

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ – UNIOESTE
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLÓGICAS - *CAMPUS* CASCAVEL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA AGRÍCOLA - PGEAGRI

**DESENVOLVIMENTO, CARACTERIZAÇÃO E OTIMIZAÇÃO DE BEBIDA FERMENTADA
SIMBIÓTICA DE SOJA COM FARINHA DE BANANA VERDE**

WILLIAM ARTHUR PHILIP LOUIS NAIDOO TERROSO DE MENDONÇA BRANDAO

CASCAVEL – PR

2015

WILLIAM ARTHUR PHILIP LOUIS NAIDOO TERROSO DE MENDONÇA BRANDÃO

**DESENVOLVIMENTO, CARACTERIZAÇÃO E OTIMIZAÇÃO DE BEBIDA FERMENTADA
SIMBIÓTICA DE SOJA COM FARINHA DE BANANA VERDE**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola, da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Engenharia Agrícola, área de concentração: Sistemas Biológicos e Agroindustriais.

Orientador: Professor Dr. Divair Christ.

CASCATEL – PR

2015

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

B819d

Brandão, William Arthur Philip Louis Naidoo Terroso de Mendonça
Desenvolvimento, caracterização e otimização de bebida fermentada
simbiótica de soja com farinha de banana verde. William Arthur Philip Louis
Naidoo Terroso de Mendonça Brandão. Cascavel, 2015.

149 p.

Orientador: Prof. Dr. Divair Christ

Tese (Doutorado) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná.
Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Engenharia Agrícola

1. Físico - químicas. 2. Microbiológicas. 3. Análise sensorial. I. Christ,
Divair. II. Costa, José Carlos da, Rev. III. Universidade Estadual do Oeste do
Paraná. III. Título.

CDD 21.ed. 664
CIP-NBR 12899

Ficha catalográfica elaborada por Helena Soterio Bejio – CRB 9ª/965

WILLIAM ARTHUR PHILLIP LOUIS NAIDOO TERROSO DE MENDONÇA BRANDÃO

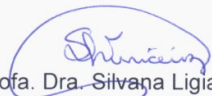
**"DESENVOLVIMENTO, CARACTERIZAÇÃO E OTIMIZAÇÃO DE BEBIDA FERMENTADA
SIMBIÓTICA DE SOJA COM FARINHA DE BABANA VERDE"**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação "*Stricto Sensu*" em Engenharia Agrícola em cumprimento parcial aos requisitos para obtenção do título de doutor em Engenharia Agrícola, área de concentração Sistemas Biológicos e Agroindustriais, **aprovada** pela seguinte banca examinadora:



Orientador: Prof. Dr. Divair Christ

Universidade Estadual do Oeste do Paraná – *Campus Cascavel*



Profa. Dra. Silvana Ligia Vincenzi Bortolotti

Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR/Campus Medianeira



Profa. Dra. Janesca Alban Roman

Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR/Campus Toledo



Profa. Dra. Denise Pastore de Lima

Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR/Campus Medianeira



Profa. Dra. Silvia Renata Machado Coelho

Universidade Estadual do Oeste do Paraná – *Campus Cascavel*

Cascavel, 08 de dezembro de 2015.

BIOGRAFIA RESUMIDA

Nascido na cidade de Santos, estado de São Paulo, no dia 21 de Julho de 1982. Filho de Carlos Felipe Terroso Gama de Mendonça e Saraspathy Naidoo Terroso Gama de Mendonça. Toda sua vida foi decorrida em Santos e depois mudou-se para Medianeira, onde estudou até sua graduação. Em 2004 formou-se no curso de Tecnologia em Alimentos, na Universidade Tecnológica Federal do Paraná, *campus* de Medianeira -PR. Possui especialização em Metodologia para o ensino da química e mestrado em Ciências dos alimentos. Passou no teste seletivo para professor do CEFET-PR em 2004. Foi aprovado em oitavo lugar no Concurso Público da Companhia de Saneamento do Paraná- Sanepar, onde trabalhou de 2006 ao final de 2008. Passou no concurso da Itaipu Binacional, trabalhando nesta de 2009 a 2010. Atualmente é professor da área de alimentos na UTFPR, *campus* de Medianeira - PR. No ano de 2012 ingressou no Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola da Unioeste, sob orientação do Professor Dr. Divair Christ.

A vida real do ser humano consiste em ser feliz, principalmente por estar sempre na
esperança de sê-lo muito em breve.

Edgar Allan Poe

A minha filha, Tainah e minha família, pelo
carinho e empenho para continuar lutando sempre.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela oportunidade da vida;

Aos meus pais, Carlos Filipi e Saraspathy, pelo grande amor, empenho e dedicação ao longo dos anos;

Ao meu irmão Henry, Elizete e sobrinha Tabata, pelo amor, dedicação e apoio;

A minha filha Tainah, e namorada Amanda, pela ajuda, amor, dedicação e incentivo para a conclusão deste;

Ao meu orientador, Prof. Dr Divair Christ, pela amizade, constante orientação, correção desta tese e pelo empenho dedicado à conclusão deste trabalho;

Aos ortopedistas, Dr. Marcelo Toshiyuki Tanaka, Dr. Marcio Ryo Izuka e Walter Hamilton de Castro Targa, e ao neurocirurgião Aramis Pedro Teixeira, pelo excelente trabalho que desempenharam para a minha melhora;

Ao Corpo de Bombeiros de Foz do Iguaçu, pela dedicação e por fazerem todo o possível pelo meu socorro;

Ao meu amigo, Prof. Dr. Carlos Alberto Mucelin, pelo carinho, sinceridade e incentivo constantes;

Ao meu padrinho, Cláudio Vieira de Souza, e família, pelo apoio, carinho e incentivo; Aos que, de uma forma ou de outra, contribuíram para a realização deste trabalho, o meu muito obrigado!

DESENVOLVIMENTO, CARACTERIZAÇÃO E OTIMIZAÇÃO DE BEBIDA FERMENTADA PROBIÓTICA DE SOJA COM FARINHA DE BANANA VERDE

RESUMO

Este trabalho foi realizado com o objetivo de desenvolver e avaliar as características físico-químicas, sensoriais e a qualidade microbiológica de bebidas fermentadas por micro-organismos probióticos, elaboradas com 8, 10 e 12% de extrato hidrossolúvel de soja em pó, 0, 2, 3 e 4% de farinha de banana verde em pó, e 12% de sacarose em todas as formulações, propondo uma formulação com melhor desenvolvimento de bactérias lácticas totais, dada a influência das duas variáveis (diferentes percentuais de soja e farinha de banana) sobre a contagem de bactérias lácticas totais, em seus aspectos físico-químicos e sobre a sua aceitação sensorial. Foram desenvolvidos 12 tratamentos. As bebidas fermentadas de soja foram avaliadas quanto ao pH, acidez em ácido láctico, umidade, cinzas, lipídios, proteína, carboidratos totais, fibra alimentar, atividade de água, resíduo mineral fixo, enumeração de bactérias lácticas totais, contagem de coliformes a 35 °C e 45 °C, contagem de bolores e leveduras, aceitação sensorial (escala hedônica de nove pontos). Os resultados obtidos, submetidos à ANOVA e ao teste de médias (nível de significância a 5%), revelaram que a porcentagem de adição do extrato hidrossolúvel de soja influenciou na contagem de bactérias lácticas totais, principalmente nos tratamentos com 10% de adição do extrato. O mesmo ocorreu nos tratamentos com adição de 1, 2, 3% de farinha de banana em pó, nesta escala. Sob o ponto de vista microbiológico, todas as amostras estavam aptas para serem consumidas, segundo a legislação vigente, durante 35 dias de armazenamento. O tratamento com 10% de extrato de soja e 3% de farinha de banana destacou-se pelos melhores resultados na contagem microbiológica de bactérias lácticas, todavia quando otimizado, o comportamento foi igual, alterando apenas o patamar da contagem. Todos os produtos desenvolvidos neste estudo apresentaram uma aceitabilidade satisfatória, com índice superior a 70% para impressão global do produto, o que significa que será bem aceito caso seja lançado no mercado consumidor.

Palavras-chave: Físico-química, microbiológica, análise sensorial.

DEVELOPMENT, CHARACTERIZATION AND OPTIMIZATION OF SOYBEAN FERMENTED PROBIOTIC DRINK WITH GREEN BANANA FLOUR

ABSTRACT

This work was conducted with the objective of developing and evaluate the physico-chemical, sensory and microbiological quality of fermented beverages by probiotic microorganisms, with water-soluble extract of soybean powder (8, 10, 12%), and 0, 2, 3 and 4 % addition of green banana flour powder, and 12% of sucrose in all formulations, proposing a good development of total lactic acid bacteria , through the investigation of the influence of two variables (different percentages of soy and banana flour) on the total of lactic acid bacteria count , and the physical and chemical aspects, and the sensory acceptance as well. Twelve treatments were developed. Fermented beverages of soybeans were evaluated at pH, lactic acid acidity, moisture, ash, lipids, protein, total carbohydrates, dietary fiber, water activity, fixed mineral residue, enumeration of lactic acid bacteria, total coliform count(35° C and 45° C), yeast and mould count, sensory acceptance (hedonic scale of nine points). The results were submitted to ANOVA and Tukey test (the significance level 5. The data obtained, showed that the percentage of water-soluble soybean extract influenced in the total count of lactic acid bacteria, mainly in 10 treatments added with this ingredient. The same occurred in the treatments with addition of 1%, 2%, 3% of banana flour powde. Under the microbiological point of view, all samples were able to be consumed, according to the current legislation, during 35 days of storage. The treatment with 10% of soy extract and 3% of banana flour, presented the best results in teh microbiological count of lactic acid bacteria, however when optimized, the behavior were equal among all treatments, changing only the threshold count. Soy has sensory features that limit it's consumption, as the beany taste and aroma, due to the action of the lipoxigenases enzymes, however, the products developed, in this study, presented a satisfactory acceptability.

Keywords: Physical-chemical, microbiological, sensory analysis.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS.....	xii
LISTA DE FIGURAS	xiv
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 OBJETIVOS	3
2.1 Objetivo geral.....	3
2.2 Objetivos específicos	3
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	4
3.1 Soja.....	4
3.1.1 História.....	4
3.1.2 Composição química da soja	6
3.1.2.1 Carboidratos e fibras.....	7
3.1.2.2 Vitaminas e minerais.....	7
3.1.2.3 Proteínas.....	8
3.1.2.4 Proteína isolada de soja (PIS).....	9
3.1.2.5 Isoflavonas.....	10
3.2 Soja e saúde.....	11
3.3 Extrato hidrossolúvel de soja (EHS).....	12
3.4 O processo de fermentação	13
3.4.1 Fermentação do leite de soja	14
3.4.2 Fermentação e preservação dos alimentos.....	15
3.5 Bactérias ácido lácticas (BAL)	15
3.5.1 Bifidobactérias spp.....	17
3.5.2 Lactobacillus spp.....	18
3.5.3 <i>Streptococcus thermophilus</i>	19
3.5.4 Produção de bacteriocinas por BAL	20
3.6 Legislação brasileira de leites fermentados e alimentos funcionais.....	21
3.6.1 Requisitos físico-químicos e microbiológicos.....	22
3.6.2 Probióticos	23
3.6.3 Prebióticos	26
3.6.4 Prebióticos na soja.....	26
3.6.5 Simbióticos.....	27
3.6.6 Produtos não lácteos probióticos à base de cereais.....	27

3.6.7	Alimentos funcionais	28
3.6.7.1	A soja como alimento funcional	29
3.6.7.2	O mercado de produtos funcionais.....	30
3.7	Banana	31
3.7.1	Obtenção da farinha de banana verde	33
3.8	Análise sensorial.....	36
3.8.1	Testes afetivos	38
4	MATERIAL E MÉTODOS	39
4.1	Elaboração da bebida fermentada	40
4.2	Procedimentos éticos	43
4.3	Delineamento experimental.....	43
4.4	Análises físico-químicas.....	44
4.4.1	Determinação de pH	44
4.4.2	Análise de acidez titulável	44
4.4.3	Análise de gordura	44
4.4.4	Análise de resíduo mineral fixo	45
4.4.5	Análise de proteína	45
4.4.6	Análise de umidade.....	45
4.4.7	Análise de atividade de água	45
4.4.8	Análise de carboidratos totais	45
4.4.9	Análise de fibras.....	45
4.5	Determinação dos parâmetros microbiológicos	46
4.5.1	Determinação de micro-organismos indicadores dos parâmetros microbiológicos sanitários da bebida fermentada	46
4.5.2	Determinação da viabilidade dos micro-organismos probióticos da bebida fermentada	46
4.5.3	Testes de confirmação bioquímica	47
4.5.4	Otimização dos tempos de incubação e temperaturas descritas no método de enumeração de bactérias lácticas	48
4.6	Análise sensorial.....	48
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	51
5.1	Análises físico-químicas.....	51
5.1.1	Composição centesimal da farinha de banana.....	51
5.2	Composição centesimal do extrato hidrossolúvel de soja.....	53
5.3	Evolução dos parâmetros de acidez e pH durante a fermentação da bebida	55
5.4	Evolução dos parâmetros de acidez e pH durante a estocagem do produto final...	60

5.5	Composição do extrato hidrossolúvel de soja fermentado saborizado	63
5.6	Quantidade de carboidratos totais gastos pelos micro-organismos durante o processo de fermentação da bebida.....	74
5.7	Contagem de bactérias lácticas das amostras (UFC.mL ⁻¹) de iogurte durante armazenamento a 5 °C	77
5.7.1	Confirmação bioquímica das bactérias lácticas.....	87
5.8	Controle de qualidade microbiológica das formulações.....	88
5.9	Condições ótimas para maior contagem de bactérias lácticas ao longo do período de estocagem	91
5.9.1	Análise sensorial.....	94
5.9.2	Análise de componentes principais para as três melhores formulações.....	99
5.9.3	Teste de intenção de compra das três melhores amostras	105
6	CONCLUSÕES.....	109
7	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	110
	REFERÊNCIAS	111
	ANEXOS	133
	ANEXO A PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA.....	141
	APÊNDICES.....	145
	APÊNDICE A FICHA DA ANÁLISE SENSORIAL	146
	APÊNDICE B TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	148

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Composição química (%) aproximada do grão de soja nas partes estruturais de sua semente	7
Tabela 2	Conteúdo dos aminoácidos do leite de vaca, da soja e da proteína, referência da FAO/WHO (1990), para crianças de 2 a 5 anos de idade.....	9
Tabela 3	Bactérias ácido-láticas para consumo humano*. Probióticos.....	16
Tabela 4	Critérios microbiológicos para análise de leites fermentados	23
Tabela 5	Produtos com probióticos comercializados no Brasil.....	23
Tabela 6	Efeitos benéficos e aplicações terapêuticas atribuídas às bactérias probióticas em humanos e alguns critérios de seleção de micro-organismos pró-bióticos.....	24
Tabela 7	Produção de banana nas regiões geográficas brasileiras, em toneladas	32
Tabela 8	Composição química da banana	33
Tabela 9	Composição centesimal da farinha de banana verde	35
Tabela 10	Delineamento do experimento com as variáveis codificadas e reais	44
Tabela 11	Resultado das determinações físico-químicas da farinha de banana utilizada.....	51
Tabela 12	Valores médios da composição centesimal (%) do extrato hidrossolúvel de soja em pó.....	53
Tabela 13	Valores da composição centesimal (%) do extrato hidrossolúvel de soja em pó.....	55
Tabela 14	Valores referentes ao tempo, à acidez (^o Dornic) e ao pH, durante a fermentação da bebida	56
Tabela 15	Valores referentes à acidez e pH durante a estocagem das formulações	61
Tabela 16	Valores referentes à análise físico-química das formulações após fermentação	64
Tabela 17	Percentual de carboidratos utilizados pelos micro-organismos na fermentação.....	75
Tabela 18	Contagem de bactérias lácticas totais em UFC/ml ao longo do tempo de armazenamento das bebidas	83
Tabela 19	Contagens de coliformes totais obtidas para as 12 formulações durante o armazenamento refrigerado (5 °C) por até 35 dias	88
Tabela 20	Contagens de bolores e leveduras obtidas para as 12 formulações, durante o armazenamento refrigerado (5 °C) por até 42 dias	90
Tabela 21	Montagem do experimento, com temperatura e tempo de incubação e a contagem total de bactérias lácticas presentes no iogurte de soja, em função da	

	temperatura e tempo de incubação das placas contendo meio de cultura MRS em estufas e câmara tipo B.O.D.	92
Tabela 22	Escore médio e desvio padrão obtidos pelo teste de escala hedônica para as formulações com 8% de soja	96
Tabela 23	Escore médio e desvio padrão obtidos pelo teste de escala hedônica para as formulações com 10% de soja	97
Tabela 24	Escore médio e desvio padrão obtidos pelo teste de escala hedônica para as formulações com 12% de soja.	98
Tabela 25	Escore médio e desvio padrão obtidos pelo teste de escala hedônica para as três melhores formulações	98

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Área cultivada com soja por microrregião no Brasil.....	5
Figura 2	Produção mundial de soja, em toneladas, por país (1961 – 2012).....	6
Figura 3	Estrutura de isoflavonas agliconas e glicosídicas.....	11
Figura 4	Diagrama geral de produção de iogurte.	22
Figura 5	Estrutura de interpretação da análise sensorial.....	36
Figura 6	Fluxograma da produção do extrato hidrossolúvel de soja fermentado.	40
Figura 7	Fermenteira em aço inox de tamanho laboratorial, utilizada para o processo de fermentação.	41
Figura 8	Câmara de armazenamento utilizada, e detalhe do demonstrativo de temperatura.....	42
Figura 9	Cabine sensorial no momento da aplicação do teste de aceitabilidade.	50
Figura 10	Formação do coágulo dos tratamentos 2 e 3, após o processo de fermentação.	58
Figura 11	Embalagem da bebida após 38 dias de estocagem a 5 °C.	85
Figura 12	Superfície de resposta e curva de contorno para contagem de bactérias láticas, em função de temperatura e tempo 35 dias de incubação no (a) tempo zero dia e (b) 35 dias de armazenamento.....	93
Figura 13	Decréscimo da contagem total de bactérias láticas durante o período de análises.....	94
Figura 14	Matriz de correlação da amostra com 8% de soja (T1).	100
Figura 15	Projeção de variáveis da amostra com 8% de soja (T1).....	101
Figura 16	Matriz de correlação da amostra com 10% de soja (T5).....	102
Figura 17	Projeção de variáveis da amostra com 10% de soja (T5).....	103
Figura 18	Matriz de correlação da amostra com 12% de soja e 2% de farinha de banana (T10).	104
Figura 19	Projeção de variáveis da amostra T10.	105
Figura 20	Dados sobre a atitude de compra da bebida fermentada.	106
Figura 21	Índice de aceitabilidade das três formulações entre os consumidores.	107

1 INTRODUÇÃO

O consumo de bebidas e alimentos que não são produzidos com leite é uma tendência crescente em todo o mundo. O desenvolvimento de produtos probióticos não lácteos permite que pessoas intolerantes à lactose possam consumir esse tipo de produto. Circunstância que, nos últimos 20 anos, determinou um aumento considerável, no mercado global, de produtos derivados de soja [*Glycine max* (L.) Merrill], principalmente daqueles voltados para o consumo humano.

O desenvolvimento de alimentos funcionais e produtos bioativos inovadores pode exigir uma mudança de paradigma no processo de desenvolvimento de produtos alimentícios. Atualmente, pesquisas nas indústrias de alimentos têm priorizado o desenvolvimento de alimentos que podem promover a saúde e o bem-estar. Nesse sentido, observa-se um aumento do desenvolvimento de produtos à base de soja, não só devido ao seu conteúdo de vitamina e mineral, mas também porque eles são bons substitutos para o leite na dieta de pessoas intolerantes à lactose.

A bebida fermentada de soja é obtida pela fermentação do extrato hidrossolúvel de soja com vários micro-organismos, especialmente bactérias ácido-láticas. Exceto a melhora dos atributos sensoriais, o processo de fermentação reduz ou mascara as propriedades de compostos indesejáveis como, por exemplo, a rafinose e a estaquiose, que são reconhecidos como fatores que promovem desconforto gastrointestinal.

No Brasil, o consumo de produtos à base de soja tem aumentado gradualmente. Nos últimos 5 (cinco) anos, a indústria lançou novos tipos de alimentos e as vendas aumentaram 57,3% (ABIA, 2008). A tendência em consumir produtos que contenham soja tem origem na demanda do consumidor por produtos saudáveis e práticos, bem como às novas tecnologias que permitem a produção de alimentos derivados de soja saborosos e de boa aparência.

O Brasil é o segundo maior produtor mundial de soja (o primeiro é os Estados Unidos). Na safra 2014, a produção brasileira foi de, aproximadamente, 95,496 milhões de toneladas (IBGE, 2014). Esses dados tornam a soja um produto vegetal de extrema importância econômica para o Brasil, pois possibilita ao país importante mercado externo que favorece o saldo da balança comercial nacional.

Além da soja, o Brasil é um dos maiores produtores mundiais de banana, sendo que a bananicultura é a 9ª cultura mais importante do país, ocupando o segundo lugar em volume de frutas produzidas. Como a banana pode ser processada em diferentes estágios de maturação, uma das opções é submetê-la a processos de secagem ainda verde, e o produto obtido (farinha da banana verde) utilizado na linha de diversos produtos.

Como a soja contém alto teor de amido resistente e seus efeitos fisiológicos são parcialmente comparáveis aos das fibras alimentares, é evidente que, ao chegar ao cólon, o amido que ainda não foi digerido é utilizado como substrato de fermentação pelas bactérias anaeróbicas para a produção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC). Estudos *in vitro*, realizados com animais, indicam que o propionato e o butirato têm potencial para ajudar a manter a saúde do intestino e reduzir fatores de risco envolvidos no desenvolvimento de inflamação intestinal, colite ulcerativa e câncer colorretal (VAN DOKKUM, 2008). A soja, por seu valor nutricional, possibilita a produção de diversos produtos derivados como: iogurtes, proteína de soja texturizada, grãos de soja, queijo *tofu*, germinados de soja, bem como o óleo de soja.

Diante da procura dos consumidores por alimentos saudáveis e dos potenciais efeitos benéficos da soja, dos produtos fermentados e dos probióticos, estabeleceu-se como objetivo desta pesquisa o desenvolvimento de uma bebida fermentada probiótica de soja, utilizando a farinha de banana, avaliando suas características de fermentação e a viabilidade celular de micro-organismos probióticos, bem como otimizar o processo de enumeração de bactérias lácticas por análises microbiológicas, determinando, também, o índice de aceitação sensorial do produto pelo consumidor final.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Desenvolver e avaliar uma bebida de soja adicionada de farinha de banana verde, fermentada por micro-organismos lácticos probióticos.

2.2 Objetivos específicos

- Elaborar bebida fermentada por micro-organismos probióticos a partir de extrato aquoso de soja, adicionado de farinha de banana verde, avaliando, durante o armazenamento, a influência de duas variáveis (diferentes percentuais de soja e farinha de banana) sobre os parâmetros de acidez e pH, e principalmente quanto à sobrevivência do micro-organismo probiótico em estudo.
- Analisar os aspectos físico-químicos, microbiológicos e sensoriais da bebida elaborada.
- Mensurar a quantidade de carboidratos totais gastos pelos micro-organismos durante o processo de fermentação da bebida, e sua correlação com o desenvolvimento e sobrevivência dos mesmos.
- Otimizar o processo de enumeração de bactérias lácticas, visando proporcionar maior contagem destas em ágar MRS (Man, Rogosa e Sharpe).

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Soja

O cultivo da soja, ao longo da segunda metade do século XX, apresentou um intenso processo de expansão no Brasil, que teve início no Sul do país e seguiu para o cerrado, alcançando parte do bioma amazônico. Atualmente, o complexo soja (grão, óleo e farelo) é considerado a principal atividade agropecuária do país, por sua importância tanto territorial (30 milhões de hectares plantados em 2013/14, o que equivale a 53% dos cultivos temporários) quanto econômico-comercial (9,4% das exportações totais de 2012) (CONAB, 2014). Atualmente, o Brasil já é o maior exportador mundial de soja em grão e, muito em breve, poderá ser o primeiro em produção (USDA, 2014).

Alimentos tradicionais de soja, segundo Oetterer, Regitano-D' Arce e Spoto (2006), são assim chamados por serem de longa data conhecidos do homem, mais especificamente o oriental, podendo ser fermentados ou não. A fermentação acrescenta cor, sabor e aroma ao alimento, além de enzimas e substâncias nutritivas. A digestibilidade do produto é elevada.

Segundo o regulamento técnico para fixação de Identidade e Qualidade de alimento com soja (RDC nº 91): Os ingredientes obrigatórios são: extrato de soja (integral e ou desengordurado) e/ou proteína concentrada de soja e/ou proteína isolada de soja e/ou proteína texturizada de soja e/ou outras fontes proteicas de soja, excluindo o farelo tostado de soja. Farinhas de soja e grãos de soja *in natura* somente podem ser utilizados quando inativados ou quando o processo tecnológico de fabricação do produto garantir a inativação das enzimas (ANVISA, 2000).

3.1.1 História

Os seres humanos sempre usaram o que a natureza provia, caçando animais e colhendo frutos, raízes e alguns cereais. No século XVIII, a população se alimentava de cerca de 240 espécies diferentes de plantas e, na trajetória histórica do ser humano, cerca de 3000 espécies de plantas foram utilizadas como alimento. No entanto, atualmente, somente cerca de 130 espécies de plantas comestíveis são cultivadas (ROSA *et al.*, 2009).

Segundo a EMBRAPA (2013), as primeiras citações do grão aparecem no período entre 2883 e 2838 a.C, quando a soja era considerada um grão sagrado, ao lado do arroz, do trigo, da cevada e do milho. Um dos primeiros registros do grão está no livro *Pen Ts'ao Kong Mu*, que descreve as plantas da China, ao Imperador Sheng-Nung. Para alguns autores, as

referências à soja são ainda mais antigas, remetendo ao *Livro de Odes*, publicado em chinês arcaico.

Somente na década de 1970, observou-se o crescimento da produção brasileira de soja. Entre 1970 e 1979, essa cultura se expandiu na região Sul e em São Paulo, devido a alguns fatores como: condições de clima favoráveis (Figura 1), boa infraestrutura (sistema viário, portuário, comunicação), além do estabelecimento de uma complexa e articulada rede de pesquisa de soja, entrelaçada com um cooperativismo dinâmico e eficaz (BARRETO, 2009).

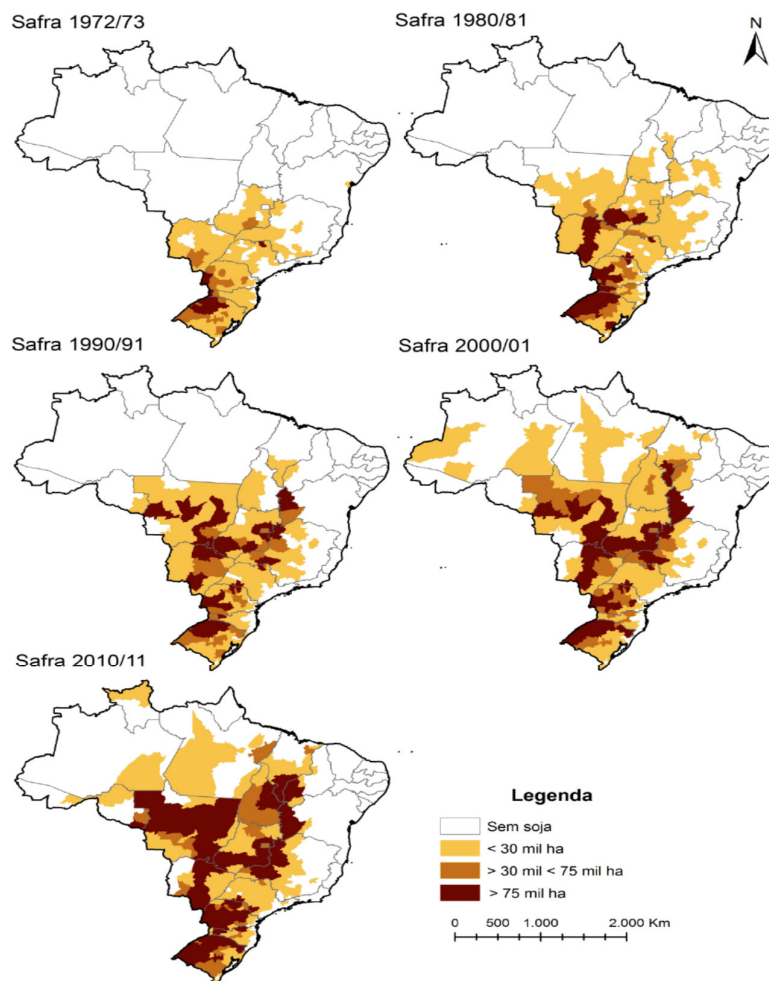


Figura 1 Área cultivada com soja por microrregião no Brasil.

Fonte: Produção Agrícola Municipal (IBGE, 2014).

Até, aproximadamente, 1894, término da guerra entre a China e o Japão, a produção de soja ficou restrita à China. Apesar de ser conhecida e consumida pela civilização oriental por milhares de anos, só foi introduzida na Europa no final do século XV, como curiosidade, nos jardins botânicos da Inglaterra, França e Alemanha (EMBRAPA, 2013). Na Figura 2

demonstra-se, em gráfico, a produção mundial de soja, em toneladas, por país desde o ano de 1961.

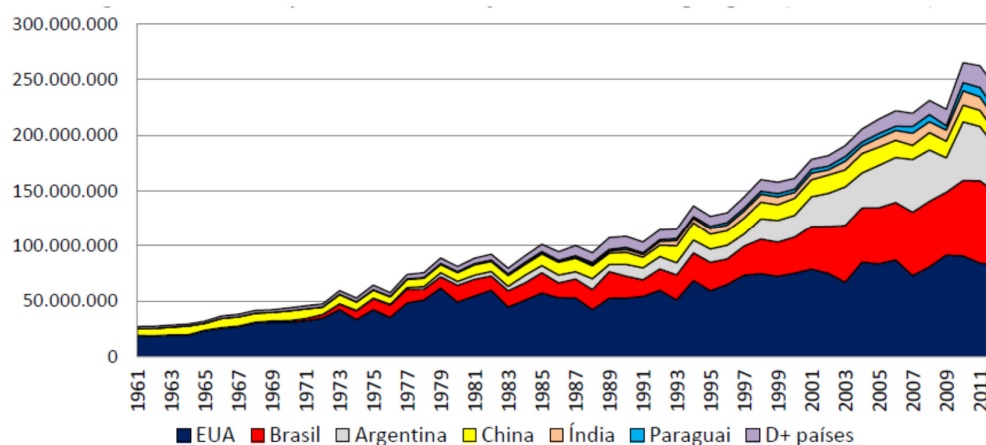


Figura 2 Produção mundial de soja, em toneladas, por país (1961 – 2012).

Fonte: Faostat (2013).

No Brasil, segundo a Editora Insumos (2007), a soja foi cultivada pela primeira vez na Estação Agropecuária de Campinas, em 1901. O grão chegou depois com maior intensidade com os primeiros imigrantes japoneses em 1908 e foi introduzido oficialmente no Rio Grande do Sul em 1914. Porém, a expansão da soja no Brasil aconteceu nos anos 1970, com o interesse crescente da indústria de óleo e a demanda do mercado internacional.

Ainda na década de 1970, o governo brasileiro investiu na expansão do cultivo da soja, com incentivos fiscais à pesquisa. Começaram então a serem desenvolvidas cultivares adaptadas para diversas regiões do país. Com a descoberta e utilização dos alelos para período juvenil longo e florescimento tardio, a soja pode ser cultivada a baixas latitudes, inclusive na área do equador (LAZZARI et al., 2006).

Atualmente, a soja é o principal produto agrícola de exportação do Brasil, com uma produção de, aproximadamente, 66 milhões de toneladas em 2013 (CONAB, 2013).

3.1.2 Composição química da soja

A soja tem recebido uma grande atenção da comunidade científica, principalmente devido ao seu perfil de nutrientes. Ela possui carboidratos complexos, proteínas, fibras solúveis e insolúveis, oligossacarídeos e fitoquímicos (DALEPRANE; PACHECO; BOAVENTURA, 2009).

O grão de soja (Tabela 1) possui entre 38 e 40% de proteínas, 19 a 20% de lipídios, 5% de minerais e de 23 a 34% de carboidratos. Dos 5% de minerais que compõem a soja, em 100 gramas de grãos, há 240 miligramas de cálcio, 580 mg de fósforo, 9,4 mg de ferro, 1 mg

de sódio, 1900 mg de potássio, 220 mg de magnésio e 0,1 mg de cobre, entre outros minerais (EMBRAPA, 2013).

Tabela 1 Composição química (%) aproximada do grão de soja nas partes estruturais de sua semente

Partes da semente	Proteína*	Lipídio*	Carboidrato*	Cinzas*
Grão	40	20	35	5,0
Cotilédone	43	23	29	5,0
Casca	9	1	86	4,3
Hipocótilo	41	11	43	4,4

Nota: * base seca.

Fonte: Liu (1997).

3.1.2.1 Carboidratos e fibras

A soja contém uma mistura de carboidratos solúveis e insolúveis que, juntos, constituem cerca de 30% de sua composição nutricional. Os principais carboidratos solúveis são açúcares: estaquiose, rafinose e sucrose (EMBRAPA, 2013).

Os oligossacarídeos na soja são açúcares não redutores, contendo duas ou mais unidades de frutose, glicose e galactose. A rafinose e a estaquiose recebem maior atenção, principalmente, em razão da sua presença estar relacionada diretamente com flatulência e/ou dores abdominais, quando seus produtos são consumidos *in natura*. Os carboidratos insolúveis na soja incluem a celulose, hemicelulose, pectina e traços de amido. Eles são componentes encontrados principalmente nas paredes celulares. A casca da semente compõe cerca de 8% de todo o grão da soja em base seca e cerca de 86% de carboidratos complexos. As paredes celulares da soja contêm cerca de 30% de pectinas, 50% de hemicelulose e 20% de celulose (RUSSEL, 2004).

As fibras dietéticas são o conjunto de compostos resistentes à hidrólise provocada pela ação de enzimas do aparelho digestivo. São responsáveis por aumentar a velocidade do trânsito intestinal, bem como ajudar a alterar a microbiota intestinal para uma mais saudável (PEREIRA; OLIVEIRA, 2004).

3.1.2.2 Vitaminas e minerais

A soja é rica em vitaminas, minerais e outros valiosos fitoquímicos. Os seus principais compostos minerais são: potássio, sódio, cálcio, magnésio, enxofre e fósforo (EDITORA INSUMOS, 2007).

Grãos de soja contêm vitaminas solúveis em água e em óleo. As vitaminas solúveis em água, presentes na soja, são principalmente as tiaminas, riboflavina, niacina, ácido

pantotênico e ácido fólico. As solúveis em óleo são as vitaminas A e E, essencialmente sem as vitaminas D e K. A vitamina A existe, principalmente, como a provitamina caroteno. A vitamina E é também conhecida como tocoferol e tem quatro isômeros tocoferóis. Os minerais que apresentam maior concentração nos grãos de soja são o potássio, o fósforo e o magnésio, sendo que o conteúdo desses minerais atinge valores médios entre 0,2 e 2,1%. A quantidade de cálcio biodisponível no extrato hidrossolúvel de soja (leite de soja) é aproximadamente igual ao presente no leite de vaca (ENDRES, 2001).

3.1.2.3 Proteínas

Em média, a soja contém cerca de 40% de proteínas, sendo essa concentração afetada por fatores genéticos e ambientais. A composição deste percentual é formada por uma mistura complexa de diversos tipos de proteína. As proteínas de soja contêm todos os aminoácidos essenciais à nutrição humana e, mesmo tendo a metionina, a cisteína e, provavelmente, o triptofano em quantidades limitantes, o grão acaba sendo um ótimo substituto para a proteína animal, o que tem determinado um aumento significativo do uso da soja na alimentação humana (MEJIA; LUMEN, 2006).

A fração proteica do grão da soja e sua classificação são bastante complexas. Relatos sobre tais assuntos nem sempre concordam. Além disso, diferentes sistemas de nomenclatura relativa a determinadas proteínas ou frações de proteínas são utilizados na literatura. As principais proteínas componentes da soja são as proteínas de reserva, conhecidas como glicinina e β -conglucina, que são globulinas e representam, respectivamente, 40 e 25% das proteínas de reserva do grão de soja. As proteínas da soja podem ser divididas em proteínas com atividade biológica (enzimas, inibidores enzimáticos e hemaglutinas), que são solúveis e representam até 20% do total, e proteínas de reserva (KOBELITZ, 2011). Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA, a proteína de soja encontra-se na lista de alimentos que possuem alegações de propriedade funcional aprovadas. A alegação permitida denota que: "O consumo diário de no mínimo 25 g de proteína de soja pode ajudar a reduzir o colesterol. Seu consumo deve estar associado a uma alimentação equilibrada e hábitos de vida saudáveis" (ANVISA, 2008).

Em relação aos padrões de solubilidade, todas as proteínas de plantas leguminosas são divididas em albuminas e globulinas. As albuminas são solúveis em água e as globulinas em soluções salinas. Conforme já descrito, a maior parte das proteínas da soja são de globulinas. Estas últimas, presentes na maioria das plantas leguminosas, são divididas em dois tipos: leguminas e vicilinas. As leguminas têm massa molar maior, são menos solúveis em solução salina e mais estáveis termicamente que as vicilinas (ZARKADAS *et al.*, 2007).

As proteínas de soja têm sido amplamente utilizadas como ingredientes funcionais em muitos alimentos processados, por sua eficácia em formar géis, dada à elevada capacidade

de retenção hídrica, com alta qualidade nutricional, sensorial e fisiológica. Estudos encontraram na proteína de soja atividade hipocolesterolêmica maior do que na caseína (ZHONG *et al.*, 2007).

3.1.2.4 Proteína isolada de soja (PIS)

A proteína isolada de soja, segundo a Resolução CNNPA nº 14 (Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos), de 28 de junho de 1978, “É utilizada como agente de consistência para produtos derivados de carnes, tais como embutidos e patês, e como fonte proteica para outros produtos” (ANVISA, 1978b, p. 1). De acordo com Oetterer, Regitano-D’Arce e Spoto (2006), a proteína isolada de soja é como um produto essencialmente proteico, contendo cerca de 90% de proteínas extraídas do farelo de soja não tostado. Seu teor de fibras, por consequência, é muito baixo. Esses produtos são empregados para enriquecimento proteico de vários alimentos, como substituição parcial da carne a baixo custo em produtos cárneos e, mais frequentemente, pelas propriedades funcionais que conferem aos alimentos aos quais são incorporados.

A soja é excelente fonte de proteínas de alto valor nutricional. Embora seja uma das melhores fontes proteicas de origem vegetal, é inferior aos produtos de origem animal como o leite, por apresentar deficiência em aminoácidos sulfurados, sendo a metionina o aminoácido limitante (MENDONÇA, 2006). Em contrapartida, a soja poderia contribuir para o aumento da isoleucina e da lisina, visto que este se apresenta em teores mais elevados em relação ao leite de vaca (Tabela 2).

Tabela 2 Conteúdo dos aminoácidos do leite de vaca, da soja e da proteína, referência da FAO/WHO (1990), para crianças de 2 a 5 anos de idade

Aminoácido	Leite de vaca	Soja	Padrão FAO/WHO (1990)
Lisina	8,22	8,26	5,80
Triptofano	1,48	1,40	1,10
Treonina	3,97	3,90	3,40
Valina	5,29	5,30	3,50
Met+ Cist	3,93	1,70	2,50
Isoleucina	4,50	6,00	2,80
Leucina	8,84	8,00	6,60
Histidina	3,36	3,28	1,90
Phe+Tyr	9,69	8,87	6,30

Fonte: Coelho (1986) e Sgarbieri (1996), com modificações.

3.1.2.5 Isoflavonas

Segundo Silva *et al.* (2012a), as isoflavonas são compostos fenólicos do grupo dos flavonóides, compostas por quatro formas químicas: agliconas, β -glicosídicas e β -glicosídicas conjugadas com grupamentos malonil e acetil. Na soja, são encontradas as agliconas daidzeína e genisteína, além de traços de gliciteína que, quando conjugadas com glicose, formam a genistina, daidzina e glicitina (Figura 3).

As evidências científicas existentes, até o momento, sobre os efeitos das isoflavonas permitem reconhecer como viável apenas o seu uso para o alívio das ondas de calor associadas à menopausa ("fogachos") e na redução dos níveis de colesterol, desde que prescrito por profissional habilitado, tendo em vista que a quantidade e o período de utilização estão relacionados com a condição de saúde do indivíduo e às restrições a grupos populacionais específicos (CAMPOS, 2006). Alguns autores afirmam que as perdas de isoflavonas mais significativas ocorrem nos sobrenadantes sendo: 90% no processo de obtenção de concentrado proteico de soja, com etanol 60%; 52% para o processo de obtenção de isolado proteico e 47% na obtenção de concentrado proteico isoeletrico. Os estudos demonstram que a quantidade de isoflavonas, em quase todos os alimentos à base de soja, varia de 100 a 300 mg/ 100 g (EDITORA INSUMOS, 2007). Perdas também ocorrem com o aquecimento. A torra do grão pode resultar em perda de 15% e 21% nos teores de daidzeína e genisteína, respectivamente. (COSTA; ROSA, 2008). Por esta razão, pesquisadores têm procurado maneiras de reduzir a perda de isoflavonas durante o processamento da soja para o consumo humano, afim de não comprometer a propriedade funcional a ela atribuída.

As isoflavonas são potentes agonistas RE β e fracos α , o que permite classificá-las como bloqueadoras ou moduladoras naturais seletivas do receptor estrogênico. Por isso, as isoflavonas demonstram a sua ação sobre o osso, cérebro, sistema cardiovascular além do ovário, fatos que confirmam os efeitos benéficos sobre os sintomas vasomotores humanos, bem como a prevenção da osteoporose, redução do colesterol total, LDL e triglicérides (FERNANDES, 2008).

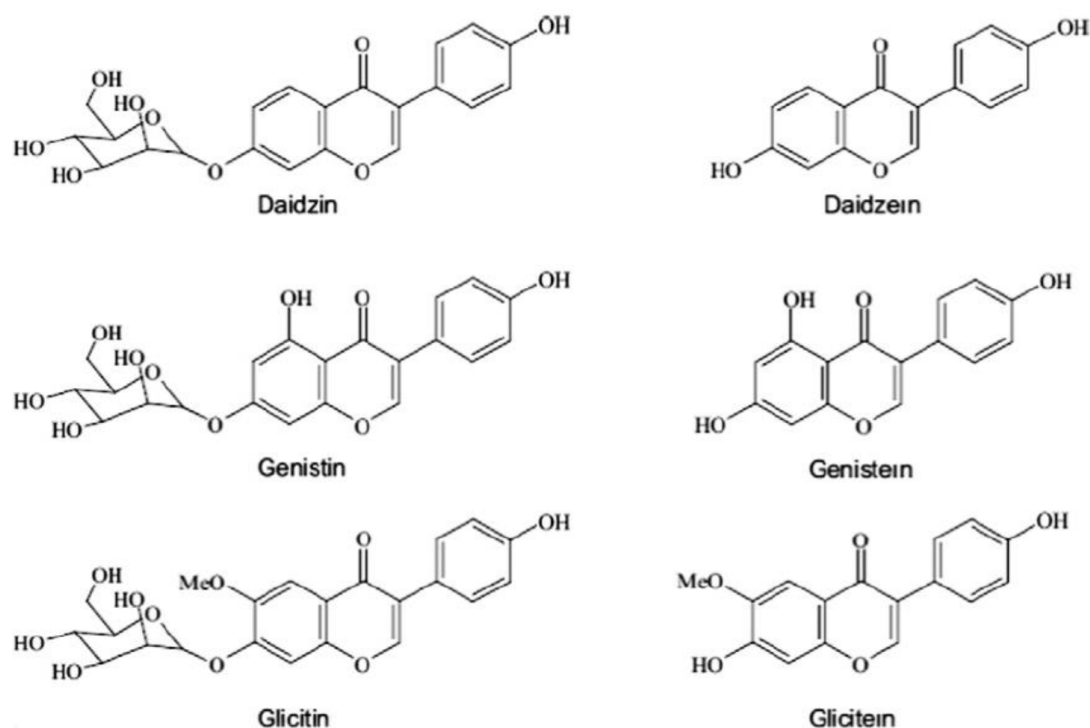


Figura 3 Estrutura de isoflavonas agliconas e glicosídicas.

Fonte: Silva *et al.* (2012a).

Considerando-se que o consumo do alimento é melhor que o suplemento, a quantidade ideal de isoflavonas por dia seria de, aproximadamente, 25 mg diários. A ingestão diária dessa substância pode ser feita por diversas maneiras através da alimentação, por exemplo: 25 gramas de proteína de soja ou 2 hambúrgueres de soja ou 3 1/2 copos de leite de soja ou 1 xícara de grãos cozidos podem oferecer a quantidade adequada de isoflavonas (MONTANARI, 2009).

3.2 Soja e saúde

A ingestão da soja passou a ser de grande interesse para a saúde humana, por seu potencial para diminuir o risco de doenças crônicas, como doenças cardiovasculares e câncer (BOLLING; BLUMBERG; CHEN, 2009).

A soja tem sido considerada há algum tempo como um alimento funcional, com uma ampla gama de propriedades (BUCKLEY *et al.*, 2011). As concentrações relativamente elevadas de compostos bioativos existentes na soja, tais como as isoflavonas e saponinas, contribuem para a alegação de que a soja é um alimento saudável (TSENG; XIONG, 2009).

O crescimento acelerado do consumo de óleos vegetais deve-se à alteração dos hábitos alimentares (troca da gordura animal, banha de porco, por exemplo, pela vegetal), em

países industrializados, o que deriva de combinações das mudanças socioeconômicas e tecnológicas. Então, na atualidade, observa-se um bom desenvolvimento dos setores gastronômicos (BUCKLEY *et al.*, 2011).

Uma alimentação adequada, segundo o conceito de longa data utilizado pelos japoneses, deve ter sabor bom, ser nutritiva e proporcionar boa saúde. Esse conceito é atualmente adotado pelas populações ocidentais para definirem alimentos funcionais, também chamados nutracêuticos, e redução de doenças. Entre os alimentos que fazem parte da dieta há componentes como oligossacarídeos, polissacarídeos, flavonoides, organossulfurados, fitoesteróis e ácidos graxos. Não são medicamentos, mas prolongam a boa saúde, à semelhança dos produtos farmacêuticos (OETTERER; REGITANO-D'ARCE; SPOTO, 2006).

Estudos epidemiológicos têm demonstrado que fraturas ocasionadas por osteoporose, doenças cardiovasculares, sintomas pós-menopausa e alguns tipos de câncer tem menor incidência na população asiática quando comparados às suas contrapartes ocidentais. A fratura do quadril, por exemplo, é 50-60% menos frequente entre mulheres asiáticas do que em ocidentais. Entretanto, esta vantagem é anulada na medida em que as asiáticas adotam os hábitos idênticos aos ocidentais. Estas observações levaram os cientistas a examinar os hábitos alimentares dos asiáticos, nos quais a soja é parte importante da dieta tradicional, mostrando ter alguma relação com as doenças acima descritas (ROUDSARI *et al.*, 2005).

Segundo aponta a Organização Mundial da Saúde (OMS), as doenças crônicas não transmissíveis são responsáveis por 72% das mortes ocorridas no Brasil, sendo que, no mundo, esse valor corresponde a 60%. Além disso, 80% de problemas prematuros do coração, acidente vascular encefálico (AVE) e diabetes tipo II e 40% dos casos de câncer poderiam ser evitados com hábitos alimentares adequados, diminuição no uso de tabaco e atividade física regular (DUNCAN *et al.*, 2012).

