtos Fermentados.....	26
2.8 PREBIÓTICOS.....	28
2.9 PROBIÓTICOS .....	29
2.9.1 Kefir.....	31
2.9.1.1 <i>Lactococcus lactis</i> .....	33
2.10 SIMBIÓTICOS .....	34
2.11 PLANEJAMENTO DE MISTURAS SIMPLEX-CENTRÓIDE.....	34
2.11.1 Otimização Multi-resposta ou Desejabilidade.....	36
<b>3 OBJETIVOS</b> .....	38
3.1 OBJETIVO GERAL.....	38
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	38

<b>4 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	39
4.1 MATÉRIA-PRIMA E INGREDIENTES .....	39
4.2 CARACTERIZAÇÃO DAS FIBRAS DE SOJA, AVEIA E TRIGO.....	39
4.2.1 Composição Química.....	39
4.2.2 Determinação das Propriedades Funcionais.....	39
4.2.2.1 Capacidade de adsorção de água.....	40
4.2.2.2 Capacidade de absorção de água.....	40
4.2.2.3 Capacidade de absorção de óleo.....	40
4.2.2.4 Volume de intumescimento .....	40
4.2.2.5 Determinação da cor.....	41
4.3 DESENVOLVIMENTO DOS PRODUTOS FERMENTADOS .....	41
4.3.1 Preparo do Inóculo .....	41
4.3.2 obtenção do Extrato Hidrossolúvel de Soja .....	41
4.3.3 Formulação dos Produtos Fermentados de Soja .....	42
4.3.4 Desenvolvimento dos Produtos Fermentados de Soja .....	43
4.4 EFEITO DA ADIÇÃO DE FIBRAS DE SOJA, AVEIA E TRIGO NAS CARACTERÍSTICAS DO PRODUTO DE SOJA FERMENTADO COM KEFIR.....	44
4.4.1 Procedimentos Analíticos .....	45
4.4.1.1 Acidez.....	45
4.4.1.2 Viscosidade .....	45
4.4.1.3 Firmeza .....	46
4.4.1.4 Sinerese .....	46
4.4.1.5 Contagem de <i>Lactococcus</i> spp .....	46
4.4.5 Composição Química.....	46
4.4.6 Análise das Condições Higiênico-sanitárias .....	47
4.4.7 Análise Sensorial.....	47
4.5 AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE NO ARMAZENAMENTO DOS PRODUTOS FERMENTADO DE SOJA COM KEFIR .....	48
4.5.1 Determinações Físicas e Químicas .....	48

4.5.2 Determinação da Viabilidade Celular das Culturas de Kefir nos Produtos Fermentados .....	48
4.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	49
<b>REFERENCIAS .....</b>	<b>51</b>
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>70</b>
5.1 ARTIGO A: OTIMIZAÇÃO DA FORMULAÇÃO DE PRODUTOS FERMENTADOS DE SOJA COM KEFIR E FIBRAS APLICANDO O PLANEJAMENTO DE MISTURAS SIMPLEX-CENTRÓIDE .....	71
5.2 ARTIGO B: CARACTERIZAÇÃO E ESTABILIDADE DE PRODUTO DE SOJA FERMENTADO COM KEFIR E FIBRA DE SOJA .....	90
<b>6 CONCLUSÕES .....</b>	<b>108</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>109</b>
<b>ANEXO 1-</b> Termo de Aprovação do Projeto no Comitê de Ética .....	110
<b>ANEXO 2-</b> Coleta de dados do provador .....	111
<b>ANEXO 3-</b> Termo de Consentimento Livre e Esclarecido .....	112
<b>ANEXO 4-</b> Ficha para Avaliação Sensorial: Teste de Aceitação .....	114
<b>ANEXO 5-</b> Resumos apresentados em Congressos.....	115

## 1 INTRODUÇÃO

O termo “alimentos funcionais” foi inicialmente definido no Japão, em meados da década de 80, como alimentos semelhantes em aparência aos alimentos convencionais, usados como parte de uma dieta normal, demonstrando benefícios fisiológicos e/ou reduzindo o risco de doenças crônicas. O consumo regular de alimentos funcionais pode reduzir as chances de ocorrência de certos tipos de câncer, doenças do coração, osteoporose, problemas intestinais e muitos outros problemas de saúde (BRANDÃO, 2002; LAJOLO, 2005).

O mercado dos produtos saudáveis vem aumentando ao longo dos anos, sendo desenvolvidos novos ingredientes e produtos com apelo de reduzir problemas de saúde e proporcionar uma vida mais saudável (MOIRA, 2003).

A soja e seus derivados contêm componentes que são benéficos à saúde humana e com grande potencial de aplicação na indústria alimentícia. O extrato hidrossolúvel de soja tem qualidades que permitem selecioná-lo como alternativa para obter bebidas fermentadas com probiótico. Pela sua semelhança com o leite animal na composição e no comportamento físico-químico, é visto como uma alternativa de consumo para indivíduos que apresentam alergias e/ou distúrbios alimentares pela ingestão de leite, dada a presença de lactose e colesterol. Além disso, contêm os oligossacarídeos rafinose e estaquiase, que são considerados como prebióticos por estimular o crescimento de probióticos (HOU,YU e CHOU, 2000; RIVERA-ESPINOZA e GALLARDO-NAVARRO, 2010).

O extrato hidrossolúvel de soja tem sido usado como meio de cultura para o crescimento de bactérias ácido-lácticas e desenvolvimento de produtos fermentados. A fermentação láctica, pela produção de ácido láctico, acetaldeídos e diacetil, confere características sensoriais agradáveis que melhoram o sabor e a aceitabilidade do extrato de soja, além de reduzir os oligossacarídeos de baixa digestibilidade pelo humano (MORAIS e SILVA, 1996; KAMALY, 1997; HOU,YU e CHOU, 2000).

Os prebióticos e os probióticos são aditivos alimentares que compõem os alimentos funcionais (ZIEMER e GIBSON, 1998). Os probióticos são micro-organismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, afetam positivamente a saúde (FAO/WHO, 2001). Os prebióticos são componentes

alimentares não viáveis que conferem benefícios à saúde humana, associados à modulação de sua microbiota (FAO/ AGNS, 2007).

As fibras são componentes não hidrolisados pelas enzimas endógenas do trato digestivo humano (BRASIL, 2003a), sendo adicionadas aos produtos com o apelo de reduzir problemas de saúde, uma vez que estão associadas a redução do tempo de trânsito intestinal e diminuição de glicemia (SGARBIERI e PACHECO, 1999). Nos alimentos, a adição de fibras pode alterar as características dos produtos, como a textura, viscosidade, cor, sabor e aroma (IZYDORCZYK et al., 2008).

Diante dos efeitos potenciais e funcionais da soja, probióticos e fibras e da crescente exigência do consumidor por alimentos benéficos à saúde, este estudo tem como objetivo otimizar a formulação, caracterizar e avaliar a estabilidade de um produto de soja fermentado com cultura de kefir e fibras de soja, aveia e trigo.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 CARACTERÍSTICAS GERAIS DA SOJA

A soja é uma cultura nativa do norte e leste da Ásia, onde foi domesticada há mais de cinco mil anos e há séculos tem sido consumida como uma importante parte da dieta (LIU et al., 2008; MALHOTRA e COUPLAND, 2004). Amplamente utilizada no oriente, a planta foi introduzida na Europa apenas em 1712, onde seu cultivo foi sempre limitado. A soja foi introduzida na América no final do século XVIII, porém o seu cultivo em larga escala começou apenas por volta de 1920, nos Estados Unidos (LIU, 1997). No Brasil, o grande impulso na produção só ocorreu na década de 60 no Rio Grande do Sul, com o cultivo da soja em sucessão ao trigo (NETO, 2004).

A soja é mundialmente cultivada devido aos seus benefícios nutricionais (CHEN et al., 2010). Na safra de 2010/2011 a produção global foi de 263,7 milhões de toneladas. Os Estados Unidos são os maiores produtores, com 90,6 milhões de toneladas, seguidos do Brasil com 75,3 milhões (EMBRAPA, 2011). Segundo as previsões do Ministério da Agricultura para o agronegócio, as estimativas de produção brasileira para soja grão em 2020/2021 são de 86,5 milhões de toneladas (BRASIL, 2011).

O grão de soja é recoberto externamente pela casca, que representa cerca de 8% do peso do grão, contém 86% de carboidratos insolúveis e tem coloração que varia entre tons de amarelo, verde, marrom e preto. Apesar de ser subproduto da produção de óleo e concentrados protéicos, a casca tem valor como fibra alimentar e também como fonte de ferro na alimentação humana (LIU, 1997).

Em média, a soja é constituída de 40% de proteína, 35% de carboidratos, 20% de lipídios e 5% de cinzas (LIU, 1997). A composição química é variável, pois depende de fatores como o cultivar, a época de plantio, a localização e outros (LIU, 1997; POYSA e WOODROW, 2002).

A soja representa uma fonte protéica vegetal importante devido às propriedades funcionais e elevado valor nutritivo (LIU et al., 2007; MUJOO, TRINH e NG, 2003; RIBLETT et al., 2001), sendo rica em aminoácidos como leucina e lisina (CARRÃO-PANIZZI, 2000), mas limitada em aminoácidos contendo enxofre como metionina, cisteína e cistina (CARRÃO-PANIZZI, 2000; SNYDER e KWON, 1987). O PDCAAS (*Protein Digestibility Corrected Amino Acid Score*) é um método utilizado

pela Organização Mundial de Saúde (OMS) e pelo FDA (*Food and Drug Administration*) para estudar o valor biológico de proteínas e faz a correção da digestibilidade protéica levando-se em conta o escore de aminoácidos. Assim, o PDCAAS da proteína concentrada de soja é de 0,99 e indica que a soja supre a necessidade de aminoácidos, inclusive os sulfurados, desde que ingerida em quantidade adequada (FDA, 1991; MESSINA, 1999).

As principais frações protéicas da soja são as 2S, 7S, 11S e 15S conforme os coeficientes de sedimentação. A fração 2S representa 15% do total e é composta por proteínas biologicamente ativas, inibidores de tripsina e globulinas. A fração 7S representa 34% e é composta pelas enzimas  $\beta$ -amilase e lipoxigenase, hemaglutinina, citocromo C e pela globulina conhecida como  $\beta$ -conglucina. A fração 11S é representada principalmente por glicina, totalizando cerca de 41,9%. A glicina (11S) e  $\beta$ -conglucina (7S) são as duas principais proteínas de reserva da soja e representam 70% do total (LIU et al., 2007; MUJOO, TRINH e NG, 2003; RIBLETT et al., 2001). A fração 15S representa 9,1% do total e é um dímero da glicina (11S) ou pode ser formada pela associação da glicina em estruturas poliméricas (ACHOURI et al., 2010; TAY, XU e PERERA, 2005; WOLF e NELSEN, 1996).

O produto derivado de soja mais consumido e de maior valor comercial é o óleo de soja (MALHOTRA e COUPLAND, 2004). Os lipídios da soja contêm 15% de ácidos graxos saturados e 85% de insaturados e, em virtude do melhoramento genético, a quantidade de ácido palmítico pode variar de 8 a 17%, já o ácido esteárico de 3 a 30%, o ácido oléico de 20 a 50%, o ácido linoléico de 35 a 60% e o linolênico de 2 a 15% (LIU, 1997).

Os grãos maduros de soja apresentam 10% de carboidratos solúveis (GOLBITZ e JORDAN, 2006), incluindo os oligossacarídeos sacarose (4-5%), rafinose (1-2%), estaquiose (3,5-4,5%) e a verbascose em quantidade menor, além de traços dos monossacarídeos glicose e arabinose (LIU, 1997; PRASHANTH e MULIMANI, 2005). Os carboidratos insolúveis incluem a celulose e hemicelulose, encontrados principalmente na parede celular e nos materiais intersticiais (LIU, 1997).

Ainda, a soja é rica em minerais como potássio, fósforo, magnésio, enxofre, cálcio e sódio, que compreendem de 0,2 a 2,1% da composição do grão. Também é fonte de vitaminas hidrossolúveis, como a tiamina, riboflavina, niacina, ácido

pantotênico, biotina e ácido fólico e, vitaminas lipossolúveis, como a vitamina A ( $\beta$ -caroteno) e E (tocoferol) (GOLBITZ e JORDAN, 2006; LIU, 1997; MORAIS e SILVA, 2000).

## 2.2 COMPOSTOS BIOATIVOS DA SOJA

A soja contém uma elevada quantidade de componentes benéficos à saúde, como proteínas, isoflavonas, fibras, ácidos graxos essenciais e oligossacarídeos (LIU, 1997; MATSUMOTO, WATANABE e YOKOYAMA, 2007; REN et al., 2006; ROSTAGNO, PALMA e BARROSO, 2005).

Diversos estudos realizados comprovaram a eficiência das proteínas da soja em diminuir o colesterol plasmático e com isso reduzir o risco de doenças do coração (ANDERSON, JOHNSTONE e COOK-NEWELL, 1995; CARROL e KUROWSKA, 1995; MESSINA, 1999; NICOLOSI e WILSON, 1997). Ainda, o FDA aprovou em 1999 a alegação de que a ingestão 25 g de proteínas de soja por dia aliada à um baixo consumo de gordura saturada e colesterol pode reduzir o risco de doenças coronarianas (FDA, 1999).

As isoflavonas são compostos fenólicos pertencentes ao grupo dos flavonóides, sendo a genistina, daidzina e glicitina e seus derivados as principais encontradas na soja (MESSINA e LOPRINZI, 2001). Desempenham um papel essencial na prevenção de certos tipos de câncer e na redução do risco de doença cardiovascular (LEE, AHN e CHUNG, 2003). Destacam-se ainda pela redução da perda de massa óssea, diminuição do colesterol sérico e triglicérides, atividade antioxidante e redução dos sintomas indesejáveis da menopausa (ALEKEL et al., 2000; ANDRES, DONOVAN e KUHLENSHMIDT, 2009; LIU, 1997; MENG et al., 1999).

Dentre os ácidos graxos poliinsaturados destacam-se o ácido linoléico e o linolênico, considerados essenciais (LIU, 1997; MESSINA, 1999). O ácido linoléico  $\omega$ -6 (C18:2) ajuda a reduzir o colesterol abaixando os níveis de gordura no sangue e o ácido linolênico  $\omega$ -3 (C18:3) são benéficos para diminuir os riscos de doenças cardíacas (GOLBITZ e JORDAN, 2006).

As fibras tem um papel importante na redução dos níveis de colesterol em alguns indivíduos hiperlipidêmicos (ANDERSON, SMITH e WASHNOCK, 1999; KUSHI, MEYER e JACOBS, 1999) e aumenta a tolerância à glicose em indivíduos

diabéticos (CHANDALIA et al., 2000; JENKINS et al., 2003; MESSINA, 1999). A fibra alimentar também possui efeito positivo sobre a diarreia e prisão de ventre e como tratamento para intestino irritável (BOSAEUS, 2004; LIU, 1997). No sistema digestivo tem efeitos antiinflamatórios e anticancerígenos (SCHEPPACH et al., 2004).

Os oligossacarídeos da soja são componentes nutricionais importantes (CHEN et al., 2010), embora foram considerados por muitos pesquisadores como indesejáveis por causarem flatulência, cólicas e diarreia (BRASIL et al., 2010; GIBSON et al., 2004). O desconforto ocorre devido a ausência da enzima  $\alpha$ -galactosidase na mucosa do intestino delgado, que é responsável pela hidrólise desses açúcares. No intestino grosso estes são fermentados por micro-organismos anaeróbios com liberação de gás (KARR-LILIENTHAL et al., 2005). Apesar desse efeito negativo, a rafinose e a estaquiose são descritas como benéficas por promoverem o aumento da população de bifidobactérias no cólon. Este aumento acarreta na supressão da atividade de bactérias putrefativas e patogênicas que promove um balanço na microbiota intestinal e diminui as infecções gastrointestinais (CHEN et al., 2000; LIU, 1997; MUZZARELLI, 2009; REIS et al., 2004). Segundo Qiang, Yonglie e Qianbing (2009), a rafinose e a estaquiose apresentam características prebióticas que são relacionadas a diminuição do nível de colesterol no sangue e prevenção de alguns tipos de câncer.

### 2.3 BEANY FLAVOR E FATORES ANTINUTRICIONAIS

A soja possui excelente valor nutritivo e compostos bioativos, porém, possui alguns fatores limitantes ao consumo, como a presença de compostos antinutricionais e seu sabor característico, denominado *beany flavor*.

O *beany flavor* é originado da associação de compostos carbonílicos de cadeia curta com a fração protéica. Estes compostos são produtos finais de uma série de reações que se inicia com a hidroperoxidação de ácidos graxos poliinsaturados, catalisada por lipoxigenases (MONTEIRO et al., 2004). Dentre os compostos voláteis formados o hexanal é descrito como o principal responsável pelo sabor característico de feijão cru e *flavor* de ranço (LIU, 1997). Silva et al., (2010), ao avaliarem as características químicas e sensoriais de extratos hidrossolúveis de soja, verificaram que o teor de hexanal apresentou uma correlação positiva e significativa com o atributo aroma de grão cozido.

São também responsáveis pelo sabor da soja as saponinas, as isoflavonas e os compostos voláteis, derivados enzimaticamente ou termicamente de precursores não voláteis como proteínas, peptídeos, aminoácidos, carboidratos, glicosídeos, lipídios e vitaminas, além dos compostos não voláteis como derivados de lipídios, compostos fenólicos e açúcares. A adstringência, resultante das saponinas, pode ser reduzida pela remoção mecânica do hipocótilo. As isoflavonas provocam amargor e adstringência e podem ser reduzidas pelo tratamento térmico. Além destas alternativas, o melhoramento genético pode ajudar a obter genótipos com sabor suave, pela supressão de lipoxigenases (ARAÚJO, CARLOS e SEDYAMA, 1997). Um estudo de aceitabilidade de bebidas preparadas a partir de diferentes extratos hidrossolúveis de soja (livre de lipoxigenases e comercial) indicou que a bebida preparada a partir da cultivar desprovida de lipoxigenases foi a mais aceita pelos consumidores (SILVA et al., 2007).

Dentre os fatores antinutricionais da soja destacam-se os inibidores de tripsina, o ácido fítico e as fitohemaglutininas ou lectinas (BAJPAI, SHARMA e GUPTA, 2005). Os inibidores de tripsina, denominados Kunitz e Bowman-Birk, ligam-se à enzima tripsina e a impedem de atuar na digestão das proteínas. Este processo estimula o pâncreas a processar mais tripsina, causando hipertrofia do mesmo. Entretanto, foi evidenciado que os inibidores de tripsina são degradados com o tratamento térmico (LIENER, 1994; LIU, 1997).

O ácido fítico tem sido considerado um antinutriente, principalmente devido a sua capacidade de se ligar a muitos cátions bivalentes e conseqüentemente reduzir sua biodisponibilidade (JENAB e THOMPSON, 2002). Contudo, tem sido demonstrado a sua propriedade antioxidante e efeito significativo como anticancerígeno (FOX e EBERL, 2002).

As lectinas são moléculas protéicas que apresentam a propriedade de formar complexos com compostos glicídicos. Existe uma interação entre as lectinas e as glicoproteínas da superfície das hemácias, gerando aglutinação entre tais estruturas (RIZZI et al., 2003). De acordo com Liener (1994), em humanos não há evidência da hemaglutinação, pois as lectinas são inativadas pela pepsina gástrica, além de serem inativadas pelo calor úmido.

## 2.4 EXTRATO HIDROSSOLÚVEL DE SOJA

O extrato hidrossolúvel de soja é o produto obtido por extração aquosa dos sólidos solúveis dos grãos de soja, e consiste de uma suspensão de proteínas, carboidratos em uma emulsão de lipídios e alguns minerais. O extrato hidrossolúvel de soja contém geralmente 3,6% de proteínas, 2,0% de lipídios, 2,9% de carboidratos e 0,5% de cinzas e devido a origem vegetal destaca-se por não possuir lactose e colesterol (LIU, 1997).

O extrato hidrossolúvel de soja possui aparência e composição similar ao leite animal (JINAPONG, SUPHNTHARIKA e JAMNONG, 2008), sendo recomendado à população que possui alergia às proteínas do leite ou intolerância à lactose (POMERANZ, 1991; THYPPESWANY e MULIMANI, 2002).

Há muitas maneiras de obter o extrato hidrossolúvel de soja, sendo o processo mais comum a maceração dos grãos de soja em água, trituração, cocção e filtração para separação do resíduo denominado de *okara* (LIU, 1997; POYSA e WOODROW, 2002). A vantagem do tratamento térmico é melhorar as características sensoriais e eliminar alguns fatores que limitam a utilização da soja, tais como as lectinas e os inibidores de tripsina (MORAIS e SILVA, 1996).

Embora estudos tenham evidenciado o aumento no consumo do extrato hidrossolúvel de soja, ainda há limitações tecnológicas especialmente no que concerne as características sensoriais, devido a percepção de sabores indesejáveis provenientes do extrato ou formados durante o processamento (CRUZ et al., 2009; CUENCA e QUICAZÁN, 2004; QUICAZÁN et al., 2001).

A fermentação do extrato hidrossolúvel de soja por vários micro-organismos, em especial bactérias lácticas, tem sido utilizada para melhorar o sabor e aumentar a sua aceitabilidade (BEASLEY, TUORILA e SARIS, 2003; BLAGDEN e GILLILAND, 2005; CHOU e HOU, 2000; CHUMCHUERE e ROBINSON, 1999; DENKOVA e MURGOV, 2005). O extrato hidrossolúvel de soja é um substrato adequado para o crescimento dessas bactérias, comumente utilizadas no preparo de produtos como iogurtes, queijos e bebidas (CUENCA e QUICAZÁN, 2004; GARRO, VALDEZ e GIORI, 2004; KAMALY, 1997; OLIVEIRA et al., 2002). Ainda, a fermentação pode diminuir os níveis de saponina, fitato e oligossacarídeos (FAVARO TRINDADE et al., 2001).

## 2.5 OKARA

Após a obtenção e filtração do extrato hidrossolúvel de soja, obtém-se o produto conhecido como *okara*, que é tratado como um resíduo industrial com pouco valor de mercado, em função da vida útil curta (O' TOOLE, 1999).

O *okara* possui cerca de 30% de proteínas, 8,5% de lipídios, 3,8% de carboidratos, 3,0% de cinzas e 55,5% de fibras em base seca (VILLANUEVA et al., 2010). Ainda, pode conter aproximadamente um terço do conteúdo das isoflavonas presentes na soja (JACKSON et al., 2002).

A adição de *okara* em outros alimentos pode promover uma melhoria na qualidade nutricional e no desenvolvimento de produtos ricos em fibras (REDONDO-CUENCA, VILLANUEVA e RODRÍGUEZ-SEVILLA, 2008; VILLANUEVA et al., 2010). A incorporação de *okara* foi descrita em produtos de panificação (APLEVICZ e DEMIATE, 2007; BOWLES e DEMIATE, 2006; CAVALHEIRO et al., 2001; WALISZEWSKI, PARDIO e CARREON, 2002), doces a base de soja (GENTA et al., 2002), cereais matinais (SANTOS, BEDANI e ROSSI, 2004) e produtos cárneos (TURHAN, TEMIZ e SAGIR, 2007).

A incorporação do *okara* em alimentos pode eliminar uma possível fonte de poluição e agregar valor econômico ao produto (RINALDI, NG e BENNINK, 2000). Todavia, apesar dos componentes nutritivos e funcionais e do potencial para aplicação em produtos alimentícios, seu uso é mais comum na fabricação de rações para animais (PARK et al., 2001).

Vários efeitos benéficos à saúde têm sido relacionados ao consumo de *okara*. Experimentos *in vitro* têm indicado que o *okara* é uma fonte potencial de componentes antioxidantes (AMIN e MUKHRIZAH, 2006) e, em virtude do seu alto conteúdo de fibras, pode reduzir ou controlar o colesterol e os níveis de triglicérides (JENKINS et al., 2002; KEENAN et al., 2007).

## 2.6 ALIMENTOS FUNCIONAIS

De acordo com a legislação brasileira o alimento ou ingrediente que possuir alegação de propriedades funcionais ou de saúde pode, além das funções nutricionais básicas, produzir efeitos metabólicos, fisiológicos e/ou benéficos à saúde, devendo ser seguro para consumo sem supervisão médica. O Ministério da

Saúde, por meio da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), regulamentou os alimentos funcionais com as resoluções ANVISA/MS 16/99, 17/99, 18/99 e 19/99 (BRASIL, 1999a; BRASIL, 1999b; BRASIL, 1999c; BRASIL, 1999d).

O efeito benéfico de determinados tipos de alimentos sobre a saúde humana é conhecido há muito tempo. O estudo desses alimentos, atualmente denominados alimentos funcionais, e de seus componentes responsáveis por esse efeito, tem se tornado cada vez mais intenso (OLIVEIRA et al., 2002).

A suplementação de componentes com atividade reconhecidamente benéfica à saúde, como cálcio e vitaminas, constituíam os alimentos funcionais de primeira geração. Segundo Ziemer e Gibson (1998) esse conceito voltou-se principalmente para os aditivos alimentares, que podem exercer efeito benéfico sobre a composição da microbiota intestinal.

O termo nutracêutico define uma ampla variedade de alimentos e componentes alimentícios com apelos médicos ou de saúde. Sua ação varia do suprimento de minerais e vitaminas essenciais até a proteção e/ou tratamento de doenças (HUNGENHOLTZ e SMID, 2002). Tais produtos podem abranger nutrientes isolados, suplementos dietéticos, produtos herbais entre outros (KWAK e JUKES, 2001).

Um alimento pode ser considerado funcional se for demonstrado que o mesmo pode afetar benéficamente uma ou mais funções alvo no corpo. Além disso, deve possuir os adequados efeitos nutricionais, sendo relevante para o bem-estar e para a redução do risco de uma doença (ROBERFROID, 2002).

Segundo Lajolo (2005), esses alimentos são capazes de produzir efeitos metabólicos ou fisiológicos desejáveis na manutenção da saúde física e mental, podendo auxiliar na redução do risco de doenças crônico-degenerativas.

De acordo com alguns autores as fibras alimentares, os prebióticos e os probióticos constituem exemplos de componentes ou ingredientes funcionais (GIBSON, 2004; ZIEMER e GIBSON, 1998).

## 2.7 FIBRA ALIMENTAR

Nos últimos anos o desenvolvimento de ingredientes e produtos ricos em fibras tem aumentado significativamente (CHAU e HUANG, 2003), sendo comum a

adição de fibras em alimentos com o intuito de melhorar os hábitos alimentares da população (RAMIREZ-SANTIAGO et al., 2010).

De acordo com a RDC nº 360 de 23 de janeiro de 2003, fibra alimentar é qualquer material comestível que não seja hidrolisado pelas enzimas endógenas do trato digestivo humano (BRASIL, 2003a). O consumo de fibras promove efeitos benéficos à saúde humana, sendo recomendado a ingestão diária de 25-30g (DELLO-STAFFOLO et al., 2004). O FDA recomenda que do total de fibras consumido diariamente, a proporção adequada seja de 70-75% de fibras insolúveis e 25%-30% de fibras solúveis (LI e CARDOZO, 1992).

As fibras são diferenciadas em relação à solubilidade, viscosidade, geleificação, capacidade de retenção de água e capacidade de incorporar as substâncias moleculares ou minerais (COPPINI, 2001).

Considerando a solubilidade em soluções enzimáticas de pH controlado, as fibras classificam-se em solúveis e insolúveis. Alguns exemplos de fibras solúveis são pectinas,  $\beta$ -glucana, gomas, inulina e polidextrose. Exemplos de fibras insolúveis incluem a celulose, suberina, quitina e a maioria das hemiceluloses (GORDON, 2002; RODRIGUEZ et al., 2006).

As fibras solúveis absorvem muita água a partir do estômago, formando sistemas viscosos e de consistência gelatinosa, que podem retardar o esvaziamento gástrico e alterar o trânsito do conteúdo intestinal. A tendência desses polissacarídeos é formar uma camada viscosa de proteção à mucosa do estômago e intestino delgado, dificultando a absorção, principalmente de açúcares e gorduras, podendo diminuir os níveis de lipídios sanguíneos e teciduais, assim como a glicemia (SGARBIERI e PACHECO, 1999). As fibras solúveis possuem também a propriedade de serem fermentadas pelas bactérias do cólon, dando origem a ácidos graxos de cadeia curta, principalmente acetato, propionato e butirato (PIMENTEL, FRANCKI e GOLLÜCKE, 2005; REDONDO-CUENCA et al., 2007).

As fibras insolúveis exercem um efeito físico-mecânico, aumentando o volume do bolo alimentar e das fezes e diminuindo o tempo de trânsito intestinal. Ao se hidratar, a fibra insolúvel absorve não somente água, mas também se liga a minerais, vitaminas, sais biliares, hormônios e lipídios, dificultando a absorção e aumentando a excreção dessas substâncias (SGARBIERI e PACHECO, 1999). Segundo Pimentel, Francki e Gollucke (2005) as fibras insolúveis são pouco fermentescíveis.

A fermentação de fibras alimentares no cólon possui inúmeros benefícios. Além da diminuição no tempo de trânsito intestinal, também podem reduzir o impacto da microbiota prejudicial, normalmente associada à formação de compostos nitrogenados tóxicos, H<sub>2</sub>S e produção de compostos cancerígenos (GIBSON, 2004). Ainda, o consumo de fibra alimentar pode reduzir o risco de doenças cardiovasculares, câncer de cólon e obesidade (CHAU e HUANG, 2004).

Segundo Larrauri (1999), a fibra alimentar é considerada ideal quando cumprir alguns requisitos, como: possuir na sua concentração o máximo de efeitos fisiológicos; ser suave em sabor, cor, textura e odor; apresentar composição balanceada (fração solúvel e insolúvel) e um conjunto adequado de componentes bioativos; boa durabilidade; não apresentar efeito adverso quando adicionado a outro alimento; ser compatível com o processamento de alimentos e possuir preço razoável.

### 2.7.1 Fibra de Soja

De acordo com Liu (1997), as fibras da soja incluem celulose, hemicelulose, lignina e pectina, que são componentes estruturais encontrados principalmente na parede celular. A parede celular é composta aproximadamente por 30% de pectinas, 50% de hemicelulose e 20% de celulose. Seibel e Beléia (2008) analisaram fibras de cotilédones de soja e verificaram que a hemicelulose é o componente majoritário (59%) e a celulose o componente minoritário (8,5%), pois esta última fração está concentrada principalmente nas cascas da soja. Ouhida, Pérez e Gasa (2002) observaram a presença de 10,7% de celulose em cotilédones contendo cascas.

Ainda, os oligossacarídeos da soja, rafinose e estaquiose também podem ser considerados como fibras (LIU, 1997).

### 2.7.2 Fibra de Aveia

A aveia é uma excelente fonte de fibra alimentar, apresentando em sua composição (1→3),(1→4)-β-D-glucana (conhecida como β-glucana), arabinoxilanas, celulose e hemicelulose (DONGOWSKI et al., 2005). A fibra de aveia é formada principalmente por frações insolúveis, sendo composta por celulose (~70%) e

hemicelulose. A fração solúvel é normalmente representada pela  $\beta$ -glucana (BARRETO, 2007).

São atribuídos à  $\beta$ -glucana os principais efeitos fisiológicos da aveia (MALKKI e VIRTANEN, 2001), sendo reportada a redução no risco de doenças crônicas, como a diabetes e doenças do coração (WOOD e BEER, 1998). A  $\beta$ -glucana é bem conhecida pelas propriedades funcionais e nutricionais (DONGOWSKI et al, 2005) e pode ser usada como agente espessante em alimentos (WOOD, 1993), podendo influenciar na qualidade sensorial de bebidas (LYLY et al., 2003), já que alcança alta viscosidade mesmo quando adicionada em concentrações relativamente baixas (DONGOWSKI et al., 2005).

### 2.7.3 Fibra de Trigo

A fibra de trigo é formada principalmente por compostos insolúveis, sendo constituída principalmente por celulose e hemicelulose, possuindo sabor e odor neutro (SANCHEZ-ALONSO et al., 2007).

A fibra de trigo pode ser usada tecnologicamente como um agente que promove retenção de água, a fim de obter produtos com textura desejável e com boa estabilidade física (LEE, 2002).

Dietas contendo fibra de trigo foram comprovadas como eficientes contra certos tipos de doenças. A presença de compostos antioxidantes no farelo de trigo confere propriedades importantes na inibição do LDL-colesterol, reduzindo o risco de doenças cardiovasculares. Vários compostos fenólicos encontrados no trigo estão concentrados no farelo, contribuindo para o teor de antioxidantes do cereal (ZOUL, LAUX e YU, 2004).

### 2.7.4 Componentes da Fibra de Soja, Aveia e Trigo

Basicamente, as fibras de cereais e leguminosas, são compostas por substâncias como as pectinas (solúvel), celulosas e hemicelulosas (insolúveis).

As pectinas são substâncias coloidais de cadeias de ácido D- galacturônico unidos por ligações glicosídicas ( $\alpha 1 \rightarrow 4$ ) (DAMODARAN, PARKIN e FENNEMA, 2010) e tem efeitos fisiológicos e nutricionais importantes para a saúde e nutrição humana. Os resíduos de ácido galacturônico são carregados negativamente sendo,

portanto, facilmente hidratáveis. Esse fato é importante na geleificação (formação de géis sólidos e viscoelásticos), na melhoria da absorção de água, no efeito espessante, na fixação de partículas que estabilizam emulsões e espumas, entre outros (BRETT e WALDRON, 1996; MCDUGALL et. al, 1996). Algumas destas funções são determinadas pela estrutura química, enquanto que outras estão mais relacionadas a propriedades físicas. As pectinas, embora não sejam absorvidas pelo trato gastrointestinal, podem ser fermentadas pela microbiota do cólon em dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>), metano (CH<sub>4</sub>), hidrogênio (H<sub>2</sub>) e ácidos graxos de cadeia curta (WANG et al., 2002).

A celulose é o principal componente de sustentação das estruturas vegetais. É um homopolissacarídeo neutro formado por cadeias lineares de anidro D-glucose unidas por ligações ( $\beta$ 1→4). A celulose é insolúvel em água e parcialmente hidrolisada por celulase (DAMODARAN, PARKIN e FENNEMA, 2010; WALDRON, PARKER e SMITH, 2003).

As hemiceluloses são um grupo heterogêneo de polissacarídeo que contém diversos tipos de hexoses e pentoses e, em alguns casos, ácidos urônicos. Esses açúcares estão ligados entre si por ligações glicosídicas ( $\beta$ 1→4) formando uma estrutura principal composta por um tipo específico de resíduos, a partir da qual surgem ramificações laterais de cadeias curtas de outros açúcares (DAMODARAN, PARKIN e FENNEMA, 2010). As hemiceluloses estão presentes em todas as camadas da parede celular, concentrando-se, principalmente, nas camadas primárias e secundárias de monocotilédones e dicotilédones, onde estão intimamente associadas à celulose e lignina (WALDRON, PARKEN e SMITH, 2003).

#### 2.7.5 Propriedades Tecnológicas das Fibras em Produtos Fermentados

As fibras tem sido investigadas devido as suas funções fisiológicas e podem fornecer produtos com características sensoriais desejáveis, com boa aceitação pelo consumidor, custo razoável e sem comprometimento da estabilidade do produto (PSZCZOLA, 2008).

Em alimentos, as fibras alimentares possuem funções tecnológicas que incluem a formação de géis, retenção de água ou lipídios, aumento da viscosidade, formação e estabilização de emulsões e de espumas (DIEPENMAAT-WOLTERS, 1993), modificação na textura e na capacidade fermentativa dos produtos

(BORDERÍAS, SANCHEZ-ALONSO e PEREZ-MATEOS, 2005). Segundo Saarela et al. (2006), as fibras também podem proteger culturas probióticas em condições de estresse como a liofilização, desidratação e armazenamento.

Segundo Izydorczyk et al. (2008), na formulação de produtos ricos em fibra alimentar deve-se considerar suas propriedades funcionais e tecnológicas, já que a adição de fibras pode alterar o processamento e o manuseio do produto, bem como sua textura, cor, sabor e aroma. As fibras podem interagir com outros componentes do alimento durante o processamento e essas interações podem ocasionar alterações na biodisponibilidade de nutrientes e modificações nas características do produto (FERNÁNDEZ-GARCÍA e MCGREGOR, 1997).

