

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

**UTILIZAÇÃO DE EXTRATO HIDROSSOLÚVEL DE SOJA NA ELABORAÇÃO DE
BEBIDA FERMENTADA SIMBIÓTICA**

HENRY CHARLES ALBERT DAVID NAIDOO TERROSO DE MENDONÇA BRANDÃO

Cascavel – Paraná – Brasil

Julho – 2012

HENRY CHARLES ALBERT DAVID NAIDOO TERROSO DE MENDONÇA BRANDÃO

**UTILIZAÇÃO DE EXTRATO HIDROSSOLÚVEL DE SOJA NA ELABORAÇÃO DE
BEBIDA FERMENTADA SIMBIÓTICA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Engenharia Agrícola, em cumprimento parcial aos requisitos para obtenção do título de Mestre em Engenharia Agrícola, área de concentração em Engenharia de Sistemas Agroindustriais.

Orientador: Prof. Dr. Divair Christ

Cascavel – Paraná – Brasil

Julho - 2012

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
Biblioteca Central do Campus de Cascavel – Unioeste
Ficha catalográfica elaborada por Jeanine da Silva Barros CRB-9/1362

B813u Brandão, Henry Charles Albert David Naidoo Terroso de Mendonça
Utilização de extrato hidrossolúvel de soja na elaboração de bebida
fermentada simbiótica. / Henry Charles Albert David Naidoo Terroso de
Mendonça Brandão— Cascavel, PR: UNIOESTE, 2012.
67 p. ; 30 cm.

Orientador: Prof. Dr. Divair Christ
Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual do Oeste do
Paraná.
Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Engenharia Agrícola,
Centro de Ciências Exatas e Tecnológicas.
Bibliografia.

1. Soja – Elaboração de bebida. 2. Suplementação por açúcares. 3.
Soja – Análise físico-química. I. Universidade Estadual do Oeste do
Paraná. II. Título.

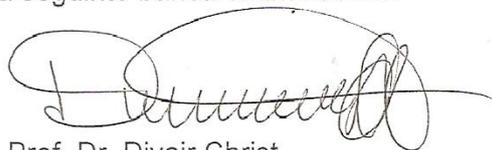
CDD 21. ed. 633.34

Revisor: Prof. Ms. José Carlos da Costa

HENRY CHARLES ALBERT DAVID NAIDOO TERROSO DE MENDONÇA BRANDÃO

"Utilização de extrato hidrossolúvel de soja na elaboração de bebida fermentada simbiótica"

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



Orientador: Prof. Dr. Divair Christ
Centro de Ciências Exatas e Tecnológicas, UNIOESTE



Prof.ª. Dr.ª. Eliane Colla
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, UTFPR



Prof.ª. Dr.ª. Sílvia Renata Machado Coelho
Centro de Ciências Exatas e Tecnológicas, UNIOESTE

Cascavel, 02 de julho de 2012.

BIOGRAFIA

HENRY CHARLES ALBERT DAVID NAIDOO TERROSO DE MENDONÇA BRANDÃO

Nascido na cidade de Santos, São Paulo, no dia 17 de Junho de 1985. Filho de Carlos Felipe Terroso Gama de Mendonça e Saraspathy Naidoo Terroso Gama de Mendonça. Grande parte de sua vida foi decorrida em Santos – SP, até mudar-se para Medianeira - PR, onde estudou até sua graduação. Em 2006, formou-se no curso de Tecnologia em Alimentos na Universidade Tecnológica Federal do Paraná, *campus* de Medianeira. Possui licenciatura plena em Química, está concluindo o curso de especialização em Métodos e Técnicas de Ensino. No ano de 2011 ingressou Programa de Pós-Graduação Engenharia Agrícola, em nível de mestrado. Atualmente é professor na área de Química na UTFPR-*campus* de Medianeira.

“Quem busca a verdade, quem obedece à lei do amor, não pode estar preocupado com o amanhã.”

Mohandas Karamchand Gandhi

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela oportunidade da vida;

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

Ao meu irmão William, pelo apoio, incentivo e dedicação;

A minha esposa Elizete, e minha filha, Thábata, pela compreensão, dedicação e incentivo para a conclusão deste;

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

Aos professores da Banca Examinadora, Dra Sílvia Renata Machado Coelho e Dra Eliane Colla pelas oportunas contribuições;

À Vera Celita Schmidt, professores e demais funcionários do PGEAGRI, pelo apoio e incentivo.

À Universidade Tecnológica Federal do Paraná Câmpus Medianeira pelo apoio técnico e à Coordenação da Universidade do Oeste do Paraná Câmpus Cascavel, pela atenção e apoio para a conclusão desta dissertação.

UTILIZAÇÃO DE EXTRATO HIDROSSOLÚVEL DE SOJA NA ELABORAÇÃO DE BEBIDA FERMENTADA SIMBIÓTICA

RESUMO

A safra brasileira de grãos 2007/08 foi de cerca de 145 milhões de toneladas, um recorde para a agricultura interna. No ano de 2008 a soja liderou a participação no valor da produção de lavouras temporárias e permanentes com 39,18%, participação que foi superada pela safra 2009/2010, na qual o Paraná garantiu o primeiro lugar na produção de soja no Brasil. 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. Diante deste contexto econômico e de saúde, almejou-se desenvolver uma bebida à base de extrato hidrossolúvel de soja fermentada com micro-organismos probióticos, acrescida de inulina (substância prebiótica) e proteína concentrada do soro do leite, visando atender às expectativas de consumidores quanto à saúde, nutrição e funcionalidade, devido ao seu caráter simbiótico. Foram realizadas análises físico-químicas, microbiológicas, sensoriais e contagem de bactérias probióticas, considerando-se diferentes tipos de açúcares, como sacarose e glicose. Foram elaboradas doze formulações a partir de extrato hidrossolúvel de soja, adicionado de proteína concentrada de soro de leite e inulina, variando as culturas inoculadas (fermentos lácteos *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* e *SAB*) e o açúcar (Tratamento com 100% de glicose, tratamento com 100% de sacarose, tratamento com 50% de glicose e 50% de sacarose e tratamento com 0% de açúcar). O delineamento experimental na avaliação sensorial foi inteiramente casualizado, aplicando-se a análise de variância (ANOVA) e teste de médias (Tuckey). No processo de fermentação a formulação contendo 10% EHS, 2,5% WPC, 2% de inulina, sem açúcar e o inóculo *SAB* sobressaiu-se com o menor tempo, totalizando 5 horas e 53 minutos para alcançar o pH ótimo. Para obter um efeito terapêutico ótimo, estima-se que o alimento probiótico deva conter um número maior que 10^7 UFC/mL, sendo que todas as formulações elaboradas alcançaram este propósito durante os 28 dias de armazenamento, tendo como destaque a formulação A9 com uma contagem inicial de $1,20 \times 10^{14}$ UFC/mL. Os valores de acidez aumentaram até aproximadamente 85° D, mantendo o valor de pH próximo a 4,31, o que significa um pH adequado. Os resultados das análises microbiológicas das bebidas fermentadas apresentaram-se em conformidade com os padrões estabelecidos pela legislação brasileira, assegurando a inocuidade das amostras. O índice de aceitabilidade obtido pela avaliação sensorial das bebidas foi superior a 70% para as formulações A2 (10% EHS, 2,5% WPC, 2% de inulina, 100% sacarose e o inóculo *L. casei*) e A10 (10% EHS, 2,5%WPC,2% de inulina, 100% sacarose e o inóculo *L. acidófilos*), o que significa que estas formulações seriam bem aceitas no mercado consumidor.

Palavras-chave: goiaba, inulina, proteína concentrada do soro do leite, inóculos, Suplementação por açúcares;

USE OF HYDROSOLUBLE SOYBEAN EXTRACT IN THE PREPARATION OF SYMBIOTIC FERMENTED BEVERAGE

ABSTRACT

In Brazil, the grain harvest in 2007/08 was about 145 million tons, a record for the domestic agriculture. In 2008 soybeans led to participation in the value of production of temporary and permanent crops with 39.18% which were superseded by the 2009/2010, in which the Paraná state reached the first place in soybean production in Brazil. As possible benefits of diets containing soy we could mention the anticarcinogenic effects, reduction of cholesterol levels, protective effects against obesity and symptoms such as hot flashes during menopause, treatment of coronary heart disease and osteoporosis. According to this economic and health context, this work aimed the development of a hydrosoluble soybean extract fermented with probiotic microorganisms, plus inulin (prebiotic substance) and whey protein concentrate, in order to meet the consumers' expectations on health, nutrition and functionality due to their symbiotic nature. Physical and chemical, microbiological, sensory analyzes and probiotic bacteria counting were carried out, considering different types of sugars such as sucrose and glucose. Twelve formulations were prepared from hydrosoluble soybean extract with whey protein concentrate and inulin, by varying the inoculated cultures (*Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* and SAB) and sugar (100% glucose treatment, 100% sucrose treatment, 50% glucose and 50% sucrose treatment, and 0% sugar treatment). The sensory evaluation experiment was completely randomized, applying analysis of variance-ANOVA and Means Test (Tuckey). In the fermentation process the formulation A5 (EHS 10%, 2.5% WPC, 2% inulin, sugar and inoculum SAB) presented the shortest time register, with 5 hours and 53 minutes to achieve the optimum pH. For an optimal therapeutic effect, it is estimated that the probiotic food must contain a number above than 10^7 CFU / mL, and all formulations reached this viable cell count during 28 days of storage, especially the Treatment A9 with an initial count of $1,20 \times 10^{14}$ CFU / mL. The increased acidity values reached 85 °D, maintaining the pH value close to 4.31, which means a suitable pH. The results of the microbiological analyzes of fermented beverages were in accordance to the standards established by the Brazilian legislation, ensuring the safety of the samples. The rate of acceptance achieved by sensory evaluation of the beverages was above 70% considering the formulations A2 (EHS 10%, 2.5% WPC, 2% of inulin, 100% sucrose and *L. casei* inoculum) and A10 (EHS 10% 2.5% WPC, 2% of inulin, and 100% sucrose and *L. acidophilus* inoculum), which means that these formulations would be well accepted in the consumers' market.

Key words: guava, inulin, whey protein concentrate from milk, inoculants, supplementation on sugars.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	x	
LISTA DE FIGURAS	xi	
1	INTRODUÇÃO	1
2	OBJETIVOS	4
2.1	Objetivo geral	4
2.2	Objetivos específicos.....	4
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	5
3.1	Leites fermentados	5
3.2	Soja como alimento funcional	5
3.3	Proteína concentrada do soro do leite	8
3.4	Alimentos probióticos.....	11
3.4.1	Bactérias do gênero <i>Lactobacillus</i>	14
3.4.2	Características morfológicas e condições de cultivo	14
3.4.3	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	16
3.4.4	<i>L. casei</i>	17
3.4.5	<i>Streptococcus thermophilus</i>	19
3.4.6	<i>Bifidobactérias</i>	19
3.5	Prebióticos.....	20
3.6	Simbióticos	21
3.7	Análise sensorial	21
4	MATERIAL E MÉTODOS	23
4.1	Tratamentos	23
4.2	Processamento das formulações de bebidas fermentadas de soja.....	24
4.3	Análises microbiológicas	26
4.3.1	Análise de coliformes a 35 e 45 °C, bolores e leveduras	26
4.3.2	Análise de contagem de bactérias lácticas	26
4.4	Análises físico-químicas	26
4.5	Análise sensorial	27
4.5.1	Primeiro teste sensorial	28
4.5.2	Segundo teste sensorial	28
4.5.3	Terceiro teste sensorial	28

4.5.4	Quarto teste sensorial.....	28
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES	29
5.1	Análises físico-químicas	29
5.1.1	Evolução dos parâmetros de acidez e pH durante a fermentação	29
5.1.2	Evolução dos parâmetros de acidez e pH durante a estocagem do produto final	32
5.1.3	Resultado da análise físico-química das bebidas fermentadas saborizadas obtidas dos tratamentos.	33
5.1.4	Análise de minerais das BFS.....	35
5.2	Análise microbiológica	37
5.2.1	Análises microbiológicas das bebidas fermentadas de Soja	37
5.2.2	Contagem de micro-organismos probióticos	37
5.3	Análise sensorial	40
5.3.1	Análise de componentes principais para as três melhores formulações	44
5.3.2	Análise dos dados referentes à escala de atitude quanto ao consumo da bebida fermentada de soja simbiótica	47
6	CONCLUSÃO	50
7	CONSIDERAÇÕES FINAIS	51
	REFERÊNCIAS	52
	ANEXOS	65
	ANEXO A – TESTES DE ACEITAÇÃO.....	66
	ANEXO B – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA.....	67

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Composição relativa dos aminoácidos essenciais presentes (g/16 g N total) no requerimento padrão, nos leites de vaca e humano e nos produtos à base de soja.....	6
Tabela 2	Definição das formulações das bebidas de soja	23
Tabela 3	Desenvolvimento do pH das formulações com inóculo <i>Lactobacillus casei</i>	30
Tabela 4	Desenvolvimento do pH das formulações com inóculo <i>SAB</i>	31
Tabela 5	Desenvolvimento do pH das formulações com inóculo <i>Lactobacillus acidophilus</i>	32
Tabela 6	Valores referentes à acidez e pH durante a estocagem de 28 dias	33
Tabela 7	Análises físico-químicas das formulações	34
Tabela 8	Determinação de minerais das BFS elaboradas	35
Tabela 9	Análises microbiológicas das bebidas fermentadas	37
Tabela 10	Contagem microbiológica de <i>L. acidophilus</i> durante o período de 0, 7, 14, 21 e 28 dias.....	39
Tabela 11	Escore médio e desvio padrão obtidos pelo teste de escala hedônica para as formulações com <i>Lactobacillus casei</i>	40
Tabela 12	Escore médio e desvio padrão obtidos pelo teste de escala hedônica para as formulações com <i>Streptococcus thermophilus</i> com <i>L. acidophilus</i> e <i>Bifidobactérias</i> (SAB).....	41
Tabela 13	Escore médio e desvio padrão obtidos pelo teste de escala hedônica para as formulações com <i>Lactobacillus acidófilos</i>	42
Tabela 14	Escore médio e desvio padrão obtidos pelo teste de escala hedônica de 9 pontos para as três melhores formulações.....	43

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Formulações em balões volumétricos para fermentar.....	24
Figura 2	Fluxograma de desenvolvimento das BFS.....	25
Figura 3	Amostras acondicionadas para análises físico-químicas.	26
Figura 4	Evolução da acidez nas formulações utilizando <i>Lactobacillus casei</i>	29
Figura 5	Evolução da acidez nas formulações utilizando inóculo <i>SAB</i>	30
Figura 6	Evolução da acidez nas formulações utilizando <i>Lactobacillus acidophilus</i>	32
Figura 7	Foto de uma placa com a cultura <i>Lactobacillus</i>	38
Figura 8	Análise de componentes principais (ACP) das três amostras com melhor aceitação.	45
Figura 9	<i>Biplot</i> para análise de componentes principais (ACP) das três amostras de bebida fermentada simbiótica e seus atributos.	46
Figura 10	Dados referentes à escala de atitude de consumo.	47
Figura 11	Índice de aceitabilidade dos atributos das amostras.	48

1 INTRODUÇÃO

O Brasil é o segundo maior produtor mundial de soja (o primeiro é os Estados Unidos) e na safra de 2010, a produção nacional foi de aproximadamente 68,756 milhões de toneladas (IBGE, 2012). A soja é um produto vegetal de extrema importância econômica para o Brasil, pois possibilita ao país importante mercado externo e favorece o saldo da balança comercial nacional. Em 2008, as exportações do complexo da soja totalizaram, aproximadamente, US\$ 18 bilhões, representando cerca de 9% do total exportado (HIRAKURI, 2010). O Paraná é o segundo maior produtor brasileiro e foi o segundo maior exportador de grãos e o maior exportador de subprodutos da soja, no ano de 2008 (HIRAKURI, 2010).