3.3 Extrato hidrossolúvel de soja (EHS)

Define-se como Extrato de Soja, segundo a Resolução CNNPA (Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos) nº 14, de 28 de junho de 1978, o produto obtido a partir da emulsão aquosa resultante da hidratação dos grãos de soja, convenientemente limpos, seguido de processamento tecnológico adequado, adicionado ou não de ingredientes opcionais permitidos, podendo ser submetido à desidratação total ou parcial. O extrato de soja em pó na forma de emulsão aquosa constitui fonte de proteínas e pode ser usado como alimento ou como ingrediente para a elaboração de alimentos (ANVISA, 1978b).

O EHS é um extrato aquoso elaborado a partir dos grãos de soja, ou seja, uma emulsão do tipo óleo em água com a fase contínua constituída basicamente por uma dispersão de proteínas complexas. O método convencional de processamento utilizado

atualmente para a sua produção é o tratamento do produto por calor, após maceração e moagem dos grãos de soja em água (CRUZ *et al.*, 2009).

O extrato de soja (leite de soja) pode ser consumido por todas as faixas etárias (crianças, adolescentes, adultos e idosos) e, em especial, as pessoas que são intolerantes à lactose, por não terem a enzima lactase no organismo e, além disso, pode também ser ingerido por pessoas que possuem alergia ao leite animal. Estudos atuais afirmam que pelo menos cinquenta por cento da população adulta apresenta estes problemas. Dessa forma, o extrato hidrossolúvel de soja torna-se uma alternativa nutricional viável, não como substituto do leite de vaca, mas como uma opção alimentar, principalmente em programas de alimentação escolar (MATTAR; MAZO, 2010).

Pelo lado tecnológico, o extrato de soja, assim como o leite de vaca, é adequado para o crescimento de bactérias lácticas. Os oligossacarídeos (rafinose e estaquiose), aminoácidos e peptídeos presentes na soja estimulam o crescimento microbiano. Segundo Haully, Fuchs e Ferreira (2005), o extrato de soja é um excelente veículo para bifidobactérias, já que sua proteína protege o micro-organismo da ação de sais biliares, favorecendo a colonização intestinal.

Para muitas pessoas o extrato hidrossolúvel de soja (EHS) pode substituir o leite de vaca, devido à intolerância ao leite bovino (Tabela 2). Segundo o Instituto Nacional de Doenças Digestivas, Renais e Diabetes (EUA), cerca de 75% da população mundial são intolerantes à lactose (CASÉ *et al.*, 2005).

3.4 O processo de fermentação

A fermentação láctica especificamente é um processo metabólico pelo qual carboidratos e outros compostos são parcialmente oxidados, ocorrendo a liberação de energia e compostos orgânicos, sendo o principal deles o ácido láctico. Essa fermentação ocorre por um grupo de micro-organismos que são denominados bactérias ácido-lácticas que, além da fermentação, ajudam na conservação dos produtos fermentados (CASADEI, 2012). Os micro-organismos usados para a fermentação devem ser viáveis, ativos e abundantes no produto final, durante seu prazo de validade, que seria uma contagem de, no mínimo, 10^7 (BRASIL, 2007).

A utilização de culturas lácticas para a fermentação pode resultar em vários tipos de produtos, os quais ficam com características sensoriais modificadas, modificando também a sua vida útil, prolongando a vida de prateleira do produto. Isso se deve à formação de componentes metabólitos, como ácido propiônico, diacetil, substâncias antagonísticas e, principalmente, o ácido láctico, exercendo efeitos inibidores das bactérias gram-negativas, responsáveis pela deterioração do produto (GABIATTI; CORTI, 2010).

Os métodos sintéticos de produção do ácido láctico, visando aumentar a vida de prateleira de produtos, são geralmente mais caros que os fermentativos usuais. A vantagem competitiva do ácido láctico produzido por síntese química está nos menores custos de purificação, entretanto, os custos de matéria prima são geralmente elevados. O ácido láctico produzido sinteticamente é estável termicamente e não contém quantidades residuais de carboidratos, presentes muitas vezes no ácido produzido por fermentação, que comprometem a qualidade do produto, sobretudo quando estocado por grandes períodos (TRINDADE, 2002). Todavia, o ácido láctico pode ser facilmente obtido pelo processo biotecnológico de fermentação, usualmente utilizando cepas de *Lactobacillus* a partir de matérias primas de baixo custo (NARAYANAN; ROYCHOUDHURY; SRIVASTAVA, 2004).

A fabricação de leites fermentados exige um controle rigoroso da acidez, quando se atinge um determinado teor de ácido láctico, que vai depender do tipo de produto que se está produzindo. No geral, a fermentação deve ser interrompida por um resfriamento rápido ou por pasteurização (GABIATTI; CORTI, 2010).

3.4.1 Fermentação do leite de soja

A procura de alternativas ao iogurte produzido com leite de vaca está crescendo, devido a alguns problemas de alergenicidade às proteínas do leite, ao interesse por alimentos vegetarianos, à introdução de derivados de soja na dieta ocidental, entre outros (FERRAGUT *et al.*, 2009).

A soja é fonte proteica importante por seu alto rendimento produtivo, excelente valor nutritivo e baixo custo, porém, ela apresenta sabor característico de grão (“sabor de feijão cru”), resultante da oxidação ou decomposição de compostos orgânicos durante o seu processamento. A fermentação dá um sabor refrescante ao produto, fazendo com que seja mascarado o sabor de “feijão cru”, característico do extrato, aumentando a qualidade sensorial do extrato hidrossolúvel de soja e, ainda, melhorando a textura dos produtos de soja (CHANG *et al.*, 2010).

Pesquisas relatam que a fermentação da soja com bactérias lácticas gera compostos sensorialmente agradáveis e melhora tanto o sabor quanto a textura dos produtos de soja (CHANG *et al.*, 2010). Outros estudos mostram que é possível desenvolver um produto tipo iogurte a partir do EHS, através de bactérias de fermentação ácido láctica, incluindo-se o *Streptococcus thermophilus* e o *Lactobacillus bulgaricus* (ADETUNJI *et al.*, 2006).

O processo de fermentação da soja é semelhante ao de leite. Com a fermentação do açúcar, ocorre a diminuição do pH, ocorrendo a modificação da carga superficial das proteínas que se agregam para formar uma rede, que aprisiona a fase líquida e as gotículas de gordura (FERRAGUT *et al.*, 2009).

A fermentação láctica é responsável pela formação de metabólitos como o acetaldeído e diacetil, que conferem características sensoriais agradáveis ao produto fermentado, melhorando a aceitabilidade do extrato de soja utilizado para o preparo de bebidas tipo iogurte. Com a formação de acetaldeído e do diacetil produzidos no processo de fermentação láctica, as características sensoriais do produto se tornam agradáveis, favorecendo, assim, a aceitabilidade do extrato de soja pelo consumidor final (CRUZ *et al.*, 2009).

3.4.2 Fermentação e preservação dos alimentos

A bioconservação constitui uma forma natural de controlar o desenvolvimento de micro-organismos deterioradores e patogênicos nos alimentos por intermédio de metabólitos antimicrobianos produzidos por micro-organismos naturalmente presentes ou adicionados, muitas vezes, em processos de fermentação, como é o caso das bactérias ácido lácticas (CAMARGO, 2011). Estas bactérias têm sido muito utilizadas como culturas iniciadoras em vários alimentos e bebidas, desempenhando influência positiva sobre as características nutricionais, organolépticas e, também, na vida de prateleira desses produtos (PONCEA *et al.*, 2008). Assim sendo, as BAL são responsáveis por um importante papel na fabricação de alimentos, por favorecerem também características sensoriais, além de tecnológicas, melhorando a conservação destes produtos por períodos maiores, devido à competição e inibição de micro-organismos maléficos (WANG *et al.*, 2012).

A fermentação atua como meio de preservação natural dos alimentos, pois, com a fermentação, há uma grande produção de ácido láctico, ocorrendo a diminuição do pH do meio. Todavia, esses produtos são alvos fáceis para os bolores e leveduras. Entretanto, para conservação do produto, pode-se utilizar a biopreservação, que nada mais é que, a inoculação de micro-organismos específicos, coadjuvantes à fermentação, que apresentam efeito positivo na preservação, chamadas neste caso de culturas protetoras, como exemplo a HoldbacTM YM-B, que é um composto de *Lactobacillus rhamnosus* e *Propionibacterium freudenreichii subsp. Shermanii* (FOOD INGREDIENTS BRASIL, 2010).

3.5 Bactérias ácido lácticas (BAL)

Estão amplamente distribuídas na natureza e têm sido utilizadas para a conservação de diferentes tipos de alimentos, tais como: leite, carnes, peixes e vegetais (CHAVES, 2002). Entre as bactérias lácticas, os gêneros *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Aerococcus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Oenococcus*,

Tetragenococcus, *Vagococcus* e *Weissella* são os mais estudados (Tabela 3) (AXELSSON, 2004).

O processo de fermentação pode ser homo ou heterofermentativo: no primeiro caso são geradas moléculas de lactato, como ocorre em *Streptococcus* e *Lactococcus*; no segundo são produzidos lactatos, etanol e dióxido de carbono, em *Leuconostoc* e alguns lactobacilos (PARADA *et al.*, 2007).

Essas culturas de bactérias lácticas são utilizadas nas indústrias de laticínios e na de carnes, por reduzirem o pH do meio em poucas horas, por produzirem um efeito gerador de aromas, devido ao seu metabolismo. Preferencialmente são utilizadas as culturas heterofermentativas, pela produção de enzimas para processos catalíticos e/ou hidrólises nos alimentos, destacando-se as proteases e as lipases que influenciam na maturação de alguns produtos, pela produção de metabólitos como bacteriocinas, ácidos, peróxido de hidrogênio e diacetil, criando, dessa forma, um ambiente de antibiose à sobrevivência de micro-organismos patogênicos (MASSAGUER, 2005).

Tabela 3 Bactérias ácido-lácticas para consumo humano*. Probióticos

<i>Lactobacilli</i>	<i>Bifidobactéria</i>	<i>Streptococci</i>	<i>Enterococci</i>
<i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	<i>Bif. bifidum</i>	<i>S. thermophilus</i>	<i>Ent. faecalis</i>
<i>L. acidophilus</i>	<i>Bif. longum</i>		<i>Ent. faecium</i>
<i>L. rhamnosus</i>	<i>Bif. breve</i>		<i>Lactococcus lactis</i>
<i>L. salivarius</i>	<i>Bif. infantis</i>		
<i>L. johnsonii</i>	<i>Bif. adolescentis</i>		
<i>L. crispatus</i>	<i>Bif. lactis3</i>		
<i>L. reuteri</i>			
<i>L. paracasei</i> subsp. <i>casei</i>			
<i>L. paracasei</i> biovar Shirota			

Fontes: Fooks, Fuller e Gibson (1999); Mc. Cartney, Wenzhi e Tannock (1996); Tamime, Marshall e Robinson (1997).

As BAL têm a propriedade de produzir ácido láctico através da fermentação de carboidratos e têm sido utilizadas para fermentar alimentos há pelo menos 4.000 anos (LEITE, 2006), bem como culturas iniciadoras do processo de fermentação em alimentos e bebidas, desempenham influência benéfica sobre as características nutricionais, organolépticas e na vida de prateleira desses produtos (WANG *et al.*, 2012).

Após a fermentação dos produtos, pode ocorrer de o produto continuar acidificando pela ação das bactérias ácido lácticas. Então, para diminuir a pós-acidificação do iogurte ao longo do seu armazenamento, garantindo que tenha um sabor pouco ácido, pode-se manipular a proporção entre as bactérias do iogurte, aumentando-se o número de *S. thermophilus*, em relação ao *L. bulgaricus*, por exemplo (WANG *et al.*, 2012).

A forma de impossibilitar a reprodução ou inibir o desenvolvimento de um ambiente propício para micro-organismos enteropatógenos nos produtos submetidos à fermentação, foi apresentada, em muitas linhagens de *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*, por diversos estudos, e continua sendo a principal característica destes micro-organismos, despertando o interesse também na área de biopreservação de alimentos, por reduzirem o pH, dentre outros fatores que dificultam a multiplicação de micro-organismos indesejáveis. Essa atividade inibitória que ocorre frente a outros micro-organismos acontece devido às propriedades antibacterianas, oriundas dos produtos finais do metabolismo bacteriano destes, como o ácido lático (COSTA *et al.*, 2012).

3.5.1 Bifidobactérias spp

As bactérias do gênero *Bifidobacterium* são comumente aceitas pelos cientistas como membros do grupo BAL, embora sejam filogeneticamente distantes deste grupo, devido à presença de frutose 6-fosfato fosfoacetolase (P6PPK), o qual é responsável pela fermentação de hexoses com a produção de ácido lático e ácido acético na proporção 2:3, enquanto que no metabolismo de *Lactobacillus*, ocorre a produção de ácido lático, na grande maioria dos casos (COSTA *et al.*, 2012).

As bifidobactérias habitam o trato gastrointestinal humano naturalmente. Porém, alguns fatores influenciam a população de bifidobactérias no intestino, como dieta, antibióticos e estresse. Essas culturas probióticas devem apresentar tolerância à bile e à atividade de hidrólise de sais biliares para resistirem às condições do trato gastrointestinal e também, às condições ácidas e ricas de proteases, além de serem capazes de competir com a microbiota normal e resistir aos metabólitos produzidos por membros dessa microbiota, incluindo bacteriocinas, ácidos orgânicos e outros agentes antimicrobianos (SHAH, 2007).

As bifidobactérias apresentam grande interesse sob o ponto de vista industrial, devido ao seu maior envolvimento com os mecanismos relacionados aos metabólitos do organismo, pois estão envolvidas no desenvolvimento de produtos que atualmente têm um grande potencial no mercado da indústria de alimentos (GONÇALVES; EBERLE, 2009).

O gênero *Bifidobacterium* inclui trinta espécies, sendo dez de origem humana, dezessete de origem animal, duas de águas residuais e uma de leite fermentado (STEFE; ALVES; RIBEIRO, 2008). As bifidobactérias foram estudadas pela primeira vez no final do século XIX por TISSIER, que definiu as mesmas como formas alongadas, não produtoras de gás, anaeróbicas com morfologia *Bifid*, que estão presentes nas primeiras fezes dos recém nascidos e, então, chamadas de *Bacillus bifidus* (BRANDÃO, 2007).

As bifidobactérias de origem animal crescem a 45 °C, ao passo que as de origem humana não crescem a essa temperatura. No geral, a sua temperatura para crescimento é de 20 a 46 °C e tem como temperatura limite 60 °C. As de origem humana são mais sensíveis a

ambientes ácidos, ou seja, ao pH abaixo de 5,0 com pH ótimo entre 6,5 e 7,0 (OLIVEIRA, 2009).

As bactérias do gênero *Bifidobacterium* são bastante utilizadas por seus efeitos probióticos, sendo encontradas em iogurtes e outros derivados fermentados do leite. Conduzem no corpo efeitos de “antibióticos naturais”, regulando a flora intestinal, favorecendo o funcionamento do intestino e refletindo na beleza da pele. No momento em que o produto for consumido, a concentração de bifidobactérias deve ser superior a 10^6 UFC g⁻¹, para que exista o efeito benéfico do micro-organismo no ser humano. (GABIATTI; CORTI, 2010).

3.5.2 *Lactobacillus* spp

Lactobacillus spp. inclui bactérias produtoras de ácido láctico, que estão presentes em vários *habitat*, sendo bastante difundidas no ambiente (no solo e na água), presentes em alimentos e também no organismo de animais e dos seres humanos. Nestes, fazem parte da microbiota indígena da cavidade oral, do trato gastrointestinal e do trato genital feminino (COUDEYRAS *et al.*, 2008).

Estas espécies eram alongadas, anaeróbicas facultativas, denominadas *Bacillus acidophilus*, sendo genérico para *Lactobacillus intestinalis* (GABIATTI; CORTI, 2010).

Atualmente, o gênero *Lactobacillus* apresenta 182 espécies e 27 subespécies (EUZÉBY, 2012). Ocupam diversos nichos em que carboidratos fermentáveis encontram-se disponíveis, como o trato gastrointestinal e vaginal, a pele e os pulmões dos animais, além da matéria orgânica dos solos e associados aos vegetais (FELIS; DELLAGLIO, 2007).

Em geral, *Lactobacillus* não estão envolvidos em processos de infecção gástrica e intestinal dos seres humanos, não sendo caracterizados como organismos patogênicos. São consideradas as bactérias produtoras de ácido láctico mais importantes dentro do grupo Geralmente Reconhecido como Alimento Seguro (GRAS), com grande importância industrial (GOMES; MALCATA, 1999; SINGH *et al.*, 2009).

Os *Lactobacillus* têm seu metabolismo fermentativo classificado como (GABIATTI; CORTI, 2010):

- Homofermentativos obrigatórios: são incapazes de utilizar as pentoses e convertem hexoses em ácido láctico;
- Heterofermentativos facultativos: fermentam hexoses em ácido láctico e, no caso de algumas espécies e sob certas circunstâncias, em fórmico, etanol e acético, sendo capazes, ainda, de fermentar pentoses em ácido láctico e acético;
- Heterofermentativos obrigatórios: utilizam hexoses para obter ácido acético e láctico, dióxido de carbono e etanol, e as pentoses para obter ácido láctico e acético.

O *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgaricus* possui forma bacilar, de 0,5 a 0,8 x 2 a 9 µm; aparece em cadeias curtas ou de forma individualizada. Produz D(+)lactato e acetaldeído

a partir da lactose no leite, diferentemente das subespécies *delbrueckii* e *lactis*, que só produzem lactato. Algumas cepas produzem exopolissacarídeos. Crescem muito devagar abaixo de 10 °C, sendo que a maioria das cepas pode crescer entre 50 e 55 °C. (ORDOÑEZ *et al.*, 2005).

L. acidophilus, *L. casei* e *L. helveticus*, isoladas de Kefir na Turquia, apresentaram propriedades probióticas potenciais, como demonstrado por Sabir *et al.* (2010). Estes realizaram testes *in vitro* avaliando fatores como a produção de peróxido de hidrogênio, produção de ácido láctico, resistência a sais biliares e a suco gástrico, quantificação de exopolissacarídeos e resistência a antibióticos.

Para serem consideradas probióticas, as cepas de *Lactobacillus* devem ser reconhecidas como seguras, tolerantes ao ácido e à bile. Devem ser aderentes ao epitélio intestinal dos hospedeiros e apresentar atividade antagônica contra bactérias patogênicas (LIN *et al.*, 2006).

De acordo com os padrões de identidade e qualidade de leites fermentados (BRASIL, 2007), o leite fermentado obtido pela fermentação exclusiva de cultivos de *Lactobacillus acidophilus* é denominado leite acidófilo. No entanto, as amostras probióticas de *Lactobacillus acidophilus* podem, também, ser adicionadas associadas a outras espécies de bactérias ácido-láticas, durante a elaboração dos produtos lácteos fermentados.

3.5.3 *Streptococcus thermophilus*

Streptococcus thermophilus é uma das bactérias de ácido láctico mais amplamente utilizada na indústria de laticínios, geralmente na fabricação de iogurte. É associada ao *Lactobacillus delbrueckii subs. bulgaricus* para a fabricação de iogurte (JIMENEZ *et al.*, 2009).

Algumas cepas de *Streptococcus thermophilus* são capazes de produzir EPS (exopolissacarídeos). São micro-organismos essencialmente termofílicos e crescem com maior rapidez em temperaturas entre 37 e 45 °C, com crescimento ótimo em 38 °C. A maior velocidade de crescimento se dá próxima do pH 6,8, produzindo ácido láctico em pequenas quantidades (acidez 0,7 – 0,8%), gerando um coágulo fraco durante o processo de fermentação. Esta cultura é exigente em vitaminas do complexo B e aminoácidos livres para crescimento, quando em ambiente com elevadas temperaturas (CHANDAN; WHITE; KILARA, 2006).

Têm sido muito utilizadas como culturas iniciadoras em alimentos fermentados, desempenhando influência benéfica sobre as características nutricionais, organolépticas e na vida de prateleira desses produtos (PONCEA *et al.*, 2008; WANG *et al.*, 2012). Além disso, são potencialmente importantes no controle dos micro-organismos indesejáveis nos alimentos, uma vez que podem competir e/ou inibir bactérias deterioradoras e potencialmente

patogênicas, despertando o interesse potencial na biopreservação de alimentos (COSTA *et al.*, 2012; TAMANINI *et al.*, 2012).

3.5.4 Produção de bacteriocinas por BAL

As bacteriocinas são definidas como peptídeos catiônicos, produzidos por micro-organismos, anfífilos, com, em geral, 13 a 50 resíduos de aminoácidos, que apresentam ação letal (com ou sem lise celular) ou bacteriostática contra bactérias gram-positivas e contra células vegetativas e esporos dos gêneros *Clostridium* e *Bacillus* (FRANCO, 2011).

Bacteriocinas produzidas por bactérias lácticas são geralmente estáveis ao calor, degradadas pela ação de enzimas proteolíticas do trato intestinal humano e não induzem alterações nas propriedades organolépticas dos produtos que as contêm. Demonstra, além da ação combinada do ácido láctico com a bacteriocina, caráter efetivo contra bactérias oportunistas indesejáveis em alimentos fermentados (DELBONI, 2009).

O mecanismo de ação das bacteriocinas pode ocorrer de diferentes formas, sendo mais dependente dos fatores relacionados à espécie bacteriana e de suas condições de crescimento, do que de alguma característica relacionada à sua própria molécula. A ação pode promover um efeito letal bactericida, sem lise ou com lise celular ou, ainda, inibir a multiplicação microbiana, com efeito bacteriostático (OLIVEIRA; SIQUEIRA; SILVA, 2012).

Embora as bacteriocinas sejam, em muitos casos, efetivas contra espécies taxonomicamente relacionadas à cepa produtora, algumas delas podem apresentar um amplo espectro de inibição contra bactérias patogênicas, como, por exemplo, *Listeria monocytogenes*. Outros autores demonstraram a inibição de espécies gram-negativas tais como *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Proteus* spp., *Enterobacter* spp., *Pseudomonas* spp. e *Vibrio cholerae* (LAUKOVÁ *et al.*, 2003).

Alguns autores afirmam que as bacteriocinas formam um grupo bem heterogêneo, possuindo um amplo espectro antibacteriano de ação. Há um tipo mais clássico, que possui um amplo espectro de ação contra micro-organismos gram-positivos. Para estes autores, as bacteriocinas ativas contra bactérias gram-negativas já não são tão frequentes. Isto se dá porque a membrana externa desses micro-organismos funciona como uma barreira permeável para a célula, dificultando que essas moléculas, chamadas bacteriocinas, alcancem o citoplasma microbiano (PARADA *et al.*, 2007). Autores como Pereira e Gómez (2007) relataram a inibição de *E. coli* e *S. aureus* por *L. acidophilus*, bem como Lahtinen *et al.* (2007) observaram a inibição de *S. aureus*, *Salmonella* spp. e *E. coli* por linhagens de *Bifidobacterium*.

A soja também apresenta compostos com potencial atividade antimicrobiana, como as saponinas e a fitoalexina gliceolina (KOBELITZ, 2011). As saponinas são glicosídeos formados

por uma porção lipídica (sapogenina), que pode ser composta por um esteróide ou um triterpeno, ligada a glicoses, galactoses e/ou a pentoses, e estão presentes no grão de soja em concentrações de 6,5 g/Kg, consideradas elevadas (KOBLITZ, 2011).

3.6 Legislação brasileira de leites fermentados e alimentos funcionais

Atualmente, não há legislação que descreva os termos de identidade e qualidade para produtos fermentados a partir de extrato hidrossolúvel de soja. Entre os leites fermentados, a legislação brasileira regulamenta os seguintes tipos: iogurte, leite fermentado ou cultivado, leite acidófilo, kefir, kumys e coalhada (BRASIL, 2007). Cabe salientar que neste estudo, seguiu-se como parâmetro a legislação para leites fermentados, segundo a Resolução nº. 46, de 2007, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA, que descreve: o leite fermentado ou cultivado como produto, adicionado ou não de outras substâncias alimentícias, resultante da fermentação do leite, reconstituído, adicionado ou não de outros produtos lácteos, por um ou vários dos seguintes cultivos: *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Bifidobacterium sp.*, *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus* e/ou outras bactérias acidoláticas que, por sua atividade, contribuem para a determinação das características do produto final (BRASIL, 2007, p. 1). Vale ressaltar que, segundo esta legislação, os micro-organismos dos cultivos utilizados devem ser viáveis e ativos e estarem em concentração igual ou superior a $1,0 \times 10^6$ UFC/g, no produto final e durante todo o seu prazo de validade. No Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Bebidas Lácteas, da Instrução Normativa Nº. 36, de 31 de outubro de 2000, a contagem total de bactérias lácticas viáveis deve ser, também, no mínimo de 10^6 UFC/mL no produto final e durante o seu prazo de validade (BRASIL, 2000).

Atualmente, a maioria dos leites fermentados segue a mesma forma de produção utilizada para o iogurte. No mercado existem três tipos de iogurte, classificados de acordo com o processo de elaboração, adição de ingredientes, composição, consistência e textura. São eles (ROBINSON, 2002):

- iogurte tradicional (*set yogurt*): no qual o processo de fermentação ocorre dentro da própria embalagem, não sofre homogeneização e o resultado é um produto firme, mais ou menos consistente;
- iogurte batido (*stirred yogurt*): o processo de fermentação ocorre em fermentadeiras ou incubadoras com posterior quebra do coágulo;
- iogurte líquido (*fluid yogurt*): o processo de fermentação é realizado em tanques; é comercializado em embalagens plásticas tipo garrafa ou do tipo cartonadas.

O processo de produção é dividido em, aproximadamente, quatro fases gerais: preparo prévio do leite (normalização, filtração, desaeração, homogeneização, tratamento térmico e inoculação da cultura láctea), incubação, resfriamento e acondicionamento (Figura 4).

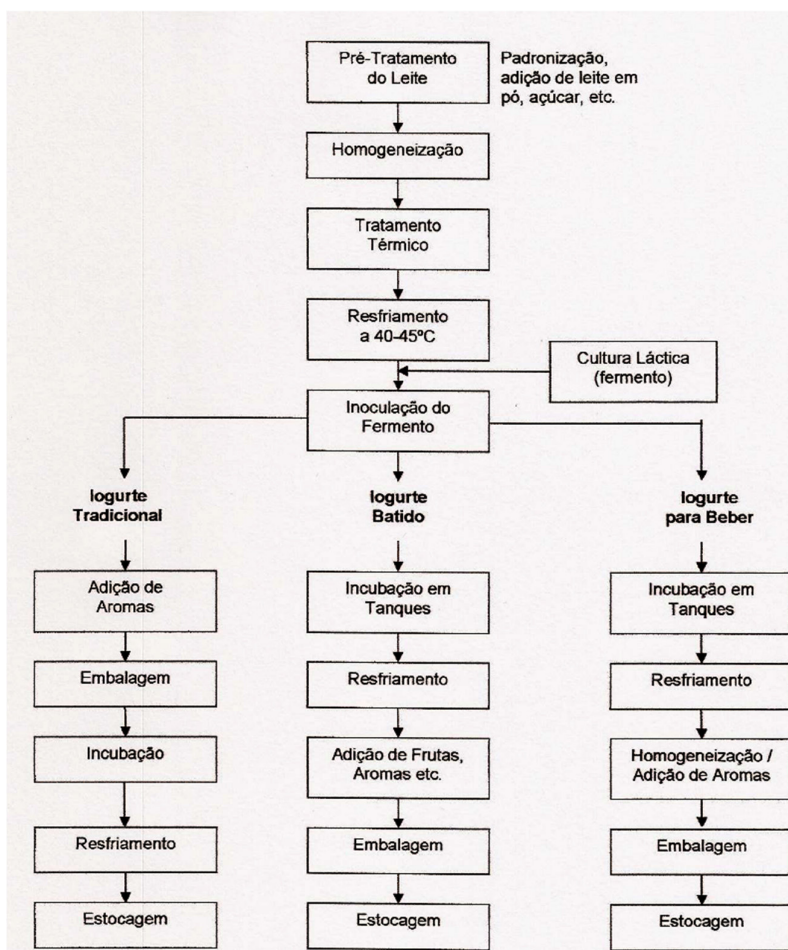


Figura 4 Diagrama geral de produção de iogurte.

Fonte: Kardel e Antunes (1997).

Segundo a ANVISA, a proteína de soja encontra-se na lista de alimentos que possuem alegações de propriedade funcional aprovadas. A alegação permitida denota que: “O consumo diário de no mínimo 25 g de proteína de soja pode ajudar a reduzir o colesterol. Seu consumo deve estar associado a uma alimentação equilibrada e hábitos de vida saudáveis” (ANVISA, 2007, p. 1).

3.6.1 Requisitos físico-químicos e microbiológicos

Os leites fermentados integrais devem possuir um teor entre 3 e 5,9% (m/m) de matéria gorda em sua base láctea. Já os produtos, desta categoria, parcialmente desnatados devem

ter um teor entre 0,6 e 2,9% (m/m) de matéria gorda em sua base láctea. Em relação à acidez, os leites fermentados devem apresentar acidez mínima de 0,6 e máxima de 2,0 g de ácido láctico/100 g de amostra analisada. O teor mínimo de proteínas lácteas presente no produto final deve ser de 2,9% (m/m).

Ainda segundo a legislação atual, os leites fermentados não devem ser submetidos a nenhum tratamento térmico após o processo de fermentação (BRASIL, 2007). Os micro-organismos utilizados durante o processo de fermentação devem ser viáveis, ativos e abundantes, ou seja, estar em concentração mínima de $1,0 \times 10^6$ UFC/g no produto final e durante todo o prazo de validade do mesmo. Os quesitos microbiológicos dos leites fermentados estão descritos na Tabela 4 abaixo:

Tabela 4 Critérios microbiológicos para análise de leites fermentados

Micro-organismos	Critério de aceitação
Coliformes/g (30 °C)	n=5 c=2 m=10 M=10
Coliformes/g (45 °C)	n=5 c=2 m<3 M=10
Bolores e leveduras/g	n=5 c=2 m=50 M=200

Fonte: Brasil (2007).

3.6.2 Probióticos

O termo probiótico tem derivação de duas palavras da língua grega “pros” e “bios”, cujo significado é “pela vida”, totalmente inverso ao termo comumente conhecido “antibiótico”, cujo significado é “contra a vida”. A aplicação desta palavra foi feita pela primeira vez pelos cientistas Lilly e Stillwell (1965), com o intuito de descrever substâncias produzidas por micro-organismos, que favoreciam o desenvolvimento de outros micro-organismos. A partir disso, várias definições foram feitas para o termo probiótico (VASILJEVIC; SHAH, 2008).

Atualmente, no Brasil, a Resolução RDC nº 2, de 7 de janeiro de 2002, da ANVISA, considera como probióticos, os micro-organismos vivos capazes de melhorar o equilíbrio microbiano intestinal, produzindo efeitos benéficos à saúde do indivíduo (ANVISA, 2002).

Diversos produtos, contendo probióticos, já podem ser encontrados no mercado brasileiro, sendo a grande maioria deles de base láctea (Tabela 5). O cientista russo Metchnikoff, em 1910, foi o primeiro a demonstrar que o consumo regular de leites fermentados oferecia benefícios à saúde (GONÇALVES; EBERLE, 2009).

Tabela 5 Produtos com probióticos comercializados no Brasil

Produto	Probiótico
Leite Fermentado YAKULT (Yakult)	<i>Lactobacillus casei Shirota</i>
ACTIVIA (Danone)	<i>Bifidobacterium animalis</i>
ACTIMEL (Danone)	<i>Lactobacillus casei defens</i>

Leite Fermentado CHAMYTO (Nestlé)
LECTIVE (Leco)
Leite Fermentado VIG TURMA (Vigor)

Lactobacillus paracasei
Bifidobacterium animalis subsp. Lactis
Lactobacillus casei, *L. acidophilus*

Do ponto de vista tecnológico, os micro-organismos probióticos devem possibilitar sua produção em larga escala industrial, bem como resistir ao processamento tecnológico empregado (PRADO *et al.*, 2008). Após o processamento, deve ainda manter a acidez do produto estável, bem como apresentar sabor ou aroma adequados ao paladar, textura agradável logo após o processo de fermentação e, manter uma contagem de células viáveis durante o prazo de validade do produto.

Além dos produtos de origem láctea, outras matrizes de alimentos vem sendo utilizadas recentemente como veículo para micro-organismos probióticos, tais como sucos de frutas e de vegetais, bem como outros produtos de natureza não láctea como soja (ZARE *et al.*, 2012).

Diversos estudos demonstraram que são múltiplos os fatores que afetam a viabilidade do micro-organismos probióticos em produtos comerciais, principalmente em veículos lácteos como os leites fermentados, devido a fatores como o pH, níveis de acidez e a presença de outros micro-organismos, bem como a temperatura de incubação utilizada e a presença de oxigênio. Afora isso, foi constatado que as bactérias probióticas demonstram baixa atividade proteolítica no leite de vaca, o que dificulta seu emprego tecnológico (DAMIN *et al.*, 2008).

Vários gêneros bacterianos e algumas leveduras são utilizados como micro-organismos probióticos, incluindo os gêneros *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Bifidobacterium*, *Propionibacterium*, *Enterococcus* e *Saccharomyces*, no entanto, estudos têm demonstrado que as principais espécies com características probióticas são o *Bifidobacterium* spp., *L. acidophilus* e o *L. casei* (SHAH, 2007). A *Bifidobacterium* sp., que é um micro-organismo importante no intestino humano, é atualmente um probiótico muito utilizado para iogurte (CHANG *et al.*, 2010).

Diversos autores descrevem, por meio de estudos realizados em humanos, uma série de benefícios à saúde, nos produtos que possuem micro-organismos probióticos, incluindo: atividade antimicrobiana, controle de micro-organismos patogênicos, hidrólise da lactose, modulação da constipação (Tabela 6), atividade antimutagênica e anticarcinogênica (KUMAR *et al.*, 2012), redução do colesterol sanguíneo e obesidade (AN *et al.*, 2011; NAITO *et al.*, 2011).

Tabela 6 Efeitos benéficos e aplicações terapêuticas atribuídas às bactérias probióticas em humanos e alguns critérios de seleção de micro-organismos pró-bióticos

<i>Efeitos benéficos</i>	<i>Alguns critérios para a seleção de Micro-organismos probióticos</i>
Manutenção da microflora intestinal normal	I) origem humana,
Antagonista de crescimento de patogênicos	II) resistência aos sucos gástricos,

Estimulação do sistema imunológico	III) capacidade de aderência à mucosa intestinal,
Redução da intolerância à lactose	IV) resistência à biliar
Redução dos níveis de colesterol	V) resistência à lisozima,
Impedimento da reabsorção de compostos aminados indesejáveis	VI) *persistência no trato intestinal humano
Desconjugação de ácidos biliares	VII) *produção de substâncias antimicrobianas,
Diminuição de doenças coronárias	VIII) *Antagonistas de bactérias patogênicas e carcinogênicas,
Atividade antimutagênica	IX) *seguros para uso clínico e alimentício,
Atividade anticarcinogênica	X) números elevados de microrganismos probióticos, no momento de seu consumo, devendo para isto, resistir às condições de processamentos (desidratação, congelamento, liofilização),
Atividade antitumorogênica	XI) * validade clínica e com documentação dos efeitos à saúde.
Melhora o valor nutricional dos alimentos	
Efeitos nutricionais	

Aplicações terapêuticas

Prevenção de infecção urogenital
 Alívio da constipação
 Proteção contra a diarreia dos viajantes
 Prevenção de diarreia infantil
 Redução de diarreia induzida por antibióticos
 Prevenção de hipocolesteremia
 Prevenção contra câncer de colo e bexiga
 Prevenção da osteoporose.

Notas: ¹Lourens-Hattingh e Viljoen (2001); ² Fooks, Fuller e Gibson (1999); *Saarela *et al.* (2000).

Segundo pesquisadores como Zuccotti *et al.* (2008), para ser utilizado como probiótico, o micro-organismo precisa ter a identificação internacionalmente conhecida (espécie e subespécie da cepa), além de resistir à acidez gástrica e à ação dos sais biliares dentro do corpo humano. Deve demonstrar benefícios ao hospedeiro (demonstrados *in vivo* e *in vitro*), por meio de uma dose previamente conhecida. Deve ter capacidade de adesão ao muco ou epitélio intestinal, apresentar segurança comprovada (baixo risco de infecção sistêmica e de produção de toxinas deletérias) e possuir a garantia da manutenção da viabilidade do micro-organismo até o momento do consumo na forma de cápsula, pó ou a produtos lácteos e fermentados.

Segundo Badaró *et al.* (2008), algumas bactérias dos gêneros *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Streptococcus*, são utilizadas como probióticos destacando-se atualmente os gêneros *Lactobacillus spp.* e *Bifidobacterium spp.* nos produtos fermentados.

As bactérias probióticas, principalmente os *Lactobacillus acidophilus* e as *Bifidobacterium spp.*, são normalmente dominantes no intestino humano. Esses micro-organismos inibem o crescimento de organismos patogênicos, pela produção de ácidos orgânicos, bacteriocinas e desconjugação de sais biliares (REDONDO, 2008).

Para que ocorram os efeitos benéficos já citados, uma grande quantidade de micro-organismos viáveis devem estar presentes ao longo da vida útil do produto. Afora isso, estes devem possuir resistência à passagem no meio ácido do estômago, bem como a

toxicidade da bili, capacidade de colonizar o trato gastrointestinal e inibir patógenos e, ainda, ter a capacidade de modular o sistema imunológico (SANCHES *et al.*, 2009).

3.6.3 Prebióticos

Prebióticos são componentes conhecidos como fibras alimentares que não são absorvidos pelo sistema digestório, chegando intactos aos intestinos e aproveitados pelos micro-organismos benéficos, garantindo efeitos positivos à saúde. Atualmente, são conhecidas fibras prebióticas solúveis e insolúveis. São consideradas fibras prebióticas solúveis os carboidratos complexos como os galactoligossacarídeos, as oligofrutoses, a polidextrose e a inulina. Entre as fibras prebióticas insolúveis se encontram farelo de trigo e fibra de abóbora, entre outros (BIOGEN IDEC, 2011).

Dentre as funções dos alimentos prebióticos, podem ser citadas algumas relacionadas a uma atuação direta como: aumento do tempo de esvaziamento do estômago, modulação do trânsito do trato gastrointestinal, diminuição de colesterol via adsorção de ácidos biliares e por meio de atuação indireta, modulando a fermentação microbiana pelo estímulo de bactérias bífidas responsáveis pelo aumento de ácidos graxos de cadeia curta, diminuição de pH e diminuição na absorção da amônia (BORTOLOZO; QUADROS, 2007).

A dose diária dos prebióticos não é um determinante do seu efeito, que é principalmente influenciado pelo número de bifidobactéria/g nas fezes antes do início da suplementação da dieta com prebióticos (ROBERFROID, 2007).

Como os prebióticos são componentes alimentares não-viáveis, a gama de produtos aos quais podem ser adicionados é muito maior do que para as culturas probióticas, visto que para estas a manutenção da viabilidade é imprescindível. Além disso, os prebióticos têm a vantagem de ser estáveis a processos térmicos e à exposição ao oxigênio (VENTER, 2007).

3.6.4 Prebióticos na soja

A soja e seus derivados têm recebido atenção dos pesquisadores, principalmente devido à grande quantidade e qualidade de sua proteína, sendo ela, dentre os vegetais, o melhor substituto de produtos de origem animal, além de ser uma importante fonte de fibras, oligossacarídeos com potencial prebiótico como rafinose e estaquiose, vitaminas e minerais (FUCHS *et al.*, 2005). Segundo Santos e Cançado (2009), os principais prebióticos utilizados pela indústria alimentícia são os frutooligossacarídeos (FOS), maltooligossacarídeos, galactooligossacarídeos, inulina e fibras insolúveis, como aveia, granola, linhaça ou, ainda, oligossacarídeos, como a rafinose e a estaquiose encontrados na soja.

Produtos como oligossacarídeos funcionais (rafinose e estaquiose) presentes na soja, possuem um efeito de sinergismo, gerando melhores resultados no desenvolvimento de bactérias fermentadoras destas fibras, como sugerem Stefe, Alves e Ribeiro (2008).

Conforme descrito por Haulý, Fuchs e Ferreira (2005), o extrato de soja, assim como o leite, é adequado para o crescimento de bactérias lácticas. Os oligossacarídeos (rafinose e estaquiose), aminoácidos e peptídeos presentes na soja estimulam um crescimento microbiano. Sendo assim, a bebida fermentada de soja, obtida por meio da fermentação através da ação de micro-organismos probióticos, apresenta características sensoriais semelhantes às do iogurte tradicional.

3.6.5 Simbióticos

Os alimentos simbióticos são mais do que apenas uma mistura de probióticos e prebióticos, sendo necessário que haja sinergia entre os dois componentes. O desenvolvimento desses alimentos requer um longo processo de avaliação, em que prebióticos selecionados e cepas probióticas são testados, tanto *in vitro* como *in vivo*, com a finalidade de encontrar os pares com maior atividade e sinergia (HUEBNER; WEHLING; HUTKINS, 2007).

Atualmente, a definição de simbiótico inclui duas abordagens: complementaridade e sinergia. Nos produtos simbióticos complementares, o probiótico é escolhido com base nos efeitos benéficos sobre o hospedeiro, independentemente do prebiótico escolhido, para aumentar seletivamente a concentração de micro-organismos benéficos já presentes no trato gastrointestinal. Já nos sinérgicos, o prebiótico é escolhido especificamente para estimular a multiplicação e a atividade do probiótico selecionado para a adição no produto, contribuindo, para a sua sobrevivência no trato gastrointestinal (KOLIDA; GIBSON, 2011).

3.6.6 Produtos não lácteos probióticos à base de cereais

Os produtos lácteos fermentados compreendem ainda, a maior parte dos alimentos contendo culturas probióticas (CÉSPEDES *et al.*, 2013), sendo estes adequados para a incorporação de micro-organismos probióticos por já apresentarem imagem positiva diante dos consumidores, não necessitarem de mudanças na tecnologia de fabricação envolvida, e pela capacidade de proteger os probióticos através do trânsito gastrointestinal (AWAISHEH, 2012). No entanto, outros alimentos têm sido investigados como potenciais veículos carreadores dessas culturas, como: bebidas preparadas a partir de cereais (CHARALAMPOPOULOS; PANDIELLA, 2010) e produtos de soja (SINGH *et al.*, 2011).

Em bebidas não lácteas, os micro-organismos probióticos têm sido geralmente empregados em sucos fermentados (ELLENDERSEN *et al.*, 2012), devido à maior adaptação

e aumento de viabilidade do micro-organismo probiótico no meio ácido, durante o processo de fermentação.

3.6.7 Alimentos funcionais

O termo “alimentos funcionais” foi primeiramente utilizado no Japão nos anos 1980, para produtos alimentícios fortalecidos com alguns constituintes especiais, que possuem efeitos fisiológicos positivos, logo, vantajosos à saúde humana (BIANCO, 2008).

Segundo Favero (2007), alimentos funcionais são alimentos que proporcionam a quem os consome, além das funções nutricionais básicas, um benefício fisiológico, de maneira relevante para o bem estar e a saúde ou para a redução do risco de adquirir uma doença.

Segundo a legislação brasileira atual, alimento funcional é todo alimento ou ingrediente que, para alegar propriedades funcionais ou de saúde deve, além das funções nutricionais básicas, quando se tratar de nutriente, produzir também efeitos metabólicos e fisiológicos e/ou efeitos benéficos a saúde, devendo este ser seguro para consumo sem a necessidade de supervisão médica (ANVISA, 1999). Considera-se alegação de propriedade funcional, aquela relativa ao papel metabólico ou fisiológico que tanto o nutriente quanto o não nutriente têm no crescimento, desenvolvimento, na manutenção e em outras funções normais do organismo humano, mediante demonstração da eficácia do mesmo. Conforme já descrito, uma alegação de propriedade funcional “é aquela que tem relação ao papel metabólico ou fisiológico que o nutriente ou não nutriente tem no crescimento, desenvolvimento, manutenção e outras funções normais do organismo humano”; enquanto que uma alegação de propriedade de saúde “é aquela que afirma, sugere ou implica a existência de relação entre o alimento com doença ou alguma condição relacionada à saúde” (ANVISA, 1999). Dessa forma, um produto não necessita deste registro para ter em sua composição um nutriente “funcional” – proteína de soja, fibras ou outros – este registro é necessário apenas para que a empresa alegue que o seu produto contém propriedades funcionais. Os critérios utilizados para avaliação das alegações de propriedades funcionais ou de saúde nos alimentos no Brasil seguem as diretrizes do Guia Alimentar para a População Brasileira, de acordo com a Política Nacional de Alimentação e Saúde (STRINGHETA *et al.*, 2007).

Probióticos, prebióticos e simbióticos podem ser classificados como alimentos funcionais promotores de saúde e representam o maior segmento do mercado de alimentos funcionais da Europa, Japão e Austrália (SARKAR, 2008).

Já é amplamente disseminado pela comunidade e literatura científica que a ingestão regular desses tipos de alimentos pode reduzir riscos de enfermidades como o câncer, doenças cardiovasculares, osteoporose, problemas intestinais (KANG *et al.*, 2013). Atualmente é comum o consumidor considerar a qualidade, a segurança e até a conformidade ambiental nas decisões de aquisição dos produtos. Por outro lado, os produtores têm de

responder a estes requisitos, aumentando a qualidade, funcionalidade e a sustentabilidade dos processos e produtos (WOGNUM *et al.*, 2011).

Para que os alimentos funcionais sejam eficazes, é preciso que seu uso seja regular e, também, que estejam associados ao aumento da ingestão de frutas, verduras, cereais integrais, carne, leite de soja e alimentos ricos em Omega-3 (VIDAL *et al.*, 2012).

Os alimentos funcionais não curam doenças, ao contrário dos remédios. Eles apresentam componentes ativos capazes de prevenir doenças ou reduzir o risco de certas doenças. Quando consumidos em sua forma natural, ou seja, na forma de alimento, não apresentam contra indicações e podem ser consumidos com tranquilidade, sem prescrição médica. Dentre as doenças mais investigadas estão: cardiovasculares, câncer, hipertensão, diabetes, doenças inflamatórias, intestinais, certas afecções reumáticas, Mal de Alzheimer, entre outras (FAVERO, 2007).

Atualmente, existem diversas categorias e tipologias utilizadas para a classificação de alimentos funcionais. Segundo relatório da FAO (2007), estes produtos podem ser divididos em quatro categorias:

- compostos antioxidantes (atuantes no sistema imunológico, vitaminas);
- redutores de riscos cardiovasculares (Omega 3, entre outros);
- reguladores da fisiologia do trato gastrointestinal (probióticos, fibras);
- moduladores de funções comportamentais e psicológicas (energéticos).

As novas tendências alimentares justificam o desenvolvimento de alimentos funcionais, devido a hábitos adquiridos pelas pessoas de se alimentarem de maneira pouco balanceada e pobre em nutrientes essenciais ao organismo (SALGADO; ALMEIDA, 2010).

Mundialmente, foi estimado um crescimento no total de vendas de alimentos funcionais de 75 bilhões de dólares em 2007, para 130 bilhões de dólares em 2015 (GLOBAL INDUSTRY ANALYSTS, 2012).

3.6.7.1 A soja como alimento funcional

A soja é importante fonte de compostos como fibras e oligossacarídeos, com potencial prebiótico como a rafinose e estaquiose. Concentrações elevadas de compostos considerados bioativos, como saponinas e isoflavonas, revelam a soja como um alimento saudável (TSENG; XIONG, 2009). Segundo Cavallini *et al.* (2009), dos componentes bioativos pertencentes à soja, o de maior interesse atualmente são as isoflavonas.

Segundo Hiraoka (2008), dentre os alimentos funcionais, a soja se destaca por suas propriedades nutricionais, terapêuticas e por seu efeito benéfico à saúde, pois contém substratos capazes de prevenir doenças crônicas degenerativas como o câncer de mama. Contudo, apesar dos seus benefícios a soja ainda é pouco consumida por suas características

sensoriais não tão agradáveis ao paladar e também pelo desconhecimento de suas particularidades funcionais pela população brasileira.