Várias pesquisas evidenciam alterações nas características de produtos fermentados após a incorporação de fibras provenientes de frutas e cereais (APORTELA-PALACIOS, SOSA-MORALES e VELEZ-RUIZ, 2005; GARCIA-PEREZ et al., 2006; HASHIM, KHALIL e AFIFI, 2009; SENDRA et al., 2008; SENDRA et al., 2010) sendo reportados a adição de fibra de aveia, soja, milho, arroz, maçã, trigo, bambu, inulina,  $\beta$ -glucana e outras fontes em produtos fermentados como o iogurte (DELLO STAFFOLO et al, 2004; EL-NAGAR et al., 2002; TUDORICA et al., 2004).

Dello Staffolo et al. (2004) ao adicionarem fibra de bambu, maçã, trigo e inulina em iogurtes, verificaram que o tipo de fibra afetou significativamente as propriedades reológicas do produto. Os referidos autores mencionaram que a fibra de maçã diminuiu a firmeza do iogurte, provavelmente devido a formação de agregados de fibra que interferiram na estrutura do produto. Em contrapartida, a adição de fibra de bambu e trigo aumentou a firmeza do iogurte, sendo preferido pelos consumidores.

Fuchs et al. (2005) observaram que a suplementação de iogurtes de soja com 4,4% de inulina resultou na diminuição da firmeza dos produtos, sendo este resultado similar ao encontrado por El-Nagar et al. (2002) ao adicionar inulina em sorvete. Guven et al. (2005) observaram que adição superior a  $1\text{g}\cdot 100\text{mL}^{-1}$  de inulina, em iogurtes, promoveu aumento da sinerese (separação do soro), prejudicando as características sensoriais do produto. Em um estudo com bebida de kefir foi observado que a adição de inulina resultou em produtos menos firmes e não afetou a sinerese (MONTANUCI, 2010).

Dervosiglu e Yazici (2006), ao adicionarem fibras provenientes de frutas cítricas em sorvetes, reportaram que as mesmas não afetaram a viscosidade e não

promoveram melhoria nas propriedades sensoriais do produto, mas apresentaram efeito positivo sobre a resistência ao derretimento. Sendra et al. (2010) observaram que a adição de  $1\text{g}\cdot 100\text{mL}^{-1}$  de fibra de laranja em iogurte promoveu a redução na sinerese e aumento na firmeza do gel e na cremosidade do produto.

De acordo com McCann, Fabre e Day (2011) as fibras naturais apresentam benefícios por conferirem produtos com melhor textura e firmeza, reduzindo a sinerese e resultando em um produto com propriedades sensoriais aceitáveis. Ainda, alguns autores afirmaram que as fibras de cereais são completas por possuírem estrutura que inclui a parede celular e seus constituintes, como a celulose, hemicelulose, pectinas e ligninas (MENEZES, GIUNTINI e LAJOLO, 2001).

## 2.8 PREBIÓTICOS

De maneira geral, todos os oligossacarídeos e polissacarídeos que apresentam atividade prebiótica são considerados fibras alimentares, mas nem todas as fibras são alegadas como prebióticas (GIBSON, 2004).

Os prebióticos são componentes alimentares não viáveis que conferem benefícios à saúde do hospedeiro associados à modulação de sua microbiota (FAO/AGNS, 2007). São também definidos como ingredientes alimentares não digeríveis, que afetam benéficamente a saúde dos consumidores, por estimularem o crescimento de um número limitado de bactérias do intestino grosso (ZIEMER e GIBSON, 1998). De acordo com Larkin, Price e Astheimer (2007), o crescimento e/ou atividade de bactérias probióticas pode ser seletivamente estimulado pela ingestão de componentes prebióticos na dieta.

Os prebióticos podem inibir a multiplicação de patógenos, uma vez que quando são fermentados no intestino, podem converter-se em nutrientes necessários para um melhor desenvolvimento das bifidobactérias e lactobacilos. Segundo Saxelin, Korpela e Mayra-Makinen (2003) os produtos finais da fermentação desses compostos são principalmente ácidos graxos de cadeia curta (acético, propiônico e butírico), ácido láctico, hidrogênio, metano e dióxido de carbono.

A fermentação dos prebióticos pode promover, ainda, algumas funções fisiológicas específicas, através da liberação de metabólitos das bactérias, como os ácidos graxos de cadeia curta. Os ácidos graxos de cadeia curta podem atuar

diretamente ou indiretamente sobre as células intestinais e participar no controle de processos como a inflamação, a carcinogênese, a absorção de minerais e a eliminação de compostos nitrogenados, podendo ainda atuar no alívio da constipação e na redução de infecções intestinais, redução do nível de colesterol no soro sanguíneo e diminuição do risco de osteoporose, obesidade e doenças cardiovasculares (MARTI DEL MORAL, MORENO-ALIAGA e HERNANDEZ, 2003).

Dessa forma, pode haver um aumento favorável da microbiota, garantindo benefícios adicionais à saúde do hospedeiro. Os prebióticos atuam mais freqüentemente no intestino grosso, embora possam ter também algum impacto sobre os micro-organismos do intestino delgado (GILLILAND, 2001; MATTILA-SANDHOLM et al., 2002; ROBERFROID, 2001).

Para um substrato ser classificado como um prebiótico alguns critérios devem ser atendidos: o substrato não deve ser hidrolisado ou absorvido no estômago ou intestino delgado; deve ser seletivo para bactérias benéficas no cólon; e sua fermentação deve induzir efeitos sistêmicos benéficos para o hóspede (MANNING e GIBSON, 2004).

Qualquer componente alimentar fermentescível que atinja o cólon sem ser digerido apresenta potencial como prebiótico. Atualmente os componentes propostos como tal são os carboidratos não digeríveis, como a lactulose, lactitol, amido resistente e vários oligossacarídeos como frutooligossacarídeos, inulina, rafinose e estaquiose (ANN et al., 2007; GIBSON e FULLER, 2000; MORAES e COLLA, 2006). Segundo Tamime, Marshall e Robinson (1995) a rafinose e estaquiose são os promotores naturais do crescimento de bifidobactérias.

## 2.9 PROBIÓTICOS

Diversas definições de probióticos foram publicadas ao longo dos anos (SANDERS, 2003), sendo, internacionalmente aceita, a definição de que são micro-organismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, afetam positivamente a saúde do hospedeiro (FAO/WHO, 2001). No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) define probióticos como micro-organismos vivos capazes de melhorar o equilíbrio microbiano intestinal, produzindo efeitos benéficos à saúde do indivíduo (BRASIL, 2002).

Para uma bactéria ser considerada probiótica os seguintes aspectos devem ser considerados: não ser patogênica, tóxica, mutagênica ou carcinogênica ao organismo do hospedeiro (KUMURA et al., 2004; SAARELA et al., 2000); ser preferencialmente de origem humana, sendo isolada do trato gastrointestinal saudável (SAARELA et al., 2000); apresentar atividade antagônica à microorganismos patogênicos (COLLADO, MERILUOTO e SALMINEN, 2008; MATTILA-SANDHOLM et al., 2002; RIVERA-ESPINOZA e GALLARDO-NAVARRO, 2010); ser tolerante à acidez do suco gástrico e resistir aos sais biliares, enzimas e baixos níveis de oxigênio (COLLADO, MERILUOTO e SALMINEN, 2008; RIVERA-ESPINOZA e GALLARDO-NAVARRO, 2010); aderir às superfícies epiteliais e persistir no trato gastrointestinal humano; possuir propriedades antimutagênicas e anticarcinogênicas (MATTILA-SANDHOLM et al., 2002); promover imunestimulação, sem efeito inflamatório (SAARELA et al., 2000). Entretanto, não há um consenso na literatura sobre quais são as características mínimas para a definição de bactéria probiótica.

Além de cumprir os critérios de segurança e aspectos funcionais, a linhagem probiótica deve, ainda, apresentar características tecnológicas que incluem boas propriedades sensoriais, viabilidade durante o processamento e estabilidade durante o armazenamento do produto (SAARELA et al., 2000). De acordo com Gomes e Malcata (1999) as culturas probióticas podem contribuir para melhorar o sabor do produto final, possuindo a vantagem de promover uma menor acidificação durante a armazenagem pós-processamento.

A utilização de culturas probióticas estimula a multiplicação de bactérias benéficas, em detrimento à proliferação de bactérias potencialmente prejudiciais, reforçando os mecanismos naturais de defesa do hospedeiro (PUUPPONEN-PIMIÄ et al., 2002).

Diversos autores vêm sugerindo possíveis efeitos benéficos referentes ao consumo de culturas probióticas. Entre esses efeitos, merecem destaque o controle das infecções intestinais, alívio da constipação, melhoria no metabolismo da lactose, melhoria na absorção de alguns nutrientes, redução do colesterol sérico, estimulação do sistema imunológico, efeito anticarcinogênico e antimutagênico, além da exclusão competitiva e da produção de compostos antimicrobianos (SANDERS, 2003; AGERHOLM-LARSEN et al., 2000; GOTCHEVA et al., 2002; NOMOTO, 2005; IMASSE et al., 2007; SHAH, 2001).

Entretanto, de acordo com Pineiro e Stanton (2007) nem todos os probióticos são efetivos para todas as funções, sendo necessário considerar as variações existentes entre as diferentes espécies e linhagens em relação à funcionalidade.

Uma questão ainda não esclarecida pela literatura é a quantidade e a frequência de consumo de probióticos necessária para assegurar os benefícios funcionais a eles atribuídos. Alguns autores sugerem que a quantidade de probióticos pode ser referida como terapêutica quando atinge contagens que variam de  $10^6$  (EARLY, 1998),  $10^7$ - $10^8$  (ISHIBASHI e SHIMAMURA, 1993; LOURENS-HATTINGH e VILJEON, 2001) ou  $10^8$ - $10^9$  UFC.mL<sup>-1</sup> (SHAH, 2001).

De acordo com a legislação brasileira, a quantidade mínima viável para os probióticos deve estar na faixa de  $10^8$  a  $10^9$  UFC na porção diária (BRASIL, 2007). Altas contagens desses micro-organismos foram sugeridas para compensar a possível redução durante a passagem pelo estômago e intestino (SHAH, 2000).

Dentre os micro-organismos comumente descritos com características probióticas, destacam-se as bactérias produtoras de ácido láctico, particularmente os gêneros originários do intestino humano, tais como *Lactobacillus* (*L. acidophilus*, *L. casei*, *L. reuteri*), *Bifidobacterium* (*B. longum*, *B. bifidum*, *B. infantis*, *B. animalis*) e *Streptococcus* ou *Enterococcus*, na forma de cultura simples ou mista, usualmente adicionadas em produtos lácteos fermentados (SCHEINBACH, 1998). A Tabela 1 apresenta as principais cepas empregadas em produtos probióticos.

A legislação brasileira descreve como probióticas as seguintes espécies: *L. acidophilus*, *L. casei shirota*, *L. casei* variedade *rhamnosus*, *L. casei* variedade *defensis*, *L. paracasei*, *Lactococcus lactis*, *B. bifidum*, *B. animalis* (incluindo a subespécie *B. lactis*), *B. longum* e *Enterococcus faecium* (BRASIL, 2007).

### 2.9.1 Kefir

Kefir é uma bebida fermentada de leite, composta por uma mistura complexa de bactérias e leveduras. Difere do iogurte tradicional por ser fermentado por uma diversidade maior de micro-organismos (URDANETA et al., 2007).

O conjunto de micro-organismos que compõe o kefir normalmente é encontrado sob a forma de um pequeno aglomerado (grão), mantido unido por uma matriz de polissacarídeos e proteínas (LOPITZ-OTSOA et al., 2006), embora também possa ser comercializado na forma de pó liofilizado.

**Tabela 1** - Micro-organismos com propriedades probióticas

<i>Lactobacillus</i>	<i>Bifidobacterium</i>	Outras bactérias ácido lácticas	Bactérias não ácido lácticas
<i>L. acidophilus</i>	<i>B. bifidum</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Bacillus cereus</i> var <i>toyo</i>
<i>L. amylovorus</i>	<i>B. adolescentis</i>	<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Escherichia coli</i> cepa <i>nissle</i>
<i>L. casei</i>	<i>B. longum</i>	<i>Lactococcus lactis</i>	<i>Propionibacterium freudenreichii</i>
<i>L. crispatus</i>	<i>B. infantis</i>	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	<i>B. brevis</i>	<i>Pediococcus acidilactici</i>	<i>Saccharomyces boulardii</i>
<i>L. gallinarum</i>	<i>B. lactis</i>	<i>Sporolactobacillus inulinus</i>	
<i>L. gasseri</i>		<i>Streptococcus thermophilus</i>	
<i>L. johnssonii</i>			
<i>L. paracasei</i>			
<i>L. plantarum</i>			
<i>L. reuteri</i>			
<i>L. rhamnosus</i>			

Fonte: COPPOLA e TURNES, 2004.

Segundo Piermaria, Canal e Abraham (2008) os grãos de kefir contêm uma complexa microbiota simbiótica, que compreende misturas de bactérias ácido lácticas (*Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, e *Streptococcus* spp.), bactérias ácido acéticas (*Acetobacter*) e leveduras (*Kluyveromyces*, *Saccharomyces* e *Torula*). As leveduras podem ser fermentadoras de lactose (*Kluyveromyces lactis*, *Kluyveromyces marxianus*, *Torula*) ou não fermentadoras (*Saccharomyces cerevisiae*) (IRIGOYEN et al., 2005). A composição da população microbiana do kefir pode variar em função da origem dos grãos, substrato e método de cultivo empregado (PINTADO et al., 1996).

No kefir, as leveduras e as bactérias co-existem em uma associação simbiótica, responsável pela fermentação ácida-alcoólica. O principal produto formado a partir do metabolismo microbiano é o ácido láctico, seguido de compostos como acetaldeído e diacetil, que conferem *flavor*. A presença das leveduras leva à formação de etanol e dióxido de carbono (LOPITZ-OTSOA et al., 2006).

O polissacarídeo do kefir, denominado de kefiran, é um glucogalactano solúvel em água, que tem sido reportado por possuir atividade antibacteriana e

antitumoral, por modular o sistema imunológico do intestino e proteger as células epiteliais contra *Bacillus cereus* (PIERMARIA, CANAL e ABRAHAM, 2008). Esse exopolissacarídeo está presente nos grãos de kefir e pode ser usado como aditivo em produtos fermentados, uma vez que provoca um aumento na viscosidade aparente dos géis (RIMADA e ABRAHAM, 2006).

Além do valor nutritivo inerente à sua composição química, o kefir desempenha um papel potencialmente benéfico na redução do risco de doenças crônicas degenerativas (MORAES e COLLA, 2006). Algumas propriedades benéficas podem ser citadas, como ação antimicrobiana, antiinflamatória, cicatrizante e antialérgica (LEE et al., 2007; RODRIGUES et al., 2005), sendo também indicado à pacientes em tratamento de doenças gastrintestinais, doenças metabólicas, hipertensão, isquemia do coração e alergia (FARNWORTH e MAINVILLE, 2003). Ainda, algumas espécies de lactobacilos e leveduras presentes no kefir demonstraram efeito positivo na colonização do intestino (KUMURA et al., 2004).

Segundo alguns autores (GOLOWCZYC et al., 2007; GOLOWCZYC et al., 2008; ROMANIN et al., 2010) algumas bactérias lácticas e várias cepas de leveduras encontradas no kefir apresentam resistência a sais biliares e ao baixo pH, propriedade de adesão e capacidade de inibição de alguns patógenos intestinais.

Em virtude da complexidade microbiana e dos efeitos benéficos derivados do seu consumo, o kefir pode ser considerado uma fonte adequada de micro-organismos com potencial probiótico (ROMANIN et al., 2010), sendo apontado como um alimento probiótico e funcional (LOPITZ-OTSOA et al., 2006; SIMOVA et al., 2002; YÜKSEKDAG, BEYATIL e ASLIM, 2004; ZUBILLAGA et al., 2001).

#### 2.9.1.1 *Lactococcus lactis*

Dentre os micro-organismos isolados do kefir, o *Lactococcus lactis* é apontado por alguns autores (CHAMPAGNE et al., 2009; RIVERA-ESPINOZA e GALLARDO-NAVARRO, 2010; VINDEROLA e REINHEIMER, 2000) e pela legislação brasileira (BRASIL, 2007) como probiótico.

*Lactococcus lactis* são bactérias gram-positivas, anaeróbias facultativas, homofermentativas, mesófilas, com crescimento ótimo em temperatura de 30 °C. São freqüentemente utilizadas na produção de produtos fermentados, como queijos,

manteigas e outros, sendo responsáveis pela preservação desses produtos e pelo desenvolvimento de características sensoriais como textura e sabor (DUWAT et al., 2000; MIYOSHI et al., 2003).

## 2.10 SIMBIÓTICOS

Os simbióticos são alimentos ou suplementos alimentares contendo micro-organismos probióticos e ingredientes prebióticos, resultando em produtos com as características funcionais dos dois grupos que em sinergia vão beneficiar o hospedeiro (FULLER e GIBSON, 1997; SAAD, 2006). De acordo com Kimura (2002), os simbióticos são considerados alimentos funcionais.

Os prebióticos podem influenciar o crescimento e a sobrevivência dos probióticos, melhorando seu metabolismo e multiplicação. A interação entre esses componentes *in vivo* pode ser favorecida pela adaptação de um probiótico associado a um ingrediente prebiótico, anterior ao consumo (MARTÍNEZ-VILLALUENGA e GÓMEZ, 2007; SAAD, 2006). Dessa maneira, é possível aumentar a sobrevivência e a implantação dos probióticos no trato digestório (ROBERFROID, 1998; ZIEMER e GIBSON, 1998), por meio de estímulo ao crescimento desses micro-organismos (TUOHY et al., 2003).

## 2.11 PLANEJAMENTO DE MISTURAS SIMPLEX-CENTRÓIDE

O modelamento de misturas consiste em ajustar um modelo matemático polinomial a uma superfície de resposta obtida segundo um planejamento experimental específico, conhecido como planejamento estatístico de misturas (COSCIONE, ANDRADE e MAY, 2005). Esse planejamento possui grande importância industrial, sendo muito utilizado na obtenção de formulações de diversos produtos, incluindo estudos de características sensoriais, nutricionais e de propriedades funcionais dos alimentos (CASTRO, TIRAPEGUI e SILVA, 1998; NAVARRETE-BOLANOS et al., 2003).

O planejamento de misturas empregado depende da complexidade do modelo matemático que se deseja ajustar e do número de componentes da mistura. Esse planejamento envolve a execução de um número exato de experimentos, necessários para ajuste do modelo matemático selecionado (EIRAS, CUELBAS e

ANDRADE, 1994) e que permita determinar os parâmetros com o mínimo de erro (COSCIONE, ANDRADE e MAY, 2005).

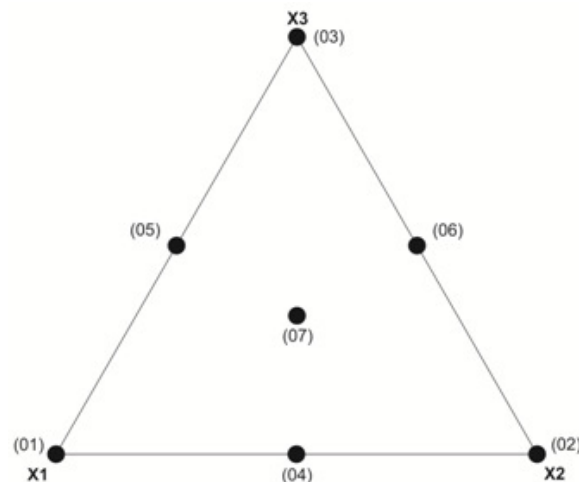
A partir de um planejamento de misturas, a resposta ou propriedade muda somente quando são feitas alterações nas proporções dos componentes que fazem parte dessa mistura. Portanto, a finalidade principal de se utilizar essa metodologia é verificar como as respostas ou propriedades de interesse são afetadas pela variação das proporções dos componentes da mistura. Nesse caso, as proporções dos componentes ( $x_i$ ) não são independentes, pois a soma sempre deve totalizar 100% (BARROS NETO, SCARMINIO e BRUNS, 2003). Em termos matemáticos isso pode ser descrito na Equação 1:

$$\sum_{i=1}^q x_i = 100\% = 1 \quad (\text{Eq. 1})$$

onde  $x_i$  representa a proporção do  $i$ -ésimo componente e  $q$  é o número de componentes da mistura. Para especificar a composição da mistura é necessário fixar a proporção de  $q-1$  componentes, sendo que a proporção do último componente será que o falta para completar 100% (BARROS NETO, SCARMINIO e BRUNS, 2003).

Segundo Barros Neto, Scarminio e Bruns (2003), para sistemas com três fatores não independentes deve-se obedecer à restrição  $x_1+x_2+x_3=1$ , que define um triângulo equilátero (Figura 1).

Algumas combinações possíveis da mistura ternária são representadas pelos pontos pertencentes ao triângulo (Figura 1). Os vértices correspondem aos componentes puros (pontos 1, 2 e 3) e os lados às misturas binárias (pontos 4, 5 e 6), enquanto o ponto situado (ponto 7) no interior do triângulo representa a misturas de três componentes (BARROS NETO, SCARMINIO e BRUNS, 2003).



**Figura 1** – Planejamento experimental de misturas do tipo simplex-centróide

Com os resultados obtidos no planejamento 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 (BARROS NETO, SCARMINIO e BRUNS, 2003). Normalmente o modelo canônico de Scheffé (1963) (Equação 2) é utilizado e ajustado aos dados experimentais e testados os modelos linear, quadrático e cúbico para a obtenção dos respectivos coeficientes de regressão.

$$y = \beta_1.x_1 + \beta_2.x_2 + \beta_3.x_3 + \beta_{12}.x_1.x_2 + \beta_{13}.x_1.x_3 + \beta_{23}.x_2.x_3 + \beta_{123}.x_1.x_2.x_3, \quad (\text{Eq. 2})$$

onde  $y$  é função resposta dos dados observados,  $\beta_1, \beta_2, \beta_3, \beta_{12}, \beta_{13}, \beta_{23}$  e  $\beta_{123}$  são os coeficientes estimados da regressão e  $x_1, x_2$  e  $x_3$  são os níveis codificados das variáveis dependentes, sendo  $1 > x_i > 0$  e  $\sum = 1,0$ .

### 2.11.1 Otimização Multi-resposta ou Desejabilidade

Um grande problema na área de alimentos é a multiplicidade de respostas em um planejamento experimental (CARNEIRO et al., 2005). Quando várias funções respostas estão envolvidas emprega-se o termo otimização de respostas combinadas ou otimização multi-resposta (ARTEAGA et al., 1994; CASTRO et al., 2003) para determinar a formulação que proporcione as melhores propriedades.

Através da otimização as variáveis respostas podem ser maximizadas ou minimizadas de acordo com o interesse tecnológico, empregando o planejamento de ensaios para identificar os níveis ótimos dos componentes (CASTRO et al., 2003).

A justaposição de gráficos para otimização de respostas combinadas, a partir de modelos polinomiais, normalmente é de baixa eficiência. Atualmente, os métodos de otimização empregando programas são automáticos. A função de desejabilidade é uma das técnicas que permite uma resolução para esse tipo de problema. Através do modelo matemático ajustado para cada variável resposta o programa buscará, dentro do espaço experimental, a combinação de fatores que resultará (preditivamente) na melhor resposta (CARNEIRO et al., 2005; CASTRO et al., 2003).

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 OBJETIVO GERAL

- Otimizar a formulação, caracterizar e avaliar a estabilidade de um produto de soja fermentado com cultura de kefir e fibras de soja, aveia e trigo

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar as fibras de soja, aveia e trigo quanto à composição química e propriedades funcionais.
- Aplicar o planejamento de misturas simplex-centróide para otimizar um produto de soja fermentado com cultura de kefir, utilizando fibras de soja, aveia e trigo.
- Avaliar as seguintes funções respostas nos produtos formulados: acidez, viscosidade, firmeza, sinerese e contagem de *Lactococcus lactis*.
- Caracterizar o produto otimizado quanto à composição química, cor e aceitação sensorial.
- Avaliar a estabilidade do produto otimizado e armazenado por 28 dias a 4°C, por meio de medidas de pH, acidez titulável, sinerese, viscosidade, firmeza e contagem dos micro-organismos da cultura de kefir.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 MATÉRIA-PRIMA E INGREDIENTES

Para elaboração do extrato hidrossolúvel de soja foi utilizada soja (*Glycine max* L. Merrill), cultivar BRS 257 (livre de lipoxigenases), safra 2009/2010, fornecida pela empresa Sementes Paraná Ltda.

Foram utilizadas fibras de soja, aveia e trigo. Para a fibra de soja foi utilizado um produto comercial da linha de produtos “Mais Vita”, da empresa Yoki Alimentos S.A., sendo adquirido no comércio local. As fibras de aveia e trigo foram adquiridas da empresa MasterSense Ingredientes & Aromas. O antiespumante e o aroma artificial de leite foram fornecidos pela empresa ProSabor Indústria e Comércio de

alimentos, e o aroma artificial de baunilha (Marca Dr. Oetker) foi adquirido no comércio local.

Para fermentação foi utilizada cultura starter de kefir liofilizada, composta por linhagens mistas de *Lactococcus lactis* ssp. *lactis*, *Lactococcus lactis* spp *lactis* biovar *diacetylactis*, *Lactobacillus brevis*, *Leuconostoc* e *Saccharomyces cerevisiae*. A cultura foi fornecida pela empresa Clerici-Sacco<sup>®</sup>, Brasil, sob a denominação comercial de Lyofast MT 036 LV.

### 4.2 CARACTERIZAÇÃO DAS FIBRAS DE SOJA, AVEIA E TRIGO

#### 4.2.1 Composição Química

Foi determinado o teor de proteínas, lipídios, cinzas, umidade, fibra alimentar solúvel, insolúvel e total (AOAC, 2006). Na determinação de fibra alimentar foi empregado o método enzimático-gravimétrico, por meio da ação das enzimas  $\alpha$ -amilase, protease e amiloglucosidase.

#### 4.2.2 Determinação das Propriedades Funcionais

Foi determinado a capacidade de adsorção de água, capacidade de absorção de água, capacidade de absorção de óleo, volume de intumescimento e cor das fibras de soja, aveia e trigo.

#### 4.2.2.1 Capacidade de adsorção de água

Para determinação da capacidade de adsorção de água (CDA) cerca de 1g de amostra foi colocada em equilíbrio em um micro-ambiente de umidade relativa de 98%, gerado por meio de uma solução salina de sulfato de potássio. Após 72h de armazenamento a 25°C, mediu-se a quantidade de água adsorvida (VÁZQUEZ-OVANDO et al., 2009). O resultado foi expresso como grama de água adsorvida por grama de amostra em base seca.

#### 4.2.2.2 Capacidade de absorção de água

A capacidade de absorção de água (CAA) foi realizada segundo Okezie e Bello (1988), onde uma suspensão de 1g de amostra e 50 mL de água foi centrifugada a 5300g por 20 min, desprezou-se o sobrenadante e mediu-se e quantidade de água absorvida. O resultado foi expresso como grama de água absorvida por grama de amostra em base seca.

#### 4.2.2.3 Capacidade de absorção de óleo

A capacidade de absorção de óleo (CAO) foi realizada segundo Okezie e Bello (1988), onde uma suspensão de 1g de amostra e 50 mL de óleo de soja (marca Coamo) foi centrifugada a 5300 g por 20 min, desprezou-se o sobrenadante e mediu-se e quantidade de óleo absorvido. O resultado foi expresso como grama de óleo absorvido por grama de amostra em base seca.

#### 4.2.2.4 Volume de intumescimento

Para determinação do volume de intumescimento (VI) cerca de 1g de amostra foi hidratada, em uma proveta com 25 mL de água e, após 18h de equilíbrio, foi observado o volume ocupado (ROBERTESON et al., 2000). O resultado foi expresso como volume ocupado (mL) por grama de amostra em base seca.

#### 4.2.2.5 Determinação da Cor

A cor das fibras de soja, aveia e trigo foi determinada em colorímetro Minolta CR-400 (Konica Minolta Sensing, Inc.), em triplicata, com iluminante D65. Os valores de  $L^*$  (luminosidade),  $a^*$  (componente vermelho-verde) e  $b^*$  (componente amarelo-azul) foram expressos no sistema de cor CIELAB.

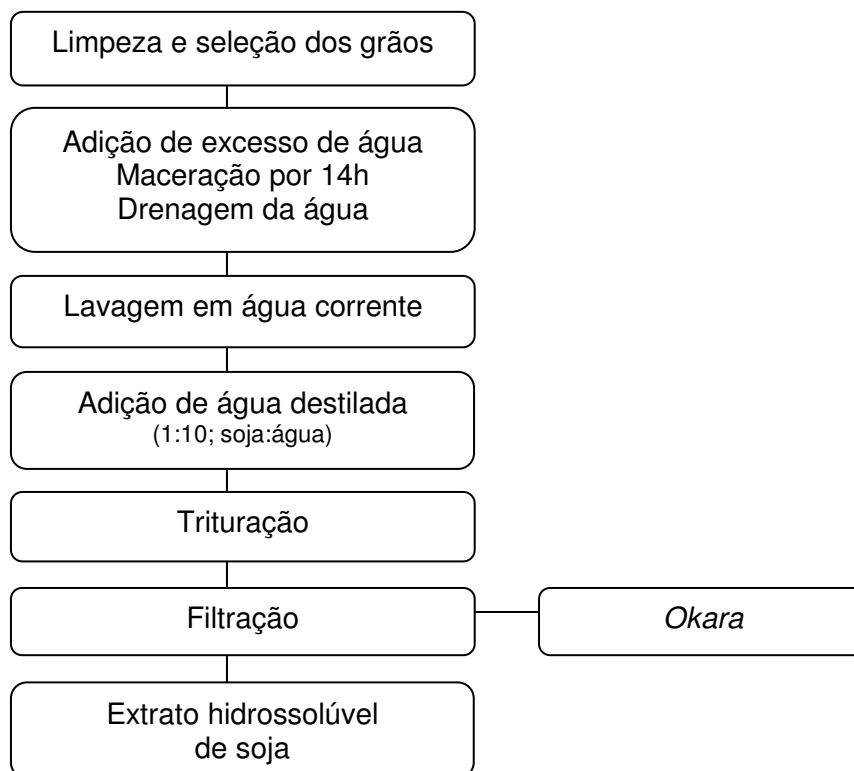
### 4.3 DESENVOLVIMENTO DOS PRODUTOS FERMENTADOS

#### 4.3.1 Preparo do Inóculo

A cultura comercial de kefir foi preparada seguindo as instruções do fabricante para casos de utilização em volume inferior aos recomendados no envelope. O extrato hidrossolúvel de soja foi esterilizado a 121 °C por 15min. Depois de resfriado (~10°C), foi adicionado a cultura de kefir (1 envelope de 5 UC para 1 L de extrato hidrossolúvel de soja), homogeneizado e distribuído em recipientes de 10 mL, sendo que em cada recipiente havia cultura suficiente para ser utilizada em 5 L de extrato hidrossolúvel de soja. Os recipientes foram congelados a -18°C, até o momento da utilização.

#### 4.3.2 Obtenção do Extrato Hidrossolúvel de Soja

O extrato hidrossolúvel de soja foi elaborado por meio das operações de seleção, lavagem, maceração, trituração e tratamento térmico. A relação entre o peso de soja e o volume de água foi 1:10 (p:v) (CHUN, KIM e KIM, 2008). Os grãos, após seleção e lavagem, foram macerados por 14h (CRUZ et al., 2009), triturados e filtrados para separação do resíduo (CHUN, KIM e KIM, 2008). O extrato hidrossolúvel de soja foi obtido (Figura 2) imediatamente antes da preparação dos produtos fermentados.



**Figura 2** - Obtenção do extrato hidrossolúvel de soja

#### 4.3.3 Formulação dos Produtos Fermentados de Soja

A formulação dos produtos fermentados de soja com kefir está apresentada na Tabela 2.

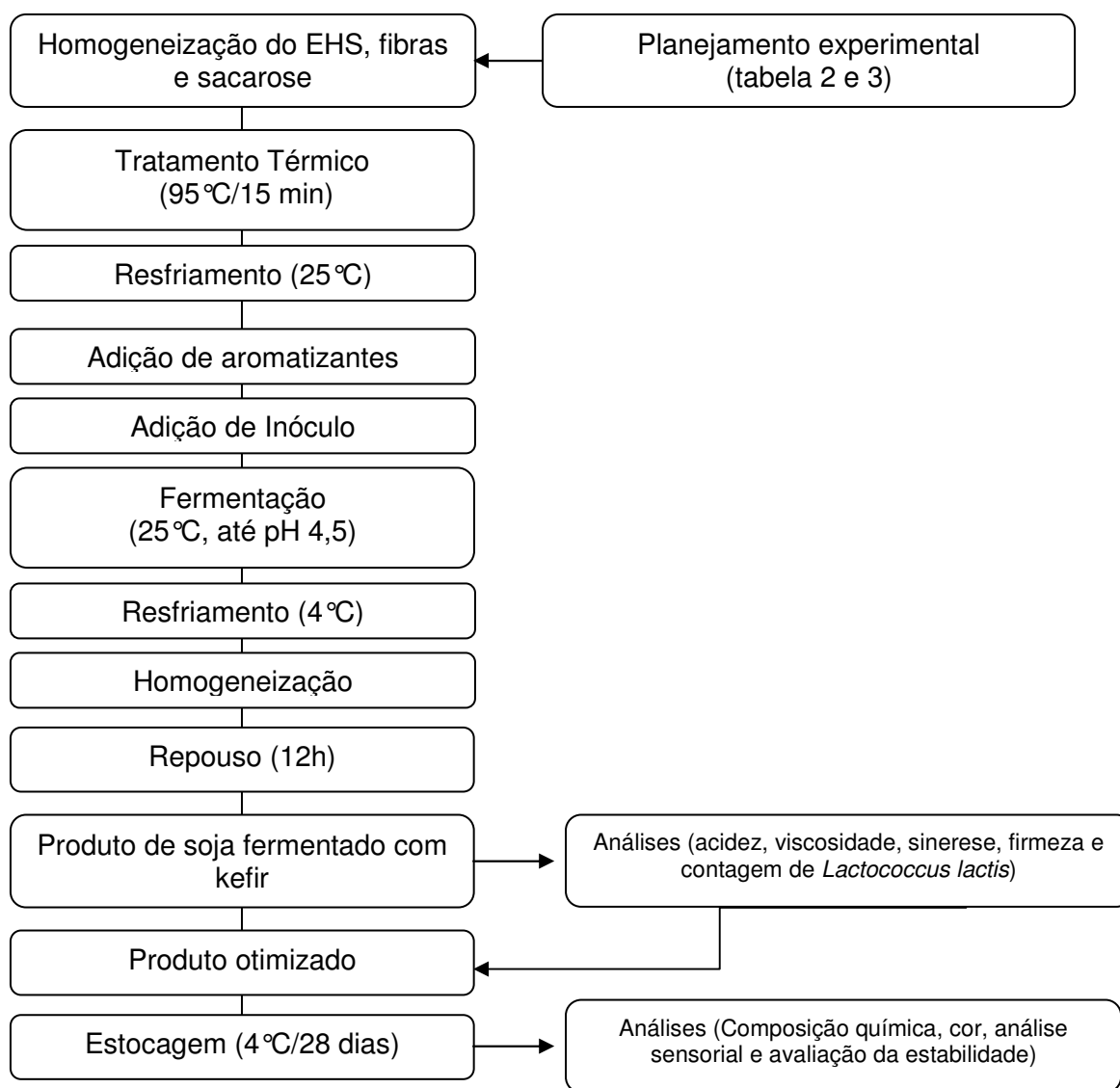
**Tabela 2** - Ingredientes para formulação dos produtos fermentados de soja

<b>Ingrediente</b>	<b>Proporção (%)</b>
Extrato hidrossolúvel de soja	87,7
Sacarose	9
Fibra de soja	
Fibra de Aveia	3
Fibra de Trigo	
Aroma de baunilha	0,1
Aroma de leite	0,1
Antiespumante	0,1

As fibras de soja, aveia e trigo compuseram 3% da formulação, sendo adicionadas aos produtos de acordo com o planejamento experimental simplex-centróide (item 4.4 e Tabela 3).

#### 4.3.4 Desenvolvimento dos Produtos Fermentados de Soja

O produto de soja fermentado foi desenvolvido conforme a Figura 3.



**Figura 3** - Desenvolvimento dos produtos de soja fermentados

Seguindo o planejamento experimental simplex-centróide (Tabelas 2 e 3), o extrato hidrossolúvel de soja, sacarose e fibras ( $X_1$ : fibra de soja;  $X_2$ : fibra de aveia;

X<sub>3</sub>: fibra de trigo) foram homogeneizados e tratados termicamente a 95 °C por 15 min (FERRAGUT et al., 2009), seguido de resfriamento até 25 °C para adição do inóculo. A quantidade de inóculo de kefir adicionada foi constante (0,01 UC.L<sup>-1</sup>) em todas as formulações, de modo a obter uma contagem inicial em torno de 1,0x10<sup>8</sup> UFC.g<sup>-1</sup> de *Lactococcus lactis*. O produto foi fermentado em recipientes com tampa semi-aberta e incubado a 25°C até atingir pH 4,5 ± 0,1. Em seguida as amostras foram homogeneizadas por 6 min em velocidade constante (Homogeneizador Contrac, Mod.1000) e armazenadas.