Os indicadores econômicos e sociais apresentados pelo Estado do Paraná na última década são surpreendentes quando comparados aos demais estados brasileiros. No ano de 2008, a soja liderou a participação no valor da produção de lavouras temporárias e permanentes com 39,18%, participação que foi superada pela safra 2009/2010, na qual o Paraná garantiu o primeiro lugar na produção de soja no Brasil (IPARDES, 2011). No que diz respeito à cultura da soja, verifica-se que o consumo da soja e seus derivados vêm crescendo cada vez mais no Brasil, entretanto, grande parte da produção é destinada à exportação, na forma de grãos, farelo e o óleo de soja, além da exportação de bióleo extraído da cultura (TAVARES, 2006).

A soja, *Glycine max (L.) Merrill*, é nativa da Ásia e é considerada uma das culturas mais antigas. Tornou-se conhecida na Europa no século XVII, quando foi plantada pela primeira vez, no Jardim Botânico de Paris (COSTA, 1996).

Entretanto, este alimento de elevado teor nutricional apresenta uma utilização ainda limitada na dieta do brasileiro. Observa-se uma tendência forte na procura de alimentos mais saudáveis e nutritivos por parte dos consumidores, com a expectativa de consumir produtos menos calóricos, com teor reduzido de gordura e sem colesterol (MODESTA *et al.*, 2009).

Como possíveis benefícios de dietas contendo soja podem ser mencionados os efeitos anticarcinogênicos, a redução dos níveis de colesterol, os efeitos protetores contra a obesidade e sintomas como ondas de calor na menopausa (HUI *et al.*, 2001; FRIEDMAN; BRANDON, 2001; NAGATA *et al.*, 2001), tratamento de doenças coronarianas e osteoporose (ANDERSON; JOHNSTONE; COOK-NEWELL, 1995; CHIECHI *et al.*, 2002; HERMAN *et al.*, 1995; KNIGHT; EDEN, 1996).

O extrato solúvel de soja apresenta baixo teor de gordura, sendo rico em ácidos graxos e ácido linoleico, que ajuda na dispersão de gorduras saturadas que tendem a obstruir a corrente sanguínea. O mercado de bebidas à base de soja, segundo TRADECOS (2011), tem registrado um considerável aumento de vendas nos últimos anos - verificou-se em 2005 um aumento de 66% em relação a 2004 - decorrente do emprego de tecnologias adequadas que torna a bebida mais atraente aos consumidores e, também, devido ao *marketing* utilizado pelas empresas para divulgar o produto.

A inulina é um carboidrato retirado da raiz da chicória que melhora as condições da flora intestinal, sendo considerado um prebiótico. Atualmente, os prebióticos de maior interesse são aqueles que objetivam estimular bactérias que compõem a flora intestinal, as Bifidobactérias. Essas bactérias inibem o desenvolvimento de micro-organismos que causam diarreia ou câncer de cólon, por exemplo. Além disso, o consumo da inulina pelas Bifidobactérias auxilia uma boa digestão, favorecendo a eliminação de toxinas e colesterol. Inulina e frutooligossacarídeos são os prebióticos mais utilizados em formulações de alimentos, reduzindo o risco de osteoporose, pois melhoram a biodisponibilidade do cálcio (HOLZAPFEL; SCHILLINGER, 2002).

O consumo de prebióticos pode modular a microflora no cólon intestinal pelo aumento do número das bifidobactérias (LOSADA; OLLEROS, 2002). Diversos estudos indicam que a inulina está seletivamente associada ao crescimento de bifidobactérias no cólon humano (GRASTEN *et al.*, 2003).

O termo probiótico deriva do grego e significa pró-vida, sendo o antônimo de antibiótico, que significa contra a vida. O termo probiótico foi definido inicialmente como: "organismos vivos que quando ingeridos exercem efeito benéfico no balanço da flora bacteriana intestinal do hospedeiro" e ampliado posteriormente para: "organismos vivos que quando ingeridos em determinado número exercem efeitos benéficos para a saúde". A definição atual é a seguinte: "suplemento alimentar microbiano vivo, que afeta de forma benéfica seu receptor, através da melhoria do balanço microbiano intestinal (COPPOLA; GIL-TURNES, 2004, p. 1297).

A combinação de cepas probióticas e substâncias prebióticas resultam no efeito combinado denominado de simbióticos (RASTALL; MAITIN, 2002).

Conforme descrito por Haully, Fuchs e Prudêncio-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 o crescimento microbiano. Sendo assim a bebida fermentada de soja, obtida por meio da fermentação, pela ação de micro-organismos probióticos apresenta características sensoriais semelhantes às do iogurte tradicional.

Segundo a *Leatherhead Food Research Association* (Reino Unido), alimentos com alegações de benefícios à saúde representarão nos próximos anos cerca de cinco por cento do mercado mundial de alimentos, com um faturamento próximo a US\$ 100 bilhões, (MARTIN, 1996). No Brasil, este mercado é ainda pequeno, mas com um grande potencial, devido à disponibilidade de fatores como, a capacidade produtiva industrial, o tamanho do mercado consumidor, grande produtividade do grão e fontes naturais favoráveis ao cultivo, (solo, clima, irrigação).

Os alimentos funcionais representam um novo segmento dentro do mercado de alimentos e possuem como principais apelos de venda suas alegações de saúde, que são via de regra, veiculadas pelo rótulo e pela propaganda, com a finalidade de gerar expectativa positiva nos consumidores, induzindo-os à compra, segundo Behrens, Roig e Silva (2001).

Em conformidade a esta parcela de consumidores, juntamente com a disponibilidade de matéria prima e considerando a grande produtividade da soja no Estado do Paraná e em nível nacional, é que se projetou o desenvolvimento de uma bebida de extrato solúvel de soja fermentado com micro-organismos probióticos, acrescida de inulina e proteína concentrada do soro do leite, visando atender às expectativas de consumidores quanto à saúde, nutrição e funcionalidade, por ser um produto simbiótico.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Desenvolver uma bebida simbiótica à base de extrato solúvel de soja, com a adição de polpa de fruta, proteína do soro do leite e fibra de inulina.

2.2 Objetivos específicos

- Determinar o crescimento da cultura probiótica, em função do tipo do açúcar utilizado (glicose, sacarose, ambas na mesma amostra e uma amostra sem açúcar).
- Avaliar as características físico-químicas (Resíduo Mineral Fixo, Umidade, Acidez, pH, Carboidratos, Proteínas) do produto final.
- Quantificar as bactérias ácido-láticas durante a vida de prateleira.
- Identificar e quantificar os minerais (Ca, K, Na, Fe, P).
- Avaliar a aceitabilidade do produto quanto às suas características sensoriais e verificar se há ou não diferença entre os tratamentos.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Leites fermentados

A origem dos leites fermentados data de longo tempo, não sendo possível uma definição precisa de seu aparecimento. No início do século XX, a partir de estudos de Metchnikoff, no *Institute Pasteur* (Paris – França), as pesquisas começaram a associar a produção dos leites fermentados com o metabolismo de micro-organismos lácteos. A partir destas descobertas, várias culturas lácticas foram isoladas e caracterizadas e o processo de fermentação passou a ser controlado e padronizado pelas indústrias (ROBINSON, 1991).

Produtos à base de leite fermentado utilizam culturas lácticas *starter*, as quais colonizam o intestino em grande número, interagindo com a microbiota (MATHUR; SINGH, 2005).

De acordo com a Federação Internacional de Laticínios (IDF, 1992a; 1992b; 1983), leite fermentado é um produto elaborado a partir de leite, desnatado ou não, com culturas lácticas específicas, mantidas vivas em quantidade a 10^6 UFC/g, até a aquisição pelo consumidor, não apresentando patógenos. As culturas utilizadas incluem várias bactérias, dentre elas: *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Propionibacterium*, *Leuconostoc*, *Bifidobacterium*, *Pediococcus* e *Acetobacter*.

A legislação brasileira, em acordo com a Resolução GMC 47/97, aprovada pelo Mercosul no subgrupo 3, também define leite fermentado como produtos aos quais são adicionados ou não, outras substâncias alimentares, obtidos por decréscimo de pH no leite ou leite reconstituído, ao qual outro produto lácteo possa ser adicionado ou não, através de fermentação láctica pela ação de micro-organismos específicos (KHURANA; KANAWJIA, 2007).

3.2 Soja como alimento funcional

Segundo Pacheco e Sgarbieri (2001) e De Angelis (2004), alimentos funcionais são fontes de uma ou mais substâncias capazes de atuar no metabolismo ou na fisiologia do ser humano, promovendo benefícios à saúde, através de compostos funcionais e agentes antioxidantes. A presença desses componentes nos alimentos é vantajosa, devendo ser

informado ao consumidor, segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), podendo impactar a comercialização do produto (ANVISA, 2012c).

A funcionalidade da proteína de soja foi reconhecida no ano de 1999 pelo *US Food and Drug Administration (FDA)*, órgão de controle de alimentos dos Estados Unidos da América. Segundo a Associação Americana do Coração, recomenda-se o consumo de alimentos com soja para pacientes com elevados níveis de colesterol. Segundo Messina *et al.* (1994), em programas federais de alimentação escolar foi comprovado que a soja pode substituir, sem prejuízo, a proteína animal até o nível de 30%. No Brasil, a ANVISA, em regulamento atualizado em 2005, alega diversos benefícios à saúde pelo consumo da proteína de soja e que: “o consumo diário de no mínimo 25 g pode ajudar a reduzir o colesterol. Seu consumo deve estar associado com dieta equilibrada e hábitos de vida saudáveis” (ANVISA, 2012a).

Erdman (2000), em suas pesquisas constatou que o consumo de proteína de soja, em substituição à proteína animal, reduz os níveis de colesterol sanguíneo e pode proporcionar outros benefícios cardiovasculares.

Na Tabela 1, pode-se observar e estabelecer uma comparação entre os valores dos aminoácidos essenciais obtidos, sendo ambos comparados aos valores fixados pela FAO, quanto à necessidade humana diária.

Tabela 1 Composição relativa dos aminoácidos essenciais presentes (g/16 g N total) no requerimento padrão, nos leites de vaca e humano e nos produtos à base de soja

Aminoácido	Padrão FAO	Leite de vaca	Leite humano	Grão de soja	Farinha de soja	Extrato de soja	I.P. de soja
Cistina	4,2	1,0	2,0	1,3	1,6	1,7	1,5
Isoleucina	4,2	7,5	5,5	4,5	4,7	5,1	4,7
Leucina	4,8	11,0	9,1	7,8	7,9	8,3	7,8
Lisina	4,2	8,7	6,6	6,4	6,3	6,2	6,1
Metionina	2,2	3,2	2,0	1,3	1,4	1,4	1,2
Treonina	2,8	4,7	4,5	3,9	3,9	3,8	4,2
Triptofano	1,4	1,5	1,6	1,3	1,3	1,3	1,1
Valina	4,2	7,0	6,2	4,8	5,1	4,9	4,8

Nota: IP = isolado proteico.

Fontes: Carrão-Panizzi e Mandarino (1998); Moretti e Gutierrez (1981).

De acordo com Wildman (2001), as isoflavonas presentes em grãos de soja são compostos originários do metabolismo secundário, com estrutura básica fenólica. Sua origem química está no ciclo dos ácidos orgânicos, sendo formadas durante todo o período de enchimento do grão (desde 35 dias após o florescimento). A absorção e retenção das

isoflavonas pelo organismo humano aumentam conforme a solubilidade em água. O mecanismo de absorção das isoflavonas glicosiladas ocorre, inicialmente, na mucosa intestinal com a continuidade do processo no fígado. Cerca de 70% das isoflavonas vão para a bile, quatro horas após sua ingestão, e 25% da excreção ocorrem pela urina (HENDRICH; MURPHY, 2001).

Segundo Messina *et al.* (1994), as isoflavonas apresentaram efeito comprovado de proteção contra a carcinogênese em testes com animais (65% de resultados positivos). A ação protetora das isoflavonas em câncer de próstata e outras formas de câncer hormônio-dependentes em humanos já foi constatada (BRADLOW; SEPKOVIC, 2002; BENNINK, 2001; MESSINA *et al.*, 1994; KENNEDY, 1995; CARAGAY, 1992). Esse efeito protetor ocorre por meio da regulação dos esteroides sexuais específicos e de fatores de crescimento dos tumores, conforme identificaram Lamartiniere *et al.* (2002). Jenkins *et al.* (2003) estudaram o uso de isoflavonas por indivíduos com câncer de próstata e obtiveram resultados positivos em termos de prevenção e de tratamento.

Outra aplicação bastante conhecida das isoflavonas diz respeito à pós-menopausa e prevenção contra o câncer de mama. Esse tratamento previne a osteoporose, mas o uso de hormônios sintéticos aumenta o risco de doenças cardíacas, assim como o risco de câncer endometrial (BARNES; KIM; XU, 2002; APUZZIO, 2003).

Clarkson (2002) e Nestel (2003) relataram efeitos positivos da soja para a prevenção da aterosclerose. Segundo Nestel (2003), há uma relação entre o consumo das isoflavonas e a melhora do sistema cardiovascular, como também afirmam Fuhrman e Aviram (2001), Hasler (2002) e Jayagopal *et al.* (2002). A redução nos níveis de colesterol pelo uso de isoflavonas foi identificada por Jenkins *et al.* (2003), Hasler (2002), Maddox *et al.* (2002), Clarkson (2002) e Maranhão (2001). Os mesmos efeitos foram observados nos experimentos de Friedman e Brandon (2001), quando utilizaram a proteína de soja.

Devido ao efeito hormonal ocasionado pelas isoflavonas em consumo excessivo, podendo alterar o crescimento das crianças, Genovese e Lajolo (2002) estudaram os teores de isoflavonas em alimentos brasileiros. Constataram que a quantidade de isoflavonas presente nos alimentos à base de soja varia de 2 a 100 mg/100 g (base seca) e o consumo entre as crianças brasileiras de 1,6 a 6,6 mg/kg de peso corporal, não ocasiona nenhum fator de risco. Além das isoflavonas, a soja possui outras funcionalidades como, por exemplo, as suas fibras (GENOVESE; LAJOLO, 2002).

As fibras insolúveis da soja não são digeridas no trato gastrointestinal humano e atuam normalizando a mobilidade intestinal, o que previne diverticulite e constipação. As fibras solúveis são efetivas no controle do diabetes tipo II (pacientes não insulino-dependentes) e na redução dos níveis sanguíneos de LDL-colesterol (CHANG, 2001).

Segundo Friedman e Brandon (2001), o inibidor de tripsina e quimotripsina de Bowman-Birk (ITQBB) pode reduzir os riscos de câncer de mama, provavelmente devido à inibição da produção de radicais livres. Há também evidências quanto à redução nos riscos de câncer na cabeça, pescoço, fígado, boca, ovário e cervical. Além disso, os benefícios da dieta à base de soja incluem a diminuição na progressão de doenças renais em pacientes renais crônicos.