Nas últimas décadas, a soja recebeu especial atenção dos cientistas de alimentos, em virtude da qualidade de suas proteínas. Pelas propriedades funcionais que possui, ela tem um grande potencial na indústria alimentícia, especialmente devido à sua influência benéfica à saúde humana. Vários trabalhos denotam que o extrato hidrossolúvel de soja é adequado para a multiplicação de micro-organismos lácticos e, dentre eles, as bifidobactérias (AHMAD *et al.*, 2008).

Micro-organismos probióticos, como Lactobacilos e bifidobactérias já foram utilizados em vários trabalhos bem sucedidos para o desenvolvimento de extrato hidrossolúvel de soja fermentado, chamado também de “iogurte de soja” (KAUR; MISHRA; KUMAR, 2009).

Os fatores antinutricionais encontrados na soja, agem como inibidores da absorção parcial dos nutrientes, como, por exemplo, os fitatos que são antivitaminicos e antiminerais, ou seja, impedem que parte das vitaminas e minerais sejam absorvidas pelo organismo, outra substância antinutricional são os oxalatos, que se unem com o cálcio disponível, formando o oxalato de cálcio, composto que dá origem a cristais insolúveis que são excretados pela urina, porém, antes de chegar a esta etapa, passam pelo canal dos rins e podem causar cálculos renais. Entretanto, esses fatores antinutricionais são eliminados pelo processo de cocção realizado antes da fermentação da soja na elaboração de bebidas, por exemplo (BENEVIDES *et al.*, 2011).

3.6.7.2 O mercado de produtos funcionais

Segundo relatório publicado, em 2008, pela Nilsen, empresa especializada em pesquisa, informação e análise de mercado, apresentando o comportamento do mercado de alimentos e bebidas 2006-2007, questões relacionadas ao envelhecimento, obesidade e saúde infantil continuarão a impulsionar as compras das categorias mais importantes (NILSEN, 2008). Nota-se que o consumidor está mais crítico e exigente, em relação à sua saúde, e quer ser informado acerca das origens e processos de produção dos alimentos que consome, os níveis de segurança, a higiene, e a presença de produtos químicos e outras questões ambientais associadas (FALGUERA; ALIGUER; FALGUERA, 2012).

Entre 2006 e 2007, o crescimento global de categorias de alimentos e bebidas foi mensurado em 6%, sendo que bebidas probióticas apresentaram um crescimento de 13%. Este tipo de produto apresenta um ciclo menos sazonal, quando comparado a outras categorias de bebidas (NILSEN, 2008), o que criou uma forte demanda por alimentos da categoria funcionais, ou seja, alimentos para os quais pode ser demonstrado que afetam benéficamente uma ou mais funções do organismo, além de garantirem os efeitos nutricionais

adequados, de modo relevante para a melhora da saúde e bem-estar, bem como o risco de doenças, tais como diarreia, câncer e doenças cardiovasculares (CHAMPAGNE *et al.*, 2009).

Alguns autores já citam, como exemplo da perspectiva de crescimento do mercado dos alimentos funcionais, a utilização destes no continente africano: Ukeyima, Enujiugha e Sanni (2010) relatam que propriedades da polpa de cereais, cultivados em certos locais da África, têm apresentado efeitos benéficos ao organismo humano, motivo pelo qual mães nigerianas dão o líquido proveniente da sua fermentação aos bebês durante a fase de amamentação, visando à eliminação de doenças. Situação idêntica ocorre no Zimbábue, onde um tipo de leite fermentado tradicional daquele local é popularmente conhecido e apreciado por suas propriedades medicinais (UKEYIMA; ENUJIUGHA; SANNI, 2010). Utilizando este tipo de visão, os alimentos funcionais poderiam acompanhar tendências de estudos de produtos medicinais e expandir hábitos já tradicionais como os citados anteriormente, associados à saúde (UKEYIMA; ENUJIUGHA; SANNI, 2010).

Criar alternativas tecnológicas para aumentar o valor nutricional dos alimentos vem se tornando uma tarefa de grande importância, pois os consumidores estão cada vez mais exigentes em busca de uma alimentação equilibrada e saudável, o que viabiliza, também, o desenvolvimento de sobremesas com características funcionais (HENRIQUE *et al.*, 2008).

Os alimentos funcionais podem ser encontrados para consumo humano de duas formas: naturais e artificiais. Os últimos, por sua vez, são fabricados por empresas especializadas e autorizadas. As formas naturais são os alimentos que contêm: ácidos graxos (linoleico, Omega-3 e 6, e limonoides), fibras, probióticos (lactobacilos e bifidobactérias), compostos fenólicos (resveratrol, isoflavona e zeaxantina) e carotenóides (betacaroteno, licopeno, luteína) (VIDAL *et al.*, 2012).

3.7 Banana

A banana (*Musa sapientum*), originária do continente asiático, pertencente à família Musaceae é uma das frutas mais consumidas no mundo. Atualmente seu cultivo é explorado na maioria dos países tropicais. No Brasil é cultivada, desde a faixa litorânea até os planaltos do interior. As regiões produtoras de maior destaque são o Vale do Ribeira no estado de São Paulo, Jaraguá do Sul, em Santa Catarina, Janaúba no norte de Minas Gerais e Petrolina/Juazeiro no nordeste. As variedades mais difundidas são: prata, pacovan, prata-anã, maçã, mydore, terra e d'Angola, além da nanica e nanicao (MARTINEZ *et al.*, 2009).

A banana é uma das frutas mais importantes do mundo, tanto em relação à produção quanto à comercialização. A cultura da banana destaca-se como a quarta cultura de alimento mais importante do mundo após o arroz, o milho e o leite (IZIDORO, 2007).

A região Nordeste é responsável pela maior produção de bananas, com 2,7 milhões de toneladas, ocupando uma área de 210.374 ha, correspondendo a 38,6% da produção total do país, seguida pela Sudeste, com 29,8% da produção (IBGE, 2009).

Como a banana pode ser processada em diferentes estágios de maturação, uma das opções é submetê-la a processos de secagem ainda verde e o produto obtido (farinha da banana verde) é utilizado na linha de produtos panificáveis com substituição parcial ou total da farinha de trigo (POIANI *et al.*, 2008).

De acordo com dados do IBGE (2010), as três regiões de destaque no cultivo de bananas, no Brasil, são: Nordeste, Sudeste e Sul (Tabela 7).

Tabela 7 Produção de banana nas regiões geográficas brasileiras, em toneladas

Regiões geográficas	Produção (t)
Nordeste	2.649.412
Sudeste	2.226.297
Sul	1.022.610
Norte	814.929
Centro-oeste	249.544
Brasil	6.962.792

Fonte: IBGE (2010).

A boa aceitação da banana se deve aos seus aspectos sensoriais e ao valor nutricional, consistindo em fonte energética, devido à presença de carboidratos, minerais e vitaminas. Contribuem para a sua aceitação a ausência de sementes duras e de suco na polpa, além de sua disponibilidade durante todo o ano (FASOLIN *et al.*, 2007).

Do total de bananas produzidas no país, aproximadamente, 40% são perdidos somente na fase pós-colheita. As principais causas são: o manuseio excessivo e o uso de embalagens não adequadas, como as caixas de madeira que, além de causar sérios problemas de contaminação dos frutos, são pouco econômicas. O transporte dos frutos também é inadequado. O uso de caminhões com sistema de refrigeração no transporte de banana ainda é muito pequeno, assim como o uso de refrigeração nos supermercados, segmento mais exigente em qualidade de fruto (EMBRAPA, 2013).

Na Tabela 8 estão apresentados alguns valores importantes da composição química da banana madura, como a quantidade de fibras presentes, e que são usadas no processo de fermentação por bactérias ácido-láticas.

Tabela 8 Composição química da banana

Parâmetros (%)	Banana verde	Banana madura
Proteínas	5,30	5,52
Lipídios	0,78	0,68
Fibra	0,49	0,30
Cinzas	3,27	4,09
Amido resistente	62,00	2,58
Sacarose	1,23	53,20

Nota: Composição aproximada da banana em diferentes estágios de maturação (UNICAMP, 2006).

Embora não seja o maior produtor, o Brasil apresenta o maior consumo mundial *per capita*, que é superior a 20 quilos/ano. Em nosso país, a banana é a mais importante fruta consumida como complemento alimentar, principalmente pelas classes de menor poder aquisitivo, constituindo elemento importante na alimentação dessa população, não só pelo alto valor nutritivo, mas também e, principalmente, pelo baixo custo. Praticamente toda a produção de banana é consumida *in natura* e somente uma pequena parcela é submetida a algum processo de industrialização. Nos países e regiões menos desenvolvidos, o cultivo da banana desempenha um papel econômico e social relevante, atuando na fixação da mão de obra rural, gerando postos de trabalho no campo e nas cidades e contribuindo para o desenvolvimento regional (FASOLIN *et al.*, 2007).

Devido à alta atividade de água, são necessário processos que melhorem suas condições de armazenamento e transporte (LEITE *et al.*, 2011) e por ser de alta perecibilidade, ela necessita de técnicas para o seu armazenamento, como a secagem, a qual tem como objetivo eliminar um líquido volátil (água) contido na matéria prima através da evaporação, proporcionando sua conservação por mais tempo, aumentando seu tempo de prateleira, em relação ao produto *in natura* (DANTAS *et al.*, 2010).

A banana quando cozida verde, perde tanino, responsável pela adstringência e a polpa permite a produção de vários alimentos, como pão, nhoque (entre outras massas), patês e maionese, o que ressalta a importância dessa matéria-prima, por apresentar diversidade de aplicações (IZIDORO *et al.*, 2008).

Sua utilização em alimentos é de extensão considerável, pois não altera o sabor, aumenta a quantidade de fibras, proteínas e nutrientes, além de aumentar significativamente o rendimento dos produtos. O desenvolvimento de uma emulsão adicionada de polpa de banana verde é uma maneira de agregar valor nutritivo a um produto que pode ser consumido em larga escala (IZIDORO *et al.*, 2008).

3.7.1 Obtenção da farinha de banana verde

De acordo com a Resolução RDC nº 263, de 22 de setembro de 2005, que aprovou o Regulamento Técnico para produtos derivados de cereais: amidos, farinhas e farelos, são os

produtos obtidos de partes comestíveis de uma ou mais espécies de cereais, leguminosas, frutos, sementes, tubérculos e rizomas, por moagem e/ou outros processos tecnológicos considerados seguros para produção de alimentos (BRASIL, 2005). Para a obtenção de farinha tendo-se como matéria-prima uma fruta, o processo de secagem deve preceder o de moagem, sendo que diversos tipos de secadores podem ser empregados.

A partir da secagem da polpa de banana verde é possível obter uma farinha de banana verde, que apresenta sabor suave, podendo substituir outras farinhas sem prejuízo desta característica sensorial. A secagem pode ser natural ou artificial e, quando bem processada, pode ser utilizada como matéria prima de inúmeros produtos, principalmente em panificação (MARTINEZ *et al.*, 2009).

A polpa de banana verde, que pode ser desidratada, apresenta 70 a 80% de amido, quantidade que pode ser comparada à do endosperma de grãos como o milho e vegetais como a batata (ZHANG *et al.*, 2005).

A banana verde apresenta alto teor de amido e baixo teor de açúcares e compostos aromáticos, sendo rica em flavonóides, que age protegendo a mucosa gástrica, além de possuir quantidades significativas de amido resistente (RODRÍGUEZ-AMBRIZ *et al.*, 2008).

Conforme o Sistema Brasileiro de Respostas Técnicas – SBRT (2005), as farinhas de banana podem ser obtidas de secagem natural ou artificial, através de bananas verdes ou semiverdes das variedades, prata, terra, cavendish, nanica ou nanicão. Quando bem processadas, podem ser utilizadas em panificação e alimentos infantis. Sua qualidade depende de vários fatores, incluindo matéria-prima, método de secagem, técnicas de procedimento e formas de armazenamento.

A farinha de banana verde pode ser utilizada em substituição à farinha de trigo na preparação de massas, pães, bolos, biscoitos, entre outros, com a vantagem de conferir a esses alimentos os benefícios do amido resistente e de não conter glúten, permitindo o seu consumo pelos celíacos (ZANDONADI, 2009).

Ramos, Leonel e Leonel (2009) avaliaram o teor de amido resistente (AR) na farinha de banana verde e constataram que ela apresenta valores consideráveis desse componente, variando de 10% a 40%, dependendo do genótipo da banana. A presença de AR na elaboração de produtos é de interesse tanto para a indústria de alimentos como para o consumidor. O AR pode ser utilizado na elaboração de produtos com reduzido teor de lipídios e /ou açúcares e como fonte de fibra alimentar (LAJOLO *et al.*, 2001).

Moraes Neto *et al.* (1998) obtiveram 3,2% de teor de proteína e 4,1% para as cinzas da farinha de banana verde, enquanto Fasolin *et al.* (2007) obtiveram 4,54% e 2,62%, respectivamente, de acordo com a Tabela 9.

Tabela 9 Composição centesimal da farinha de banana verde

Componentes	Quantidades (mg.100 g ⁻¹)
Umidade	7,55± 0,13
Cinzas	2,62± 0,06
Proteínas	4,54± 0,20
Lipídios	1,89± 0,11
Amido	73,28 ± 0,90
Açúcares redutores	Traços
Açúcares não redutores	Traços

Nota: *Valores médios de três repetições com três determinações cada uma ± desvio padrão.

Fonte: Fasolin *et al.* (2007).

Diversos trabalhos foram publicados sobre as propriedades da banana verde, abordando os efeitos benéficos sobre alguns males, como: câncer colorretal, diarreia, índice glicêmico, resposta insulínica, dislipidemias, doenças cardiovasculares e doença celíaca (ZANDONADI, 2009)

Atualmente, o processo de desidratação de frutas e hortaliças mais empregado e utilizado para a elaboração de farinhas, utiliza a técnica de secagem por ar quente, por ser, dentre as existentes, a mais simples e econômica. Nesse método, o ar aquecido é colocado em contato com o material a ser seco, para que ocorra a transferência de calor (principalmente por convecção) e de massa, que se dá pela migração da água do interior para a superfície do produto e a evaporação desta para o ambiente. Para a obtenção de produtos de alta qualidade a um custo adequado, a secagem deve ocorrer o mais rapidamente possível, sendo que os fatores que mais afetam a taxa e o tempo total de secagem são: as propriedades físicas da matéria-prima, principalmente o tamanho e a geometria, as propriedades do ar (temperatura, umidade relativa e velocidade) e as características de projeto do equipamento, tais como a forma de circulação do ar através do produto. Para a secagem de frutas em pedaços podem ser usados os secadores de bandejas, túnel, esteira e pneumático (ORMENESE, 2010).

A aceitação de alimentos acrescidos de banana verde tem sido alvo de vários estudos sensoriais, por se tratar de fonte alternativa de nutrientes saudáveis ao consumidor. A cor é um atributo de qualidade inerente de cada alimento e muito importante para a maioria dos consumidores. A associação da cor com a aceitabilidade de um produto é universal (IZIDORO *et al.*, 2008). Amaro (2012) obteve resultado significativo em seu estudo, para o crescimento de bactérias probióticas, empregando a farinha de banana verde como agente prebiótico, porém, neste estudo, foi analisado somente o crescimento de micro-organismos do tipo bifidobactérias.

3.8 Análise sensorial

A definição de Análise Sensorial, segundo o *Institute of Food Science and Technology* (IFT) “é uma disciplina usada para provocar, medir, analisar e interpretar as reações produzidas pelas características dos alimentos e materiais, e como elas são percebidas pelos sentidos da visão, olfato, paladar, tato e audição”. Como ciência, a Análise Sensorial surgiu em 1940, nos Estados Unidos e nos países Escandinavos. Na Europa Continental surgiu somente no final da década de 1950 (ESTEVES, 2009). Na Figura 3 é apresentado um fluxograma do conceito atual da Análise Sensorial.

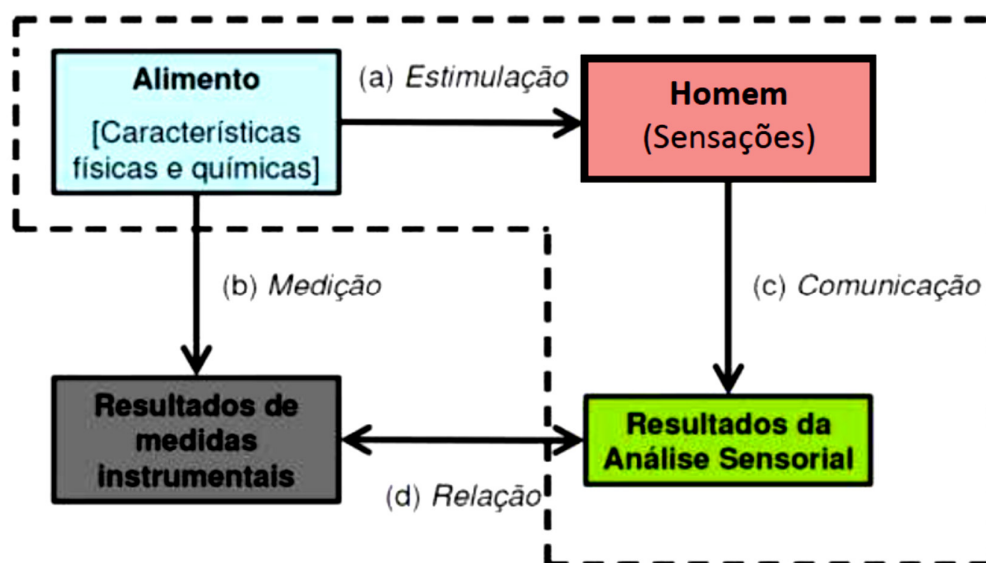


Figura 5 Estrutura de interpretação da análise sensorial.

Fonte: Esteves (2009).

Assim, a Análise Sensorial decorre da interpretação dos estímulos provocados nos indivíduos por sua interação com os produtos ou alimentos, que resultam de várias sensações que se originam de reações fisiológicas, gerando uma interpretação das propriedades intrínsecas ao produto no indivíduo (IAL, 2008).

Um produto alimentício tem como o destino final o consumidor, logo, a aceitação/preferência dos alimentos é melhor avaliada quando o próprio consumidor faz parte desse processo. A análise sensorial permite esse elo entre o consumidor e o produto, fornecendo aos interessados informações preciosas que vão refletir a posição do mesmo no mercado, uma vez que não basta um produto ter características químicas, físicas e microbiológicas satisfatórias, se, sensorialmente, esse produto não é bem aceito pelo seu público (MINIM, 2010).

O impacto sensorial da adição de micro-organismos probióticos e elementos prebióticos em alimentos ainda não foi extensivamente relatado em estudos, contudo, já é

possível assumir que a adição de ingredientes, considerados atualmente como funcionais, provavelmente, produzirão alimentos com perfis de sabor diferenciados, em relação a produtos sem adição (GRANATO *et al.*, 2010). A adição de prebióticos a alimentos tem maior influência na textura e aroma dos produtos que os contêm, enquanto a adição de probióticos tem maior efeito no sabor e aroma. No primeiro caso, o ingrediente prebiótico é adicionado à matriz do produto, reforçando as interações já existentes nos componentes do alimento. No segundo caso, o metabolismo da cultura probiótica pode resultar na produção de componentes, como ácido lático que contribuem com o sabor dos produtos (CRUZ *et al.*, 2010).

Atualmente as principais aplicações da análise sensorial nas indústrias são: desenvolvimento de produtos, controle de qualidade, monitoramento de produtos concorrentes, teste de armazenamento e correlações entre medidas sensoriais e físico-químicas (MAÇATELLI, 2006). Pesquisas sugerem que o uso e aplicação de testes sensoriais descritivos, em bebidas principalmente, têm aumentado e continuarão dessa forma nos próximos anos (PINHEIRO, 2010).

Os métodos sensoriais são classificados em três amplas categorias: discriminativos, descritivos e afetivos. Os discriminativos apresentam provas de diferenças e/ou semelhanças e compreendem testes como os de comparação pareada, duo-trio e triangular. Os descritivos são de identificação e quantificação de atributos sensoriais, incluindo testes de perfil de sabor, perfil de textura e análise descritiva quantitativa. Já os afetivos são de preferência e aceitação e apresentam testes como os de comparação pareada, ordenação, escala hedônica e escala de atitude (DUTCOSKY, 2013).

De acordo com Faria e Yotsuyanagi (2002), as técnicas de avaliação sensorial foram desenvolvidas desde 300 a. C, a partir da necessidade de produtores obterem classificação de produtos como vinho e café, entre outros, cujo preço era definido a partir da classificação de qualidade efetuada por *expert* ou especialista no produto. Sendo assim, a análise sensorial, enquanto ciência foi definida pela Divisão de Avaliação Sensorial do *Institute of Food Technologists* (IFT), como sendo “uma disciplina científica usada para evocar, medir, analisar e interpretar reações às características de alimentos e materiais percebidas pelos sentidos da visão, olfato, gosto, tato e audição” (FARIA; YOTSUYANAGI, 2002).

O resultado da interação entre o alimento e o homem é a qualidade sensorial do alimento, que pode variar de pessoa para pessoa. Acredita-se que a qualidade sensorial é função tanto dos estímulos que vêm dos alimentos quanto das condições fisiológicas, sociológicas e psicológicas dos indivíduos que o avaliam (FREITAS, 2011).

Para que o produto tenha uma aceitabilidade no mercado, à indústria de alimentos se preocupa com a qualidade sensorial de seus produtos, porém, para medir essa aceitabilidade, os métodos vão variar em função do estágio de evolução tecnológica da indústria (FREITAS, 2011).

Hoje em dia, não basta o alimento ter benefícios ótimos para a saúde, mas também, a aparência, odor, sabor e textura influenciam, e muito, na escolha do alimento pelo consumidor (CASÉ *et al.*, 2005).

A análise sensorial define o sucesso ou insucesso dos produtos no mercado, sendo efetiva no controle de qualidade de produtos alimentícios, prevendo a aceitação ou rejeição destes produtos pelo público consumidor (FERREIRA *et al.*, 2000).

3.8.1 Testes afetivos

Nos testes afetivos a seleção da equipe não está vinculada à capacidade do julgador de discriminar amostras ou descrever atributos de um produto, mas à busca de consumidores que se incluam como público-alvo ou consumidores em potencial do produto. Alguns critérios nessa escolha podem ser considerados, dentre eles, frequência de consumo, idade, sexo e estado civil. O teste afetivo de preferência é usado para saber quais alimentos os indivíduos preferem sem, no entanto, definir o quanto gostam dos mesmos. Já o teste de aceitação determina o *status* afetivo do alimento, isto é, o quanto ele é aceito pelos consumidores (DELLA LUCIA; MINIM, 2006).

4 MATERIAL E MÉTODOS

O desenvolvimento das formulações desta pesquisa foi realizado no Laboratório de Laticínios e as análises sensoriais foram aplicadas no Laboratório de Análise Sensorial, ambos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, *campus* de Medianeira - PR.

Foram realizados pré-testes para definição da formulação e posterior fermentação, através da utilização de micro-organismos lácticos probióticos. Ainda, foram utilizadas neste estudo¹:

- bebidas obtidas de extrato de soja em pó, marca VITAO®, Lote 140205, com validade até 5 de fevereiro de 2015;
- farinha de banana, marca Línea verde alimentos Limitada®;
- polpa de goiaba concentrada, marca Maguari;
- açúcar refinado da marca UNIÃO®, Lote T 172, com validade até 02/07/2015;
- fermentos tipo DVS (*direct vat set*) da marca SACCO tipo SAB 440, contendo *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium bifidum*;
- corante *Soft Gel Mix* vermelho morango 25 g, contendo corantes artificiais ponceau 4R (INS124) e vermelho 40 (INS129), permitidos pela legislação vigente (BRASIL, 2007).

As etapas de produção da bebida fermentada de soja estão demonstradas na Figura 6.

¹ A citação de marcas de produtos e equipamentos nesta tese não significa indicação comercial, somente a adequada referência dos materiais e processos aplicados na pesquisa.

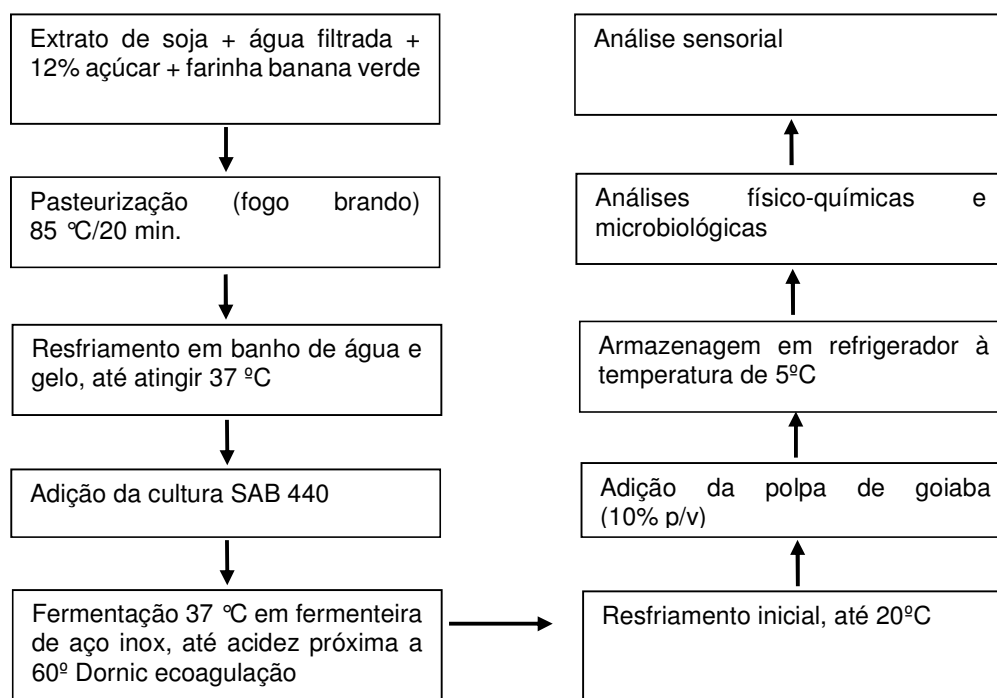


Figura 6 Fluxograma da produção do extrato hidrossolúvel de soja fermentado.

4.1 Elaboração da bebida fermentada

O trabalho foi dividido em três etapas: a primeira etapa compreendeu a fermentação do extrato aquoso de soja, variando-se a quantidade de soja utilizada (8, 10 e 12%) e de farinha de banana (0, 2, 3 e 4%), totalizando 12 tratamentos sendo:

T1 = bebida fermentada com 8% de extrato aquoso de soja, sabor goiaba;

T2 = bebida fermentada com 8% de extrato aquoso de soja, sabor goiaba e adicionada de 2% de farinha da banana verde;

T3 = bebida fermentada com 8% de extrato aquoso de soja, sabor goiaba e adicionada de 3% de farinha da banana verde;

T4 = bebida fermentada com 8% de extrato aquoso de soja, sabor goiaba e adicionada de 4% de farinha da banana verde;

T5 = bebida fermentada com 10% de extrato aquoso de soja, sabor goiaba;

T6 = bebida fermentada com 10% de extrato aquoso de soja, sabor goiaba e adicionada de 2% de farinha da banana verde;

T7 = bebida fermentada com 10% de extrato aquoso de soja, sabor goiaba e adicionada de 3% de farinha da banana verde;

T8 = bebida fermentada com 10% de extrato aquoso de soja, sabor goiaba e adicionada de 4% de farinha da banana verde;

T9 = bebida fermentada com 12% de extrato aquoso de soja, sabor goiaba;

T10 = bebida fermentada com 12% de extrato aquoso de soja, sabor goiaba e adicionada de 2% de farinha da banana verde;

T11 = bebida fermentada com 12% de extrato aquoso de soja, sabor goiaba e adicionada de 3% de farinha da banana verde;

T12 = bebida fermentada com 12% de extrato aquoso de soja, sabor goiaba e adicionada de 4% de farinha da banana verde.

Essa etapa foi realizada com o objetivo de avaliar a melhor técnica de fermentar o extrato aquoso de soja reconstituído, de modo a favorecer o desenvolvimento e obter a maior viabilidade possível dos micro-organismos probióticos envolvidos no estudo.

O extrato aquoso de soja foi reconstituído em água, conforme o experimento, totalizando, aproximadamente, 8, 10 e 12% de sólidos totais, com açúcar (12% p/v), sob agitação constante e vigorosa. Nos tratamentos necessários foram adicionados diferentes percentuais de farinha da banana.

A mistura foi aquecida até 85 °C e mantida por 20 minutos em banho termostatzado. Em seguida, foi resfriada em banho de água e gelo até atingir 37 °C, para receber a cultura láctica probiótica em condições assépticas. O produto foi então incubado a 37 °C, em fermenteira de aço inox (Figura 7), e o tempo de fermentação da bebida foi calculado a partir do início da inoculação dos micro-organismos lácticos, até que fosse obtido o valor em acidez próximo a 60º Dornic.



Figura 7 Fermenteira em aço inox de tamanho laboratorial, utilizada para o processo de fermentação.

Terminada a fermentação, realizou-se o resfriamento inicial até 20 °C, aproximadamente, e a quebra do coágulo por agitação manual, durante 30 segundos, seguida

por resfriamento final em banho de água e gelo. Nesse momento, foi adicionada a polpa de goiaba (10 % p/v) e 50 mg/Kg de corante para alimentos, contendo corantes artificiais ponceau 4R (INS124) e vermelho 40 (INS129), permitidos pela legislação vigente (BRASIL, 2007).

A bebida foi embalada em potes plásticos e armazenada em refrigerador à temperatura de 5 °C, aproximadamente (Figura 8).



Figura 8 Câmara de armazenamento utilizada, e detalhe do demonstrativo de temperatura.

A segunda etapa, realizada no estudo, foi referente à avaliação química, físico-química e microbiológica. Foram realizadas análises de acidez em ácido láctico (^oDornic), pH (com o equipamento WTW, modelo pH 330i/ set), umidade, gordura, resíduo mineral fixo, proteína, carboidratos totais, contagem de micro-organismos probióticos e análises microbiológicas da qualidade, requeridas pela legislação de leites fermentados (BRASIL, 2007), garantindo a segurança dos provadores durante a análise sensorial realizada. As análises físico-químicas, após a fermentação, foram realizadas em triplicatas. As análises microbiológicas dos micro-organismos probióticos em estudo foram realizadas em triplicatas em cada um dos 12 tratamentos, nos tempos 0,7, 14, 21, 28 e 35 dias de estocagem. Foi realizada a otimização no processo de enumeração de bactérias lácticas, visando proporcionar maior contagem destas em ágar MRS, no tratamento que apresentou a maior contagem inicial de micro-organismos probióticos, após a fermentação da bebida.

A terceira etapa consistiu na avaliação sensorial pelo consumidor final, com a intenção de verificar a aceitabilidade do novo produto utilizando o teste de escala hedônica de nove

pontos. Foram realizadas 4 análises semanais, sendo uma análise para cada tratamento. Ao final das 12 análises, foram repetidas análises com as 3 melhores formulações que obtiveram a melhor pontuação.

4.2 Procedimentos éticos

O estudo foi encaminhado ao Comitê de Ética de Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (ANEXO A) e aprovado sob o parecer de número 871.669, de 12 de novembro de 2014.

4.3 Delineamento experimental

O experimento envolveu 2 fatores: A (quantidade de extrato de soja) e B (% de Farinha da banana), com 3 e 4 níveis, respectivamente, e 3 repetições, totalizando 12 tratamentos distintos. Os tratamentos foram abordados estatisticamente mediante análise de variância (teste F) e comparações múltiplas de Tukey, utilizando um nível de significância de 5%. Foi realizada a otimização na quantificação do número de colônias de bactérias lácticas em ágar MRS do tratamento com maior contagem inicial de micro-organismos lácticos, avaliando um possível aumento na contagem das mesmas em placas de Petri. Para isso, no planejamento experimental, foram avaliados os fatores independentes: temperatura e tempo de incubação, e como variável dependente (resposta), a contagem do maior número de bactérias lácticas probióticas em placas, com o qual foi avaliado experimentalmente o comportamento das variáveis independentes na resposta, seguindo-se o planejamento fatorial completo 2^2 (com 11 ensaios), apresentados na Tabela 10.

Os resultados das contagens do número de células bacterianas, presentes em cada ensaio, foram expressos em unidades formadoras de colônias por mL (UFC mL⁻¹). Para a análise estatística dos dados obtidos experimentalmente, foi utilizado o Teste F e Anova, com o *software* *STATÍSTICA for Windows*, versão 7.0 (STATSOFT™, 2006).

Tabela 10 Delineamento do experimento com as variáveis codificadas e reais

Ensaio	Variáveis independentes			
	Codificadas		Reais	
	Temperatura	Tempo	Temperatura (°C)	Tempo (h)
1	-1	-1	32	35
2	1	-1	42	35
3	-1	1	32	61
4	1	1	42	61
5	-1,41	0	30	48
6	1,41	0	44	48
7	0	-1,41	37	29,7
8	0	1,41	37	66,4
9	0	0	37	48
10	0	0	37	48
11	0	0	37	48

4.4 Análises físico-químicas

Foram realizadas as análises físico-químicas do extrato aquoso de soja reconstituído, e da bebida fermentada simbiótica saborizada.

4.4.1 Determinação de pH

A determinação do pH foi realizada utilizando-se o medidor de pH Tecnal (modelo Tec-3MP), de acordo com as normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz (IAL, 1985).

4.4.2 Análise de acidez titulável

A acidez titulável foi determinada por titulações com solução de hidróxido de sódio (NaOH) 0,1N, utilizando fenolftaleína como indicador. Os resultados foram expressos de acordo com os componentes com caráter ácido, como o ácido láctico, em graus Dornic, de acordo com metodologia proposta por Brasil (2006).

4.4.3 Análise de gordura

O teor da fração lipídica das bebidas foi determinado pelo processo de extração de Gerber (BRASIL, 1981), adaptado para iogurte.

4.4.4 Análise de resíduo mineral fixo

A análise de resíduo mineral fixo foi realizada por incineração de 2 g de amostra a 550 °C, segundo *Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz* (IAL, 2008).

4.4.5 Análise de proteína

A determinação do percentual proteico foi feita pelo método de micro-kjeldahl, segundo o Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008), utilizando fator de ajuste de 6,25 como fator de conversão do teor de N em proteína.

4.4.6 Análise de umidade

A análise de umidade foi determinada pelo método gravimétrico, com emprego de calor, em que se determinou a perda de peso da bebida fermentada, quando submetido ao aquecimento em estufa (105 °C) até obtenção de peso constante, segundo Brasil (2006).

4.4.7 Análise de atividade de água

As bebidas fermentadas foram submetidas à análise de atividade de água em aparelho da marca Aqualab^R, modelo 4 TE da marca Braseq - brasileira de equipamento Ltda., e a leitura dos dados foi realizada por medida direta, na temperatura de 25 °C, pelos métodos descritos no manual do Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008).

4.4.8 Análise de carboidratos totais

O teor de carboidratos foi calculado pela diferença entre os sólidos totais e o somatório dos teores de gordura, proteínas e cinzas em cada formulação, conforme a fórmula: % Carboidratos = 100 – (% umidade + % proteína + % lipídios + % cinzas).

4.4.9 Análise de fibras

A determinação do teor de fibra alimentar total foi realizada tendo por base o método AOAC 985.29 (enzimático-gravimétrico), conforme descrito por Prosky *et al.* (1988).

4.5 Determinação dos parâmetros microbiológicos

4.5.1 Determinação de micro-organismos indicadores dos parâmetros microbiológicos sanitários da bebida fermentada

Foram realizadas análises microbiológicas de qualidade nas 12 formulações da bebida elaborada segundo a legislação vigente de bebidas fermentadas (BRASIL, 2007), como contagem de coliformes a 45 °C e a 35 °C, utilizando-se o método de Número Mais Provável (NMP/mL) e a contagem de bolores e leveduras por plaqueamento em superfície.

Para pesquisa de coliformes a 35 °C, foi utilizado o teste presuntivo, no qual alíquotas de 1 mL de cada diluição foram transferidas para tubos contendo caldo lauril sulfato triptose (LST) (Oxoid) e incubados a 37 °C por 48 horas. Após o período de incubação, alíquotas dos tubos positivos (com turvação nítida e formação de gás no interior dos tubos de Durham) foram transferidas para caldo VB (Oxoid) e incubadas a 35 °C por 24 horas (SILVA, 2007).

Para pesquisa de coliformes termotolerantes (45 °C) foi utilizado o mesmo teste presuntivo, conforme descrito acima, no qual alíquotas dos tubos positivos após incubação inicial (com turvação e com gás no interior dos tubos de Durham) foram transferidas para caldo EC (Oxoid) e incubadas a 45 °C por 24 horas (SILVA, 2007).

Para a determinação de bolores e leveduras, alíquotas de 1 mL de cada diluição das amostras foram transferidas para placas PetrifilmTMYM (3M Microbiology), para a determinação de bolores e leveduras. As placas PetrifilmTMYM foram incubadas em estufa bacteriológica, a 25 °C por 5 dias (SILVA, 2007).

4.5.2 Determinação da viabilidade dos micro-organismos probióticos da bebida fermentada

Decorridos os tempos de armazenamento descritos no item 4.1, foram efetuadas contagens das populações dos micro-organismos probióticos *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium animalis*, e de *Streptococcus Thermophilus*, presentes na cultura SAB 440 da SACCO® ao longo do armazenamento dos produtos, em cada uma das formulações. A contagem de micro-organismos probióticos foi realizada em triplicata, utilizando o *Lactobacillus* MRS Agar, recomendado pelo grupo E-104 da *International Dairy Federation*, *International Standards Organization* e *Association of Official Analytical Chemists* (IDF/ISO/AOAC GROUP E-104, 1995), segundo metodologia descrita por Silva (2007).

Foram feitas as diluições decimais seriadas, em que 25 mL de amostra foram transferidos de forma asséptica para um frasco de Erlenmeyer estéril contendo 225 mL de água destilada peptonada a 0,1% v/v. Essa solução foi então homogeneizada, e em seguida

feitas as diluições subsequentes e necessárias à análise. As amostras foram diluídas em água salina peptonada (0,9% v/v salina, 0,1% v/v peptona) e a contagem de micro-organismos probióticos viáveis foi determinada no meio de cultura desidratado Lactobacillus ágar MRS, da marca HiMedia Laboratories Pvt. Ltd., pelo método de plaqueamento em profundidade, utilizando sobrecamada do mesmo meio de cultura, visando garantir condições microaerófilas, sendo, posteriormente, realizada a incubação anaeróbica a 37 °C, durante 48 horas (SILVA, 2007).

O método de contagem em placa é a técnica atualmente mais usada na determinação de uma população de micro-organismos em estudo, e quantifica apenas as células viáveis do micro-organismo. Neste método, considera-se que cada colônia formada é originada do crescimento e da multiplicação de apenas uma bactéria. Todavia, frequentemente, uma colônia em crescimento é o resultado não de apenas uma única bactéria, mas de uma cadeia de bactérias e, por isso, a técnica de contagem em placas é, geralmente, chamada de unidades formadoras de colônias (UFC), por grama ou ml do produto em estudo.

Pela convenção adotada pela *Food and Drug Administration*, que controla alimentos e medicamentos, deve-se realizar a contagem somente nas placas que contenham de 25 a 250 colônias (UFC), de modo a não propiciar uma contagem errônea do número de células, devido ao seu excesso na placa de Petri. Com o intuito de garantir que o número de colônias desenvolvidas na placa (UFC) permaneça na faixa desejada, é utilizado o método de diluição em série (CASÉ *et al.*, 2005), já descrito.

4.5.3 Testes de confirmação bioquímica

Afora as análises microbiológicas específicas para enumeração de bactérias lácticas, foram realizados também testes de confirmação bioquímica (catalase e coloração de gram), conforme descritos por Carvalho (2007), com o intuito de garantir a real presença dos micro-organismos probióticos na bebida fermentada.

No teste de coloração de gram foi feito inicialmente o esfregaço, o qual compreende uma camada muito fina de amostra sobre uma lâmina de vidro. A mesma foi seca ao ar, e sua fixação na lâmina foi realizada algumas vezes pelo calor presente na chama do bico de Bunsen, com a intenção de imobilizar as células ali presentes, tendo em vista sua melhor visualização ao microscópio. Por se tratarem de amostras líquidas, no presente estudo realizou-se a desinfecção do local com álcool 70% e retirou-se uma alçada de amostra com alça de platina previamente estéril. Colocou-se essa amostra na região central da lâmina. Espalhou-se uniformemente a amostra no centro da lâmina. Aguardou-se a secagem do esfregaço em contato com o ar. Passou-se a lâmina, com o lado do esfregaço virado para cima, três vezes sobre o calor da chama do bico de Bunsen. Com o esfregaço já elaborado, realizou-se a adição de corantes conforme descrito abaixo:

- cobriu-se o mesmo com cristal violeta por dois minutos;
- escorreu-se o corante;
- cobriu-se o esfregaço com lugol por um minuto;
- escorreu-se o corante e lavou-se em água corrente (baixa pressão);
- lavou-se com álcool visando à retirada do corante;
- lavou-se em água corrente;
- cobriu-se o esfregaço com fucsina por 30s;
- lavou-se em água corrente novamente;
- aguardou-se a secagem;
- adicionou-se uma gota de óleo de imersão sobre o esfregaço.

Após a fixação dos corantes necessários, realizou-se a observação em microscópio com objetiva de imersão e classificou-se, conforme visualização, como sendo gram-positivos ou gram-negativos (CARVALHO, 2007).

Para o teste da catalase, seguiu-se metodologia de Speck (1984), sendo as culturas semeadas por meio de estrias no ágar MRS inclinado. Após incubação, a 37 °C por 48 horas, realizou-se o teste adicionando-se, sobre as colônias, 1 mL de peróxido de hidrogênio a 3,5%, observando-se a formação de bolhas, que caracterizam resultado positivo.

4.5.4 Otimização dos tempos de incubação e temperaturas descritas no método de enumeração de bactérias lácticas

A premissa do presente trabalho foi otimizar o processo de contagem de bactérias lácticas, em função de duas variáveis independentes (temperatura e tempo de incubação), tendo como resposta a quantidade de bactérias lácticas totais. Para isso, foi conduzido um experimento avaliando o ágar MRS (Himedia) que é um dos meios de cultura comumente utilizado na contagem e enumeração de bactérias lácticas, em cinco diferentes temperaturas de incubação (30, 32, 37, 42 e 44 °C) e cinco diferentes períodos de incubação (29,7, 35, 48, 61 e 66h), com objetivo de verificar qual é a melhor condição que proporciona o maior número de bactérias lácticas, seguindo-se o planejamento fatorial completo (com 11 experimentos) mostrado na Tabela 10, a partir do tratamento com melhor desenvolvimento de bactérias lácticas totais, no modo convencional de análise já realizado.

4.6 Análise sensorial

A avaliação sensorial dos produtos desenvolvidos no presente trabalho foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, sob o

parecer de número 871669 de 12/11/2014, conforme consta no Ofício CEP/FCF/72/2009 (ANEXO A). Nos Apêndices A e B estão inclusos, respectivamente, o modelo da ficha para o teste de aceitação e o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), aprovados e utilizados.

A avaliação sensorial dos produtos estudados foi realizada no Laboratório de Análise Sensorial da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, *campus* de Medianeira - PR, em quatro etapas, após os testes físico-químicos e microbiológicos já citados, afim de garantir a segurança dos julgadores. Foi realizado o teste de aceitabilidade, utilizando-se a escala hedônica de nove pontos (FARIA; YOTSUYANAGI, 2002), com variação de desgostei muitíssimo (1 ponto) à gostei muitíssimo (9 pontos), utilizando-se para codificação das amostras a tabela de números aleatórios, de acordo com Ferreira *et al.* (2000). Para este teste, foram utilizados 120 julgadores não treinados do quadro de docentes e discentes com idade entre 19 e 50 anos, do Curso Superior de Tecnologia em Alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), *campus* de Medianeira - PR. A interpretação estatística do teste foi realizada pela análise de variância (ANOVA), com teste de comparação de médias pelo teste de Tukey, ao nível de 5 % de significância (BARBETTA, 2002). O índice de aceitabilidade foi calculado segundo Monteiro (1984).

As análises tiveram em vista a comparação dos diferentes percentuais de extrato de soja e farinha de banana verde dos tratamentos, visando uma possível comercialização de produtos similares no comércio e a segurança dos provadores.

Para a avaliação sensorial, amostras de aproximadamente 20 g das diferentes formulações supracitadas, codificadas com 3 algarismos, aleatoriamente, foram oferecidas aos julgadores, em um total de 4 sessões. As amostras foram servidas em copos plásticos devidamente higienizados. Cada formulação foi apresentada a 120 provadores não treinados em cada período nas cabines individuais presentes no laboratório (Figura 9).



Figura 9 Cabine sensorial no momento da aplicação do teste de aceitabilidade.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Análises físico-químicas

5.1.1 Composição centesimal da farinha de banana

Os resultados das análises físico-químicas da farinha de banana utilizada nas formulações estão apresentados na Tabela 11.

Tabela 11 Resultado das determinações físico-químicas da farinha de banana utilizada

Parâmetros	Valores
Umidade*	4,18± 0,22
Cinzas*	2,11± 0,08
Proteínas*	4,23± 0,20
Lipídios*	0,60± 0,10
Fibras*	17,3± 0,17

Nota: *Referente a três repetições.

A composição centesimal da farinha de banana, utilizada no presente estudo, apresentou um baixo teor médio de umidade, tendo como resultado 4,18%, favorecendo o aumento da vida de prateleira deste produto, tanto nos quesitos físico-químicos como microbiológicos. Fasolin *et al.* (2007) obtiveram 7,55% para a análise do teor de umidade. Segundo a ANVISA (1978a), o teor de umidade recomendado para farinhas panificáveis deve ser inferior ao valor de 15 g.100 g⁻¹. O valor encontrado no presente estudo, apresentou-se dentro deste parâmetro.

Estudando a obtenção de farinhas de banana verde e utilizando-se processos de liofilização e secagem em tambor rotativo, microondas e secador de bandejas, os pesquisadores Pacheco-Delahaye *et al.* (2008) obtiveram farinhas com teores de umidade de 2,36, 5,46, 6,73 e 11,75%, respectivamente. Para esses autores, as farinhas com teor de umidade inferior a 20%, na prática, já são consideradas estáveis durante a vida de prateleira. As diferenças significativas no percentual de umidade das farinhas destes pesquisadores podem ser explicadas pela possível diferença na composição das bananas dos diferentes cachos utilizados como matéria-prima, tendo em vista que os mesmos tenham sido cultivados em diferentes áreas de plantio e colhidos em épocas diferentes também.

Medeiros *et al.* (2010), no estudo do processo de obtenção e caracterização da farinha de banana verde, encontraram 2,27% de cinzas e 3,87% de proteínas. Moraes Neto *et al.* (1998) obtiveram 3,2% de teor de proteína e 4,1% para as cinzas da farinha de banana verde,

enquanto Fasolin *et al.* (2007) obtiveram 4,54% e 2,62%, respectivamente. Quanto ao teor de cinzas, o valor médio encontrado no presente trabalho foi de 2,11%, valor este similar ao encontrado por Torres *et al.* (2005), de 2% para a cultivar nanicão.

Para o valor do teor de lipídios presentes na farinha de banana, a análise indicou um baixo teor de 0,60%, próximo ao valor encontrado por Torres *et al.* (2005): 0,53%, quando estudaram a farinha de banana do tipo extrusada, enquanto Fasolin *et al.* (2007) obtiveram o valor de 1,89%, valor este superior ao encontrado no presente estudo, possivelmente devido ao diferente tipo de banana utilizada no processo. Lii, Chang e Young (1982), em seus estudos acerca da mudança na composição das bananas durante o período amadurecimento, também analisaram a polpa da banana verde e madura, variedade Taiwan (crua), e obtiveram o valor de 0,78% de lipídeos para a banana verde e 0,68% para a banana madura, teor aproximado de 0,88%, também demonstrado por Medeiros *et al.* (2010). Segundo Medeiros *et al.* (2010), a banana é uma ótima fonte de potássio e outros minerais, além de ser rica também em amido e carboidratos, entretanto, apresenta baixo teor de gorduras e proteínas.