#### 4.4 EFEITO DA ADIÇÃO DE FIBRAS DE SOJA, AVEIA E TRIGO NAS CARACTERÍSTICAS DO PRODUTO DE SOJA FERMENTADO COM KEFIR

Para otimizar a formulação de produtos fermentados de soja contendo diferentes fontes de fibras (Tabela 3) foi utilizado o planejamento experimental simplex-centróide, com o intuito de investigar os possíveis efeitos dos ingredientes funcionais (fibra de soja, aveia e trigo) nas características dos produtos fermentados.

**Tabela 3.** Planejamento experimental simplex-centróide para desenvolvimento de produtos fermentados de soja com cultura de kefir contendo diferentes fontes de fibras

Ensaio	Proporção do componente* (variável codificada)			Quantidade de ingrediente** (g de fibra.100g <sup>-1</sup> de base)		
	x <sub>1</sub>	x <sub>2</sub>	x <sub>3</sub>	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>
01	1,00	0,00	0,00	3	0	0
02	0,00	1,00	0,00	0	3	0
03	0,00	0,00	1,00	0	0	3
04	0,50	0,50	0,00	1,5	1,5	0
05	0,50	0,00	0,50	1,5	0	1,5
06	0,00	0,50	0,50	0	1,5	1,5
07	0,33	0,33	0,33	1	1	1
08	0,33	0,33	0,33	1	1	1
09	0,33	0,33	0,33	1	1	1

\*x<sub>1</sub>: fibra de soja; x<sub>2</sub>: fibra de aveia; x<sub>3</sub>: fibra de trigo

\*\*X<sub>1</sub>: g de fibra de soja.100g<sup>-1</sup> de base; X<sub>2</sub>: g de fibra de aveia.100g<sup>-1</sup> de base; X<sub>3</sub>: g de fibra de trigo.100g<sup>-1</sup> de base.

As variáveis estudadas (Tabela 3) foram a fibra de soja ( $X_1$ ), fibra de aveia ( $X_2$ ) e fibra de trigo ( $X_3$ ), sendo que 3% foi o nível máximo de cada variável, em relação ao total da formulação (Tabela 2).

Neste planejamento foram realizados 09 ensaios, sendo três experimentos com ingredientes puros (ensaios 1, 2 e 3), três com misturas binárias (ensaios 4, 5 e 6), e um para mistura ternária (ensaio 7), com duas repetições no ponto central (ensaio 8 e 9), conforme Tabela 3. A realização dos ensaios foi de forma aleatória. Em paralelo aos ensaios delineados foi realizado um ensaio controle, utilizando a mesma formulação descrita na Tabela 2, exceto fibras, sendo que o volume de EHS foi ajustado para 90,7% para adequar as proporções dos ingredientes.

Foram avaliadas as seguintes funções respostas nos produtos fermentados: acidez ( $Y_1$ ), viscosidade ( $Y_2$ ), sinerese ( $Y_3$ ), firmeza ( $Y_4$ ) e contagem de *Lactococcus lactis* ( $Y_5$ ).

Para análise de regressão e variância e superfície de resposta foi utilizado o software *Statística 7.0* (STATSOFT, 2004).

#### 4.4.1 Procedimentos Analíticos

##### 4.4.1.1 Acidez

A acidez foi determinada conforme o método 016/IV do Instituto Adolfo Lutz (2008), com titulação com NaOH 0,1M. O resultado foi expresso em g de ácido láctico.100g<sup>-1</sup> de produto.

##### 4.4.1.2 Viscosidade

A viscosidade foi determinada utilizando Viscosímetro digital *Brookfield*, utilizando *spindle* 4, velocidade de 12 rpm, em 600 mL de amostra acondicionadas em béquer e mantidas a temperatura de refrigeração por 12 h após homogeneização.

#### 4.4.1.3 Firmeza

Para análise de firmeza as formulações foram submetidas ao texturômetro TA-XT2i (*Stable Micro Systems*), utilizando probe cilíndrico de acrílico P 25/L, profundidade de compressão de 10mm, velocidade de compressão do sensor de 2mm/s, força de *trigger* de 0,05 N e tempo de 0,5 segundos. Para o teste as formulações foram acondicionadas, após homogeneização, em recipientes de 100 mL e foram analisadas após 12 h de repouso sob refrigeração.

#### 4.4.1.4 Sinerese

A suscetibilidade à sinerese foi obtida adaptando-se o método de Guirguis et al. (1984), pela drenagem, em cinco replicatas do produto fermentado sobre uma malha de tecido tunil, colocada sobre funil acoplado à proveta graduada. A sinerese (mL de exsudato.100g<sup>-1</sup> de produto) foi expressa como volume de exsudato coletado após 2 h de refrigeração a 6°C. A sinérese foi determinada nas amostras após homogeneização e repouso de 12h sob refrigeração.

#### 4.4.1.5 Contagem de *Lactococcus lactis*

Esta determinação foi realizada em meio M17 (pH 7,2 ± 0,2), suplementado com cicloheximida (200 mg.L<sup>-1</sup>), por meio da semeadura em superfície e com incubação das placas a 30°C por 48 h, em anaerobiose (IRIGOYEN et al, 2005). O resultado foi expresso em log UFC.g<sup>-1</sup> do produto. A confirmação foi realizada por Coloração de Gram.

#### 4.4.5 Composição Química

A avaliação da composição química foi realizada no primeiro dia de armazenamento dos produtos de soja fermentado e otimizado segundo o planejamento experimental. Foi determinado o teor de proteínas, lipídios, cinzas, umidade e fibra alimentar total (AOAC, 2006). Para a determinação de fibra

alimentar total foi empregado o método enzimático-gravimétrico, através da ação das enzimas  $\alpha$ -amilase, protease e amiloglucosidase (AOAC, 2006).

#### 4.4.6 Análise das Condições Higiênico-sanitárias

As análises microbiológicas dos produtos fermentados com cultura de kefir foram realizadas em triplicata, como critério higiênico-sanitário para posterior submissão das amostras à análise sensorial.

Foram considerados os padrões exigidos para bebidas a base de soja e leites fermentados como critério para a análise, uma vez que a Resolução RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001 (BRASIL, 2001) não estabelece os padrões microbiológicos para bebida fermentada a base de soja.

Foram realizadas Contagem de Coliformes a 45°C, Contagem de *Bacillus cereus* e Pesquisa de *Salmonella* spp, seguindo a metodologia descrita na Instrução Normativa nº 62 de 26 de agosto de 2003 (BRASIL, 2003b).

#### 4.4.7 Análise Sensorial

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da Universidade Estadual de Londrina (UEL), conforme parecer nº 0163.0.268.000-10 (Anexo 1).

A avaliação sensorial das formulações do produto de soja fermentado foi realizada, em cabines individuais, com luz branca e as amostras servidas em copos plásticos de coloração branca, com quantidades padronizadas (aproximadamente 30 g), refrigeradas a  $10 \pm 2^\circ\text{C}$  e codificadas com números aleatórios de três dígitos. As formulações foram avaliadas após assegurar que os níveis de patógenos estavam abaixo do padrão estabelecido pela legislação vigente (BRASIL, 2001).

Participaram da avaliação sensorial 68 provadores não treinados, de ambos os sexos, constituídos de alunos, professores e funcionários da UEL. A ficha referente a coleta de dados do provador e o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido encontram-se, respectivamente, nos Anexo 2 e 3.

A análise sensorial foi realizada através de um teste de aceitação de atributos, onde os provadores receberam duas amostras (uma amostra do produto otimizado com fibras e uma amostra sem adição de fibras) monadicamente e de

forma seqüencial. Entre as amostras foi disponibilizado aos provadores água mineral e biscoito água e sal para limpeza da cavidade bucal. Os provadores foram instruídos a apontarem o quanto gostaram ou desgostaram do produto em relação aos atributos de cor, aroma, textura, sabor e aceitação global, através de uma escala hedônica de nove pontos estruturados variando de “Desgostei Extremamente (1)” a “Gostei Extremamente (9)” (STONE e SIDEL, 2004). A ficha utilizada encontra-se no Anexo 4.

#### 4.5 AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE NO ARMAZENAMENTO DOS PRODUTOS FERMENTADO DE

##### SOJA COM KEFIR

As características de pH, acidez expressa em ácido láctico, sinerese, viscosidade, firmeza e contagem de micro-organismos da cultura de kefir nos produtos formulados foram avaliadas, por um período de 28 dias, em intervalos de 7 dias, com estocagem a 4°C.

##### 4.5.1 Determinações Físicas e Químicas

O pH foi determinado utilizando um potenciômetro digital (Hanna, HI 223), previamente calibrado com soluções tampões comerciais pH 4,0 e 7,0. Foram determinadas também a acidez (item 4.4.1.1) viscosidade (item 4.4.1.2), firmeza (item 4.4.1.3) e sinerese (item 4.4.1.4).

##### 4.5.2 Determinação da Viabilidade Celular das Culturas de Kefir nos Produtos Fermentados

A contagem de bactérias lácticas foi realizada em meio MRS (pH 6,5 ± 0,2), suplementado com Cicloheximida (200 mg.L<sup>-1</sup>). Foi realizada semeadura em superfície e as placas foram incubadas a 30°C por 72 h, em anaerobiose (IRIGOYEN et al., 2005). O resultado foi expresso em log UFC.g<sup>-1</sup> do produto. A confirmação foi realizada por Coloração de Gram.

A contagem de *Lactococcus* spp foi determinada conforme o item 4.4.1.5.

A contagem de *Leuconostoc* spp foi realizada em meio MSE. Foi realizada semeadura em superfície e as placas foram incubadas a 22°C por 4 dias (FONTÁN

et al., 2006). O resultado foi expresso em  $\log \text{UFC.g}^{-1}$  do produto e a confirmação realizada por Coloração de Gram.

A contagem de leveduras foi realizada em Ágar Extrato de Levedura Glicose Cloranfenicol (YEGC) por semeadura em superfície e as placas incubadas a 25°C por 5 dias, em aerobiose. As colônias foram identificadas por análise microscópica (FONTÁN et al., 2006). O resultado foi expresso em  $\log \text{UFC.g}^{-1}$  do produto.

#### 4.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para análise das características químicas e funcionais das fibras de soja, aveia e trigo foi aplicado a Análise de Variância (ANOVA) e teste de Tukey ( $p < 0,05$ ) para comparação de médias.

Para análise de regressão e variância e superfície de resposta, foi utilizado o software *Statistica 7.0* (STATSOFT, 2004). As funções respostas obtidas foram analisadas e o modelo canônico de Scheffé (1963) (Equação 3) foi ajustado aos dados experimentais e testados os modelos linear, quadrático e cúbico para a obtenção dos respectivos coeficientes de regressão.

$$y = \beta_1.X_1 + \beta_2.X_2 + \beta_3.X_3 + \beta_{12}.X_1.X_2 + \beta_{13}.X_1.X_3 + \beta_{23}.X_2.X_3 + \beta_{123}.X_1.X_2.X_3, \quad (\text{Eq. 3})$$

onde  $y$  é função resposta dos dados observados,  $\beta_1, \beta_2, \beta_3, \beta_{12}, \beta_{13}, \beta_{23}$  e  $\beta_{123}$  são os coeficientes estimados da regressão e  $x_1, x_2$  e  $x_3$  são os níveis codificados das variáveis dependentes, sendo  $1 > x_i > 0$  e  $\sum = 1,0$ . Para cada função resposta investigada, foram gerados gráficos de superfície de resposta e parâmetros de desejabilidade para otimizar a formulação do produto de soja fermentado com kefir e adição de fibras.

Após a obtenção do produto otimizado, os dados referentes a composição química, cor e análise sensorial foram submetidos ao teste t. A avaliação da estabilidade no armazenamento foi realizada pelo teste t para comparação do produto otimizado e do produto sem adição de fibras no mesmo período de armazenamento. A ANOVA e Teste de Tukey ( $p < 0,05$ ) foram realizados para comparar alterações no pH, acidez, viscosidade, firmeza, sinerese e contagem de micro-organismos de kefir ao longo do armazenamento dos produtos.

Os resultados foram expressos como média  $\pm$  desvio padrão e foram considerados significativamente diferentes quando  $p < 0,05$ . Todas as análises foram realizadas utilizando o software *Statistica 7.0* (STATSOFT, 2004).

## REFERÊNCIAS

- ACHOURI, A.; BOYE, J.I.; BELANGER, D.; CHIRON, T.; YAYLAYAN, V.A.; YEBOAH, F.K. Functional and molecular properties of calcium precipitated soy glycinin and the effect of glycation with  $\kappa$ -carrageenan. **Food Research International**, v.43, n.5, p. 1494-1504, 2010.
- AGERHOLM-LARSEN, L.; RABEN, A.; HAULRIK, N.; HANSEN, A.S.; MANDERS, M.; ASTRUP, N. Effect of 8 week intake of probiotic milk products on risk factors for cardiovascular diseases. **European Journal of Clinical Nutrition**, v.54, p. 288–297, 2000.
- ALEKEL, D.L.; GERMAIN, A.S.; PETERSON, C.T., HANSON, K.B.; STEWART, J.W.; TODA, T. Isoflavone-rich soy protein isolate attenuate bone loss in the lumbar spine of perimenopausal women. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 72, p. 844–852, 2000.
- AMIN, I.; MUKHRIZAH, O. Antioxidant capacity of methanolic and water extracts prepared from food-processing by-products. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 86, n.5, p. 778–784, 2006.
- ANDERSON, J.M.; SMITH, B.M.; WASHNOCK, C.S. Cardiovascular and renal benefits of dry bean and soybean intake. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 70, p. 464–474, 1999.
- ANDERSON, J. W.; JOHNSTONE, B. M.; COOK-NEWELL, M. E. Meta-analysis of the effects of soy protein intake on serum lipids. **The New England Journal of Medicine**, v. 133, p. 276-282, n. 5, 1995.
- ANDRES, A.; DONOVAN, S.M.; KUHLENSHMIDT, M.S. Soy isoflavones and virus infections. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 20, n. 8, p. 563-569, 2009.
- ANN, E. Y. ; KIM, Y. ; OH, S. ; IMM, J. Y. ; PARK, D. J. ; HAN, K. S. ; KIM, S. H. Microencapsulation of *Lactobacillus acidophilus* ATCC 43121 with prebiotic substrates using a hybridisation system. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 42, p. 411-419, 2007.
- AOAC. **Official Methods of Analysis of AOAC International** - Volume I and II, 18th Edition, Rev. 1, 2006.
- APLEVICZ, K.S.; DEMIATE, I.M. Análises físico-químicas de pré-misturas de pães de queijo e produção de pães de queijo com adição de okara. **Ciência e Agrotecnologia**, vol.31, p.1416-1422, n. 5, 2007.
- APORTELA-PALACIOS, A.; SOSA-MORALES, M.E.; VELEZ-RUIZ, J.F. Rheological and physicochemical behavior of fortified yogurt, with fiber and calcium. **Journal of Texture Studies**, v. 36, n.3, p. 333–349, 2005.

ARAÚJO, J. M. A.; CARLOS, J. C. S.; SEDYAMA, C. S. Isoflavonas em grãos de soja: importância da atividade de  $\beta$ -glicosidase na formação do sabor amargo e adstringente. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 17, n. 2, p.137-141, 1997.

ARTEAGA, G. E.; LI-CHAN, E.; VAQUEZ-ARTEAGA, M. C.; NAKAI, S. Systematic experimental design for product formulation optimization. **Trends in Food Science and Technology**, v. 5, p. 243-254, 1994.

BAJPAI, S.; SHARMA, A.; GUPTA, M.N. Removal and recovery of antinutritional factors from soybean flour. **Food Chemistry**, v.89, n.4, p.497-501, 2005.

BARRETO, A.C.S. Efeito da adição de fibras como substitutos de gordura em mortadela. 2007. 189p. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos). Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2007.

BARROS NETO, B.; SCARMINIO, I.S.; BRUNS, R.E. **Como fazer experimentos: Pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria**. Campinas: Editora Unicamp, 2<sup>ª</sup>ed, 2003.

BEASLEY, S.; TUORILA, H.; SARIS, P.E.J. Fermented soymilk with a monoculture of *Lactococcus lactis*. **International Journal of Food Microbiology**, v. 81, n.2, p. 159–162, 2003.

BLAGDEN, D.; GILLILAND, S.E. Reduction of levels of volatile components associated with the “beany” flavor in soymilk by *Lactobacilli* and *Streptococci*. **Journal of Food Science**, v. 70, n.3, p. 186–189, 2005.

BORDERÍAS, A.J.; SANCHEZ-ALONSO, I.; PEREZ-MATEOS, M. New applications of fibres in foods: addition to fishery products. **Trends in Food Science and Technology**, v.16, p. 458-465, 2005.

BOSAEUS, I. Fibre effects on intestinal functions (diarrhea, constipation and irritable bowel syndrome). **Clinical Nutrition Supplements**, v.1, p. 33–38, 2004.

BOWLES, S.; DEMIATE, I.V. Caracterização físico-química de okara e aplicação em pães do tipo francês. **Revista Ciência e Tecnologia Alimentos**, v. 26, n.3, 2006.

BRANDÃO, S. C. C. Novas gerações de produtos lácteos funcionais. **Indústria De Laticínios**, p. 64-66, 2002.

BRASIL, A.P.R.; REZENDE, S.T.; PELÚZIO, M.C.G.; GUIMARÃES, V.M. Removal of oligosaccharides in soybean flour and nutritional effects in rats. **Food Chemistry**, v. 118, n. 2, p.251-255, 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução n. 16, de 30 de abril de 1999. Aprova o Regulamento Técnico de Procedimentos para Registro de Alimentos e ou Novos Ingredientes. Brasília, 1999a.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução n. 17, de 30 de abril de 1999. Aprova o Regulamento Técnico que Estabelece as

Diretrizes Básicas para Avaliação de Risco e Segurança dos Alimentos. Brasília, 1999b.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução n. 18, de 30 de abril de 1999. Aprova o Regulamento Técnico que Estabelece as Diretrizes Básicas para Análise e Comprovação de Propriedades Funcionais e ou de Saúde Alegadas em Rotulagem de Alimentos. Brasília, 1999c.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução n. 19, de 30 de abril de 1999. Aprova o Regulamento Técnico de Procedimentos para Registro de Alimento com Alegação de Propriedades Funcionais e ou de Saúde em sua Rotulagem. Brasília, 1999d.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Alimentos com alegações de propriedades funcionais e ou de saúde, novos alimentos/ingredientes, substâncias bioativas e probióticos. Atualizado em agosto de 2007. IX – Lista das alegações de propriedades funcionais aprovadas. Disponível em: < [http://anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno\\_lista\\_alega.htm](http://anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno_lista_alega.htm)>. Acesso em 18 jul. 2010. 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 360 de 23 de Janeiro de 2003a. Aprova Regulamento Técnico sobre Rotulagem Nutricional de Alimentos Embalados, tornando obrigatória a rotulagem nutricional. <http://www.anvisa.gov.br/e-legis/>. Acesso em 22 nov. 2010. 2003a.

BRASIL. Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água (Anexo I), Instrução Normativa Nº 62, de 26 de agosto de 2003. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Diário Oficial da União**. Brasília, 18 de Setembro de 2003b.

BRASIL. Anvisa – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº02 de 07 de janeiro de 2002. Aprova Regulamento técnico de substâncias bioativas e probióticos isolados com alegação de propriedades funcional ou de saúde. Diário Oficial da República Federativa do Brasil. 9 jan. 2002. Disponível em : < <http://e-legis.bvs.br/leisref/public/showAct.php?id=1567&word=>>>. Acesso em 29 set. 2010. 2002.

BRASIL. Regulamento Técnico Sobre Padrões Microbiológicos Para Alimentos, Resolução - RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Diário Oficial da União**. Brasília, 2 de Janeiro de 2001.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – Assessoria de Gestão Estratégica. **Brasil – Projeções do Agronegócio: 2010/2011 a 2020/2021**. Brasília, DF, 2011. Disponível em [http://www.agricultura.gov.br/arq\\_editor/file/Ministerio/gestao/projecao/PROJECOES%20DO%20AGRONEGOCIO%202010-11%20a%202020-21%20-%202020\\_0.pdf](http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/Ministerio/gestao/projecao/PROJECOES%20DO%20AGRONEGOCIO%202010-11%20a%202020-21%20-%202020_0.pdf). Acesso em 25 jan. 2012.

- BRETT, C.T.; WALDRON, K.W. The Molecular Components of the Wall. In: BRETT, C.T.; WALDRON, K.W. **Physiology and Biochemistry of Plant Cell Walls**. 2ed. London: Chapman e Hall, 1996. p.5143.
- CARNEIRO, R.L.; SILVA, R.S.S.F.; BORSATO, D.; BONA, E. Métodos de gradiente para otimização simultânea: estudo de casos de sistemas alimentares. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 26, n. 3, p. 353-362, 2005.
- CARRÃO-PANIZZI, M. C. Melhoramento genético da soja para a obtenção de cultivares mais adequados ao consumo humano. **Revista Brasileira de Nutrição Clínica**, v. 15, n. 2, p. 330-340, 2000.
- CARROL, K. K.; KUROWSKA, E. M. Soy consumption and cholesterol reduction: review of animal and human studies. **The Journal of Nutrition**, v. 125, n. 3, p. 594-597, 1995.
- CASTRO, I. A.; SILVA, R. S. F.; TIRAPEGUI, J.; BORSATO, D.; BONA, E. Simultaneous optimization of response variables in protein mixtures formulation: constrained simplex method approach. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 38, p. 103-110, 2003.
- CASTRO, I.A.; TIRAPEGUI, J.; SILVA, R.S.F. Development of protein mixtures and evaluation of their sensory properties using the statistical response surface methodology. **International Journal of Food Science and Nutrition**, v.49, p.453-461, 1998.
- CAVALHEIRO, S.F.L.; TININIS, C.R.C.S.; TAVANO, O.L.; CUSTÓDIO, M.F.; ROSSI, E.A.; CARDELLO, H.M.A.B. Biscoito sabor chocolate com resíduo de soja, "okara": teste afetivo com crianças em idade pré-escolar. **Revista Alimentos e Nutrição**, v.12, p.151-162, 2001.
- CHAMPAGNE, C.P.; GREEN-JOHNSON, J.; RAYMOND, Y.; BARRETTE, J.; BUCKLEY, N. Selection of probiotic bacteria for the fermentation of a soy beverage in combination with *Streptococcus thermophilus*. **Food Research International**, v. 42, n.5-6, p. 612-621, 2009.
- CHANDALIA, M.; GARG, A.; LUTJOHANN, D.; VON BERGMANN, K.; GRUNDY, S.M.; BRINKLEY, L.J. Beneficial effects of high dietary fiber intake in patients with type 2 diabetes mellitus. **The New England Journal of Medicine**, v. 342, p. 1392–1398, 2000.
- CHAU, C. F.; HUANG, Y. L. Characterization of passion fruit seed fibres—a potential fibre source. **Food Chemistry**, v. 85, n. 2, p. 189-194, 2004.
- CHAU, C.F.; HUANG, Y.L. Comparison of the chemical composition and physicochemical properties of different fibres prepared from peel of *Citrus sinensis* L-Cv. *Liucheng*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.51, p. 2615–2618, 2003.

CHEN, H.L.; LU, Y.H.; LIN, J.; KO, L.Y. Effects of fructooligosaccharide on bowel function and indicators of nutritional status in constipated elderly men. **Nutrition Research**, v.20, p. 1725–1733, 2000.

CHEN, H.; LI-JUN, L.; JIAN-JUN, Z.; BO, X.; RUI, L. Chemical composition analysis of soybean oligosaccharides and its effect on ATPase activities in hyperlipidemic rats. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 46, n. 2, p. 229-231, 2010.

CHOU, C.C.; HOU, J.W. Growth of bifidobacteria in soymilk and their survival in the fermented soymilk drink during storage. **International Journal of Food Microbiology**, v. 56, p. 113-121, 2000.

CHUMCHUERE, S.; ROBINSON, R.K. Selection of starter cultures for the fermentation of soya milk. **Food Microbiology**, v. 16, n.2, p. 129–137, 1999.

CHUN, J.; KIM, J.S.; KIM, J.H. Enrichment of isoflavone aglycones in soymilk by fermentation with single and mixed cultures of *Streptococcus infantarius* 12 and *Weissella* spp. 4. **Food Chemistry**, v.109, p.278-284, 2008.

COLLADO, M.C.; MERILUOTO, J.; SALMINEN, S. Adhesion and aggregation properties of probiotic and pathogen strains. **European Food Research and Technology**, v. 226, p. 1065–1073, 2008.

COPPINI, L. Fibras alimentares e ácidos graxos de cadeia curta. In: WEITZBERG, D. L. **Nutrição oral, enteral e parenteral na prática clínica**. 3ed. São Paulo: Atheneu, 2001.

COPPOLA, M.M.; TURNES, G. Probióticos e a resposta imune. **Ciência Rural**, v.34, n.4, p.1297-1303, 2004.

COSCIONE, A.R.; ANDRADE, J.C.; MAY, G.M. O modelamento estatístico de misturas: experimento tutorial usando voltametria de redissolução anódica. **Química Nova**, vol.28, n.6, p. 1116-1122, 2005.

CRUZ, N.S.; CAPELLAS, M.; JARAMILLO, D.P.; TRUJILLO, A.J.; GUAMIS, B.; FERRAGUT, V. Soymilk treated by ultra high-pressure homogenization: Acid coagulation properties and characteristics of a soy-yogurt product. **Food Hydrocolloids**, v. 23, n.2, p. 490-496, 2009.

CUENCA, M. M.; QUICAZÁN, M. C. Comparación de la fermentación de bebida de soya e leche de vaca utilizando un cultivo láctico comercial. **Ingeniería y competitividad**, v. 5, n.2, p. 16-22, 2004.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K.L; FENNEMA, O.R. **Química de alimentos de Fennema**. Porto Alegre: Artmed, 4.ed, 2010.

DELLO STAFFOLO, M.; BERTOLA, N.; MARTINO, M.; BEVILACQUA, A. Influence of dietary fiber addition on sensory and rheological properties of yogurt. **International Dairy Journal**, v. 14, n.3, p. 263-268, 2004.

DENKOVA, Z.R.; MURGOV, I.D. Soy milk yoghurt. **Biotechnology and Biotechnology Equipment**, v. 19, n.1, p. 193–195, 2005.

DERVOSIGLU, M.; YAZICI, F. The effect of citrus fibre on the physical, chemical and sensory properties of ice cream. **Food Science and Technology International**, v.12, n.2, p. 159–164, 2006.

DIEPENMAAT-WOLTERS, M.G.E. Functional properties of dietary fibre in foods. In: **Food Ingredients Europe: Conference Proceeding**. p.162-164, 1993.

DONGOWSKI, G.; DRZIKOVA, V.; SENGE, B.; BLOCHWITZ, R.; GEBHARDT, E.; HABEL, A. Rheological behavior of  $\beta$ -glucan preparations from oat products. **Food Chemistry**, v.93, p. 279-292, 2005.

DUWAT, P.; CESSÉLIN, B.; SOURICE, S.; GRUSS, A. *Lactococcus lactis*, a bacterial model for stress responses and survival. **International Journal of Food Microbiology**, v. 55, p. 83-86, 2000.

EARLY, R. **Tecnología de los productos lácteos**. Zaragoza: Acribia, 1998. 459p.

EIRAS, S.P.; CUELBAS, C. J.; ANDRADE, J.C. Um estudo comparativo sobre a eficiência de estratégias quimiométricas de otimização. **Química Nova**, v. 17, n. 2, p. 216-219, 1994.

EL-NAGAR, G.; CLOWES, G.; TUDORICA, C.M.; KURI, V.; BRENNAN, C.S. Rheological quality and stability of yog-ice cream with added inulin. **International Journal of Dairy Technology**, v.55, n.2, p. 89–93, 2002.

EMBRAPA, 2011. Soja em números (safra 2010/2011). Disponível em: [http://www.cnpso.embrapa.br/index.php?op\\_page=294&cod\\_pai=16](http://www.cnpso.embrapa.br/index.php?op_page=294&cod_pai=16). Acesso em 30 de agosto de 2011.

FAO/ AGNS. **FAO, Technical Meeting Report on Prebiotics**. 2007. Disponível em: [http://www.fao.org/ag/agn/agns/files/Prebiotics\\_Tech\\_Meeting\\_Report.pdf](http://www.fao.org/ag/agn/agns/files/Prebiotics_Tech_Meeting_Report.pdf). Acesso em 30 jan. 2011.

FAO/WHO. Evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria: report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation, Córdoba, 2001. Disponível em: [ftp://ftp.fao.org/es/esn/food/probioreport\\_en.pdf](ftp://ftp.fao.org/es/esn/food/probioreport_en.pdf). Acesso em 21 jul. 2010.

FARNWORTH, E. R.; MAINVILLE, I. Kefir: a fermented milk product. In: FARNWORTH, E. R. (Ed.). **Handbook of fermented functional foods**. Boca Raton: CRC, p. 77-112, 2003.

FAVARO TRINDADE, C. S.; TERZI, S.C.; TRUGO, L.C.; DELLO MODESTA, R. C.; COURI, S. Development and sensory evaluation of soy milk based yoghurt. **Archivos Lationamericanos de nutrición**, v. 51, n. 1, p. 100-104, 2001.

FDA. Food and Drug Administration (1999). FDA approves new health claim for soy protein and coronary heart disease. Disponível em: <<http://www.fda.gov>>. Acesso em 16 jul. 2010.

FDA. Food and Drug Administration (1991). Department of Health and Human Services. Food labeling: general requirements for health claims for food. Fed Regist. v. 56,p. 60537-66, 1991.

FERNÁNDEZ-GARCÍA, E.; MCGREGOR, J.U. Fortification of sweetened plain yogurt with insoluble dietary fiber, *Zeitschrift fur Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung*. **A European food research and technology**, v.204, n.6, p. 433–437, 1997.

FERRAGUT, V.; CRUZ, N.S.; TRUJILLO, A.; GUAMIS, B.; CAPELLAS, M. Physical characteristics during storage of soy yogurt made from ultra-high pressure homogenized soymilk. **Journal of Food Engineering**, v. 92, n. 1, p. 63-69, 2009.

FONTÁN, M.C.G.; MARTÍNEZ, S.; FRANCO, I.; CARBALLO, J. Microbiological and chemical changes during the manufacture of Kefir made from cows' milk, using a commercial starter culture. **International Dairy Journal**, v.16, n.7, 2006.

FOX, C. H.; EBERL, M. Phytic acid (IP6), novel broad spectrum anti-neoplastic agent: a systematic review. **Complementary Therapies in Medicine**, v.10, p.229–234, 2002.

FUCKS, R. H. B.; BORSATO, B.; BONA, E.; HAULY, M.C.O. Iogurte de soja suplementado com oligofrutose e inulina. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.25, n. 1, p. 175-181, 2005.

FULLER, R.; GIBSON, G.R. Modification of the intestinal microflora using probiotics and prebiotics. **Scandinavian Journal of Gastroenterology**, v. 32, n. 222, p. 28–31, 1997.

GARCÍA-PÉREZ, F.J.; SENDRA, E.; LARIO, Y.; FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J.; SAYAS-BARBERÁ, E.; PÉREZ-ALVAREZ, J.A. Rheology of orange fiber enriched yogurt. **Milchwissenschaft**, v. 61, n.1, p. 55–59, 2006.

GARRO, M. S.; VALDEZ, G. F.; GIORI, G. S. Temperature effect on the biological activity of *Bifidobacterium longum* CRL 849 and *Lactobacillus fermentum* CRL 251 in pure and mixed cultures grown in soymilk. **Food Microbiology**, v. 21, p. 511–518, 2004.

GENTA, H. D.; GENTA, M. L.; ÁLVAREZ, N. V.; SANTANA, M. S. Production and acceptance of a soy candy. **Journal of Food Engineering**, v. 53, p. 199-202, 2002.

GIBSON, G.R. Fibre and effects on probiotics (the prebiotic concept). **Clinical Nutrition Supplements**, v. 1, n.2, p. 25-31, 2004.

GIBSON, G. R. ; FULLER, R. Aspects of in vitro and in vivo research approaches directed toward identifying probiotics and prebiotics for human use. **Journal of Nutrition**, p. 391-395, 2000.

GIBSON, G.R.; PROBERT, H.M.; LOO, J.V.; RASTALL, R.A.; ROBERFROID, M.B. Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics. **Nutrition Research Reviews**, v.17, p. 259–275, 2004.

GILLILAND, S.E. Probiotics and prebiotics. In: MARTH, E.H., STEELE, J.L. **Applied Dairy Microbiology**. New York: Marcel Dekker, 2001.

GOLBITZ, P.; JORDAN, J. Soyfoods: Market and Products. In: **Soy Applications in Food**. RIAZ, M. N., New York: CRC Press, cap. 1, p. 2-21, 2006.

GOLOWCZYC, M.A.; GUGLIADA, M.J.; HOLLMANN, A.; DELFEDERICO, L.; GARROTE, G.L.; ABRAHAM, A.G.; SEMORILE, L.; ANTONI, G. Characterization of homofermentative lactobacilli isolated from kefir grains: potential use as probiotic. **Journal of Dairy Research**, v.75, p. 211–217, 2008.

GOLOWCZYC, M.A.; MOBILI, P.; GARROTE, G.L.; ABRAHAM, A.G.; ANTONI, G.L. Protective action of *Lactobacillus kefir* carrying S-layer protein against *Salmonella enterica* serovar enteritidis. **International Journal of Food Microbiology** , v.118, p. 264–273, 2007.

GOMES, A.M.P., MALCATA, F.X. Agentes probióticos em alimentos: aspectos fisiológicos e terapêuticos, e aplicações tecnológicas. **Boletim de Biotecnologia em Alimentos**, n. 64, p. 12-22, 1999.

GORDON, D. T. Intestinal health through dietary fiber, prebiotics, and probiotics. **Food Technology**, v. 56, n. 4, p. 23, abr., 2002.

GOTCHEVA, V.; HRISTOZOVA, E.; HROSTOZOVA, T.; GUO, M.; ROSHKOVA, Z.; ANGELOV, A. Assessment of potential probiotic properties of lactic acid bacteria and yeast strains. **Food Biotechnology**, v. 16, p. 211–225, 2002.

GUIRGUIS, N.; BROOME, M.C.; HICKEY, M.W. The effect of partial replacement of skim milk powder with whey protein concentrate on the viscosity and syneresis of yoghurt. **Australian Journal of Dairy Technology**, v. 91, n. 1, p. 33-35, 1984.

GUVEN, M; YASAR, K.; KARACA, O.B.; HAYALOGLU, A.A. The effect of inulin as a fat replacer on the quality of set-type low-fat yoghurt manufacture. **International Journal of Dairy Technology**, v. 58, n.3, p. 180–184, 2005.

HASHIM, I.B.; KHALIL, A.H.; AFIFI, H.S. Quality characteristics and consumer acceptance of yogurt fortified with date fiber. **Journal of Dairy Science**, v.92, n.11, p.5403-5407, 2009.

HOU, J.W., YU, R.C., CHOU, C.C. Changes in some components of soymilk during fermentation with bifidobacteria. **Food Research Internacional**, v.33, p. 393-397, 2000.

HUNGENHOLTZ, J.; SMID, E. J. Nutraceutical production with food-grade microorganisms. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 13, p. 497-507, 2002.

IMASSE, K.; TANAKA, A.; TOKUNAGA, K.; SUGANO, H.; ISHIDA, H.; TAKAHASHI, S. *Lactobacillus reuteri* tablets suppress *Helicobacter pylori* infection - a double-blind randomised placebo-controlled cross-over clinical study - *Kansenshogaku zasshi*. **Japanese Journal of Infectious Diseases**, v. 81, p. 387–393, 2007.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ (IAL). **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4 ed (1ª ed. digital). São Paulo, Instituto Adolfo Lutz, 2008. p. 1020.

IRIGOYEN, A.; ARANA, I.,CASTIELLA, M.; TORRE, P.; IBÁÑEZ, F.C. Microbiological, physicochemical, and sensory characteristics of kefir during storage. **Food Chemistry**, v. 90, n.4, p.613-620, 2005.

ISHIBASHI, N.; SHIMAMURA, S. Bifidobacteria: Research and development in Japan. **Food Technology**, v. 47, p. 126–135, 1993.