Devido aos possíveis benefícios de dietas contendo soja, podem ser mencionados os efeitos anticarcinogênicos, a redução dos níveis de colesterol, os efeitos protetores contra a obesidade e sintomas como ondas de calor na menopausa (HUI *et al.*, 2001; FRIEDMAN; BRANDON, 2001; NAGATA *et al.*, 2001), o tratamento de doenças coronarianas e a osteoporose (ANDERSON; JOHNSTONE; COOK-NEWELL, 1995; CHIECHI *et al.*, 2002; HEENAN *et al.*, 2004; KNIGHT; EDEN, 1996).

No Brasil, aproximadamente 43% da população apresenta algum tipo de prevalência de intolerância ao leite e derivados. A intolerância à lactose é um problema muito comum. Estima-se que no Brasil 43% de brancos e mulatos apresentem deficiência de lactase – enzima responsável pela quebra da lactose – açúcar presente em leites e seus derivados (MATTAR; MAZO, 2010), esse problema pode ser contornado com a substituição do leite por extrato hidrossolúvel de soja.

3.3 Proteína concentrada do soro do leite

A proteína concentrada do soro do leite contém altos níveis proteicos (variam de 34% a 85%), lactose, gordura e minerais. Com o aumento do teor proteico, a porcentagem de lactose na proteína concentrada do soro do leite decresce. A proteína isolada do soro do leite, que é menos comum do que a proteína concentrada do soro do leite, contém pelo menos 90% de proteína em base seca e baixo teor de lactose e gordura. Além disso, a proteína isolada do soro do leite pode ser aquecida com um ácido ou tratada com enzimas proteolíticas para formar as proteínas hidrolisadas do soro do leite. Como resultado de novas tecnologias, variedade de aminoácidos biologicamente ativos, peptídeos e frações podem ser isolados da proteína do soro do leite (MELLO, 1989).

Devido ao seu conteúdo de aminoácidos essenciais, o valor biológico das proteínas do soro do leite é alto comparado com outras proteínas da dieta. As proteínas do soro do leite têm proporcionalmente mais aminoácidos sulfurados (cisteína, metionina) do que a caseína, que é quase desprovida de aminoácidos sulfurados (MELLO, 1989).

O aminoácido essencial cisteína, importante para a biossíntese de glutathiona, é um tripeptídeo com propriedades antioxidantes, anticarcinogênico e estimulador do sistema imunológico. As proteínas do soro do leite também são boas fontes de aminoácidos de cadeia ramificada, isoleucina, leucina e valina. Aminoácidos de cadeia ramificada são importantes porque ajudam a minimizar os danos musculares, sob condições de aumentado colapso proteico, o que torna o soro do leite particularmente benéfico para os atletas. Além disso, comparadas com a caseína, as proteínas do soro do leite são proteínas que rapidamente deixam o estômago e transitam para o intestino. Esta característica única das proteínas do soro do leite contribui para a sua retenção e bioatividade peptídica no intestino (BRANDÃO; SEIBERT, 2004).

Dentre as proteínas do soro do leite estão a beta-lactoglobulina, a alfa-lactoalbumina, as imunoglobulinas, a albumina sérica bovina, a lactoferrina e a lactoperoxidase, bem como o glicomacropéptido. Este último é uma proteína derivada da caseína liberada no soro do leite durante a fabricação de queijos (BRANDÃO; SEIBERT, 2004).

Existe uma relação direta entre as características funcionais e nutricionais das proteínas e vitaminas do soro e sua estrutura e funções biológicas (BOUNOUS, BATIST; GOLD, 1991).

A α -lactoalbumina representa, aproximadamente, 25% do teor total de proteínas do soro de leite bovino. Cerca de 70% das proteínas encontradas em leite humano têm as mesmas características da proteína de soro. A α -lactoalbumina representa 41% desse índice. A α -lactoalbumina representa 28% do teor total de proteína do leite humano. A sua adição tem sido defendida como forma de “humanizar” fórmulas infantis e criar outros produtos para pessoas que consomem ou podem ingerir apenas quantidades limitadas de proteína (WALZEM; DILLARD; GERMAN, 2002).

A albumina sérica e as imunoglobulinas são proteínas introduzidas no leite pelo organismo dos animais e que podem ser recuperadas. Estas duas proteínas são consideradas proteínas menores ou secundárias por estarem presentes em quantidades muito pequenas. A albumina sérica liga ácidos graxos e outras moléculas pequenas. As imunoglobulinas incluem IgG1, IgG2, IgA e IgM que reforçam a imunidade passiva de crianças e outros consumidores. As imunoglobulinas são encontradas no colostro em concentrações maiores do que em leite comum (WALZEM, 2011).

A β -lactoglobulina representa aproximadamente 50% do teor total de proteínas de soro de leite bovino. Esta proteína liga cálcio e zinco e sua sequência apresenta homologia sequencial parcial com determinadas proteínas capazes de ligar retinol. A cadeia de β -lactoglobulina possui vários pontos de ligação para minerais, vitaminas lipossolúveis e

lipídeos. Estes pontos de ligação podem ser usados para incorporar compostos lipofílicos desejáveis como tocoferol, vitamina A e produtos com baixo teor de gordura (MING, 2002).

A lactoferrina e a lactoperoxidase são duas outras proteínas do soro. A lactoferrina é capaz de ligar e transportar o ferro e promove a sua absorção sem provocar constipação em crianças pequenas, como ocorre com os suplementos inorgânicos de ferro, ela tem efeito antioxidante, fortalece o sistema imunológico e tem efeitos anticancerígenos. A lactoferrina também é uma substância imunomoduladora e é o principal fator de resistência a doenças não específicas das glândulas mamárias. Mais importante ainda, é que, depois que a lactoferrina liberou o ferro, deixando-o disponível para ser absorvido pelo organismo, a proteína pode então passar a ligar o ferro livre presente no trato digestivo. Esta capacidade de ligar o ferro inibe o desenvolvimento da microflora indesejável e promove a atividade da microflora desejável no trato intestinal, mediante a inibição de enterobactérias patogênicas. A atividade bacteriostática da lactoferrina está sendo estudada visando ao uso potencial da substância como conservante. A lactoferricina é um peptídeo básico derivado da lactoferrina, que protege o organismo contra o crescimento e a proliferação de micro-organismos intestinais patogênicos. A lactoperoxidase é uma enzima que degrada o peróxido de hidrogênio. Este componente nutracêutico do leite e de produtos de soro é uma enzima com propriedades antibacterianas. A lactoperoxidase tem sido objeto de vários estudos visando à sua utilização como meio de controlar o desenvolvimento da acidez e mudanças de pH durante a estocagem refrigerada de iogurte a 37 °C. A lactoperoxidase também está sendo estudada quanto à possibilidade de ser utilizada como conservante natural. Em combinação com outros conservantes, a lactoperoxidase é usada como ingrediente em pasta de dente para combater cáries (ARCHIBALD, 2003).

A riboflavina é uma vitamina hidrossolúvel presente em uma ampla variedade de alimentos. Foi inicialmente isolada do soro do leite, em 1879, e por isso, recebeu o nome de lactocromo. Essa vitamina pode ser cristalizada como cristais laranja-amarelados e, em sua forma pura, é pouco solúvel em água. Suas formas biologicamente ativas mais importantes - flavina adenina dinucleotídeo (FAD) e flavina mononucleotídeo (FMN) - participam de uma série de reações de oxi-redução (reações redox), algumas das quais são absolutamente essenciais para a função das células aeróbicas.

A deficiência de riboflavina é endêmica em muitas regiões do mundo e certos grupos da população têm baixa ingestão desta vitamina (OPPENHEIMER; BULL; THURNHAM, 1983; BATES *et al.*, 1982). Diante do recente interesse do suposto papel da riboflavina na proteção contra o câncer e contra doenças cardiovasculares, é apropriado reavaliar os papéis metabólicos desta vitamina e a relevância de sua baixa ingestão para a saúde pública. Em contraste com a maioria dos alimentos, o leite e o ovo contêm

quantidades notáveis de riboflavina livre associada a proteínas específicas (BOISVERT *et al.*, 1993).

3.4 Alimentos probióticos

Um alimento probiótico é uma preparação ou produto que contém micro-organismos definidos, viáveis e em quantidades suficientes, que alteram a microflora do hospedeiro e exercem efeitos benéficos à saúde, encontrados principalmente em produtos lácteos fermentados (YEBRA; COLL-MARQUE´S; SANFÉLIX-HAYWOOD, 2011).

O termo probiótico deriva do grego e significa “pró-vida”, sendo o antônimo de antibiótico, que significa “contra a vida”. O termo probiótico foi definido inicialmente como: “organismos vivos que quando ingeridos exercem efeito benéfico no balanço da flora bacteriana intestinal do hospedeiro” e ampliado posteriormente para: “organismos vivos que quando ingeridos em determinado número exercem efeitos benéficos para a saúde”. Sua definição atual é a seguinte: “suplemento alimentar microbiano vivo, que afeta de forma benéfica seu receptor, através da melhoria do balanço microbiano-intestinal” (COPPOLA; GIL-TURNES, 2004, p. 1297). Estes efeitos benéficos estão direta e exclusivamente relacionados ao tipo de cepa utilizada (AGOSTINI *et al.*, 2004).

Os probióticos são organismos vivos que exercem ação benéfica sobre a saúde quando ingeridos em determinado número. Esta ação está relacionada ao equilíbrio da flora intestinal, podendo também ter efeito na redução do colesterol sanguíneo e no controle de diarreias, assim como na redução do risco de desenvolvimento de algumas formas de câncer. Um das formas de atuação dos probióticos é a inibição da proliferação, no intestino, das bactérias patogênicas. Dentre os probióticos, destacam-se: *Lactobacillus acidófilos*, *casei*, *bulgárico*, *lactis*, *plantarum*; *Streptococo termófilo*; *Enterococcus faecium e faecalis*; *Bifidobactéria bifidus*, *longus e infantis* (LOPES, 2011).

O uso de culturas probióticas, previne uma variedade de malefícios à saúde, devido ao seu efeito protetor contra patógenos, incluindo coliformes (SAKHARE; NARASIMHA, 2003; COEURET; GUEGUEN; VERNOUX, 2004), *Staphylococcus aureus* (SAKHARE; NARASIMHA, 2003; COEURET; GUEGUEN; VERNOUX, 2004; AMESHIMA *et al.*, 1998), *Listeria monocytogenes* (BARRANTES *et al.*, 2004; COEURET; GUEGUEN; VERNOUX, 2004), *Salmonella* (COEURET; GUEGUEN; VERNOUX, 2004) e *Cândida spp.*, *Zygosaccharomyces bailii* e *Penicillium sp.*

Segundo Fuller (1999, p. 33), probiótico é um “suplemento contendo micro-organismos vivos que beneficiariam o organismo animal promovendo um balanço

microbiano intestinal”. 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.

Ressalta-se que os alimentos denominados probióticos possuem uma característica funcional, pois, além de suas qualidades nutricionais, afetam benéficamente uma ou mais funções relevantes do organismo do consumidor (RIBEIRO; SIMÕES; JURKIEWICZ, 2009).

No mercado brasileiro os produtos probióticos estão restritos a diversos tipos de leites fermentados. Na Europa, Estados Unidos e Canadá, também há diversos tipos de queijos e cereais disponíveis. Vários fatores devem ser considerados para o desenvolvimento de um alimento contendo bactérias probióticas, quais sejam: atividade de água, temperatura de processamento e armazenamento, tempo de estocagem, conteúdo de oxigênio, pH, teor de sal e os outros ingredientes presentes, de forma que a cultura probiótica permaneça viável e em número elevado durante a vida de prateleira do produto (RIBEIRO; SIMÕES; JURKIEWICZ, 2009).

Durante as três últimas décadas, uma atenção significativa tem sido dada aos produtos lácteos fermentados, contendo bactérias probióticas, de forma que a expansão do mercado de alimentos funcionais demanda crescente pesquisa no tocante ao desenvolvimento de produtos que contenham bactérias probióticas (CRUZ; MORTAZAVIAN; KARINI, 2011).

Os probióticos devem ser ingeridos diariamente para a obtenção de um efeito contínuo, sendo que um comportamento favorável na composição da microbiota intestinal foi observado com doses de 100 gramas de produto alimentício, contendo 10^8 a 10^9 UFC/g de micro-organismos probióticos (BADARÓ *et al.*, 2008). É reconhecido que um ótimo balanço na população microbiana no trato digestivo esteja associado com a adequada nutrição e saúde (RYBKA; KAILASAPATHY, 1995). Os micro-organismos primariamente associados com este balanço são os lactobacilos e as bifidobactérias (LOURENS-HATTINGH; VILJOEN, 2001).

Os probióticos exercem as seguintes funções no organismo:

- aumentam de maneira significativa o valor nutritivo e terapêutico dos alimentos, pois ocorre um aumento dos níveis de vitaminas do complexo B e aminoácidos. Absorção acrescida de cálcio e ferro;
- fortalecem o sistema imunológico, através de uma maior produção de células protetoras;
- possuem efeito funcional benéfico no organismo, equilibrando a flora intestinal, atuando no controle do colesterol e na redução do risco de câncer;

- possuem uma particular importância para os indivíduos com intolerância à lactose, devido ao aumento de uma enzima que facilita a digestão da lactose.

Segundo estudos recentes, além destas funções os probióticos também auxiliam no reforço do sistema imunológico, ajudando o organismo a criar defesas contra bactérias e micro-organismos indesejáveis. Além das propriedades mencionadas, os probióticos devem ser inócuos, manterem-se viáveis por longo tempo, durante a estocagem e transporte, tolerar o baixo pH do suco gástrico e resistir à ação da bile e das secreções pancreática e intestinal, não transportar genes transmissores de resistência a antibióticos e possuir propriedades antimutagênicas e anticarcinogênicas, assim como resistir a fagos e ao oxigênio. Os probióticos normalmente têm pouco tempo de duração e, por isso mesmo, devem ser mantidos bem refrigerados. Ao serem ingeridos através dos alimentos, vão para o intestino e ali se somam à flora já existente, sem se fixarem, equilibrando-a e, com isso, auxiliando no trabalho de absorção dos nutrientes (COPPOLA; GIL-TUNES, 2004).

Os probióticos podem ser componentes de alimentos industrializados presentes no mercado, como leites fermentados, iogurte, ou podem ser encontrados na forma de pó ou cápsulas. Os leites fermentados são o principal exemplo de fonte de probióticos. Mas é preciso manter uma espécie de ritual de ingestão diária destas substâncias para que os efeitos desejados se comprovem (LOPES, 2011).

Os probióticos são micro-organismos vivos e promotores da saúde, que são incorporados a vários tipos de alimentos (KABOOSI, 2011). Para exercer um efeito positivo sobre a saúde, os micro-organismos precisam ser viáveis, ativos e abundantes na concentração de no mínimo 10^6 UFC g^{-1} no produto ao longo da vida de prateleira especificada (OSTLIE; HELLAND; NARVHUS, 2003). Desta maneira, no momento do seu consumo o produto deve apresentar um mínimo, geralmente aceitável, de bactérias probióticas de 10^6 UFC g^{-1} (BLANCHETTE *et al.*, 1996; GOMES; MALCATA, 1999; HEKMAT; MCMAHON, 1992; KURMAN; RASIC, 1991; RYBKA; KAILASAPATHY 1995). Muitos autores sugerem que a ingestão de 10^8 – 10^9 UFC g^{-1} diariamente é necessária para o desenvolvimento de efeitos benéficos para seres humanos (OLIVEIRA *et al.*, 2001; SAXELIN, 1997; VINDEROLA *et al.*, 2000).