Neste estudo, o teor de fibra alimentar da farinha de banana verde encontrado foi de 17,3%. Pinheiro (2007), em seu experimento com farinha da casca do maracujá amarelo (base seca), encontrou 57,36%, sendo este valor superior ao encontrado no presente estudo. Por outro lado, os resultados de Núcleo de Pesquisas em Alimentação - NEPA (2006) foram de 1,9% para a banana tipo nanica e 2,0% para banana ouro, bem como ao valor de fibra alimentar total encontrado por Da Mota *et al.* (2000) para a cultivar Musa acuminata, subgrupo Cavendish (6,53% base seca). Na definição utilizada pela FAO/WHO (2006), as fibras alimentares são consideradas como carboidratos com grau de polimerização igual ou superior a 3 (não inclui mono e dissacarídeos), não digeridos e nem absorvidos no intestino delgado humano. Logo, consistem de carboidratos comestíveis que estão presentes nos alimentos *in natura*, de carboidratos de matéria-prima alimentícia, obtida a partir de meios físicos, enzimáticos ou químicos e dos carboidratos sintéticos (ORMENESE, 2010).

A farinha de banana verde representa uma fonte concentrada de carboidratos não disponíveis, correspondendo a 71% de fibra alimentar total, amido resistente e frutanos, base seca (USP, 1998), o qual é considerado rica fonte de Fibra alimentar total. Dessa forma, o alto conteúdo de carboidratos não disponíveis e presentes na farinha de banana verde, representados pelo Amido resistente e Fibra alimentar total, possibilita sua utilização para suprir as recomendações diárias de Fibra alimentar total e, ao mesmo tempo, sinaliza o potencial deste ingrediente para promover o desenvolvimento de micro-organismos benéficos à saúde intestinal humana.

Segundo Haralampu (2000), as fibras agem com o amido resistente presente na farinha de banana, servindo de substrato para o crescimento de micro-organismos probióticos, atuando neste caso como potencial agente prebiótico, melhorando o compromisso do presente estudo com relação à ingestão e à manutenção de micro-organismos probióticos ao

ser humano, com o consumo das bebidas fermentadas a partir da soja. A metabolização das fibras pelos micro-organismos via fermentação, resulta na produção de ácidos graxos de cadeia curta, como acetato, propionato e butirato; gases carbônico e hidrogênio e, em alguns indivíduos, metano; e diminuição do pH do cólon. A maioria destes compostos agem na prevenção de doenças inflamatórias do intestino, além de auxiliarem na manutenção da integridade do epitélio intestinal.

5.2 Composição centesimal do extrato hidrossolúvel de soja

Os resultados das análises físico-químicas do extrato hidrossolúvel de soja em pó utilizado nas formulações, estão demonstrados na Tabela 12.

Tabela 12 Valores médios da composição centesimal (%) do extrato hidrossolúvel de soja em pó

Parâmetros	Valores*	Unidade
Umidade*	5,5± 0,30	%
Cinzas*	5,8± 0,20	%
Proteínas*	46± 0,50	%
Lipídios*	18,5± 0,30	%
Fibras*	2,5± 0,20	%

Nota: *Referente a três repetições.

No estudo de comparação da composição de algumas diferentes cultivares utilizadas para a obtenção de farinhas de soja, os teores de cinzas encontrados no presente estudo foram semelhantes aos resultados apresentados por Bavia *et al.* (2012) e Seibel *et al.* (2013) que, em seus trabalhos, citam valores semelhantes para a cultivar BRS 257 (6,33 g.100g⁻¹ e 6,60 g.100g⁻¹, respectivamente) e de 5,66 g.100g⁻¹ e 6,35 g.100g⁻¹ para outras cultivares, tendo os valores de 4,45 g.100g⁻¹ e 6,45 g.100g⁻¹ para Seibel *et al.* (2013).

O valor proteico do extrato hidrossolúvel de soja em pó utilizado no presente estudo atende ao regulamento técnico para produtos proteicos de origem vegetal da ANVISA RDC-n. 268, de 22 de setembro de 2005, que prevê um valor mínimo de 40% (g/100g) de proteína para o extrato de soja em pó (ANVISA, 2005).

A soja é uma excelente fonte de proteínas de alto valor nutricional, porém, embora seja uma das melhores fontes proteicas de origem vegetal, é inferior aos produtos de origem animal, por apresentar deficiência em aminoácidos sulfurados, sendo a metionina o aminoácido limitante (MENDONÇA, 2006). Além da elevada quantidade e qualidade proteica, dentre os demais vegetais, comprovada pela análise demonstrada na Tabela 12, a soja é importante fonte de outros compostos, como fibras, isoflavonas e oligossacarídeos com

potencial prebiótico (rafinose e estaquiose) (FUCHS *et al.*, 2005; HAULY; FUCHS; FERREIRA, 2005), que contribuem para o aumento da multiplicação dos micro-organismos probióticos utilizados nas formulações do presente trabalho.

Os valores apresentados na Tabela 13 são semelhantes aos encontrados no grão de soja, que possui entre 38 a 40% de proteínas, 19 a 20% de lipídios, 5% de minerais e 23 a 34% de carboidratos. (EMBRAPA, 2013).

Seibel *et al.* (2013) encontraram resultados de percentual proteico semelhantes (41,08% para a cultivar BRS 216, 41,66% para a cultivar BRS 257 e 39,41% para a BRS 267), enquanto Bavia *et al.* (2012) apresentaram valores inferiores ao do presente estudo (36,81% para BRS 216, 36,43% para BRS 257 e 36,69% para BRS 267), devido à utilização de diferentes cultivares de soja.

Em relação aos lipídios, o resultado alcançado no presente estudo ficou abaixo dos obtidos por Bavia *et al.* (2012), que encontraram valores maiores para todas as cultivares utilizadas: (21,98% - BRS 216; 22,90% - BRS 257; 23,94% - BRS 267). Valor abaixo também do resultado encontrado por Silva *et al.* (2012b), de 25,60 g.100g⁻¹, ao analisarem a farinha integral de soja da cultivar BRS 232, antes e depois do processo de fermentação, respectivamente. Todavia, os resultados do presente estudo estão mais próximos aos relatados por Jackson *et al.* (2006): de 39,0% para as proteínas, 21,7% para os componentes lipídicos e 5,4% para os minerais. Segundo Bowles e Demiate (2006), a diferença entre os resultados pode estar relacionada com a taxa e formas de extração, o que resulta diretamente na concentração dos compostos contidos no extrato, fato este que explica a diferença encontrada em alguns estudos.

O valor de fibras encontrados no presente estudo (2,5%) foi maior que o descrito por USDA (2011), na comparação que fez entre Extrato de soja e Leite de Vaca, alcançando o valor de 0,6%. Segundo Lazzari (2006), o teor dos compostos é bastante variável, sofrendo influência de fatores tais como tipo de cultivar, época do plantio, localização geográfica e estresse ambiental.

Na Tabela 13 está expressa a informação nutricional presente no rótulo da embalagem do extrato de soja utilizado no presente estudo.

Tabela 13 Valores da composição centesimal (%) do extrato hidrossolúvel de soja em pó

Informação Nutricional de porção de 30 g			VD*
Valor energético	141 Kcal = 592 KJ		7%
Carboidratos	7,8%		3%
Proteínas	11 g		15%
Gorduras Totais	7,0 g		13%
Gorduras saturadas	1,4 g		6%
Gorduras trans	0 g		**
Fibra alimentar	0,7 g		3%
Sódio	18 mg		1%

Nota: * Valores diários de referência, com base em uma dieta de 2.500 calorias.

As análises do extrato hidrossolúvel de soja (Tabela 12) demonstram que os valores informados pelo fabricante (Tabela 13) são diferentes dos resultados obtidos. O conteúdo real de fibra alimentar, por exemplo, é de 2,5%, frente a 0,7% informado em sua embalagem.

5.3 Evolução dos parâmetros de acidez e pH durante a fermentação da bebida

Na Tabela 14 estão demonstrados os parâmetros de acidez (em graus Dornic) e pH, quantificados desde o início da fermentação ao seu final.

As 12 formulações apresentaram um desenvolvimento satisfatório da fermentação durante a incubação, feita em fermenteira de aço inox (Tabela 13), atingindo uma faixa de pH entre 4,61 e 4,39, em um período de tempo que variou de 9 a 7 horas e 30 minutos. A variação de tempo pode estar associada ao diferente percentual de sólidos totais presentes em cada formulação, evidenciado na diferença significativa ($p < 0,05$) de abaixamento de pH ocorrida nas formulações com maior percentual de sólidos. Todavia, ocorreu menores reduções no pH final quando o produto fora adicionado com 12% de extrato hidrossolúvel de soja e/ou 4% de farinha de banana verde em pó. O pH inicial em cada tratamento, antes de iniciar o processo de fermentação apresentou pequena variação, ocasionado pelo diferente teor de sólidos presentes nestes (extrato de soja e farinha de banana), ou seja, um comportamento esperado, causando diferença na leitura do pHmetro durante a análise.

Tabela 14 Valores referentes ao tempo, à acidez ($^{\circ}$ Dornic) e ao pH, durante a fermentação da bebida

Tratamento	Tempo de fermentação (h)	pH inicial*	pH final*	Acidez ($^{\circ}$ D)*
1	8	6,606 $\pm$ 0,00 ^a	4,563 $\pm$ 0,00 ^{ga}	61 $\pm$ 0,00
2	8	6,603 $\pm$ 0,00 ^{ab}	4,613 $\pm$ 0,00 ^{bi}	64 $\pm$ 0,00
3	8	6,633 $\pm$ 0,00 ^{ec}	4,58 $\pm$ 0,000 ^{ch}	66 $\pm$ 0,00
4	7:30	6,65 $\pm$ 0,00 ^f	4,493 $\pm$ 0,00 ^{df}	65 $\pm$ 0,00
5	7:30	6,70 $\pm$ 0,00 ^{eb}	4,463 $\pm$ 0,00 ^e	62 $\pm$ 0,00
6	7:30	6,706 $\pm$ 0,00 ^{fb}	4,433 $\pm$ 0,00 ^{df}	66 $\pm$ 0,00
7	7	6,726 $\pm$ 0,00 ^g	4,403 $\pm$ 0,00 ^{cg}	67 $\pm$ 0,00
8	7	6,773 $\pm$ 0,00 ^h	4,39 $\pm$ 0,00 ^{bh}	62 $\pm$ 0,00
9	8	6,80 $\pm$ 0,00 ^c	4,65 $\pm$ 0,00 ^{ij}	61 $\pm$ 0,00
10	8:30	6,806 $\pm$ 0,00 ^c	4,68 $\pm$ 0,00 ^{jl}	63 $\pm$ 0,00
11	9	6,836 $\pm$ 0,00 ^d	4,77 $\pm$ 0,00 ^{la}	64 $\pm$ 0,00
12	9	6,84 $\pm$ 0,00 ^d	4,76 $\pm$ 0,00 ^a	60 $\pm$ 0,00

Notas: *Referente a três repetições.

Teste de Tukey realizado entre os 12 tratamentos do pH inicial, sem correlação com pH final.

Letras iguais indicam valores com medias estatísticas semelhantes ($p < 5\%$).

A redução nos valores de pH após o processo de fermentação é comum em bebidas e outros produtos lácteos e não-lácteos fermentados, o que reflete a produção contínua de ácido láctico e de outros ácidos orgânicos, durante o processo de fermentação da lactose pelas culturas *starter* e probióticas utilizadas (WANG *et al.*, 2009).

Os valores de pH (4,61 a 4,39) alcançados neste estudo, estão dentro de uma faixa que, segundo Liu *et al.* (2006) confere homeostase aos micro-organismos lactobacilos e bifidobactérias presentes na cultura utilizada para a fermentação, além de combater micro-organismos patogênicos, tais como clostrídios, salmonelas e bactérias deteriorantes, limitando o desenvolvimento destes no meio. Dessa forma, a redução do pH nas bebidas tornou-se um fator importante para a conservação do produto desenvolvido neste trabalho, uma vez que este não foi adicionado de conservantes.

Segundo o regulamento técnico de identidade e qualidade de leites fermentados, utilizado como parâmetro neste estudo (BRASIL, 2007), o leite fermentado ou cultivado deve apresentar acidez (g de ácido láctico/100g) de 0,6 a 2,0, ao final do processo de fermentação. Todos os tratamentos do presente estudo finalizaram a fermentação cumprindo a exigência deste regulamento, visto que atualmente não há no Brasil uma legislação própria para bebidas fermentadas exclusivamente com a soja, e a análise de acidez titulável é influenciada pelos teores de sólidos contidos em cada tipo de tratamento.

Todas as formulações elaboradas apresentaram um tempo de fermentação superior ao do iogurte comercial, o qual utiliza leite bovino na sua elaboração, e levemente superior ao de alguns fermentados à base de extrato hidrossolúvel de soja, nos quais se utilizam fermento exclusivo para iogurte, pois nestes casos, apresentam obrigatoriamente segundo a legislação

atual de leites fermentados (BRASIL, 2007), cultivos protosimbióticos de *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* somente, cujos micro-organismos possuem metabolismo de fermentação mais rápidos que o fermento utilizado no presente estudo, o que diminui também o tempo de fermentação total. Dessa forma, tanto o extrato hidrossolúvel de soja quanto o fermento utilizado neste estudo, mesmo apresentando o mesmo micro-organismo, considerado *starter* nestes tipos de processo - *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus*, foram os responsáveis pelo aumento do tempo de fermentação em todos os tratamentos.

Além do micro-organismo já citado, fazem parte do fermento utilizado: *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium sp.* Segundo Chandan, Kilara e Shah (2008), por causa do menor teor de peptídeos e aminoácidos disponíveis na soja, o *Lb. acidophilus* tende a se multiplicar lentamente neste meio, mesmo sabendo-se que utiliza a sacarose de forma mais eficaz do que a lactose presente no leite em seus processos metabólicos.

Todavia, do ponto de vista prático, pode-se afirmar que a elevação ocorrida no tempo de fermentação observada neste estudo, não inviabiliza o processo de adição de percentuais de farinha de banana e/ou aumento de extrato hidrossolúvel de soja utilizado nas formulações, uma vez que 9 horas não excedem significativamente o tempo habitual verificado nos processos industriais convencionais, em que a soja é utilizada para a fermentação no lugar do leite bovino convencional.

Segundo Sá *et al.* (2007), na produção de iogurte utilizando leite de vaca, com o aumento da acidez ao longo do processo, o pH final fica próximo de 4,6 (ponto isoelétrico da proteína do leite) e o ácido láctico contribui para a desestabilização da micela de caseína, provocando a coagulação do leite e resultando em uma concentração de ácido láctico de 0,9%, equivalente a 90º Dornic. Os valores já mencionados estão de acordo com os resultados das análises do presente estudo, citados na Tabela 15. Ainda segundo Sá *et al.* (2007), o gel formado deve ser liso, brilhante, sem desprendimento grande de soro ou formação de gases.

Embora os 12 tratamentos em estudo tenham utilizado somente o extrato hidrossolúvel de soja, a Figura 10 denota o comportamento do gel formado, demonstrando estar próximo ao citado pelo referido autor, em que a maioria das cadeias proteicas estão visivelmente ligadas à água, pois não ocorreu sinérese.

A solubilidade das proteínas depende de vários fatores. Dentre estes, destaca-se a presença das cargas elétricas ao longo da molécula. A existência de uma carga positiva ou negativa determina a sua interação com o meio aquoso ao redor, além de estabelecer um estado de repulsão entre as próprias moléculas de proteína do meio, aumentando a interação com o solvente e, conseqüentemente, favorecendo a solubilidade. No ponto isoelétrico existe um equilíbrio entre o número de cargas positivas e negativas, o que gera uma situação em que as forças de repulsão entre as moléculas de proteína e as forças de interação com o solvente são mínimas. Assim, as proteínas vão formando aglomerados que, cada vez

maiores, tendem a precipitar, como demonstra a Figura 10, onde se visualiza um coágulo formado e muito pouca água livre ao redor, pois, as proteínas e os derivados proteicos de soja contribuem tecnologicamente com relação a ter boa propriedade hidrofílica, influenciada pela maior ou menor afinidade das moléculas de proteína pela água presente no alimento, podendo serem destacadas como benéficas, assim, a solubilidade, a capacidade de retenção de água e a viscosidade na formação do iogurte de soja, neste caso.

Para Torrezan e Cristianini (2005), os tipos de interações proteína-proteína e proteína-água, diferem conforme as preparações de proteína de soja. Segundo estes autores, a fração 11S possui melhor habilidade para a formação do gel, principalmente quando a subunidade A5A4B3 está ausente do processo. Todavia, a fração 7S demonstra possuir capacidade de formar melhor emulsão e de mantê-la estável no meio. Neste caso, ambas as frações 7S e 11S formam gel quando sofrem aquecimento. A fração 11S necessita passar por tratamento térmico mais rígido, afim de provocar certa desnaturação, do que a fração 7S para a formação do referido gel. O gel formado pela fração 11S é mais rígido do que aquele formado pela fração 7S, possuindo maior capacidade de retenção de água. Segundo Rocha *et al.* (2014), o ponto isoelétrico (PI) da proteína de soja ocorre em pH 4,5, sendo este um valor de pH próximo aos encontrados nos tratamentos do presente estudo no final da fermentação, onde a solubilidade das proteínas é mínima, justificando o porquê ocorre pequena liberação de água, conforme denota a Figura 10, após a fermentação.



Figura 10 Formação do coágulo dos tratamentos 2 e 3, após o processo de fermentação.

Segundo a legislação vigente (BRASIL, 2007), entende-se por leite fermentado ou cultivado o produto incluído na definição de iogurte cuja fermentação se realiza com um ou vários dos seguintes cultivos: *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Bifidobacterium* ssp, *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* e/ou outras bactérias ácido lácticas que, por sua atividade, contribuem para a determinação das características do produto final. Desta forma, o fermento utilizado no presente estudo, se associado ao leite bovino para fermentação

ao invés do extrato hidrossolúvel de soja, como foi utilizado no presente estudo, classificaria o produto final obtido como leite fermentado ou cultivado.

Martins *et al.* (2013), em seu estudo acerca do perfil físico-químico e reológico de iogurte, elaborado com extrato hidrossolúvel de soja, obteve o tempo total para o processo de fermentação de seis horas e um produto final com pH de 4,45. Nesse caso, o fermento utilizado foi aquele específico para a fabricação de iogurtes, segundo a legislação vigente (BRASIL, 2007), que realmente requer menor tempo para a formação do coágulo final, como explicado anteriormente. Entretanto, para o referido autor, a acidez total titulável foi de 0,55 g ácido láctico/100 g, porém, quando comparado ao presente estudo, os referidos valores em ácido láctico alcançados aqui foram maiores, cumprindo o regulamento quanto ao valor mínimo necessário para leites fermentados, que é de 60º Dornic, refletindo assim maior segurança do produto final elaborado na pesquisa, além da possibilidade de maior tempo de estocagem do produto frente a uma possível contaminação por micro-organismos indesejáveis.

Em seus estudos, Miguel *et al.* (2010), avaliando os quesitos físico-químicos da produção de iogurte com extrato de soja desengordurado ao nível de 5,5% (m/l) enriquecido com cálcio, obtiveram, após seis horas e trinta minutos, o nível desejado de pH em 4,70, aproximadamente.

Segundo Fuchs *et al.* (2005), o tempo de fermentação, bem como os resultados de acidez e pH após o referido processo, podem ser melhorados com a adição de ingredientes derivados do leite ou gelatina por exemplo, pois o “iogurte” de soja apresenta características diferenciadas quando comparado ao iogurte lácteo, no que se refere à acidez láctica, em função do extrato de soja, segundo ele, não ser totalmente adequado para esta fermentação. Tal afirmação justifica os menores tempos de fermentação encontrados, quando foi aumentada a concentração de extrato hidrossolúvel de soja e adicionada a farinha de banana na elaboração do iogurte (tratamentos 4-8), bem como elevação da taxa de acidez e abaixamento do pH. Esse fato demonstra que maiores quantidades de sólidos, adicionados antes da fermentação, tanto de soja como de farinha de banana, que apresentam carboidratos indigeríveis utilizados pelos micro-organismos, são responsáveis pelo menor tempo de fermentação alcançado, e maior produção de ácido láctico neste estudo.

Todavia, quando foram utilizados valores ainda maiores para a soja e farinha de banana, nos quatro últimos tratamentos, estes não estimularam um melhor tempo de fermentação ou maior produção de acidez total. Tal fato pode estar associado a maior presença de taninos, sendo que estes, segundo Mello e Santos (2002) possuem mecanismos de ação antimicrobiana, destacando-se a inibição de enzimas, a modificação do metabolismo celular pela atuação nas membranas e a complexação com íons metálicos com consequente diminuição da sua disponibilidade para o metabolismo dos micro-organismos. Os taninos são encontrados em uma grande variedade de vegetais, como por exemplo, nas raízes, na casca, nas folhas, nos frutos, nas sementes e na seiva (AGUILAR; GUTIÉRREZ, 2001). Estudos de

toxicidade dos taninos em relação a micro-organismos têm envolvido várias áreas de pesquisa como: farmacologia, nutrição etc. No geral, a toxicidade dos taninos adicionados em experimentos de laboratório é estimada pela medida da redução do crescimento do micélio de micro-organismos como os fungos, cultivados em placas de Petri, ou por métodos de contagem de placas quando se investiga seu efeito tóxico sobre bactérias (BANERJEE; KAR, 2000).

Logo, a presença dos taninos na bebida fermentada do presente estudo, pode ter influenciado negativamente na multiplicação dos micro-organismos fermentadores, o que resultou em baixa produção de metabólitos (ácido láctico) no meio, e num maior tempo para finalizar o processo de fermentação.

5.4 Evolução dos parâmetros de acidez e pH durante a estocagem do produto final

Na Tabela 15 estão apresentados os resultados de pH e acidez titulável das 12 formulações de bebidas fermentadas de soja, durante o tempo de armazenamento.

Apesar das bebidas fermentadas de soja terem sido refrigeradas em câmara de estocagem a 5 °C, quando atingida a acidez titulável, após a fermentação no valor mínimo exigido para leites fermentados, segundo a legislação vigente (BRASIL, 2007), os valores de pH encontrados nos 12 tratamentos, variaram entre 4,39 e 4,77 no primeiro dia de estocagem, pois não há, segundo a referida legislação, um valor específico quanto ao pH para este produto.

Segundo Thamer e Penna (2006), a fermentação continua muito lentamente durante o resfriamento da bebida, assim, iniciando-se o resfriamento em pH igual a 4,8, evita-se o abaixamento excessivo do pH, fato este que ocorreu também durante o armazenamento nos 12 tratamentos deste estudo, ao longo dos trinta e cinco dias de estocagem.

Estudos têm demonstrado que maior pós-acidificação ocorre, geralmente, no final da primeira semana de fabricação da bebida fermentada, devido ao consumo, pelas bactérias lácticas, do açúcar presente nesta, resultando na produção de ácido láctico e alta atividade metabólica das mesmas a pH ainda mais elevados. Segundo Machado (2007), a produção de ácido láctico pela cultura mista utilizada no presente estudo, confere características sensoriais agradáveis à “bebida fermentada”, devido à menor acidificação e pós-acidificação, durante o armazenamento do mesmo, além de inibir o crescimento de bactérias gram negativas, responsáveis pela deterioração do produto.

Tabela 15 Valores referentes à acidez e pH durante a estocagem das formulações

		Tempo (em dias)					
Tratamento		Início	7	14	21	28	35
1	Acidez* (°Dornic)	61±00	64±00	69±00	73±00	76±00	78±00
	pH*	4,56±0,01	4,44±0,02	4,39±0,01	4,32±0,01	4,26±0,01	4,23±0
2	Acidez* (°Dornic)	64±00	68±00	72±00	77±00	79±00	80±00
	pH*	4,61±0,01	4,55±0,01	4,48±0,01	4,49±0,01	4,42±0,01	4,41±0,01
3	Acidez* (°Dornic)	66±00	72±00	75±00	77±00	80±00	82±00
	pH*	4,58±00	4,48±0,01	4,43±0,01	4,41±00	4,36±0,01	4,34±00
4	Acidez* (°Dornic)	65±00	69±00	73±00	76±00	79±00	80±00
	pH*	4,49±0,01	4,41±0,01	4,34±0,01	4,32±0,01	4,28±0,01	4,23±00
5	Acidez* (°Dornic)	62±00	66±00	72±00	76±00	79±00	82±00
	pH*	4,46±0,01	4,38±0,01	4,31±00	4,31±0,01	4,27±00	4,27±00
6	Acidez* (°Dornic)	66±00	69±00	73±00	79±00	83±00	85±00
	pH*	4,43±0,01	4,38±0,01	4,30±0,01	4,28±0,01	4,25±0,01	4,22±0,01
7	Acidez* (°Dornic)	67±00	72±00	76±00	79±00	84±00	85±00
	pH*	4,40±0,01	4,32±0,01	4,26±0,01	4,25±0,01	4,22±0,01	4,20±0
8	Acidez* (°Dornic)	62±00	66±00	71±00	73±00	75±00	76±00
	pH*	4,39±00	4,31±0,01	4,24±0,01	4,21±0,01	4,19±0,01	4,19±00
9	Acidez* (°Dornic)	61±00	65±00	70±00	73±00	75±00	77±00
	pH*	4,65±00	4,60±0,01	4,57±00	4,53±0,01	4,47±00	4,46±0,01
10	Acidez* (°Dornic)	63±00	65±00	69±00	72±00	74±00	75±00
	pH*	4,68±00	4,61±0,01	4,59±00	4,56±0,01	4,53±00	4,51±00
11	Acidez* (°Dornic)	64±00	67±00	70±00	73±00	75±00	77±00
	pH*	4,77±00	4,73±0,01	4,70±00	4,68±00	4,65±0,01	4,65±00
12	Acidez* (°Dornic)	60±00	64±00	67±00	71±00	73±00	74±00
	pH*	4,76±00	4,72±00	4,68±00	4,65±0,01	4,61±0,01	4,60±00

Nota: *Referente a três repetições.

Segundo Machado *et al.* (2005), bebidas com teor de sólidos solúveis menores que 6,5% apresentam menor acidez após a fermentação e durante o processo de estocagem. O teor de extrato de soja utilizado nos quatro primeiros tratamentos do presente estudo foi de 8%, sendo que nesse caso, ocorreu a menor pós-acidificação do estudo, concordando com os dados dos referidos autores. O valor médio de pH obtido entre os tratamentos foi de 4,46, no primeiro dia após a fermentação. Em trabalhos que envolvem a fermentação da soja, valores semelhantes a esse ou um pouco acima foram encontrados. Estudos utilizando iogurtes de soja em diferentes formulações, obtiveram valores de pH entre 4,4 e 4,8. O valor de pH referência adotado por Fuchs *et al.* (2005), por exemplo, em seu estudo com iogurte de

soja suplementado com inulina e oligofrutose, foi de 4,6, sendo este um valor próximo também aos obtidos no presente estudo.

A redução nos valores de pH é comum em queijos e em outros produtos lácteos e não-lácteos fermentados, o que reflete a produção contínua de ácido lático e de outros ácidos orgânicos durante a fermentação da lactose e outros carboidratos pelas culturas *starter* e probióticas (WANG *et al.*, 2009), como acontecerá no presente estudo, utilizando a soja.

Vários são os fatores responsáveis pelas alterações nos valores de pH em diferentes produtos, como por exemplo: tipo e porcentagem de cultura utilizada, a atividade desta cultura, o valor de pH estabelecido para finalizar a fermentação, a quantidade de soro lácteo utilizada na elaboração das bebidas lácteas, assim como o tempo de armazenamento. Thamer e Penna (2006), ao analisarem bebidas lácteas obtidas com diferentes concentrações de soro lácteo doce, observaram que, quanto maior o teor de sólidos totais menor a acidez titulável. Segundo eles, as proteínas, citratos, fostatos e lactatos são agentes tamponantes, por isso maior quantidade de sólidos totais podem afetar a acidez, diminuindo a sua leitura exata durante a análise. No presente estudo, as 12 formulações tiveram alteração de dois dos ingredientes sólidos utilizados: o percentual de extrato hidrossolúvel de soja e a farinha de banana verde. Seguindo o pensamento destes autores supracitados, esses dois quesitos podem também ter sido responsáveis pelo aumento de acidez quando seu percentual de adição foi aumentado nas formulações, pois segundo Martinez *et al.* (2009), a quantidade de proteína da farinha de banana verde em pó é de 4,78%, e no extrato de soja em pó é de 41,08%, segundo Seibel *et al.* (2013), podendo ter afetado a titulação das amostras no momento da análise.

Farnworth *et al.* (2007), realizando estudos com bebidas fermentadas a partir de soja, observaram que, para um dado valor de acidez titulável, o pH alcançado após a fermentação é mais baixo em soja do que em leite. Consequentemente, a maior acidificação aparente reflete a menor capacidade tamponante presente na proteína de soja, quando comparada à proteína do leite. Os valores de pH iniciais alcançados no presente estudo após a fermentação, estão de acordo com a afirmação dos referidos autores, pois, os valores semelhantes à fermentação do leite de vaca somente foram alcançados mediante um leve aumento no tempo de fermentação.

Desta forma, muitas vezes a formação do coágulo, durante o processo de fermentação do extrato de soja, inoculado com as bactérias lácticas similares as utilizadas no presente estudo, também não é satisfatória, obtendo-se, na maioria das vezes, produtos com coágulos frágeis e com acentuada separação de fases. Isto pode, aparentemente, ser corrigido pela adição da gelatina ou outros sólidos, proporcionando então melhores características de textura. No presente trabalho, o pH final dos tratamentos de extrato de soja, após a fermentação, alcançou valores abaixo de 4,50, após incubação a 37 °C. Foi possível observar a formação de coágulo consistente, nessa fase do processo, em todos os tratamentos (Figura 10), em função também da adição de farinha de banana. Todavia, após 21 dias de estocagem,

os tratamentos com menor percentual de extrato de soja, bem como sem adição de farinha de banana, apresentaram leve separação de fases durante o armazenamento a 5 °C.

A legislação para leites fermentados (BRASIL, 2007) estabelece como acidez titulável mínima o valor de 0,6 g de ácido láctico/100 g para leites fermentados. Esse valor de acidez visa garantir a inibição do desenvolvimento de todos os micro-organismos patogênicos e a maioria de deteriorantes que possam sobreviver ao tratamento térmico realizado antes da fermentação, e que poderiam alterar o produto durante o armazenamento (MAZOCHI, 2009). Tendo em vista este parâmetro, todas as bebidas fermentadas de soja do presente estudo atenderam ao valor mínimo preconizado por esta, conforme se verifica na Tabela 15.

Os resultados da determinação do pH e acidez, durante o período de estocagem a 5 °C, mostram pouca variação entre os 12 tratamentos, como pode ser observado na Tabela 15, não sendo possível destacar a elaboração de algum tratamento frente a outro, quando levamos em consideração apenas a variação do quesito acidez e pH. A quantidade de ácido láctico produzido ao longo dos trinta e cinco dias de estocagem não sofreu grande alteração em sua produção, dado este que confirma os estudos de Machado *et al.* (2005), os quais afirmam que os micro-organismos contidos no fermento utilizado no presente estudo não possuem grande potencial de pós acidificação.

5.5 Composição do extrato hidrossolúvel de soja fermentado saborizado

Os valores médios de umidade, proteína, gordura, carboidratos totais, atividade de água, fibra alimentar e resíduo mineral fixo, obtidos no processamento das bebidas fermentadas, são apresentados na Tabela 16. Neste experimento, foram obtidos valores elevados de umidade nos produtos, uma vez que a quantidade de água utilizada nas formulações foi maior que 70% em todos os tratamentos.

Tabela 16 Valores referentes à análise físico-química das formulações após fermentação

Tratamentos	Parâmetros*						
	Umidade (%)	Proteína (%)	Gordura (%)	CH.Totais (%)	Atividade de água (Aw)	Fibra alimentar (g/100g)	Res. Min. Fixo (%)
1	82,78±0,11 ^a	3,07±0,07 ^{de}	1,5±0	11,97±0 ^a	0,99±0 ^a	1,62±0,01 ^h	0,71±0,01 ^a
2	81,44±0,01 ^b	3,02±0,03 ^{de}	1,3±0	13,49±0 ^b	0,99±0 ^a	1,67±0,01 ^g	0,75±0,01 ^{ab}
3	80,22±0,06 ^c	2,9±0,09 ^e	1,2±0	14,91±0 ^c	0,99±0 ^a	1,69±0,005 ^{efg}	0,77±0,02 ^{ab}
4	79,02±0,02 ^e	2,91±0,01 ^e	1±0	16,30±0 ^d	0,99±0 ^a	1,71±0,005 ^{de}	0,78±0,01 ^{ab}
5	81,09±0,14 ^b	3,58±0,24 ^{bc}	1,8±0	12,81±0 ^e	0,99±0 ^a	1,68±0,005 ^{fg}	0,74±0,01 ^{ab}
6	79,52±0,29 ^d	3,3±0,13 ^{cd}	1,6±0	14,85±0 ^f	0,99±0 ^a	1,7±0 ^{ef}	0,76±0,02 ^{ab}
7	78,16±0,14 ^f	3,17±0,07 ^{de}	1,5±0	16,40±0 ^g	0,99±0 ^a	1,72±0,005 ^d	0,77±0,02 ^{ab}
8	77,31±0,18 ^g	3,1±0,08 ^{de}	1,3±0	17,50±0 ^h	0,99±0 ^a	1,75±0,005 ^c	0,78±0,01 ^{ab}
9	79,16±0,18 ^{de}	4,23±0,03 ^a	2±0	13,83±0 ⁱ	0,99±0 ^a	1,73±0,01 ^d	0,77±0,01 ^{ab}
10	77,65±0,13 ^g	3,7±0,09 ^b	1,9±0	16,00±0 ^j	0,99±0 ^a	1,77±0,00 ^c	0,77±0,04 ^{ab}
11	76,65±0,18 ^h	3,57±0,16 ^{bc}	1,7±0	17,32±0 ^k	0,99±0 ^a	2,18±0,005 ^b	0,78±0,04 ^{ab}
12	75,72±0,17 ⁱ	3,56±0,06 ^{bc}	1,5±0	18,45±0 ^l	0,99±0 ^a	2,33±0,01 ^a	0,80±0,04 ^b

Notas: *Referente a três repetições.

Teste de Tukey realizado entre os 12 tratamentos para cada parâmetro separadamente.

Letras iguais indicam valores com medias sem diferença estatística (p<5%).

Com relação ao percentual de umidade houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre a maioria dos tratamentos, pois o percentual de umidade foi fortemente influenciado pelas diferentes quantidades de extrato de soja em pó e farinha de banana em pó, adicionados em diferentes proporções nos 12 tratamentos do estudo.

No trabalho conduzido por Martins *et al.* (2013), de iogurte elaborado com extrato hidrossolúvel de soja suplementado com 5% de inulina, o valor médio de umidade alcançado foi de 85,18%, valor acima de todos os valores médios obtidos neste trabalho, que variaram de 75,72% a 82,77%, pois os percentuais de ingredientes de base seca utilizados no presente estudo, foram maiores que os do referido autor, o qual utilizou 10% de extrato hidrossolúvel de soja acrescido de 5% de inulina, totalizando menor percentual de sólidos na formulação do seu estudo.

De acordo com Rinaldone, Campderrós e Padilla (2012), bebidas fermentadas tipo iogurte devem apresentar um teor de sólidos totais mínimo de 12 a 15 g/100 g para a obtenção de uma bebida fermentada com viscosidade e textura adequada ao consumidor. A partir disso e levando-se em conta o percentual de umidade demonstrado neste estudo, o percentual mínimo de sólidos totais em análise realizada foi superior a 17%, alcançado pelo tratamento 1, o qual, conforme já relatado, possui menor quantidade de sólidos totais.

Grandes teores de proteína e sólidos totais encontrados em bebidas fermentadas representam um importante papel nas propriedades tecnológicas do produto final, uma vez que estes parâmetros são importantes para a obtenção de melhores propriedades reológicas nas bebidas fermentadas (RINALDONE; CAMPDERRÓS; PADILLA, 2012; DAMIN *et al.*, 2009; OLIVEIRA *et al.*, 2009). Os maiores teores de sólidos totais, ou o baixo teor de umidade total presente nos tratamentos deste estudo podem ser explicados pela adição de farinha de banana verde, sacarose em pó e diferentes teores de extrato hidrossolúvel de soja nas formulações.

Thamer e Penna (2006) encontraram entre 17,07% e 17,57% de sólidos totais (82,42% a 82,93% de umidade) nos tratamentos com 50% de soro e 50% de leite bovino, no fabrico de iogurtes. Esses resultados de umidade são superiores aos dos tratamentos do presente estudo. A diferença de umidade ocorreu devido ao fato de os tratamentos do presente trabalho terem sido elaborados com extrato hidrossolúvel de soja (8, 10 e 12%), farinha de banana em pó (2,3 e 4%) e açúcar refinado (12%), possuindo, assim, maior teor de sólidos, principalmente devido ao conteúdo de carboidratos totais.

Em estudo feito por Fuchs *et al.* (2005), em que foi elaborado um “iogurte” de soja suplementado também com fibra prebiótica e polpa, o valor de umidade encontrado foi de 77,8%, próximo aos valores médios encontrados neste trabalho. A semelhança desses valores pode ser atribuída ao uso de fibra prebiótica e polpa, aumentando os sólidos dos iogurtes, conseqüentemente diminuindo a umidade, como fora feito neste, com a adição de extrato de soja e farinha de banana. Já Kolling, Lehn e Souza (2014), estudando a elaboração,

caracterização e aceitabilidade de “iogurte” de soja com adição de prebiótico, obtiveram o valor médio de 85,41% de umidade, pois, utilizaram um percentual de ingredientes sólidos totais próximo a 15%, contendo extrato de soja, polpa, fibra prebiótica e aveia.

Amaral *et al.* (2014) obtiveram 81,81% de umidade na elaboração de iogurte bovino, com adição de 5% de base seca de micélio de cogumelo *agaricus brasiliensis*. Seus estudos apresentaram notas superiores a 8, quando submetidos a testes afetivos de aceitação sensorial, o que ressalta uma melhor nota, quando o percentual de sólidos totais do iogurte é maior que os tradicionais disponíveis no mercado atualmente.

Silva (2007b) realizou etapa de fortificação do iogurte com caseinato de cálcio (2%) e obteve iogurte de composição centesimal semelhante ao presente trabalho, com 78% de umidade. Em estudo para a produção de iogurte de leite bovino, com adição de leite em pó e xarope de mangostão (BRAGA; NETO; VILHENA, 2012), houve aumento da quantidade de sólidos totais e, naturalmente, o percentual de umidade foi de apenas 76,24%. Nesse caso, o produto também foi submetido à análise sensorial e indicou que o iogurte adicionado de polpa de mangostão apresentou maior aceitabilidade (88,83%) e índice de aceitação (7,95) frente ao produto com maior índice de umidade, denotando que formulações de iogurte com menor teor de umidade e maior quantidade de sólidos totais apresentam melhor aceitação sensorial pelo consumidor final.

A bebida fermentada com 8% de extrato hidrossolúvel de soja e sem adição de farinha de banana (Tratamento 1) foi a que apresentou a maior retenção de umidade, consequentemente, com menor evaporação/perda de água, comparado aos demais tratamentos. A propriedade de absorção e de retenção de água, característica da proteína da soja, depende da afinidade da proteína pela água e pode ser influenciada, nos derivados da soja, pela forma de obtenção. De acordo com Martins *et al.* (2013), numerosos tratamentos podem desnaturar as proteínas da soja. Essa desnaturação proteica pode resultar em dissociação e desdobramento das moléculas, chegando à superfície as ligações peptídicas e de cadeias laterais polares antes inativas, que melhoram a absorção de água.

Observou-se, neste estudo, que, embora tenha sido empregado tratamento térmico antes do processo de fermentação, à medida que se aumentou a concentração de extrato hidrossolúvel de soja e farinha de banana verde nas bebidas fermentadas, a umidade diminuiu, ou seja, as bebidas com maior concentração de proteínas do extrato hidrossolúvel de soja não foram capazes de reter mais umidade e a água foi perdida para o ambiente. A Instrução Normativa n° 46, de 23 de outubro de 2007, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, utilizada como parâmetro de referência neste estudo, não contempla valores de umidade para iogurtes (BRASIL, 2007).

Conforme demonstrado na Tabela 16, os valores médios obtidos para proteína variaram de 2,9 a 3,57%. Segundo o regulamento técnico de identidade e qualidade de leites fermentados vigente (BRASIL, 2007), o iogurte de leite de vaca é classificado com relação ao

teor de gordura de diferentes formas, mas deve apresentar, em todos os casos, no mínimo 2,9% de proteínas lácteas.

A comparação dos resultados obtidos neste trabalho para o teor de proteína frente aos exigidos para o iogurte, mostrou que para este parâmetro o produto encontra-se dentro dos padrões, já que não existe ainda legislação para produtos fermentados derivados exclusivamente de extrato hidrossolúvel de soja (TABELA 17). Os teores médios de proteínas das 12 formulações apresentaram pouca diferença estatística ($p\text{-valor} \leq 0,05$). (Isto pode ser devido aos ingredientes como o extrato hidrossolúvel de soja em pó e farinha de banana verde em pó), não conterem grande percentual de proteína em sua composição físico-química (UNICAMP, 2011; BENEIO® HP, 2013), não alterando o perfil nutricional dos produtos.

O valor médio das 12 formulações encontrado para proteína, no presente estudo, foi de 3,34%, sendo este valor muito inferior ao encontrado, por exemplo, por Miguel *et al.* (2010), os quais elaboraram um “iogurte” de soja a partir do extrato desengordurado de soja, contendo também polpa de morango, que atingiu um valor médio de 17,8% de proteína, podendo esta diferença ser justificada pela utilização de extrato desengordurado de soja, o que contribui para um aumento significativo do valor proteico do “iogurte” produzido, dada a ausência de gordura neste caso.

Em outro estudo realizado por Martins *et al.* (2013), elaborou-se uma bebida fermentada contendo extrato hidrossolúvel de soja com adição de inulina, apresentando 3,6% de proteína, sendo um pouco superior ao valor médio encontrado neste estudo. Provavelmente, devido à inulina adicionada na formulação, pois, de acordo com Toneli *et al.* (2008), a inulina apresenta 9,0% de proteínas, já a farinha de banana utilizada no presente estudo (MEDEIROS *et al.*, 2010) contém apenas 3,87% de proteínas em sua composição, fazendo que as 12 bebidas fermentadas contenham menor percentual proteico, quando comparadas aos estudos do referido autor.

Durante o processo de fermentação da bebida, ocorrem alterações químicas e nutricionais nas proteínas que acarretam uma melhoria no aroma, sabor e, também, nas propriedades funcionais da soja (HANDOYO; MORITA, 2006), em razão das enzimas produzidas durante a fermentação serem capazes de atuar sobre as proteínas, lipídios e carboidratos contidas nesta. As proteínas são hidrolisadas em aminoácidos e peptídeos por enzimas proteolíticas produzidas pelas bactérias lácticas adicionadas, e o ácido fítico é degradado em fosfato inorgânico. Também os açúcares mais complexos, como a rafinose e a estaquiose, causadores de flatulência, são quebrados em açúcares mais digeríveis (BAVIA *et al.*, 2012).

Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária, a proteína de soja se encontra na lista de alimentos que possuem alegações de propriedades funcionais já comprovadas. A alegação permitida denota que: “O consumo diário de no mínimo 25 g de proteína de soja pode ajudar a reduzir o colesterol, todavia seu consumo deve estar associado a uma

alimentação equilibrada e hábitos de vida saudáveis" (ANVISA, 1978a, p. 1). O percentual de proteínas da soja analisadas nas bebidas do presente estudo, é similar àqueles encontrados no iogurte de leite de vaca, sendo que as proteínas de soja contêm todos os aminoácidos essenciais à nutrição humana e, mesmo tendo a metionina, a cisteína e, provavelmente, o triptofano em quantidades limitantes, acaba sendo um ótimo substituto para a proteína animal (BOLLING; BLUMBERG; CHEN, 2009), principalmente para os intolerantes à lactose presente no leite de vaca.

Vários estudos indicam que a soja contém proteínas que possuem atividade biológica (AGYEI; APOSTOLOPOULOS; DANQUAH, 2011), que podem dar origem a peptídeos antimicrobianos, sendo estes componentes importantes pois, além de eliminar micro-organismos, eles são capazes de modular a resposta inflamatória. Grande parte dos peptídeos bioativos, oriundos das proteínas da soja e que geram benefício para a saúde, são sintetizados pelas células do próprio organismo e outros o são a partir de moléculas derivadas de proteínas alimentares, que podem ser hidrolisadas por enzimas proteolíticas no trato digestivo *in vivo* (BIZIULEVIČIUS *et al.*, 2006) ou *in vitro*, em processos de fermentação, por proteases de diferentes origens.

Animais, plantas e micro-organismos são as principais fontes de enzimas utilizadas para a produção de peptídeos bioativos responsáveis pelos benefícios à saúde humana (FRANCO, 2011). Alguns autores (COSTA *et al.*, 2012; TAMANINI *et al.*, 2012) afirmam que micro-organismos como o *Streptococcus thermophilus* possuem, embora seja pequena, atividade proteolítica durante o processo de fermentação, assim como *Lactobacillus acidophilus*, conforme estudos conduzidos por Sabir *et al.* (2010), favorecendo a formação de possíveis peptídeos antimicrobianos. Estes dois micro-organismos fazem parte do mesmo fermento utilizado no processo de elaboração das 12 bebidas do presente estudo.

Segundo a legislação vigente, o iogurte é classificado com relação ao teor de gordura presente na amostra (BRASIL, 2007). De acordo com os resultados obtidos (TABELA 16), todas as 12 formulações enquadram-se como parcialmente desnatado, pois possuem entre 0,6 e 2,9% de matéria gorda total. Não foi observada diferença significativa entre os resultados da análise de gordura feita em triplicata, bem como não ocorreu diferença significativa ($p \leq 0,05$) na quantidade de lipídeos entre os 12 tratamentos.

Os resultados obtidos variaram de 1 a 2% de gordura total. Segundo Damodaran, Parkin e Fennema (2010), o conteúdo total e a composição de lipídios em alimentos podem variar muito. Os lipídios desempenham um papel importante na qualidade dos alimentos, contribuindo com atributos como textura, sabor, nutrição e densidade calórica, sua manipulação mereceu uma ênfase especial na pesquisa e no desenvolvimento de alimentos nas últimas décadas. No entanto, atualmente, muitos consumidores estão modificando seus hábitos alimentares em função da saúde e preferindo alimentos com redução na quantidade

de gordura. Seguindo essa direção, as formulações desenvolvidas neste estudo contribuem para alcançar esse objetivo.

A diferença do percentual lipídico nos tratamentos do presente estudo é proporcional à quantidade de extrato hidrossolúvel de soja utilizada para a elaboração da bebida. Observa-se que, quanto maior a porcentagem de extrato de soja na bebida maiores os valores de proteínas e gordura alcançados.

Os 12 tratamentos produzidos com o extrato hidrossolúvel apresentaram menor percentual de gordura que o iogurte lácteo tradicional, semelhante aos valores de lipídios encontrados em bebidas lácteas, pois esta é caracterizada pela mistura de leite e soro lácteo e este último ingrediente apresenta reduzido teor de gordura, em relação ao primeiro (ANDRADE, 2010).

Cunha *et al.* (2008), por exemplo, encontraram valores reduzidos para os teores de proteínas (2,8%), cinzas (0,6%) e um percentual de gordura mais elevado (3%), por se tratar da utilização de leite bovino para a elaboração do iogurte. Silva (2007b), que realizou etapa de fortificação com caseinato de cálcio (2%), obteve iogurte de composição centesimal semelhante ao presente estudo, com 78% de umidade, todavia com 3,15% de gordura, por se tratar também de leite de origem bovina.

No caso de bebidas fermentadas feitas a partir de leite de vaca, o teor de gordura do leite afeta positivamente a qualidade do iogurte, sendo que a gordura estabiliza a contração do gel proteico, prevenindo também a separação do soro no produto final e afetando significativamente a percepção sensorial do produto pelo consumidor final, apresentando textura mais macia e cremosa (SILVA, 2007b).