IZYDORCZYK, M.S.; CHORNICKA, T.L.; PAULLEYA, F.G.; EDWARDS, N.M.; DEXTER, J.E. Physicochemical properties of hull-less barley fibre-rich fractions varying in particle size and their potential as functional ingredients in two-layer flat bread. **Food Chemistry**, v.108, p. 561–570, 2008.

JACKSON, C. J.; DINI, J. P.; LAVANDIER, C.; RUPASINGHE, H. P. V.; FAULKNER, H.; POYSA, V.; BUZZELL, D.; GRANDIS, S. de. Effects of processing on the content and composition of isoflavones during manufacturing of soy beverage and tofu. **Process Biochemistry**, v. 37, p. 1117-1123, 2002.

JENAB, M.; THOMPSON, L. U. Role of phytic acid in cancer and other Diseases. In: REDDY, N. R.; SATHE, S. K. (Ed.) **Food Phytates**, Florida: CRC Press, 2002.

JENKINS, D.J.A.; KENDALL, C.W.C.; AUGUSTIN, L.S.A.; FRANCESCHI, S.; HAMIDI, M.; MARCHIE, A. Glycemic index: overview of implications in health and disease. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.76, p. 266–273, 2003.

JENKINS, D.J.A.; KENDALL, C.W.C.; VUKSAN, V.; VIDGEN, E.; PARKER, T.; FAULKNER, D. 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 of Clinical Nutrition**, v.75, p. 834–839, 2002.

JINAPONG, N.; SUPHNTHARIKA, M.; JAMNONG, P. Production of instant soymilk powders by ultrafiltration, spray drying and fluidized bed agglomeration. **Journal of Food Engineering**, v. 84, n. 2, p. 194-205, 2008.

KAMALY, K. M. Bifidobacteria fermentation of soybean milk. **Food Research International**, v. 30, n. 9, p.675-682, 1997.

KARR-LILIENTHAL, L.K.; KADZERE, C.T.; GRIESHOP, C.M.; FAHEY JR., G.C. Chemical and nutritional properties of soybean carbohydrates as related to nonruminants: A review. **Livestock Production Science**, v. 97, p. 1-12, 2005.

KEENAN, J.M.; GOULSON, M.; SHAMLIYAN, T.; KNUTSON, N.; KOLBERG, L.; CURRY, L. The effects of concentrated barley  $\beta$ -glucan on blood lipids in a population of hypercholesterolaemic men and women. **British Journal of Nutrition**, v. 97, p. 1162–1168, 2007.

KIMURA, Y. O. Alimentos simbióticos. **Revista Indústria de Laticínios**, n. 40, p. 22-23, 2002.

KUMURA, K.; TANOUE, Y.; TSUKAHARA, M.; TANAKA, T.; SHIMAZAKI, K. Screening of dairy yeast strains for probiotic applications. **Journal of Dairy Science**, v. 87, p. 4050–4056, 2004.

KUSHI, L.K.; MEYER, K.M.; JACOBS, D.R. Cereals, legumes, and chronic disease risk reduction: evidence from epidemiologic studies. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 70, p. 451–458, 1999.

KWAK, N.; JUKES, D. J. Functional foods. Part 1: the development of a regulatory concept. **Food Control**, v. 12, p.99-107, 2001.

LAJOLO, F.M. Alimentos funcionais. Uma visão geral. In: De Angelis, R.C. A importância dos alimentos vegetais na proteção da saúde: fisiologia da nutrição protetora e preventiva de enfermidade degenerativa. 2ª edição, São Paulo: Editora Atheneu, 2005.

LARRAURI, J.A. New approaches in the preparation of high dietary fibre powders from fruit by-products. **Food Science & Technology**, v.10, p.3-8, 1999.

LARKIN, T.A.; PRICE, W.E.; ASTHEIMER, L.B. Increased probiotic yogurt or resistant starch intake does not affect isoflavone bioavailability in subjects consuming a high soy diet. **Nutrition**, v.23, n.20, p.709-718, 2007.

LEE, C.M. Role of hydrodynamically active biopolymer ingredients in texture modification and physical stabilization of gel-based products. **Journal of Food Science**, v. 67, p. 902–908, 2002.

LEE, M. Y.; AHN, K. S.; KWON, O. K.; KIM, M. J.; KIM, M. K.; LEE, I. Y.; OH, S. R.; LEE, H. K. Anti-inflammatory and anti-allergic effects of kefir in a mouse asthma model. **Immunobiology**, v. 212, n. 4, p. 647-654, 2007.

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

LI, B.W.; CARDOZO, M.S. Nonenzymatic-gravimetric determination of total dietary fiber in fruits and vegetables. **Journal of AOAC International**, v.75, n.2, p.372-374, 1992.

LIENER, I.E. Implications of antinutritional components in soybean foods. **CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v.34, n.1, p.31-67, 1994.

LIU, C.; WANG, H.; CIU, Z.; HE, X.; WANG, X.; ZENG, X.; MA, H. Optimization of extraction and isolation for 11S and 7S globulins of soybean seed storage protein, **Food Chemistry**, v. 102, n. 4, p.1310-1316, 2007.

LIU, K.S. **Soybeans: Chemistry, technology and utilization**. New York: Chapman & Hall, 1997.

LIU, X.; JIN, J.; WANG, G.; HERBERT, S.J. Soybean yield physiology and development of high-yielding practices in Northeast China. **Field Crops Research**, v. 105, n3. p.157-171, 2008.

LOPITZ-OTSOA, F.; REMENTERIA, A.; ELGUEZABAL, N.; GARAIZAR, J. Kefir: Asymbiotic yeasts-bacteria community with alleged healthy capabilities. **Revista Iberoamericana de Micología**, v.23, p.67-74, 2006.

LOURENS-HATTINGH, A.; VILJEON, C.B. Yoghurt as probiotic carrier food. **International Dairy Journal**, v. 11, p. 1–17, 2001.

LYLY, M.; SALMENKALLIO-MARTILA, M.; SUORTTI, T.; AUTIO, K.; POUTANEN, K.; LAHTEENMAKI, L. Influence of Oat  $\beta$ -glucan preparations on the perception of mouthfeel and on rheological properties in beverage prototypes. **Cereal Chemistry**, v.80, n.5, p.536-541, 2003.

MALHOTRA, A.; COUPLAND, J.N. The effect of surfactants on the solubility, zeta potential, and viscosity of soy protein isolates. **Food Hydrocolloids**, v.18, p.101-108, 2004.

MALKKI, Y.; VIRTANEN, E. Gastrointestinal Effects of Oat Bran and Oat Gum: A review. **Food Science and Technology**, v. 34, n. 6, p. 337-347, 2001.

MANNING, T. S.; GIBSON, G. R. Prebiotics. **Best Practice & Research Clinical Gastroenterology**, v. 18, n. 2, p. 287-298, 2004.

MARTI DEL MORAL, A.; MORENO-ALIAGA, M. A.; HERNANDEZ, A. M. Efecto de los prebioticos sobre el metabolismo lipídico. **Revista Nutrición Hospitalaria**. XVIII, vol. 4, p. 181-188, 2003.

MARTÍNEZ-VILLALUENGA, C.; GÓMEZ, R. Characterization of bifidobacteria as starters in fermented milk containing raffinose family of oligosaccharides from lupin as prebiótico. **International Dairy Journal**, v.17, p.116-122, 2007.

MATSUMOTO, K.; WATANABE, Y.; YOKOYAMA, S. Okara, soybean residue, prevents obesity in a diet-induced murine obesity model. **Bioscience Biotechnology and Biochemistry**, v. 71, p. 720–727, 2007.

MATTILA-SANDHOLM, T.; MYLLÄRINEN, P.; CRITTENDEN, R.; MOGENSEN, G., FONDÉN, R.; SAARELA, M. Technological challenges for future probiotic foods. **International Dairy Journal**, v.12, p.173-182, 2002.

MCCANN, T.H.; FABRE, F.; DAY, L. Microstructure, rheology and storage stability of low-fat yoghurt structured by carrot cell wall particles. **Food Research International**, v.44, n.4, p.884-892, 2011.

MCDUGALL, G.J.; MORRISON, I.M.; STEWART, D.; HILLMAN, J.R. Plant cell walls as dietary fibre: range, structure, processing and function. **Journal Science Food Agriculture**, v.70, n.1, p.131-150, 1996.

MENEZES, E.W.; GIUNTINI, E.B.; LAJOLO, F. M. Perfil da ingestão de fibra alimentar e amido resistente pela população brasileira nas últimas três décadas. In: LAJOLO, F.M.; SAURA CALIXTO, F.; PENNA, E.W.; MENEZES, E.W. **Fibra Dietética en Iberoamérica: Tecnología y Salud – Obtención, Caracterización, Efecto Fisiológico y Aplicación en Alimentos**. São Paulo: Livraria Varela, 2001.

MENG, Q.E.; LEWIS, P.; WÄHÄLÄ, K.; ADERLERCREUTZ, H.; TIKKANEN, M. J. Incorporation of esterified soybean isoflavones with antioxidant activity into low density lipoprotein. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1438, p. 369-376, 1999.

MESSINA, M. J. Legumes and soybeans: overview of their nutrition profiles and health effects. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 70, p. 439-450, 1999.

MESSINA, M.J.; LOPRINZI, C.L. Soy for breast cancer survivors: a critical review of the literature. **The Journal of Nutrition**, v.131, p. 3095-3108, 2001.

MIYOSHI, A.; ROCHAT, T.; GRATADOUX, J. J.; LOIR, Y. L.; OLIVEIRA, S. C.; LANGELLA, P. Oxidative stress in *Lactococcus lactis*. **Genetics and Molecular Research**, v. 2, p. 348-359, 2003.

MOIRA, H. Future for dairy products in the functional foods market. **Australian Journal Dairy Technology**, v.58, p.98-103, 2003.

MONTANUCI, F.D. **Bebidas de Kefir com e sem inulina em versões integral e desnatada: elaboração e caracterização química, física, microbiológica e sensorial**. 2010. 139p. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2010.

MONTEIRO, M.R.P.; COSTA, N.M.B.; OLIVEIRA, M.G.A.; PIRES, C.V.; MOREIRA, M.A. Qualidade protéica de linhagens de soja com ausência do Inibidor de Tripsina Kunitz e das isoenzimas Lipoxigenases. **Revista Nutrição**, vol.17, n.2, p. 195-205, 2004.

MORAES F. P.; COLLA L. M. Alimentos Funcionais e Nutracêuticos: Definições, Legislação e Benefícios à Saúde. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 3, n.2, 99-112, 2006.

MORAIS, A.A.C.; SILVA, A.L. Valor nutritivo e funcional da soja. **Revista Brasileira de Nutrição Clínica**, v.15, p.306-315, 2000.

MORAIS, A. A.; SILVA, A. L. **Soja: suas aplicações**. Rio de Janeiro: Editora Médica e Científica, 1996. 259p.

MUJOO, R.; TRINH, D.T.; NG, P.K.W. Characterization of storage proteins in different soybean varieties and their relationship to tofu yield and texture. **Food Chemistry**, v.82, p. 265–273, 2003.

MUZZARELLI, R.A.A. Chitins and chitosans for the repair of wounded skin, nerve, cartilage and bone. **Carbohydrate Polymers**, v. 76, p. 167–182, 2009.

NAVARRETE-BOLANOS, J. C.; JIMENEZ-ISLAS, H.; BOTELLO-ALVAREZ, E.; RICO-MARTINEZ, R. Mixed Culture Optimization for Marigold Flower Ensilage via Experimental Design and Response Surface Methodology. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p.2206, 2003.

NETO, J.B.F. Perspectivas futuras da cultura da soja no Brasil: produção, produtividade, expansão de área. In: Proceedings Vii World Soybean Research Conference Iv International Soybean Processing And Utilization Conference Iii Congresso Mundial Da Soja, 2004. p.1203.

NICOLOSI, R. J.; WILSON, T. A. The anti-atherogenic effect of dietary soybean protein concentrate in hamsters. **Nutrition Research**, v. 17, n. 9, p. 1457-1467, 1997.

NOMOTO, K. Review prevention of infections by probiotics. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v.100, p. 583–592, 2005.

OKEZIE, B. O.; BELLO, A. B. Physicochemical and functional properties of Winged bean flour and isolate compared with soy isolate. **Journal of Food Science**, v. 53, n. 2, p. 450-454, 1988.

OLIVEIRA, M.N.; SIVIERI, K.; ALEGRO, H.A.; SAAD, A.M.I. Aspectos tecnológicos de alimentos funcionais contendo probióticos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.38, n.1, p. 1-21, 2002.

O'TOOLE, D. K. Characteristics and use of okara, the soybean seed residue from soy milk production: A review. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 47, p. 363–371, 1999.

OUHIDA, I.; PÉREZ, J.F.; GASA, J. Soybean (*Glycine max.*) cell wall composition and availability to feed enzymes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.50, n.7, p.1933-1938, 2002.

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

PIERMARIA.J.A.; CANAL, M.L.; ABRAHAM, A.G. Gelling properties of kefiran, a food-grade polysaccharide obtained from kefir grain. **Food Hydrocolloids**, v.22, p.1520-1527, 2008.

PIMENTEL, M.B. V. C.; FRANCKI, M. V.; GOLLÜCKE, B. P. A. **Alimentos funcionais**. Introdução às principais substâncias bioativas em alimentos. Livraria Varela: São Paulo, 2005.

PINEIRO, M.; STANTON, C. Probiotic bacteria: legislative framework requirements to evidence basis. **Journal of Nutrition**, v.137, n.3, p.850-853, 2007.

PINTADO, M.E.; LOPES DA SILVA, J.A.; FERNANDES, P.B.; MALCATA, F.X.; HOGG, T.A. Microbiological and rheological studies on Portuguese Kefir grains. **International Journal of Food Science and Technology**, v.31,p. 15–26, 1996.

POMERANZ, Y. **Functional properties of food components** (2<sup>a</sup> ed.), Academic Press, Inc., California, 1991.

POYSA, V.; WOODROW, L. Stability of soybean seed composition and its effect on soymilk and tofu yield and quality. **Food Research International**, v. 35, n.4, p.337-345, 2002.

PSZCZOLA, D.E. Fiber's new visibility. **Food Technology**, v.62, n.12, p. 61–71, 2008.

PUUPPONEN-PIMIÄ, R.; AURA, A.M.; OKSMAN-CALDENTEY, K.M.; MYLLÄRINEN, P.; SAARELA, M.; MATTILA-SANHOLM, T.; POUTANEN, K. Development of functional ingredients for gut health. **Trends in Food Science and Technology**, v.13, p.3-11, 2002.

QIANG, X.; YONGLIE, C.; QIANBING, W. Health Benefit application of functional oligosaccharides. **Carbohydrate Polymers**, v.77, n.3, p.435-441, 2009.

QUICAZÁN, M. C.; SANDOVAL, A.; PADILLA, G. Evaluación de la fermentación de bebida de soya con un cultivo láctico. **Revista Colombiana de Biotecnología**, v. 3, n. 2, p. 92-99, 2001.

RAMIREZ-SANTIAGO, C.; RAMOS-SOLIS,L.; LABOTA-CALLEROS, C.; PENA-VALDIVIA, C.; VERNON-CARTER, E.J.; RAMÍREZ-ALVAREZ, J. Enrichment of stirred yogurt with soluble dietary fiber from *Pachyrhizus erosus* L. *Urban*: Effect on syneresis, microstructure and rheological properties. **Journal of Food Engineering**, v. 101, n. 3, p. 229-235, 2010.

REDONDO-CUENCA, A.; VILLANUEVA-SUÁREZ, M.J.; RODRÍGUEZ-SEVILLA, M.D.; MATEOS-APARICIO, I. Chemical composition and dietary fibre of yellow and

green commercial soybeans (*Glycine max*). **Food Chemistry**, v.101, n.3, p. 1216-1222, 2007.

REDONDO-CUENCA, A.; VILLANUEVA-SUAREZ, M.J.; MATEOS-APARICIO, I. Soybean seeds and its by-product okara as sources of dietary fibre. Measurement by AOAC and Englyst methods. **Food Chemistry**, v.108,p.1099-1105, 2008.

REIS, A.; COIMBRA, M.A.; DOMINGUES, P.; FERRER-CORREIA, A.J.; DOMINGUES, M.R.M. Fragmentation pattern of underivatised xylo-oligosaccharides and their alditol derivatives by electrospray tandem mass spectrometry. **Carbohydrate Polymers**, v. 55, p. 401–409, 2004.

REN, H.; LIU, H.; ENDO, H.; TAKAGI, Y.; HAYASHI, T. Anti-mutagenic and anti-oxidative activities found in Chinese traditional soybean fermented products *furū*. **Food Chemistry**, v. 95, p. 71–76, 2006.

RIBLETT, R.C.; HERALD, T.J.; SCHMIDT, K.A.; TILLEY, K.A. Characterization of  $\beta$ -conglycinin and glycinin soy protein fractions from four selected soybean genotypes. **Journal of Agricultural and food chemistry**, v. 49, p. 4983–4989, 2001.

RIMADA, P.S.; ABRAHAM, A.G. Kefiran improves rheological properties of glucono- $\delta$ -lactone induced skim milk gels. **International Dairy Journal**, v.16, p. 33–39, 2006.

RINALDI, V.E.A.; NG, P.K.W.; BENNINK, M.R. Effects of extrusion on dietary fibre and isoflavone contents of wheat extrudates enriched with wet okara. **Cereal Chemistry**, v. 77, p. 237–240, 2000.

RIVERA-ESPINOZA, Y.; GALLARDO-NAVARRO, Y. Non-dairy probiotic products. **Food Microbiology**, v.27, p.1-11, 2010.

RIZZI, C.; GALEOTO, L.; ZOCCATELLI, G.; VINCENZI, S.; CHIGNOLA, R.; PERUFFO, A.D.B. Active soybean lectin in foods: quantitative determination by ELISA using immobilised asialofetuin. **Food Research International**, v. 36, n. 8, p.815-821, 2003.

ROBERFROID, M. B. Prebiotics and synbiotics: concepts and nutritional properties. **British Journal Nutrition**, Wallingford, v. 80, p. S197-S202, 1998.

ROBERFROID, M.B. Prebiotics: preferential substrates for specific germs? **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v.73 (suppl.), p.406-409, 2001.

ROBERFROID, M. B. Functional food concept and its application to prebiotics. **Digestive and Liver Disease**, v. 34, p. 105-10, 2002.

ROBERTSON, J.A.; MONREDON, F.D.; DYSSSELER, P.; GUILLON, F.; AMADO, R.; THIBAUT, J.F. Hydration Properties of Dietary Fibre and Resistant Starch: a European Collaborative Study. **LWT - Food Science and Technology**, v. 33, p.72-79, 2000.

- RODRIGUES, K. L.; CAPUTO, L. R. G.; CARVALHO, J. C. T.; EVANGELISTA, J. Antimicrobial and healing activity of kefir and kefir extract. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 25, n. 20, p. 404-408, 2005.
- RODRIGUEZ, R.; JIMENEZ, A.; FERNANDEZ-BOLA OS, J.; GUILL N, R.; HEREDIA, A. Dietary fibre from vegetable products as source of functional ingredients. **Trends in Food Science and Technology**, v.17, p. 3-15, 2006.
- ROMANIN, D.; SERRADELL, M.; MACIEL, D.G.; LAUSADA, N.; GARROTE, G.L.; RUMBO, M. Down-regulation of intestinal epithelial innate response by probiotic yeasts isolated from kefir. **International Journal of Food Microbiology**, v. 140, n.2-3, p.102-108, 2010.
- ROSTAGNO, M.A.; PALMA, M.; BARROSO, C.G. Short-term stability of soy isoflavones extracts: sample conservation aspects. **Food Chemistry**, v.93, p. 557–564, 2005.
- SAAD, S.M.I. Probióticos e prebióticos: o estado da arte. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.42, n.1, p. 1-16, 2006.
- SAARELA, M.; MOGENSEN, G.; FONDÉN, R.; MÄTTÖ, J.; MATTILA-SANDHOLM, T. Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties. **Journal of Biotechnology**, v. 84, n.3, p. 197-215, 2000.
- SAARELA, M.; VIRKAJARVI, I.; NOHYNEK, L.; VAARI, A.; MATTO, J. Fibres as carriers for *Lactobacillus rhamnosus* during freeze-drying and storage in apple juice and chocolate-coated breakfast cereals. **International Journal of Food Microbiology**, v.112, n.2, p.71-178, 2006.
- SÁNCHEZ-ALONSO, I.; JIMÉNEZ-ESCRIG, A.; SAURA-CALIXTO, F.; BORDERÍAS, A.J. Effect of grape antioxidant dietary fibre on the prevention of lipid oxidation in minced fish: Evaluation by different methodologies. **Food Chemistry**, v.101, p.372-378, 2007.
- SANDERS, M.E. Probiotics: considerations for human health. **Nutrition Reviews**, v.61, n.3, p.91-99, 2003.
- SANTOS, G.C.; BEDANI, R.; ROSSI, E.A. Utilização de resíduo de soja (okara) no desenvolvimento de um cereal matinal. **Revista Alimentos e Nutrição**, v.15, p.31-34, 2004.
- SAXELIN, M.; KORPELA, R.; MÄYRÄ-MÄKINEN, A. Introduction: classifying functional dairy products. In: MATTILA-SANDHOLM, T.; SAARELA, M. (Ed.). **Functional dairy products**, CRC Press, 2003.
- SCHEFFÉ, H. The simplex-centroid design for experiments with mixtures. **Journal of the royal statistical society. Series B (Methodological)**, vol 25, n.2, p.235-263, 1963.

- SCHEINBACH, S. Probiotics: functionality and commercial status. **Biotechnology Advanced**, v. 16, n. 3, p. 581-608, 1998.
- SCHEPPACH, W.; LUETHRS, H.; MELCHER, R.; GOSTNER, A.; SCHAUBER, J.; KUDLICH, T. Antiinflammatory and anticarcinogenic effects of dietary fibre. **Clinical Nutrition Supplements**, v. 1, n.2, p. 51–58, 2004.
- SEIBEL, N.F.; BELÉIA, A.D.P. Carboidratos das fibras de cotilédones e proteínas de produtos derivados de soja (*Glycine max* (L.) Merrill). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n.3, p.607-613, 2008.
- SENDRA, E; FAYOS, P.; FERNANDEZ-LÓPEZ, J.; BARBERÁ, S.; PÉREZ-ALVAREZ, J.A. Incorporation of citrus fibers in fermented milk containing probiotic bacteria. **Food Microbiology**, v, 25, p. 13–21, 2008.
- SENDRA, E.; KURI, V.; FERNANDEZ-LOPEZ, J.; SAYAS-BARBERA, E.; NAVARRO, C.; PEREZ-ALVAREZ, J.A.. Viscoelastic properties of orange fiber enriched yogurt as a function of fiber dose, size and thermal treatment. **Food Science and Technology**, v. 43, p. 708–714, 2010.
- SGARBIERI, V.C.; PACHECO, M.T.B. Alimentos funcionais fisiológicos. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.2, p. 7-19, 1999.
- SHAH, N. P. Probiotic bacteria: selective enumeration and survival in dairy foods. **Journal of Dairy Science**, California (USA), v. 83, p. 894-907, 2000.
- SHAH, N.P. Functional foods from probiotics and prebiotics. **Food Technology**, v. 55, p. 46–53, 2001.
- SILVA, J.B.; PRUDENCIO, S.H.; FELBERG, I.; DELIZA, R.; CARRÃO-PANIZZI, M.C. Aceitabilidade de bebidas preparadas a partir de diferentes extratos hidrossolúveis de soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.42, n.12, p. 1779-1784, 2007.
- SILVA, J.B.; FELBERG, I.; CARRÃO-PANIZZI, M.C.; LEE, S.Y.; PRUDÊNCIO, S.H. Relationships among sensory analysis, isoflavone and hexanal contents of soymilk powder. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.53, n.5, p.1197-1204, 2010.
- SIMOVA, E.; BESHKOVA, D.; ANGELOV, A.; HRISTOZOVA, T.; FRENGOVA, G.; SPASOV, Z. Lactic acid bacteria and yeasts in kefir grains and kefir made from them. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 28, p.1-6, 2002.
- SNYDER, H. E.; KWON, T. W. **Soybean utilization**. New York: AVI Book, 1987. 346p.
- STATSOFT Inc (2004). **STATISTICA** (data analysis software system), version 7. Tulsa, Oklahoma, USA.
- STONE, H.; SIDEL, J.L. **Sensory Evaluation Practices**. 3<sup>o</sup> ed. Academic Press, New York, NY. 2004. 408p.

TAMIME, A.Y.; MARSHALL, V.M.E.; ROBINSON, R.K. Microbiological and technological aspects of milks fermented by bifidobacteria. **Journal of Dairy Research**, v. 62, p. 151–187, 1995.

TAY, S.L.; XU, G.Q.; PERERA, C.O. Aggregation profile of 11S, 7S and 2S coagulated with GDL. **Food Chemistry**, v.91, n. 3, p. 457-462, 2005.

THARMARAJ, N. SHAH, N.P. Selective enumeration of *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacteria*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus*, and Propionibacteria. **Journal of Dairy Science**, v. 86, n. 7, p.2288-2296, 2003.

THYPPESWANY, J.S.; MULIMANI, V.H. Enzymatic degradation of raffinose oligosaccharides in soymilk by immobilized  $\alpha$ -galactosidase from *Gibberella fujidura*. **Process Biochemistry**, v. 38, p. 635-640, 2002.

TUDORICA, CM.; JONES, T.E.R.; KURI, V.; BRENNAN, C.S. The effects of refined barley  $\beta$ -glucan on the physico-structural properties of low-fat dairy products: curd yield, microstructure, texture and rheology. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.84, n.10, p. 1159–1169, 2004.

TUOHY, K. M.; PROBERT, H. M.; SMEJKAL, C. W.; GIBSON, G. R. Using probiotics and prebiotics to improve gut health. **Drug Discovery Today**, [S.I.], v. 8, n. 15, p. 692-700, 2003.

TURHAN, S. TEMIZ, H.; SAGIR, I. Utilization of wet okara in low-fat beef patties. **Journal of Muscle Foods**, v.18,p. 226-235, 2007.

URDANETA, E.; BARRRENETXE, J.; ARANGUREN, P.; IRIGOYEN, A.; MARZO, F.; IBÁÑEZ, F. Intestinal beneficial effects of kefir-supplemented diet in rats. **Nutrition Research**, v. 27, n. 10, p. 653-658, 2007.

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

VILLANUEVA, M.J.; YOKOYAMA, W.H.; HONG, Y.J.; BARTTLEY, G.E.; RUPÉREZ, P. Effect of high-fat diets supplemented with okara soybean by-product on lipid profiles of plasma, liver and faeces in Syrian hamsters. **Food Chemistry**, v. 124, p.72-79, 2010.

VINDEROLA, C.G., REINHEIMER, J.A. Enumeration of *L. casei* in the presence of *L. acidophilus*, bifidobacteria and lactic starter bacteria in fermented dairy products. **International Dairy Journal**, v.10, p.271-275, 2000.

WALDRON, K.W.; PARKER, M.L.; SMITH, A.C. Plant cell walls and food quality. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v.2, p.101-119, 2003.

- WALISZEWSKI, K. N.; PARDIO, V.; CARREON, E. Physicochemical and Sensory Properties of Corn Tortillas Made from Nixtamalized Corn Flour Fortified with Spent Soymilk Residue (okara). **Journal of Food Science**, v. 67, n. 8, p. 3194-3197, 2002.
- WANG, Q.; PAGÁN, J.; SHI, J. **Pectin from fruits**. Cap. 9, CRC Press LLC, 2002.
- WANG, Y.C.; YU, R.C.; YANG, H.Y.; CHOU, C.C. Sugar and acid contents in soymilk fermented with lactic acid bacteria alone or simultaneously with bifidobacteria. **Food Microbiology**, v.20, n.3, p.333-338, 2003.
- WOLF, W.J.; NELSEN, T.C. Partial purification and characterization of the 15S globulin of soybeans, a dimmer of glycinin. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 44, p. 785–791, 1996.
- WOOD, P. J. **Oat Bran**. St Paul, Minnesota, EUA: American Association of Cereal Chemists, Inc, 1993.
- WOOD, P. J.; BEER, M. U. Functional oat product. In: Mazza, G (Ed). **Functional Foods: Biochemical & Processing Aspects**. Technomic Publication Company. Inc. Lancaster, 1998, 460 p.
- YÜKSEKDAG, Z.N.; BEYATIL, Y.; ASLIM, B. Determination of some characteristics coccoid forms of lactic acid bacteria isolated from Turkish kefir with natural probiotic. **LWT - Food Science and Technology**, v.37, n.6, p.663-667, 2004.
- ZIEMER, C.J.; GIBSON, G.R. An overview of probiotics, prebiotics and synbiotics in the functional food concept: perspectives and future strategies. **International Dairy Journal**, v.8, p.473-479, 1998.
- ZOUL, K.; LAUX, J. J.; YU, L. Comparison of Swiss red wheat grain and fractions for their antioxidant properties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 5, p. 1118-1123, 2004.
- ZUBILLAGA, M.; WEILL, R.; POSTAIRE, E.; GOLDMAN, C.; CARO, R.; BOCCIO, J.; Effect of probiotics and functional foods and their use in different diseases. **Nutrition Research**, v.21, p. 569–579, 2001.

## **5 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Os resultados obtidos estão redigidos na forma de artigos científicos.

## 5.1 ARTIGO A: OTIMIZAÇÃO DA FORMULAÇÃO DE PRODUTOS FERMENTADOS DE SOJA COM KEFIR E FIBRAS APLICANDO O PLANEJAMENTO DE MISTURAS SIMPLEX-CENTRÓIDE

### OTIMIZAÇÃO DA FORMULAÇÃO DE PRODUTOS FERMENTADOS DE SOJA COM KEFIR E FIBRAS APLICANDO O PLANEJAMENTO DE MISTURAS SIMPLEX-CENTRÓIDE

Tahis Regina Baú<sup>a</sup>, Sandra Garcia<sup>b</sup> e Elza louko Ida<sup>c</sup>

Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Estadual de Londrina, caixa postal 6001, CEP 86051-970, Londrina, Paraná, Brasil. E-mail: <sup>a</sup>tahisbau@yahoo.com.br; <sup>b</sup>sgarcia@uel.br; <sup>c</sup>elida@uel.br.

#### Resumo

O objetivo deste trabalho foi otimizar a formulação de produtos fermentados de soja com kefir e fibras de soja, aveia e trigo e avaliar as características das fibras e dos produtos. Para a otimização foi utilizado o planejamento de misturas simplex-centróide. Para formulação foi utilizado o extrato hidrossolúvel de soja com misturas de fibras de soja, aveia e trigo, sacarose e antiespumante, seguido de tratamento térmico, resfriamento e adição de aromatizantes. A fermentação foi realizada a 25 °C com cultura de kefir até atingir o pH de 4,5 e os produtos foram resfriados, homogeneizados e armazenados por 12h para análise. A partir dos modelos matemáticos, superfície de resposta e desejabilidade foi formulado um produto fermentado ótimo com 3% de fibra de soja que apresentou as melhores características de acidez, viscosidade, sinerese, firmeza e contagem de *Lactococcus lactis*.

**Palavras-chave:** Fibras. Cultura starter de Kefir. Produto probiótico. Otimização de formulação. Planejamento de misturas simplex-centróide.

#### 1 INTRODUÇÃO

O extrato hidrossolúvel de soja (EHS) possui aparência e composição química semelhante ao leite animal e pode ser utilizado como substrato para fermentação por bactérias lácticas (BEASLEY et al., 2003). O kefir é composto por uma mistura de bactérias e leveduras responsáveis pela fermentação ácido-alcoólica. Alguns desses micro-organismos são resistentes a sais biliares, baixo pH, possuem propriedade de adesão e capacidade de inibição de alguns patógenos intestinais. Portanto, o kefir

pode ser utilizado como um alimento potencialmente probiótico (ROMANIN et al., 2010). Segundo a legislação brasileira o *Lactococcus lactis*, micro-organismo que compõe a cultura de kefir, é um probiótico e deve apresentar no produto uma contagem mínima de  $10^6$  UFC.g<sup>-1</sup> (BRASIL, 2007).

O consumo de fibras reduz o risco de doenças cardiovasculares, câncer de cólon e obesidade e exerce outros efeitos fisiológicos. A ingestão diária recomendada de fibras é de 25 a 30g, sendo que 70 a 75% devem ser fibras insolúveis e 25% a 30% de fibras solúveis (DELLO-STAFFOLO et al., 2004). As fibras solúveis possuem também a propriedade de serem fermentadas pelas bactérias do cólon, produzindo ácidos graxos de cadeia curta, principalmente acetato, propionato e butirato (REDONDO-CUENCA et al., 2007).

A adição de fibras em alguns produtos alimentícios, além de exercer efeitos benéficos no organismo do humano, pode melhorar também as funções tecnológicas como a formação de géis, retenção de água ou lipídios, aumento da viscosidade, formação e estabilização de emulsões e de espumas, modificação na textura e na capacidade fermentativa dos produtos.

Produtos fermentados são usados como veículo para incorporar nutrientes e compostos bioativos. Entretanto, muitas pesquisas confirmaram alterações nas características dos produtos fermentados, após a incorporação de fibras provenientes de frutas e cereais (SENDRA et al., 2010). Em produtos fermentados como o iogurte, foram descritos a adição de fibra de maçã, trigo, bambu e inulina (DELLO STAFFOLO et al., 2004). As fibras naturais apresentam benefícios em produtos fermentados, pois conferem uma melhor textura e firmeza, reduzem a sinerese o que resulta em um produto com propriedades sensoriais aceitáveis (McCANN et al., (2011).

O objetivo deste trabalho foi otimizar a formulação de produtos fermentados de soja com kefir e fibras de soja, aveia e trigo e avaliar as características das fibras e dos produtos com aplicação do planejamento de misturas simplex-centróide.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 MATÉRIAS-PRIMAS E CULTURA STARTER

O EHS foi preparado com a cultivar de soja BRS 257, livre de lipoxigenases, doada pela empresa Sementes Paraná. Para formulação do produto de soja fermentado, foram utilizados os seguintes ingredientes: fibra de soja (Mais Vita - Yoki), aveia (Mastersense) e trigo (Mastersense). Os outros ingredientes como sacarose, antiespumante e aromatizante artificial de leite (Prosabor) e aromatizante artificial de baunilha (Dr. Oetker) foram adquiridos no comércio local.

Para fermentação foi utilizada cultura starter de kefir liofilizada (Sacco<sup>®</sup>-Lyofast MT 036 LV), composta por linhagens mistas de *Lactococcus lactis* ssp. *lactis*, *Lactococcus lactis* spp *lactis* biovar *diacetylactis*, *Lactobacillus brevis*, *Leuconostoc* e *Saccharomyces cerevisiae*.

### 2.2 PREPARO DO EHS

O EHS foi preparado após seleção e lavagem dos grãos de soja. Os grãos na proporção 1:10 (peso:volume; grãos de soja:água) foram macerados por 14h, triturados e filtrados para obter o EHS e o resíduo foi descartado.

### 2.3 PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL DO TIPO SIMPLEX-CENTRÓIDE PARA FORMULAÇÃO DE PRODUTOS FERMENTADOS DE SOJA

Para otimizar a formulação de produtos fermentados de soja foi utilizado o planejamento experimental para misturas do tipo simplex-centróide (SCHEFFÉ, 1963) com três componentes de diferentes fibras ( $X_1$ = fibra de soja,  $X_2$ = fibra de aveia e  $X_3$ = fibra de trigo) totalizando 09 ensaios (Figura 1). Os pontos 1, 2 e 3 (vértices do triângulo) corresponderam aos ingredientes de fibras de soja, aveia e trigo, respectivamente. Os pontos 4, 5 e 6 foram as misturas binárias de dois ingredientes. O ponto 7 (centro do triângulo) foi a mistura ternária dos três ingredientes. Os ensaios 8 e 9 foram as repetições do ponto central.

## 2.4 ESTUDO DA SUPERFÍCIE DE RESPOSTA E OTIMIZAÇÃO

A qualidade do ajuste dos modelos aos dados experimentais foi verificada pela análise de variância (ANOVA) da regressão e coeficiente de determinação ( $R^2$ ). As repetições forneceram os graus de liberdade para obter o erro puro e conseqüentemente, a análise da falta de ajuste. Todos os cálculos e construções dos gráficos foram realizados utilizando o programa *Statistica 7.0* (StatSoft Inc, 2004). A partir das funções respostas investigadas as formulações foram otimizadas a partir dos gráficos gerados da superfície de resposta e parâmetros de desejabilidade.