Produtos contendo probióticos constituem um significativo grupo do setor de “alimentos funcionais”. Infelizmente, as bactérias probióticas desenvolvem-se fracamente no leite e são necessários meios de estimular o seu crescimento numa perspectiva de obtenção de produtos lácteos probióticos (GAUDREAU; CHAMPAGNE; JELEN, 2005).

3.4.1 Bactérias do gênero *Lactobacillus*

Cerca de 56 espécies do gênero *Lactobacillus* foram descritas até hoje. Estas bactérias estão distribuídas por vários nichos ecológicos, sendo encontradas por todo o trato gastrointestinal e gênito-urinário, constituindo uma importante parte da microbiota indígena de homens e animais. A sua distribuição é afetada por diversos fatores ambientais como: pH, disponibilidade de oxigênio, nível de substrato específico, presença de secreções e interações bacterianas. Elas são raramente relacionadas com casos de infecções gastrointestinais. As cepas empregadas tecnologicamente são micro-organismos seguros e não patogênicos. Além disto, os lactobacilos possuem propriedades potencialmente probióticas, favorecendo beneficemente o organismo humano (PENNA, 2002).

Os *lactobacillus* probióticos são indicados para promover inúmeros benefícios à saúde, incluindo efeitos antimicrobianos contra patógenos, antitumorais, anticolesterol, imunomodulação, antidiabetes, e tratamento contra a diarreia e intolerância à lactose (NAGPAL *et al.*, 2007; 2012; NAGPAL; KUMAR; ARORA, 2010).

Por isto, *L. acidophilus*, *L. delbrueckii ssp bulgaricus* e *L. casei* têm sido amplamente utilizados pelos laticínios para a produção de leites fermentados e outros derivados lácteos.

3.4.2 Características morfológicas e condições de cultivo

De acordo com Vogel *et al.* (1993), Moro foi o primeiro pesquisador a isolar anaeróbios facultativos das fezes de crianças amamentadas ao peito, as quais foram tipificadas como *Bacillus acidophilus*, um nome genérico para lactobacilos intestinais. As bactérias do gênero *Lactobacillus* são geralmente identificadas como bastonetes Gram-positivos, microaerófilas, não esporuladas e sem flagelos (VOGEL *et al.*, 1993).

Estudos genéticos têm demonstrado que as espécies originais realmente consistem de grupos apresentando homologia de DNA, incluindo: *L. crispatus*, *L. gallinarum*, *L. gasseri*, *L. amylovorus* e *L. johnsonii*. Embora estas espécies estejam bem definidas, existem dificuldades na classificação de cepas recentemente descobertas. Investigações baseadas em testes de aglutinação, antígenos de parede celular e características de eletroforese e antigênicas de D- e L-lactato desidrogenase também demonstram a heterogeneidade dessas espécies (MITAL; GARG, 1992).

De acordo com o Penna (2002), os lactobacilos podem ser divididos em três grupos em função do metabolismo de carboidratos:

- Grupo I: homofermentadores obrigatórios. Fermentam hexoses predominantemente a ácido láctico, via Embden-Meyerhof, não fermentando pentoses;
- Grupo II: heterofermentadores facultativos. Ao fermentarem hexose, produzem ácidos láctico, acético, fórmico e etanol. As pentoses também podem ser fermentadas através da indução da enzima fosfoctolase;
- Grupo III: heterofermentadores obrigatórios. Fermentam hexoses a ácidos láctico e acético.

A divisão clássica dos lactobacilos está baseada em suas características fermentativas: (FERREIRA, 2001) – obrigatoriamente homofermentativos; (FELIS, 2001) – facultativamente heterofermentativos; (VASQUEZ *et al.*, 2005) – obrigatoriamente heterofermentativos (AXELSSON, 2004). Vários lactobacilos obrigatoriamente homofermentativos e facultativamente heterofermentativos e alguns obrigatoriamente heterofermentativos são utilizados em alimentos fermentados. Porém, este último grupo é comumente associado à deterioração de alimentos (VASQUEZ *et al.*, 2005).

Os lactobacilos obrigatoriamente homofermentativos incluem aqueles que fermentam glicose exclusivamente em ácido láctico e não fermentam pentoses ou gliconato (VASQUEZ *et al.*, 2005). Exemplos desse grupo são as espécies *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus johnsonii*, *Lactobacillus delbrukii*, *Lactobacillus helveticus* e *Lactobacillus salivarius* (HOLZAPFEL *et al.*, 2001; AXELSSON, 2004).

Os obrigatoriamente heterofermentativos incluem os lactobacilos que fermentam hexoses em ácido láctico, ácido acético e/ou etanol e dióxido de carbono, sendo que a produção de gás a partir da glicose é uma característica marcante dessas bactérias (VASQUEZ, 2005). São exemplos desse grupo as espécies *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus fermentum* e *Lactobacillus reuteri* (AXELSSON, 2004; HOLZAPFEL; SCHILLINGER, 2002).

Os facultativamente heterofermentativos incluem os lactobacilos que fermentam hexoses em ácido-láctico e podem produzir gás a partir de gliconato, mas não através da glicose. Esses micro-organismos também fermentam pentoses, através de uma fosfoctolase induzida para produzir ácidos láctico e acético. As espécies *Lactobacillus curvatus*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus sakei* e do grupo *Lactobacillus casei* são importantes representantes dos lactobacilos facultativamente heterofermentativos (VASQUEZ *et al.*, 2005; AXELSSON, 2004).

3.4.3 *Lactobacillus acidophilus*

O *L. acidophilus* é um bastonete Gram-positivo que pode ocorrer isolado, assim como em pares ou em cadeias curtas. O tamanho típico é de 0,6 - 0,9 μm de largura e 1,5 - 6,0 μm de comprimento. Este micro-organismo não contém citocromos e, por isso, é benzidina negativo. Além disso, é um micro-organismo microaerófilo, tanto que o crescimento superficial em meio sólido é geralmente favorecido pela anaerobiose, pela redução da pressão de oxigênio ou manutenção de 5 a 10% de CO_2 . A maioria das cepas de *L. acidophilus* pode fermentar amigdalina, celobiose, frutose, galactose, glicose, lactose, maltose, manose, salicina, sacarose, trealose e esculina (SAMONA; ROBINSON, 1991).

L. acidophilus metaboliza a glicose oriunda da lactose através da via Embeden-Meyerhof, tendo como ácido láctico o principal produto final. O rendimento do ácido láctico é 1,8 mol/mol glicose, acompanhado de uma pequena quantidade de outros componentes. O acetaldeído, um composto aromático, também pode ser formado durante o metabolismo da lactose, entretanto, em alguns casos ele pode ser produzido a partir do metabolismo de substâncias nitrogenadas, como por exemplo, a treonina, sendo que uma grande atividade de treonina aldolase tem sido encontrada em *L. acidophilus* (MARSHAL; COLE, 1983).

O crescimento do *L. acidophilus* pode ocorrer a altas temperaturas como 45° C, embora o crescimento ótimo seja em torno de 35-40° C. A tolerância dos lactobacilos ao ácido varia de 0,3% até 1,9%, sendo que pH ótimo para seu desenvolvimento está entre 5,5-6,0 (GOMES; MALCATA, 1999).

3.4.3.1 Utilização terapêutica de *L. acidophilus*

Atualmente, existem várias possibilidades de utilização terapêutica de *L. acidophilus*, como a reposição de microbiota intestinal, desejável após longa exposição a uma anitibioticoterapia. Essas bactérias auxiliam na digestão e no tratamento de doenças imunossupressoras. Isto acontece, provavelmente, porque o *L. acidophilus* estimula a produção de citocinas por macrófagos (DONNET-HUGHES, 1999), a redução dos níveis plasmáticos de colesterol e da ocorrência de doenças cardíacas coronarianas, a biodegradação de nitrosaminas carcinogênicas no intestino (ROBINSON, 1991), o tratamento de câncer de intestino (ROBINSON, 1991), o aumento da absorção de lactose

em pessoas intolerantes (MUSTAPHA; JIANG; SAVAIANO, 1997), o tratamento de infecções e diarreias causadas por leveduras (RANI; KHETARPAUL, 1998).

Efeito de imunomodulação em pessoas com deficiência do sistema imunológico (DONNET-HUGHES, 1999), o possível tratamento de AIDS (TIHOLE, 1988).

3.4.4 *L. casei*

Lactobacillus casei é uma bactéria ácido-láctica heterofermentativa, utilizada amplamente na indústria de alimentos como cultura *stater*, sendo que algumas culturas também são utilizadas como probióticos (YEBRA; COLL-MARQUE'S; SANFÉLIX-HAYWOOD, 2011).

Lactobacillus casei são bactérias Gram-positivas, anaeróbias facultativas, não-móvel e não formadoras de esporos, de forma cilíndrica (tamanho do intervalo de células = 0,7-1,1x2,0-4,0 micrômetros) membros da industrialmente importante bactérias do ácido láctico. Como outras bactérias do ácido láctico, *L. casei* é tolerante à acidez, não pode sintetizar porfirinas e possui um metabolismo fermentativo estritamente com o ácido láctico como principal produto final metabólico (AXELSSON, 1998; KANDLER; WEISS, 1986).

Dentro do gênero *Lactobacillus*, *L. casei* faz parte do (Grupo II), de espécies cluster heterofermentativas facultativas, que produzem ácido láctico a partir de açúcares hexose através da via de Embden-Meyerhof e das pentoses pela via 6-phosphogluconate/phosphoketolase (AXELSSON, 1998).

L. casei é uma espécie extremamente adaptável e pode ser isolada de produtos lácteos fermentados e matérias-primas, produtos vegetais fermentados e frescos, e do trato reprodutivo e intestinal de humanos e animais (KANDLER; WEISS, 1986). Industrialmente, *L. casei*, como probiótico, tem aplicação na saúde humana como produtoras de ácido fermento, para a fermentação do leite, e como culturas de especialidade para a intensificação e aceleração do desenvolvimento do sabor, em certas variedades de queijo curado-bacteriano (FONDEN *et al.*, 2000; FOX; SINGH; MCSWEENEY, 1997; KOSIKOWSKI, 1982).

3.4.4.1 Utilização terapêutica de *L. Casei*

Diversos autores afirmam que o consumo regular de Yakult® (leite fermentado com a cultura *L. casei Shirota*) tem proporcionado evidências diretas ou indiretas relacionadas à redução do risco de câncer e de bexiga urinária e supressão de câncer cólon-retal.

(ITSARANUWAT; AL-HADDAD; ROBINSON, 2003; SHORTT, 1999, OUWEHAND *et al.*, 1999).

A aderência de micro-organismos probióticos às células epiteliais do intestino e a subsequente colonização da mucosa são de fundamental importância para a ocorrência dos efeitos benéficos à saúde humana (FORESTIER *et al.*, 2001; HUDAULT *et al.*, 1997). Adicionalmente, os probióticos do grupo *Lactobacillus casei* podem também apresentar efeito protetor contra micro-organismos patogênicos e estudos *in vitro* têm sido utilizados para avaliar tais efeitos (COEURET; GUEGUEN; VERNOUX, 2004; HUDAULT *et al.*, 1997). Estudos mais detalhados demonstraram que as bactérias *Lactobacillus casei/paracasei* utilizadas individualmente ou em co-cultura com outras bactérias lácticas inibiram a multiplicação de micro-organismos patogênicos e deteriorantes, incluindo coliformes (SAKHARE; NARASIMHA, 2003; COEURET; GUEGUEN; VERNOUX, 2004), *Staphylococcus aureus* (SAKHARE; NARASIMHA, 2003; COEURET; GUEGUEN; VERNOUX, 2004; AMESHIMA *et al.*, 1998), *Listeria monocytogenes* (BARRANTES *et al.*, 2004, COEURET; GUEGUEN; VERNOUX, 2004), *Salmonella* (COEURET; GUEGUEN; VERNOUX, 2004), *Cândida* spp., *Zygosaccharomyces bailii* *Penicillium* sp. (SCHWENNINGER *et al.*, 2005).

As espécies *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus paracasei* e *Lactobacillus rhamnosus* fazem parte do chamado Grupo *Lactobacillus casei* e possuem importante valor comercial para a indústria alimentícia, devido ao seu emprego na produção de leites fermentados e como culturas iniciadoras de fermentação na fabricação de queijos para a melhoria de sua qualidade, (FERRERO *et al.*, 1996; VÁSQUEZ *et al.*, 2005) .

Embora os produtos lácteos fermentados constituam uma fração substancial do mercado de prebióticos e probióticos, o número de produtos não lácteos é crescente, particularmente aqueles à base de soja (HAMMES; HERTEL, 2002; FUCHS *et al.*, 2005; HAULY; FUCHS; PRUDÊNCIO-FERREIRA, 2005). Nesse sentido, Heenan *et al.* (2004) avaliaram a sobrevivência de micro-organismos probióticos e as populações de células resistentes à bile em sobremesa não-fermentada congelada, à base de soja, adicionada de *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* Lp-01, *Lactobacillus-acidophilus* MJLA-1, *Lactobacillus rhamnosus* 100-C, *Bifidobacterium lactis* BDBB2, *Bifidobacterium lactis* Bb-12 (atualmente reclassificada como *Bifidobacterium animalis*) ou *Saccharomyces boulardii* 74012. Naquele estudo, todos os micro-organismos probióticos testados mantiveram populações superiores a 6 log UFC/g de produto durante 6 meses de armazenamento, com exceção da cepa de *Saccharomyces boulardii*.

3.4.5 *Streptococcus thermophilus*

O *S. thermophilus* tem sido amplamente utilizado como uma cultura iniciadora para produção de iogurtes, queijos e leites fermentados. As principais características dos *S. thermophilus* são (ROBINSON, 2002):

- células esféricas ou ovais;
- bactéria Gram-positiva, anaeróbia facultativa, imóvel, não-esporulante;
- crescimento entre 40 e 50 °C com auxílio de vitaminas e aminoácidos para máximo crescimento;
- bactérias ácido-láticas homofermentativas, produtoras de L (+) lactato, acetaldeído e diacetil a partir da lactose do leite;
- secreção de exopolissacarídeos.

Em ensaios in vitro, *S. thermophilus* apresentou resultados que demonstraram a cepa com possíveis propriedades anti-inflamatórias, sendo ferramenta eficaz como probiótico (LAMMERS *et al.*, 2003).

3.4.6 *Bifidobactérias*

As *Bifidobactérias* foram estudadas pela primeira vez no final do século XIX por TISSIER, que as descreveu como formas alongadas, não produtoras de gás, anaeróbicas com morfologia *Bifid*, presente nas primeiras fezes dos recém-nascidos, então chamadas de *Bacillus bifidus* (BRANDÃO, 2007). Atualmente o gênero *Bifidobacterium* inclui 30 espécies, 10 das quais são de origem humana, 17 de origem animal, 2 de águas residuais e 1 de leite fermentado. Todas as bifidobactérias de origem humana podem utilizar como fonte de carbono, além da glicose, a galactose, a lactose e usualmente a frutose (STEFE; ALVES; RIBEIRO, 2008).