Para carboidratos totais não existem valores estabelecidos pela legislação de leites fermentados (BRASIL, 2007). A determinação de carboidratos (incluindo fibras) dos produtos foi realizada através de cálculo teórico (por diferença) nos resultados das triplicatas, conforme a fórmula: $\% \text{ Carboidratos} = 100 - (\% \text{ umidade} + \% \text{ proteína} + \% \text{ lipídios} + \% \text{ cinzas})$.

Quanto aos teores de carboidratos totais, houve diferença significativa entre as formulações, pois embora a quantidade de açúcar adicionada aos tratamentos tenha sido constante (12% em todas as formulações), e este possua 99,6% de carboidratos (UNICAMP, 2011), a quantidade de extrato hidrossolúvel de soja, contendo cerca de 34% de carboidratos (EMBRAPA, 2013) foi utilizada em 3 percentuais diferentes. A farinha de banana verde em pó, cuja análise no presente estudo apresentou valor acima de 86% de carboidratos, também foi utilizada em percentuais diferentes, contribuindo assim para a diferença ocorrida na quantidade de carboidratos totais de cada tratamento.

Pesquisadores como Haully *et al.* (2005), ao trabalharem com “leite fermentado de soja” com adição de frutoligossacarídeos nas formulações, encontraram um valor médio de 16,2% de carboidratos, próximo ao valor médio de 15,31% dos tratamentos deste trabalho.

Pelo fato de este estudo apresentar extrato de soja em diferentes percentuais como matéria prima, supõe-se ser esse o motivo pelo qual demonstrou um maior percentual de carboidratos na maioria dos tratamentos. Nas amostras estudadas no trabalho acima comentado, foi utilizado leite de soja já pronto disponível para aquisição no comércio.

No estudo de Martins *et al.* (2013), que elaboraram um iogurte de extrato hidrossolúvel de soja com adição de inulina, encontrou-se um teor de carboidratos de 2,8%, sendo este valor inferior ao alcançado no presente estudo. A diferença pode ter ocorrido pela adição de açúcar em pó (sacarose) na composição das bebidas fermentadas, pois no estudo do referido autor, o mesmo apresenta em sua composição a utilização de adoçante.

Os valores obtidos para carboidratos estão próximos aos obtidos por Pagamunici (2009), que desenvolveu iogurte acrescido de farelo de jaracatiá, fato este que colaborou com o aumento da quantidade de carboidratos totais na formulação do seu estudo.

Segundo a Tabela de Composição Química de Alimentos - TACO (UNICAMP, 2011), o iogurte natural feito com leite apresenta a seguinte composição: 90% de água, 4,1% de proteínas, 3,0% de lipídeos, 1,9% de carboidratos, 0,9% de cinzas e não possui fibras. Sendo assim, todas as amostras de bebidas fermentadas do presente estudo apresentaram valores de lipídeos inferiores ao demonstrado acima, o que pode ser visto como uma vantagem para uma dieta hipocalórica.

A quantidade de proteínas, embora tenha apresentado diferença significativa em várias formulações ($p \leq 0,05$), manteve seu valor próximo ao indicado em todas as 12 amostras analisadas. Já os carboidratos apresentaram valores maiores frente aos demais sólidos (TABELA 16), provavelmente dada a adição de açúcar, e utilização do extrato hidrossolúvel de soja.

De Oliveira *et al.* (2011) avaliaram um iogurte feito a partir de leite de vaca, adicionado de açaí tipo *sundae*, encontrando para lipídios, proteínas, carboidratos e cinzas os valores 2,90%; 1,82%; 27,23% e 1,25%, respectivamente. Observa-se que a quantidade de carboidratos totais encontrada pelo autor foi acima do valor médio encontrado no presente estudo. Tal fato está ligado à quantidade de polpa e açúcares utilizados pelo autor, o que modifica significativamente a quantidade deste quesito nas formulações.

Ulsenheimer *et al.* (2012) encontraram carboidratos entre 11,68 a 16,06%, resultados próximos ao informado nos rótulos de 5 marcas de bebidas lácteas fermentadas sabor morango que analisaram: entre 12,00 e 16,50%.

Considerada primordial para o controle da qualidade em alimentos, o percentual de atividade de água (a_w) que, segundo Ferreira Neto, Figueirêdo e Queiroz (2005), tem influência marcante sobre o crescimento microbiológico. Segundo ele, a maioria dos micro-organismos se desenvolvem em meio com atividade de água (A_w) no intervalo 0,90 a 0,99.

A análise de atividade de água foi realizada nos 12 tratamentos da bebida fermentada de soja com adição de diferentes proporções de extrato hidrossolúvel de soja (8, 10 e 12%),

e farinha de banana verde (0, 2, 3 e 4%). A diferença no teor destas duas variáveis não apresentou diferença significativa a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey sobre este parâmetro, pois os valores variaram, de 0,9925 a 0,9987.

Desta forma, sabendo-se que os valores de atividade de água podem variar de 0 a 1,0, consta-se que as formulações da bebida fermentada do presente estudo não são microbiologicamente estáveis, sendo necessária a utilização de técnicas de conservação, justificando o uso da refrigeração a 5 °C, como foi feito no presente trabalho. Por outro lado, as bactérias lácticas, presentes na cultura láctica utilizada para a fabricação das bebidas fermentadas, são favorecidas pela presença de água no meio, numa forma disponível, que garante o seu desenvolvimento e metabolismo, contribuindo para as características desejáveis do produto final e sobrevivência destas por um longo período.

Os valores quantificados no presente estudo são superiores ao relatado por Clementino, Nascimento e Correia (2008), de $0,955 \pm 0,01$, na caracterização físico-química de sobremesa láctea de iogurte de leite de cabra com polpa de cajá, devido exclusivamente ao maior percentual de sólidos presentes no meio, neste caso específico.

Oliveira e Damin (2003) encontraram em seus estudos valores de AW em iogurtes com maior variação, de 0,985 a 0,998. Segundo esses autores, a atividade de água do leite e outros produtos como o iogurte é alta, com valores sempre acima de 0,98. No estudo de Gerhardt *et al.* (2013), pelo qual analisaram bebidas lácteas fermentadas utilizando soro de ricota e colágeno hidrolisado, todas as amostras elaboradas apresentaram valores de atividade de água superiores a 0,96, resultados próximos aos valores encontrados no presente estudo, por se tratar de bebidas cujo percentual de sólidos totais são semelhantes.

Oliveira e Damin (2003) no estudo com iogurtes, obtiveram valores de atividade de água entre 0,980 e 0,988. Já Marinho *et al.* (2012), em estudos utilizando iogurtes de leite de cabra com 10, 15 e 20% de polpa de umbu, apresentaram atividade de água entre 0,96 e 0,97, resultados menores que os do presente estudo, dado o alto percentual de sólidos utilizados pelos autores.

A atividade de água indica a intensidade das forças que unem a água a outros componentes não-aquosos e é o fator individual que mais influencia nas alterações dos alimentos. Quanto menor a atividade de água (OETTERER; REGITANO-D'ARCE; SPOTO, 2006) menor a quantidade de água disponível para o crescimento dos micro-organismos e para que possam ocorrer diferentes reações químicas e bioquímicas. Conforme dito anteriormente, a maioria dos micro-organismos cresce otimamente em valores elevados de atividade de água.

Quando associado a um tratamento térmico, bem como ao controle da atividade de água, a acidez passa a ser um importante meio de inibição dos micro-organismos que sobreviveram ao tratamento térmico realizado (BARUFFALDI; OLIVEIRA, 1998). No caso das bebidas fermentadas de soja do presente estudo, a alta atividade de água apresentada pelos

12 tratamentos é parcialmente compensada pela elevada acidez demonstrada, pois valores de pH próximos a 4,5 limitam o desenvolvimento da maioria dos micro-organismos indesejáveis, o que ocasionou um maior prazo de validade (de 35 dias) aos 12 tratamentos do presente estudo, frente aos demais disponíveis hoje no mercado. Atualmente, a maioria dos estudos não realiza esta análise em produtos fermentados lácteos ou não lácteos.

O teor de fibra alimentar encontrado nas 12 amostras analisadas variou de 1,62 a 2,33, segundo as médias das análises em triplicatas obtidas no estudo. Estes resultados mostram que o extrato hidrossolúvel de soja em pó e a farinha de banana verde em pó, são importantes em relação à quantidade de fibra alimentar final, todavia as análises de fibras foram realizadas após a adição de polpa de goiaba nas formulações, aumentando o percentual total deste quesito nos tratamentos, pois segundo Uchoa *et al.* (2008), a polpa de goiaba possui cerca de 5,4% de fibra alimentar.

Um alimento com teor de 2 a 3% pode ser considerado uma boa fonte de fibra alimentar. Segundo o regulamento técnico, referente à informação nutricional complementar atual (Portaria nº 27), o alimento, para que seja considerado fonte de fibra alimentar, deve apresentar, no produto acabado, 3g/100g (base integral) para alimentos sólidos e a quantidade mínima de 1,5g/100ml (base integral) para líquidos (BRASIL,1998).

Conforme demonstrado na Tabela 15, todos os resultados obtidos nos 12 tratamentos foram superiores ao mínimo necessário, segundo o citado regulamento, para que o produto possa ser considerado então, como uma alternativa de fonte de fibra alimentar, ou seja, uma bebida prebiótica.

Tal fato sugere que novos produtos fermentados utilizem a farinha de banana e a polpa de goiaba, pois, segundo Silva (2007a), a goiaba é uma das frutas de elevado valor nutritivo, tem excelente aceitação de consumo, além de ser apreciada por suas características de sabor e aroma. A goiaba contém quatro vezes mais vitamina C do que a laranja e quatro vezes mais cálcio do que o tomate. Além disso, é rica em fibras, vitamina E, e apresenta o dobro da quantidade de licopeno presente no tomate.

Segundo Hans *et al.* (2012), o papel da ingestão das fibras tornou-se mais estudado nos últimos anos. Segundo estudos de Elia e Cummings (2007), os principais grupos de fibras que chegam ao trânsito do intestino grosso são os polissacarídeos não amido, substâncias associadas a esses polissacarídeos, os amidos resistentes e oligossacarídeos. Os componentes citados são parcial ou totalmente fermentados e utilizados como fonte energética pelos micro-organismos pertencentes ao cólon, convertidos em gases (hidrogênio, metano e dióxido de carbono) e ácidos graxos de cadeia curta (AGCCs), principalmente acetato, propionato e butirato. Dessa forma, o aumento da quantidade de fibras adicionadas às formulações, antes do processo de fermentação, reduziu o tempo de fermentação (Tabela 14), bem como aumentou a produção de ácido lático nos tratamentos que continham maior

percentual de fibras (Tabela 14), sendo tecnologicamente viável, pois pressupõe que há uma maior multiplicação de bactérias lácticas totais.

A disponibilidade de substrato existente no cólon resulta no aumento do número de bactérias benéficas presentes e, conseqüentemente, no aumento do bolo fecal (CUMMINGS; MACFARLANE; ENGLYST, 2008). O incremento na produção de ácidos graxos de cadeia curta, como resultado da fermentação pelos micro-organismos, resulta na diminuição do pH intracelular e colônico naquele local.

O meio mais ácido inibe a proliferação de micro-organismos patogênicos e a formação de produtos de degradação tóxicos, além de reduzir a solubilidade dos ácidos biliares e facilitar a absorção de cálcio, interferindo no metabolismo ósseo do ser humano (SOUZA *et al.*, 2010). Seguindo as afirmações acima, podemos concluir que os 12 tratamentos desenvolvidos no presente estudo, possuem os dois quesitos necessários para melhorar a quantidade da microbiota benéfica no trato gastrointestinal, em contagens acima do mínimo preconizado pela legislação de leites fermentados vigente (BRASIL, 2007), e em quantidades de fibras alimentares também, em níveis acima do preconizado pela Portaria nº 27.

Na indústria alimentícia a fibra pode ser utilizada como um substituto de gordura e açúcar nos produtos, sem causar qualquer alteração no odor ou sabor do produto final. Assim, com o atrativo de possuir baixo teor calórico, redução da constipação e aumento da absorção de cálcio da dieta, as fibras tornam-se um ingrediente em destaque para adição em novos produtos, dentre eles o iogurte (PIMENTEL, 2009; GONÇALVES; ROHR, 2009; PIMENTEL; PRUDENCIO; RODRIGUES, 2011) e bebidas fermentadas, como foi o caso das desenvolvidas no presente estudo.

De acordo com as comparações entre as médias obtidas na caracterização físico-química (Tabela 16), pode-se observar que quase não houve diferença significativa ($p > 0,05$) para resíduo mineral fixo entre os 12 tratamentos formulados, sendo que os valores médios variaram de 0,71 a 0,80%.

A análise estatística realizada demonstrou que somente as amostras 1 e 12 apresentaram resultados diferentes ($P \leq 0,05$). Os teores similares de cinzas, das 12 formulações, podem ser explicados devido ao baixo percentual de diferença desses nutrientes nos ingredientes que sofreram modificação em seu percentual de adição nos 12 tratamentos: extrato hidrossolúvel de soja e farinha de banana, sendo estes os únicos que sofreram diferença de percentual utilizado nas formulações do presente estudo. Segundo a análise, os diferentes percentuais de ambos, já citados, não alterou significativamente o perfil de resíduo mineral fixo das formulações, com excessão dos tratamentos 1 e 12.

Sabendo-se que a determinação do resíduo mineral fixo fornece uma indicação da riqueza dos elementos minerais na amostra, conclui-se que, para os percentuais de soja e farinha de banana utilizados nas formulações do estudo, não ocorreu diferença significativa em seus teores finais em quase todos os tratamentos, pois, segundo Rani, Grewal e

Khetarpaul (2008), o grão de soja maduro contém cerca de 5,8% de cinzas; Torres *et al.* (2005) encontraram 2% de cinzas em farinha de banana verde, cv. Nanicão. Santos *et al.* (2014), estudando iogurtes provenientes de leite de vaca adicionados de inulina, encontraram valores de 0,70% de cinzas para as formulações estudadas. Valor próximo ao obtido no presente estudo.

Martins *et al.* (2013), analisando iogurte preparado com extrato de soja, encontraram o valor de 0,48% para cinzas, abaixo dos valores alcançados neste trabalho pois, neste caso, os autores supracitados, fizeram uso de adoçantes líquidos, além de baixo percentual de polpa de maracujá. Conforme Ulsenheimer *et al.* (2012), bebidas lácteas sabor morango, comercializadas na região do Vale do Taquari, apresentaram valores entre 0,41 e 0,60% para a análise de cinzas, resultados inferiores aos encontrados no presente trabalho. Percebe-se que as 12 formulações de bebidas fermentadas produzidas no presente estudo, possuem teor de cinzas relativamente maiores, quando comparadas às dos demais trabalhos, inclusive aos iogurtes e bebidas lácteas comerciais, o que indica que possui maior teor de minerais que estes. Essa diferença, possivelmente, ocorreu devida à utilização de maior percentual de extrato hidrossolúvel de soja e a farinha de banana em pó, frente aos demais estudos disponíveis.

5.6 Quantidade de carboidratos totais gastos pelos micro-organismos durante o processo de fermentação da bebida

Com a finalidade de enumerar o percentual utilizado durante o processo de fermentação, foram realizadas análises de umidade, proteína, lipídios e cinzas nas 12 formulações preparadas antes e após o processo de fermentação. Utilizou-se como parâmetro, também aqui, o cálculo teórico (por diferença) nos resultados em triplicata, conforme a fórmula: $\% \text{ Carboidratos} = 100 - (\% \text{ umidade} + \% \text{ proteína} + \% \text{ lipídios} + \% \text{ cinzas})$, apresentando-se o valor médio na Tabela 17.

Tabela 17 Percentual de carboidratos utilizados pelos micro-organismos na fermentação

Parâmetros	CH.Totais bebida (%)	CH.Totais bebida pós fermentação (%)	Percentual de decréscimo (%)
Tratamento 1	10,52	9,30	11,50
Tratamento 2	11,14	9,78	12,20
Tratamento 3	11,70	10,18	12,99
Tratamento 4	12,15	10,73	11,68
Tratamento 5	10,83	9,50	12,28
Tratamento 6	11,40	9,91	13,07
Tratamento 7	11,93	10,29	13,74
Tratamento 8	12,57	11,25	10,50
Tratamento 9	11,10	9,79	11,80
Tratamento 10	11,92	10,47	12,16
Tratamento 11	12,44	10,96	11,89
Tratamento 12	12,81	11,36	11,31

A quantidade de carboidratos totais na bebida variaram entre 10,52% e 12,81%, antes do processo de fermentação, e, entre 10,50% e 13,74%, após o processo de fermentação das 12 formulações. Os valores iniciais diferiram entre os tratamentos, conforme esperado, devido a existirem diferenças nos percentuais adicionados de extrato hidrossolúvel de soja e farinha de banana verde entre as 12 formulações.

De acordo com os resultados obtidos, disponíveis na Tabela 17, houve pouca variação no percentual de carboidratos consumidos durante o processo fermentativo, fazendo que o valor de decréscimo variasse de 10,50% a 13,74%. Tal diminuição do percentual inicial se dá pela utilização de carboidratos presentes nas formulações, pelos micro-organismos utilizados no presente estudo.

A formulação desenvolvida por Umbelino, Cardello e Rossi (2001), composta por extrato hidrossolúvel de soja, lactose, óleo de soja, sacarose e leite em pó desnatado, apresentou a seguinte composição química: 3,4% de proteínas, 2,75% de lipídeos e 12,05% de carboidratos, sendo este superior ao do presente estudo, devido à adição, principalmente de leite em pó desnatado, aumento o percentual de carboidratos totais no produto final.

No estudo de Martins *et al.* (2013), que elaboraram um iogurte de extrato hidrossolúvel de soja com adição de inulina, o teor de carboidratos obtidos em análise foi de 2,8%, sendo este valor inferior ao encontrado no presente trabalho, pois foi adicionado açúcar na composição do iogurte em estudo, sendo que no estudo de Martins *et al.* (2013), o mesmo apresenta em sua composição o uso de adoçante.

Há pouca informação publicada relativa à produção tecnológica de produtos fermentados por bactérias lácticas e as vias metabólicas seguidas pelos micro-organismos lácticos, durante a fermentação do extrato hidrossolúvel de soja. Todavia, o percentual de carboidratos totais consumidos na fermentação dos 12 tratamentos do presente estudo estão de acordo com trabalhos similares a este.

Percebeu-se maior consumo de carboidratos nos tratamentos com 10% de extrato hidrossolúvel de soja, e com adição de 2 e 3% de farinha de banana verde (tratamentos 6 e 7, respectivamente), porém, notou-se uma diminuição de consumo quando adicionado de 4% da mesma farinha de banana. Embora o teor e a espécie de tanino variem muito (SANTOS, 2000), eles ocorrem na maioria dos vegetais e podem ser encontrados nas raízes, no lenho, na casca, nas folhas, nos frutos, nas sementes e na seiva. Sendo assim, a farinha de banana verde utilizada no presente estudo também contém taninos.

Segundo Scalbert (1991), diversos substratos ricos em taninos são responsáveis por conseguirem inibir o desenvolvimento de micro-organismos pertencentes aos gêneros *Bacillus*, *Clostridium*, *Enterobacter*, *Pseudomonas*, *Nitrobacter*, *Staphylococcus* e *Streptococcus*, como também, inibem o crescimento de alguns fungos pertencentes aos gêneros *Aspergillus*, *Botrytis*, *Colletotrichum*, *Penicillium* e *Trichoderma*. Destes, o gênero *Bacillus* e *Streptococcus* fazem parte do fermento utilizado nas 12 formulações do presente estudo, o que pode ter colaborado para a diminuição do consumo de carboidratos totais, evidenciado nos tratamentos cujo percentual de farinha de banana verde foi maior (Tratamentos 4, 8 e 12).

Quando o leite é utilizado para fermentação, os micro-organismos lácticos utilizam seu principal açúcar: a lactose, para o processo fermentativo, tendo o ácido láctico como o principal metabólito formado. Todavia, em alguns casos, quando os lactobacilos e outras bactérias lácticas não se multiplicam de maneira satisfatória, pode-se aumentar a quantidade inoculada ou fortificar o leite com aditivos capazes de promover uma melhor multiplicação. Esses aditivos incluem, entre outros, suco de tomate, hidrolisado de caseína, proteína de soro de leite, e açúcares simples fermentáveis (STANTON *et al.*, 2003), como a sacarose que foi utilizada no presente estudo no percentual de 12% (BEHRENS; ROIG; SILVA, 2004), bem como as fibras presentes na soja e farinha de banana verde adicionados neste também.

No caso das bifidobactérias, esses micro-organismos não se desenvolvem bem no leite e sofrem com a presença de oxigênio do meio (STANTON *et al.*, 2003). Uma boa alternativa para se aumentar a multiplicação dessas bactérias é a adição de fatores bifidogênicos ou prebióticos. Os prebióticos mais utilizados para aumentar a multiplicação de bactérias lácticas em produtos fermentados são as fibras, como frutanos tipo inulina e os frutooligossacarídeos (FOS), uma vez que as bifidobactérias fermentam esses oligossacarídeos, preferencialmente a outras fontes de carboidratos (ROBERFROID, 2007).

Os oligossacarídeos presentes, por exemplo, nas leguminosas, conhecidos como α -galactosídeos ou oligossacarídeos da família da rafinose (RFOs), também podem ser utilizados pelas bifidobactérias (MARTÍNEZ-VILLALUENGA *et al.*, 2005). Dessa forma, segundo estudos feitos por Martinez-Villaluenga *et al.* (2006), a adição de RFOs ao leite aumentou a população de *B. animalis*, ao final do tempo de fermentação, em comparação com o controle, enquanto que para *L. acidophilus* não houve diferença na viabilidade com a

suplementação. Os RFO foram responsáveis por aumentarem a taxa de acidificação e, conseqüentemente, o tempo para a coagulação foi diminuído, o que resultou na melhoria das características de textura dos produtos fermentados. A presença de extrato de soja, bem como a farinha de banana, por possuírem fatores chamados bifidogênicos, podem ter influenciado positivamente no desenvolvimento microbiano das formulações deste trabalho.

Dessa forma, os valores encontrados na Tabela 17 demonstram que, quando a formulação foi adicionada de maior percentual de extrato hidrossolúvel de soja e 2 ou 3% de farinha de banana verde, houve maior consumo de carboidratos totais pelos micro-organismos benéficos presentes nas formulações.

A fermentação do extrato hidrossolúvel de soja com bactérias lácticas traz vários benefícios, no sentido de reduzir os açúcares causadores de flatulência e conservar melhor o produto, contribuindo também, para a saúde do consumidor (CHAMPAGNE; GARDNER; ROY, 2005). Wang, Yu e Chou (2004) verificaram uma redução na quantidade desses oligossacarídeos em extrato hidrossolúvel de soja fermentado por culturas mistas de bifidobactérias e bactérias lácticas, sendo estes micro-organismos também presentes em todas as 12 formulações do presente estudo, ocorrendo a diminuição dos carboidratos totais, evidenciado pela análise das 12 formulações contidas na Tabela 17.

Segundo Farnworth *et al.* (2007), as bactérias lácticas quando fermentam o extrato de soja, utilizam preferencialmente a frutose na produção de ácido láctico como metabólito, enquanto que a *Bifidobacterium*, que pode crescer até quatro vezes mais em extrato de soja do que em leite de vaca, sob condições equivalentes, produz menor percentual (0,05g/100mL) de ácido acético e utiliza, além dos açúcares comuns D-galactose, D-glucose e D-frutose, os oligossacarídeos rafinose e estaquiose, açúcares encontrados em grandes quantidades na soja (cerca de 16% dos carboidratos solúveis totais), ingrediente principal utilizado no presente estudo. Esta correlação de percentual gasto durante a fermentação microbiana benéfica ainda não é muito estudada atualmente.

5.7 Contagem de bactérias lácticas das amostras (UFC.mL⁻¹) de iogurte durante armazenamento a 5 °C

O comportamento das bactérias ácido-lácticas totais nas 12 amostras de bebida fermentada, contendo extrato hidrossolúvel de soja e farinha de banana verde, é apresentado na Tabela 18. A população de bactérias ácido-lácticas totais analisada teve diferença significativa no tempo inicial ($p < 0,05$), em algumas das 12 formulações distintas de bebidas fermentadas. Nota-se que, quando ocorreu o aumento do percentual de sólidos adicionados, proveniente do extrato de soja em pó utilizado, ocorreu também aumento da enumeração de bactérias lácticas benéficas, em alguns casos esta diferença foi significativa ($p < 0,05$).

Entretanto, o aumento de contagem de bactérias lácticas não ocorreu, não sendo significativo ($p>0,05$), quando o percentual de soja passou de 10 para 12% de adição de extrato em pó. Tal fato está em consonância com os valores de pH alcançados ao final da acidez, demonstrados na Tabela 15. Nos tratamentos 9,10,11 e 12 ocorreu a menor queda de pH no final do processo de fermentação frente aos demais tratamentos, sendo que a Tabela 14 denota que esses mesmos tratamentos foram os que também apresentaram maior tempo, durante o processo de fermentação, para atingir a acidez inicial desejada no presente estudo.

Tal aumento de contagem de micro-organismos lácticos foi maior entre os tratamentos (quando comparada a adição de extrato de soja), quando ocorreu aumento do percentual de farinha de banana adicionada ao meio, sendo este, um dos objetivos principais do trabalho. Todavia, sempre que houve a presença de 4% de farinha de banana no meio, não houve desenvolvimento significativamente positivo de bactérias lácticas totais, quando estes tratamentos são comparados a outros com adição de 2 e 3% de farinha de banana verde em pó. Esse fato, associado ao maior conteúdo de extrato de soja (tratamentos com 12%) nos quatro últimos tratamentos, pode ser explicado pela maior presença de taninos no meio, fato que dificulta o metabolismo microbiano (SCALBERT, 1991).

Conforme mostrado na Tabela 18, todas as formulações produzidas seguem os requisitos da quantidade mínima exigida pela legislação de leites fermentados, pois possuem quantidade de UFC/g superior a 10^6 , conforme exigido pela IN 46/2007-MAPA (BRASIL, 2007).

Tabela 18 Contagem de bactérias lácticas totais em UFC/ml ao longo do tempo de armazenamento das bebidas

Tratamento	0 dia	7 dias	14 dias	21 dias	28 dias	35 dias
1	$1,4 \times 10^{11} \pm 2,69^a$	$1,4 \times 10^{10} \pm 5,05^a$	$5,6 \times 10^9 \pm 3,30^a$	$5,1 \times 10^9 \pm 4,23^a$	$3,6 \times 10^8 \pm 2,09^a$	$2,7 \times 10^8 \pm 2,33^a$
2	$2,4 \times 10^{11} \pm 2,07^a$	$3,8 \times 10^{10} \pm 3,39^a$	$5,9 \times 10^9 \pm 3,45^a$	$6,1 \times 10^9 \pm 4,32^a$	$4,2 \times 10^8 \pm 2,14^a$	$3,5 \times 10^8 \pm 2,24^a$
3	$5,0 \times 10^{11} \pm 3,02^a$	$4,4 \times 10^{11} \pm 5,25^{bc}$	$3,5 \times 10^{10} \pm 3,12^a$	$1,6 \times 10^{10} \pm 4,15^a$	$1,4 \times 10^9 \pm 2,22^a$	$1,3 \times 10^9 \pm 2,41^a$
4	$3,0 \times 10^{11} \pm 2,15^a$	$1,1 \times 10^{11} \pm 5,16^a$	$1,9 \times 10^{10} \pm 3,28^a$	$1,3 \times 10^{10} \pm 4,28^a$	$1,4 \times 10^9 \pm 2,05^a$	$3,3 \times 10^8 \pm 1,68^a$
5	$2,7 \times 10^{11} \pm 2,56^a$	$1,3 \times 10^{11} \pm 5,09^a$	$1,8 \times 10^{10} \pm 3,41^a$	$1,7 \times 10^{10} \pm 3,48^{acd}$	$2,3 \times 10^9 \pm 2,18^a$	$4,7 \times 10^8 \pm 2,17^a$
6	$2,5 \times 10^{12} \pm 3,19^b$	$4,4 \times 10^{11} \pm 4,25^b$	$6,7 \times 10^{10} \pm 3,02^a$	$3,3 \times 10^{10} \pm 4,39^b$	$1,5 \times 10^{10} \pm 2,31^b$	$4,2 \times 10^9 \pm 2,41^a$
7	$4,8 \times 10^{12} \pm 2,10^c$	$5,2 \times 10^{11} \pm 5,29^b$	$4,4 \times 10^{11} \pm 3,15^b$	$5,2 \times 10^{10} \pm 4,14^e$	$2,6 \times 10^{10} \pm 2,29^c$	$2,1 \times 10^{10} \pm 2,52^b$
8	$4,5 \times 10^{11} \pm 2,38^a$	$2,9 \times 10^{11} \pm 4,28^c$	$5 \times 10^{10} \pm 2,65^a$	$2,7 \times 10^{10} \pm 3,68^{bcd}$	$4,5 \times 10^9 \pm 2,11^a$	$2,6 \times 10^9 \pm 2,04^a$
9	$1,8 \times 10^{11} \pm 2,21^a$	$1,1 \times 10^{11} \pm 4,36^a$	$1,2 \times 10^{10} \pm 3,30^a$	$1,1 \times 10^{10} \pm 4,10^a$	$1,4 \times 10^9 \pm 2,02^a$	$2,3 \times 10^8 \pm 2,10^a$
10	$5,9 \times 10^{11} \pm 3,54^a$	$4,3 \times 10^{11} \pm 5,12^{bc}$	$6,8 \times 10^{10} \pm 3,48^a$	$3 \times 10^{10} \pm 4,19^b$	$2,8 \times 10^{10} \pm 2,34^a$	$2,4 \times 10^9 \pm 2,21^a$
11	$2,6 \times 10^{11} \pm 2,28^a$	$1,4 \times 10^{11} \pm 5,31^a$	$3,3 \times 10^{10} \pm 3,19^a$	$2,9 \times 10^{10} \pm 3,57^{bd}$	$1,3 \times 10^{10} \pm 2,01^b$	$5,9 \times 10^9 \pm 2,48^a$
12	$1,5 \times 10^{11} \pm 2,35^a$	$1,2 \times 10^{11} \pm 4,46^a$	$2,2 \times 10^{10} \pm 3,27^a$	$1,1 \times 10^{10} \pm 4,02^a$	$3,2 \times 10^9 \pm 2,17^a$	$5,5 \times 10^8 \pm 2,11^a$

Analisando os 12 tratamentos separadamente, quanto ao total de bactérias láticas, também houve diferença ($p < 0,05$) ao longo dos dias de armazenamento nas 12 formulações de bebidas, pelo teste de médias de Tukey (Tabela 18). O tratamento estatístico foi realizado por colunas e, em todas as amostras, a concentração de células viáveis de bactérias láticas diminuíram significativamente com o passar das semanas de armazenamento, conforme esperado. Todavia mantiveram os valores mínimos estáveis até o 35º dia (BRASIL, 2007). Este comportamento, conforme discutido anteriormente, afetou os valores de acidez e pH das bebidas nos respectivos dias com alteração final em seus valores também.

Conforme estabelecido pela ANVISA (2008), a quantidade mínima de micro-organismos viáveis presente no produto para os probióticos deve estar na faixa de 10^8 a 10^9 UFC, na recomendação diária do mesmo. Todas as 12 formulações do presente trabalho possuem população inicial superior a essa exigência, bem como sua boa manutenção ao longo dos 35 dias de armazenamento, período no qual manteve os valores acima deste mesmo já mencionado. Assim sendo, todas as formulações descritas podem ser consideradas, levando-se em consideração também o percentual de fibra alimentar encontrado, como bebidas fermentadas simbióticas.

Essas populações, normatizadas na legislação atual, também são sugeridas por alguns pesquisadores como as mínimas aceitáveis para, realmente, produzirem efeitos benéficos à saúde do hospedeiro (LIU *et al.*, 2006; AURELI *et al.*, 2010; RANADHEERA; BAINES; ADAMS, 2010).

Um dos quesitos essenciais para uma boa contagem inicial de micro-organismos láticos nos tratamentos do presente estudo, envolvendo a soja no lugar do leite de vaca, foi a adição de fermento lático contendo, além de outros micro-organismos já citados, o *Streptococcus thermophilus*, que atua como um micro-organismo iniciador do processo de fermentação no meio.

Nos estudos realizados por Pereira *et al.* (2010), a adição das culturas probióticas em co-cultura com *S. thermophilus* no queijo *petit-suisse* resultou em alta viabilidade dos probióticos durante o armazenamento, além de excelente aceitação sensorial pelo consumidor.

No estudo, visando avaliar as características microbiológicas de bebidas lácteas fermentadas comerciais disponíveis no comércio de Belo Horizonte/MG, Andrade (2010), observou valores para a contagens total de bactérias ácido-láticas viáveis acima de $8,0 \log \text{UFC.mL}^{-1}$, mostrando também valores bem superiores ao estabelecido pela legislação vigente, coincidindo com os valores encontrados no presente estudo.

Estudos de Dave e Shah (1997) afirmam que a queda de pH para valores abaixo de 4,3, durante o armazenamento de bebidas fermentadas, afeta grandemente a viabilidade de bifidobactérias e bactérias láticas. A boa taxa de micro-organismos láticos viáveis, ao longo do presente estudo, pode ser explicada pela adoção de pH final, em torno de 4,7

imediatamente após a fermentação, para a maioria dos tratamentos, visando o favorecimento e a manutenção metabólica das bactérias lácticas viáveis presentes nestes.

Resultados semelhantes aos encontrados no presente estudo foram obtidos por Wang *et al.* (2009) com leite bovino e leite de soja fermentados por *L. casei*, cuja viabilidade se manteve acima de 10^8 ufc/g, durante 28 dias de armazenamento a 4 °C.

Ácidos orgânicos, como o lático e o acético produzidos por micro-organismos, são poderosos agentes antimicrobianos e podem ter papel fundamental na sobrevivência das culturas, sendo que maiores concentrações desses compostos resultam em menores contagens de micro-organismos (AKALIN; FENDERYA; AKBULUT, 2004).

Além da acidez produzida naturalmente pelos micro-organismos, durante a estocagem em local refrigerado, o nível de oxigênio e também a sua permeabilidade através da embalagem utilizada, a sensibilidade às substâncias produzidas pelas bactérias lácticas, são os fatores responsáveis pela perda de viabilidade dos micro-organismos lácticos ao longo do tempo (SHAH, 2000). Fato este que explica a diminuição da viabilidade microbiana que ocorrerá com o passar das semanas em todos os tratamentos deste trabalho.

Mazochi (2009) elaborou iogurtes contendo micro-organismos probióticos, utilizando o leite de cabra. Os autores encontraram boa viabilidade das culturas probióticas, acima de 10^6 UFC.mL, mesmo após 40 dias de estocagem, o que coincide com os valores encontrados no presente estudo, mesmo após 35 dias de estocagem, sendo que este foi interrompido não pela baixa contagem de bactérias lácticas totais presentes na bebida, mas pelo desenvolvimento de bolores e leveduras nas embalagens, dada as condições ótimas para o desenvolvimento destes no meio (alta acidez e baixo pH, além de nutrientes disponíveis), conforme a Figura 11.



Figura 11 Embalagem da bebida após 38 dias de estocagem a 5 °C.

Souza (2012), ao tentarem aumentar a viabilidade de micro-organismos probióticos em leites, variaram a quantidade da cultura utilizada nas bebidas, bem como o teor de sólidos totais, além da temperatura no processo de fermentação. Os resultados demonstraram realmente menor redução da viabilidade de micro-organismos lácticos nos leites fermentados com maior teor de sólidos, e nas temperaturas de fermentação próximas de 37 °C. Isso indica que os dois fatores podem ser variáveis tecnológicas a serem utilizadas, a fim de aumentar a taxa de sobrevivência das bactérias lácticas.

Resultado similar a esse ocorreu no presente estudo, no qual, utilizando fermento composto por micro-organismos que utilizam temperaturas ótimas de crescimento diferentes, usou-se também a temperatura de 37 °C para a fermentação, como os referidos autores e, as análises microbiológicas atestaram que com o aumento de sólidos, houve maior desenvolvimento de bactérias lácticas totais. Entretanto, no presente estudo, observou-se que, quando utilizados 4% de farinha de banana verde nos tratamentos 4, 8 e 12, mesmo estes também sendo considerados como “sólidos totais”, por exemplo, não apresentaram maior taxa de multiplicação de bactérias lácticas frente aos demais.

O resultado inesperado pode ter ocorrido, principalmente, pela maior concentração de taninos presentes nas formulações, nas quais foram utilizados maiores percentuais (tratamentos 4, 8 e 12) de farinha de banana verde, pois, conforme já comentado, diversos substratos ricos em taninos são responsáveis por conseguirem inibir o desenvolvimento de micro-organismos pertencentes aos gêneros *Bacillus*, *Clostridium*, *Enterobacter*, *Pseudomonas*, *Nitrobacter*, *Staphylococcus* e *Streptococcus* (SCALBERT, 1991) e a farinha de banana verde possui taninos em sua fórmula natural.

Na Tabela 18, é possível observar que existe diferença ($p < 0,05$) entre as médias das contagens (UFC/g) das bebidas fermentadas sem e com a adição de farinha de banana verde (tratamentos 1 e 6, por exemplo). Portanto, neste experimento, a adição da farinha de banana verde a 2 e 3% foi capaz de interferir significativamente em alguns casos na contagem em placas e viabilidade das culturas *L. acidophilus*, *Streptococcus thermophilus* e *Bifidobacterium*. O percentual de fibras existentes na farinha de banana verde pode ser utilizado como fator de crescimento para as culturas lácticas, favorecendo a sua viabilidade.

Considerando esse fato, os tratamentos 6 e 7 foram os que apresentaram maior contagem inicial de micro-organismos lácticos totais. Esta observação parece confirmar a capacidade dos micro-organismos presentes nas bebidas, de fermentarem não só os açúcares naturais e presentes na soja, embora, segundo Gomes e Malcata (1999), sua metabolização possa não ocorrer de forma tão eficaz.

Silva e Ueno (2013) ao analisarem iogurtes comerciais com sabor de frutas (morango, coco e ameixa) encontraram valores inferiores a 10^7 UFC g⁻¹ para a contagem de bactérias lácticas totais das amostras sabor coco e morango e valores dentro dos padrões estipulados pela legislação vigente (BRASIL, 2007), para todas as amostras do sabor ameixa. Segundo

os referidos autores, a viabilidade das bactérias lácticas no iogurte sabor ameixa pode ser devida ao alto conteúdo de fibras solúveis que resulta da adição da fruta no processamento. A maior quantidade de fibras contidas nos tratamentos do presente trabalho, frente à bebida de soja fermentada tradicional, também podem ser responsáveis pela alta contagem de bactérias lácticas tanto no início da fabricação, quanto ao longo do período de armazenamento destes, a 5 °C.

Outra constatação interessante é que os tratamentos 6 e 7 apresentaram o maior grau de acidez inicial, embora não fossem estatisticamente diferente dos demais ($p>0,05$), bem como maior grau de acidez ao final do armazenamento de 35 dias, com valores diferentes dos outros tratamentos ($p<0,05$). O mesmo fator não ocorreu com o pH, pois, assim como ocorre no leite, não existe uma relação perfeita entre pH e acidez titulável, uma vez que os tipos de leite não possuem precisamente a mesma capacidade tamponante. Por isso, as diferenças em acidez titulável resultam, sobretudo da diferenças na capacidade tamponante e em menor escala, no nível de pH (FERREIRA, 1999).

Os resultados obtidos no presente trabalho indicam que as formulações devem ultrapassar os 35 dias de validade que foram planejados no que diz respeito à alegação de “bebida fermentada”, em função da alta concentração de bactérias lácticas apresentada ao 35º dia, segundo a legislação de leites fermentados (BRASIL, 2007). Esse resultado é reflexo de um armazenamento adequado, realizado à temperatura de 5 °C, fator crucial para a manutenção do prazo de validade.

5.7.1 Confirmação bioquímica das bactérias lácticas

Com o intuito de confirmar a presença das bactérias lácticas presentes no fermento liofilizado utilizado, foram feitos testes bioquímicos. Nas amostras plaqueadas pelo método *pour plate* no meio de cultura MRS em triplicata, foi realizada, conforme visto, a contagem de células viáveis. As colônias isoladas foram submetidas aos seguintes testes: coloração de gram, verificação da morfologia, teste de atividade de catalase (CARVALHO, 2007).

Uma das identidades da cultura utilizada foi confirmada como *Lactobacillus acidophilus*, pois as colônias apresentaram-se gram-positivas e catalase-negativas, características básicas de micro-organismos do tipo lactobacilos, e com morfologia características, de acordo com Altermann *et al.* (2005).

Dos 36 isolados submetidos ao teste de coloração de gram e morfologia celular, muitos se apresentaram como bastonetes gram-positivos - característica própria do *Lactobacillus acidophilus* (KANDLER; WEISS, 1986). Ocorreram variações, consideradas normais na morfologia destas amostras, pois muitos demonstraram serem cocos e outros no formato de “Y”. Isso ocorreu, pois o fermento utilizado nos 12 tratamentos do presente estudo continha *Streptococcus thermophilus* e Bifidobactéria também. As bifidobactérias são gram-positivas,

não formadoras de esporos, desprovidas de flagelos, sendo micro-organismos estritamente anaeróbias e, frequentemente, apresentam formato de “Y”, conhecido como forma “bífida” (MICHETTI, 2001). Todos os 36 isolados analisados, mostraram-se negativos ao teste da catalase. As bactérias lácticas (*Lactobacillus acidophilus*) são catalase-negativas (ROGOSA, 1974).

Os micro-organismos gram-positivos, catalase negativos, com morfologia de cocos ou bastões, atendem aos requisitos das bactérias ácido lácticas (CARVALHO, 2007), confirmando então a presença destas nas 12 formulações do trabalho. Esses dois tipos de análises ainda não são frequentemente feitas nos estudos atuais.

5.8 Controle de qualidade microbiológica das formulações

A qualidade microbiológica das bebidas fermentadas foi avaliada durante seu armazenamento, visando à determinação do número mais provável por mililitro (NMP/mL) de coliformes totais (35 °C), termotolerantes (45 °C) e contagem de bolores e leveduras, conforme preconizado pela legislação vigente para leites fermentados (BRASIL, 2007). Na Tabela 19 estão apresentados os resultados para a contagem de coliformes a 35 °C nos 12 tratamentos da bebida fermentada elaborada.

Tabela 19 Contagens de coliformes totais obtidas para as 12 formulações durante o armazenamento refrigerado (5 °C) por até 35 dias

Tratamentos	Coliformes 35°C (NMP.mL-1)						Critério de aceitação
	0 dia	7º dia	14º dia	21º dia	28º dia	35º dia	
1	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	n=5 c=2 m=10 M=100
2	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	
3	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	
4	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	
5	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	
6	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	
7	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	
8	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	
9	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	
10	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	
11	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	
12	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	

Em todas as 12 amostras, observou-se que o NMP de coliformes a 35° (NMP/mL) apresentou valores menores do que 3, durante todo o período de armazenamento refrigerado

a 5 °C. Resultado que está em conformidade com o padrão atual, estabelecido pelo regulamento técnico de identidade e qualidade de leites fermentados (BRASIL, 2007).

O grupo coliformes totais (35°C) são definidos como bastonetes gram-negativos não esporogênicos, aeróbios ou anaeróbios facultativos, capazes de fermentar a lactose com produção de gás, em 24 a 48 horas, à temperatura de 35 °C em pH próximo à neutralidade (podem apresentar atividades da enzima β -galactosidase). O grupo inclui 20 espécies, dentre elas se encontram tanto as bactérias pertencentes ao trato gastrointestinal de humanos e outros animais, como outros gêneros e espécies de bactérias não entéricas (SILVA *et al.*, 2005).

Devido ao fato das formulações estudadas aqui apresentarem elevada atividade de água, e conterem elementos que facilmente serviriam de substrato para o desenvolvimento dos micro-organismos do grupo coliformes, a elevada acidez e o baixo pH após o processo de fermentação dos 12 tratamentos, foram responsáveis por não oferecerem um ambiente propício ao desenvolvimento do referido grupo, aliado também à boa higiene, durante todo o processo realizado, bem como o acondicionamento final.

Segundo Magalhães e Broietti (2010), em um mundo globalizado, instável e fortemente competitivo, não basta as organizações investirem somente na produtividade de seus alimentos, sem investir no diferencial que a qualidade de fabricação representa. Para tanto, é preciso manter a limpeza adequada em seus equipamentos, juntamente com a correta recepção e consequente armazenamento de matérias primas em locais seguros.

Tebaldi *et al.* (2007) realizaram análises em 20 amostras de bebidas lácteas fermentadas, comercializadas no sul de Minas Gerais, as quais também não apresentaram contaminação por este grupo de micro-organismos. Já Ferreira (2011), analisando 20 bebidas lácteas fermentadas pasteurizadas e comercializadas no Distrito Federal, obteve contagens de coliformes totais de até 460 NMP/mL.

Como o teste presuntivo para coliformes, o qual utiliza caldo LST (lauril sulfato triptose) teve resultado negativo para a sua presença, não foram necessárias as etapas seguintes da colimetria (coliformes termotolerantes). Segundo Forsythe (2002), esse bom resultado de qualidade microbiológica ocorreu no presente estudo devido ao baixo pH das formulações, pois, sabe-se que esses micro-organismos podem sofrer estresse e não serem detectados nas referidas análises.

Todavia, o grupo dos coliformes fecais (45 °C) inclui pelo menos três gêneros de micro-organismos: *Escherichia*, *Enterobacter* e *Klebsiella* (MOURA; ASSUMPÇÃO; BISCHOFF, 2009), dos quais dois destes (*Enterobacter* e *Klebsiella*) incluem cepas de origem não fecal (SILVA *et al.*, 2005). Dessa forma, a presença de coliformes termotolerantes em água e alimentos é menos representativa, como indicação de contaminação de origem fecal, do que a enumeração direta do micro-organismo *E. coli*, porém, muito mais significativa do que a presença de coliformes totais, dada a alta incidência de *E. coli* dentro do grupo fecal (SILVA

et al., 2005). A ocorrência de *E. coli* é considerada um indicador específico de contaminação fecal e a possível presença de micro-organismos patógenos entéricos (GUERRA *et al.*, 2006). As análises realizadas no presente trabalho descartaram a possibilidade da presença de *E. coli* nas formulações.

Na enumeração de bolores e leveduras em placas (Tabela 20), a contagem inicial destes fora negativa, ao longo dos 21^º dias de estocagem refrigerada das 12 formulações.

Tabela 20 Contagens de bolores e leveduras obtidas para as 12 formulações, durante o armazenamento refrigerado (5 °C) por até 42 dias

Tratamentos	Coliformes 35°C (NMP.mL-1)							Critério de aceitação
	0 dia	7º dia	14º dia	21º dia	28º dia	35º dia	42º dia	
1	0	0	0	0	0	6,6x10 ¹	2,0x10 ²	n=5 c=2 m=50 M=200
2	0	0	0	0	<10x10 ¹	6,5x10 ¹	2,6x10 ²	
3	0	0	0	0	<10x10 ¹	1,5x10 ²	1,2x10 ³	
4	0	0	0	0	<10x10 ¹	1,7x10 ²	1,5x10 ³	
5	0	0	0	0	<10x10 ¹	1,2x10 ²	1,4x10 ³	
6	0	0	0	0	<10x10 ¹	1,6x10 ²	2x10 ³	
7	0	0	0	0	<10x10 ¹	1,2x10 ²	2,5x10 ²	
8	0	0	0	0	<10x10 ¹	1,8x10 ²	2,3x10 ³	
9	0	0	0	0	0	1,2x10 ²	1,8x10 ³	
10	0	0	0	0	<10x10 ¹	1,6x10 ²	2,6x10 ³	
11	0	0	0	0	<10x10 ¹	1,5x10 ²	2,7x10 ³	
12	0	0	0	0	<10x10 ¹	1,8x10 ²	6,6x10 ³	

Todavia, a partir do 28^º dia, observou-se crescimento inicial de bolores e leveduras nas formulações, o que, no entanto, obedecia ao limite máximo aceitável imposto pela legislação vigente (BRASIL, 2007) de leites fermentados (2,0 x10²). Já no 40^º dia de estocagem (Figura 11) as análises realizadas indicaram desenvolvimento acima do limite estabelecido pela referida legislação, tornando o produto inapto ao consumo a partir desta data, mesmo que uma possível contagem de bactérias lácticas totais ainda alcançasse valores acima de 10⁶ UFC/ml de produto, sendo esse o valor mínimo de micro-organismos por ml de bebida, exigido pela legislação vigente de leites fermentados (BRASIL, 2007).