## 2.5 DESENVOLVIMENTO DA FORMULAÇÃO DE PRODUTOS FERMENTADOS DE SOJA COM KEFIR E FIBRAS

Foram realizados nove ensaios de misturas conforme especificado na figura 1. A composição da formulação controle (C) foi a mistura de 90,7% de EHS, 9% de sacarose e 0,1% de antiespumante. Esta foi submetida ao tratamento térmico a 95°C por 15 min segundo recomendações de Ferragut et al. (2009) e após o resfriamento até 25°C, foi adicionado 0,2% de aromatizantes de leite e baunilha e envasadas em frascos de vidro de 600 mL. Em seguida foi fermentada a 25°C com cultura de kefir (0,01 UC/L) até atingir o pH igual a  $4,5 \pm 0,1$ . Os frascos foram resfriados até 4°C, homogeneizados por 6 min em velocidade constante (Homogeneizador Contrac, Mod. 1000) e armazenados no mínimo por 12 h para realização das análises.

O planejamento experimental do tipo simplex-centróide (Figura 1) foi desenvolvido aleatoriamente e os nove ensaios foram realizados igual ao controle. Entretanto, nesses ensaios o volume de EHS foi ajustado para 87,7% para adequar as proporções de até 3% (p/p) de fibras de soja ( $X_1$ ), fibras de aveia ( $X_2$ ) e fibras de trigo ( $X_3$ ). Em todos os ensaios o teor de sólidos totais foi mantido constante, exceto para a formulação do controle.

Os nove diferentes produtos fermentados com kefir foram avaliados pelas seguintes funções respostas:  $y_1$  = acidez (g de ácido láctico.100g<sup>-1</sup> de amostra),  $y_2$  = viscosidade (*centipoise*),  $y_3$  = sinerese (mL de exsudato.100g<sup>-1</sup>),  $y_4$  = firmeza (Newton) e  $y_5$  = contagem de *Lactococcus lactis* (log UFC.g<sup>-1</sup>). O modelo canônico

de Scheffé (1963) (Equação 1) foi ajustado aos dados experimentais e testados os modelos linear, quadrático e cúbico para a obtenção dos respectivos coeficientes de regressão.

$$y = \beta_1.X_1 + \beta_2.X_2 + \beta_3.X_3 + \beta_{12}.X_1.X_2 + \beta_{13}.X_1.X_3 + \beta_{23}.X_2.X_3 + \beta_{123}.X_1.X_2.X_3, \quad (\text{Eq. 1})$$

onde  $y$  é função resposta dos dados observados,  $\beta_1$ ,  $\beta_2$ ,  $\beta_3$ ,  $\beta_{12}$ ,  $\beta_{13}$ ,  $\beta_{23}$  e  $\beta_{123}$  são os coeficientes estimados da regressão e  $x_1$ ,  $x_2$  e  $x_3$  são os níveis codificados das variáveis dependentes, sendo  $1 > x_i > 0$  e  $\sum = 1,0$ .

## 2.6 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E FUNCIONAL DAS FIBRAS

A composição química das fibras de soja, aveia e trigo foi realizada em triplicata conforme AOAC (2006). As características funcionais das fibras foram medidas pela capacidade de adsorção de água (CDA) conforme Vázquez-Ovando et al. (2009), capacidade de absorção de água (CAA) e capacidade de absorção de óleo (CAO) conforme Okezie e Bello (1988) e volume de intumescimento (VI) conforme Roberteson et al. (2000). A cor das fibras de soja, aveia e trigo, em triplicata, foi medida em colorímetro Minolta CR-400 (Konica Minolta Sensing, Inc.), com iluminante D65 e os resultados foram expressos conforme o sistema CIELAB ( $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$ ).

Os dados referente a caracterização das fibras foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA) e Teste de Tukey para comparação de médias ( $p < 0,05$ ).

## 2.7 CARACTERIZAÇÃO DOS PRODUTOS FERMENTADOS DE SOJA

O pH dos produtos fermentados foi determinado em potenciômetro digital (Hanna, HI 223). A acidez foi medida por titulação com NaOH 0,1M e expresso em g de ácido láctico.100g<sup>-1</sup> de amostra. A viscosidade foi determinada utilizando o viscosímetro digital *Brookfield*, com *spindle* 4, velocidade de 12 rpm, em 600 mL de amostra a  $4 \pm 1^\circ\text{C}$  e o resultado foi expresso em *centipoise*. A sinerese, em cinco replicatas, foi medida conforme modificação da metodologia descrita por Guirguis et al. (1984), no qual foi utilizado o tecido tunil sobreposto sob uma peneira para drenagem. A sinerese foi expressa como mL de exsudato.100g<sup>-1</sup> de amostra. A firmeza foi avaliada pelas medidas realizadas no texturômetro TA-XT2i (*Stable Micro*

*Systems*), com probe cilíndrico de acrílico P 25/L, profundidade de compressão de 10mm, velocidade de compressão do sensor de 2mm/s, força de trigger de 0,05 N e tempo de 0,5 segundos. A firmeza foi expressa em N. A contagem de *Lactococcus lactis* foi realizada segundo Irigoyen et al. (2005) e expressa em log UFC.g<sup>-1</sup> de produto.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 CARACTERIZAÇÃO DAS FIBRAS DE SOJA, AVEIA E TRIGO

As fibras de soja, aveia e trigo apresentaram diferenças na composição química (Tabela 1) e características funcionais (Tabela 2), devido a diferentes formas de processamento para sua obtenção e origem. O teor de umidade e cinzas das fibras apresentaram diferenças significativas. O teor de proteínas e lipídios da fibra de soja foi significativamente maior do que as fibras de aveia e trigo. O teor de fibra total, solúvel e insolúvel foi maior na fibra de trigo, seguido da fibra de aveia e soja. As CDA, CAA e VI da fibra de soja foi maior e diferiram das fibras de aveia e trigo, devido o elevado teor de proteínas da fibra de soja, reduzido teor de proteínas na fibra de aveia e ausência na fibra de trigo (Tabela 1). Segundo Damodaran et al. (2010) a capacidade de hidratação das proteínas está diretamente ligada a quantidade de resíduos de aminoácidos carregados e as moléculas de água podem ligar-se a diversos grupos funcionais nas proteínas. A fibra de trigo apresentou maior CAA e VI do que a fibra de aveia (Tabela 2), devido a sua propriedade de hidratação que também pode ser influenciada pela quantidade das fibras solúveis. Segundo Elleuch et al. (2011) a propriedade de hidratação também pode estar relacionada com a estrutura, composição química dos polissacarídeos, porosidade, tamanho de partícula, força iônica, pH, temperatura, etc.

Além das propriedades de hidratação, as fibras possuem a capacidade para reter o óleo. A fibra de trigo apresentou maior CAO do que a fibra de soja e aveia (Tabela 2). Assim, as elevadas CAA e CAO da fibra de trigo (Tabela 2), sugerem a possibilidade de utilizá-la como ingrediente em produtos fermentados. Segundo Grigelmo-Miguel e Martina-Belloso (1999) as fibras com elevada CAA podem ser aplicadas em alguns produtos alimentícios para evitar a sinerese e

modificar a viscosidade e textura. As fibras com elevada CAO podem ser utilizadas em alimentos ricos em gordura e emulsões, uma vez que facilitam a estabilização.

A cor dos ingredientes utilizados na formulação pode alterar a cor do produto final. A cor mais clara da fibra de trigo, medida pelo parâmetro  $L^*$ , foi maior do que na fibra de soja e aveia (Tabela 3). O parâmetro  $a^*$  (componente vermelho-verde) foi maior para a fibra de soja, seguido da fibra de aveia e trigo. A fibra de aveia foi mais amarela ( $b^*$ : componente amarelo-azul), seguida das fibras de soja e trigo. Os parâmetros de cor dos produtos também são importantes para a comercialização e aceitação do consumidor.

### 3.2 OTIMIZAÇÃO DA FORMULAÇÃO DE PRODUTOS FERMENTADOS DE SOJA COM KEFIR E ADIÇÃO DE FIBRAS

O pH dos produtos fermentados foi medido para controlar o término do processo fermentativo. Os produtos fermentados de soja com kefir apresentaram pH que variou de 4,41 a 4,62. Esta faixa de pH, segundo Chumchuere e Robinson (1999), foi considerada como ótima para formação do gel de EHS.

A partir dos valores médios das respectivas funções respostas (Tabela 4) dos nove ensaios realizados e aplicação do planejamento experimental de misturas simplex-centróide (Figura 1), foram obtidos os modelos das equações  $\hat{y}_1$  (g de ácido láctico.100g<sup>-1</sup> de amostra),  $\hat{y}_2$  (Viscosidade),  $\hat{y}_3$  (Sinerese),  $\hat{y}_4$  (Firmeza) e  $\hat{y}_5$  (Contagem de *Lactococcus lactis*) com os seus respectivos coeficientes de regressão e análise de variância dos modelos matemáticos (Tabela 5). Os modelos matemáticos  $\hat{y}_1$ ,  $\hat{y}_2$ ,  $\hat{y}_3$ ,  $\hat{y}_4$  e  $\hat{y}_5$  apresentaram efeitos linear e quadrático significativos ao nível de 95% de probabilidade e o termo cúbico não foi significativo para todos os modelos estudados. As equações dos modelos matemáticos não apresentaram falta de ajuste significativa ( $p \geq 0,05$ ) e os coeficientes de determinação  $R^2$  (Tabela 5) foram respectivamente de 0,89, 0,92, 0,83, 0,72 e 0,94. Portanto, estes modelos foram satisfatórios para explicar o efeito da adição de fibras de soja, aveia e trigo na formulação dos produtos fermentados de soja com kefir.

Para os produtos fermentados, apenas os termos lineares da acidez (função resposta  $\hat{y}_1$ ) foram significativos. Entretanto, os termos quadráticos foram considerados devido a contribuição no ajuste do modelo. Pelos coeficientes da equação ( $\hat{y}_1$ ) a variável  $X_1$  (fibra de soja) apresentou uma elevada contribuição

seguido de variável  $X_3$  (fibra de trigo) e  $X_2$  (fibra de aveia). Analisando a superfície de resposta (Figura 2a), observa-se que há uma tendência de aumentar o teor de acidez com aumento do conteúdo de fibra de soja ( $X_1$ ). A formulação do ensaio 1 contendo apenas fibra de soja apresentou maior teor de acidez ( $\hat{y}$ ) (Tabela 4). Para aumentar a acidez algumas fibras podem ser adicionadas na formulação de produtos fermentados e, dessa forma, fornecer nutrientes e estimular a cultura starter (FERNANDEZ-GARCIA e MCGREGOR, 1997). Os leites fermentados com kefir devem apresentar de 0,5 a 1,5 g de ácido láctico.100g<sup>-1</sup> de amostra conforme a legislação brasileira (BRASIL, 2000). Para produtos fermentados de soja ainda não há um padrão de qualidade estabelecido. Portanto, para obter um produto com acidez neste intervalo, houve também a contribuição da fibra de soja ( $X_1$ ). Valores similares de acidez em EHS fermentado foram relatados em outros trabalhos (BEASLEY et al., 2003; CRUZ et al., 2009).

Para os produtos fermentados de soja com kefir e adição de fibras a função resposta  $y_2$ = viscosidade (*centipoise*) apresentou apenas os termos lineares significativos. Pelos coeficientes da equação ( $\hat{y}_2$ ) a variável  $X_1$  (fibra de soja) apresentou uma elevada contribuição seguido da variável  $X_3$  (fibra de trigo) e em menor contribuição a variável  $X_2$  (fibra de aveia). Segundo Magenis et al. (2006), em geral, a viscosidade de produtos fermentados é uma característica muito importante na qualidade do produto. As fibras solúveis contribuem na formação de sistemas viscosos e, em baixas quantidades, também alteram as características dos produtos. A adição de diferentes fontes de fibras como de bambu, maçã e trigo ou inulina em iogurte afeta a viscosidade (DELLO STAFFOLO et al., 2004). Analisando a superfície de resposta (Figura 2b), observa-se a tendência de aumento linear da viscosidade com o aumento do teor de fibra de soja ( $X_1$ ). A formulação do ensaio 1 contendo apenas a fibra de soja e a formulação do ensaio 5 contendo a mistura binária de fibra de soja e trigo apresentaram maior valor de viscosidade ( $\hat{y}_2$ ). A elevada viscosidade dos produtos fermentados está relacionada com as características químicas e funcionais da fibra de soja que apresenta maior teor de proteína (Tabela 1) e maior CDA, CAA e VI (Tabela 2) do que as fibras de aveia e trigo. Os polímeros solúveis de alta massa molar, como as proteínas, aumentam a viscosidade, mesmo em concentrações baixas e a viscosidade segue uma relação exponencial com a concentração de proteína (DAMODARAN et al., 2010).

Com relação a sinerese (função resposta  $y_3$ ) dos produtos fermentados de soja com kefir e fibras apenas os termos lineares foram significativos. Pelos coeficientes da equação ( $\hat{y}_3$ ) a variável  $X_1$  (fibra de soja) apresentou uma menor contribuição seguido de variável  $X_3$  (fibra de trigo) e a variável  $X_2$  (fibra de aveia). A superfície de resposta (Figura 2c) apresenta uma tendência linear de redução da sinerese com o aumento do teor de fibra de soja ( $X_1$ ). A formulação do ensaio 1 contendo apenas fibra de soja apresentou menor valor de sinerese ( $\hat{y}_3$ ). Entretanto, no ensaio 2 contendo apenas a fibra de aveia ( $X_2$ ) e o ensaio 6 contendo a mistura binária de fibra de aveia e trigo apresentaram maior valor de sinerese (Tabela 4). A sinerese reduzida está relacionada também com as características químicas e funcionais da fibra de soja, devido o elevado teor de proteína (Tabela 1) e maior CDA, CAA e VI (Tabela 2) do que as fibras de aveia e trigo. Segundo Lucey (2001) a sinerese também está relacionada com a instabilidade da rede protéica, que reduz a capacidade de ligar a fase aquosa do produto. Em iogurtes com leite, as principais causas da separação do soro são a rápida acidificação, elevada temperatura de incubação, tratamento térmico excessivo, baixo teor de sólidos totais, agitação durante ou logo após a formação do coágulo e baixa produção de ácido com pH de 4,8 (LUCHEY, 2001). Resultados de sinerese similares ao investigado foram obtidos por Magenis et al. (2006) em produtos fermentados, no qual observaram que quanto menor o teor protéico maior o valor de sinerese. No produto fermentado sem adição de fibras a formulação controle apresentou maior valor de sinerese devido o menor conteúdo de sólidos totais, conforme confirmado também por Ünal et al. (2003). Entretanto, Antunes et al. (2004) também observaram que, além da quantidade, a composição do sólido também influencia a sinerese. Em iogurtes com leite a adição de diferentes fibras influenciou positivamente a sinerese conforme observado por Sendra et al. (2010). As funções resposta  $y_2$  (viscosidade) e  $y_3$  (sinerese) foram afetadas pela adição de fibras de soja que apresentou maior teor de proteínas (Tabela 1). Portanto, para formulação de um produto de soja fermentado com kefir com melhor viscosidade e sinerese recomenda-se a adição de fibras de soja.

Em produtos fermentados as características dos ingredientes adicionados estão diretamente relacionadas com a firmeza (ANTUNES et al., 2004). Para função resposta  $y_4$ = firmeza (N) dos produtos fermentados, apenas os termos lineares e quadráticos foram significativos. O termo quadrático  $\beta_{12}$  não foi significativo, entretanto, foi considerado devido a contribuição no ajuste do modelo. Pelos

coeficientes da equação ( $\hat{y}_4$ ) a variável  $X_1$  (fibra de soja) apresentou uma elevada contribuição seguida da variável  $X_3$  (fibra de trigo) e em menor contribuição a variável  $X_2$  (fibra de aveia). Analisando a superfície de resposta (Figura 2d), observa-se uma tendência de aumento da firmeza com a mistura binária da fibra de soja ( $X_1$ ) com a fibra de trigo ( $X_3$ ). O coeficiente do termo quadrático  $\beta_{13}$  da função resposta  $\hat{y}_4$  (firmeza) foi positivo e confirma que a combinação binária de fibra de soja ( $X_1$ ) com fibra de trigo ( $X_3$ ) apresenta um aumento na firmeza do produto fermentado. O mesmo também pode ser observado na formulação do ensaio 5 contendo a mistura binária da fibra de soja com fibra de trigo que apresentou maior valor de firmeza ( $y_4$ ). O coeficiente do termo quadrático  $\beta_{12}$  da função resposta ( $y_4$ ) foi negativo e confirmou-se que a combinação binária da fibra de soja ( $X_1$ ) com a fibra de aveia ( $X_2$ ) diminuiu a firmeza do produto fermentado. A adição de fibras naturais em produtos fermentados contribui com a firmeza e diminuição da sinerese (MCCANN et al., 2011). A adição de  $1\text{g}\cdot 100\text{mL}^{-1}$  de fibra de laranja em iogurte promoveu aumento na firmeza do gel e cremosidade do produto (SENDRA et al., 2010). Contudo, em iogurte de leite a adição de fibra de maçã diminuiu a firmeza, enquanto que a fibra de bambu e trigo aumentaram, sendo estes os preferidos pelos consumidores (DELLO STAFFOLO et al., 2004).

Os probióticos são micro-organismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, afetam positivamente a saúde do hospedeiro (FAO/WHO, 2001). Altas contagens desses micro-organismos em produtos foram sugeridas para compensar a possível redução durante a passagem pelo estômago e intestino. Para contagem de *Lactococcus lactis*, função resposta  $y_5$ , apenas os termos lineares e quadráticos foram significativos para os produtos fermentados de soja com kefir e adição de fibras. O termo quadrático  $\beta_{12}$  não foi significativo, entretanto, foi considerado devido a contribuição no ajuste do modelo. Pelos coeficientes da equação ( $\hat{y}_5$ ) a variável  $X_1$  (fibra de soja) apresentou uma elevada contribuição seguida da variável  $X_3$  (fibra de trigo) e em menor contribuição a variável  $X_2$  (fibra de aveia). A superfície de resposta (Figura 2e) apresenta uma tendência de aumento da contagem de *Lactococcus lactis* com o aumento do teor de fibra de soja ( $X_1$ ). Conforme previsto na legislação brasileira todas as formulações (Tabela 1) são probióticas devido a contagem mínima de  $6 \log \text{UFC}\cdot\text{g}^{-1}$  (BRASIL, 2007). Beasley et al. (2003) e Champagne et al. (2009) observaram que o EHS é um substrato adequado para o crescimento de *Lactococcus lactis*, com contagens que variaram

de  $10^8$  a  $10^{10}$  UFC.mL<sup>-1</sup>. A formulação do ensaio 1 contendo apenas a fibra de soja apresentou maior valor de contagem de *Lactococcus lactis* ( $\hat{y}_5$ ), possivelmente devido o maior teor de proteínas (Tabela 1). O mesmo também foi observado por Champagne et al. (2009) que relataram que o crescimento das bactérias lácticas foi estimulado com substratos que apresentaram maior capacidade tamponante devido maior teor de proteínas. Os coeficientes dos termos quadráticos  $\beta_{12}$  e  $\beta_{13}$  da função resposta  $\hat{y}_5$  foram negativos e indicaram que na formulação realizada com uma mistura binária de fibra de soja ( $X_1$ ) e aveia ( $X_2$ ) ou fibra de soja ( $X_1$ ) e trigo ( $X_3$ ), a contagem de *Lactococcus lactis* diminuiu. Em produtos fermentados, os efeitos da adição de vários tipos de ingredientes sobre a atividade de culturas lácticas depende do tipo e da concentração destes ingredientes (CHAMPAGNE et al., 2009) e de outros fatores como a presença de prebióticos ou micronutrientes.

Foi possível prever uma região ótima de formulação de um produto de soja fermentado com kefir e adição de fibras a partir da análise das funções resposta estimadas  $\hat{y}_1$ ,  $\hat{y}_2$ ,  $\hat{y}_3$ ,  $\hat{y}_4$  e  $\hat{y}_5$ , superfície de resposta (Figura 2) e parâmetros de desejabilidade (Figura 3). A desejabilidade global do produto formulado (Figura 3) ocorreu quando  $x_1=1$ ,  $x_2=0$  e  $x_3=0$  que correspondeu ao ensaio 1 (Tabela 4) com apenas 3% de fibra de soja ( $X_1$ ), que apresentou características ótimas de: maior acidez ( $y_1=0,514$  g de ácido láctico.100g<sup>-1</sup> de amostra), maior viscosidade ( $y_2=392,1$  centipoise), menor sinerese ( $y_3=8,1$  mL de exsudato.100g<sup>-1</sup>), firmeza adequada ( $y_4=0,204$  N) e maior contagem de *Lactococcus lactis* ( $y_5=9,48$  log UFC.g<sup>-1</sup>). Portanto, não houve necessidade de validar o modelo proposto, uma vez que o ponto ótimo coincidiu com o ensaio 1 contendo 3% de fibra de soja ( $X_1$ ).

#### 4 CONCLUSÃO

Foi otimizado um produto de soja fermentado com kefir e adição de 3% de fibra de soja com melhores características de acidez, viscosidade, sinerese, firmeza e contagem de *Lactococcus lactis*.

## REFERÊNCIAS

ANTUNES, A.E.C.; ANTUNES, A.J.; SILVA, K.; BOLINI CARDELLO, H.M.A. Elaboración de yogurt descremado con perfil de textura y syneresis similares al yogurt integral. **Alimentaria**, v. 356, p. 61-67, 2004.

AOAC. **Official Methods of Analysis of AOAC International** - Volume I and II, 18th Edition, Rev. 1, 2006.

BEASLEY, S.; TUORILA, H.; SARIS, P.E.J. Fermented soymilk with a monoculture of *Lactococcus lactis*. **International Journal of Food Microbiology**, v. 81, n.2, p. 159–162, 2003.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento e da Reforma Agrária, Resolução nº5 de 13 de novembro de 2000. Oficializa os Padrões de Identidade e Qualidade (PIQ) de Leites Fermentados. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 2000.

BRASIL, Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Alimentos com alegações de propriedades funcionais e ou de saúde, novos alimentos/ingredientes, substâncias bioativas e probióticos. Atualizado em agosto de 2007. IX – Lista das alegações de propriedades funcionais aprovadas. Disponível em: < [http://anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno\\_lista\\_alega.htm](http://anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno_lista_alega.htm)>. Acesso em 18 jul. 2010. 2007.

CHAMPAGNE, C.P.; GREEN-JOHNSON, J.; RAYMOND, Y.; BARRETTE, J.; BUCKLEY, N. Selection of probiotic bacteria for the fermentation of a soy beverage in combination with *Streptococcus thermophilus*. **Food Research International**, v. 42, n.5-6, p. 612-621, 2009.

CHUMCHUERE, S.; ROBINSON, R.K. Selection of starter cultures for the fermentation of soya milk. **Food Microbiology**, v. 16, n.2, p. 129–137, 1999.

CRUZ, N.S.; CAPELLAS, M.; JARAMILLO, D.P.; TRUJILLO, A.J.; GUAMIS, B.; FERRAGUT, V. Soymilk treated by ultra high-pressure homogenization: Acid coagulation properties and characteristics of a soy-yogurt product. **Food Hydrocolloids**, v. 23, n.2, p. 490-496, 2009.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K.L.; FENNEMA, O.R. **Química de alimentos de Fennema**. Porto Alegre: Artmed, 4.ed, 2010.

DELLO STAFFOLO, M.; BERTOLA, N.; MARTINO, M.; BEVILACQUA, A. Influence of dietary fiber addition on sensory and rheological properties of yogurt. **International Dairy Journal**, v. 14, n.3, p. 263-268, 2004.

ELLEUCH, M.; BEDIGIAN, D.; ROISEUX, O.; BESBES, S.; BLECKER, C.; ATTIA, H. Dietary fibre and fibre-rich by-products of food processing: Characterization, technological functionality and commercial applications: A review. **Food Chemistry**, v.124, n.2, p.411-421, 2011.

FAO/WHO. Evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria: report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation, Córdoba, 2001. Disponível em: <[ftp://ftp.fao.org/es/esn/food/probioreport\\_en.pdf](ftp://ftp.fao.org/es/esn/food/probioreport_en.pdf)>. Acesso em 21 jul. 2010.

FERNANDEZ-GARCIA, E.; MCGREGOR, J. U. Fortification of sweetened plain yogurt with insoluble dietary fiber. **Zeitschrift fur Lebensmittel-Untersuchung und-Forschung A-Food Research and Technology**, v. 204, n.6, p. 433-437, 1997.

FERRAGUT, V.; CRUZ, N.S.; TRUJILLO, A.; GUAMIS, B.; CAPELLAS, M. Physical characteristics during storage of soy yogurt made from ultra-high pressure homogenized soymilk. **Journal of Food Engineering**, v. 92, n. 1, p. 63-69, 2009.

GRIGELMO-MIGUEL, N.; CARRERAS-BOLADERAS, E.; MARTÍN-BELLOSO, O. Development of high-fruit-dietary-fibre muffins. **European Food Research and Technology**, v. 210, p. 123–128, 1999.

GUIRGUIS, N.; BROOME, M.C.; HICKEY, M.W. The effect of partial replacement of skim milk powder with whey protein concentrate on the viscosity and syneresis of yoghurt. **Australian Journal of Dairy Technology**, v. 91, n. 1, p. 33-35, 1984.

IRIGOYEN, A.; ARANA, I.; CASTIELLA, M.; TORRE, P.; IBÁÑEZ, F.C. Microbiological, physicochemical, and sensory characteristics of kefir during storage. **Food Chemistry**, v. 90, n.4, p.613-620, 2005.

LUCEY, J.A. The relationship between rheological parameters and whey separation in milk gels. **Food Hydrocolloids**, v.15, p.603–608, 2001.

MAGENIS, R.B.; P RUDÊNÇIO, E.S.; AMBONI, R.D.M.C.; CERQUEIRA Jr., N. G.; OLIVEIRA, R.V.B.; SOLDI, V.; BENEDET, H. D. Compositional and physical properties of yogurt manufactured from milk and whey cheese concentrated by ultrafiltration. **International Journal of Food Science and Technology**, London, v. 41, n. 5, p. 560-568, 2006.

MCCANN, T.H.; FABRE, F.; DAY, L. Microstructure, rheology and storage stability of low-fat yoghurt structured by carrot cell wall particles. **Food Research International**, v.44, n.4, p.884-892, 2011.

OKEZIE, B. O.; BELLO, A. B. Physicochemical and functional properties of Winged bean flour and isolate compared with soy isolate. **Journal of Food Science**, v. 53, n. 2, p. 450-454, 1988.

REDONDO-CUENCA, A.; VILLANUEVA-SUÁREZ, M.J.; RODRÍGUEZ-SEVILLA, M.D.; MATEOS-APARICIO, I. Chemical composition and dietary fibre of yellow and green commercial soybeans (*Glycine max*). **Food Chemistry**, v.101, n.3, p. 1216-1222, 2007.

ROBERTSON, J.A.; MONREDON, F.D.; DYSSSELER, P.; GUILLON, F.; AMADO, R.; THIBAUT, J.F. Hydration Properties of Dietary Fibre and Resistant Starch: a

European Collaborative Study. **LWT - Food Science and Technology**, v. 33, p.72-79, 2000.

ROMANIN, D.; SERRADELL, M.; MACIEL, D.G.; LAUSADA, N.; GARROTE, G.L.; RUMBO, M. Down-regulation of intestinal epithelial innate response by probiotic yeasts isolated from kefir. **International Journal of Food Microbiology**, v. 140, n.2-3, p.102-108, 2010.

SCHEFFÉ, H. The simplex-centroid design for experiments with mixtures. *Journal of the royal statistical society. Series B (Methodological)*, vol 25, n.2, p.235-263, 1963.

SENDRA, E.; KURI, V.; FERNANDEZ-LOPEZ, J.; SAYAS-BARBERA, E.; NAVARRO, C.; PEREZ-ALVAREZ, J.A. Viscoelastic properties of orange fiber enriched yogurt as a function of fiber dose, size and thermal treatment. **LWT - Food Science and Technology**, v. 43, p. 708–714, 2010.

SHAH, N. P. Probiotic bacteria: selective e enumeration and survival in dairy foods. **Journal of Dairy Science**, v. 83, p. 894-907, 2000.

StatSoft, Inc. STATISTICA (data analysis software system), version 7.0, 2004.

ÜNAL, B.; METIN, S.; I-KLI, N. D. Use of response surface methodology to describe the combined effect of storage time, locust bean gum and dry matter of milk on the physical properties of low-fat set yoghurt. **International Dairy Journal**, v. 13, p. 909-916, 2003.

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

**Tabela 1-** Composição química das fibras\* de soja, aveia e trigo

	<b>Fibra de soja</b>	<b>Fibra de aveia</b>	<b>Fibra de trigo</b>
<b>Umidade</b> (g.100g <sup>-1</sup> )	7,47 ± 0,01 <sup>b</sup>	9,90 ± 0,01 <sup>a</sup>	6,81 ± 0,22 <sup>c</sup>
<b>Cinzas</b> (g.100g <sup>-1</sup> )	4,03 ± 0,01 <sup>b</sup>	3,57 ± 0,01 <sup>c</sup>	5,37 ± 0,01 <sup>a</sup>
<b>Proteínas</b> (g.100g <sup>-1</sup> )	38,40 ± 0,37 <sup>a</sup>	1,78 ± 0,23 <sup>b</sup>	0,00 ± 0,00 <sup>c</sup>
<b>Lipídios</b> (g.100g <sup>-1</sup> )	1,26 ± 0,21 <sup>a</sup>	0,36 ± 0,08 <sup>b</sup>	0,37 ± 0,08 <sup>b</sup>
<b>Fibra Solúvel</b> (g.100g <sup>-1</sup> )	1,33 ± 0,30 <sup>b</sup>	0,99 ± 0,13 <sup>b</sup>	2,58 ± 0,20 <sup>a</sup>
<b>Fibra Insolúvel</b> (g.100g <sup>-1</sup> )	40,51 ± 0,61 <sup>c</sup>	75,28 ± 0,15 <sup>b</sup>	83,92 ± 0,15 <sup>a</sup>
<b>Fibra Total</b> (g.100g <sup>-1</sup> )	41,84 ± 0,65 <sup>c</sup>	76,27 ± 0,18 <sup>b</sup>	86,50 ± 0,30 <sup>a</sup>

\* base úmida

Médias ± desvio padrão na mesma linha acompanhadas de letras iguais não diferem estatisticamente (p≤0,05) pelo teste de Tukey.

**Tabela 2 -** Características funcionais das fibras de soja, aveia e trigo

	<b>Fibra de soja</b>	<b>Fibra de Aveia</b>	<b>Fibra de trigo</b>
<b>CDA</b> (g de água/g amostra b.s.)	0,284 ± 0,006 <sup>a</sup>	0,153 ± 0,005 <sup>b</sup>	0,146 ± 0,003 <sup>b</sup>
<b>CAA</b> (g de água/g amostra b.s.)	5,44 ± 0,18 <sup>a</sup>	2,96 ± 0,28 <sup>c</sup>	4,52 ± 0,38 <sup>b</sup>
<b>CAO</b> (g de óleo/g amostra b.s.)	1,66 ± 0,22 <sup>b</sup>	1,96 ± 0,20 <sup>b</sup>	3,20 ± 0,20 <sup>a</sup>
<b>VI</b> (mL/g amostra b.s.)	9,7 ± 0,48 <sup>a</sup>	3,2 ± 0,31 <sup>c</sup>	7,0 ± 0,07 <sup>b</sup>

Médias ± desvio padrão na mesma linha acompanhadas de letras iguais não diferem estatisticamente (p≤0,05) pelo teste de Tukey

CDA: capacidade de adsorção de água; CAA: capacidade de absorção de água; CAO: capacidade de absorção de óleo; VI: volume de intumescimento.

**Tabela 3 –** Parâmetros\* de cor das fibras de soja, aveia e trigo

	<b>Fibra de soja</b>	<b>Fibra de Aveia</b>	<b>Fibra de trigo</b>
<b>L*</b>	62,30 ± 0,02 <sup>c</sup>	64,64 ± 0,02 <sup>b</sup>	67,38 ± 0,13 <sup>a</sup>
<b>a*</b>	1,65 ± 0,01 <sup>a</sup>	1,50 ± 0,02 <sup>b</sup>	0,48 ± 0,02 <sup>c</sup>
<b>b*</b>	11,29 ± 0,01 <sup>b</sup>	16,58 ± 0,02 <sup>a</sup>	9,71 ± 0,02 <sup>c</sup>

Médias ± desvio padrão na mesma linha acompanhadas de letras iguais não diferem estatisticamente (p≤0,05) pelo teste de Tukey.

\* O parâmetro L\* indica a luminosidade, onde 0 representa o preto e 100 representa o branco; a\* indica o componente vermelho-verde, onde o valor negativo indica cor verde e o valor positivo indica cor vermelha e b\* indica o componente amarelo-azul, onde o valor negativo indica cor azul e o valor positivo indica cor amarelo.

**Tabela 4** - Planejamento experimental simplex-centróide e respectivas respostas para acidez, viscosidade, sinerese, firmeza e contagem de *Lactococcus lactis*

	Variáveis resposta*				
	y <sub>1</sub>	y <sub>2</sub>	y <sub>3</sub>	y <sub>4</sub>	y <sub>5</sub>
01	0,514 ± 0,003	392,10 ± 9,1	8,1 ± 0,53	0,204 ± 0,008	9,48 ± 0,13
02	0,371 ± 0,006	160,05 ± 8,9	21,2 ± 1,32	0,157 ± 0,008	8,82 ± 0,06
03	0,412 ± 0,006	267,80 ± 23,0	15,7 ± 0,59	0,170 ± 0,008	8,93 ± 0,08
04	0,491 ± 0,008	222,20 ± 7,1	13,8 ± 1,09	0,141 ± 0,013	9,00 ± 0,02
05	0,431 ± 0,007	359,90 ± 14,9	14,1 ± 1,23	0,231 ± 0,010	8,95 ± 0,05
06	0,426 ± 0,005	219,10 ± 18,7	19,2 ± 2,04	0,154 ± 0,011	8,93 ± 0,07
07	0,445 ± 0,009	269,45 ± 32,2	11,7 ± 1,12	0,143 ± 0,018	8,84 ± 0,03
08	0,435 ± 0,005	261,10 ± 4,7	12,4 ± 0,53	0,194 ± 0,015	8,96 ± 0,02
09	0,456 ± 0,017	273,65 ± 22,3	15,0 ± 0,98	0,206 ± 0,019	9,00 ± 0,12
C**	0,374 ± 0,005	167,48 ± 11,9	24,5 ± 2,77	0,152 ± 0,007	8,76 ± 0,06

Média ± desvio padrão.