Essas bactérias do gênero *Bifidobacterium* são utilizadas pelos seus efeitos probióticos e são encontradas em iogurte e em outros derivados fermentados do leite. Produzem no corpo humano antibióticos naturais, que regulam a flora intestinal. Favorece, portanto, o funcionamento do intestino, o que se reflete também na beleza da pele. No momento de consumir o produto, a concentração de bifidobactérias deve ser superior a 10^6 UFC g⁻¹ para que se possa sentir seu efeito benéfico (GABIATTI; CORTI, 2010).

O uso das Bifidobactérias em fermentações de leite é limitada, devido ao lento crescimento, embora o leite seja um meio satisfatório por conter nutrientes essenciais, aminoácidos e pequenos peptídeos, estes estão presentes em quantidades insuficientes para o crescimento de Bifidobactérias. O desenvolvimento das bactérias probióticas ocorre

lentamente devido à baixa atividade proteolítica no leite, sendo prática comum a adição de bactérias do iogurte para reduzir o tempo de fermentação (CENTENARO, 2009).

As Bifidobactérias são conhecidas por estimularem o sistema imunológico, produzirem vitamina B, inibirem a multiplicação de patógenos, reduzirem a concentração de amônia e colesterol no sangue e ajudarem a restabelecer a microbiota normal após tratamento com antibióticos (KOMATSU; BURITI; SAAD, 2008).

3.5 Prebióticos

Prebióticos são componentes alimentares não digeríveis no estômago que afetam benéficamente o hospedeiro, por estimularem seletivamente a proliferação ou atividade de populações de bactérias desejáveis no cólon. Adicionalmente, o prebiótico pode inibir a multiplicação de patógenos, garantindo benefícios à saúde do hospedeiro. Esses componentes atuam mais frequentemente no intestino grosso, embora possam ter algum impacto sobre os micro-organismos do intestino delgado (GRAJEK; OLEJNIK, 2005; MOGENSEN *et al.*, 2000).

Várias substâncias prebióticas podem ser utilizadas, entre elas a lactulose, rafinose, fruto-oligossacarídeos, alguns oligossacarídeos e polissacarídeos como a inulina e o amido resistente (CONWAY, 2001).

No Brasil, segundo a Portaria n°. 27, de 13 de janeiro de 1998, da Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária (BRASIL, 1998), o regulamento técnico referente à informação nutricional de alimentos estabelece que um alimento pode ser considerado fonte de fibras quando apresentar no produto pronto 3g/100g (base integral) para alimentos sólidos e 1,5g/100ml (base integral) para alimentos líquidos, já com o dobro deste conteúdo é considerado um alimento com elevado teor de fibras.

Segundo Cho e Dreher (2001), o consumo de alimentos ricos em fibras está ligado a diversos benefícios como a estimulação de sistema imune, atuando benéficamente no metabolismo com modulação da síntese de colesterol e redução de pressão sanguínea, resultando na diminuição de doenças crônicas não transmissíveis.

O crescimento de probióticos em produtos lácteos pode também ser associado à presença de carboidratos prebióticos, mais exatamente oligossacarídeos, como a inulina e a oligofrutose, ambos carboidratos não digeríveis, porém fermentáveis pela ação deste grupo de micro-organismos em alimentos e no trato gastrointestinal humano e animal. Produtos assim constituídos por prebióticos e probióticos recebem a denominação de simbióticos (ROBERFROID, 1998).

3.6 Simbióticos

Simbióticos são os produtos que contêm em sua composição uma bactéria probiótica e também uma substância prebiótica. São chamados de alimentos simbióticos (ROBERFROID *et al.*, 1999). De modo geral, os prebióticos possuem propriedades que podem influenciar no crescimento e desenvolvimento dos micro-organismos probióticos, afetando tanto o crescimento dos probióticos como das culturas *starter* que venham ser utilizadas juntamente com as culturas probióticas.

Os simbióticos, por sua vez, são compostos pela mistura de prebióticos e probióticos em quantidades variadas, seguindo as mesmas características propostas para esses componentes utilizados de forma separada (SOUZA *et al.*, 2010).

Para desenvolver-se um alimento simbiótico faz-se necessária a seleção de uma linhagem de micro-organismos que, juntamente ao prebiótico, interagem entre eles valorizando os efeitos benéficos a quem os consome (FERREIRA *et al.*, 2000; PUUPONEN-PIMIÄ *et al.*, 2002).

Probióticos que apresentam efeitos benéficos no organismo, prebióticos que incluem polissacarídeos indigeríveis, que estimulam o crescimento de bactérias intestinais benéficas, e simbióticos que resultam da combinação de probióticos e prebióticos, melhoram o trato e a flora intestinal e também podem reduzir as concentrações metabólicas de nitrogênio intestinal (FOOKS; GIBSON, 2002; VRESE; SCHREZENMEIR, 2008).

3.7 Análise sensorial

A preocupação do seres humanos em relação à percepção de aromas e sabores encontra-se registrada e datada desde 300 A. C., quando os gregos compilaram um tratado de aromas. Técnicas de avaliação sensorial foram desenvolvidas a partir da necessidade de produtores obterem classificação de produtos como vinho, chá, café, manteiga, peixe, cujos preços eram definidos a partir da classificação de qualidade efetuada por um *expert* ou especialista no produto (FARIA; YOTSUYANAGI, 2002).

Entretanto, nos anos de 1900, houve o crescimento do setor industrial e o conseqüente desenvolvimento de novos produtos, surgindo o questionamento se somente dois ou três *experts* disponíveis, poderiam atender à demanda de avaliação de todos os produtos. Entendendo-se que o nível de qualidade definido pelos *experts* não refletia as

atitudes dos consumidores quanto à aceitação ou rejeição dos produtos, é que houve o grande interesse de tecnólogos de alimentos em medir a sua qualidade sensorial, sendo um marco na história a realização em 1937, do simpósio *Flavor in foods* (FARIA; YOTSUYANAGI, 2002).

Desta maneira, a análise sensorial, enquanto ciência, foi definida pela Divisão de Avaliação Sensorial do *Institute of Food Technologists* (IFT), como “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, p. 116).

Com base na análise sensorial, as características ou propriedades de interesse relativas à qualidade sensorial do alimento são identificadas e adequadamente estudadas, com o respaldo em metodologias para a coleta de dados e em tratamentos estatísticos de avaliação e interpretação dos resultados obtidos (MININ, 2006).

Segundo Ferreira *et al.* (2000), no delineamento de blocos completos casualizados (DBC), se apresentam todos os tratamentos (amostras diferentes) por bloco (julgadores) e são aplicados quando não há problema de fadiga sensorial do julgador, em provar todos os tratamentos. As amostras são apresentadas ao provador em ordem aleatorizada e independentemente replicadas.

Dentre as metodologias de tratamento estatístico dos dados, destaca-se a ferramenta multivariada, referente à análise de componentes principais (ACP), a qual proporciona uma redução da dimensionalidade de um grupo de dados para formar combinações lineares das variáveis originais no estudo, as quais são denominadas componentes principais (PCs) (KOSAC; SCAMAN, 2008).

Uma aplicação adequada da metodologia sensorial permite que se obtenham resultados importantes quanto a formulações de alimentos, produzindo conhecimento posterior sobre a sua aceitabilidade no mercado consumidor e/ou características específicas ou sobre um perfil descritivo, propiciando subsídios para adaptações necessárias (CRUZ *et al.*, 2010).

4 MATERIAL E MÉTODOS

Esta pesquisa foi desenvolvida no Laboratório de Laticínios e as análises sensoriais no Laboratório de Análise Sensorial, ambos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, *campus* de Medianeira - PR. Utilizou-se na inoculação os micro-organismos *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Streptococcus thermophilus* e *Bifidobacterium* em extrato hidrossolúvel de soja (10%), o prebiótico inulina (2%), (2,5% de proteína concentrada de leite (WPC), com diferentes tipos de açúcares (sacarose e glicose), obtidos por testes preliminares.

No preparo das formulações da Bebida Fermentada de Soja (BFS), foram utilizados: extrato hidrossolúvel de soja (EHS) da marca VITAO®, açúcar refinado (UNIÃO®), proteína concentrada do soro do leite (ALIBRA®), fibra dietética inulina (CLARIANT®), corante alimentício artificial vermelho de carmim (Duas Rodas Industrial®). Como fermentos lácteos foram utilizados o (LA3) composto por *Lactobacillus acidophilus* puro, o fermento (SAB 440) composto por *Streptococcus thermophilus* com *L. acidophilus* e Bifidobactérias e o fermento lácteo (BGP 93), contendo *Lactobacillus casei* puro. Ambas as culturas probióticas foram adquiridas da indústria (Sacco do Brasil®). Como saborizante utilizou-se suco de goiaba concentrado (MAGUARY®).

4.1 Tratamentos

Os tratamentos realizados estão descritos na Tabela 2.

Tabela 2 Definição das formulações das bebidas de soja

Tratamentos	Reconstituição		Tipo de açúcar	Inulina	Inóculo
	EHS	WPC			
A1	10%	2,5%	Edulcorante	2%	L. casei
A2	10%	2,5%	Sacarose	2%	L. casei
A3	10%	2,5%	50% ambas	2%	L. casei
A4	10%	2,5%	glicose	2%	L. casei
A5	10%	2,5%	Adoçante	2%	SAB
A6	10%	2,5%	Sacarose	2%	SAB
A7	10%	2,5%	50% ambas	2%	SAB
A8	10%	2,5%	glicose	2%	SAB
A9	10%	2,5%	Adoçante	2%	L. acidophilus
A10	10%	2,5%	Sacarose	2%	L. acidophilus
A11	10%	2,5%	50% ambas	2%	L. acidophilus
A12	10%	2,5%	glicose	2%	L. acidophilus

Realizou-se a análise estatística dos resultados obtidos, mediante o uso da análise de variância (ANOVA) e Teste de Médias (Tuckey).

4.2 Processamento das formulações de bebidas fermentadas de soja

Para elaboração das doze formulações, foram realizadas as etapas apresentadas a seguir.

Os ingredientes foram pesados separadamente e o extrato de soja foi reconstituído e homogeneizado em liquidificador industrial, esterilizada separadamente em autoclave a 121°C por 15 minutos e resfriadas em banho de gelo até alcançar 42 °C, para adição do fermento lácteo e cultura probiótica.

A fermentação foi realizada em fermenteira industrial Brasholanda ® modelo 2 x 25, série G, com aquecimento em banho-maria, a temperatura controlada de 41 °C, até se alcançar o pH 4,6, utilizando balões volumétricos de capacidade de 6L, conforme Figura 1.



Figura 1 Formulações em balões volumétricos para fermentar.

Alcançado o ponto ideal determinado pelo pH, efetuou-se o resfriamento até, aproximadamente, 10 °C, para interromper a atividade fermentativa das formulações, evitando formação de sabor ácido.

Seguiu-se com a etapa de quebra do coágulo, adição do corante artificial vermelho de carmim e do saborizante. Estes ingredientes foram padronizados para todas as formulações.

A Figura 2 representa o fluxograma dos procedimentos realizados para a elaboração das formulações, de forma simplificada.

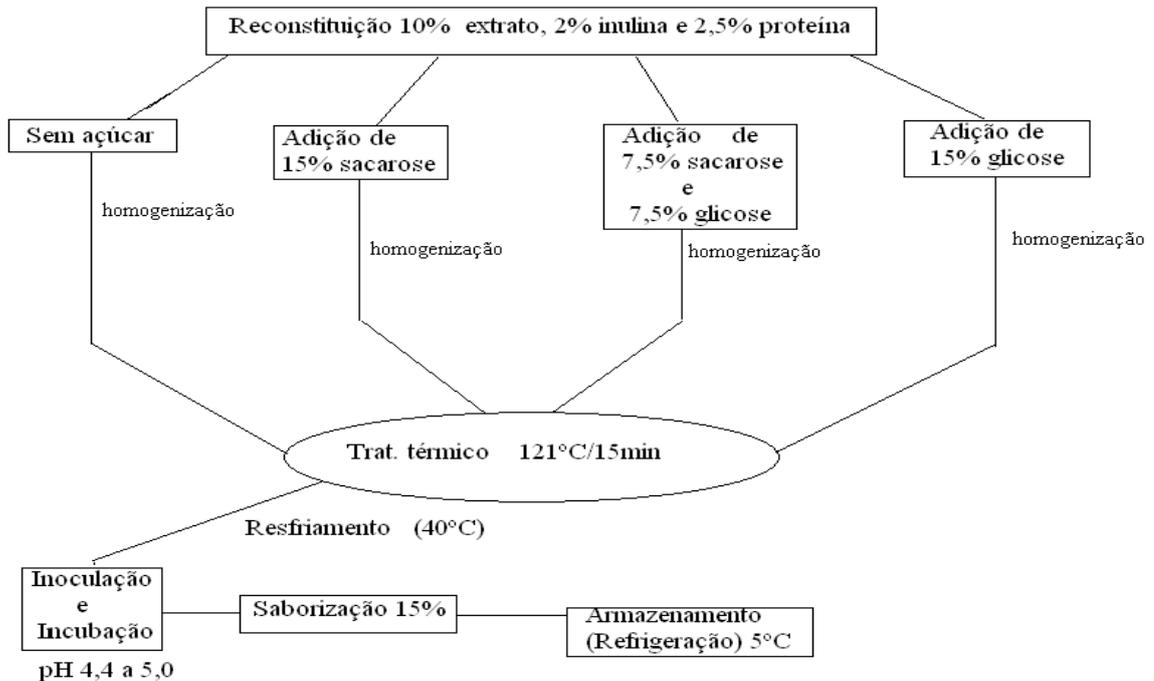


Figura 2 Fluxograma de desenvolvimento das BFS.

Após a elaboração, as bebidas foram acondicionadas em recipientes plásticos com capacidade de 100 ml (Figura 3), procedendo-se a refrigeração. Desta forma, as amostras foram separadas em quantidades iguais para fins de análise físico-química e estudo de viabilidade de bactérias ácido-láticas no decorrer de sua vida de prateleira de 28 dias.



Figura 3 Amostras acondicionadas para análises físico-químicas.

4.3 Análises microbiológicas

4.3.1 Análise de coliformes a 35 e 45 °C, bolores e leveduras

De acordo com a metodologia descrita pelo *International Commission on Microbiological Specifications for Foods* (ICMSF, 1978), determinou-se o número mais provável (NMP) de coliformes a 35 °C e 45 °C, bem como a contagem de bolores e leveduras.

4.3.2 Análise de contagem de bactérias lácticas

A contagem de bactérias lácticas das formulações selecionadas para as análises sensoriais foi realizada no 1º, 7º, 14º, 21º e 28º dias de estocagem. Para a contagem dos micro-organismos probióticos, utilizou-se a técnica de plaqueamento em profundidade com uso do meio Man, Rogosa, Sharpe (MRS), seguido de enriquecimento com adição de solução de maltose e crescimento em anaerobiose a 37 °C por 72 horas, segundo preconizado por IDF (1999).

4.4 Análises físico-químicas

As determinações de acidez em ácido láctico (ºDornic) e pH foram realizadas nas formulações de BFS durante etapa de fermentação e acompanhadas em seu período de

estocagem nos tempos 7, 14, 21 e 28 dias, segundo técnica descrita pelo Instituto Adolfo Lutz (2008).

O teor de umidade foi determinado por gravimetria a 105 °C em estufa, até a obtenção de peso constante e, em seguida, determinaram-se as cinzas (resíduo mineral fixo) pelo método de calcinação em mufla a 550 °C, segundo técnica descrita pelo Instituto Adolfo Lutz (2008).