Segundo Franco e Landcraf (2008), o crescimento de bolores e leveduras é mais lento, quando comparado ao das bactérias em alimentos de baixa acidez e com alta atividade de água, porém, em alimentos ácidos, como é o caso das bebidas fermentadas do presente estudo, o crescimento de fungos é maior, provocando a deterioração. São também responsáveis pela deterioração de sucos de frutas, queijos, alimentos congelados.

Notou-se que a adição de farinha de banana verde favoreceu o crescimento desses micro-organismos na bebida (Tabela 20), pois, as formulações com a presença de farinha foram as que sofreram maiores contagens de bolores e leveduras em placas. Este é um grande problema enfrentado pela indústria láctea, uma vez que a contaminação por fungos e

leveduras pode causar alterações organolépticas ao produto devido à produção de enzimas hidrolíticas. Assim, os problemas mais relatados pela contaminação desses micro-organismos são: alteração de sabor, cor e estufamento da embalagem (XAVIER; LIMA; SOUZA, 2006).

Segundo Coelho *et al.* (2009), a adição de açúcar ou frutas nas bebidas são especialmente susceptíveis à multiplicação de leveduras, por servirem de substrato ao desenvolvimento destas. Cabe ressaltar que foram adicionados 12% de sacarose em todas as formulações do presente estudo, além de polpa concentrada de goiaba, o que favorece então o desenvolvimento de leveduras.

As alterações da carga microbiana mostram-se importantes no controle de qualidade de produtos com pequeno tempo de prateleira. A presença de contaminantes constitui, hoje, um dos grandes problemas para a indústria, causando a perda do produto em função das alterações de sabor, cor e também estufamento de embalagens nas prateleiras refrigeradas de comercialização (BARBOSA *et al.*, 2010). Todavia, os 12 tratamentos do presente trabalho alcançaram maior tempo de prateleira frente aos leites fermentados disponíveis para aquisição no comércio atualmente.

5.9 Condições ótimas para maior contagem de bactérias lácticas ao longo do período de estocagem

Na Tabela 21 estão apresentadas as médias das respostas de contagem total de bactérias lácticas presentes na bebida fermentada de soja do tratamento 7 (no qual houve maior desenvolvimento inicial de bactérias lácticas totais em placas), ao longo dos 35 dias de análises, submetidas às diferentes temperaturas e tempos de incubação das placas em estufas bacteriológicas e câmara incubadora, tipo B.O.D.

Tabela 21 Montagem do experimento, com temperatura e tempo de incubação e a contagem total de bactérias lácticas presentes no iogurte de soja, em função da temperatura e tempo de incubação das placas contendo meio de cultura MRS em estufas e câmara tipo B.O.D.

Variáveis independentes											
Codificadas					Reais						
					Médias- contagem em UFC.g						
Ensaio	Temperatura	Tempo	Temperatura (°C)	Tempo (h)	Ensaio	0	7	14	21	28	35
1	-1	-1	32	35	1	3.6×10^9	6.7×10^8	5.9×10^8	3.9×10^7	2.5×10^7	6.1×10^6
2	1	-1	42	35	2	6.6×10^{11}	6.8×10^{10}	5.3×10^{10}	3.2×10^7	3.9×10^9	6.1×10^8
3	-1	1	32	61	3	6.2×10^{11}	2.6×10^{10}	2.7×10^{10}	4.7×10^9	2.7×10^9	5.8×10^8
4	1	1	42	61	4	6.5×10^{12}	5.9×10^{11}	5.1×10^{11}	7.6×10^{10}	4.7×10^{10}	3.9×10^{10}
5	-1,41	0	30	48	5	5×10^8	3.2×10^8	3.2×10^8	6.5×10^7	2.8×10^7	4.7×10^6
6	1,41	0	44	48	6	3.8×10^{11}	4.6×10^{10}	7.2×10^9	3.8×10^9	6.2×10^8	3.4×10^8
7	0	-1,41	37	29,7	7	3×10^{10}	7.1×10^8	6.5×10^8	5.4×10^8	5.7×10^7	4.4×10^7
8	0	1,41	37	66,4	8	6.2×10^{12}	6.8×10^{11}	5.7×10^{11}	6.2×10^{10}	5×10^{10}	5.3×10^{10}
9	0	0	37	48	9	5×10^{12}	5.6×10^{11}	4.7×10^{11}	4.7×10^{10}	3.2×10^{10}	2×10^{10}
10	0	0	37	48	10	4.9×10^{12}	5.5×10^{11}	3.8×10^{11}	5.2×10^{10}	2.9×10^{10}	2.1×10^{10}
11	0	0	37	48	11	4.6×10^{12}	5.3×10^{11}	4.1×10^{11}	4.7×10^{10}	2.8×10^{10}	2.2×10^{10}

O gráfico de superfície de resposta e curva de contorno mostra a variação da contagem de bactérias lácticas em função do tempo e temperatura de incubação (Figura 12).

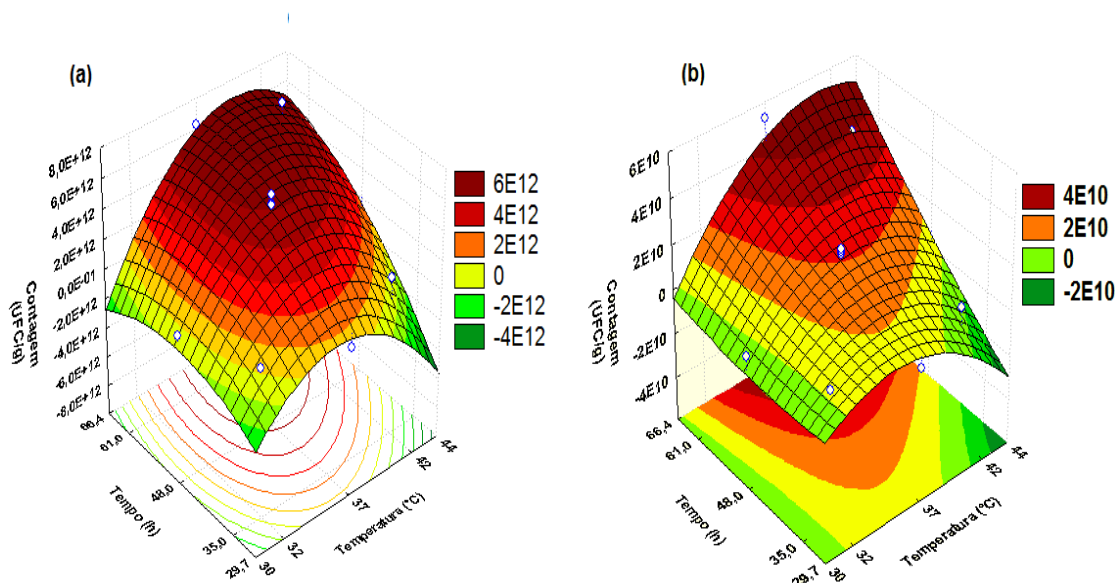


Figura 12 Superfície de resposta e curva de contorno para contagem de bactérias lácticas, em função de temperatura e tempo 35 dias de incubação no (a) tempo zero dia e (b) 35 dias de armazenamento.

Nas condições em que este experimento foi realizado, pode-se concluir que a maior enumeração das bactérias lácticas totais em iogurte de soja, ocorreu quando empregada a temperatura próxima de 40,25 °C e tempo mínimo de incubação de 66,4 h, pois, após esse período, ocorre a estabilização do número das unidades formadoras de colônias de bactérias.

Em relação ao tempo de incubação, observa-se que acima de 66 horas a contagem tende a estabilizar não tendo aumento significativo das contagem de unidades formadoras de colônias. Silva (2007) descreve em seu livro, o processo de análise com o meio ágar MRS, em temperaturas de incubação em torno de 37 °C, em um período de 50-60 horas, e cita que estas duas variáveis sofrem alteração de acordo com o meio de cultura utilizado e com o tipo de amostra coletada, pois dependerá do tipo de cultura de bactérias lácticas utilizada.

A temperatura ideal para multiplicação das bactérias lácticas é 30-37 °C, sendo a mínima de 10 °C e a máxima 45 °C. Logo, os dados alcançados com a otimização do processo, citados acima, estão de acordo com os resultados relatados pela referida autora (SILVA, 2007) em sua metodologia, podendo sim serem alcançados.

As bifidobactérias fazem parte do fermento utilizado, e a relação tempo x temperatura citados após a prática de otimização aplicada no presente estudo, estão de acordo com Oliveira (2009), o qual afirma que as bifidobactérias de origem humana, em geral, utilizam 37 °C para inoculação, possuem para crescimento uma gama de temperaturas que vão de 20 a 46 °C, tendo como temperatura limite: 60 °C.

Da mesma forma, alguns cientistas afirmam que o *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* em sua maioria pode crescer entre 50 e 55 °C (ORDOÑEZ *et al.*, 2005).

A temperatura de 37 °C, aplicada comumente quando o fermento utilizado é similar ao empregado no presente estudo, é utilizada por ser a temperatura ótima para o desenvolvimento do *Streptococcus thermophilus*, considerado o micro-organismo que inicia a fermentação do processo frente aos outros dois já citados. Mas, vários estudos demonstram que este micro-organismo se desenvolve bem em temperaturas que vão de 37 a 45 °C (CHANDAN; WHITE; KILARA, 2006), contribuindo também para que uma maior contagem total de bactérias lácticas possa ocorrer, caso seja utilizado o binômio tempo x temperatura alcançados com o processo de otimização.

O número mínimo de cultura específica recomendada para bebidas lácteas fermentadas é de 10^6 células viáveis mL⁻¹, no momento do consumo (BRASIL, 2007). De acordo com Badaró *et al.* (2008), a maioria dos produtos lácteos fermentados devem se apresentar na faixa de até 10^9 UFC mL⁻¹ para a obtenção de um efeito favorável na composição da microbiota intestinal. A Figura 13 denota o comportamento normal de decréscimo da taxa de sobrevivência das bactérias lácticas, durante o período de 35 dias de análises.

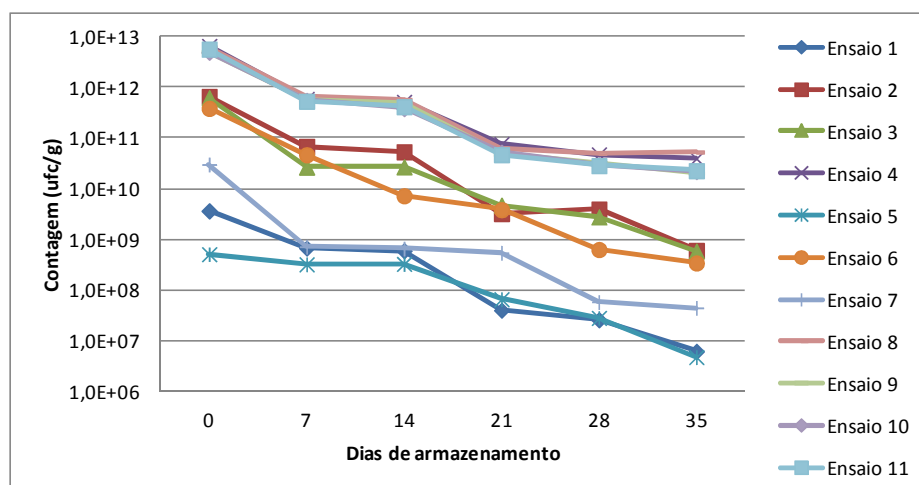


Figura 13 Decréscimo da contagem total de bactérias lácticas durante o período de análises.

5.9.1 Análise sensorial

O teste de aceitação é também denominado de escala hedônica. Os produtos são apresentados aos consumidores, que são solicitados a indicarem o seu grau de aceitação numa escala bipolar. A escala hedônica de 9 pontos é a mais utilizada desde a sua idealização

em 1940, sendo ancorada no “gostar” e “desgostar” (PERYAN; PILGRIM, 1957; SCHUTZ; CARDELLO, 2001; DRAKE, 2007; DUTCOSKY, 2007; DUTCOSKY, 2013;).

Quando um pesquisador precisa determinar o *status* afetivo de um produto, ou seja, o quanto este produto é apreciado pelos consumidores, o teste de aceitação é recomendado, sendo a melhor escolha (MEILGAARD; CIVILLE; CARR, 1999). Desta forma através da avaliação sensorial aplicada com a colaboração de 120 indivíduos não treinados, em cada uma das quatro sessões de testes aplicados, mediante a distribuição de amostras com 30 mL de bebida fermentada, à temperatura de 7 °C e água destilada para a higienização do palato, obteve-se os resultados demonstrados nas Tabelas 22, 23, e 24. Segundo Dutcosky (2007) e Hough *et al.* (2006), para testes de consumidores, o número ideal de julgadores é de, no mínimo, 112. Neste estudo, realizou-se a análise sensorial com uma equipe de 480 provadores não treinados, pertencentes à comunidade acadêmica da UTFPR, *campus* de Medianeira - PR.

Considerando-se a avaliação sensorial como uma disciplina científica, para evocar, medir, analisar e interpretar reações às características de alimentos e materiais, através dos órgãos dos sentidos (STONE; SIDEL, 1993), é a metodologia aplicada no controle de qualidade, desenvolvimento de produtos, pesquisa de marketing e planejamento de produtos. Sua meta principal é a condução de testes para a obtenção de dados, para subsequentemente direcionar as decisões racionais (MEILGAARD; CIVILLE; CARR, 1999). Os Testes Afetivos, como a Escala Hedônica, utilizam um painel não treinado para a avaliação sensorial de produtos (CHAMBA; HUA; SIMWAKA, 2014)

Na Tabela 22 estão apresentadas as médias e desvio padrão para as formulações elaboradas com 8% de soja. Observou-se que não houve diferença significativa para todos os atributos, pois $p\text{-valor} > 0,05$. A amostra 295 (8% de soja) apresentou o melhor comportamento para o atributo cor, correspondendo à categoria *gostei muito*. As amostras 386 (8% soja e 2% farinha de banana) e 510 (8% soja e 3% farinha de banana) apresentaram-se nas categorias *gostei regularmente* e *gostei ligeiramente*, respectivamente. A amostra 147 (8% banana e 4% farinha de banana) classificou-se como *gostei ligeiramente*, em relação ao atributo cor.

Tabela 22 Escore médio e desvio padrão obtidos pelo teste de escala hedônica para as formulações com 8% de soja

Atributos/amostras	Média dos atributos			
	** (T3)	*** (T2)	**** (T4)	***** (T1)
Cor	6,76±1,63 ^a	6,94±1,46 ^a	5,93±1,91 ^a	7,69±1,67 ^a
Aparência	6,47±1,77 ^a	6,83±1,45 ^a	5,97±1,92 ^a	7,61±1,59 ^a
Aroma de banana	6,24±1,84 ^a	6,25±1,67 ^a	6,20±1,85 ^a	6,33±1,81 ^a
Sabor de soja	6,23±1,82 ^a	6,25±1,85 ^a	6,32±1,66 ^a	6,36±1,91 ^a
Sabor de banana	6,29±1,94 ^a	6,65±1,59 ^a	6,50±1,68 ^a	6,44±1,69 ^a
Sabor de goaba	7,00±1,92 ^a	7,05±1,83 ^a	6,70±1,76 ^a	6,97±1,89 ^a
Doçura	6,97±1,81 ^a	7,08±1,58 ^a	6,95±1,59 ^a	7,08±1,78 ^a
Consistência	6,56±2,04 ^a	6,88±1,79 ^a	6,69±1,72 ^a	7,19±1,73 ^a
Impressão global	6,70±1,91 ^a	6,99±1,52 ^a	6,58±1,77 ^a	7,25±1,64 ^a

Notas: *a,b,c médias na mesma linha, seguidas por letras diferentes, apresentaram diferença significativa entre si;

T3-8% soja e 3% farinha de banana; *T2-8% soja e 2% farinha de banana; ****T3- 8% banana e 4% farinha de banana; *****T4-8% soja;

Escala Hedônica: (9) Gostei extremamente; (8) Gostei muito; (7) Gostei moderadamente; (6) Gostei ligeiramente; (5) Indiferente; (4) Desgostei ligeiramente; (3) Desgostei moderadamente; (2) Desgostei muito; (1) Desgostei extremamente.

Considerando-se os demais atributos como aparência, aroma, sabor de soja, doçura, consistência e impressão global, a amostra 295 também apresentou os melhores resultados sendo todos na categoria *gostei moderadamente*, denotando que a formulação sem a adição de farinha de banana, tenha apresentado uma repercussão sensorial positiva, quando comparada com as demais amostras. O fato desta amostra não ser adicionada de farinha de banana, não interferiu na avaliação do atributo de sabor de banana, com relação aos demais tratamentos, não havendo diferença significativa (p-valor >0,05).

Notou-se que, embora esta amostra tenha apresentado uma avaliação para o atributo de impressão global entre as categorias *gostei moderadamente* e *gostei muito*, não houve diferença significativa (p-valor >0,05) entre os tratamentos.

Na Tabela 23 estão apresentados os dados sobre a avaliação sensorial de quatro formulações de bebida fermentada de soja.

Observou-se que não houve diferença significativa para os atributos de aroma de banana e sabor de soja (p-valor >0,05). Como a farinha de banana, adicionada às formulações T6, T7 e T8, respectivamente, não apresentaram aroma característico de banana, quando se comparou essas amostras com a amostra T5 (sem adição de farinha de banana), não houve diferença entre as amostras.

Tabela 23 Escore médio e desvio padrão obtidos pelo teste de escala hedônica para as formulações com 10% de soja

Atributos/amostras	*média dos atributos			
	** (T8)	*** (T5)	**** (T6)	***** (T7)
Cor	5,75±1,82 ^a	7,91±1,37 ^b	6,13±1,93 ^a	6,01±1,61 ^a
Aparência	5,83±1,82 ^a	7,79±1,34 ^b	6,23±1,71 ^a	6,07±1,64 ^a
Aroma de banana	5,82±1,67 ^a	6,12±1,58 ^a	6,04±1,47 ^a	5,96±1,50 ^a
Sabor de soja	5,78±1,63 ^a	6,22±1,62 ^a	5,97±1,63 ^a	5,87±1,65 ^a
Sabor de banana	5,94±1,67 ^a	6,31±1,67 ^b	6,22±1,54 ^{ab}	5,87±1,57 ^a
Sabor de goiaba	6,7±1,68 ^{ab}	7,02±1,77 ^b	6,75±1,64 ^{ab}	6,57±1,85 ^a
Doçura	6,12±2,17 ^{ab}	7,03±1,63 ^c	6,51±1,91 ^b	6,07±1,93 ^a
Consistência	6,38±1,89 ^a	7,43±1,51 ^b	6,77±1,60 ^a	6,50±1,89 ^a
Impressão global	6,32±1,58 ^a	7,48±1,25 ^b	6,59±1,43 ^a	6,29±1,56 ^a

Notas: *a,b,c médias na mesma linha, seguidas por letras diferentes, apresentaram diferença significativa entre si;

T8-10% soja e 4% farinha de banana; *T5-10% soja ; ****T6- 10% soja e 2% farinha de banana; *****T7-10% soja e 3% farinha de banana;

Escala Hedônica: (9) Gostei extremamente; (8) Gostei muito; (7) Gostei moderadamente; (6) Gostei ligeiramente; (5) Indiferente; (4) Desgostei ligeiramente; (3) Desgostei moderadamente; (2) Desgostei muito; (1) Desgostei extremamente.

Os demais atributos, cor, aparência, sabor de banana, sabor de goiaba, doçura, consistência e impressão global apresentaram diferença significativa (p-valor <0,05).

A amostra T5 apresentou os melhores resultados para todos os atributos, denotando a classificação entre as categorias *gostei ligeiramente* e *gostei muito*, seguida da amostra T6 com 10% soja e 2% farinha de banana, entre as categorias *gostei ligeiramente* e *gostei moderadamente*, o que denota que esta formulação apresentou uma aceitação satisfatória perante os consumidores.

Na Tabela 24 estão apresentados os dados sobre a avaliação sensorial de quatro formulações de bebida fermentada de soja.

A amostra 910 apresentou o melhor resultado para o atributo cor, situando-se na categoria *gostei moderadamente*, e as amostras 863, 714 e 259, apresentaram-se na categoria *gostei ligeiramente*. Para o atributo de aparência, a amostra 910 também demonstrou um melhor comportamento, ou seja, classificou-se como *gostei moderadamente*, enquanto as demais amostras, situaram-se na categoria *gostei ligeiramente*.

Os atributos cor, aparência, aroma de banana, sabor de soja, sabor de banana, sabor de goiaba e doçura apresentaram diferença significativa (p-valor <0,05), em todos as amostras. Os atributos de consistência e impressão global, não apresentaram diferença significativa (p-valor >0,05), embora a amostra 863 (12% soja e 2% farinha de banana), apresentou a maior média para o atributo de impressão global, na categoria *gostei ligeiramente*.

Tabela 24 Escore médio e desvio padrão obtidos pelo teste de escala hedônica para as formulações com 12% de soja.

Atributos/amostras	*média dos atributos			
	** (T9)	*** (T10)	**** (T11)	***** (T12)
Cor	7,41±1,46 ^c	6,38±1,64 ^b	5,97±1,71 ^a	5,89±1,85 ^a
Aparência	7,17±1,60 ^c	6,47±1,62 ^b	6,04±1,69 ^a	5,85±1,89 ^a
Aroma de banana	5,57±1,87 ^a	5,91±1,47 ^{ab}	5,87±1,38 ^{ab}	5,99±1,62 ^b
Sabor de soja	5,34±2,02 ^b	5,83±1,69 ^a	5,77±1,60 ^a	5,62±1,89 ^{ab}
Sabor de banana	5,19±1,98 ^b	5,75±1,72 ^a	5,91±1,62 ^a	5,77±1,82 ^a
Sabor de goaba	5,93±1,87 ^a	6,47±1,80 ^b	6,15±1,68 ^{ab}	6,07±1,69 ^{ab}
Doçura	5,52±2,06 ^b	6,43±1,77 ^a	6,37±1,64 ^a	6,22±1,78 ^a
Consistência	6,42±1,75 ^a	6,59±1,48 ^a	6,47±1,39 ^a	6,44±1,50 ^a
Impressão global	6,17±1,86 ^a	6,38±1,51 ^a	6,19±1,50 ^a	6,27±1,63 ^a

Notas: *a,b,c médias na mesma linha, seguidas por letras diferentes, apresentaram diferença significativa entre si;

T9-12% soja; *T10-12% soja e 2% farinha de banana; ****T11- 12% soja e 3% farinha de banana; *****T12-12% soja e 4% farinha de banana;

Escala Hedônica: (9) Gostei extremamente; (8) Gostei muito; (7) Gostei moderadamente; (6) Gostei ligeiramente; (5) Indiferente; (4) Desgostei ligeiramente; (3) Desgostei moderadamente; (2) Desgostei muito; (1) Desgostei extremamente.

Na Tabela 25 estão apresentados os dados sobre a avaliação sensorial de três formulações de bebida fermentada de soja.

Tabela 25 Escore médio e desvio padrão obtidos pelo teste de escala hedônica para as três melhores formulações

Atributos/amostras	*Média dos atributos		
	** (T10)	*** (T9)	**** (T1)
Cor	6,49±1,56 ^a	6,38±1,63 ^a	6,97±1,24 ^b
Aparência	7,24±1,54 ^a	6,70±1,54 ^b	6,06±1,85 ^c
Aroma de banana	5,40±1,88 ^b	6,01±1,19 ^a	6,22±1,66 ^a
Sabor de soja	5,10±2,08 ^b	6,02±1,48 ^a	6,17±1,33 ^a
Sabor de banana	5,80±1,11 ^a	6,03±1,21 ^{ab}	6,13±1,26 ^b
Sabor de goaba	6,14±1,37 ^a	6,52±1,76 ^a	6,25±1,76 ^a
Doçura	6,25±1,34 ^a	6,62±1,34 ^b	6,60±1,24 ^{ab}
Consistência	6,43±1,75 ^{ab}	6,24±1,69 ^a	6,85±1,59 ^b
Impressão global	6,54±1,14 ^b	6,93±1,23 ^a	6,87±1,31 ^a

Notas: *a,b,c médias na mesma linha, seguidas por letras diferentes, apresentaram diferença significativa entre si;

T10-12% soja e 2% de farinha de banana;-; *T9-10% soja ;****T1- -8% soja;

Escala Hedônica: (9) Gostei extremamente; (8) Gostei muito;(7) Gostei moderadamente; (6) Gostei ligeiramente; (5) Indiferente; (4) Desgostei ligeiramente; (3) Desgostei moderadamente; (2) Desgostei muito; (1) Desgostei extremamente.

A amostra T1 (8% soja) apresentou a melhor avaliação para o atributo cor, classificando-se na categoria *gostei moderadamente*. As amostras T9 e T10 situaram-se na categoria *gostei ligeiramente*.

A cor é considerada um importante atributo sensorial, sendo associada a muitos momentos sociais da vida humana, interferindo em decisões de escolha dos alimentos (CLYDESDALE, 1994) e representa um dos maiores atributos que incidem sobre a percepção do consumidor quanto à qualidade (HUTCHINGS, 2005). A primeira impressão que se tem de um alimento é geralmente visual, sendo que a cor é um dos aspectos fundamentais na qualidade e aceitação do produto, pois tem muita influência na decisão de compra do consumidor, bem como na expectativa do sabor correspondente (DUTCOSKY, 2007; OFOSU *et al.*, 2010) e pode ser um indicador da presença de características não sensoriais como o bolor, do processamento excessivo e também da presença de pigmentos (MOYANO *et al.*, 2008).

A cor tem uma posição preeminente na estimativa da qualidade de frutas, bebidas, óleos e emulsões não lácteas (GONZALEZ-MIRET MARTIN *et al.*, 2007; MOYANO *et al.*, 2008; GRANATO, 2009).

Os atributos de aparência, aroma de banana, sabor de soja, sabor de banana, doçura, consistência, impressão global apresentaram diferença significativa (p -valor $<0,05$) e o atributo de sabor de goiaba não apresentou diferença significativa entre as amostras (p -valor $>0,05$), classificando-se como *gostei ligeiramente*.

As amostras T1 e T10 respectivamente apresentaram-se na categoria *gostei moderadamente*, para o atributo de impressão global e os melhores escores. A amostra 863 (12% soja e 2% de farinha de banana) situou-se na categoria *gostei ligeiramente*.

Entretanto, as três (T1, T9 e T10) formulações classificaram-se na categoria *gostei moderadamente*, do Teste de Escala Hedônica, denotando uma possibilidade satisfatória de consumo destes produtos, resultados superiores aos encontrados por outros pesquisadores (UMBELINO *et al.*, 2001).

5.9.2 Análise de componentes principais para as três melhores formulações

Observa-se na Figura 14 que o primeiro fator explica 19,51%, caracterizado pelos atributos aroma de banana, cor, impressão global, consistência, aparência, sabor de banana, doçura e o segundo fator explica 14,16% da variação total dos dados, caracterizado pelos atributos sabor de goiaba, sabor de soja e, nestes fatores, todos os atributos obtiveram carga fatorial fraca e em direções opostas, apontando que todos os atributos se correlacionaram fracamente entre si, tendo seus comportamentos explicados por duas dimensões, para a amostra com 8% de soja (295).

Dada a pouca variabilidade explicada pelos fatores, a correlação inversa evidenciada pelos atributos tem pouca importância, dada a sua baixa contribuição de explicação para variabilidade total.

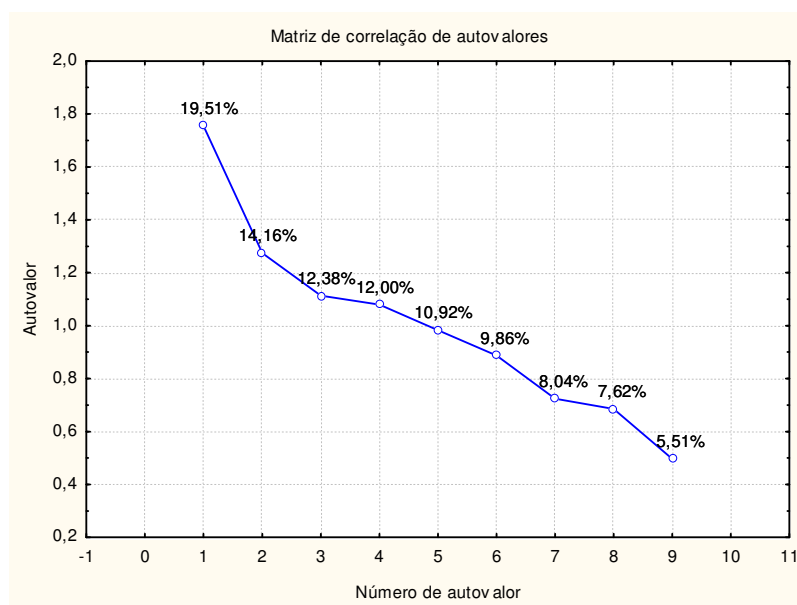


Figura 14 Matriz de correlação da amostra com 8% de soja (T1).

Observou-se na Figura 15, que o tratamento com 8% de soja (T1), apresentou maior intensidade, em relação aos atributos avaliados, como a cor sabor de banana, aroma de banana, doçura, aparência, consistência e impressão global, uma correlação inversa, ou seja, menor intensidade para as características avaliadas de sabor de soja, sabor de goiaba.

O tratamento com 8% de soja (T1), apresentou uma correlação inversa entre os atributos de aroma de banana e sabor de goiaba, com fatores de correlação de 0,52 e 0,16, e as características de sabor de banana e doçura, ou seja, estes atributos apresentaram fatores de correlação de 0,58 e 0,49, respectivamente, o que denota uma correlação melhor entre estes.

Conclui-se que as características cor, sabor de banana, aroma de banana, doçura, aparência e impressão global apresentaram os melhores resultados.

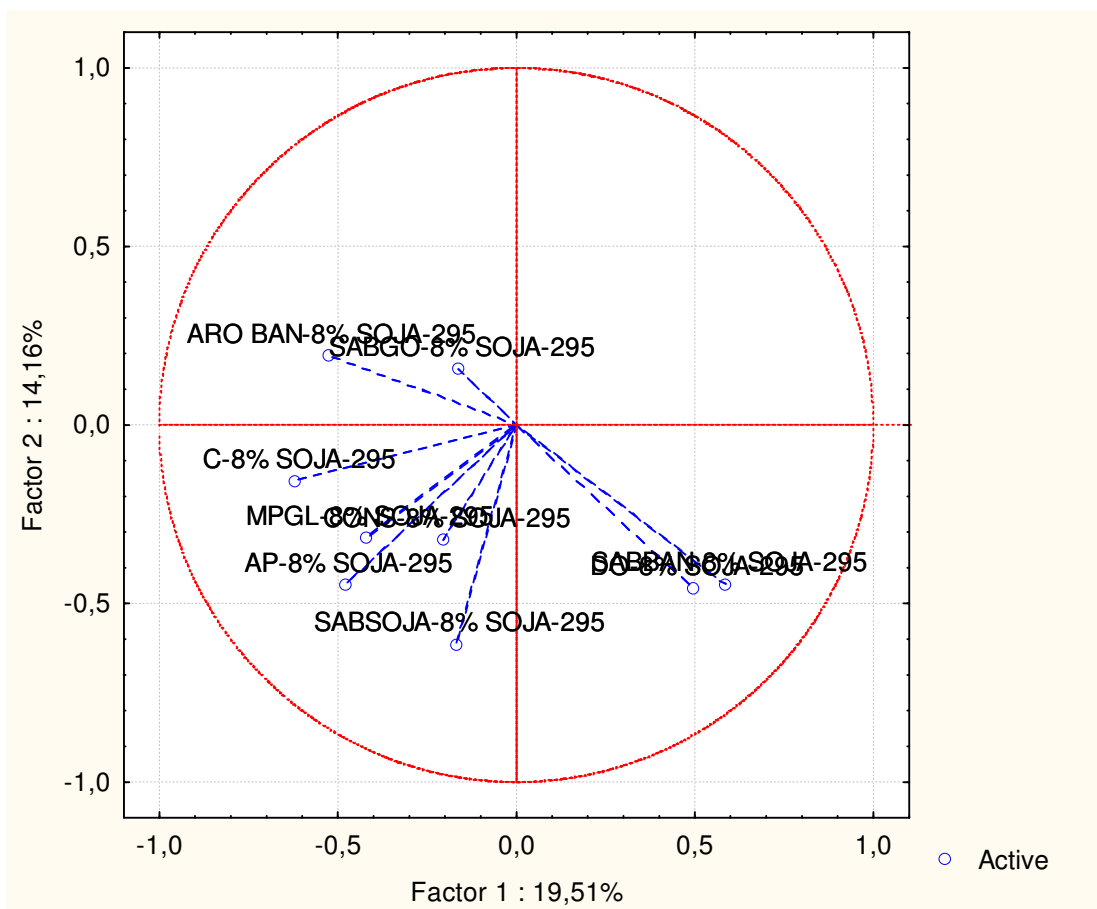


Figura 15 Projeção de variáveis da amostra com 8% de soja (T1).

Observa-se através da Figura 16, que o primeiro fator explica 18,38%, sendo caracterizado pelos atributos aroma, cor, sabor de soja e aparência, e o segundo fator explica 14,33% da variação total dos dados, caracterizado pelos atributos consistência, impressão global, sabor goiaba, doçura e sabor banana. Nestes fatores, todos os atributos obtiveram carga fatorial fraca e em direções opostas, apontando que todos os atributos se correlacionaram fracamente entre si, tendo seus comportamentos explicados por duas dimensões, para a amostra com 10% de soja (T5).

Dada a pouca variabilidade explicada pelos fatores, a correlação inversa evidenciada pelos atributos tem pouca importância, dada a sua baixa contribuição de explicação para variabilidade total.

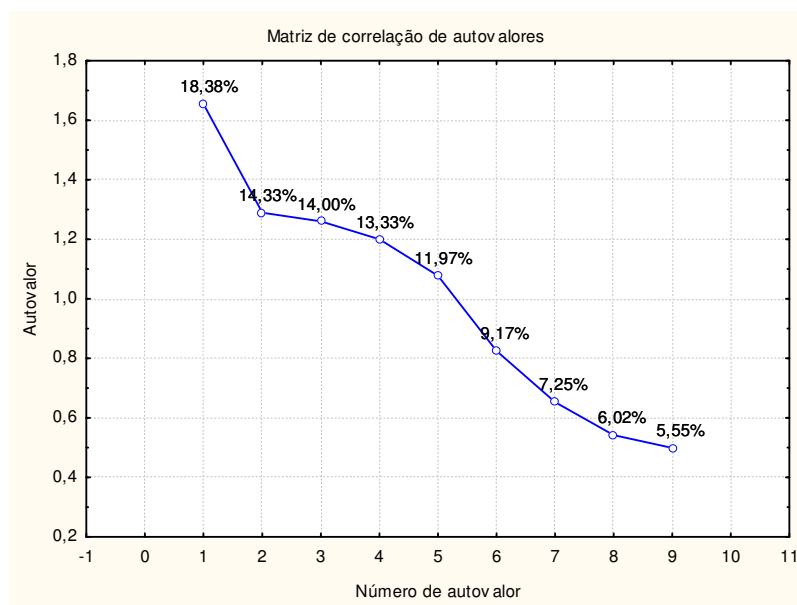


Figura 16 Matriz de correlação da amostra com 10% de soja (T5).

Na Figura 17 verifica-se que o tratamento com 10% de soja (T5), apresentou maior intensidade para os atributos avaliados, como a aparência, aroma de banana, cor e impressão global, e menor intensidade para as características como o sabor de banana, consistência, doçura, sabor de goiaba e sabor de soja.

O tratamento com 10% de soja (T5) apresentou uma correlação inversa entre os atributos de consistência, sabor de banana, doçura, sabor de soja e aparência, com fatores de correlação de 0,14, 0,006, 0,17, 0,59 e 0,64, respectivamente. Também apresentou uma correlação inversa entre os atributos de impressão global, sabor de goiaba, cor e aroma de banana, com fatores de correlação de 0,40, 0,20, 0,46, e 0,63, respectivamente. Conclui-se que as características cor, sabor de soja, aroma de banana, aparência e impressão global apresentaram os melhores resultados.

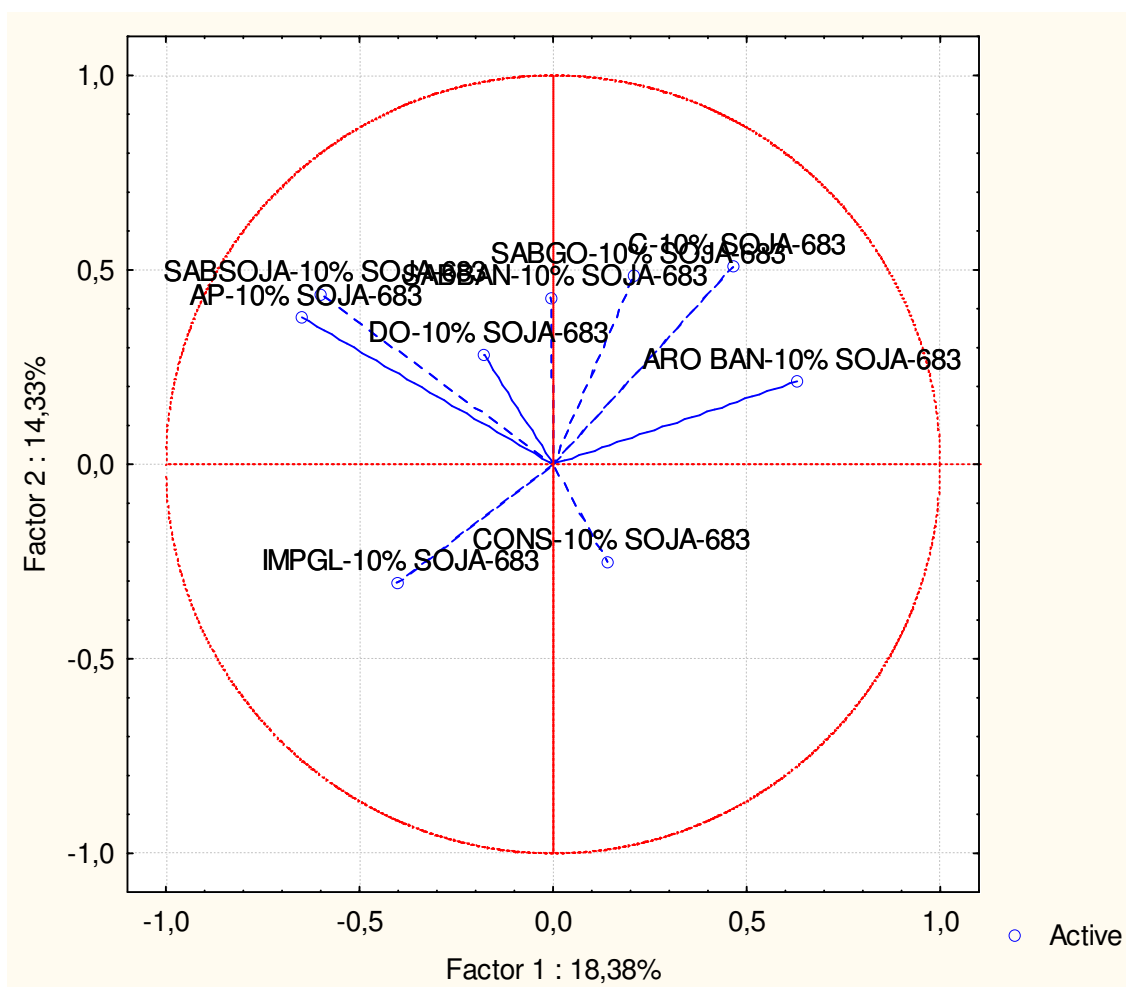


Figura 17 Projeção de variáveis da amostra com 10% de soja (T5).

Na Figura 18 verifica-se que o primeiro fator explica 16,95%, caracterizado pelos atributos cor, aroma, impressão global e aparência, e o segundo fator explica 15,22% da variação total dos dados, caracterizado pelo atributos doçura, sabor soja, consistência, sabor banana e sabor goiaba. Nestes fatores, todos os atributos obtiveram carga fatorial fraca e em direções opostas, apontando que todos os atributos se correlacionaram fracamente entre si, tendo seus comportamentos explicados por duas dimensões, para a amostra com 12% de soja e 2% de farinha de banana (Amostra T10).

Dada a pouca variabilidade explicada pelos fatores, a correlação inversa evidenciada pelos atributos tem pouca importância, dada a sua baixa contribuição de explicação para variabilidade total.

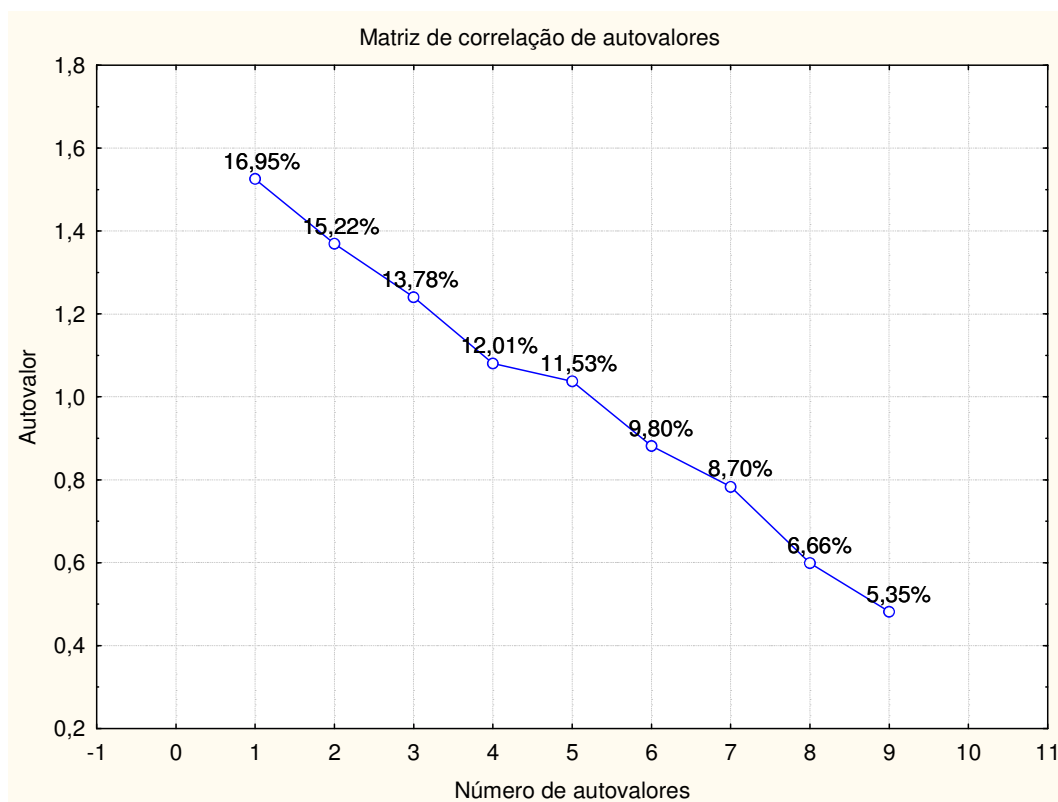


Figura 18 Matriz de correlação da amostra com 12% de soja e 2% de farinha de banana (T10).

Na Figura 19 verifica-se que o tratamento com 12% de soja e 2% farinha de banana (T10) apresentou maior intensidade para os atributos avaliados, como a cor, aparência, sabor de banana, sabor de soja, aroma de banana, e menor intensidade para as características de sabor de goiaba, consistência, doçura, e impressão global.

O tratamento 10, apresentou uma correlação inversa entre os atributos de consistência, aroma de banana, sabor de banana, doçura e sabor de goiaba, com fatores de correlação de 0,015, 0,47, 0,52, 0,17, e 0,018, respectivamente.

Todavia, o tratamento 10 apresentou uma correlação inversa entre os atributos de sabor de soja, aparência, cor e impressão global, com fatores de correlação de 0,48, 0,53, 0,61 e 0,28, respectivamente.

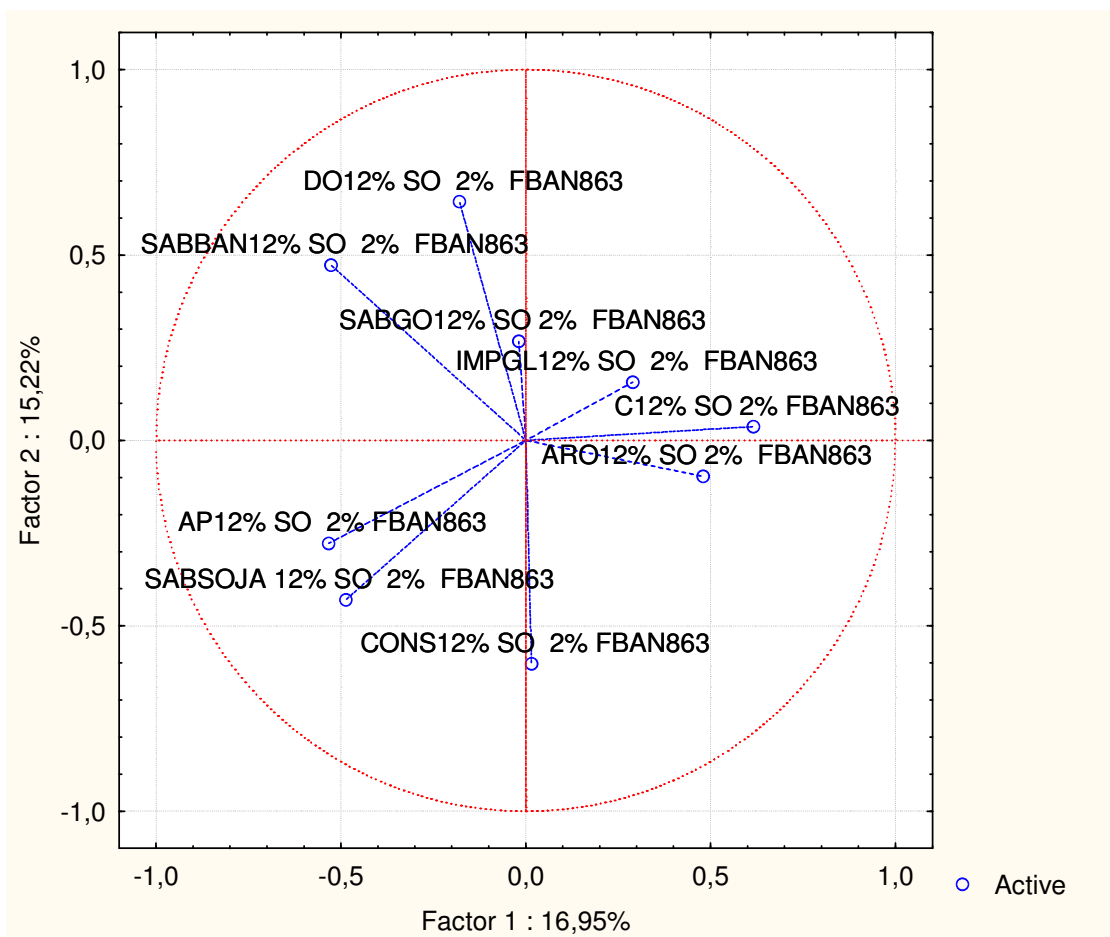


Figura 19 Projeção de variáveis da amostra T10.