\*y<sub>1</sub>= Acidez (g de ácido láctico.100g<sup>-1</sup> de amostra), y<sub>2</sub>= Viscosidade (centipoise), y<sub>3</sub>= Sinerese (mL de exsudato.100g<sup>-1</sup>), y<sub>4</sub>= Firmeza (N), y<sub>5</sub>= Contagem de *Lactococcus lactis* (log UFC.g<sup>-1</sup>)

C\*\* = Formulação controle

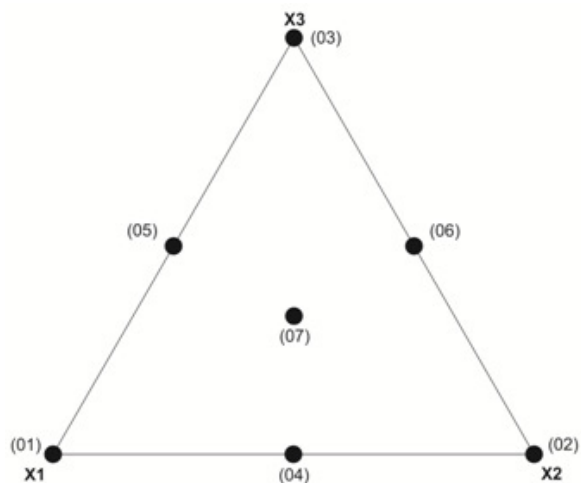
**Tabela 5** – Coeficientes de regressão e análise de variância dos modelos matemáticos\* ajustados às variáveis resposta

Coeficientes	Variáveis Resposta**				
	y <sub>1</sub>	y <sub>2</sub>	y <sub>3</sub>	y <sub>4</sub>	y <sub>5</sub>
<i>Linear</i>					
β <sub>1</sub>	0,501***	383,69***	7,65***	0,203***	9,47***
β <sub>2</sub>	0,374***	141,74***	20,17***	0,154***	8,84***
β <sub>3</sub>	0,399***	283,02***	15,89***	0,167***	8,95***
<i>Quadrático</i>					
β <sub>12</sub>	0,163	-	-	-0,145	- 0,56
β <sub>13</sub>	-	-	-	0,189***	- 0,97***
β <sub>23</sub>	0,107	-	-	-	-
<i>Cúbico</i>					
β <sub>123</sub>	-	-	-	-	-
R <sup>2</sup>	0,893	0,92	0,83	0,72	0,94
Falta de ajuste (p)	0,1456	0,0517	0,4883	0,9697	0,8022

\* y = β<sub>1</sub>.X<sub>1</sub> + β<sub>2</sub>.X<sub>2</sub> + β<sub>3</sub>.X<sub>3</sub> + β<sub>12</sub>.X<sub>1</sub>.X<sub>2</sub> + β<sub>13</sub>.X<sub>1</sub>.X<sub>3</sub> + β<sub>23</sub>.X<sub>2</sub>.X<sub>3</sub> + β<sub>123</sub>.X<sub>1</sub>.X<sub>2</sub>.X<sub>3</sub>; X<sub>1</sub>=fibra de soja, X<sub>2</sub>=fibra de aveia, X<sub>3</sub>=fibra de trigo

\*\* y<sub>1</sub>= Acidez (g de ácido láctico.100g<sup>-1</sup> de amostra), y<sub>2</sub>= Viscosidade (centipoise), y<sub>3</sub>= Sinerese (mL de exsudato.100g<sup>-1</sup>), y<sub>4</sub>= Firmeza (N), y<sub>5</sub>= Contagem de *Lactococcus lactis* (log UFC.g<sup>-1</sup>)

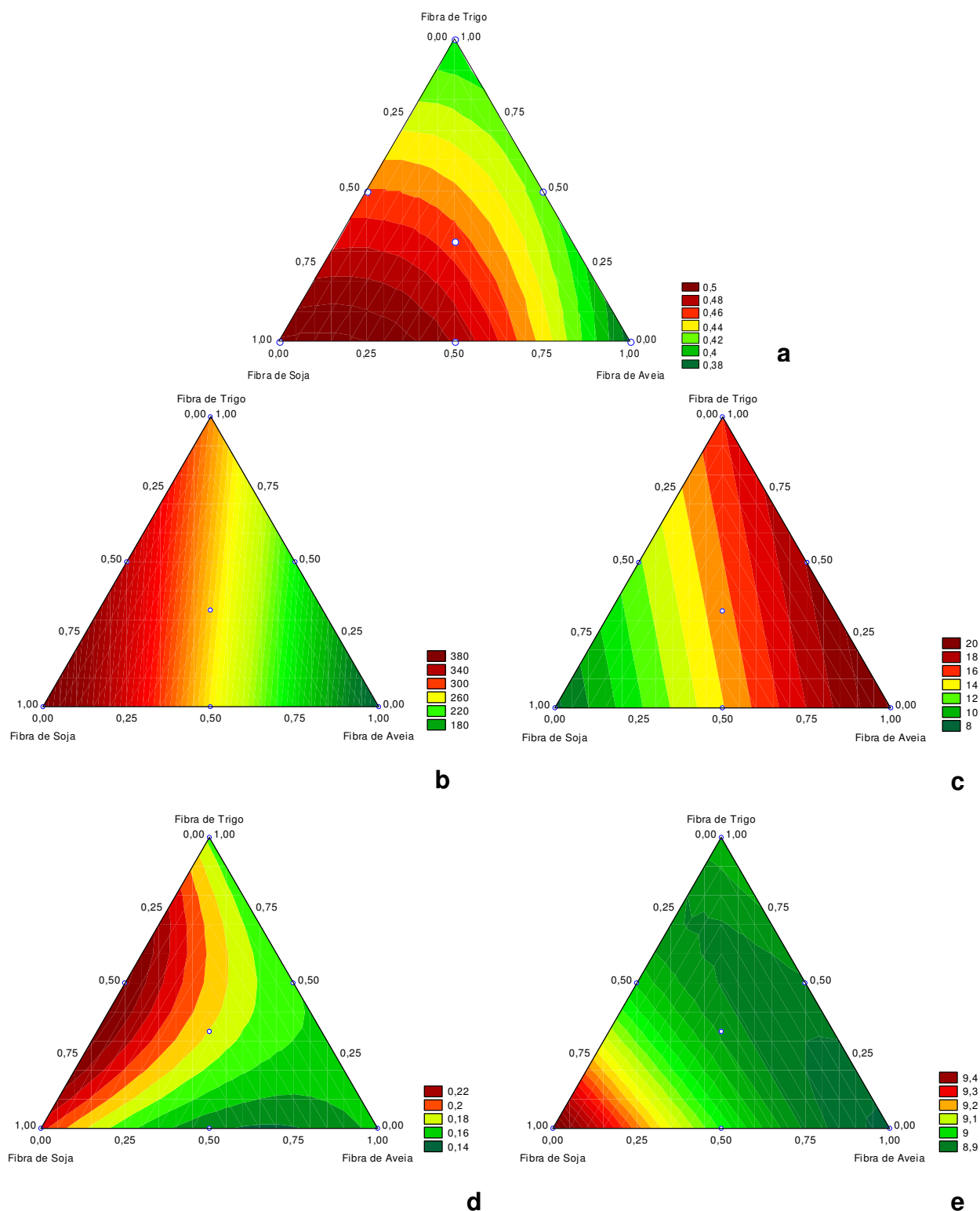
\*\*\* Significativo ao nível de 5%



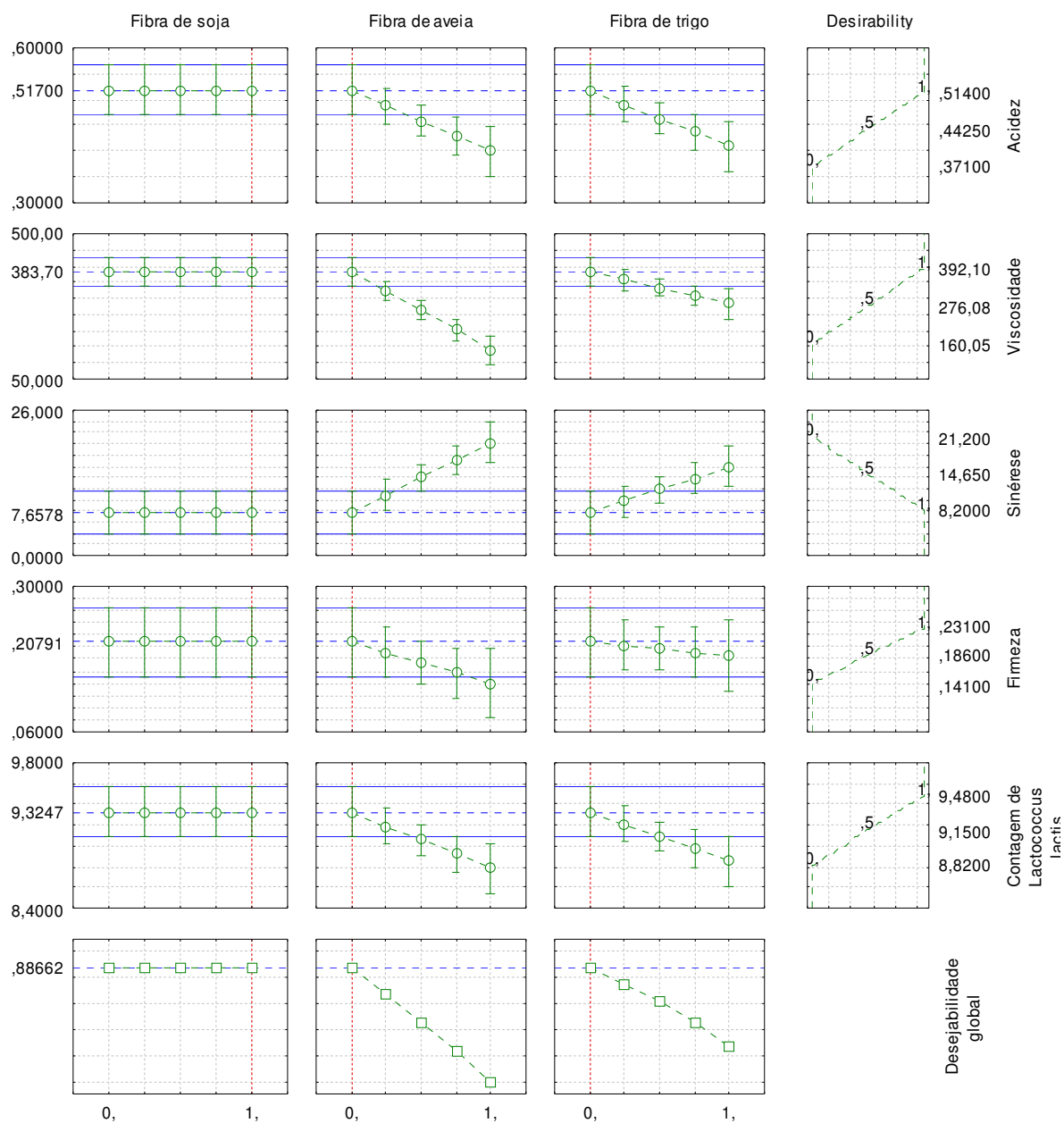
Ensaio	Proporção de misturas*		
	$x_1$ (X1)	$x_2$ (X2)	$x_3$ (X3)
01	1,00 (3)	0,00 (0)	0,00 (0)
02	0,00 (0)	1,00 (3)	0,00 (0)
03	0,00 (0)	0,00 (0)	1,00 (3)
04	0,50 (1,5)	0,50 (1,5)	0,00 (0)
05	0,50 (1,5)	0,00 (0)	0,50 (1,5)
06	0,00 (0)	0,50 (1,5)	0,50 (1,5)
07	0,33 (1,0)	0,33 (1,0)	0,33 (1,0)
08	0,33 (1,0)	0,33 (1,0)	0,33 (1,0)
09	0,33 (1,0)	0,33 (1,0)	0,33 (1,0)

**Figura 1** – Planejamento experimental de misturas do tipo simplex-centróide

\* $x_1$ ,  $x_2$  e  $x_3$  = variáveis codificadas e  $X_1$  = % de fibra de soja;  $X_2$  = % de fibra de aveia e  $X_3$  = % de fibra de trigo



**Figura 2** – Superfície de resposta para  $y_1$ =acidez ( $\text{g de ácido láctico} \cdot 100\text{g}^{-1}$  de amostra) (a),  $y_2$ =viscosidade (*centipoise*) (b),  $y_3$ =sinerese ( $\text{mL de exsudato} \cdot 100\text{g}^{-1}$ ) (c),  $y_4$ =firmeza (N) (d) e  $y_5$ =contagem de *Lactococcus lactis* ( $\log \text{UFC} \cdot \text{g}^{-1}$ ) (e) para misturas contendo fibra de soja, fibra de aveia e trigo.



**Figura 3** – Proporções ótimas para a acidez ( $y_1$ ), viscosidade ( $y_2$ ), sinérese ( $y_3$ ), firmeza ( $y_4$ ), e contagem de *Lactococcus lactis* ( $y_5$ ) utilizando o parâmetro de desejabilidade

## 5.2 ARTIGO B: CARACTERIZAÇÃO E ESTABILIDADE DE PRODUTO DE SOJA FERMENTADO COM KEFIR E FIBRA DE SOJA

### **CARACTERIZAÇÃO E ESTABILIDADE DE PRODUTO DE SOJA FERMENTADO COM CULTURA DE KEFIR E FIBRA DE SOJA**

**Tahis Regina Baú<sup>a</sup>, Sandra Garcia<sup>b</sup> e Elza louko Ida<sup>c</sup>**

Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Estadual de Londrina, caixa postal 6001, CEP 86051-970, Londrina, Paraná, Brasil. E-mail: <sup>a</sup>tahisbau@yahoo.com.br; <sup>b</sup>sgarcia@uel.br; <sup>c</sup>elida@uel.br.

#### **Resumo**

O objetivo deste estudo foi caracterizar um produto fermentado de soja com cultura de kefir e adição de 3% de fibra de soja e avaliar a sua estabilidade no armazenamento por 28 dias a 4°C. Para caracterização do produto fermentado com adição de fibra de soja foi determinado a composição química, cor e análise sensorial. A estabilidade foi avaliada pelas medidas de pH, acidez, viscosidade, firmeza, sinerese e contagens dos micro-organismos da cultura de kefir. O produto fermentado de soja com fibras apresentou composição química e cor distintas do produto fermentado sem adição de fibra. Os atributos de cor, aroma, textura, sabor e aceitação global apresentaram menor aceitação em relação ao produto fermentado sem adição de fibras. Embora a viscosidade do produto fermentado com fibra de soja aumentou ao longo do armazenamento, a firmeza e sinérese foram adequadas. O crescimento das bactérias lácticas foi favorecido no produto fermentado com adição de fibras de soja. Considerando a contagem de *Lactococcus lactis* spp do produto fermentado com adição de 3% de fibras de soja este pode ser considerado um probiótico.

**Palavras-chave:** Fibras. Kefir. Produto fermentado de soja. Armazenamento. Produto Probiótico.

#### **1 INTRODUÇÃO**

O mercado de alimentos funcionais e novos ingredientes tem aumentado significativamente com finalidade de reduzir os problemas de saúde e proporcionar uma vida mais saudável. A soja e seus derivados contém uma elevada quantidade de componentes benéficos a saúde, como proteínas, isoflavonas, fibras, ácidos graxos essenciais e oligossacarídeos (LIU, 1997) e possui grande potencial de

aplicação na indústria alimentícia. Os produtos fermentados de soja podem ser enriquecidos com compostos que possuem alegação de propriedades funcionais, como fibras e probióticos.

O kefir é composto por uma mistura complexa de bactérias e leveduras (URDANETA et al., 2007) que co-existem em uma associação simbiótica, responsável pela fermentação ácido-alcoólica. A produção de bebidas de kefir utilizando grãos de kefir é uma prática difícil. O uso de culturas definidas para a produção de kefir está em desenvolvimento com o intuito de padronizar o produto (BESHKOVA et al., 2002). Em virtude da complexidade microbiana e dos efeitos benéficos derivados do seu consumo, o kefir pode ser considerado uma fonte adequada de micro-organismos com potencial probiótico (ROMANIN et al., 2010). Para proporcionar benefícios à saúde, os produtos com probióticos devem apresentar contagem mínima de  $10^6$  UFC.g<sup>-1</sup> de produto fermentado (SHAH, 2007; RAMCHANDRAN e SHAH, 2010). No armazenamento de produtos fermentados de soja ocorre redução no crescimento desses micro-organismos probióticos e, de acordo com Liong (2011), um dos desafios é garantir a sua estabilidade.

A incorporação de fibras na formulação de alimentos, além de promover melhoria na saúde do consumidor, pode também apresentar alterações nas características do produto, como aumento na capacidade de retenção de água, modificação das propriedades reológicas, cor, sabor e aroma e alteração da estabilidade no armazenamento (IZYDORCZYK et al., 2008; FERNÁNDEZ-GARCÍA e MCGREGOR, 1997; MACCAN et al., 2011).

O efeito da utilização de fontes alternativas de fibras em produtos fermentados de leite tem sido amplamente investigado (APORTELA-PALACIOS et al., 2005; GARCIA-PEREZ et al., 2006; HASHIM et al., 2009; SENDRA et al., 2008; SENDRA et al., 2010; DELLO STAFFOLO et al., 2004; EL-NAGAR et al., 2002; TUDORICA et al., 2004). Entretanto, não há descrição na literatura sobre a utilização de fibras de soja em produtos fermentados de soja, bem como estudos sobre a estabilidade no armazenamento.

O objetivo deste estudo foi caracterizar um produto fermentado de soja com cultura de kefir com adição de fibra de soja e avaliar a estabilidade no armazenamento.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 MATÉRIA-PRIMA E CULTURA STARTER

O EHS foi preparado com a cultivar de soja BRS 257, livre de lipoxigenases, doada pela empresa Sementes Paraná. Para formulação do produto de soja fermentado, foram utilizados os seguintes ingredientes: fibra de soja (Mais Vita - Yoki), sacarose, antiespumante, aromatizante artificial de leite (Prosabor) e aromatizante artificial de baunilha (Dr. Oetker) que foram adquiridos no comércio local.

Para fermentação foi utilizada cultura starter de kefir liofilizada (Sacco<sup>®</sup>-Lyofast MT 036 LV), composta por linhagens mistas de *Lactococcus lactis* ssp. *lactis*, *Lactococcus lactis* spp *lactis* biovar *diacetylactis*, *Lactobacillus brevis*, *Leuconostoc* sp e *Saccharomyces cerevisiae*.

### 2.2 PREPARO DO EXTRATO HIDROSSOLÚVEL DE SOJA E DO PRODUTO DE SOJA FERMENTADO

O EHS foi preparado após seleção e lavagem dos grãos de soja. Os grãos na proporção 1:10 (peso:volume; grãos de soja:água) foram macerados por 14h, triturados e filtrados para obter o EHS e o resíduo foi descartado.

As formulações contendo 87,7% de EHS, 3% de fibra de soja, 9% de sacarose e 0,1% de antiespumante foram submetidas ao tratamento térmico a 95 °C por 15min segundo recomendações de Ferragut et al. (2009) e após o resfriamento até 25 °C, foi adicionado 0,2% de aromatizantes de leite e baunilha e envasadas em frascos de vidro de 600 mL. Em seguida, foram fermentadas a 25 °C com cultura de kefir (0,01 UC/L) até atingir o pH igual a  $4,5 \pm 0,1$ . Após a fermentação, os frascos foram resfriados até 4 °C, homogeneizados por 6 min em velocidade constante (Homogeneizador Contrac – Mod. 1000) e armazenados por 12 h para realização das análises.

A partir dos estudos sobre a otimização da formulação de produtos fermentados de soja com kefir e fibras de soja, aveia e trigo foi estabelecido a melhor formulação (KF) contendo 3% de fibra de soja. O produto formulado foi armazenado por um período de 28 dias a 4 °C. Em intervalos de 7 dias, foram

avaliadas as características de pH, acidez, viscosidade, firmeza, sinerese e contagem de micro-organismos da cultura de kefir. Para efeito de comparação foi preparado um produto fermentado controle (KC), sem adição de fibras e o volume de EHS foi ajustado para 90,7%.

### 2.3 CARATERIZAÇÃO QUÍMICA, COR E ANÁLISE SENSORIAL DOS PRODUTOS FERMENTADOS DE SOJA COM KEFIR

Para caracterização química dos produtos fermentados foi determinado, em triplicata, o teor de proteínas, lipídios, cinzas, umidade e fibra alimentar total (AOAC, 2006). A cor, em dez replicatas, foi medida em colorímetro Minolta CR-400 (Konica Minolta Sensing, Inc.), com iluminante D65 e os resultados foram expressos no sistema CIELAB ( $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$ ).

Antes da realização da análise sensorial as amostras foram analisadas quanto à contagem de Coliformes a 45°C, *Bacillus cereus* e Pesquisa de *Salmonella* spp, segundo Brasil (2003) e o projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética da instituição (parecer n° 0163.0.268.000-10). A análise sensorial foi realizada por meio de um teste de aceitação de atributos com 68 consumidores não treinados, que receberam 30g do produto a 10°C, em copos plásticos descartáveis, codificados com números aleatórios de três dígitos. As amostras foram servidas de forma seqüencial e foi disponibilizado aos provadores água mineral e biscoito água e sal para limpeza da cavidade bucal. Para avaliar a aceitabilidade das formulações em relação aos atributos cor, aroma, textura, sabor e aceitação global, os provadores utilizaram uma escala hedônica estruturada de 9 pontos, variando de “desgostei extremamente (1)” a “gostei extremamente (9)” (STONE e SIDEL, 2004).

### 2.4 AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE DO PRODUTO FERMENTADOS DE SOJA COM KEFIR DURANTE O ARMAZENAMENTO

Os produtos fermentados e estocados por um período de 28 dias a 4°C e, em intervalos de 7 dias, foram avaliados quanto: pH, acidez, viscosidade, firmeza, sinerese e contagem de micro-organismos da cultura de kefir. O pH foi determinado em potenciômetro digital (Hanna, HI 223). O teor de acidez foi medido por titulação com NaOH 0,1M e expresso em g de ácido láctico.100g<sup>-1</sup> de produto. As análises de

viscosidade, firmeza e sinerese foram realizadas após 12h de repouso da amostra homogeneizada. A viscosidade foi determinada utilizando o viscosímetro digital *Brookfield*, com *spindle* 4, velocidade de 12 rpm, em 600 mL de amostra a  $4 \pm 1$  °C e o resultado foi expresso em *centipoise*. A firmeza foi avaliada pelas medidas realizadas no texturômetro TA-XT2i (*Stable Micro Systems*), com probe cilíndrico de acrílico P 25/L, profundidade de compressão de 10mm, velocidade de compressão do sensor de 2mm/s, força de trigger de 0,05 N e tempo de 0,5 segundos e as amostras foram acondicionadas em recipientes de 100 mL. A firmeza foi expressa em Newton. A sinérese, em cinco replicatas, foi medida conforme modificação da metodologia descrita por Guirguis et al. (1984), no qual foi utilizado o tecido tunil sobreposto sob uma peneira para drenagem. A sinérese foi expressa como mL de exsudato. $100g^{-1}$  de amostra.

Foi realizada a contagem de bactérias lácticas e *Lactococcus lactis* (IRIGOYEN et al., 2005), *Leuconostoc* sp e leveduras (FONTÁN et al., 2006). Os resultados das contagens foram expressos em  $\log$  UFC. $g^{-1}$  do produto fermentado.

## 2.5 ANÁLISE DOS DADOS

Os dados referentes a composição química, cor e análise sensorial foram submetidos ao teste t. A avaliação da estabilidade no armazenamento dos produtos fermentados foi realizada pelo teste t para comparação dos produtos KC e KF no mesmo período de armazenamento e a Análise de Variância (ANOVA) e Teste de Tukey ( $p < 0,05$ ) foram realizados para comparar alterações no pH, acidez, viscosidade, firmeza, sinerese e contagem de micro-organismos de kefir ao longo do armazenamento dos produtos KC ou KF.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA, COR E ANÁLISE SENSORIAL DOS PRODUTOS FERMENTADOS DE SOJA COM KEFIR E ADIÇÃO DE FIBRA DE SOJA

A composição química (Tabela 1) dos produtos fermentados de soja com kefir e adição de 3% fibra de soja (KF) apresentou diferença significativa em relação ao KC, devido o acréscimo e composição da fibra de soja, exceto no teor de lipídios. O

teor de umidade foi maior no produto controle (KC), devido a menor quantidade de sólidos totais. O teor de cinzas, proteínas e fibra total foi maior no produto KF.

Com relação aos parâmetros de cor (Tabela 2) os produtos fermentados de soja com kefir KF e KC apresentaram diferenças significativas. O parâmetro L\* maior no KC indica uma cor mais clara do que no produto KF. O parâmetro a\* (componente vermelho-verde) foi maior no produto KC. Valores de a\* negativos também foram obtidos por Cruz et al.(2007) para extrato de soja. O parâmetro b\* (componente amarelo-azul) foi menor no produto KC e foi observado que a adição de 3% de fibra de soja conferiu uma coloração mais amarelada no produto KF.

Para assegurar a inocuidade, para realização da análise sensorial, os produtos fermentados foram submetidos à análise microbiológica e não apresentaram contagem de Coliformes a 45°C, *Bacillus cereus* e Pesquisa de *Salmonella* spp. O teste aceitação foi realizado com participação de 68 provadores, sendo 23 homens e 45 mulheres, com idade variando de 15 a 50 anos e 93 % dos provadores relataram que consumiam produtos de soja e produtos fermentados. Na análise sensorial (Tabela 2), avaliada pelos atributos de cor, aroma, textura, sabor e aceitação global, o produto KC apresentou maior aceitação e diferiu significativamente do produto KF. O KC apresentou valores superiores a 7 e o KF apresentou valores médios entre 6,3 e 6,9. Na escala hedônica a nota 6 indica que os provadores “gostaram regularmente” e a nota 7 indica que “gostaram ligeiramente” do produto. Estes resultados são superiores aos descritos em outros produtos fermentados de soja sem adição de fibras, conforme relatado por Rinaldoni, Campderrós e Padilla (2012) e similares aos obtidos por Haully, Fuchs e Prudencio (2005) ao suplementarem iogurte de soja com frutooligossacarídeos. O produto de soja fermentado apresentou característica similar a de iogurte cremoso.

### 3.2 AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE DO PRODUTO FERMENTADOS DE SOJA COM KEFIR E ADIÇÃO DE FIBRAS DE SOJA DURANTE O ARMAZENAMENTO

#### 3.2.1 pH e acidez

Ao longo do período de armazenamento a 4°C por 28 dias, o pH das formulações KC e KF diminuiu até 14 dias e manteve-se até 28 dias, atingindo valores de  $4,09 \pm 0,01$  e  $4,17 \pm 0,02$ , respectivamente (Tabela 3). A queda do pH

durante o armazenamento dos dois produtos fermentados KC e KF, segundo Lucey (2004), pode ser atribuída ao crescimento das bactérias lácticas e produção de ácido. O pH inicial dos produtos KC e KF diferiram entre si com valores de  $4,36 \pm 0,0$  e  $4,4 \pm 0,01$ , respectivamente. Segundo Svensson (1999), formulações com maior teor de proteína podem apresentar maior capacidade tamponante e retardar a queda do pH do produto, conforme observado na formulação KF (Tabelas 1 e 3).

Considerando o mesmo período de estocagem (Tabela 3), a formulação contendo 3% de fibra de soja (KF) apresentou maior acidez do que a formulação sem adição de fibras (KC). Segundo Fernandez-Garcia e McGregor (1997) algumas fibras podem fornecer nutrientes ou fatores estimulantes para cultura starter, que promovem maior acidez. A capacidade de algumas fibras em aumentar a acidez de produtos fermentados também foi descrita quando utilizou-se a fibra de laranja (GARCIA-PEREZ et al., 2006; LARIO et al., 2004) soja, arroz, milho, aveia e beterraba (FERNANDEZ-GARCIA e MCGREGOR, 1997). Ao longo do período de armazenamento, o produto KF apresentou acidez aumentada até 28 dias, sendo que manteve o mesmo valor em 14 e 21 dias.

### 3.2.2 Viscosidade, Firmeza e Sinérese

Os produtos fermentados KC e KF, durante o armazenamento a 4°C por 28 dias, apresentaram diferenças significativas nas medidas de viscosidade, firmeza e sinérese (Tabela 4).

A viscosidade do produto KC manteve-se constante durante o armazenamento, enquanto que a viscosidade do produto KF aumentou significativamente, indicando que a adição de 3% de fibra de soja na formulação do produto contribuiu para reforçar as ligações do gel formado. Em iogurtes de leite, resultados similares aos observados neste trabalho foram descritos por McCann et al. (2011) e García-Pérez et al. (2006) que adicionaram componentes da parede celular de cenoura e fibra de laranja, respectivamente. A viscosidade do produto KF foi maior do que o KC, sendo que em 28 dias de armazenamento o KF apresentou uma viscosidade 5,5 vezes superior ao KC. A elevada viscosidade do KF pode ser atribuída, segundo Fernandez-Garcia e McGregor (1997), aos componentes das fibras, como os hidrocolóides, que interagem com as proteínas do produto fermentado e favorecem o aumento da viscosidade. Ainda, a quantidade de proteína

(Tabela 1) também pode ser responsável pela diferença de viscosidade entre as duas formulações. Segundo Damodaran et al. (2010), para a maioria das soluções protéicas, a viscosidade segue uma relação exponencial com a concentração de proteína.

A firmeza é definida como a força necessária para produzir certa deformação na amostra (VAN VLIET et al., 1991). A firmeza da formulação KF aumentou significativamente a partir de 21 dias e manteve-se constante até 28 dias de armazenamento. Em iogurtes de soja tratados termicamente a 95°C/15 min a firmeza manteve-se constante após o 7º dia de armazenamento (FERRAGUT et al., 2009). Nas tabelas 1 e 4 observa-se que o produto fermentado KF contém maior teor de proteínas e maior firmeza, respectivamente. Na formulação de iogurte de soja Kovalenko e Briggs (2002) observaram que a viscosidade e firmeza do gel de proteína de soja foram dependentes da concentração de proteína. A adição de fibras também pode ser responsável pela diferença na firmeza entre os dois produtos (Tabelas 1 e 4). Dello Stafollo (2004) e Sendra et al. (2010) também confirmaram que a firmeza aumentou em produtos fermentados de leite com adição de diferentes tipos de fibras.

A sinérese foi definida como a separação espontânea do soro do produto fermentado e é uma característica muito importante durante o armazenamento (PENG et al., 2009; ZARE et al., 2011). A sinérese do produto de soja fermentado com kefir KF (Tabela 4) diminuiu significativamente até o sétimo dia e a partir do décimo quarto até 28 dias o produto não apresentou sinérese. Entretanto, a sinérese do KC diminuiu significativamente até 21 dias e manteve-se constante até 28 dias de armazenamento. Ferragut et al. (2009) observaram que em iogurtes de soja, sem adição de fibras, a sinérese também diminuiu gradativamente. Em geral, a sinérese dos dois produtos fermentados de soja com kefir foi baixa e similar aos índices obtidos por Kovalenko e Briggs (2002) para iogurtes de soja. Segundo Ferragut et al. (2009) a sinérese ocorre devido a uma pequena retração do gel causada pelo estabelecimento de interações entre as moléculas durante o armazenamento. Segundo Jaros (2002) e Ünal et al. (2003) as formulações com menor conteúdo de sólidos totais apresentam maior valor de sinérese, conforme observado no produto sem adição de fibras (KC). Entretanto, o produto KF apresentou maior teor de proteína do que o produto KC (Tabela 1) e, portanto, menor sinérese. Segundo

Damodaram et al. (2010) isso ocorre devido a boa capacidade de retenção de água das proteínas.

Conforme Coggins et al., (2010) e Liong (2011), o aumento da viscosidade, firmeza e a redução da sinérese podem ser devido a redução do pH durante o armazenamento de produtos fermentados que possibilita a contração do gel. Ainda, a produção de exopolissacarídeos pelas bactérias lácticas pode diminuir a sinérese e aumentar a viscosidade e a firmeza durante o armazenamento do produto (JOLLY et al., 2002). A cultura de *Leuconostoc* sp utilizada na fermentação do produto de soja era produtora de exopolissacarídeo. Os resultados obtidos neste estudo indicam que a adição de 3% de fibras de soja conferiu maior firmeza e menor sinérese no produto fermentado KF. McCann et al. (2011) observaram que a adição de partículas da parede celular da cenoura, em iogurte com baixo teor de gordura, também ocasionou maior firmeza e menor sinérese.

### 3.2.3 Contagem de micro-organismos do produto fermentado com kefir

As contagens ( $\log \text{UFC.g}^{-1}$ ) de bactérias lácticas, *Lactococcus lactis*, *Leuconostoc* spp e leveduras dos produtos KC e KF diminuíram significativamente (Tabela 5) até 28 dias de armazenamento a 4°C. A redução do pH e aumento da acidez do produto fermentado durante o armazenamento inibiram o crescimento de bactérias lácticas (MCCANN et al., 2011). Outros fatores como a presença de promotores ou inibidores de crescimento, presença de peróxido de hidrogênio e oxigênio, concentração de metabólitos e nutrientes e capacidade tamponante do meio também podem afetar a sobrevivência dos probióticos durante a estocagem (DONKOR et al., 2006). Segundo a legislação brasileira o *Lactococcus lactis* é um probiótico e deve apresentar uma contagem mínima de  $10^8$  UFC na porção diária do produto (BRASIL, 2007), que corresponde a  $6 \log \text{UFC.g}^{-1}$ , considerando uma porção de 100g. Desta forma, os dois produtos KF e KC podem ser considerados como probióticos devido a contagem mínima de  $7,9 \log \text{UFC.g}^{-1}$  apresentada durante todos os dias de armazenamento. A formulação controle (KC), a partir do sétimo dia de estocagem, apresentou contagem de bactérias lácticas e *Lactococcus lactis* menor do que a formulação com adição de fibra de soja (KF). A adição de fibras reforçou o crescimento e a sobrevivência dos micro-organismos durante a estocagem, conforme relatado também por Sendra et al. (2008). Segundo Saarela et

al. (2006), as fibras podem proteger culturas probióticas em condições de estresse como a liofilização, desidratação e armazenamento. Enquanto que para Borderías et al. (2005) as fibras podem alterar a capacidade fermentativa dos produtos. Para Svensson (1999), as formulações com maior teor protéico podem aumentar a sobrevivência dos micro-organismos probióticos durante o armazenamento, conforme observado também neste trabalho (Tabelas 1 e 5).

#### 4 CONCLUSÕES

O produto de soja fermentado com kefir e adição de 3% de fibra de soja apresentou composição química e cor distintas do produto fermentado sem adição de fibra. Os atributos de cor, aroma, textura, sabor e aceitação global apresentaram maior aceitação para o produto fermentado sem adição de fibras. Embora a viscosidade do produto fermentado com fibra de soja tenha aumentado ao longo do armazenamento por 28 dias a 4°C, a firmeza e sinérese foram adequadas. O crescimento das bactérias lácticas foi favorecido no produto fermentado com adição de fibra de soja. Pela contagem de *Lactococcus lactis* o produto pode ser considerado um probiótico.

#### REFERÊNCIAS

AOAC. **Official Methods of Analysis of AOAC International** - Volume I and II, 18th Edition, Rev. 1, 2006.

APORTELA-PALACIOS, A.; SOSA-MORALES, M.E.; VELEZ-RUIZ, J.F. Rheological and physicochemical behavior of fortified yogurt, with fiber and calcium. **Journal of Texture Studies**, v. 36, n.3, p. 333–349, 2005.

BORDERÍAS, A.J.; SANCHEZ-ALONSO, I.; PEREZ-MATEOS, M. New applications of fibres in foods: addition to fishery products. **Trends in Food Science & Technology**, v.16, p. 458-465, 2005.

BRASIL. Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água (Anexo I), Instrução Normativa Nº 62, de 26 de agosto de 2003. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Diário Oficial da União**. Brasília, 18 de Setembro de 2003.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Alimentos com alegações de propriedades funcionais e ou de saúde, novos

alimentos/ingredientes, substâncias bioativas e probióticos. Atualizado em agosto de 2007. IX – Lista das alegações de propriedades funcionais aprovadas. Disponível em: < [http://anvisa.gov.br/alimentos/comissões/tecno\\_lista\\_alega.htm](http://anvisa.gov.br/alimentos/comissões/tecno_lista_alega.htm)>. Acesso em 18 jul. 2010. 2007.

COGGINS, P. C.; ROWE, D. E.; WILSON, J. C.; KUMARI, S. Storage and temperature effects on appearance and textural characteristics of conventional milk yogurt. **Journal of Sensory Studies**, v.25, n.4, p. 549-576, 2010.

CRUZ, N.; CAPELLAS, M.; HERNÁNDEZ, M.; TRUJILLO, A.J.; GUAMIS, B.; FERRAGUT, V. Ultra high pressure homogenization of soymilk: Microbiological, physicochemical and microstructural characteristics. **Food Research International**, v. 40, p. 725-732, 2007.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K.L; FENNEMA, O.R. **Química de alimentos de Fennema**. Porto Alegre: Artmed, 4.ed, 2010.

DELLO STAFFOLO, M.; BERTOLA, N.; MARTINO, M.; BEVILACQUA, A. Influence of dietary fiber addition on sensory and rheological properties of yogurt. **International Dairy Journal**, v. 14, n.3, p. 263-268, 2004.

DONKOR, O.N.; HENRIKSSON, A.; VASILJEVIC, T.; SHAH, N.P. Effect of acidification on the activity of probiotics in yoghurt during cold storage. **International Dairy Journal**, v.16, n.10, p.1181-1189, 2006.

EL-NAGAR, G.; CLOWES, G.; TUDORICA, C.M.; KURI, V.; BRENNAN, C.S. Rheological quality and stability of yog-ice cream with added inulin. **International Journal of Dairy Technology**, v.55, n.2, p. 89–93, 2002.

FERNANDEZ-GARCIA, E.; MCGREGOR, J. U. Fortification of sweetened plain yogurt with insoluble dietary fiber. **Zeitschrift fur Lebensmittel-Untersuchung und-Forschung A-Food Research and Technology** , v. 204, n.6, p. 433-437, 1997.

FERRAGUT, V.; CRUZ, N.S.; TRUJILLO, A.; GUAMIS, B.; CAPELLAS, M. Physical characteristics during storage of soy yogurt made from ultra-high pressure homogenized soymilk. **Journal of Food Engineering**, v. 92, n. 1, p. 63-69, 2009.