O teor de proteína foi determinado com conversão 6,25, pela técnica de Kjeldahl. A concentração de proteína foi determinada por nitrogênio total, segundo técnica descrita pelo Instituto Adolfo Lutz (2008).

A determinação de extrato etéreo foi realizada por extração direta com éter de petróleo como solvente, em extrator Soxhlet, durante seis horas, de acordo com método, segundo técnica descrita pelo Instituto Adolfo Lutz (2008).

O teor de sólidos solúveis foi obtido pela análise do refratômetro em % Brix.

A quantificação de minerais como Fe, Ca e Na foram obtidos por meio da análise de espectrometria de absorção atômica, o K por fotometria de chama e o P foi determinado por colorimetria, segundo AOAC (1990).

4.5 Análise sensorial

Mediante a colaboração de 120 julgadores não treinados, aplicou-se o teste de Escala Hedônica de nove pontos (ISO, 1987; MININ, 2006; MEILGAARD; CIVILLE; CARR, 1999), bem como a determinação do índice de aceitabilidade (MININ, 2006), para observar a aceitabilidade do produto pelos consumidores potenciais. Foi utilizado o Delineamento de Blocos Completos Casualizados – DBC (FERREIRA *et al.*, 2000), a todas as formulações envolvendo o mesmo micro-organismo em sessões semanais, após a conclusão do processo fermentativo e da análise microbiológica, comprovando a inocuidade do produto. Elegeram-se a formulação com o maior índice de aceitabilidade e, finalmente, confrontaram-se as três melhores amostras para avaliação final da aceitabilidade. Desta forma, determinou-se a formulação com propriedades funcionais de maior aceitabilidade.

As amostras foram servidas resfriadas a 7 °C de forma aleatória em copos brancos descartáveis de 50 ml, codificados com algarismos de três dígitos. Água ficou à disposição dos provadores para enxágue e mastigação entre as amostras, visando evitar possíveis interferências de gostos residuais.

Após a análise estatística aplicada aos três testes sensoriais, foram selecionadas as três formulações mais aceitas e, assim, um quarto teste foi aplicado.

O teste utilizado nas análises sensoriais avaliou a preferência nos atributos de cor, sabor, aroma, aparência, aceitação global através de uma escala hedônica de nove pontos estruturados, variando de 1 = “Desgostei muitíssimo” a 9 = “Gostei muitíssimo” (ABNT, 1999), conforme ficha em Anexo A.

4.5.1 Primeiro teste sensorial

A primeira etapa de análise sensorial visou avaliar as quatro formulações que apresentavam a mesma mistura base e o mesmo inóculo (SAB), mas se diferenciava quanto ao tipo de açúcar utilizado. Desta forma determinou-se a formulação de maior aceitabilidade.

4.5.2 Segundo teste sensorial

A segunda etapa de análise sensorial visou avaliar as quatro formulações que apresentavam a mesma mistura base e o mesmo inóculo (*L. acidophilus*), mas se diferenciava quanto ao tipo de açúcar utilizado. Desta forma determinou-se a formulação de maior aceitabilidade.

4.5.3 Terceiro teste sensorial

A terceira etapa de análise sensorial visou avaliar as quatro formulações que apresentavam a mesma mistura base e o mesmo inóculo (*L. casei*), mas se diferenciava quanto ao tipo de açúcar utilizado. Desta forma determinou-se a formulação de maior aceitabilidade.

4.5.4 Quarto teste sensorial

A quarta etapa de análise sensorial visou avaliar as formulações que apresentavam a melhor avaliação sensorial nas etapas anteriores e, com isso, determinou-se as três melhores formulações apresentando inóculos diferentes, a formulação de melhor aceitabilidade.

Esta pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética de Pesquisa com seres humanos da Faculdade Assis Gurgacz, sob o Protocolo nº 164/2011, conforme Anexo B.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 Análises físico-químicas

5.1.1 Evolução dos parâmetros de acidez e pH durante a fermentação

A evolução dos resultados de acidez, durante a fermentação das formulações, é apresentada nas figuras 4, 5 e 6, nas quais se observa que os valores da acidez final da fermentação apresentaram-se dentro da faixa estabelecida para bebidas lácteas na legislação brasileira, que é de 60 a 150 °D (BRASIL, 2005). O desenvolvimento do pH das formulações é demonstrado na Tabela 3, em função do tempo de fermentação das formulações, utilizando-se do *Lactobacillus casei* como cultura láctica.

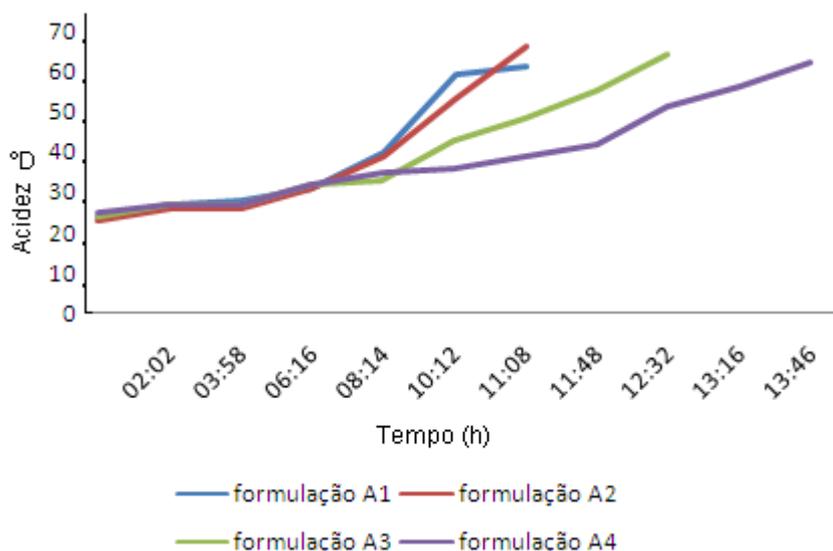


Figura 4 Evolução da acidez nas formulações utilizando *Lactobacillus casei*.

Pode-se observar que as formulações A1 (utilizando edulcorante) e A2 (suplementada por sacarose) apresentaram menor tempo de fermentação, aproximadamente 11 horas; a formulação A3 (suplementada 50% sacarose e 50% glicose) necessitou tempo maior que 12 horas; a formulação A4 que fez o uso de glicose mais de 13 horas para o término da fermentação. Por se tratar de uma cultura pura, a fermentação utilizando o inóculo *L. casei*, necessitou de maior tempo para atingir o pH ideal para leite fermentado, conforme demonstrado na Tabela 3. Ao contrário do que afirmam Božanić,

Brletić e Lovković (2008), que o *Lactobacillus casei* utiliza a glicose como substrato de desenvolvimento, pode-se observar que ambas as formulações, com e sem adição de sacarose, mostraram-se eficientes quanto ao desenvolvimento do inóculo, mostrando que os micro-organismos apresentam atividade em presença de outros açúcares.

Tabela 3 Desenvolvimento do pH das formulações com inóculo *Lactobacillus casei*

Formulações /Tempo (h)	A1	A2	A3	A4
0	6,53	6,55	6,50	6,47
02:02	6,50	6,50	6,45	6,44
03:58	6,50	6,47	6,44	6,42
06:16	6,44	6,46	6,40	6,39
08:14	5,78	6,01	6,30	6,29
10:12	4,88	4,86	5,68	6,16
11:08	4,66	4,68	5,10	5,82
11:48			4,80	5,36
12:32			4,60	4,97
13:16				4,75
13:46				4,66

Para as formulações que utilizaram como cultura láctica o fermento misto SAB, (composto por *Streptococcus thermophilus* com *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterias*), observou-se que o tempo de fermentação foi menor quando comparado às formulações que utilizaram as culturas puras (Tratamentos A1, A2, A3, A4, A9, A10, A11, A12), conforme Figura 5.

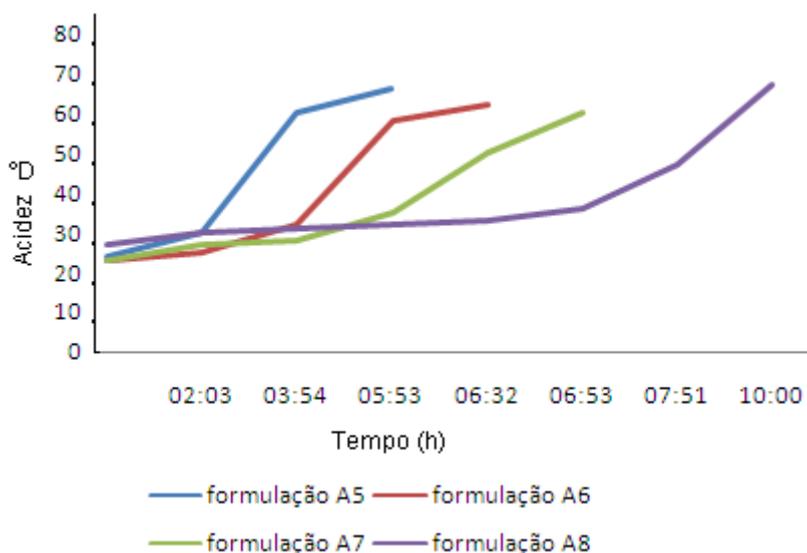


Figura 5 Evolução da acidez nas formulações utilizando inóculo SAB.

A formulação A5 (sem adição de açúcar) alcançou o pH final com menor tempo, próximo de 6 horas, conforme a Tabela 4; as formulações A6 e A7 (100% sacarose, 50%

sacarose e 50% glicose) apresentaram tempos de fermentação próximos de 7 horas; a formulação A8, com o uso do açúcar glicose, apresentou o maior tempo de fermentação, aproximadamente 12 horas.

Tabela 4 Desenvolvimento do pH das formulações com inóculo *SAB*

Formulações /Tempo (h)	A5	A6	A7	A8
0	6,56	6,56	6,54	6,39
02:03	6,33	6,47	6,44	6,30
03:54	5,06	6,10	6,40	6,30
05:53	4,67	4,83	6,05	6,29
06:32		4,68	4,98	6,24
06:53			4,68	6,12
07:51				5,37
10:00				4,76
12:00				4,62

A utilização da cultura láctea mista favorece a elaboração de bebidas fermentadas, pois, segundo Robinson (2002), a presença do micro-organismo *Streptococcus thermophilus* favorece o processo por se tratar de uma cultura iniciadora de leites fermentados e iogurtes. Com isso, o processo de fermentação inicia-se com mais rapidez, continuando, neste caso, com os inóculos *L. acidophilus* e *Bifidobactérias* nos quais o pH ótimo, para o início da atividade do Lactobacilos é entre 5,5 a 6,0, de acordo com Gomes e Malcata (1999).

Pereira (2002), em seus estudos com culturas tradicionais e probióticas, observou que o tipo de cultura interfere significativamente no tempo de fermentação.

O crescimento de bifidobactérias não está limitado quer pela influência de monossacárido baixa concentração (por exemplo, arabinose e glicose) ou por elevadas concentrações de oligossacrídeos (por exemplo, rafionse e estaquiose) (TSANGALIS; SHAH, 2004). Durante o processo de fermentação, principalmente as bifidobactérias utilizam a sacarose e estaquiose, mas em quantidades consideravelmente mais baixas, enquanto o uso de frutose e raffionse é negligenciável (KWON *et al.*, 2002). A composição de açúcar no leite de soja é exatamente a mesma: teor de sacarose é o mais elevado (41-67% de açúcares totais), seguido por estaquiose (cerca 12-35% de açúcares totais), enquanto frutose e rafionse são representados em menores quantidades (cerca 5-16% de açúcares totais) (USDA, 2012). Por este fato, justifica-se a fermentação por menor tempo, tendo um crescimento por simbiose.

De acordo com a Figura 6, dentre as formulações que utilizaram a cultura láctica pura de *Lactobacillus acidophilus*, observou-se que as formulações A9, A10 e A11 apresentaram o mesmo tempo de fermentação.

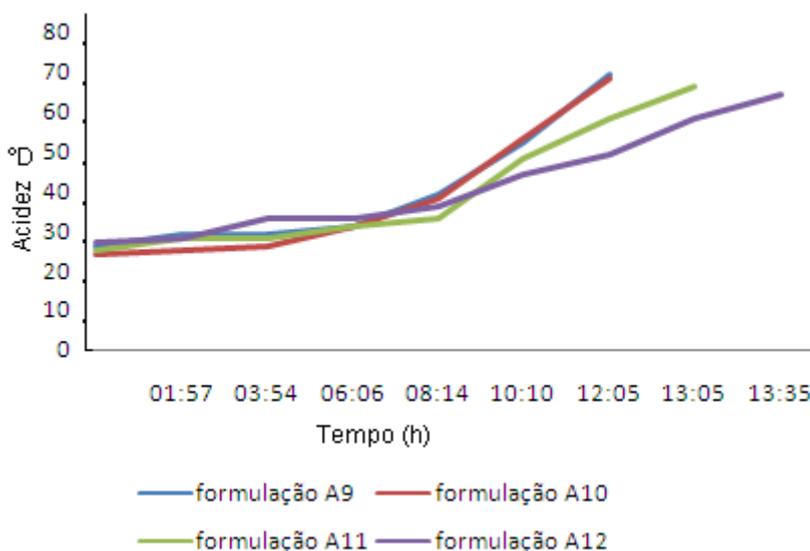


Figura 6 Evolução da acidez nas formulações utilizando *Lactobacillus acidophilus*.

A formulação A12, com o uso do açúcar glicose, alcançou o pH ideal somente a partir de 14 horas (Tabela 5). Por se tratar de uma cultura pura cujo pH ótimo de fermentação do *L. acidófilos* é entre 5,5 e 6,0 e a bebida encontra-se no início da fermentação, com pH 6,45 em média, o micro-organismo demora a iniciar a atividade microbiana. Embora tenham sido as formulações que utilizaram mais tempo para fermentar, comparados às demais formulações com outros inóculos, de acordo com Božanić, Brletić e Lovković (2008), permaneceram na média de 12 a 17 horas de fermentação.

Tabela 5 Desenvolvimento do pH das formulações com inóculo *Lactobacillus acidophilus*

Formulações /Tempo (h)	A9	A10	A11	A12
0	6,52	6,52	6,45	6,45
02:03	6,43	6,40	6,35	6,38
03:54	6,43	6,40	6,35	6,30
05:53	6,40	6,30	6,27	6,16
06:32	6,19	5,73	5,80	5,90
06:53	5,33	5,07	5,11	5,55
07:51	4,74	4,70	4,67	5,21
10:00	4,41	4,52	4,50	4,94
12:00				4,78
				4,51

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

A evolução dos parâmetros de acidez e pH, durante o período de armazenamento, a 6 °C, dos doze tratamentos são apresentados na Tabela 6.