Conclui-se que as características cor, aparência, sabor de banana, sabor de soja e aroma de banana apresentaram os melhores resultados.

5.9.3 Teste de intenção de compra das três melhores amostras

A Figura 20 são visualizados os dados referentes a atitude de compra das três amostras de bebida fermentada de soja.

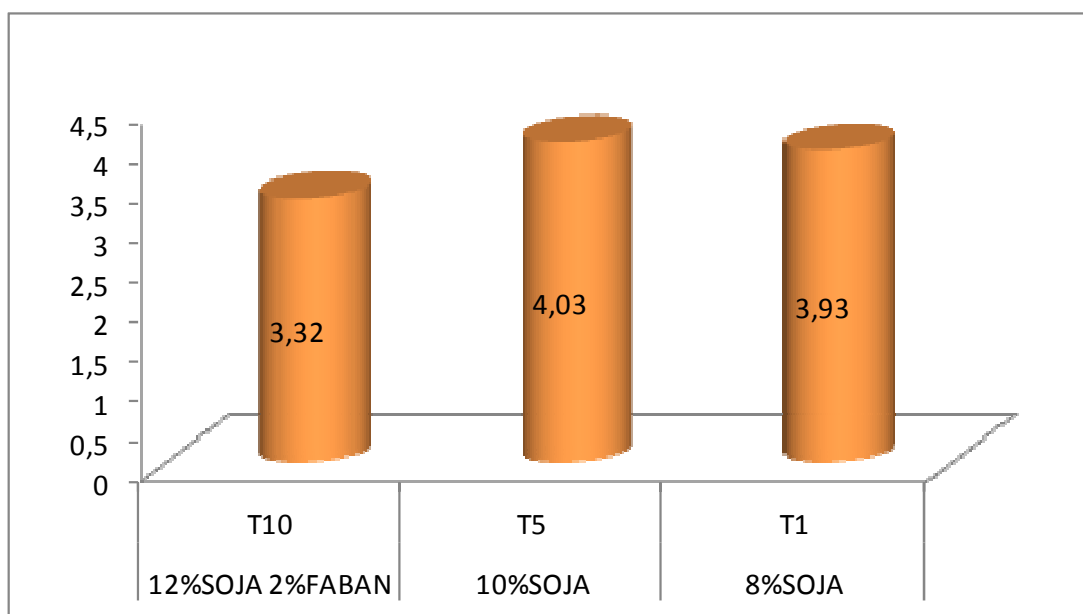


Figura 20 Dados sobre a atitude de compra da bebida fermentada.

Verificou-se que a amostra T10, contendo 12% de extrato de soja e 2% de farinha de banana, apresentou-se na categoria *Talvez comprasse/Talvez não comprasse*, o que denota uma possibilidade de aquisição deste produto por 33,33% dos consumidores, incentivando a implementação de atributos de menor intensidade, como sabor de goiaba, consistência, doçura e impressão global, e, dessa maneira, favorecer o consumo desta formulação adicionada de farinha de banana.

As amostras com 8% e 10% de soja (T1 e T5) situaram-se na categoria *Possivelmente compraria*, o que denota uma atitude muito satisfatória de consumo.

Na Figura 21 visualizam-se os dados referentes ao Índice de Aceitabilidade das três formulações entre os consumidores.

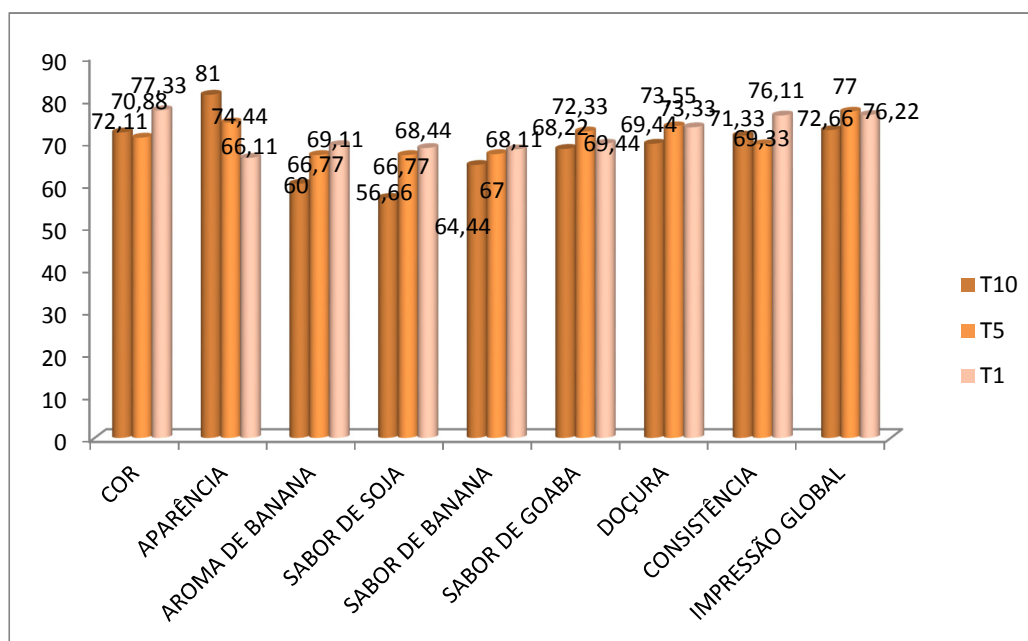


Figura 21 Índice de aceitabilidade das três formulações entre os consumidores.

Nota: *T10-12% soja e 2% de farinha de banana; ***T5-10% soja ; ****T1- -8% soja.

Verificou-se que a formulação com 12% de soja e 2% de farinha de banana (T10) apresentou Índice de Aceitabilidade (IA) acima de 70%, para os atributos cor, aparência e consistência, e abaixo de 70% para os atributos aroma de banana, sabor de soja, sabor de banana, sabor de goiaba e doçura, o que sugere que essas características devam ser aprimoradas, para melhorar a sua aceitabilidade. As amostras com 8% e 10% de soja (T1 e T5, respectivamente) alcançaram acima de 70% de Índice de Aceitabilidade, para o atributo doçura, o que denota que a quantidade de sacarose utilizada é satisfatória.

Atributos sensoriais como a cor, sabor e textura são características sensoriais que estão entre os principais determinantes na aquisição de um produto, assim como aceitação e preferência dos produtos alimentícios por diferentes faixas etárias, além de contribuírem para o monitoramento da qualidade dos mesmos (CUNHA *et al.*, 2009).

As três formulações apresentaram um Índice de Aceitabilidade para a Impressão Global acima de 70%, o que denota que os consumidores apreciaram estes produtos. Um IA igual ou acima de 70% significa um comportamento de consumo satisfatório, caso os produtos sejam lançados no mercado consumidor (MONTEIRO, 1984; DUTCOSKY, 2007). Os resultados obtidos estão acima daqueles encontrados por outros pesquisadores (RINALDONI; CAMPDERRÓS; PADILLA, 2012), que obtiveram apenas 40% de aceitabilidade para produtos com soja e fibra dietética solúvel como a inulina.

Embora os produtos a base de soja apresentem uma pequena alteração nas suas características sensoriais, são consumidos devido aos seus benefícios para a saúde humana (BAÚ; GARCIA; IDA, 2014).

Os produtos elaborados podem representar uma alternativa alimentar, uma vez que os produtos à base de soja não são aceitos, devido ao sabor e gosto indesejáveis, embora apresentem elevado valor nutricional (SILVA, *et al.*, 2010).

A qualidade sensorial é definida como resultado da interação entre o alimento e o homem, ou seja a associação das características físicas, químicas com os aspectos fisiológicos, étnicos, psicológicos e culturais do ser humano, o que representa um entendimento das expectativas de consumo dos indivíduos, sendo que a ciência sensorial permeada pelo desenvolvimento de novos produtos, pode auxiliar neste estudo (MENDONÇA, 2010).

6 CONCLUSÕES

Considerando os objetivos propostos e diante dos resultados obtidos no presente estudo, pode-se inferir que:

- A adição de maior percentual de extrato hidrossolúvel de soja e de farinha de banana verde ocasionaram maior diminuição do pH, do tempo total de fermentação da bebida e o consumo de carboidratos totais.

- As contagens microbiológicas de bactérias lácticas totais, após o processo de fermentação, evidenciaram que houve maior desenvolvimento destas, denotando diferença significativa ($p < 0,05$) em alguns tratamentos, quando houve adição de maior percentual de farinha de banana verde em pó.

- As contagens de bactérias lácticas totais foram superiores à maioria das bebidas fermentadas e dos iogurtes atualmente no mercado, dentro do limite estabelecido pela legislação para um produto fermentado ser considerado probiótico, por um período de 35 dias.

- A farinha de banana verde influenciou positivamente na viabilidade dos micro-organismos probióticos em estudo, quando adicionada até o percentual de 3% p/v, e com a adição de farinha de banana verde, todos os tratamentos apresentaram valores de 2 a 3% de fibra alimentar, podendo serem considerados uma boa fonte de fibra alimentar, segundo o regulamento técnico.

- Todas as amostras, submetidas ao teste afetivo de escala hedônica, apresentaram Índice de aceitabilidade superior a 70%, para impressão global do produto.

- O processo de adição de maior percentual de extrato hidrossolúvel de soja e farinha de banana em pó, possibilitou a obtenção de uma bebida fermentada estável do ponto de vista microbiológico. O produto pode ser uma alternativa para incrementar o consumo de bebidas fermentadas simbióticas sem lactose, ricas em fibras e contendo altas doses de micro-organismos probióticos viáveis. A maior contagem de bactérias lácticas totais foi obtida com temperatura de 42 °C e 61h de fermentação.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos permitem, ainda:

- Sugerir a realização de um estudo acerca da quantidade final de cada tipo de micro-organismo após a fermentação, bem como o estudo de outros vegetais em pó para aumentar também o tempo de vida de prateleira do produto, e conseguir diferente aceitação sensorial.
- Realizar o estudo utilizando diferentes culturas lácticas, contendo diferentes micro-organismos, a fim de avaliar o comportamento destes no novo produto.
- Analisar mais detalhadamente o comportamento de compostos antimicrobianos como a presença de taninos, frente à fermentação.

REFERÊNCIAS

ADETUNJI, O. A; BETIKU, E; OJO, A; SOLOMON, B. O. Effect of some selected processing routes on the nutritional value of soy yoghurt. **Journal of applied sciences**, 527-530, 2006.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA - ANVISA. Alimentos com alegações de propriedades funcionais e ou de saúde, novos alimentos/ingredientes, substâncias bioativas e probióticos: lista de alegações de propriedade funcional aprovadas. IX - Lista de Alegações de Propriedade Funcional Aprovadas. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, julho de 2008. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno_lista_alega.htm>. Acesso em: 25 jun. 2014.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA - ANVISA. Alimentos com alegações de propriedades funcionais e ou de saúde, novos alimentos/ ingredientes, substâncias bioativas e probióticas. 2007. Disponível em:> http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno_lista_alega.htm. Acesso em: 23 mar 2013.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA - ANVISA. Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos. Resolução CNNPA n. 12 de 1978a. **Diário Oficial da União**, Brasília, 24 de Julho de 1978. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 16 de março de 2015.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA - ANVISA. Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos. Resolução CNNPA n. 14, de 28 de junho de 1978. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 28 jun. 1978b. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/anvisalegis/resol/14_78.htm#. Acesso em: 28 mai 2014.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA - ANVISA. **RDC nº 91**, de 18 de outubro de 2000. Aprova o regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de alimento com soja. Disponível em:> http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/c2e95a80474588a39265d63fbc4c6735/RDC_91_2000.pdf?MOD=AJPERES.> acesso em: 26 abr 2013.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA - ANVISA. **Resolução nº 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. Disponível em: http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/815ada0047458a7293e3d73fbc4c6735/RESOLUCAO_18_1999.pdf?MOD=AJPERES. Acesso em: 25 abr. 2013.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA - ANVISA. Resolução RDC n. 268, de 22 de setembro de 2005. Aprova o regulamento técnico para produtos proteicos de origem vegetal. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 23 set. 2005.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA ANVISA. Legislação. VisaLegil. **Resolução RDC nº 2**, de 07 de janeiro de 2002. Aprova o regulamento técnico de substâncias bioativas e probióticos isolados com alegação de propriedades funcional e ou de saúde. Disponível em <http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=1567&word>. Acesso em: 29 out. 2014.

AGUILAR, C.N.; GUTIÉRREZ-SANCHEZ, G. Review: sources, properties, applications and potential uses of tannin acyl hydrolase. **Food Sci. Technol. Int.** v. 7, p.373-382, 2001.

AGYEI, D.; APOSTOLOPOULOS, V.; DANQUAH, M. Rethinking Food-derived Bioactive Peptides for Antimicrobial and Immunomodulatory activities. **Trends in Food Science & Technology**, Elsevier. 2011.

AHMAD, N.; LI, L.; YANG, X.-Q.; NING, Z.-X.; RANDHAWA, M.A. Soy cheese flavour improvement. **Food Technology and Biotechnology**, v. 46, p. 252–261, 2008.

AKALIN, A. S.; FENDERYA, S.; AKBULUT, N. Viability and activity of bifidobacteria in yoghurt containing fructooligosaccharide during refrigerated storage. **International Journal of Food Science and Technology**, Oxford, v. 39, n. 6, p. 613-621, 2004.

ALTERMANN, E.; RUSSEL, W. M.; AZCARATE-PERIL, M. A.; BARRANGOU, R.; BUCK, B. L.; McAULIFFE, O.; SOUTHER, N.; DOBSON, A.; DUONG, T.; CALLANAN, M.; LICK, S.; HAMRICK, A.; CANO, R.; KLAENHAMMER, T. R. Complete genome sequence of the probiotic lactic acid bacterium *Lactobacillus acidophilus* NCFM. **Proceedings National Academy Science**, v. 102, n. 11, p. 3906-3912, 2005.

AMARAL, A. C. C.; PIRES, C. L. da S.; KEIBER, M.; BATISTA, M. G.; SANTA, H. S. D.; NOVELLO, D.; Características físico-químicas e sensoriais de iogurte adicionado de micélio de cogumelo agaricus brasiliensis produzido por cultivo submerso em bagaço de uva. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**, Três Corações, v. 12, n. 2, p. 1050-1062, ago./dez. 2014.

AMARO, T. **Avaliação do efeito bifidogênico da banana verde (Musa paradisiaca) sobre o trato gastrointestinal de Rattus norvegicus**. 2012. 60 f. Graduação (Ciências Biológicas) - Centro Universitário de Volta Redonda, Volta Redonda, Rio de Janeiro, 2012.

AN, H. M.; PARK, S. Y.; LEE, D. K.; KIM, J. R.; CHA, M. K.; LEE, S. W.; HA, N. J. Antiobesity and lipid-lowering effects of *Bifidobacterium* spp. in high fat diet-induced obese rats. **Lipids Health Dis**, v. 10, p. 116, 2011.

ANDRADE, E. H. P. Qualidade físico-química, microbiológica e detecção de soro lácteo por cromatografia líquida de alta eficiência em bebidas lácteas fermentadas. 2010. 68 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária, Belo Horizonte, 2010.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE INDÚSTRIAS DE ALIMENTOS - ABIA. **Alimentos funcionais**: tendências de mercado. 2008. Disponível em: <<http://www.abia.org.br/noticias.asp>>. Acesso em: 22 fev. 2013.

AURELI, P.; FIORE, A.; SCALFARO, C.; CASALE, M.; FRANCIOSA, G. National survey outcomes on commercial probiotic food supplements in Italy. **International Journal of Food Microbiology**, v. 137, p. 265–273, 2010.

AWAISHEH, S. S. **Probiotic food product classes, types, and processing**. Probiotics, Prof. Everlon Rigobelo (Ed.), ISBN: 978-953-51-0776-7, In: Tech, DOI: 10.5772/51267. Disponível em: <http://www.intechopen.com/books/probiotics/probiotic-food-products-classes-types-and-processing>. Acesso em: 2012.

AXELSSON L. Lactic acid bacteria: classification and physiology. In: SALMINEN, S. VON RIGHT. A. OUWEHAND, A. (edi.). **Lactic acid bacteria**: microbiological and functional aspects. 2004. p. 1-66.

BADARÓ, A. C. L.; GUTTIERRES, A. P. M.; REZENDE, A. C. V.; STRINGHETA, P. C.; Alimentos Probióticos: Aplicações Como Promotores da Saúde Humana –Parte 1. **Revista Digital de Nutrição Nutrir Gerais** – Ipatinga: Unileste - MG. v. 2, n. 3. ago./dez. 2008.

BANERJEE, D.; KAR, B. Biosynthesis of tannin acyl hydrolase from tannin-rich forest residue under different fermentation conditions. **J. Ind. Microbiol. Biotechnol.** v. 25, p. 29-38, 2000.

BARBETTA, P. A. **Estatística aplicada às ciências sociais**. 5. ed. rev Florianópolis: Ed. UFSC, 2002. 340 p.

BARBOSA, A. S. *et al.* Avaliação do perfil microbiológico de gelados - comestíveis comercializado em Campina Grande – PB. **Revista Verde**, Mossoró – RN, v. 5, n. 3, p. 63-79 jul. /set. 2010.

BARRETO, Clarissa A. **Os impactos socioambientais do cultivo de soja no Brasil**. 2009. Disponível em: http://www.anppas.org.br/encontro_anual/encontro2/GT/GT05/clarissa_barreto.pdf. Acesso em: 8 jul 2013.

BARUFFALDI, R.; OLIVEIRA, M. N. **Fundamentos de tecnologia de alimentos**. São Paulo: Atheneu, 1998.

BAÚ, T. R.; SANDRA GARCIA, S.; IDA, E. I. Evaluation of a functional soy product with addition of soy fiber and fermented with probiotic Kefir culture. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 57, n. 3, p. 402-409, 2014.

BAVIA, A. C. F.; SILVA, C. E.; FERREIRA, M. P.; LEITE, R. S.; MANDARINO, J. M. G.; CARRÃO-PANIZZII, M. C. Chemical composition of *tempeh* from soybean cultivars specially developed for human consumption. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas. v. 32, n. 3, p. 613-620. 2012.

BEHRENS, J. H.; ROIG, S. M.; SILVA, M. A. A. P. Fermentation of soymilk by commercial lactic cultures: development of a product with market potential. **Acta Aliment.**, v. 33, p. 101-109, 2004.

BENEO® HP. (2013). *Product Sheet Beneo® HP*, Orafti, DOC.A4-05*01/02-B. Disponível em: <http://www.orafti.com>. Acesso em: 4 fev. 2014.

BENEVIDES, C. M. J. *et al.* Fatores antinutricionais em alimentos: revisão. **Revista Segurança Alimentar e Nutricional**. Campinas, v. 18, n.2, 2011. Disponível em: <http://www.unicamp.br/nepa/arquivo_san/volume_18_2_2011/nepa_cap6.pdf>. Acesso em: 29 out. 2014.

BIANCO, A. L. A construção das alegações de saúde para alimentos funcionais. Brasília: Embrapa, 2008. 113 p.

BIOGEN IDEC. **Organismo equilibrado**. Disponível em: <http://www.programabia.com.br/interna.php?id=147&cat=3>. Acesso em: 4 abr. 2011.

BIZIULEVIČIUS, G.; KISLUKHINA, O.; KAZLAUSKAITE, J.; ŽUKAITE, V. Foodprotein enzymatic hydrolysates possess both antimicrobial and immunostimulatory activities: a 'cause and effect' theory of bifunctionality. **Immunology & Medical Microbiology**, Wiley Online Library, v. 46, p 131-138. 2006.

BOLLING, B.; BLUMBERG, J.; CHEN, C. Extraction methods determine the antioxidant capacity and induction of quinone reductase by soy products in vitro. **Food Chemistry, Elsevier**. 116: 351-355. 2009.

BORTOLOZO, E. Q; QUADROS, M. E. R. Aplicação de inulina e sucralose em iogurte. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, Campina Grande – PB, v. 1, p. 37-47. 2007.

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

BRAGA, A. C. C; NETO, E. F. A.; VILHENA, M. J. V. Elaboração e caracterização de iogurtes adicionados de polpa e de xarope de mangostão (garcinia mangostana) **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v. 14, n. 1, p. 77-84, 2012 ISSN 1517-8595.

BRANDÃO, W. A. P. L. N. T. M. **Elaboração de bebida fermentada simbiótica de soro lácteo**. 2007. 72 f. Dissertação (Ciência de Alimentos) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis – Santa Catarina, 2007,

BRASIL Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Animal. Métodos Analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes: métodos físico-químicos. **Diário Oficial da União**. Brasília: v. 2, cap. 14, p. 4-5, 1981.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Instrução Normativa nº.46 de 23/10/2007. **Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados**. Brasília, 2007.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Bebidas Lácteas**. Instrução Normativa Nº. 36, 31 de outubro de 2000. Brasília: MAPA, 2000,

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 27. Dispõe sobre o Regulamento Técnico sobre Informação Nutricional Complementar. **Diário Oficial da União**, Brasília, 16 de jan. 1998.

BRASIL. Resolução RDC nº. 263, de 22 de setembro de 2005. Regulamento Técnico sobre Produtos de Cereais, Amidos, Farinhas e Farelos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 23 set. 2005.

BUCKLEY, N. D.; CHAMPAGNE, C. P.; MASOTTI, A.; WAGAR, L. E.; TOMPKINS, T. A.; GREEN-JOHNSON, J. M. Harnessing functional food strategies for the health challenges of space travel – fermented soy for astronaut nutrition. **Acta Astronautica**, v. 68, p. 731-738, 2011.

CAMARGO, R. J. **Ação de bacteriocinas de bactérias lácticas no controle de Listeria monocytogenes e no aumento da vida de prateleira de mortadela fatiada**. 2011. 94 f. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.

CAMPOS, Shirley de. Soja. **Anvisa e o workshop sobre a utilização e efeitos das isoflavonas**. 2006. Disponível em: <http://www.drashirleydecampos.com.br/noticias/20247>. Acesso em: 26 abr 2014.

CARVALHO, J. D. G. **Caracterização da microbiota láctica isolada de queijo de Coalho artesanal produzido no Ceará e de suas propriedades tecnológicas**. 2007. 154 f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, 2007.

CASADEI, M. E. **Processos fermentativos a partir da cana-de-açúcar**. Faculdade de tecnologia de Araçatuba, 2012. Disponível em:

<http://www.fatecaracatuba.edu.br/suporte/upload/Biblioteca/BIO%2017711207150%20Autor%20Maria%20Estela%20Casadei.pdf>. Acesso em: 30 abr. 2014.

CASÉ, F.; DELIZA, R.; ROSENTHAL, A.; MANTOVANI, D.; FELBERG, I. Produção de “leite” de soja enriquecido com cálcio. **Revista de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, n. 1, p. 86-91, jan./mar. 2005.

CAVALLINI, D.C.U.; ABDALLA, D.S.P.; VENDRAMINI, R.C.; BEDANI, R.; BOMDESPACHO, L.Q.; PAULY-SILVEIRA, N. D.; VALDEZ, G. F.; ROSSI, E. A. Effects of isoflavone-supplemented soy yogurt on lipid parameters and atherosclerosis development in hypercholesterol emic rabbits: a randomized double-blind study. **Lipids in Health and Disease**, v.8, n.1, p. 40-50, 2009.

CÉSPEDES, M., CÁRDENAS, P.; STAFFOLANI, M.; CIAPPINI, M.C.; VINDEROLA, G. Performance in nondairy drinks of probiotic L. casei strains usually employed in dairy products. **Journal of Food Science**, v. 78, n. 5, p. M756-M762. 2013.

CHAMBA, M. V. M.; HUA, Y. ; SIMWAKA, J. E. Comparative sensory evaluation of soy protein isolates extracted from fullfat and defatted flours using natural and conventional synthetic extraction chemicals. **International Food Research Journal**, v. 2, n. 1, p.209-215, 2014.

CHAMPAGNE, C. P.; GARDNER, N.J.; ROY, D. Challenges in the addition of probiotic cultures to foods. **Crit. Rev. Food Sci. Nutr.**, v. 45, p. 61-84, 2005.

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, p. 612-621, 2009.

CHANDAN, R. C.; WHITE, C. H.; KILARA, A.; HUI, Y.H. **manufacturing yogurt and fermented milks**. 1. ed. UK: Blackwell Publishing Ltd., 2006.

CHANDAN, R. KILARA, A., SHAH, N. **Dairy Processing and Quality Assurance**. 1. ed. New Deli, India. 2008.

CHANG, J.H; SHIM, Y. Y; CHA, S. K; CHEE, K. M. Probiotic characteristics of lactic acid bacteria isolated from kimchi. **Journal of Applied Microbiology**, p. 220–230, 2010.

CHARALAMPOPOULOS, D; PANDIELLA, S.S. Survival of human derived Lactobacillus plantarum in fermented cereal extracts during refrigerated storage. **LWT- Food Science and Technology**, v. 43, n. 3, p. 431–435, 2010.

CHAVES, A. C. S. D. **Engenharia metabólica de Streptococcus thermophilus para a produção de acetaldeído em leites fermentados**. 2002, 170 f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Estadual de Campinas, SP, Campinas, 2002.

CLEMENTINO, I.M.; NASCIMENTO, J.; CORREIA, R.T.P. Sobremesa láctea aerada tipo mousse produzida a partir de leite caprino e frutas regionais. **Revista Pública, Natal**, v. 3, n.1, p.1-8, 2008.

CLYDESDALE, F. M. Color as a factor in food choice. **Crit. Rev. Food Sci. Nutr.**, v. 33, p.81-101, 1994.

COELHO, D.T. **Utilização de fubá, soro de queijo e proteína de soja e peixe em massa alimentícia**. 1986. 120 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 1986.

COELHO, F.J.O.; QUEVEDO, P.S.; MENIN, A. TIMM, C.D. Avaliação do prazo de validade do iogurte. **Ciência Animal Brasileira**. v. 10, n. 4, p. 1155-1160, out./dez. 2009.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO – CONAB. **Acompanhamento da Safra Brasileira: Grãos**. Brasília: CONAB, 2013. Disponível em: http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/13_07_09_09_04_53_boletim_graos_junho_2013.pdf. Acesso em: 10 jul. 2014.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO CONAB -. **Série Histórica de Produção**. 2014. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br>> Acesso em: jun. 2014.

COSTA, G. N. C.; SUGUIMOTO, H. H.; MIGLIORANZA, L. H. S.; GÓMEZ, R. J. H. C. Atividade antimicrobiana de *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* frente a microrganismos patogênicos “*in vitro*”. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 33, n. 5, p. 1839-1846, set./out. 2012.

COSTA, N. M. B.; ROSA, César de O. B. **Alimentos funcionais** - benefícios para a saúde. Minas Gerais, Produção Independente, 2008. 298 p.

COUDEYRAS S, MARCHANDIN H, FAJON C, FORESTIER C. Taxonomic and strain-specific identification of the probiotic strain *Lactobacillus rhamnosus* 35 within the *Lactobacillus casei* group. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 74, n. 9, p. 2679-2689, 2008.

CRUZ, A.G.; CADENA, R.S.; WALTER, E.H.M.; MORTAZAVIAN, A.M.; GRANATO, D.; FARIA, J.A.F.; BOLINI, H.M.A. Sensory analysis: relevance for prebiotic, probiotic, and synbiotic product development. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 9, n.4, p. 358-373, 2010.

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.

CUMMINGS J.H.; MACFARLANE, G.T.; ENGLYST, H.N. Prebiotic digestion and fermentation. *Am J Clin Nutr.* 2001;73 (Suppl 2):415S-20S. 23. Scott KP, Duncan SH, Flint HJ. Dietary fibre and the gut microbiota. **Nutrition Bulletin**. 2008;33(1):201-11.

CUNHA, C. S.; CASTRO, C. F.; PIRES, C. V.; PIRES, I. S. C.; HALBOTH, N. V.; MIRANDA, L. S. Influência da textura e do sabor na aceitação de cremes de aveia por indivíduos de diferentes faixas etárias. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 20, nº4, p. 573-580, 2009.

CUNHA, T. M., CASTRO, F.P., BARRETO, P.L.M., BENEDET, H.D., PRUDENCIO, E.S. Avaliação físico-química, microbiológica e reológica de bebida láctea e leite fermentado adicionados de probióticos. **Semina: Ciências Agrárias**. v. 29, n. 1, p. 103-116. Londrina, 2008.

DA MOTA, R. V *et al.* Composition and functional properties of banana flour from different varieties. **Starch/ Stärke**, v. 2, p. 63-8, 2000.

DALEPRANE, J.B.; PACHECO, J.T.; BOAVENTURA, G.T. Evaluation of protein quality from genetically modified an organic soybean in two consecutive generations of wistar rats. **Braz. Arch. Biol. Technol.** v. 52, n. 4, 841-847, 2009.

DAMIN, M. R.; ALCÂNTARA, M. R.; NUNES, A. P.; OLIVEIRA, M. N. Effects of milk supplementation with skim milk powder, whey protein concentrate and sodium caseinate on acidification kinetics, rheological properties and structure of nonfat stirred yogurt. **LWT – Food Science and Technology**, v. 42, p. 1744-1750, 2009.

DAMIN, M. R.; MINOWA, E.; ALCANTARA, M. R.; OLIVEIRA, M. N. Effect of cold storage on culture viability and some rheological properties of fermented milk prepared with yogurt and probiotic bacteria. **Journal of Texture Studies**, v.39, n.1, p.40-55,2008.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. **Química de Alimentos de Fennema**. 4 ed. Porto Alegre: Artmed, 900p. 2010.

DANTAS, M. I. S. SILVA, M.G. PINTO, R. R. PEREIRA, C. A. S. MININ, V. P. R. BITTENCOURT, M. C. B. Farinhas de soja sem lipoxigenase agregam valor sensorial em bolos. **Rev. Ceres Ciência e Tecnologia de alimentos e Comunicação**. v. 57 n. 2. Viçosa mar. /abr. 2010.

DAVE, R.I ., SHAH, N. P. Viability of yoghurt and probiotic bacteria in yoghurts made from commercial starter cultures. **International Dairy Journal** vol.7, p.31-41. 1997.

DELBONI, R. R. **Dinâmica populacional de microrganismos e a conservação de alimentos**. 2009. 143 f. Dissertação (Mestrado em Matemática Aplicada) - Instituto de matemática, estatística e computação, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2009.

DELLA LUCIA, S. M., MINIM, V. P. R. Análise sensorial de alimentos. *In: Análise sensorial: estudo com consumidores*. Valéria Paula Rodrigues Minim – Viçosa: Ed. UFV, 2006. Cap. 1, p. 13-50.

DRAKE, M. A. Invited *Review*: Sensory Analysis of Dairy Foods. **Journal of Dairy Science**,v. 90, n. 11, p. 4925–4937, 2007.

DUNCAN, B. B. *et al.* Doenças crônicas não transmissíveis no Brasil: prioridade para enfrentamento e investigação. **Revista de Saúde Pública**, v. 46, n. spe, p. 126-134, 2012. ISSN 1518-8787.

DUTCOSKY, Silvia D. **Análise sensorial de alimentos**. 2. Ed. Curitiba, Champagnat, 2007. 239 p.

DUTCOSKY, Silvia D. **Análise sensorial de alimentos**. 4. Ed. Curitiba, Champagnat, 2013. 531 p.

EDITORA INSUMOS. **A soja: história, tendências e virtudes**. 2007. Disponível em: http://www.insumos.com.br/funcionais_e_nutraceuticos/materias/76.pdf. Acesso em: 25 abr. 2013.

ELIA, M.; CUMMINGS, J.H. Physiological aspects of energy metabolism and gastrointestinal effects of carbohydrates. **Eur J Clin Nutr**. 2007;61 (Suppl 1):40-74.

ELLENDERSEN, L. S. N.; GRANATO, D.; GUERGOLETO, K.B.; WOSIACKI, G. Development and sensory profile of a probiotic beverage from apple fermented with *Lactobacillus casei*. **Engineering in Life Sciences**, v. 12, n. 4, p. 475-485, 2012.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. **Banana**. Disponível em: <http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Agencia40/AG01/Abertura.html>. Acesso em: 10 nov. 2013.

ENDRES, J. G. **Soy proteins products**: characteristics, nutritional aspects and utilization. Champaign: AOCS Press, 2001. 61 p.

ESTEVES, E. Análise Sensorial. Universidade do Algrave. Instituto Superior de Engenharia. **Apontamentos de aula**. Engenharia Alimentar, 2009.

- EUZÉBY, J. P. List of Prokaryotic names with standing in nomenclature. Genus *Lactobacillus* (2012). Disponível em <<http://www.bacterio.cict.fr/l/lactobacillus.html>>. Acesso em 15/06/2014
- FALGUERA, V; ALIGUER, N; FALGUERA, M. An integrated approach to current trends in food consumption: Moving toward functional and organic products? **Food Control**. 26: 274-281, 2012.
- FARIA, E. V; YOTSUYANAGI, K. **Técnicas de análise sensorial**. Campinas: ITAL/LAFISE, 2002.
- FARNWORTH, E. R.; MAINVILLE, I.; DESJARDINS, M. P.; DARDNER, N.; FLISS, I.; CHAMPAGNE, C. Growth of probiotic bacteria and bifidobacteria in a soy yogurt formulation. **International Journal of Food Microbiology**, v.116, p.174-181, 2007.
- FASOLIN, L. H.; ALMEIDA, G. C.; CASTANHO, P. S.; NETTO-OLIVEIRA, E. R. Biscoitos produzidos com farinha de banana: avaliação química, física e sensorial. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas, v. 27, n.3, p. 524-529, 2007.
- FAVERO, Serena M. D. Alimentos funcionais: os prebióticos. Nutrociência Assessoria em Nutrologia. 2007. p. 1 e 2. Acesso em: 29 de abril de 2014.
- FELIS, G. E. & DELLAGLIO, F. Taxonomy of Lactobacilli and Bifidobacteria. Current Issues in Intestinal Microbiology, v. 8, p 44 - 61, 2007.
- FERNANDES, J. D. **Os benefícios das isoflavonas de soja na alimentação atual**. Disponível em: <http://nutricionista.com.pt/artigos/os-beneficios-das-isoflavonas-de-soja-na-alimentacao-actual.jhtml>. p. 3-7, 2008.
- FERRAGUT, V. *et al.* Physical characteristics during storage of soy yogurt made from ultra-high pressure homogenized soymilk, **Journal of Food Engineering**, 63–69, 92, 2009.
- FERREIRA NETO, C. J.; FIGUEIRÊDO, R. M. F.; QUEIROZ, A. J. M. Avaliação sensorial e da atividade de água em farinhas de mandioca temperadas. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 29, n. 4, p. 795-802, 2005.
- FERREIRA, C. L. L. F. **Acidez em leite e produtos lácteos**; aspectos fundamentais. Viçosa: UFV, 1999.
- FERREIRA, Priscila M. **Análise microbiológica e físico-química de bebida láctea pasteurizada, sem sabor, comercializada no Distrito Federal**. Monografia (Graduação m Medicina Veterinária) – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Brasília, 2011. Disponível em <http://bdm.bce.unb.br/handle/10483/3099>. Acesso em: 5 jul. 2014.
- FERREIRA, V. L.; ALMEIDA, T. C. A.; PERTINELLI, M.L. C. V.; SILVA, M. A. A. P.; CHAVES, J. B. P. **Análise sensorial**. Testes discriminativos e afetivos. Manual-Série Qualidade. Campinas: PROFIQUA/SBCTA, 2000. 127p.
- FIBER MAIS. **Fibras**: Alimento funcional com benefícios para saúde. 2008. Disponível em: >WWW.fibermais.com.br/site2008/html/pdf/fibras_alimento_funcional.pdf>. Acesso em: 23 mar 2013.
- FOOD AND AGRICULTURAL ORGANIZATION - FAO. Food and Agricultural Organization of the United Nations. **Report on Functional Foods** (November 2007). Disponível em: <http://www.fao.org/ag/agn/index_en.stm>. Acesso em: 29 abr. 2013.

FOOD AND AGRICULTURAL ORGANIZATION. World Health Organization - FAO/WHO. Report of the 27th Session of the Codex Committee on Nutrition and **Foods for Special Dietary Uses**. Bonn, Germany, p.21–25 November 2005. 2006.

FOOD AND AGRICULTURAL ORGANIZATION. World Health Organization - FAO/WHO. **Evaluation of Health and Nutritional Properties of Probiotics in Food**. Córdoba, Argentina: Food and Agriculture Organization of the United Nations and World Health Organization, p.1–34, 2001.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION - División de Estadísticas de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura – FAOSTAT. **Estadísticas generales**. 2013. Disponível em: <http://faostat.fao.org/>. Acesso em: abr. 2014.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION - FAO. **Food and Agricultural commodities production**. Disponível em: <http://faostat.fao.org>. Acesso em: 9 nov. 2013.

FOOD INGREDIENTES BRASIL. Estabilizantes. **Revista Food Ingredients Brasil**, n° 14, 2010a. Disponível em: <http://www.guiavegetariano.com.br/vegan/alimentos-e-enzimas-produzidos-por-microorganismos/doc_download/133-estabilizantes>. Acesso em: 23 abr. 2014.

FOOD INGREDIENTES BRASIL. Proteção natural em laticínios - Uso de culturas protetoras contra bolores e leveduras. **Revista Food Ingredientes Brasil**, n° 15, 2010b. Disponível em: <<http://www.revista-fi.com/materias/156.pdf>>. Acesso em: 24 abr. 2013.

FOOKS, L. J.; FULLER, R.; GIBSON, G. R. Prebiotics, probiotics and human gut microbiology. **International Dairy journal**. v.9, p.53-61, 1999.

FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da segurança alimentar**. Porto Alegre: Artmed, 2002.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDCRAF, U. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2008.

FRANCO, O. **Peptide promiscuity**: An evolutionary concept for plant defense. FEBS letters, Elsevier. 2011.

FREITAS, M. Q. **Análise Sensorial de Alimentos**. Departamento de Tecnologia dos Alimentos Faculdade de Veterinária Universidade Federal Fluminense, Niterói-RJ, 2011.

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

GABIATTI, A. R.; CORTI, D. Avaliação da adequação de leites fermentados probióticos comercializados na região oeste do Paraná quanto aos requisitos estabelecidos na legislação federal brasileira. 2010. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira - PR, 2010.

GERHARDT, Â.; MONTEIRO B. W.; GENNARI A.; LEHN, D. N.; SOUZA, C. F. V de. Características físico-químicas e sensoriais de bebidas lácteas fermentadas utilizando soro de ricota e colágeno hidrolisado. **Rev. Inst. Latic**. “**Cândido Tostes**”, Jan/Fev, n° 390, 68: 41-50, 2013.

GLOBAL INDUSTRY ANALYSTS. Global functional foods and drink industry. 818p. 2012.

GOMES, A. M. P.; MALCATA, F. X. *Bifidobacterium* spp. and *Lactobacillus acidophilus*: biological, biochemical, technological and therapeutical properties relevant for use as probiotics. **Trends in Food Science & Technology**, v. 10, n. 4-5, p. 139-157, 1999.

GONÇALVES, A. A.; ROHR, M. Desenvolvimento de balas mastigáveis adicionadas de inulina. **Alimentos e Nutrição**, v. 20, n. 3, pp. 71-78, 2009.

GONÇALVES, A.A.; EBERLE, I.R. Bactérias bifidas: o impacto na indústria de laticínios. **Leite e Derivados**, v.18, n.114, p. 34-41, 2009.

GONZALEZ-MIRET MARTIN, M.L.; JI, W.; LUO, R.; HUTCHINGS, J.; HEREDIA, F. J. Measuring colour appearance of red wines. **Food Quality and Preference**, v. 18, n. 6, p. 862-871, 2007.

GRANATO, D. **Emulsão de soja e goiaba**: Caracterização físico-química, cromática, sensorial, e de estabilidade. 2009. 169 f. Dissertation (Máster in Food Technology)-Universidade Federal do Paraná (UFPR), Curitiba, 2009.

GRANATO, Daniel; MASSON, Maria Lucia; FREITAS, Renato João Sossela de. **Stability studies and shelf life estimation of a soybased dessert**. Ciência e Campinas, 2010. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0101-20612010000300036&script=sci_arttext>. Acesso em: 28 marc. 2014.

GUERRA, N. M. M.; OTENIO, M. H.; SILVA, M. E. Z.; GUILHERMETTI, M.; NAKAMURA, C. V.; NAKAMURA, T. U.; DIAS FILHO, B. P. Ocorrência de *Pseudomonas aeruginosa* em água potável. **Acta Sci. Biol. Sci.**, v. 28, n. 1, p.13-18, 2006.

HANDOYO, Tri; MORITA, Naofumi. Structural and functional properties of fermented soybean (*tempeh*) by using *Rhizopus oligosporus*. **International Journal of Food Properties**. v.9, p. 347-355, 2006.

HANS, H. H.; BECHTHOLD A.; BOEING, H.; BRÖNSTRUP, A.; BUYKEN, A. Evidence-based guideline of the German Nutrition Society: carbohydrate intake and prevention of nutrition-related diseases. **Ann Nutr Metab**. 2012;60(Suppl 1):1-58.

HARALAMPU, S. G. Resistant starch: a review of the physical properties and biological impact of RS3. **Carbohydr Polym**. v. 41, p. 285-92, 2000.

HAULY, M. C. O.; FUCHS, R. H. B.; FERREIRA, S.H.P. Suplementação de iogurte de soja com frutooligosacarídeos: características probióticas e aceitabilidade. **Rev. Nutrição**, Campinas, v.18, n.5, 2005.

HENRIQUE, J. R.; PEREIRA, B.G.; LIMA H. C.; MADALENA, J.O.M. Análise sensorial de uma sobremesa láctea a base de fibra de casca de maracujá vermelho. p. 2-3. 2008

HIRAOKA, N. K. **A importância do uso da soja na alimentação**. Assis Chateaubriand, 2008. Disponível em: <http://www.diaadiaeducacao.pr.gov.br/portals/pde/arquivos/2520-6.pdf>. Acesso em: jan. 2014.

HOUGH, G.; WAKELING, I.; MUCCI, A.; CHAMBERS, E. I. V.; GALLARDO, I. M.; ALVES, L. R. **Number of consumers necessary for sensory acceptability tests**. Food Quality and Preference, v.17, p. 522-526, 2006.

HUEBNER, J.; WEHLING, R.L.; HUTKINS, R.W. Functional activity of commercial prebiotics. **International Dairy Journal**, v.17, n.7, p.770-775, 2007.

HUTCHINGS, J. B. Color Measurements. In: Townshend, A., Poole, C.F., Worsfold, P.J. (eds.), **Encyclopedia of Analytical Science**. Amsterdam: Elsevier, 2005. p. 198-208.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ - IAL (São Paulo). **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. Coordenadores: Odair Zenebon, Neus Sadocco Pascuet e Paulo Tigle. 4ª ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos químicos e físico-químicos para análise de alimentos**. 3. ed. São Paulo: IAL, 1985.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos químicos e físicos para análise de alimentos**. 4. ed. São Paulo: IAL, 2008. Disponível em: http://www.ial.sp.gov.br/index.php?option=com_remository&Itemid=7&func=select&orderby=1&Itemid=7. Acesso em: jan. 2015.

INSTITUTO BRASILEIRO DE ECONOMIA E ESTATÍSTICA - IBGE – Instituto Brasileiro de Economia e Estatística. **Banco de dados agregados**. 2014. Disponível em: <http://www.sidra.ibge.gov.br>. Acesso em: jan. 2014.

INSTITUTO BRASILEIRO DE ECONOMIA E ESTATÍSTICA - IBGE 2009. **Frutas de a a z**. Disponível em: <http://www.todafruta.com.br/portal/icNoticiaAberta.asp>. Acesso em: 25 de Jan. 2009.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. **Levantamento sistemático da produção agrícola**. Dez 2010. Disponível em <http://www.ibge.gov.br>. Acesso em: Dez. 2014.

INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION - IDF/ISO/AOAC GROUP E-104,1995. Detection and enumeration of *Lactobacillus acidophilus*. **Bulletin of the International Dairy Federation**, n.306, p. 23-33, 1995.

IZIDORO, D. R. **Influência da polpa de banana (*Musa Cavendishii*) verde no comportamento reológico, sensorial e físico-químico de emulsão**. 2007. 167 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba – PR, 2007.

IZIDORO, D. R. SCHEER, A. P. NEGRE, M. F. O. HAMINIUK, C. W. I. SIERAKOWSKI, M. R. Avaliação físico-química, colorimétrica e aceitação sensorial de emulsão estabilizada com polpa de banana verde. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 67 n. 3, São Paulo, dez. 2008.

JACKSON, C. J. C.; DINI, J. P.; LAVANDIER, C.; RUPASINGHE, H. P. V.; FAULKNER, H.; POYSA, V.; BUZZELL, D.; De GRANDIS, S. Effects of processing on the content and composition of isoflavones during manufacturing of soy beverage and tofu. **Process Biochemistry**, v. 37, p. 1117-1123, 2006.

JIMENEZ, Luciana Herve; GUILLOUARD, Isabelle; GUEDON, Eric; BOUDEBBOUZE, Samira; HOLS, Pascal; MONNET, Véronique; MAGUIN, Emmanuelle; RUL, Françoise. **Postgenomic analysis of *Streptococcus thermophiles* cocultivated in milk with *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*: Involvement of nitrogen, purine, and iron metabolism**. Applied and Environmental Microbiology, p. 2062-2073, 2009.

KANDLER, O., WEISS, N. Regular, nonsporing grampositive rods. In: KRIEG, N.R., HOLT, J.G. (Eds.). **Bergey's Manual of determinative bacteriology**. 9. ed. Baltimore, The Williams and Wilkins Co. p.1208-1234.] 1986.

KANG, H.P.; LEE, H.; OH, T.G.; LEE, K.J.; PARK, S.J; CHUNG, M.J.; KIM, S.U.; LEE, H.; PARK, J.C.; HONG, S.P.; PARK, J.Y.; BANG, S.; KIM, D.O.Y; CHEON, J.H.; AHN, S.H.; KIM, T.I.; PARK, S.W.; SONG, S.Y. The use of health functional food in gastrointestinal cancer patients. **Clinical Nutrition Research, Seoul**, v. 2, n. 1, p. 19-25. 2013

KARDEL, G.; ANTUNES, L. A. F. Culturas lácticas e probióticas empregadas na fabricação de leites fermentados: leites fermentados. In: LERAYER, A. L. S.; SALVA, T. J. G. Leites fermentados e bebidas lácteas: tecnologia e mercado. Campinas: **ITAL**, Cap. 2, p. 26-33, 1997

KAUR, H.; MISHRA, H.N., KUMAR, P. Textural properties of mango soy fortified probiótica yogurt: optimization of inoculum level of yoghurt and probiótica culture. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 44, p. 415-424, 2009.

KOBLITZ, M. G. B. **Matérias primas alimentícias**. Composição e controle de qualidade. Rio de Janeiro: Ed. Guanabara-Koogan. 2011.

KOLIDA, S.; GIBSON, G.R. Synbiotics in health and disease. **Annual Review of Food Science and Technology**, v. 2, p. 377-393, 2011.

KOLLING, A.; LEHN, D.; SOUZA, C. F. V. Elaboração, caracterização e aceitabilidade de "iogurte" de soja com adição de prebiótico. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**. Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, *campus* de Ponta Grossa - Paraná - Brasil ISSN: 1981-3686/ D.O.I. 10.3895/S1981-36862014000200008S1. v. 08, n. 02 suplemento: p. 1545-1556, 2014.

KUMAR, M.; VERMA, V.; NAGPAL, R.; KUMAR, A.; BEHARE, P. V.; SINGH, B.; AGGARWAL, P. K. Anticarcinogenic effect of probiotic fermented milk and chlorophyllin on aflatoxin-B 1-induced liver carcinogenesis in rats. **British Journal of Nutrition**, v. 107, n. 7, p. 1006–1016, 2012.

LAHTINEN, S. J.; JALONEN, L.; OUWEHAND, A. C.; SALMINEN, S. J. Specific Bifidobacterium strains isolated from elderly subjects inhibit growth of Staphylococcus aureus. **International Journal of Food Microbiology**, Torino, v. 117, n. 1, p. 125-128, 2007.