FONTÁN, M.C.G.; MARTÍNEZ, S.; FRANCO, I.; CARBALLO, J. Microbiological and chemical changes during the manufacture of Kefir made from cows' milk, using a commercial starter culture. **International Dairy Journal**, v.16, n.7, p. 762–767, 2006.

GARCÍA-PÉREZ, F.J.; SENDRA, E., LARIO, Y.; FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J.; SAYAS, E.; PÉREZ-ALVAREZ, J.A. Rheology of orange fiber enriched yogurt. **Milchwissenschaft**, v.61, n.1, 55–59, 2006.

GUIRGUIS, N.; BROOME, M.C.; HICKEY, M.W. The effect of partial replacement of skim milk powder with whey protein concentrate on the viscosity and syneresis of yoghurt. **Australian Journal of Dairy Technology**, v. 91, n. 1, p. 33-35, 1984.

HASHIM, I.B.; KHALIL, A.H.; AFIFI, H.S. Quality characteristics and consumer acceptance of yogurt fortified with date fiber. **Journal of Dairy Science**, v.92, n.11, p.5403-5407, 2009.

HAULY, M.C.O.; FUCHS, B.H.B.; PRUDENCIO, S.H. Suplementação de iogurte de soja com frutooligossacarídeos: características probióticas e aceitabilidade. **Rev. Nutr.**, v.18, n.5, p. 613-622, 2005.

IRIGOYEN, A.; ARANA, I.,CASTIELLA, M.; TORRE, P.; IBÁÑEZ, F.C. Microbiological, physicochemical, and sensory characteristics of kefir during storage. **Food Chemistry**, v. 90, n.4, p.613-620, 2005.

IZYDORCZYK, M.S.; CHORNICKA, T.L.; PAULLEYA, F.G.; EDWARDS, N.M.; DEXTER, J.E. Physicochemical properties of hull-less barley fibre-rich fractions varying in particle size and their potential as functional ingredients in two-layer flat bread. **Food Chemistry**, v.108, p. 561–570, 2008.

JAROS, D.; ROHM, H.; HAQUE, A.; BONAPARTE, C.; KNEIFEL, W. Influence of the starter culture on the relationship between dry matter content and physical properties of set-style yogurt. **Milchwissenschaft**, v. 57, n. 6, p. 325-327, 2002.

JOLLY, L.; SEBASTIEN, J. F. V.; DUBOC, P.; NEESER, J.R. Exploiting exopolysaccharides from lactic acid bacteria. **Antonie Van Leeuwenhoek**, v.82, p.367–374, 2002.

KOVALENKO, I.V.; BRIGGS, J.L. Textural characterization of soy-based yogurt by the vane method. **Journal of Texture Studies**, v. 33, p. 105-118, 2002.

LARIO, Y.; SENDRA, E.; GARCIA-PEREZ, F. J.; FERNANDEZ- LOPEZ, J.; SAYAS-BARBERA, E.; PEREZ-ALVAREZ, J. A. Evolution of microbial populations of fiber enriched yogurt during commercial shelf-life. **Milchwissenschaft-Milk Science International**, v. 59, n.11-12, p. 646-649, 2004.

LIONG, M. T. **Probiotics: Biology, Genetics and Health Aspects**. New York: Springer, 2011.

LIU, K.S. **Soybeans: Chemistry, technology, and utilization**. New York: Chapman & Hall, 1997.

LUCEY, J. A. Cultured dairy products: An overview of their gelation and texture properties. **International Journal of Dairy Technology**, v.57, n. 2-3, 77-84, 2004.

MCCANN, T.H.; FABRE, F.; DAY, L. Microstructure, rheology and storage stability of low-fat yoghurt structured by carrot cell wall particles. **Food Research International**, v.44, n.4, p.884-892, 2011.

PENG, Y.; SERRA, M.; HORNE, D. S.; LUCEY, J. A. Effect of fortification with various types of milk protein on the rheological properties and permeability of nonfat set yogurt. **Journal of Food Science**, p. 74, v.9, C666– C673, 2009.

RAMCHANDRAN, L.; SHAH, N.P. Characterization of functional, biochemical and textural properties of symbiotic low-fat yogurts during refrigerated storage. **LWT - Food Science and Technology**, v. 43, p. 819–827, 2010.

RINALDONI, A.N.; CAMPDERRÓS, M.E.; PADILLA, A.P. Physico-chemical and sensory properties of yogurt from ultrafiltrated soy milk concentrate added with inulin. **LWT - Food Science and Technology**, v. 45, 142-147, 2012.

ROMANIN, D.; SERRADELL, M.; MACIEL, D.G.; LAUSADA, N.; GARROTE, G.L.; RUMBO, M. Down-regulation of intestinal epithelial innate response by probiotic yeasts isolated from kefir. **International Journal of Food Microbiology**, v. 140, n.2-3, p.102-108, 2010.

SAARELA, M.; VIRKAJARVI, I.; NOHYNEK, L.; VAARI, A.; MATTO, J. Fibres as carriers for *Lactobacillus rhamnosus* during freeze-drying and storage in apple juice and chocolate-coated breakfast cereals. **International Journal of Food Microbiology**, v.112, n.2, p.71-178, 2006.

SENDRA, E.; KURI, V.; FERNANDEZ-LOPEZ, J.; SAYAS-BARBERA, E.; NAVARRO, C.; PEREZ-ALVAREZ, J.A.. Viscoelastic properties of orange fiber enriched yogurt as a function of fiber dose, size and thermal treatment. **Food Science and Technology**, v. 43, p. 708–714, 2010.

SENDRA, E.; FAYOS, P.; FERNANDEZ-LÓPEZ, J.; BARBERÁ, S.; PÉREZ-ALVAREZ, J.A. Incorporation of citrus fibers in fermented milk containing probiotic bacteria. **Food Microbiology**, v, 25, p. 13–21, 2008.

SHAH, N. P. Functional cultures and health benefits. **International Dairy Journal**, v.17 , p.1262–1277, 2007.

STONE, H.; SIDEL, J.L. **Sensory Evaluation Practices**. 3<sup>o</sup> ed. Academic Press, New York, NY. 2004. 408p.

SVENSSON, U. Industrial perspectives. In: TANNOCK, G.W. (Ed.) **Probiotics: a critical review**. Wymondham: Horizon Scientific Press, 1999. p.57-64.

TUDORICA, CM.; JONES, T.E.R.; KURI, V.; BRENNAN, C.S. The effects of refined barley  $\beta$ -glucan on the physico-structural properties of low-fat dairy products: curd yield, microstructure, texture and rheology. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.84, n.10, p. 1159–1169, 2004.

ÜNAL, B.; METIN, S.; I-IKLI, N. D. Use of response surface methodology to describe the combined effect of storage time, locust bean gum and dry matter of milk on the physical properties of low-fat set yoghurt. **International Dairy Journal**, v. 13, p. 909-916, 2003.

URDANETA, E.; BARRRENETXE, J.; ARANGUREN, P.; IRIGOYEN, A.; MARZO, F.; IBÁÑEZ, F. Intestinal beneficial effects of kefir-supplemented diet in rats. **Nutrition Research**, v. 27, n. 10, p. 653-658, 2007.

VAN VLIET, T.; VAN DIJK, H.J.M.; ZOON, P.; WALSTRA, P. Relation between syneresis and rheological properties of particle gels. **Colloid and Polymer Science**, v.269, n.6, p. 620–627, 1991.

ZARE, F.; BOYE, J.I.; ORSAT, V.; CHAMPAGNE, C.; SIMPSON, B.K. Microbial, physical and sensory properties of yogurt supplemented with lentil flour. **Food Research International**, v.44, n. 8, p. 2482-2488, 2011.

**Tabela 1-** Composição química dos produtos fermentados de soja com kefir e adição de 3% de fibra de soja

	<b>Produtos*</b>	
	<b>KC (g.100g<sup>-1</sup>)</b>	<b>KF (g.100g<sup>-1</sup>)</b>
Umidade	86,40 ± 0,04 <sup>a</sup>	83,96 ± 0,21 <sup>b</sup>
Cinzas	0,23 ± 0,02 <sup>b</sup>	0,37 ± 0,01 <sup>a</sup>
Proteínas	2,11 ± 0,02 <sup>b</sup>	3,24 ± 0,02 <sup>a</sup>
Lipídios	1,01 ± 0,01 <sup>a</sup>	1,13 ± 0,09 <sup>a</sup>
Fibra Total	0,09 ± 0,01 <sup>b</sup>	1,21 ± 0,01 <sup>a</sup>

Média ± desvio padrão na mesma linha acompanhadas de letras iguais não diferem estatisticamente (p≤0,05) pelo teste t.

\*Produtos: KC (produto de soja fermentado de soja sem adição de fibra) e KF (produto de soja fermentado de soja com 3% de fibra de soja).

**Tabela 2 –** Parâmetros de cor e análise sensorial dos produtos fermentados de soja com kefir

	<b>Produtos*</b>	
	<b>KC</b>	<b>KF</b>
<b>Cor**</b>		
L*	73,74 ± 2,45 <sup>a</sup>	70,34 ± 1,52 <sup>b</sup>
a*	-2,93 ± 0,13 <sup>a</sup>	-1,15 ± 0,07 <sup>b</sup>
b*	8,20 ± 0,39 <sup>b</sup>	9,57 ± 0,23 <sup>a</sup>
<b>Aceitação Sensorial</b>		
Cor	7,6 ± 1,4 <sup>a</sup>	6,9 ± 1,4 <sup>b</sup>
Aroma	7,5 ± 1,3 <sup>a</sup>	6,9 ± 1,5 <sup>b</sup>
Textura	7,6 ± 1,3 <sup>a</sup>	6,7 ± 1,9 <sup>b</sup>
Sabor	7,3 ± 1,3 <sup>a</sup>	6,3 ± 1,7 <sup>b</sup>
Global	7,4 ± 1,2 <sup>a</sup>	6,5 ± 1,5 <sup>b</sup>

Média ± desvio padrão na mesma linha acompanhadas de letras iguais não diferem estatisticamente (p≤0,05) pelo teste t.

\*Produtos: KC (produto de soja fermentado de soja sem adição de fibra) e KF (produto de soja fermentado de soja com 3% de fibra de soja).

\*\* O parâmetro L\* indica a luminosidade, onde 0 representa o preto e 100 representa o branco; a\* indica o componente vermelho-verde, onde o valor negativo indica cor verde e o valor positivo indica cor vermelha e b\* indica o componente amarelo-azul, onde o valor negativo indica cor azul e o valor positivo indica cor amarelo.

**Tabela 3** – Valores de pH e acidez dos produtos fermentados de soja com kefir durante o armazenamento a 4°C

Tempo (dias)	Produtos*	
	KC	KF
<b>pH</b>		
1	4,36 ± 0,00 <sup>A,b</sup>	4,44 ± 0,01 <sup>F,a</sup>
7	4,20 ± 0,02 <sup>B,b</sup>	4,28 ± 0,04 <sup>G,a</sup>
14	4,15 ± 0,01 <sup>C,b</sup>	4,21 ± 0,02 <sup>H,a</sup>
21	4,13 ± 0,02 <sup>C,b</sup>	4,18 ± 0,01 <sup>H,a</sup>
28	4,09 ± 0,01 <sup>D,b</sup>	4,17 ± 0,02 <sup>H,a</sup>
<b>Acidez</b> (g de ácido láctico.100g <sup>-1</sup> )		
1	0,450 ± 0,003 <sup>C,b</sup>	0,564 ± 0,005 <sup>I,a</sup>
7	0,517 ± 0,012 <sup>B,b</sup>	0,662 ± 0,007 <sup>H,a</sup>
14	0,567 ± 0,029 <sup>A,B,b</sup>	0,694 ± 0,012 <sup>G,a</sup>
21	0,604 ± 0,027 <sup>A,b</sup>	0,718 ± 0,006 <sup>G,a</sup>
28	0,612 ± 0,025 <sup>A,b</sup>	0,761 ± 0,012 <sup>F,a</sup>

Média ± desvio padrão na mesma coluna acompanhadas de letras maiúsculas iguais não diferem estatisticamente ( $p \leq 0,05$ ) pelo teste de Tukey.

Média ± desvio padrão na mesma linha acompanhadas de letras minúsculas iguais não diferem estatisticamente ( $p \leq 0,05$ ) pelo teste t.

\*Produtos: KC (produto de soja fermentado de soja sem adição de fibra) e KF (produto de soja fermentado de soja com 3% de fibra de soja).

**Tabela 4** – Valores de viscosidade, firmeza e sinerese dos produtos fermentados de soja com kefir durante o armazenamento a 4 °C

Tempo (dias)	Produtos*	
	KC	KF
<b>Viscosidade</b> (centipoise)		
1	235,2 ± 12,6 <sup>A,b</sup>	389,5 ± 31,6 <sup>J,a</sup>
7	249,5 ± 19,7 <sup>A,b</sup>	639,3 ± 4,5 <sup>I,a</sup>
14	259,2 ± 16,3 <sup>A,b</sup>	922,8 ± 51,9 <sup>H,a</sup>
21	257,5 ± 14,0 <sup>A,b</sup>	1114,3 ± 95,8 <sup>G,a</sup>
28	252,0 ± 17,6 <sup>A,b</sup>	1400,7 ± 52,6 <sup>F,a</sup>
<b>Firmeza</b> (N)		
1	0,174 ± 0,003 <sup>A,b</sup>	0,258 ± 0,011 <sup>G,a</sup>
7	0,175 ± 0,010 <sup>A,b</sup>	0,262 ± 0,014 <sup>G,a</sup>
14	0,177 ± 0,004 <sup>A,b</sup>	0,278 ± 0,013 <sup>G,a</sup>
21	0,161 ± 0,004 <sup>A,B,b</sup>	0,326 ± 0,006 <sup>F,a</sup>
28	0,157 ± 0,006 <sup>B,b</sup>	0,336 ± 0,015 <sup>F,a</sup>
<b>Sinerese</b> (mL de exsudato.100g <sup>-1</sup> )		
1	14,3 ± 0,9 <sup>A,a</sup>	5,1 ± 0,4 <sup>F,b</sup>
7	11,5 ± 0,5 <sup>B,a</sup>	1,5 ± 0,3 <sup>G,b</sup>
14	8,4 ± 0,4 <sup>C,a</sup>	0,0 ± 0,0 <sup>H,b</sup>
21	5,8 ± 1,0 <sup>D,a</sup>	0,0 ± 0,0 <sup>H,b</sup>
28	4,5 ± 0,6 <sup>D,a</sup>	0,0 ± 0,0 <sup>H,b</sup>

Média ± desvio padrão na mesma coluna acompanhadas de letras maiúsculas iguais não diferem estatisticamente ( $p \leq 0,05$ ) pelo teste de Tukey.

Média ± desvio padrão na mesma linha acompanhadas de letras minúsculas iguais não diferem estatisticamente ( $p \leq 0,05$ ) pelo teste t.

\*Produtos: KC (produto de soja fermentado de soja sem adição de fibra) e KF (produto de soja fermentado de soja com 3% de fibra de soja).

**Tabela 5** – Contagens de bactérias lácticas, *Lactococcus lactis*, *Leuconostoc* sp e leveduras dos produtos fermentados de soja com kefir durante o armazenamento a 4°C

Tempo (dias)	Produtos*	
	KC	KF
<b>Bactérias lácticas</b> (log UFC.g <sup>-1</sup> )		
1	9,23 ± 0,03 <sup>A,a</sup>	9,23 ± 0,19 <sup>F,a</sup>
7	8,87 ± 0,02 <sup>B,b</sup>	9,06 ± 0,08 <sup>F,a</sup>
14	8,71 ± 0,07 <sup>C,b</sup>	9,01 ± 0,05 <sup>F,a</sup>
21	8,28 ± 0,05 <sup>D,b</sup>	8,49 ± 0,09 <sup>G,a</sup>
28	7,98 ± 0,01 <sup>E,b</sup>	8,25 ± 0,03 <sup>G,a</sup>
<b><i>Lactococcus lactis</i></b> (log UFC.g <sup>-1</sup> )		
1	9,12 ± 0,04 <sup>A,a</sup>	9,02 ± 0,04 <sup>G,b</sup>
7	8,91 ± 0,05 <sup>A,b</sup>	9,35 ± 0,02 <sup>F,a</sup>
14	8,67 ± 0,05 <sup>B,b</sup>	9,03 ± 0,07 <sup>G,a</sup>
21	8,31 ± 0,15 <sup>C,a</sup>	8,43 ± 0,13 <sup>H,a</sup>
28	7,97 ± 0,09 <sup>D,b</sup>	8,37 ± 0,01 <sup>H,a</sup>
<b><i>Leuconostoc</i> sp</b> (log UFC.g <sup>-1</sup> )		
1	8,89 ± 0,07 <sup>A,a</sup>	8,64 ± 0,14 <sup>F,a</sup>
7	8,84 ± 0,21 <sup>A,a</sup>	8,80 ± 0,05 <sup>F,a</sup>
14	7,86 ± 0,09 <sup>B,b</sup>	8,61 ± 0,33 <sup>F,a</sup>
21	7,24 ± 0,05 <sup>C,a</sup>	7,73 ± 0,44 <sup>G,a</sup>
28	7,20 ± 0,17 <sup>C,b</sup>	7,55 ± 0,07 <sup>G,a</sup>
<b>Leveduras</b> (log UFC.g <sup>-1</sup> )		
1	4,91 ± 0,03 <sup>A,a</sup>	4,61 ± 0,14 <sup>F,b</sup>
7	4,50 ± 0,07 <sup>B,a</sup>	4,28 ± 0,08 <sup>G,b</sup>
14	4,50 ± 0,22 <sup>B,a</sup>	4,29 ± 0,16 <sup>G,a</sup>
21	4,51 ± 0,07 <sup>B,a</sup>	4,22 ± 0,02 <sup>G,b</sup>
28	4,18 ± 0,02 <sup>C,a</sup>	3,62 ± 0,11 <sup>H,b</sup>

Média ± desvio padrão na mesma coluna acompanhadas de letras maiúsculas iguais não diferem estatisticamente (p≤0,05) pelo teste de Tukey.

Média ± desvio padrão na mesma linha acompanhadas de letras minúsculas iguais não diferem estatisticamente (p≤0,05) pelo teste t.

\*Produtos: KC (produto de soja fermentado de soja sem adição de fibra) e KF (produto de soja fermentado de soja com 3% de fibra de soja).

## 6 CONCLUSÕES

Foi possível otimizar um produto de soja fermentado com cultura de kefir e adição de 3% de fibra de soja, aplicando o planejamento de misturas simplex-centróide e avaliando as medidas de acidez, viscosidade, sinerese, firmeza e contagem de *Lactococcus lactis*.

O produto otimizado apresentou composição química e cor distintas do produto fermentado sem adição de fibra.

Os atributos de cor, aroma, textura, sabor e aceitação global apresentaram maior aceitação para o produto fermentado sem adição de fibras.



A firmeza e sinerese foram adequadas no produto armazenado por 28 dias a 4°C, porém com aumento da viscosidade.

O crescimento das bactérias lácticas foi favorecido e, pela contagem de *Lactococcus lactis*, o produto fermentado com adição de 3% de fibras de soja pode ser considerado um probiótico.

## **ANEXOS**

## ANEXO 1

## Termo de Aprovação do Projeto do Comitê de Ética

 <p>Universidade Estadual de Londrina</p>	
<b>COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA ENVOLVENDO SERES HUMANOS</b> Universidade Estadual de Londrina/ Hospital Universitário Regional Norte do Paraná Registro CONEP 268	
Parecer de Aprovação Nº 195/10 CAAE Nº 0163.0.268.000-10 FOLHA DE ROSTO Nº 362646	Londrina, 21 de setembro de 2010.
<b>PESQUISADORA: ELZA IOUKO IDA</b> <b>DCA/DCTA/PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DE ALIMENTOS</b>	
Prezada Senhora: <p>O "Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da Universidade Estadual de Londrina/ Hospital Universitário Regional Norte do Paraná" (Registro CONEP 268) – de acordo com as orientações da Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde/MS e Resoluções Complementares, avaliou o projeto:</p> <p style="text-align: center;"><b>"DESENVOLVIMENTO DE PRODUTO PROBIÓTICO A BASE DE SOJA."</b></p>	
Situação do Projeto: <b>APROVADO</b>	
Informamos que deverá ser comunicada, por escrito, qualquer modificação que ocorra no desenvolvimento da pesquisa, bem como deverá apresentar ao CEP/UEL relatório final da pesquisa.	
Atenciosamente,  <b>Prof. Dra. Alexandrina Aparecida Maciel</b> Coordenadora Comitê de Ética em Pesquisa-CEP/UEL	
<small>           Campus Universitário Rodovia Celso Garcia Cid (PR-401), km 265 - Fone (043) 321-1000 FAX: (043) 321-1116 - Caixa Postal 6061 - CEP 86051-900 - Internet: http://www.uel.br            Hospital Universitário/Centro de Ciências da Saúde av. Sabão Klotz, 44 - Vila Operária - Fone (043) 361-3999 FAX: (043) 361-3271-3261 - Caixa Postal 714 - CEP 86039-400            LONDRIANA - PARANÁ - BRASIL         </small>	

## ANEXO 2

### Coleta de dados do Proveedor

Desejamos avaliar sensorialmente a aceitação de produtos fermentados de soja com kefir contendo probiótico e fibras. Ser um julgador 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 10 minutos. Se você deseja participar do teste, por favor, preencha este formulário.

#### Dados Pessoais:

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

- ( ) 1° grau  
 ( ) 2° grau  
 ( ) 3° grau  
 ( ) Pós-graduação \_\_\_\_\_

5. Gosta/consome bebida fermentada? ( ) Sim ( ) Não

6. Gosta/consome produtos de soja? ( ) Sim ( ) Não

#### 7. Frequência de consumo de produtos a base de soja:

- ( ) Nunca  
 ( ) Ocasionalmente - \_\_\_\_\_ vezes por ano  
 ( ) Moderadamente - \_\_\_\_\_ vezes por mês  
 ( ) Frequentemente - \_\_\_\_\_ vezes por semana

#### 8. Frequência de consumo de produtos fermentados contendo probióticos:

- ( ) Nunca  
 ( ) Ocasionalmente - \_\_\_\_\_ vezes por ano  
 ( ) Moderadamente - \_\_\_\_\_ vezes por mês  
 ( ) Frequentemente - \_\_\_\_\_ vezes por semana

#### 9. Frequência de consumo de alimentos fermentados contendo fibras:

- ( ) Nunca  
 ( ) Ocasionalmente - \_\_\_\_\_ vezes por ano  
 ( ) Moderadamente - \_\_\_\_\_ vezes por mês  
 ( ) Frequentemente - \_\_\_\_\_ vezes por semana

#### 10. Produtos que costuma consumir (7, 8 e 9).

---



---



---

### ANEXO 3

#### Termo de Consentimento Livre e Esclarecido na Forma de Convite para os Provadores do Produto de soja fermentado no Teste de Aceitação

Prezado(a) Senhor(a):

Gostaríamos de convidá-lo a participar da pesquisa “**Desenvolvimento, caracterização e estabilidade de produto de soja fermentado com cultura de kefir e adição de fibras**” realizada no Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos/UEL, Londrina/PR. O objetivo da pesquisa é desenvolver um produto fermentado a base de soja, utilizando cultura de kefir, que apresente boa aceitação sensorial. A sua participação é muito importante, e irá requerer cerca de 10 minutos. Você participará como provador e irá consumir produtos fermentados de soja formulados e será solicitado a dar sua opinião sobre o quanto gostou dos produtos apresentados, avaliando os atributos cor, aroma, textura, sabor e aceitação global. Será realizada uma sessão e você poderá fazê-la no horário que tiver maior disponibilidade. Gostaríamos de esclarecer que sua participação é totalmente voluntária, podendo você: recusar-se a participar, ou mesmo desistir a qualquer momento sem que isto acarrete qualquer ônus ou prejuízo à sua pessoa. Informamos ainda que as informações serão utilizadas somente para os fins desta pesquisa e serão tratadas com o mais absoluto sigilo e confidencialidade, de modo a preservar a sua identidade. O produto apresentado possui efeitos benéficos como a diminuição no tempo de trânsito intestinal e auxílio na prevenção de doenças crônicas e a sua ingestão não traz riscos à saúde. Informamos que o senhor não pagará nem será remunerado por sua participação. Garantimos, no entanto, que todas as despesas decorrentes da pesquisa serão ressarcidas, quando devidas e decorrentes especificamente de sua participação na pesquisa. Caso você tenha dúvidas ou necessite de maiores esclarecimentos pode nos contactar (Prof<sup>a</sup> Elza Louko Ida, DCTA/UEL, elida@uel.br, (43) 3371- 4080), ou procurar o Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da Universidade Estadual de Londrina, na Avenida Robert Kock, nº 60, ou no telefone 3371 – 2490. Este termo deverá ser

preenchido em duas vias de igual teor, sendo uma delas, devidamente preenchida e assinada e entregue a você.

Londrina, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 2012.

**Pesquisador Responsável**

Elza louko Ida  
Prof<sup>a</sup> Orientadora

Tahis Regina Baú  
Aluno de mestrado

Eu, \_\_\_\_\_, tendo sido devidamente esclarecido sobre os procedimentos da pesquisa, concordo em participar **voluntariamente** da pesquisa descrita acima.

Assinatura: \_\_\_\_\_

Data: \_\_\_\_\_

## ANEXO 4

### Ficha para Avaliação Sensorial: Teste de Aceitação

#### TESTE DE ACEITAÇÃO

Nome: \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_\_\_

Você está recebendo uma amostra de produto de soja fermentado com kefir. Por favor, avalie as amostras com relação aos atributos cor, aroma, textura, sabor e aceitação global, segundo o grau de gostar ou desgostar, utilizando a escala abaixo:

- ( 9 ) gostei extremamente
- ( 8 ) gostei moderadamente
- ( 7 ) gostei regularmente
- ( 6 ) gostei ligeiramente
- ( 5 ) não gostei, nem desgostei
- ( 4 ) desgostei ligeiramente
- ( 3 ) desgostei regularmente
- ( 2 ) desgostei moderadamente
- ( 1 ) desgostei extremamente

AMOSTRA	COR	AROMA	TEXTURA	SABOR	ACEITAÇÃO GLOBAL

Comentários:

---



---



---



---

## ANEXO 5

### Resumos Apresentados em Congressos

#### RESUMO 1: III SECTAL (Simpósio de Ciência e Tecnologia de Alimentos) – UTFPR Campus Londrina

##### Determinação de sinérese em um produto probiótico de soja adicionado de fibras

Tahis Regina Baú<sup>1</sup> (PG); Sandra Garcia<sup>1</sup> (PQ); Elza Louko Ida<sup>1</sup> (PQ)

<sup>1</sup>Universidade Estadual de Londrina, Depto. De Ciência e Tecnologia de Alimentos, Rod. Celso Garcia Cid, Pr 445 Km 380, Cx. Postal 6001, CEP 86051-980, Londrina-PR. \*tahisbaui@yahoo.com.br

Palavras Chave: Soja, probiótico, fermentação, sinérese.

##### Introdução

A soja e seus derivados contêm componentes que são benéficos à saúde humana e com grande potencial de aplicação na indústria alimentícia. O extrato hidrossolúvel de soja (EHS) tem qualidades que permitem selecioná-lo como alternativa para obter bebidas fermentadas com probiótico, servindo como uma alternativa de consumo para indivíduos que apresentam alergias e/ou distúrbios alimentares pela ingestão de leite. As fibras alimentares, assim como os probióticos, são classificadas como ingredientes funcionais e são incorporados à diferentes gêneros alimentícios. Diante dos potenciais efeitos funcionais da soja, fibras e dos probióticos, este estudo tem por objetivo avaliar a sinérese em um produto probiótico de soja adicionado de diferentes fibras, fermentados por cultura starter de iogurte e probióticos.

##### Materiais e Métodos

O EHS foi obtido da soja cultivar BRS 257 (livre de lipoxigenases), tratado termicamente (95 °C/15min), inoculado com 0,01 UC/L e fermentado a 43 °C/6h. Foi utilizada a cultura comercial Lyofast SYAB 1 (Sacco<sup>®</sup>), composta por linhagens de *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis*, *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus*. Foram desenvolvidas cinco formulações, sendo uma delas sem adição de fibras e as demais com adição de 2% de fibra de soja, milho, aveia e trigo, respectivamente. Segundo os fabricantes, os produtos comerciais apresentavam a seguinte composição: fibra de soja (43% de fibra e 37% de proteína); fibra de milho (80% de fibra); fibra de aveia (80% de fibra) e fibra de trigo (94,5% de fibra). A sinérese foi determinada segundo Guirguis et al. (1984)<sup>1</sup>.

##### Resultados e Discussão

A Tabela 1 apresenta as características dos produtos fermentados.

A adição de fibras não afetou a fermentação do EHS, exceto para a formulação 3, que apresentou menor pH e maior % de ácido láctico.

O maior teor de sólidos solúveis foi observado na formulação contendo fibra de soja, sendo que as demais formulações não diferiram da formulação sem adição de fibras. O conteúdo de sólidos do EHS tem efeito sobre a concentração de ácidos que se obtém durante a fermentação, onde bebidas com <sup>o</sup>Brix <6,5 apresentam menor acidez, coágulo sem firmeza, baixa viscosidade e alta sinérese<sup>2</sup>.

Tabela 1. Características físico-químicas de produtos probióticos de soja adicionado de fibras\*

Formu- lações**	pH	Acidez (% ac. láctico)	S. Solúveis ( <sup>o</sup> Brix)***	Sinérese (mL.100g <sup>-1</sup> )
1	4,8 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,23 ± 0,015 <sup>d</sup>	6,1 ± 0,058 <sup>b</sup>	42,0 ± 3,46 <sup>a</sup>
2	4,8 ± 0,015 <sup>b</sup>	0,31 ± 0,011 <sup>a</sup>	6,5 ± 0,058 <sup>b</sup>	31,0 ± 0,000 <sup>d</sup>
3	4,6 ± 0,006 <sup>c</sup>	0,34 ± 0,012 <sup>a</sup>	6,2 ± 0,058 <sup>b</sup>	35,3 ± 1,041 <sup>c</sup>
4	4,8 ± 0,00 <sup>a,b</sup>	0,31 ± 0,006 <sup>a</sup>	6,1 ± 0,100 <sup>b</sup>	44,3 ± 0,577 <sup>a</sup>
5	4,7 ± 0,015 <sup>a</sup>	0,26 ± 0,014 <sup>b</sup>	6,2 ± 0,058 <sup>b</sup>	39,8 ± 0,289 <sup>b</sup>

\*Médias ± desvio padrão na mesma coluna acompanhadas de letras iguais não diferem estatisticamente (p<0,05).

\*\*Formulações: 1 (iogurte de soja sem adição de fibra); 2 (iogurte de soja adicionado de fibra de soja); 3 (iogurte de soja adicionado de fibra de milho); 4 (iogurte de soja adicionado de fibra de aveia); 5 (iogurte de soja adicionado de fibra de trigo).

\*\*\* S. solúveis: medidos antes da fermentação

A sinérese dos produtos variou de 31 a 44,3 mL.100g<sup>-1</sup>, sendo os menores valores observados nas formulações contendo fibra de soja e milho. De acordo com a literatura<sup>3</sup>, valores de sinérese abaixo de 39% podem ser considerados satisfatórios. Segundo os mesmos autores, a presença de fibras diminui a sinérese. Entretanto, neste estudo somente as formulações 2 e 3 (contendo fibra de soja e milho) apresentaram sinérese inferior à formulação 1 (sem fibras). A menor sinérese da formulação 2 pode ser atribuída ao maior teor de proteína da formulação, pois o aumento da concentração protéica acarreta modificação da textura dos géis, intensificando a retenção de água pela matriz<sup>4</sup>.

##### Conclusões

- A adição de fibras afetou a fermentação e a sinérese dos produtos fermentados;
- As fibras de soja e milho mostraram ser as mais adequadas para evitar a sinérese, dentre as fibras avaliadas.

##### Agradecimentos

Ao CNPQ pela concessão de bolsa de estudo e à Sacco<sup>®</sup> pelo fornecimento da cultura probiótica.

<sup>1</sup>GUEROLIS, N.; BROOME, M.C.; HIGKEY, M.W. The effect of partial replacement of skim milk powder with whey protein concentrate on the viscosity and synthesis of yogurt. *Australian Journal Of Dairy Technology*, v. 91, n. 1, p. 33-35, 1994.

<sup>2</sup>QUICAZÁN, M.C.; SANDOVAL, A.; PAOLILLA, G. Evaluación de la fermentación de bebida de soja con un cultivo láctico. *Revista Colombiana de Biotecnología*, v. 3, p. 92-99, 2001.

<sup>3</sup>APORTELA-PALACIOS, A.; SOSA-MORALES, M.E.; VÉLEZ-RUIZ, J. F. Rheological and physicochemical behavior of fortified yogurt, with fiber and calcium. *Journal of Texture Studies*, v. 36, n.3, p.333-349, 2005.

<sup>4</sup>ANTUNES, A.E.C.; MOTTA, E.M.P.; ANTUNES, A.J. Perfil de textura e capacidade de retenção de água de géis ácidos de concentrado protéico de soro de leite. *Quím. Tecnol. Aliment*, vol. 23, p. 183-189, 2003.

**RESUMO 2:** IX ERSCTA – Encontro Regional Sul de Ciência e Tecnologia de Alimentos

## **AVALIAÇÃO DA SINÉRESE DO PRODUTO DE SOJA FERMENTADO ADICIONADO DE FIBRAS DE SOJA, AVEIA E TRIGO UTILIZANDO O PLANEJAMENTO DE MISTURAS**

**Tahis R. BAÚ\*<sup>1</sup>; Sandra GARCIA<sup>2</sup>; Elza I. IDA<sup>3</sup>**

Universidade Estadual de Londrina. <sup>1</sup>Mestranda em Ciência de Alimentos, e-mail: tahisbau@yahoo.com.br; <sup>2,3</sup>Professoras Doutoradas: <sup>2</sup> e-mail: sgarcia@uel.br; <sup>3</sup> e-mail: elida@uel.br. Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos.

**PALAVRAS CHAVE:** Sinérese, produto de soja fermentado, fibras.

### **ABSTRACT**

The syneresis is a defect found in fermented products and is the separation of serum from the clot. The addition of the solid product, such as fiber, may reduce this defect, giving the product the best features. The objective of this study was to evaluate the effect of the addition of soy fiber, oat and wheat on the syneresis of a fermented soy product with kefir using the mixture design *simplex-centroid*. The results had demonstrated that the formulations containing 3% of soy fibre had provided to a less syneresis compared to the too much formulations.

### **INTRODUÇÃO**

A sinérese é o fenômeno de separação do soro do coágulo do iogurte que ocorre durante o seu armazenamento e resulta na formação de uma camada de soro na superfície do produto, que leva à rejeição por parte dos consumidores (LUCEY, 2002).

As principais causas da separação do soro em géis ácidos, como o iogurte, são a rápida acidificação e uma alta temperatura de incubação. Outras possíveis causas para este fenômeno são: tratamento térmico excessivo da mistura, baixo teor de sólidos totais, agitação durante ou logo após a formação do coágulo e baixa produção de ácido com pH de 4,8 (LUCEY e SINGH, 1998).

O extrato hidrossolúvel de soja (EHS) possui aparência e composição semelhante ao leite animal (JINAPONG et al., 2008), e pode ser utilizado como substrato para fermentação. A fermentação por bactérias lácticas é utilizada para melhorar o sabor e aumentar a sua aceitabilidade (BEASLEY et al., 2003). O EHS pode ser utilizado para o crescimento dessas bactérias, comumente utilizadas no preparo de produtos como iogurtes, queijos e bebidas (CUENCA e QUICAZÁN, 2004).

O desenvolvimento de ingredientes e produtos ricos em fibras aumentou significativamente (CHAU e HUANG, 2003). A adição de fibras, além de exercer efeitos benéficos ao nosso organismo, pode melhorar as propriedades tecnológicas destes produtos.

Em alimentos, as fibras alimentares possuem funções tecnológicas que incluem a formação de géis, retenção de água ou lipídios, aumento da viscosidade, formação e

estabilização de emulsões e de espumas (DIEPENMAAT-WOLTERS, 1993), modificação na textura e na capacidade fermentativa dos produtos (BORDERÁS et al., 2005). Ainda, a adição de fibras pode alterar o processamento e o manuseio do produto, bem como a sua textura, cor, sabor e aroma (IZYDORCZYK et al., 2008). As fibras podem interagir com outros componentes do alimento durante o processamento, e ocasionar alterações na biodisponibilidade de nutrientes e modificação nas características do produto (FERNÁNDEZ-GARCÍA e MCGREGOR, 1997).