Tabela 6 Valores referentes à acidez e pH durante a estocagem de 28 dias

Tratamento	Tempo (dias)									
	início		7		14		21		28	
	Acidez	pH	Acidez	pH	Acidez	pH	Acidez	pH	Acidez	pH
A1	61	4,66	70	4,52	74	4,49	78	4,43	82	4,39
A2	66	4,68	69	4,61	75	4,55	79	4,48	81	4,36
A3	64	4,60	68	4,54	77	4,48	82	4,41	84	4,31
A4	62	4,66	64	4,60	71	4,53	76	4,46	82	4,39
A5	66	4,67	73	4,61	78	4,54	81	4,48	83	4,42
A6	62	4,68	67	4,62	73	4,56	78	4,51	83	4,46
A7	60	4,68	66	4,59	73	4,54	78	4,48	83	4,41
A8	67	4,62	73	4,55	77	4,49	80	4,43	84	4,37
A9	69	4,67	73	4,61	76	4,52	80	4,47	82	4,41
A10	68	4,69	73	4,60	76	4,52	79	4,48	81	4,44
A11	66	4,65	73	4,58	78	4,53	81	4,49	84	4,42
A12	64	4,68	68	4,57	75	4,48	79	4,42	85	4,37

Nota: *Os valores apresentaram a média de 3 determinações.

Observou-se que, no período de armazenamento, os valores de pH para todos os tratamentos apresentaram-se em declínio e abaixo de 4,5, valor desejável para a prevenção do crescimento de contaminantes patogênicos (MICANEL; HAYNES; PLAYNE, 1997) e também do ponto de vista sensorial, pois garante ao produto final um sabor suave (PEREIRA, 2002).

Como se pode observar na Tabela 6, no final de vinte e oito dias de estocagem os valores de acidez ($^{\circ}$ Dornic) e pH dos doze tratamentos ficaram próximos do mínimo estabelecido pela Instrução Normativa nº 5, de 13 de novembro de 2000 (BRASIL, 2000), para leite cultivado ou fermentado que é de 60 $^{\circ}$ Dornic.

Os valores de pH obtidos neste estudo no início da estocagem, assemelham-se aos resultados das formulações das bebidas fermentadas à base de soja, desenvolvido por Kopper (2009), embora os valores de acidez tenham sido mais baixos do que aqueles obtidos pelos autores citados.

5.1.3 Resultado da análise físico-química das bebidas fermentadas saborizadas obtidas dos tratamentos.

A Tabela 7 apresenta os resultados referentes às determinações físico-químicas das formulações. Todos os tratamentos apresentaram resultados satisfatórios para composição físico-química.

Tabela 7 Análises físico-químicas das formulações

Formul ações	Determinações em % do produto							
	Umidade	Cinzas	pH	Acidez	Proteínas	Carb oidr atos	Gordura	EST
A1	86,32 ^a	0,63 ^b	4,65 ^a	64,67 ^b	5,13 ^d	6,5 ^b	0,61 ^a	13,67 ^c
A2	75,90 ^c	0,54 ^d	4,61 ^b	61,67 ^c	5,16 ^c	18 ^a	0,56 ^b	24,1 ^a
A3	75,30 ^c	0,55 ^d	4,59 ^c	67 ^a	5,21 ^b	18 ^a	0,59 ^a	25,03 ^a
A4	75,48 ^c	0,53 ^d	4,66 ^a	64,67 ^b	5,12 ^d	18 ^a	0,58 ^b	24,51 ^a
A5	86,72 ^a	0,63 ^b	4,65 ^a	61,33 ^c	5,16 ^c	6,5 ^b	0,55 ^b	13,27 ^c
A6	75,80 ^c	0,52 ^d	4,64 ^a	62 ^c	5,06 ^e	18 ^a	0,55 ^b	24,19 ^a
A7	75,34 ^c	0,52 ^d	4,62 ^b	64,33 ^b	5,15 ^c	18 ^a	0,64 ^b	24,66 ^a
A8	77,33 ^b	0,54 ^d	4,64 ^a	64,67 ^b	5,19 ^c	18 ^a	0,63 ^a	22,66 ^b
A09	87,04 ^a	0,68 ^c	4,61 ^b	65,67 ^a	5,12 ^d	6,5 ^b	0,62 ^a	12,96 ^c
A10	77,62 ^b	0,57 ^a	4,64 ^a	61,67 ^c	5,07 ^e	18 ^a	0,55 ^b	22,38 ^b
A11	76,19 ^c	0,57 ^c	4,62 ^b	66 ^a	5,26 ^a	18 ^a	0,63 ^a	23,8 ^a
A12	77,15 ^b	0,58 ^c	4,63 ^a	64,67 ^b	5,09 ^e	18 ^a	0,6 ^a	22,85 ^b
ANOVA (p-valor)	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001

Nota: Valores obtidos por diferença (Médias e desvio padrão das determinações realizadas em triplicata).

Observou-se que houve diferença significativa ($p < 0,05$) nos valores de umidade, carboidratos e sólidos totais, devido à substituição do açúcar pelo adoçante nas formulações A1, A5 e A9, consequentemente favorecendo uma diminuição da participação dos sólidos totais e um aumento em seus teores de umidade, variando de 75,30% a 87,04%. Na mesma proporção influenciou no teor de carboidratos do produto, assim como a representação de minerais na análise de cinzas. Para a análise de carboidrato, o resultado variou de 6,5% (A1, A5 e A9) a 18% (demais tratamentos. Isso se justificou pela substituição do açúcar nestas formulações por adoçante, obtendo assim um valor reduzido de carboidrato.

Nos valores de pH e acidez, os resultados diferenciados entre os tratamentos justificam-se em função do desenvolvimento dos inóculos, em que se utilizou, além de culturas diferentes, açúcares diferentes. As mensurações da acidez foram realizadas nos mesmos instantes, mas o desenvolvimento da mesma cultura nas bebidas de mistura base diferente, podem adotar caminhos de desenvolvimento também diferentes. Na análise de pH, os valores iniciais obtidos referem-se ao ponto ideal do término do processo de fermentação (próximo de 4,6).

De acordo com Brandão (1995), o valor do pH é importante pois, o iogurte ou bebidas com baixa acidez ($pH > 4,6$) favorecem a separação do soro, em que o gel não foi suficientemente formado; por outro lado, em $pH < 4,0$, há contração do coágulo, devido à redução da hidratação das proteínas e isso leva ao dessoramento. Porém, esse fenômeno não foi observado em nenhuma das formulações produzidas.

Para a análise de proteína, os valores obtidos nas formulações variaram de 5,02% a 5,18%, demonstrando ser bebida com elevado teor proteico, quando comparado às

demais bebidas no mercado. Umbelino e Rossi (2001) relata que as bebidas à base de EHS disponíveis no mercado fornecem uma quantidade de proteína de soja baixa, entre 0,6 e 1,4%. De acordo com as pesquisas elaboradas por Thamer e Penna (2006), no desenvolvimento de uma bebida fermentada simbiótica de base láctea, o teor proteico variou entre 1,93 a 2,46%. O valor elevado de proteína se deve ao acréscimo de proteína concentrada do soro do leite (WPC) às formulações, além da proteína existente na soja. Essa suplementação justifica-se para suprir a bebida com aminoácidos essenciais de alto valor biológico.

Segundo a legislação brasileira, para o produto ser legalmente incluído na classificação de bebida láctea fermentada é necessário atingir um mínimo de 1,2 g de proteína/100 g de produto, valor ultrapassado nas bebidas elaboradas (BRASIL, 2004).

5.1.4 Análise de minerais das BFS

Devido à soja ser um grão rico em minerais, assim como a suplementação desta bebida com concentrado proteico de concentração 81%, originários do soro de leite, que também é uma excelente fonte de minerais, fez-se interessante quantificar a sua presença, a fim de avaliá-los como fonte para suprir as necessidades diárias. A Tabela 8 contém os dados referentes às análises físico-químicas das formulações.

Tabela 8 Determinação de minerais das BFS elaboradas

Tratamentos	Minerais (mg/100g)				
	Fósforo	Potássio	Cálcio	Ferro	Sódio
A1	338,33 ^a	629,33 ^d	86,67 ^d	1,55 ^a	262,33 ^d
A2	336,33 ^a	652 ^a	85 ^d	1,54 ^a	268 ^c
A3	336,67 ^a	642,33 ^b	86,33 ^d	1,56 ^a	270 ^c
A4	339,33 ^a	634,33 ^c	87 ^d	1,54 ^a	269 ^c
A5	333,33 ^b	628,67 ^d	88,67 ^c	1,52 ^a	279,67 ^a
A6	333,67 ^b	636,67 ^c	90 ^c	1,50 ^a	282 ^a
A7	341,33 ^a	635,67 ^c	96,33 ^a	1,44 ^c	266,67 ^c
A8	330,67 ^b	633,67 ^c	92,67 ^b	1,43 ^c	275,67 ^b
A9	321,67 ^c	632,33 ^c	90,33 ^c	1,48 ^b	277,33 ^b
A10	325 ^c	636,67 ^c	90 ^c	1,49 ^b	279,33 ^a
A11	323,67 ^c	634,67 ^c	93,33 ^b	1,43 ^c	264 ^d
A12	333,33 ^b	633,33 ^c	93,33 ^b	1,45 ^c	267 ^c
ANOVA (p-valor)	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001

Nota: Médias e desvio padrão das determinações realizadas em triplicata (Formulações Tabela 2). Letras iguais na mesma coluna não apresentaram diferença estatística, ao nível de 5%, pelo teste de Tuckey.

De acordo com os valores obtidos dos minerais, para as análises de fósforo, potássio, cálcio, ferro e sódio apresentaram-se com diferença significativa ($p < 0,01$). Este fato pode ser justificado devido à variação existente de minerais entre os sucos concentrados de goiaba por marcas ou lotes diferentes, conforme demonstrado no trabalho realizado por Souza *et al.* (2004).

Na análise do fósforo, obtiveram-se valores que variaram de 321,67 mg a 341,33 mg para cada 100 gr de amostra que, comparado ao leite bovino que possui 119 mg/100 gr, demonstrando ser uma excelente fonte desse mineral (PARK *et al.*, 2007).

Considerando-se o teor de cálcio, os valores obtidos de 85 mg a 93 mg mostram-se abaixo do leite bovino que é de 122 mg (PARK *et al.*, 2007). Esse valor justifica-se pela deficiência no teor de cálcio em produtos à base de soja, sendo necessário o enriquecimento com este componente (CASÉ *et al.*, 2005).

Quanto à análise de ferro, todas as formulações apresentaram valores entre 1,44 mg e 1,56 mg, quando comparado a o leite bovino que possui 0,08 mg (PARK *et al.*, 2007), mostraram ser eficiente quanto a sua disponibilidade.

Para o teor de sódio, as bebidas elaboradas apresentaram valores considerados altos, entre 264 mg e 282 mg, quando comparados ao leite fermentado (33 mg) e leite bovino, que possui 64 mg, segundo a Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (LIMA *et al.*, 2006). Estes teores correspondem a, aproximadamente, 10% da recomendação diária para sódio (2,3 g), segundo Mahan e Escott-Stump (2010), o que indica precaução quanto à ingestão por hipertensos. Essa variação justifica-se pela adição do concentrado proteico (WPC) que possui um teor de mineral oriundo do soro de leite. Além desta, outra fonte também considerável de sódio é a polpa utilizada, sabor goiaba, cujos valores variam de 16,5 g a 28,5 g para cada 100 g de amostra (SOUZA *et al.*, 2004).

Com referência aos teores de minerais, todas as formulações, quando comparadas com o leite de vaca, mostraram-se fontes adequadas, apresentando valores como, por exemplo, para cálcio, equivalente a 10% da recomendação de ingestão diária recomendada (IDR), de 800 mg para adultos e crianças na faixa etária de 7-10 anos e 7% da recomendação para gestantes e lactentes (1200 mg), segundo a Portaria n^o 33, de 13 de janeiro de 1998, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2012b).

Na análise de potássio as formulações apresentaram valores entre 629 mg e 652 mg, mostrando-se excelentes fontes deste mineral, quando comparadas ao leite bovino que apresenta 152 mg. O teor de potássio apresentou-se acima de 628 mg em todas as formulações, Segundo Mahan e Escott-Stump (2010), a recomendação diária deste mineral é de 4700 mg, o que significa que as quantidades detectadas nas formulações correspondem a, aproximadamente, 13,36% da ingestão diária, considerando-se que este

nutriente é importante, em adição ao cálcio, na regulação da atividade neuromuscular (MAHAN; ESCOTT-STUMP, 2010).

5.2 Análise microbiológica

5.2.1 Análises microbiológicas das bebidas fermentadas de Soja

Os resultados obtidos nas análises microbiológicas para as bebidas elaboradas são apresentados na Tabela 9.

Tabela 9 Análises microbiológicas das bebidas fermentadas

Formulações	Micro-organismos		
	Coliformes/ g	Salmonella sp / 25g	Bolores e Leveduras
	UFC/g		UFC/g
	10	ausente	
A1	<3,0	Ausente	<10
A2	<3,0	Ausente	<10
A3	<3,0	Ausente	<10
A4	<3,0	Ausente	<10
A5	<3,0	Ausente	<10
A6	<3,0	Ausente	<10
A7	<3,0	Ausente	<10
A8	<3,0	Ausente	<10
A9	<3,0	Ausente	<10
A10	<3,0	ausente	<10
A11	<3,0	Ausente	<10
A12	<3,0	Ausente	<10
Legislação	10	Ausente	10 ² UFC/g

O resultado da análise microbiológica realizada nas bebidas fermentadas e apresentadas na Tabela 9 mostra que estas se encontram dentro dos limites preconizados pela legislação, segundo a Resolução nº 12 de 2 de janeiro de 2002 (BRASIL, 2012), assegurando a inocuidade das amostras avaliadas pelos provadores nas análises sensoriais.

5.2.2 Contagem de micro-organismos probióticos

O número mínimo de cultura específica, recomendado para bebidas lácteas fermentadas, é de $1,0 \times 10^6$ células viáveis/mL, no momento do consumo (OSTLIE; HELLAND; NARVHUS, 2003). De acordo com Badaró *et al.* (2008), a maioria dos produtos

lácteos fermentados devem apresentar-se na faixa de até 10^9 UFC/mL, para a obtenção de um efeito favorável na composição da microbiota intestinal.

A contagem do número de células viáveis dos micro-organismos probióticos lactobacilos variaram de 14,12 LOG UFC/ml para o primeiro dia a 11,133 LOG UFC/ml, no decorrer dos 28 dias de armazenamento sob temperatura de 5,5°C. As placas para a contagem das colônias dos lactobacilos apresentaram semelhanças, sendo representadas por uma delas na Figura 7.

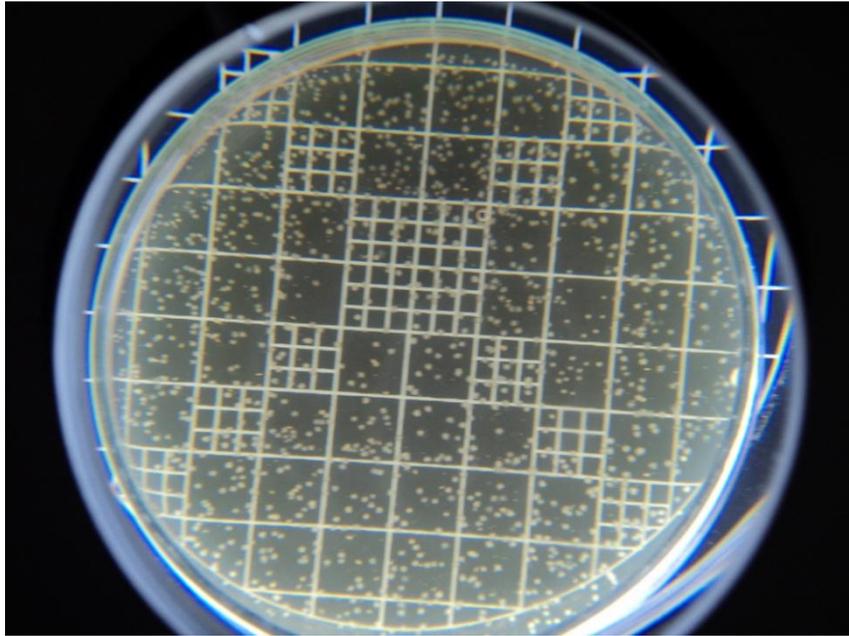


Figura 7 Foto de uma placa com a cultura *Lactobacillus*.