LAJOLO, F. M.; SAURA-CALIXTO, F.; WITTIG DE PENNA, E., MENEZES, E.W. **Fibra dietética en Iberoamérica: Tecnología y salud**. Obtención, caracterización, efecto fisiológico y aplicación en alimentos. Proyecto CYTED XI.6 "Obtención y caracterización de fibra dietética para su aplicación en regímenes especiales"/ CNPq. São Paulo: Editora Varela, 2001. 469 p.

LAUKOVÁ, A.; GUBA, P.; NEMCOVÁ, R.; VASILKOVÁ, Z. Reduction of Salmonella in gnotobiotic Japanese quails caused by enterocin A-producing EK13 strain of *Enterococcus faecium*. **Vet. Res. Comm.**, v. 27, p. 275-280, 2003.

LAZZARI, R. *et al.* Diferentes fontes proteicas para a alimentação do jundiá (*Rhamdia quelen*). **Cienc. Rural**, Santa Maria. v. 36, n. 1, p. 240-246, 2006.

LEITE, A. L. M. P. SILVA, F. S. PORTO, A. G. PIASSON, D. PAGLARINI, C. S. Influência da temperatura no encolhimento de fatias de Banana Terra (*Musa Sapientum Lineo*) durante a secagem. CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, Cáceres, MT/Brasil, 24 – 28 de outubro 2011, Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação – PRPPG, Universidade do Estado do Mato Grosso – UNEMAT. Anais... Cáceres: UNEMAT, 2011.

LEITE, M. T. **Otimização da produção do ácido láctico através da fermentação do soro de queijo por *Lactobacillus helveticus***. 2006. 179 f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) - Universidade Federal de Uberlândia. Uberlândia, MG, 2006.

LII, C. Y., CHANG, S. M.; YOUNG, Y. L. Investigation of the physical and chemical properties of banana starches. **Journal of Food Science**, v.47, p.1493-1497, 1982.

LIN, W.H.; HWANG, C.F.; CHEN, L.W.; TSEN, H.Y. Viable counts, characteristic evaluation for commercial lactic acid bacteria products. **Food Microbiology**, v. 23, p. 74–81, 2006.

LIU, D.-M.; LI, L.; YANG, X.-Q.; LIANG, S.-Z.; WANG, J.-S. Survivability of *Lactobacillus rhamnosus* during the preparation of soy cheese. **Food Technology and Biotechnology**, v.44, p.417–422, 2006.

LIU, K. **Soybeans**: chemistry, technology, and utilization. New York: Chapman e Hall, 1997. 532 p.

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

MAÇATELLI, M. **Determinação do perfil sensorial de marcas comerciais de cachaça**. 2006. 126 f. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho. Faculdade de Ciências Farmacêuticas, *campus* de Araraquara. Araraquara - SP 2006.

MACHADO, M. R. G., Bebida de soja fermentada com *Lactobacillus acidophilus*: viabilidade celular, avaliação sensorial, armazenamento e resposta funcional. 2007. 117 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2007.

MACHADO, M. R. G.; BARBOSA, E.G.; SCHONS, P.F.; PÓLVORA, M. S.; PRATES, D. F.; RODRIGUES, R. S.; ROMBALDI, C. V. **Fermentação de extrato de soja e leite com *Lactobacillus acidophilus***: ensaios preliminares. 2005.

MAGALHÃES, P. J.; BROIETTI, F. C. D. Gestão de qualidade na elaboração de sorvetes/ UNOPAR Cient. **Exatas Tecnol.**, Londrina, v. 9, n. 1, p. 53-60, Nov. 2010.

MARINHO, Maria V. M.; FIQUEIRÊDO, ROSSANA M. F.; QUEIROZ, Alexandre J. M.; SANTIAGO, Vanessa M. S.; GOMES, Josivanda P. Análise físico-química e sensorial de iogurte de leite de cabra com polpa de umbu. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v.14, n. Especial, p.497-510, 2012. Disponível em: Acesso em: 5 ago. 2014.

MARTINEZ, M. O.; Ayerdi, S. S.; Acevedo, E. A.; Goñi, I.; Pérez, L. A. B. Unripe banana flour as an ingredient to increase the undigestible carbohydrate of pasta. **Food Chemistry**, Canadá, v. 113, p.121-126, 2009.

MARTÍNEZ-VILLALUENGA, C.; FRIAS, J.; GOMEZ, R.; VIDAL-VALVERDE, C. Influence of addition of raffinose family oligosaccharides on probiotic survival in fermented milk during refrigerated storage. **Int. Dairy J.**, v. 16, p. 768-774, 2006.

MARTÍNEZ-VILLALUENGA, C.; FRIAS, J.; VIDALVALVERDE, C.; GOMEZ, R. Raffinose family of oligosaccharides from lupin seeds as prebiotics: application in dairy products. **J. Food Prot.**, v. 68, p.1246-1252, 2005.

MARTINS, G. H.; KWIATKOWSKI, A.; BRACHT, L. SRUTKOSKE, C. L. de Q.; HAMINIUK, C. W. I. Perfil físico-químico, sensorial e reológico de iogurte elaborado com extrato hidrossolúvel de soja e suplementado com inulina. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v. 15, n. 1, p. 93-102, 2013. ISSN 1517-8595.

MASSAGUER, P. R. **Microbiologia dos processos alimentares**. São Paulo: Livraria Varela, 2005. 258 p.

MATTAR, R.; MAZO, D. F. C. Intolerância à lactose: Mudança de paradigmas com a biologia molecular. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 56, n. 2, p. 230-6, 2010.

MAZOCHI, V. **Produção de iogurte probiótico com leite de cabra adicionado de *Bifidobacterium spp.*** 2009. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos), Centro Universitário de Belo Horizonte, Belo Horizonte, 2009.

Mc.CARTNEY, WENZHI and TANNOCK. Molecular analysis of the composition of the bifidobacterial and lactobacillus microflora of human. **Applied and environmental Microbiology**, 62, 4608-4613, 1996.

MEDEIROS, M. J.; OLIVEIRA, P. A. A. C.; SOUZA, J. M. L.; SILVA, R. F.; SOUZA, M. L. Composicao química de misturas de farinhas de banana verde com castanha-dobrasil. **Rev Inst Adolfo Lutz**. Sao Paulo, 69(3):396-402, 2010.

MEILGAARD, M.; CIVILLE, G. V.; CARR, B. T. **Sensory evaluation techniques**. 3rd. ed. New York: CRC, 1999. 281p.

MEJIA, E.; LUMEN de, B. Soybean bioactive peptides: a new horizon in preventing chronic diseases. **Sexuality, Reproduction and Menopause**, Elsevier. 4: 91-95. 2006.

MELLO, C. P.; SANTOS, S. C. Taninos. In: **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Organizado por Cláudia Maria Oliveira Simões *et al.* 4 ed. Porto Alegre / Florianópolis: Editora Universitária / UFRGS /Ed. da UFSC, 2002. 950 p.

MENDONÇA, J. E. **Estudo da viabilidade sensorial do enriquecimento com ferro, de vários produtos derivados de soja e a quantificação de seus teores em isoflavonas**. 2006. 60 p. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição) – Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”. Faculdade de Ciências Farmacêuticas, *campus* de Araraquara, Araraquara, SP.

MENDONÇA, S. N. T. G. **Nutrição**. Curitiba: LT. 2010. 98p.

MICHETTI, P. Lactobacilli for the management of Helicobacter pylori. **Nutrition**, v. 17, n. 3, p. 268-269, 2001.

MIGUEL, P. R.; MARMITT, T.; CHLABITZ, C. HAUSCHILD, F. A.; SOUZA, C. F. V. Desenvolvimento e caracterização de “iogurte” de soja sabor morango produzido com extrato de soja desengordurado enriquecido com cálcio. **Alim. Nutr.**, Araraquara. v. 21, n.1, p. 57-63, jan./mar. 2010.

MINIM, V. P. R. **Análise sensorial – Estudo com consumidores**. 2. ed. Viçosa: Ed. UFV, 2010.

MONTANARI, M. **Soja: nutrição e gastronomia**. São Paulo: Senac, 2009. Cap.1,p. 18. Disponível em: http://books.google.com.br/books?hl=ptBR&lr=&id=NLZ9eFtx_8YC&oi=fnd&pg=PA7&dq=soja+prejudica+cancer&ots=ps8DM_Fb7&sig=7NzQYX3Ww6L5RfMZ_DrzXkjYxbE#v=onepage&q&f=false. Acesso em: 29 jul. 2014.

MONTEIRO, C. L. **Técnicas de avaliação sensorial**. 2. ed. Curitiba: CEPPA, 1984.

MORAES NETO, J. M.; CIRNE, L. E. M. R.; PEDROZA, J. P.; SILVA, M. G. Componentes químicos da farinha de banana (musa sp.) obtida por meio de secagem natural. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**. Campina Grande, v. 2, n.3, p.316-318, 1998.

MORAES, R. M.; HAJ-ISA, N. M. A.; ALMEIDA, T. C. A.; MORETTI, R. H. Efeito da desodorização nas características sensoriais de extratos hidrossolúveis de soja obtidos por diferentes processos tecnológicos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, p.46-51, 2006.

MOURA, A. C., ASSUMPÇÃO, R. A. B, BISCHOFF, J. **Monitoramento físicoquímico e microbiológico da água do Rio Cascavel durante o período de 2003 a 2006**. Arq. Inst. Biol., v.76, n.1, p.17-22, 2009.

MOYANO, M.J.; MELÉNDEZ-MARTÍNEZ, A. J.; ALBA, J.; HEREDIA, F. J. A comprehensive study on the colour of virgin olive oils and its relationship with their chlorophylls and carotenoids indexes (II): CIELUV and CIELAB uniform colour spaces. **Food Research International**, v. 41, n.5. p. 513–521, 2008.

NAITO, E.; YOSHIDA, Y.; MAKINO, K.; KOUNOSHI, Y.; KUNIHIRO, S.; TAKAHASHI, R.; ISHIKAWA, F. Beneficial effect of oral administration of *Lactobacillus casei* strain Shirota on insulin resistance in diet-induced obesity mice. **Journal of applied microbiology**, v. 110, n. 3, p. 650–657, 2011.

NARAYANAN N, ROYCHOUDHURY PK, SRIVASTAVA A. L(+) lactic acid fermentation and its product polymerization. **Internet Electronic Journal of Molecular Design**.7:167–79, 2004.

NILSEN. **Consumers, Retailers** – and the Organic Market. National Organic Food Conference, 2008.

OETTERER, Marília; REGITANO-D' ARCE, Marisa Aparecida Bismara. SPOTO, Marta Helena Fillet. **Fundamentos de ciência e tecnologia de alimentos**. São Paulo: Manole, 2006, p. 355 – 385.

OFOSU, I. W.; APPIAH-NKANSAH, E.; APEA-BAH, F.B.; ODURO, I.; ELLIS, W.O. Formulation of annatto feed concentrate for layers and the evaluation of egg yolk color preference of consumers. **Journal of Food Biochemistry**, v.34, p. 66–77, 2010.

OLIVEIRA DE, P. D.; LIMA DE S. C. G.; LOURENÇO Junior, J. B.; ARAÚJO, É. A. F.; Avaliação sensorial de iogurte de Açaí (*Euterpe oleracea* Martius) tipo “sundae”. **Revista Instituto de Laticínios “Candido Tostes”**, Maio/Junho, n.º 380, 66: 5-10, 2011.

OLIVEIRA, C. P.; SIQUEIRA JÚNIOR, J. P.; SILVA, J. A. Bacteriocinas como alternativa na conservação de alimentos. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 7, n. 1, p. 09-15, 2012.

OLIVEIRA, M. N. **Tecnologia de produtos lácteos funcionais**. São Paulo: Atheneu, 2009, 384 p.

OLIVEIRA, M. N.; DAMIN M.R. Efeito do teor de sólidos e da concentração de sacarose na acidificação, firmeza e viabilidade de bactérias do iogurte e probióticas em leite fermentado. **Ciência Tecnologia Alimentos**, Campinas, v.23, supl., p.172- 176, dez. 2003.

OLIVEIRA, Maricê N.; DAMIN, M. Regina. Efeito do teor de sólidos e da concentração de sacarose na acidificação, firmeza e viabilidade de bactérias do iogurte e probióticas em leite fermentado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 23, p. 172-176, 2003. Disponível em . Acesso em: ago, 2014.

OLIVEIRA, R. P. S.; PEREGO, P.; CONVERTI, A.; OLIVEIRA, M. N. The effect of inulin as a prebiotic on the production of probiotic fibre-enriched fermented Milk. **International Journal of Dairy Technology**, v. 62, p.195-203, 2009.

ORDONEZ, J. A.; RODRIGUEZ, M.S.C.; ALVAREZ, L. F.; SANZ, M.L.G.; MIGUILLON, G.D.G.F.; PERALES, L.H.; CORTECERO, M.D.S. **Tecnologia de alimentos: componentes dos alimentos e processos**. Tradução de Fátima Murad, v.1. Porto Alegre: Editora Artmed, 2005. 294 p.

ORMENESE, R. C. S. C. **Obtenção de farinha de banana verde por diferentes processos de secagem e aplicação em produtos alimentícios**. 2010. 182 f. Tese (Doutorado em Tecnologia em Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2010.

PACHECO-DELAHAYE, E.; MALDONADO, R.; PÉREZ, E.; SCHROEDER, M. Production and characterization of unripe plantain (*Musa paradisiaca* L.) flours. **Interiência**, v. 33, n.4, p. 290 – 298, 2008.

PAGAMUNICI, L. M. **Utilização da fibra do jaracatiá no enriquecimento de iogurte**. Londrina, 2009. 112 f. Dissertação (Mestrado Ciência de Alimentos) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2009.

PARADA, J. L.; CARON, C. R.; MEDEIROS, A. B. P.; SOCCOL, C. R. Bacteriocins from lactic acid bacteria: purification, properties and use as biopreservatives. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.50, n.3, p.521-542, 2007.

PEREIRA, C. A. S.; OLIVEIRA, F. B. **Soja, alimento e saúde**: valor nutricional e preparo. Viçosa: Editora UFV, 2004. 102 p.

PEREIRA, L. C.; SOUZA, C. H. B.; BEHRENS, J. H.; SAAD, S. M. I. *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium* sp. in co-culture improve sensory acceptance of potentially probiotic *petit-suisse* cheese. **Acta Alimentaria**, v. 39, n.3, p.265–276, 2010.

PEREIRA, V. G.; GÓMEZ, R. J. H. C. Atividade antimicrobiana de *Lactobacillus acidophilus*, contra microrganismos patogênicos veiculados por alimentos. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 28, n. 2, p. 229-240, 2007.

PERYAM, D. R.; PILGRIM, F. J. 1957. Hedonic scale method of measuring food preferences. **Food Technology**, n. 11, p.9–14, 1957.

PIMENTEL, T. C. **Iogurte probiótico com inulina como substituto de gordura**. 2009. 179 f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) - Programa de Pósgraduação em Ciência dos Alimentos, Universidade Estadual de Londrina, Londrina – PR, 2009.

PIMENTEL, T. C; PRUDENCIO S H; RODRIGUES, R. S. Néctar de pêssgo potencialmente simbiótico. **Alimentos e Nutrição**, v. 22, n. 3, pp. 455-464, 2011.

PINHEIRO, E. R. **Pectina da casca do maracujá amarelo (*Passiflora edulis flavicarpa*): otimização da extração com ácido cítrico e caracterização físicoquímica**. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos.) – Universidade federal de Santa Catarina, Florianópolis, 79 f., 2007.

PINHEIRO, S. H. M. **Avaliação sensorial das bebidas aguardente de cana industrial e cachaça de alambique**. 2010. Tese. (Doutorado em ciência e tecnologia de Alimentos). Universidade Federal de Viçosa. Viçosa-MG, 2010.

POIANI, L. M.; BORGES, M. T. M.; VILAS BOAS, E. V. B.; LICHTENBERG, L. A.; GODOY, R. C. B. Aproveitamento industrial dos descartes de pós-colheita. **Informe Agropecuário**, v. 29, n. 245, p. 111-119, 2008.

PONCEA, A. G.; MOREIRAA, M. R.; VALLEA, C. E., ROURAA, S. I. Preliminary characterization of bacteriocin-like substances from lactic acid bacteria isolated from organic leafy vegetables. **LWT- Food Science and Technology**, v. 41, p.432-441. 2008.

PRADO, F. C. *et al.* Trends in non-dairy probiotic beverages. **Food Research International, Barking**, v.41, n.2, p.111-123, 2008.

PROSKY, L.; A. S. P.; N. G.; SCHWEIZER, T. F.; DEVRIES, J. W.; FURDA, I. Determination of insoluble, soluble and total dietary fiber in foods and food products: Interlaboratory study. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists**, 71: 1017-1024, 1988.

RAMOS, D. P.; LEONEL, M.; LEONEL, S. Amido resistente de banana verde. **Alimentos e Nutrição. Araraquara**, v. 20, n. 3, p. 479-483, jul./set. 2009.

RANADHEERA, R.D.C.S.; BAINES, S.K.; ADAMS, M.C. Importance of food in probiotic efficacy. **Food Research International**, v.43, p.1-7, 2010.

RANI, V.; GREWAL, R.B.; KHETARPAUL, N. Physical Characteristics, Proximate and Mineral Composition of some new Varieties of Soybean (Glycine Max L.). **Legume Res.**, v. 31, n. 1, p.31 - 35, 2008.

REDONDO, N. C. **Avaliação in vitro de características probióticas do *Enterococcus faecium* CRL 183 e do *Lactobacillus helveticus* ssp *jugurti***. 2008. 93 f. Dissertação (Mestre em Alimentos e Nutrição, Área Ciência dos Alimentos) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2008.

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

ROBERFROID, M. Prebiotics: The concept revisited. **Journal of Nutrition**, v. 137, p. 830S-837S, 2007

ROBINSON, R.K. Fermented Milks/Yoghurt, Role of Starter Cultures. pg 1059-1063. **Encyclopedia of Dairy Sciences**, UK, 2002.

ROCHA, Geisa Oliveira; FARIAS, Mônica Guimarães; CARVALHO, Carlos Wanderlei Piler; ASCHERI, José Luis Ramírez; GALDEANO, Melicia Cintia. (2014). Filmes compostos biodegradáveis a base de amido de mandioca e proteína de soja. **Polímeros**, 24 (5), 587-595. Epub September 22, 2014. *Polímeros* vol.24 no.5 São Carlos Sept./Oct. 2014 Epub Sep 22, 2014.

RODRÍGUEZ-AMBRIZ, S. L.; ISLAS-HERNÁNDEZ, J. J.; AGAMA-ACEVEDO, E.; TOVAR, J.; BELLO-PÉREZ, L. A. Characterization of fibre-rich powder prepared by liquefaction of unripe banana flour. **Food Chemistry**. v. 107, p. 1515-1521, 2008.

ROGOSA, M. 1974. Gram-positive, asporogenous, rod-shaped bacteria. In: BUCHANAN, R. E. (Ed.) *Bergey's manual of determinative bacteriology*. 8 ed. Baltimore: Williams and Wilkins Co. p.576-593.

ROSA, Alessandra M.; *et al.* Alimentos fermentados à base de soja (Glycinemax (Merrill) L.): importância econômica, impacto na saúde e efeitos associados às isoflavonas e seus açúcares. **Brazilian Journal of Biosciences**. Porto Alegre, v.7, n.4, p.454-462, out./dez. 2009.

ROUDSARI *et al.* Assessment of soy phytoestrogens' effects on bone turnover indicators in menopausal women with osteopenia in Iran: a before and after clinical Trial, **Nutrition Journal**, v. 4, n. 30, 2005.

RUSSEL, T. A. **Comparison of sensory properties of whey and soy protein concentrates and isolates**. 2004. 123 f. Thesis (Master's degree) - Faculty of North Carolina State University, Raleigh, 2004.

SÁ, P.; OLIVEIRA, A.; BELAS, L.; CARINHA, E.; SANTOS, P. **Processamento do Iogurte Gordo Sólido**. Escola Superior Agrária De Coimbra. Processamento Geral dos Alimentos, Outubro 2007.

SAARELA, M.; MOGENSEN, G.; FONDÉN, R.; MÄTTÖ, J.; MATTILA-SANDHOLM, T. Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties. **Journal of Biotechnology**, v. 84, p. 197-215, 2000.

SABIR, F.; BEYATLI, Y.; COKMUS, C.; DARILMAZ, D. O. Assessment of Potential Probiotic Properties of *Lactobacillus* spp., *Lactococcus* spp., and *Pediococcus* spp. Strains Isolated from Kefir. **Journal of Food Science**, v. 75, n. 9, p. 568- 573, 2010.

SALGADO, J. M.; ALMEIDA, M. A. **Mercado de alimentos funcionais: desafios e tendências**. Sociedade Brasileira de Alimentos Funcionais – SBAF, 2010. Disponível em: http://www.sba.org.br/artigos/200806_Mercado_Alimentos_Funcionais_-_Desafios_Tendencias.pdf. Acesso em: jan. 2014.

SANCHES. B.; REYES-GAVILAN, C.G.; MARGOLLES, A.; GUEIMONDE, M. Probiotic fermented milks: present and future. **International Journal of Dairy Technology**, v. 62, n. 4, p. 472-483, 2009.

SANTOS, K. A.; SANTOS, E. F.; MANHANI, M.R.; SANCHES, F. L. F. Z.; BALLARD, C. R.; NOVELLO, D. Avaliação das características sensoriais e físico-químicas de iogurte adicionado de inulina. **Revista UNIABEU Belford Roxo** v. 7 .ISSN 2179-5037. n. 15 janeiro- abril 2014.

SANTOS, L. C.; CANÇADO, I. A. C. PROBIÓTICOS E PREBIÓTICOS: VALE A PENA INCLUÍ-LOS EM NOSSA ALIMENTAÇÃO! SynThesis **Revista Digital FAPAM**, Pará de Minas, n.1, 2009 www.fapam.edu.br/revista.

SANTOS, M.A.T. **Caracterização química das folhas de brócolis e couve-flor (*Brassica oleracea* L.) para utilização na alimentação humana**. 2000. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2000.

SARKAR, S. "Effect of probiotics on biotechnological characteristics of yoghurt: A review", **British Food Journal**, Vol. 110 Iss: 7, p.717 – 740, 2008.

SCALBERT, A. Antimicrobial properties of tannins. **Phytochemistry**, v. 30, n. 12, p. 3875-3883, 1991.

SCHUTZ, H. G.; CARDELLO, A. V. A labeled affective magnitude (LAM) scale for assessing food liking/disliking. **Journal of Sensory Studies**, n. 16, p.117–159, 2001.

SEIBEL, N. F.; ALVES, F. P.; OLIVEIRA, M. A.; LEITE, R. S. Brazilian Soybean Varieties for Human Use. In: EL-SHEMY, H. A. (Ed.). **Soybean bio-active compounds**. Croatia: InTech, 2013. 546 p;

SGARBIERI, V.C. **Proteínas em alimentos proteicos: propriedades, degradações, modificações**. São Paulo: Livraria Varela, 1996. 517 p.

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

- SHAH, N.P., Probiotic bacteria: selective enumeration and survival in dairy foods. **Journal of Dairy Science**, v. 83, p.894–907, 2000.
- SILVA, A. B. N.; UENO, M. Avaliação da viabilidade das bactérias lácticas e variação da acidez titulável em iogurtes com sabor de frutas. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 68, n. 390, p. 20-25, 2013.
- SILVA, C. E.; CARRÃO-PANIZZI, M. C.; MANDARINO, J. M. G.; LEITE, R. S.; MÔNACO, A. P. do A. Teores de isoflavonas em grãos inteiros e nos componentes dos grãos de diferentes cultivares de soja (*Glycine max* (L.) Merrill). **Brazilian Journal of Food Technology**. Campinas, v.15, n.2, p.150-156, abr./jun. 2012a.
- SILVA, D. S. **Estabilidade de suco tropical de goiaba (*Psidium guajava* L.) não-adoçado obtido pelos processos de Enchimento a quente e asséptico**. 2007. 98 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2007a.
- SILVA, J. B.; FELBERG, I.; CARRÃO-PANIZZI, M. C.; LEE, S.Y.; PRUDENCIO, 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.
- SILVA, L. H.; COSTA, P. F. P.; NOMIYAMA, G. W.; SOUZA, I. P.; CHANG, Y. K. Caracterização físico-química e tecnológica da farinha de soja integral fermentada com *Aspergillus oryzae*. **Brazilian Journal of Food Technology**. Campinas, v. 15, n. 4, p. 300-306, out/dez 2012b.
- SILVA, N., JUNQUEIRA, V. C. A., SILVEIRA, N. F. A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. 2 ed. São Paulo: Varela, 2007. 317 p.
- SILVA, N.; NETO, R. C.; JUNQUEIRA, A. C. V.; SILVEIRA, A. F. N. **Manual de métodos de análise microbiológica da água**. São Paulo: Varela, 2005.
- SILVA, S. O.; PEREIRA, L. V.; RODRIGUES, M. G. V. Variedades. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 29, n.245, p. 78-83, jul/ago. 2008.
- SILVA, S. V. **Desenvolvimento de iogurte probiótico com prebiótico**. 2007. 106 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2007b.
- SINGH, K.; KALLALI, B.; KUMAR, A.; THAKER, V. Probiotics: A review. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v.1, p.S287–S290, 2011.
- SINGH, S.; GOSWAMI, P.; SINGH, R.; HELLER, K. J. Application of molecular identification tools for *Lactobacillus*, with a focus on discrimination between closely related species: a review. **LWT – Food Science and Technology**, v. 42, p. 448-457, 2009.
- SISTEMA BRASILEIRO DE RESPOSTAS TÉCNICAS – SBRT. Rio de Janeiro: Ministério da Ciência e Tecnologia. 2005. Disponível em: <http://sbrt.ibict.br/upload/sbrt424.pdf>. Acesso em: ago. 2006.
- SOUZA, M. C. C.; LAJOLO, F.M.; MARTINI, L.A. CORREA, N.B.; DAN, M.C.T.; MENEZES, E.W. Effect of oligofructose-enriched inulin on bone metabolism in girls with low calcium intakes. **Braz Arch Biol Technol**. 2010;53(1):193-201.
- SOUZA, T. C. **Avaliação do efeito protetor de bifidobactéria de origem humana na infecção experimental com *Salmonella enterica subsp. enterica* sorovar *Typhimurium* para o seu uso como probiótico em alimento funcional**. 2012. 144 f. Tese (Doutorado em

Microbiologia) - Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2012.

SPECK, M. L. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 2. ed., Washington, DC: APHA, 1984. p.409.

STANTON, C.; DESMOND, C.; COAKLEY, M.; COLLINS, J.K.; FITZGERALD G.F.; ROSS, R.P. Challenges facing development of probiotic-containing functional foods. *In*: FARNWORTH, E. R., (Ed.). **Handbook of fermented functional foods**. Boca Raton: CRC Press, 2003. p. 27-58.

STATSOFT. **STATISTICA** (data analysis software system), version 7.0 *Software* estatístico. 2006.

STEFE, C. A.; ALVES, M. A. R.; RIBEIRO, R. L. Probióticos, Prebióticos e Simbióticos – Artigo de Revisão. **Saúde e Ambiente em Revista**. Duque de Caxias. V.3. N.1, p.16-33. Jan./Jun. 2008.

STONE, H. L. AND SIDEL, J. L. **Sensory evaluation practices**. 2nd edn. San Diego USA: Academic, 1993.

STRINGHETA, P. C.; OLIVEIRA, T. T.; GOMES, R. C.; AMARAL, M. P. H.; CARVALHO, A. F. VILELA, M. A. P. Políticas de saúde e alegações de propriedades funcionais e de saúde para alimentos no Brasil. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. v. 43, n. 2, abr./jun.: 181-194, 2007.

TAMANINI, R. T.; BELOTI, V.; SILVA, L. C. C.; ANGELA, H. L.; YAMADA, A. K.; BATTAGLINI, A. P. P.; FAGNANI, R.; MONTEIRO, A. A. Antagonistic activity against *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* from lactic acid bacteria isolated from raw milk. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.33, n.5, p. 1877-1886, set./out. 2012.

TAMIME, A.; MARSHALL, V.; ROBINSON, R. Microbiological and technological aspects of milks fermented by bifidobacteria. **Journal of Dairy Research**. v. 62 p.151-187, 1997.

TEBALDI, Victor M. R.; RESENDE, Jaíne G. O. S.; RAMALHO, Guilherme C. A.; OLIVEIRA, Thales L. C. I.; ABREU, Luiz R.; PICCOLI, Roberta H. Avaliação microbiológica de bebidas lácteas fermentadas adquiridas no comércio varejista do sul de Minas Gerais. **Ciências e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 4, ago. 2007. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-70542007000400021&lng=en&nrm=iso. Acesso em: jul. 2014.

THAMER, K.G.; PENNA, A.L.B. Caracterização de bebidas lácteas funcionais fermentadas por probióticos e acrescidas de prebiótico. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v 26, p.589-595, 2006.

TONELI, J. T. C. L.; PARK, K. J., MURR, F. E. X.; NEGREIROS, A. A. Efeito da umidade sobre a microestrutura da inulina em pó. **Ciências e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 1, p. 122-31, 2008.

TORRES, L. L., EL-DASH, A. A., CARVALHO, C. W., ASCHERI, J. L., GERMANI, R., MIGUEZ, M. Efeito da umidade e da temperatura no processamento de farinha de banana verde (*Musa acuminata*, grupo AAA) por extrusão termoplástica. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 23, n. 2, p.273-290, 2005.

TORREZAN, R.; CRISTIANINI, M. Efeito do tratamento térmico sob alta pressão sobre as propriedades funcionais da proteína de soja e interação proteína-polissacarídeo. **Boletim do**

Centro de Pesquisa em Processamento de Alimentos, Curitiba, v. 23, n. 2, p. 201-220, jul./dez. 2005.

TRINDADE, M.C. **Estudo da recuperação de ácido láctico proveniente do soro de queijo pela técnica de membranas líquidas surgantes**. Dissertação de Mestrado apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2002.

TSENG, Y.; XIONG, Y. Effect of inulin on the rheological properties of silken tofu coagulated with glucono-d-lactone. **Journal of Food Engineering**, v. 90, p. 511-216, 2009.

UCHOA, A. M. A.; COSTA, J. M. C.; MAIA, G. A.; SILVA, E. m. C.; CARVALHO, A. F. F. U.; MEIRA, T. R. Parâmetros Físico-Químicos, Teor de Fibra Bruta e Alimentar de Pós Alimentícios Obtidos de Resíduos de Frutas Tropicais. **Segurança Alimentar e Nutricional**, Campinas, 15(2): 58-65, 2008.

UKEYIMA, M. T.; ENUJIUGHA, V.N.; SANNI, T.A. Current applications of probiotic foods in Africa. **African Journal of Biotechnology**, v. 9, n. 9, January, 2010. p. 394-401.

ULSENHEIMER, Fátima; SCHLABITZ, Cláudia; LEHN, Daniel N.; HOEHNE, Lucélia.; SOUZA, Cláucia F. V. **Análise da composição de bebidas lácteas fermentadas comercializadas na região do Vale do Taquari, RS**. Salão de Iniciação Científica da Univates. Anais do XI Salão de Iniciação Científica da Univates, Lajeado: Univates, 2012. Disponível em <https://www.univates.br/editoraunivates/media/publicacoes/29/pdf_29.pdf>. Acesso em: Dez. 2014.

UMBELINO, D. C.; CARDELLO, H. M. A. B.; ROSSI, E. A. Efeito de diferentes sais de ferro sobre as características sensoriais do “iogurte” de soja. **Archives Latino americanos of Nutrition**, v. 51, n. 2, p. 199- 203, 2001.

UMBELINO, D. C.; ROSSI, E. A.; CARDELLO, H.M.A.B.; LEPERA, J.S. Aspectos tecnológicos e sensoriais do iogurte de soja enriquecido com cálcio. **Ciência Tecnologia de Alimentos**, v. 21, n. 3, p. 276-280, 2001.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE - USDA. Departamento de Agricultura dos Estados Unidos. **Data and Statistics**. 2014. Disponível em: <<http://www.usda.gov/wps/portal/usda/>>. Acesso em: mar. 2014.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE – USDA. **National nutrient database for standard reference**. 2011. Disponível em: <<http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/search/>>. Acesso em 8 de fev de 2014.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO (USP). **Tabela Brasileira de Composição de Alimentos** - USP. Version 4.1. Faculdade de Ciências Farmacêuticas - USP, São Paulo, 1998. Disponível em: <http://www.fcf.usp.br/>. Acesso em: jan. 2015.

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS – UNICAMP. Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação - NEPA. **Tabela brasileira de composição de alimentos**. 4. ed. ver. ampl. Campinas, 2011.

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS – UNICAMP. Núcleo de Pesquisas em Alimentação - NEPA. **Tabela brasileira de composição de alimentos**. Versão II, 2 ed. Campinas: Fórmula Editora, 2006.

VAN DOKKUM, W. Propriedades funcionais de fibras alimentares, amido resistente e oligossacarídeos não digeríveis. In: COSTA, N.M.B.; ROSA, C.O.B. (Ed), **Alimentos funcionais: benefícios para a saúde**. Viçosa, 2008.

VASILJEVIC, T.; SHAH, N. P. **Probiotics** — From Metchnikoff to bioactives. **International Dairy Journal, Barking**, v. 18, p. 714-728, 2008.

VENTER, C.S. Prebiotics: an update. **Journal of Family Ecology and Consumer Sciences**, v.35, p.17-25, 2007.

VIDAL, Andressa Meirelles *et al.* **A ingestão de alimentos funcionais e sua contribuição para a diminuição da incidência de doenças**. p. 7-22, 2012.

WANG, J.; GUO, Z.; ZHANG, Q.; YAN, L.; CHEN, W.; LIU, X.-M.; ZHANG, H.-P. Fermentation characteristics and transit tolerance of probiotic *Lactobacillus casei* Zhang in soymilk and bovine milk during storage. **Journal of Dairy Science**, v.92, p.2468– 2476, 2009.

WANG, Q.; CUI, Y.; WANG, W.; XU, J.; XU, L. Production of two bacteriocins in various growth conditions produced by gram-positive bacteria isolated from chicken cecum. **Canadian Journal of Microbiology**, v.58, p. 93–101. 2012.

WANG, Y.C.; YU, R.C.; CHOU, C.C. Viability of lactic acid bacteria and bifidobacteria in fermented soymilk after drying, subsequent rehydration and storage. **Int. J. Food Microbiol.**, v. 93, p. 209-217, 2004.

WOGNUM, P.M. (Nel), Bremmers, H., Trienekens, J., Vorst, J. e Bloemhof, J. Systems for sustainability and transparency of food supply chains - Current status and challenges. **Advanced Engineering Informatics**. v. 25, p. 65-76, 2011.

XAVIER, L. S.; LIMA, E. O.; SOUZA, E. L. Presença de leveduras em produtos lácteos: uma abordagem especial para a significância de leveduras em queijos. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 20, n. 139, p. 61-64, 2006.

ZANDONADI, R. R. **Massa de banana verde: uma alternativa para exclusão do glúten**. 2009. 74 f. Tese (Doutorado em Ciências da Saúde) - Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília - UnB, Brasília, 2009.

ZARE, F. *et al.* Effect of the addition of pulse ingredients to milk on acid production by probiotic and yoghurt starter cultures. **Food Science and Technology, London**, v. 45, n. 2, p. 155-160, mar 2012.

ZARKADAS, C. G.; CAGNON, C.; GLEDDIE, S.; KHANIZADEH, S.; COBER, E. R.; GUILLEMETTE, R. J. D. Assessment of the protein quality of fourteen soybean [*Glycine max* (L) Merr.] cultivars using amino acid analysis and two-dimensional electrophoresis. **Food Research International**, v. 40, p. 129-146, 2007.

ZHANG, P.; WAMPLER, J.L.; BHUNIA, A.K.; BURKHOLDER, K.M.; PATTERSON, J.A.; WHISTLER, R. L. Effects of arabinoxylans on activation of murine macrophages and growth performance of broiler chicks. **Cereal Chemistry**. v. 81, p. 511–514, 2005.

ZHONG, F.; LIU, J.; MA, J.; SHOEMAKER, C.F. Preparation of hypocholesterol peptides from soy protein and their hypocholesterolemic effect in mice. **Food Research International** 40: 661–667. 2007.

ZUCCOTTI GV, Meneghin F, Raimondi C, Dilillo D, Agostoni C, Riva E *et al.* Probiotics in clinical practice: an overview. **J Int Med Res**, v. 36, p. 1A-53, 2008.

ANEXOS

ANEXO A PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

UNIVERSIDADE
TECNOLOGICA FEDERAL DO



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Caracterização físico-química, microbiológica e sensorial de bebida fermentada de soja utilizando farinha da banana como veículo para o desenvolvimento de micro-organismos probióticos

Pesquisador: William Arthur Philip Louis Naidoo Terroso de Mendonça Brandão

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 37972914.3.0000.5547

Instituição Proponente:

Patrocinador Principal: UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 871.669

Data da Relatoria: 12/11/2014

Apresentação do Projeto:

No Brasil, no período de 2007/08, a safra de grãos foi de cerca de 145 milhões de toneladas, um recorde para a agricultura interna; desse total, foram produzidos 60 milhões de toneladas de grãos de soja, ou seja, 41,4% da produção nacional. Como possíveis benefícios de dietas contendo soja podem ser mencionados os efeitos anticarcinogênicos, redução dos níveis de colesterol, efeitos protetores contra a obesidade e sintomas como ondas de calor na menopausa, tratamento de doenças coronarianas e osteoporose. Os alimentos prebióticos são alguns tipos de fibras alimentares, ou seja, carboidratos não digeríveis pelo nosso corpo, possuindo desta forma uma configuração molecular que os torna resistentes à ação de enzimas. A combinação de probióticos e prebióticos resulta no conceito de simbióticos. O objetivo deste estudo será desenvolver um produto funcional, bem como realizar análises físico-químicas, microbiológicas e sensoriais. Serão elaboradas formulações a partir de extrato hidrossolúvel de soja sem lipoxigenase, adicionado de farinha de banana e inoculadas com fermento lácteos probiótico. O delineamento experimental será inteiramente casualizado utilizando-se 12 tratamentos distintos. Espera-se alcançar o desenvolvimento de um produto com propriedades funcionais e sensoriais satisfatórios para o mercado consumidor, e que a utilização da farinha de banana verde auxilie na fermentação do

Endereço: SETE DE SETEMBRO 3165

Bairro: CENTRO

CEP: 80.230-901

UF: PR

Município: CURITIBA

Telefone: (41)3310-4943

E-mail: coep@utfpr.edu.br

Continuação do Parecer: 871.669

mesmo.

Objetivo da Pesquisa:

Segundo o autor o objetivo primário do projeto será:

Elaborar e avaliar o perfil físico-químico, microbiológico e sensorial de uma bebida de soja adicionada de farinha de banana verde, fermentada por micro-organismos probióticos.

Segundo o autor os objetivos secundários do projeto serão:

- Avaliar durante o armazenamento, a influência de duas variáveis (diferentes percentuais de soja e farinha da banana verde) sobre os parâmetros de acidez, pH e a sobrevivência do micro-organismo probiótico em estudo.
- Realizar análises microbiológicas do produto desenvolvido
- Realizar análises físico-químicas no produto elaborado Avaliar a contagem de micro-organismos probióticos. Otimizar a enumeração de bactérias lácticas
- Avaliar os aspectos físico-químicos, microbiológicos
- Avaliar e a aceitabilidade da bebida elaborada.
- Avaliar a intenção de compra do produto desenvolvido
- Aplicar uma pesquisa de mercado sobre os hábitos alimentares quanto ao consumo de soja, farinha de banana verde, leites fermentados e dados sobre peso, altura, idade, sexo e intenção de compra dos consumidores.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Como riscos, o autor do projeto ressalta que:

Esta análise sensorial aplicada, nas formulações de bebida fermentada de soja adicionada de farinha de banana verde e micro-organismos probióticos, somente será conduzida após o laudo das análises microbiológicas, que comprovem a sua inocuidade, fornecendo a você a segurança alimentar quanto à ingestão das amostras. No entanto, você poderá apresentar algum constrangimento em responder ao questionário da pesquisa

de mercado, ou algum desconforto após a degustação, deste modo você poderá desistir em qualquer momento da sua avaliação sensorial, sem nenhum ônus.

Os benefícios levantados pelo autor:

Devido aos possíveis benefícios de dietas contendo soja, podem ser mencionados os efeitos anticarcinogênicos, redução dos níveis de colesterol, efeitos protetores contra a obesidade e sintomas como ondas de calor na menopausa; tratamento de doenças coronarianas e osteoporose. No Brasil, aproximadamente 43% da população apresenta algum tipo de prevalência a intolerância

Endereço: SETE DE SETEMBRO 3165

Bairro: CENTRO

UF: PR

Município: CURITIBA

CEP: 80.230-901

Telefone: (41)3310-4943

E-mail: coep@utfpr.edu.br

Continuação do Parecer: 871.669

ao leite e derivados. A intolerância à lactose é um problema mais comum do que se imagina. Estima-se que no Brasil 43% dos brancos e mulatos apresentam deficiência de lactase – enzima responsável pela quebra da lactose – açúcar presente em leites e seus derivados. Desta maneira, este produto poderá atender às pessoas intolerantes à lactose. Atualmente probióticos são definidos como micro-organismos viáveis (bactéria láctica e outras bactérias ou leveduras aplicado a produtos fermentados) que exibem efeito benéfico para a saúde do hospedeiro, ajudando na digestão e melhorando as propriedades de sua microflora. A banana é uma das frutas mais consumidas no mundo, sendo produzida na maioria dos países tropicais, representa a quarta fonte de energia depois do milho, arroz e trigo. Sua alta concentração de amido a partir do processamento em farinha é de interesse como fonte alimentar e propósito industrial. Desta maneira, o produto desenvolvido é saudável, pois a sua segurança alimentar será assegurada através das análises microbiológicas, e você ao degustar as três amostras de bebida fermentada de soja adicionada de farinha de banana verde e probióticos, contribuirá através de sua opinião sobre o quanto gostou ou desgostou, motivando o Doutorando e demais pesquisadores envolvidos neste estudo a nível de Doutorado a concluir quanto à possibilidade futura ou não da inserção deste produto no mercado consumidor. Salientamos que a sua participação neste estudo é de suma importância para a sua conclusão, pois contribuirá para o meio científico, mediante o fornecimento de sua opinião a respeito destes produtos, em relação ao quanto gostou ou desgostou dos mesmos.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Pesquisa relevante para a área de ciência e tecnologia de alimentos.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

O projeto atende parcialmente as recomendações da Resolução 466/12.

Recomendações:

Os riscos e benefícios do projeto assim como os critérios de inclusão e exclusão dos participantes podem ser citados no projeto também.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Ver item recomendações.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: SETE DE SETEMBRO 3165

Bairro: CENTRO

UF: PR

Município: CURITIBA

Telefone: (41)3310-4943

CEP: 80.230-901

E-mail: coep@utfpr.edu.br

UNIVERSIDADE
TECNOLÓGICA FEDERAL DO



Continuação do Parecer: 871.669

Considerações Finais a critério do CEP:

Lembramos aos senhores pesquisadores que, no cumprimento da Resolução 466/12, o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) deverá receber relatórios anuais sobre o andamento do estudo, bem como a qualquer tempo e a critério do pesquisador nos casos de relevância, além do envio dos relatos de eventos adversos, para conhecimento deste Comitê. Salientamos ainda, a necessidade de relatório completo ao final do estudo.

Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP-UTFPR de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificado e as suas justificativas.

CURITIBA, 13 de Novembro de 2014

Assinado por:
Frieda Saicla Barros
(Coordenador)

APÊNDICES

APÊNDICE A

FICHA DA ANÁLISE SENSORIAL

ANÁLISE SENSORIAL DE BEBIDA FERMENTADA DE SOJA

Nome: _____ Data: ____/____/____

Sexo: () Feminino () Masculino Idade: _____

Peso: _____ Altura: _____

1) Você costuma tomar leite fermentado?

() Sim () Não

Se sim, com que frequência você costuma tomar leite fermentado?

() Diariamente

() Duas vezes por semana

() De três a quatro vezes por semana

() Uma vez por mês

() Outro. Qual? _____

2) Você consome soja?

() Sim () Não

Se sim, com que frequência você consome soja?

() Diariamente

() Duas vezes por semana

() De três a quatro vezes por semana

() Uma vez por mês

() Outro. Qual? _____

3. Você tem conhecimento das propriedades nutricionais da soja? () Sim () Não

Se sim, Quais? _____

4. Você já consumiu farinha de banana verde?

() Sim () Não

5. Você consumiria uma bebida fermentada de soja com farinha de banana verde?

() Sim () Não

TESTE DE ESCALA HEDÔNICA

Você está recebendo três amostras de bebida fermentada de soja com farinha de banana verde. Avalie as amostras utilizando a escala de valores abaixo:

(9) Gostei extremamente

(8) Gostei muito

(7) Gostei moderadamente

(6) Gostei ligeiramente

(5) Indiferente

- (4) Desgostei ligeiramente
 (3) Desgostei moderadamente
 (2) Desgostei muito
 (1) Desgostei extremamente

Descreva o quanto você gostou e/ou desgostou, com relação aos atributos:

Amostra	Cor	Aparência	Aroma de banana	Sabor de soja	Sabor de banana	Sabor de Goiaba	Doçura	Consistência	Impressão Global
051									
683									
417									
952									

Comentários:

TESTE DE INTENÇÃO DE COMPRA

Com relação aos produtos degustados, avalie quanto à sua intenção de compra de acordo com a classificação abaixo:

5. Certamente compraria
 4. Possivelmente compraria
 3. Talvez comprasse / talvez não comprasse
 2. Possivelmente não compraria
 1. Certamente não compraria

AMOSTRA	AVALIAÇÃO
510	
386	
147	
295	

Comentários: _____

APÊNDICE B

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Título do Projeto: Caracterização físico-química, microbiológica e sensorial de bebida fermentada de soja utilizando farinha da casca da banana como veículo para o desenvolvimento de micro-organismos probióticos.

Pesquisador responsável e colaboradores com telefones de contato: William Arthur Philip Louis Naidoo Terroso de Mendonça Brandão 45-99281880 e Divair Christ 45-32203250.

Convidamos **(você ou seu filho, no caso de menores ou incapazes)** a participar de nossa pesquisa que tem o objetivo de **(descrever de maneira clara com linguagem que o sujeito entenda, nunca usar termos técnicos, em nenhum momento do termo)**, para isso será realizado **um tratamento a sua pessoa, que consiste em.....(ser claro e direto na informação)**.

Durante a execução do projeto **(descrever os riscos ou os procedimentos que causem algum tipo de dano/desconforto ao sujeito, nunca informar que o projeto não tem riscos, pois mesmo uma pergunta aparentemente inocente pode causar constrangimento à pessoa)**. Para algum questionamento, dúvida ou relato de algum acontecimento os pesquisadores poderão ser contatados a qualquer momento. **Deixar claro os benefícios para o sujeito ou comunidade. Informar que:** o TCLE será entregue em duas vias, sendo que uma ficará com o sujeito da pesquisa; que o sujeito não pagará nem receberá para participar do estudo; será mantido a confidencialidade do sujeito e os dados serão utilizados só para fins científicos; o sujeito poderá cancelar sua participação a qualquer momento; o telefone do comitê de ética é 3220-3272, caso o sujeito necessite de maiores informações; descrever o atendimento que será dado ao sujeito caso ocorra algum imprevisto durante a execução do projeto, mesmo que seja chamar o SIATE; descrever o atendimento será dado ao sujeito ao término do projeto.

Declaro estar ciente do exposto e **desejo participar do projeto ou autorizo**a participar da pesquisa (no caso de responsável por menor ou pessoa considerada legalmente incapaz).

Nome do sujeito de pesquisa ou responsável:

Assinatura:

Eu, **nome do pesquisador**, declaro que forneci todas as informações do projeto ao participante e/ou responsável.

Cascavel, _____ de _____ de 20____.

O TCLE deverá obrigatoriamente conter os itens acima, preferencialmente nesta sequência, e sempre dirigido como um convite ao sujeito da pesquisa.