Para o controle da qualidade de produtos fermentados é importante a determinação de características relacionadas à sua estrutura física. Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a sinérese de um produto de soja fermentado com cultura de kefir com adição de fibras de soja, aveia e trigo utilizando o planejamento de misturas.

## **METODOLOGIA**

O EHS foi obtido da soja cultivar BRS 257 (livre de lipoxigenases), tratado termicamente a 95°C por 15min, inoculado com 0,01 UC/L e fermentado a 25°C por 15h, até atingir pH 4,5±0,1. Foi utilizada a cultura comercial de kefir Lyofast MT 036 LV (Sacco®), composta por linhagens de *Lactococcus lactis*, *Lactococcus lactis* ssp. *diacetylactis*, *Lactobacillus brevis*, *Leuconostoc* e *Saccharomyces cerevisiae*.

O planejamento de misturas *simplex-centróide* foi utilizado para avaliar o efeitos da adição de diferentes ingredientes sobre a sinérese do produto fermentado. As variáveis estudadas foram a fibra de soja ( $X_1$ ), fibra de aveia ( $X_2$ ) e fibra de trigo ( $X_3$ ), sendo que 3% foi o nível máximo de cada variável, em relação ao total da formulação. Foram realizados três experimentos com ingredientes puros, três com misturas binárias e um com mistura ternária, totalizando nove ensaios. Além de fibras, as formulações continham 9% de sacarose, 0,1% de antiespumante e 0,2% de aromatizantes. A função resposta (Y) foi medida pela sinérese expressa como mL de exsudato em 100g do produto.

A composição centesimal das fibras foi realizada em triplicata conforme AOAC, (2006). A sinérese foi realizada em quintuplicata adaptando a metodologia descrita por Guirguis et al. (1984), pela drenagem, em cinco replicatas, do produto fermentado sobre tecido tunil sobreposto sob uma peneira. A sinérese foi expressa com volume de exsudato (mL.100g<sup>-1</sup>) coletado após 2 h de refrigeração a 6°C. As análises estatísticas foram realizadas pelo programa STATISTICA 7.0 da *StatSoft, Inc.*

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

A fibra de soja apresentou teor de proteínas e lipídios significativamente maior que as fibras de aveia e trigo (Tabela 1). A fibra de trigo apresentou maior quantidade de fibra total, seguido da fibra de aveia e soja. Os teores de umidade e cinzas também apresentaram diferença significativa entre as amostras.

**Tabela 1.** Composição centesimal das fibras de soja, aveia e trigo (base úmida)\*

	<b>Umidade</b> (g.100g <sup>-1</sup> )	<b>Cinzas</b> (g.100g <sup>-1</sup> )	<b>Proteína</b> (g.100g <sup>-1</sup> )	<b>Lipídios</b> (g.100g <sup>-1</sup> )	<b>Fibra</b> (g.100g <sup>-1</sup> )	<b>Total</b>
Fibra de soja	7,47 ± 0,01 <sup>b</sup>	4,03 ± 0,01 <sup>b</sup>	38,40 ± 0,37 <sup>a</sup>	1,26 ± 0,21 <sup>a</sup>	41,84 ± 0,71 <sup>c</sup>	
Fibra de Aveia	9,90 ± 0,01 <sup>a</sup>	3,57 ± 0,01 <sup>c</sup>	1,78 ± 0,23 <sup>b</sup>	0,36 ± 0,08 <sup>b</sup>	76,27 ± 0,20 <sup>b</sup>	
Fibra de trigo	6,81 ± 0,22 <sup>c</sup>	5,37 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,00 ± 0,00 <sup>c</sup>	0,37 ± 0,08 <sup>b</sup>	86,50 ± 0,32 <sup>a</sup>	

\*Médias ± desvio padrão na mesma coluna acompanhadas de letras iguais não diferem estatisticamente (p≤0,05)

Os diferentes teores de proteína das fibras de soja, aveia e trigo podem exercer grande influência na estabilidade física dos produtos fermentados. Segundo Amatayakul et al. (2006), pode ocorrer diminuição do índice de sinérese em produtos fermentados que apresentem maior teor de proteína, já que pode ocorrer uma intensificação da retenção de soro pela matriz protéica.

De acordo com Lan et al. (1995), os géis protéicos são formados por interações intermoleculares resultando na formação de uma rede tridimensional de proteínas que promovem a rigidez na estrutura formada.

O índice de sinérese variou de 8,1 a 21,2 mL.100g<sup>-1</sup> nos produtos fermentados conforme o planejamento de misturas (Tabela 2). A formulação contendo 3% de fibra de soja apresentou índice de sinérese menor que as demais formulações. As formulações contendo fibra de aveia (2 e 6) apresentaram valores elevados de sinérese, indicando que sua adição pode afetar a estrutura do gel formado, provocando diminuição na capacidade de retenção de água do produto.

**Tabela 2.** Planejamento experimental *simplex-centróide* e respectivas respostas para sinérese\*

<b>Ensaio s</b>	<b>Proporção do componente**</b> (variável codificada)			<b>Quantidade de ingrediente</b> (g de fibra.100g <sup>-1</sup> de base)			<b>Sinérese</b> (mL.100g <sup>-1</sup> )
	$x_1$	$x_2$	$x_3$	F. soja	F. aveia	F. trigo	
01	1,00	0,00	0,00	3	0	0	8,1 ± 0,53
02	0,00	1,00	0,00	0	3	0	21,2 ± 1,32
03	0,00	0,00	1,00	0	0	3	15,7 ± 0,59
04	0,50	0,50	0,00	1,5	1,5	0	13,8 ± 1,09
05	0,50	0,00	0,50	1,5	0	1,5	14,1 ± 1,23
06	0,00	0,50	0,50	0	1,5	1,5	19,2 ± 2,04
07	0,33	0,33	0,33	1	1	1	11,7 ± 1,12
08	0,33	0,33	0,33	1	1	1	12,4 ± 0,53
09	0,33	0,33	0,33	1	1	1	15,0 ± 0,98

\*Médias ± desvio padrão na mesma coluna acompanhadas de letras iguais não diferem estatisticamente (p≤0,05)

\*\* $x_1$ : fibra de soja;  $x_2$ : fibra de aveia;  $x_3$ : fibra de trigo

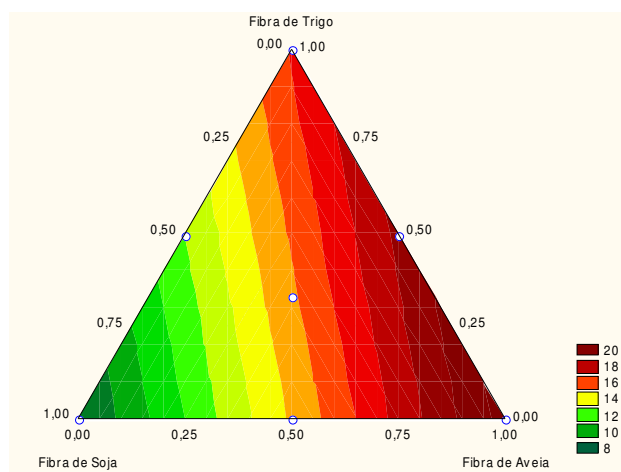
O modelo que melhor se ajustou aos dados experimentais foi o linear, e é dado pela Equação 1.

$$Y = 7,65.X_1 + 20,17.X_2 + 15,89.X_3 \quad (R^2 = 0,83) \quad (\text{Equação 1})$$

Onde  $X_1, X_2$  e  $X_3$  são as variáveis codificadas de fibra de soja, aveia e trigo, respectivamente.

Os resultados obtidos neste trabalho foram similares aos encontrados por Magenis et al. (2006), que verificaram que quanto menor o teor protéico dos produtos fermentados, maior o índice de sinérese.

Pode ser observado que ocorre diminuição na sinérese com o aumento do percentual de fibra de soja adicionado (Figura 1).



**Figura 1.** Superfície de resposta para a sinérese ( $\text{mL} \cdot 100\text{g}^{-1}$ )

A sinérese está relacionada com a instabilidade da rede protéica, que perde sua capacidade de ligar a fase aquosa do produto (LUCEY, 2002).

Antunes, Motta e Antunes (2003), determinaram a capacidade de retenção de água de géis ácidos de concentrado protéico de soro de leite e relataram que os maiores valores de capacidade de retenção de água, de maneira geral, aconteceram nos géis com maior concentração protéica, tempo e temperatura de desnaturação.

O maior teor da fibra de soja (38,4%) pode ser o principal responsável pela menor sinérese apresentada pela formulação contendo fibra de soja. Entretanto, a formulação contendo fibra de trigo apresentou sinérese inferior (15,7%) à formulação contendo fibra de aveia (21 %), indicando que as fibras também podem exercer efeito sobre a sinérese.

Para Aportela-Palacios et al. (2005), valores de sinérese abaixo de 39% podem ser considerados satisfatórios. Os autores também concluíram que a presença de fibras diminui a sinérese. Os valores médios obtidos nesse experimento se encontraram abaixo do recomendado.

Kailasapathy (2006) afirma que as culturas probióticas produzem exopolissacarídeos que podem atuar como estabilizantes em alimentos, contribuindo para a estrutura de gel dos iogurtes, prevenindo a quebra do gel e a sinérese.

Aryana & McGrew (2007) obtiveram valores de sinérese de 18,3 a 26,67% ao avaliarem os atributos de qualidade de iogurtes com *Lactobacillus casei* e vários prebióticos.

## CONCLUSÃO

A adição de fibras de soja, aveia e trigo exerceram influência sobre a sinérese dos produtos fermentados de soja com cultura de kefir, sendo que a formulação contendo 3% fibra de soja apresentou as melhores condições para diminuição da sinérese no produto fermentado.

## AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão de bolsa.

## REFERÊNCIAS

- AMATAYAKUL, T.; HALMOS, A.L.; SHERKAT, F.; SHAH, N.P. Physical characteristics of yoghurts made using Exopolysaccharide producing starter cultures and varying casein to whey protein ratios. **International Dairy Journal**, Oxford, v. 16, n. 1, p. 40-51, 2006.
- ANTUNES, A. E. C.; MOTTA, E. M. P.; ANTUNES, A. J. Perfil de textura e capacidade de retenção de água de géis ácidos de concentrado protéico de soro de leite. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 23 (Supl), p. 183-189, 2003.
- AOAC. **Official Methods of Analysis of AOAC International** - Volume I and II, 18th Edition, Rev. 1, 2006.
- APORTELA-PALACIOS, A.; SOSA-MORALES, M.E.; VÉLEZ-RUIZ, J.F. Rheological and physicochemical behavior of fortified yogurt, with fiber and calcium. **Journal of Texture Studies**, v. 36, n. 3, p.333-349, 2005.
- ARYANA, K.J.; & MCGREW, P. Quality attributes of yogurt with *Lactobacillus casei* and various prebiotics. **LWT**, v. 40, n. 10, p.1808-1814, 2007.
- BEASLEY, S.; TUORILA, H.; SARIS, P.E.J. Fermented soymilk with a monoculture of *Lactococcus lactis*, **International Journal of Food Microbiology**, v. 81, n.2, p. 159–162, 2003.
- BORDERÁS, A.J.; SANCHEZ-ALONSO, I.; PEREZ-MATEOS, M. New applications of fibres in foods: addition to fishery products. **Trends in Food Science & Technology**, Cambridge, v.16, p. 458-465, 2005.
- CHAU, C.F.; HUANG, Y.L. Comparison of the chemical composition and physicochemical properties of different fibres prepared from peel of *Citrus sinensis L-Cv. Liucheng*, **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.51, p. 2615–2618, 2003.
- CUENCA, M. M.; QUICAZÁN, M. C. Comparación de la fermentación de bebida de soya e leche de vaca utilizando un cultivo láctico comercial, **Ingeniería y competitividad**, v. 5, n.2, p. 16-22, 2004.
- DIEPENMAAT-WOLTERS, M.G.E. **Functional properties of dietary fibre in foods**. In: Food Ingredients Europe: Conference Proceeding. p.162-164, 1993.
- FERNÁNDEZ-GARCÍA, E.; MCGREGOR, J.U. Fortification of sweetened plain yogurt with insoluble dietary fiber, *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung*. **A European food research and technology**, v.204, n.6, p. 433–437, 1997.
- IZYDORCZYK, M.S.; CHORNICKA, T.L.; PAULLEYA, F.G.; EDWARDS, N.M.; DEXTER, J.E. Physicochemical properties of hull-less barley fibre-rich fractions varying in particle size and their potential as functional ingredients in two-layer flat bread, **Food Chemistry**, v.108, p. 561–570, 2008.
- JINAPONG, N.; SUPHNTHARIKA, M.; JAMNONG, P. Production of instant soymilk powders by ultrafiltration, spray drying and fluidized bed agglomeration, **Journal of Food Engineering**, v. 84, n. 2, p. 194-205, 2008.
- KAILASAPATHY, K. Survival of free and encapsulated probiotic bacteria and their effect on the sensory properties of yoghurt. **LWT**, v. 39, n. 10, p.1221–1227, 2006.
- LAN, Y. H.; NOVAKOVSKI, J.; McCUSKER, R. H.; BREWER, M. S.; CARR, T. R.; McKEITH, F. K. Thermal gelation properties of protein fractions from pork and chicken breast muscles. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 60, n. 40, p. 742-747, 1995.
- LUCEY, J. A. Formation and physical properties of milk protein gels. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 85, n. 2, p. 281-294, 2002.
- LUCEY, J. A.; SINGH, H. Formation and physical properties of acid milk gels: a review. **Food Research International**, Barking, v. 30, n. 7, p. 529-539, 1998.
- MAGENI S, R. B. ; PRUDÊNCIO, E. S. ; AMBONI, R. D. M. C. ; CERQUEIRA Jr., N. G. ; OLIVEIRA, R. V. B. ; SOLDI, V. ; BENEDET, H. D. Compositional and physical properties of yogurt manufactured from milk and whey cheese concentrated by ultrafiltration. **International Journal of Food Science and Technology**, London, v. 41, n. 5, p. 560-568, 2006.
- STATSOFT, Inc. **STATISTICA for Windows**. Tulsa, OK: StatSoft, Inc., 2007, version 7.0, CDROM, Windows System.

**RESUMO 3:** IX ERSCTA – Encontro Regional Sul de Ciência e Tecnologia de Alimentos

**AVALIAÇÃO DO CRESCIMENTO DE *Lactococcus lactis* EM PRODUTO DE SOJA FERMENTADO COM CULTURA DE KEFIR ADICIONADO DE FIBRAS DE SOJA, AVEIA E TRIGO UTILIZANDO O PLANEJAMENTO DE MISTURAS**

**Tahis R. BAÚ<sup>1</sup>; Sandra GARCIA<sup>2</sup>; Elza I. IDA<sup>3</sup>**

Universidade Estadual de Londrina. <sup>1</sup>Mestranda em Ciência de Alimentos, e-mail: tahisbau@yahoo.com.br; <sup>2,3</sup>Professoras Doutoradas: <sup>2</sup> e-mail: sgarcia@uel.br; <sup>3</sup> e-mail: elida@uel.br. Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos.

**PALAVRAS CHAVE:** Probióticos, fibras, produto de soja fermentado.

**ABSTRACT**

The *Lactococcus lactis* is microorganism that composes the culture of kefir and is pointed by the Brazilian legislation as being probiotic. The staple fibres are functional components that, beyond exerting beneficial effect to our organism, can act as prebiotics, stimulating selectively the growth of the probiotics. The objective of this work was to develop a product leavend with culture of kefir and staple fibres of soy, oats and wheat, using the planning of mixtures simplex-centroid. The results had demonstrated that the formulations containin 3% of soy fibre had provided to a bigger development of *Lactococcus lactis*, in relation to the other formulations.

**1 INTRODUÇÃO**

Kefir é uma bebida fermentada de leite, composta por uma mistura complexa de bactérias e leveduras (URDANETA et al., 2007) que co-existem em uma associação simbiótica, responsável pela fermentação ácida-alcoólica. O principal produto formado a partir do metabolismo microbiano é o ácido láctico, seguido de compostos como acetaldeído e diacetil, que conferem *flavor*. A presença das leveduras leva à formação de etanol e dióxido de carbono (LOPITZ-OTSOA et al., 2006).

Além do valor nutritivo inerente à sua composição química, o kefir desempenha um papel potencialmente benéfico na redução do risco de doenças crônicas degenerativas (MORAES e COLLA, 2006). Algumas propriedades benéficas podem ser citadas, como ação antimicrobiana, antiinflamatória, cicatrizante e antialérgica (LEE et al., 2007; RODRIGUES et al., 2005), sendo também indicado à pacientes em tratamento de doenças gastrintestinais, doenças metabólicas, hipertensão, isquemia do coração e alergia (FARNWORTH e MAINVILLE, 2003). Ainda, algumas espécies de lactobacilos e leveduras presentes

no kefir demonstram efeito positivo na colonização do intestino (KUMURA et al., 2004).

Bactérias lácticas e várias cepas de leveduras encontradas no kefir apresentam resistência a sais biliares e ao baixo pH, propriedade de adesão e capacidade de inibição de alguns patógenos intestinais (GOLOWCZYC et al., 2007; GOLOWCZYC et al., 2008; ROMANIN et al., 2010).

Em virtude da complexidade microbiana e dos efeitos benéficos derivados do seu consumo, o kefir pode ser considerado uma fonte adequada de microrganismos com potencial probiótico (ROMANIN et al., 2010), sendo apontado como um alimento probiótico e funcional. O *Lactococcus lactis*, microrganismo que compõe a cultura de kefir, é apontado pela legislação brasileira como probiótico, e deve apresentar uma contagem mínima de  $10^8$  UFC.mL<sup>-1</sup> no produto (BRASIL, 2007).

As fibras compreendem qualquer material comestível que não seja hidrolisado pelas enzimas endógenas do trato digestivo humano (BRASIL, 2003). O consumo de fibra alimentar pode reduzir o risco de doenças cardiovasculares, câncer de cólon e obesidade (CHAU e HUANG, 2004), e exercer um efeito físico-mecânico; aumentar o volume do bolo alimentar e das fezes e diminuir o tempo de trânsito intestinal (SGARBIERI e PACHECO, 1999). As fibras solúveis possuem também a propriedade de serem fermentadas pelas bactérias do cólon, dando origem a ácidos graxos de cadeia curta, principalmente acetato, propionato e butirato (PIMENTEL et al., 2005; REDONDO-CUENCA et al., 2007). Além dos efeitos benéficos ao nosso organismo as fibras podem atuar como prebióticos, estimulando seletivamente o crescimento dos probióticos (GIBSON, 2004).

O objetivo deste trabalho foi avaliar o crescimento de *Lactococcus lactis* do produto de soja fermentado com cultura de kefir adicionado de fibras de soja, aveia e trigo utilizando o planejamento de misturas *simplex-centróide*.

## METODOLOGIA

O extrato hidrossolúvel de soja (EHS) foi obtido da soja cultivar BRS 257 (livre de lipoxigenases), tratado termicamente a 95°C por 15min, inoculado com 0,01 UC/L e fermentado a 25°C por 15h até atingir pH  $4,5 \pm 0,1$ . Foi utilizada a cultura comercial de kefir Lyofast MT 036 LV (Sacco®), composta por linhagens de *Lactococcus lactis*, *Lactococcus lactis* ssp *diacetylactis*, *Lactobacillus brevis*, *Leuconostoc* e *Saccharomyces cerevisiae*.

O planejamento de misturas *simplex-centróide* foi utilizado para avaliar o crescimento de *Lactococcus lactis* em produto fermentando contendo fibras. As variáveis estudadas foram a fibra de soja ( $X_1$ ), fibra de aveia ( $X_2$ ) e fibra de trigo ( $X_3$ ), sendo que 3% foi o nível máximo de cada variável, em relação ao total da formulação. Foram realizados três experimentos com ingredientes puros, três com

misturas binárias e um com mistura ternária, totalizando nove ensaios. Além de fibras, as formulações continham 9% de sacarose, 0,1% de antiespumante e 0,2% de aromatizantes. A função-resposta (Y) foi a contagem de *Lactococcus lactis*, expressa em log UFC.mL<sup>-1</sup>.

A composição centesimal das fibras foi realizada em triplicata conforme AOAC, (2006). A contagem de *Lactococcus lactis* foi efetuada em Ágar M17 suplementado com Cicloheximida (200 mg.L<sup>-1</sup>), com incubação a 30 °C por 48 h, em anaerobiose (IRIGOYEN et al., 2005). Os ensaios foram realizados em triplicata e as análises estatísticas foram realizadas pelo programa STATISTICA 7.0 da StatSoft, Inc.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A composição dos ingredientes utilizados na formulação pode afetar o crescimento dos microrganismos que compõem a cultura utilizada na fermentação.

A fibra de soja apresentou 38,4% de proteínas, 4,03% de cinzas, 1,26% de lipídios e 41,84% de fibra total. A fibra de aveia apresentou 1,78% de proteínas, 3,57% de cinzas, 0,36% de lipídios e 76,27% de fibra total e a fibra de trigo apresentou 0% de proteínas, 5,37% de cinzas, 0,37% de lipídios e 86,50% de fibra total.

Foi observado que a adição de fibras de soja, aveia e trigo afetou significativamente o crescimento de *Lactococcus lactis* (Tabela 1).

**Tabela 1.** Planejamento experimental *simplex-centróide* e respectivas respostas da contagem de *Lactococcus lactis*\*

Ensaio	Proporção do componente** (variável codificada)			Quantidade de ingrediente (g de fibra.100g <sup>-1</sup> de base)			Função resposta (Y) (log UFC.g <sup>-1</sup> )
	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	x <sub>3</sub>	F. soja	F. aveia	F. trigo	
1	1,00	0,00	0,00	3	0	0	9,48 ± 0,13
2	0,00	1,00	0,00	0	3	0	8,82 ± 0,06
3	0,00	0,00	1,00	0	0	3	8,93 ± 0,08
4	0,50	0,50	0,00	1,5	1,5	0	9,00 ± 0,02
5	0,50	0,00	0,50	1,5	0	1,5	8,95 ± 0,05
6	0,00	0,50	0,50	0	1,5	1,5	8,93 ± 0,07
7	0,33	0,33	0,33	1	1	1	8,84 ± 0,03
8	0,33	0,33	0,33	1	1	1	8,96 ± 0,02
9	0,33	0,33	0,33	1	1	1	9,00 ± 0,12

\*Médias ± desvio padrão na mesma coluna acompanhadas de letras iguais não diferem estatisticamente (p≤0,05)

\*\*x<sub>1</sub>: fibra de soja; x<sub>2</sub>: fibra de aveia; x<sub>3</sub>: fibra de trigo

A formulação contendo 3% fibra de soja (1) proporcionou crescimento de *Lactococcus lactis* maior que as demais formulações. Entretanto, todas as formulações podem ser consideradas probióticas, uma vez que apresentaram uma

contagem mínima de  $10^6$  UFC.mL<sup>-1</sup> conforme recomendação da legislação vigente (BRASIL, 2007).

O modelo que melhor se ajustou aos dados experimentais é dado pela Equação 1.

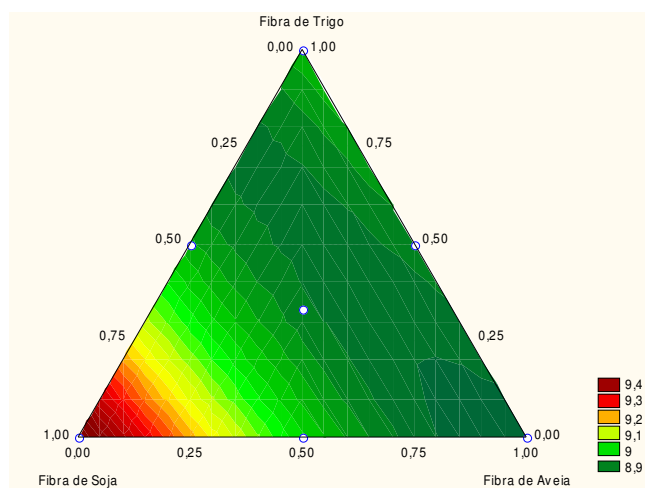
$$Y = 9,47.X_1 + 8,84.X_2 + 8,95.X_3 - 0,56.X_1.X_2 - 0,97.X_1.X_3 \quad (\text{Equação 1}).$$

$$(R^2 = 0,94)$$

Onde  $X_1, X_2$  e  $X_3$  são as variáveis codificadas de fibra de soja, aveia e trigo, respectivamente.

O coeficiente de determinação alcançado ( $R^2$  ajustado) foi igual a 0,954. Joklega e May (1987) sugerem que para um bom ajuste de modelo, o  $R^2$  ajustado deve estar em pelo menos de 0,80. Portanto, pode-se afirmar que o modelo quadrático obtido apresentou um bom ajuste aos dados experimentais.

Observa-se que ocorre aumento na contagem *Lactococcus lactis* com o aumento do percentual de fibra de soja adicionado (Figura 1).



**Figura 1.** Superfície de resposta para contagem ( $\log \text{UFC.g}^{-1}$ ) de *Lactococcus lactis*.

As formulações contendo fibra de aveia e trigo exerceram pouca influência no crescimento de *Lactococcus lactis*, quando comparado à formulação contendo 3% de fibra de soja.

A formulação contendo fibra de soja pode ter estimulado o crescimento do referido microrganismo por apresentar os oligossacarídeos rafinose e estaquiose, que podem atuar como prebióticos (GIBSON e FULLER, 2000).

Além disso, a presença de proteínas e outros micronutrientes (dados não mostrados) também é um fator que pode alterar o metabolismo microbiano. A capacidade tamponante das proteínas pode ter interferido na contagem de *Lactococcus lactis*, visto que a formulação contendo fibra de soja apresentou maior

teor de proteína que as demais formulações. Segundo Giger-Reverdin *et al.* (2002), a capacidade tamponante é um fator que pode influenciar na extensão e no perfil de fermentação dos alimentos.

## CONCLUSÃO

A adição de fibras de soja, aveia e trigo exerceram influência sobre o crescimento de *Lactococcus lactis* nos produtos fermentados de soja com cultura de kefir, sendo que a formulação contendo 3% fibra de soja apresentou as melhores condições, estimulando o crescimento do microrganismo.

## AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão de bolsa.

## REFERÊNCIAS

- AOAC. **Official Methods of Analysis of AOAC International** - Volume I and II, 18th Edition, Rev. 1, 2006.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Alimentos com alegações de propriedades funcionais e ou de saúde, novos alimentos/ingredientes, substâncias bioativas e probióticos. Atualizado em agosto de 2007. IX – Lista das alegações de propriedades funcionais aprovadas. Disponível em: < [http://anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno\\_lista\\_alega.htm](http://anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno_lista_alega.htm)>. Acesso em 18 jul. 2010. 2007.
- BRASIL, Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 360 de 23 de Janeiro de 2003a. Aprova Regulamento Técnico sobre Rotulagem Nutricional de Alimentos Embalados, tornando obrigatória a rotulagem nutricional. <http://www.anvisa.gov.br/e-legis/>. Acesso em 22 nov. 2010. 2003.
- CHAU, C. F.; HUANG, Y. L. Characterization of passion fruit seed fibres-a potential fibre source. **Food Chemistry**, v. 85, n. 2, p. 189-194, 2004.
- FARNWORTH, E. R.; MAINVILLE, I. Kefir: a fermented milk product. In: FARNWORTH, E. R. (Ed.). **Handbook of fermented functional foods**. Boca Raton: CRC, p. 77-112, 2003.
- GIBSON, G.R. Fibre and effects on probiotics (the prebiotic concept), **Clinical Nutrition Supplements**, v. 1, n.2, p. 25-31, 2004.
- GIGER-REVERDIN, S.; DUVAUX-PONTER, C.; SAUVANT, D.; MARTIN, O.; PRADO, I. N.; MÜLLER, R. Intrinsic buffering capacity of feedstuffs. **Animal Feed Science and Technology**, v.96, p.83-102, 2002.
- GOLOWCZYC, M.A.; GUGLIADA, M.J.; HOLLMANN, A.; DELFEDERICO, L.; GARROTE, G.L.; ABRAHAM, A.G.; SEMORILE, L.; ANTONI, G. Characterization of homofermentative lactobacilli isolated from kefir grains: potential use as probiotic, **Journal of Dairy Research**, v.75, p. 211–217, 2008.
- GOLOWCZYC, M.A.; MOBILI, P.; GARROTE, G.L.; ABRAHAM, A.G.; ANTONI, G.L. Protective action of *Lactobacillus kefir* carrying S-layer protein against *Salmonella enterica* serovar enteritidis, **International Journal of Food Microbiology**, v.118, p. 264–273, 2007.
- JOGLEKA, A. M.; MAY, A. T. **Product excellence through design of experiments**. Cereal Foods World 3, p. 857-868, 1987.
- IRIGOYEN, A.; ARANA, I.,CASTIELLA, M.; TORRE, P.; IBÁÑEZ, F.C. Microbiological, physicochemical, and sensory characteristics of kefir during storage, **Food Chemistry**, v. 90, n.4, p.613-620, 2005.

- KUMURA, K.;TANOUE, Y.; TSUKAHARA, M.; TANAKA, T.; SHIMAZAKI, K. Screening of dairy yeast strains for probiotic applications, **Journal of Dairy Science**, v. 87, p. 4050–4056, 2004.
- LEE, M. Y.; AHN, K. S.; KWON, O. K.; KIM, M. J.; KIM, M. K.; LEE, I. Y.; OH, S. R.; LEE, H. K. Anti-inflammatory and anti-allergic effects of kefir in a mouse asthma model, **Immunobiology**, v. 212, n. 4, p. 647-654, 2007.
- LOPITZ-OTSOA, F.; REMENTERIA, A.; ELGUEZABAL, N.; GARAIZAR, J. Kefir: Asymbiotic yeasts-bacteria community with alleged healthy capabilities, **Revista Iberoamericana de Micología**, v.23, p.67-74, 2006.
- MORAES F. P.; COLLA L. M. Alimentos Funcionais e Nutracêuticos: Definições, Legislação e Benefícios á Saúde, **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 3, n.2, 99-112, 2006.
- REDONDO-CUENCA, A.; VILLANUEVA-SUÁREZ, M.J.; RODRÍGUEZ-SEVILLA, M.D.; MATEOS-APARICIO, I. Chemical composition and dietary fibre of yellow and green commercial soybeans (*Glycine max*), **Food Chemistry**, v.101, n.3, p. 1216-1222, 2007.
- RODRIGUES, K. L.; CAPUTO, L. R. G.; CARVALHO, J. C. T.; EVANGELISTA, J. Antimicrobial and healing activity of kefir and kefir extract, **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 25, n. 20, p. 404-408, 2005.
- ROMANIN, D.; SERRADELL, M.; MACIEL, D.G.; LAUSADA, N.; GARROTE, G.L.; RUMBO, M. Down-regulation of intestinal epithelial innate response by probiotic yeasts isolated from kefir, **International Journal of Food Microbiology**, v. 140, n.2-3, p.102-108, 2010.
- SGARBIERI, V.C.; PACHECO, M.T.B. Alimentos funcionais fisiológicos, **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v.2, p. 7-19, 1999.
- STATSOFT, Inc. **STATISTICA for Windows**. Tulsa, OK: StatSoft, Inc., 2007, version 7.0, CDROM, Windows System.
- PIMENTEL, M.B. V. C. de; FRANCKI, M. V.; GOLLÜCKE, B. P. A. **Alimentos funcionais**. Introdução às principais substancias bioativas em alimentos. São Paulo, 2005.
- URDANETA, E.; BARRRENETXE, J.; ARANGUREN, P.; IRIGOYEN, A.; MARZO, F.; IBÁÑEZ, F. Intestinal beneficial effects of kefir-supplemented diet in rats, **Nutrition Research**, v. 27, n. 10, p. 653-658, 2007.

**RESUMO 4: 9º SLACA – Simpósio Latino Americano de Ciência de Alimentos****DETERMINAÇÕES FÍSICO-QUÍMICAS DE PRODUTO DE SOJA FERMENTADO COM CULTURA DE KEFIR E ADICIONADO DE FIBRAS**BAÚ, T.R.<sup>1</sup>.; MARTINS, B.C.<sup>1</sup>.; GARCIA, S.<sup>1</sup>.; IDA, E.I.<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Programa de Mestrado e Doutorado em Ciência de Alimentos, Cx. Postal 6001, CEP: 86051-980, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, Paraná, Brasil. E-mail: tahisbau@yahoo.com.br

O extrato hidrossolúvel de soja (EHS) possui adequado valor nutricional e pode ser utilizado para o preparo de bebidas fermentadas. O kefir é uma bebida fermentada composta por uma mistura complexa de bactérias e leveduras que co-existem em simbiose. As fibras alimentares são ingredientes funcionais que conferem benefícios à saúde e sua adição em produtos fermentados pode provocar alterações nas propriedades tecnológicas. O objetivo deste trabalho foi avaliar as alterações físico-químicas de produtos fermentados de soja adicionados de fibra de soja, aveia e de trigo. O EHS foi preparado com soja cultivar BRS 257 (livre de lipoxigenases), tratado termicamente (95°C/15min) e fermentado a 25°C/15h com cultura comercial de kefir (Lyofast MT 036 LV - Sacco®). Foram adicionados 3% de cada fibra aos produtos fermentados, totalizando 4 formulações, sendo uma sem adição de fibra. As fibras foram caracterizadas quanto à composição centesimal e, nos produtos fermentados, foi determinado o pH, acidez, sinérese, viscosidade e firmeza. Os ingredientes apresentaram diferença na composição centesimal: fibra de soja (41,84% de fibra total), fibra de aveia (76,27% de fibra total) e fibra de trigo (86,5% de fibra total). O ingrediente fibra de soja, fibra de aveia e de trigo apresentaram teor de proteínas de 38,4%; 1,78% e 0%, respectivamente. Houve diferenças significativas ( $p \leq 0,05$ ) no pH e acidez das formulações. Menor sinérese ocorreu na formulação contendo a fibra de soja e maior sinérese foi na formulação sem adição de fibra. As melhores propriedades tecnológicas do produto fermentado com kefir foram observadas na formulação contendo fibra de soja, que apresentou maior viscosidade, firmeza e retenção de água.

Palavras chave: extrato hidrossolúvel de soja, kefir, fibras.

**RESUMO 5: 9º SLACA – Simpósio Latino Americano de Ciência de Alimentos****AVALIAÇÃO DA VISCOSIDADE DO PRODUTO DE SOJA FERMENTADO ADICIONADO DE FIBRAS DE SOJA, AVEIA E TRIGO UTILIZANDO O PLANEJAMENTO DE MISTURAS**BAÚ, T.R<sup>1</sup>.; GARCIA, S<sup>1</sup>.; IDA, E.I<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Programa de Mestrado e Doutorado em Ciência de Alimentos, Cx. Postal 6001, CEP: 86051-980, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, Paraná, Brasil. E-mail: tahisbau@yahoo.com.br

As fibras alimentares têm sido investigadas devido às funções fisiológicas que exercem no organismo humano e por fornecerem produtos com características sensoriais desejáveis. As fibras possuem funções tecnológicas que incluem a formação de géis, retenção de água, aumento da viscosidade, modificação na textura e na capacidade fermentativa dos produtos. Ainda, podem interagir com outros componentes do alimento durante o processamento, modificando as características do produto. Considerando o potencial que o extrato hidrossolúvel de soja (EHS) possui para o desenvolvimento de produtos fermentados e o efeito benéfico da ingestão de fibras, o objetivo deste trabalho foi avaliar viscosidade do produto de soja fermentado adicionado de fibra de soja, aveia e trigo, utilizando o planejamento de misturas *simplex-centróide*. O EHS foi obtido da soja cultivar BRS 257 (livre de lipoxigenases), tratado termicamente (95°C/15min) e fermentado a 25°C/15h com cultura comercial de kefir (Lyofast MT 036 LV - Sacco®). O nível máximo de cada variável adicionado ( $X_1$  = Fibra de soja;  $X_2$ =Fibra de aveia e  $X_3$ =Fibra de trigo), foi de 3% em relação ao total da formulação. Foram realizados 7 ensaios, sendo 3 com ingredientes puros, 3 com misturas binárias e 1 com a mistura ternária. A viscosidade foi medida em viscosímetro *Brookfield*, com *spindle* 4 e velocidade de 12 rpm. O modelo que melhor se ajustou aos dados experimentais foi o linear ( $Y_v = 384,26.X_1 + 142,29.X_2 + 283,62.X_3$ ), sendo que o coeficiente de determinação foi de 92,42%. A melhor formulação do produto fermentado foi quando adicionou 3% fibra de soja que conferiu maior viscosidade ao produto. A fibra de soja apresentou 38,4% de proteínas e 41,84 % de fibra total.

Palavras chave: extrato hidrossolúvel de soja, fibras, viscosidade.