A análise de contagem das bactérias ácido-láticas nas formulações utilizando o inóculo *Lactobacillus casei*, revelou resultados satisfatórios, conforme demonstrado na Tabela 10.

Tabela 10 Contagem microbiológica de *L. acidophilus* durante o período de 0, 7, 14, 21 e 28 dias

Tratamentos	Concentração (LOG UFC/ ml)				
	Tempo (dias)				
	0	7	14	21	28
	Média	Média	Média	Média	Média
A1	6,33E+12 ^{ab}	8,03E+12 ^a	4,07E+13 ^b	6,13E+12 ^{cd}	6,93E+11 ^{ab}
A2	2,03E+13 ^{abc}	7,97E+12 ^a	5,13E+12 ^a	4,13E+12 ^b	1,77E+12 ^c
A3	1,03E+13 ^{ab}	1,47E+13 ^c	2,70E+13 ^{cd}	7,20E+12 ^d	1,83E+12 ^c
A4	2,20E+13 ^{bc}	9,03E+12 ^{ac}	1,83E+13 ^{ac}	5,23E+12 ^{bc}	1,30E+12 ^{bc}
A5	8,93E+12 ^{ab}	8,23E+12 ^a	6,80E+12 ^a	2,07E+12 ^e	8,07E+11 ^{ab}
A6	8,13E+13 ^e	7,90E+12 ^a	5,90E+12 ^a	9,13E+11 ^{ae}	4,27E+11 ^a
A7	3,20E+13 ^{cd}	9,03E+12 ^{ac}	6,90E+12 ^a	3,80E+12 ^b	7,87E+11 ^{ab}
A8	2,00E+12 ^a	9,40E+11 ^b	8,60E+11 ^a	5,93E+11 ^a	1,33E+11 ^a
A9	1,20E+14 ^f	8,30E+13 ^d	3,93E+13 ^b	6,43E+12 ^{cd}	6,40E+11 ^{ab}
A10	4,00E+13 ^{cd}	6,30E+12 ^{ab}	3,33E+12 ^a	6,00E+11 ^a	2,03E+11 ^a
A11	4,93E+13 ^d	6,27E+12 ^{ab}	2,00E+12 ^a	4,20E+11 ^a	8,40E+10 ^a
A12	3,43E+13 ^{cd}	7,33E+12 ^{ab}	3,13E+12 ^a	3,97E+11 ^a	7,13E+10 ^a
ANOVA (p-valor)	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001

Na bebida fermentada pelo micro-organismo *Lactobacillus casei*, no decorrer de seu armazenamento, observa-se que a contagem de células viáveis no tempo 0 a 14 dias aumenta e, em seguida inicia a diminuição de sua contagem. Isso ocorreu porque durante os primeiros dias de armazenamento (14 dias) os micro-organismos ainda estavam em atividade, mas em um menor ritmo se comparado ao tempo de fermentação na fermenteira. Ao término do armazenamento (28 dias), constatou-se que as formulações variaram no número de células viáveis entre 10^{11} e 10^{12} , demonstrando uma alta viabilidade por ser probiótico.

Para a fermentação das bebidas utilizando o inóculo SAB, obtiveram-se contagens de bactérias lácticas superiores a 1×10^{11} ao final do armazenamento. O mesmo resultado pode ser observado para as demais formulações que utilizaram outros tipos de culturas lácteas.

Para as fermentações utilizando o inóculo *Lactobacillus acidophilus*, observou-se que a contagem de bactérias ácido-lácticas no tempo 0 dia em uma das formulações apresentou-se superior a 10^{14} . Mas no decorrer do armazenamento, ao tempo de 28 dias, o número de bactérias ácido-lácticas apresentava-se na base 10^{11} .

Comparado a contagem de bactérias acidolácticas com as demais formulações que utilizaram fermentos lácteos diferentes, observou-se que estas formulações apresentaram menor contagem no período de 28 dias, mas permanecem sendo viáveis à característica de ser probiótico.

5.3 Análise sensorial

Para determinar o *status* afetivo de um produto, ou seja, o quanto este é apreciado pelos consumidores, é recomendado o teste de aceitação (MEILGAARD; CIVILLE; CARR, 1999). Os resultados de aceitação obtidos nesta pesquisa são apresentados nas Tabelas 11, 12, 13 e 14.

Na Tabela 11 são apresentadas as médias e desvio padrão para as formulações inoculadas com *Lactobacillus casei*.

Tabela 11 Escore médio e desvio padrão obtidos pelo teste de escala hedônica para as formulações com *Lactobacillus casei*

Atributos/ Amostras	*Média dos atributos			
	A1	A2	A3	A4
Cor	6,50±2,13 ^a	7,34±1,45 ^c	6,77±1,91 ^{ab}	7,09±2,05 ^{bc}
Aroma	5,55±1,87 ^b	7,54±1,16 ^c	6,71±1,71 ^a	6,44±2,12 ^a
Sabor de soja	5,41±2,07 ^a	6,81±1,59 ^b	5,92±1,99 ^a	5,67±2,29 ^a
Sabor de goiaba	5,82±2,12 ^a	6,56±2,12 ^b	6,09±2,13 ^{ab}	5,04±2,37 ^c
Consistência	6,17±2,03 ^b	6,96±1,66 ^c	5,58±2,10 ^a	5,10±2,36 ^a
Doçura	5,72±2,25 ^{ab}	7,17±1,69 ^c	6,25±2,30 ^b	5,36±2,31 ^a
Impressão global	5,82±1,52 ^b	7,23±1,36 ^c	5,29±1,40 ^a	5,15±1,63 ^a

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

** A1 - adição de edulcorante; A2 - 100% de sacarose; A3 - 50% de glicose e 50% de sacarose; A4 - 100% glicose.

O Tratamento A2, com 100% sacarose, apresentou o melhor resultado para todos os atributos avaliados, situando-se na categoria “gostei regularmente”, embora as demais amostras se classificassem entre a categoria “gostei ligeiramente” e “gostei regularmente”, denotando que a fermentação com 100% de sacarose tenha apresentado uma repercussão sensorial positiva, quando comparado com os demais carboidratos.

O Tratamento A4 apresentou a avaliação na categoria “indiferente” para os atributos de sabor de goiaba, consistência, doçura e impressão global, sendo adicionada de 100% de glicose, apresentando repercussão sensorial não favorável.

As amostras apresentaram-se em categorias de respostas representadas por “gostei ligeiramente” e “gostei regularmente”. A ANOVA apresentou diferença entre as médias das avaliações ($p < 0.01$).

Observou-se que o Tratamento A2 apresentou maior intensidade para os atributos avaliados, enquanto que o Tratamento A1 apresentou menor intensidade para as características avaliadas.

Na Tabela 12 são apresentadas as médias e o desvio padrão para as formulações inoculadas com SAB.

Tabela 12 Escore médio e desvio padrão obtidos pelo teste de escala hedônica para as formulações com *Streptococcus thermophilus* com *L. acidophilus* e *Bifidobactérias* (SAB)

Atributos/ Amostras	*Média dos atributos			
	A5	A6	A7	A8
Aroma	5,14±2,02 ^b	6,62±1,66 ^c	6,09±1,91 ^a	5,95±2,13 ^a
Sabor de soja	5,23±2,09 ^a	6,57±1,80 ^c	5,77±2,18 ^{ab}	5,79±2,16 ^b
Sabor de goiaba	5,99±2,05 ^a	6,65±2,01 ^b	6,20±2,04 ^{ab}	5,06±2,44 ^c
Cor	6,42±2,15 ^a	7,27±1,46 ^c	6,69±1,87 ^{ab}	6,91±2,06 ^{bc}
Consistência	6,18±1,91 ^b	7,07±1,58 ^c	6,02±2,11 ^{ab}	5,56±2,42 ^a
Doçura	5,66±2,39 ^a	7,03±1,76 ^c	5,95±2,35 ^a	4,95±2,28 ^b
Impressão global	5,56±1,48 ^c	6,94±1,38 ^d	5,13±1,51 ^b	4,72±1,77 ^a

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

A5 - adição de edulcorante; A6 - 100% de sacarose; A7 - 50% de glicose e 50% de sacarose; A8 - 100% glicose.

Para os atributos de cor, aroma, sabor de soja, sabor de goiaba, consistência, doçura e impressão global, o Tratamento A6 (com 100% sacarose) apresentou os melhores resultados, sendo todos na categoria “gostei regularmente”.

O Tratamento A5 apresentou a avaliação na categoria “indiferente” para os atributos de sabor de soja e aroma, apresentando repercussão sensorial não favorável, pois não foi adicionada de carboidrato.

As demais amostras apresentaram-se em categorias de respostas representadas por “gostei ligeiramente” e “gostei regularmente”. ANOVA revelou diferença entre as médias das avaliações ($p < 0.01$).

Tabela 13 Escore médio e desvio padrão obtidos pelo teste de escala hedônica para as formulações com *Lactobacillus acidófilos*

Atributos/ Amostras	*Média dos atributos			
	A9	A10	A11	A12
Cor	6,96±1,51 ^a	6,99±1,38 ^a	6,76±1,60 ^{ab}	6,57±1,72 ^b
Aroma	5,74±1,79 ^a	6,63±1,60 ^b	5,45±1,92 ^a	5,90±1,93 ^a
Sabor de soja	5,54±1,90 ^b	6,60±1,58 ^c	4,89±1,94 ^a	5,28±1,97 ^{ab}
Sabor de goiaba	6,01±1,80 ^a	6,67±1,67 ^c	5,55±1,82 ^a	5,00±2,03 ^b
Doçura	5,99±1,99 ^a	6,64±1,75 ^c	4,89±2,09 ^b	5,97±2,04 ^a
Consistência	6,55±1,71 ^{ab}	6,92±1,64 ^a	6,63±1,84 ^a	6,05±2,37 ^b
Impressão global	6,24±1,71 ^a	6,73±1,53 ^c	5,41±1,83 ^b	6,13±1,96 ^a

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

A9 - adição de edulcorante; A10 - 100% de sacarose; A11 - 50% de glicose e 50% de sacarose; A12 - 100%glicose.

Para o atributo cor, o Tratamento A10 (com 100% sacarose) apresentou o melhor resultado, situando-se na categoria “gostei regularmente”, embora as demais amostras se classificassem também nesta categoria.

Nos demais atributos como aroma, sabor de soja, sabor de goiaba, consistência, doçura e impressão global, o Tratamento A10 também apresentou os melhores resultados sendo todos na categoria “gostei regularmente”, denotando que a fermentação com 100% de sacarose tenha apresentado uma repercussão sensorial positiva, quando comparado com os demais carboidratos.

O Tratamento A12 apresentou a avaliação na categoria “indiferente” para os atributos de sabor de goiaba, sabor de soja, sendo adicionada de glicose, apresentando repercussão sensorial não favorável para estes atributos. O Tratamento A11 (com 50% de glicose e 50% de sacarose) apresentou-se na categoria “indiferente” para o atributo sabor de soja, denotando que este carboidrato não influenciou positivamente o sabor acentuado da soja.

As amostras apresentaram-se em categorias de respostas representadas por “gostei ligeiramente” e “gostei regularmente”, porém a ANOVA revelou uma diferença na média das avaliações ($p < 0.01$).

Observou-se que o Tratamento A10, apresentou maior intensidade para os atributos avaliados, enquanto que o Tratamento A9 apresentou menor intensidade para as características avaliadas.

Na Tabela 14 apresentam-se os resultados da avaliação sensorial das três amostras com os melhores resultados nas sessões de testes sensoriais, considerando-se as formulações para cada um dos micro-organismos, como o *Lactobacilo acidófilo*, *Streptococcus thermophilus* com *L. acidophilus* e *Bifidobactérias (SAB)* e *Lactobacillus casei*.

Tabela 14 Escore médio e desvio padrão obtidos pelo teste de escala hedônica de 9 pontos para as três melhores formulações

Atributos/ Amostras	*Média dos atributos		
	A10	A6	A2
Cor	6,99±1,31 ^a	6,72±1,34 ^b	7,50±1,26 ^c
Aroma	6,18±1,37 ^a	5,18±1,38 ^b	7,20±1,41 ^c
Sabor soja	6,21±1,30 ^a	5,41±1,34 ^b	7,11±1,34 ^c
Sabor goiaba	6,57±1,19 ^a	5,97±1,36 ^b	7,28±1,22 ^c
Consistência	6,77±1,25 ^a	5,26±1,64 ^b	7,40±1,18 ^c
Doçura	6,50±1,35 ^a	5,60±1,64 ^b	7,17±1,41 ^c
Impressão global	6,47±1,37 ^a	5,54±1,44 ^b	7,25±1,31 ^c

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

A10 - fermentação com *Lactobacillus acidophilus* e 100% sacarose; A6 - fermentação com SAB e 100% sacarose; A2 - fermentação com *Lactobacillus casei* e 100% sacarose.

A cor é um dos principais atributos sensoriais e está associada a muitos aspectos da vida humana, interferindo em decisões, incluindo as que envolvem os alimentos (CLYDESDALE, 1994). 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 (BOBBIO; BOBBIO, 1992; OFOSU *et al.*, 2010; DUTCOSKY, 2007).

Segundo Bezerra (2010), a aparência exerce maior influência na hora da aquisição do produto pelo consumidor e gera interferência sobre a qualidade do produto. A coloração dos alimentos exerce um fator marcante dado a sua atratividade ou não, determinando aceitação, indiferença ou rejeição do produto.

Observou-se que a formulação do Tratamento A2, com *Lactobacillus casei* e 100% de sacarose, apresentou resultado na categoria “gostei muito” para o atributo cor.

Segundo Delwiche (2004), o olfato, juntamente com o sabor tem um enorme impacto sobre a atitude do consumidor, interferindo em relação ao alimento ser preferido ou não, aprovado, aceito ou rejeitado.

Para o atributo aroma, o Tratamento A2 apresentou-se na categoria “gostei regularmente”, e o Tratamento A6 (com SAB e 100% sacarose) inseriu-se na categoria “Indiferente”, sendo que o Tratamento A10 (com *Lactobacillus acidophilus* e 100% sacarose) apresentou-se na categoria “gostei ligeiramente”.

A sensação de sabor é culturalmente estabelecida, cada povo tem uma alimentação e preferência alimentar característica. Portanto, não é só o valor nutricional que se avalia em um alimento (BRITO; CÂMARA; BOLINI, 2007), sendo também este atributo de importante avaliação sensorial.

O atributo sabor de soja obteve a melhor pontuação “gostei regularmente”, para o Tratamento A2, sendo que o Tratamento A10 apresentou-se na categoria “gostei ligeiramente” e o Tratamento A6 inseriu-se na categoria “Indiferente”.

Considerando-se o atributo sabor de goiaba, observou-se que os Tratamentos A10 e A2 apresentaram-se na categoria “gostei regularmente” e o Tratamento A6 apresentou-se na categoria “gostei ligeiramente”, o que denota que o saborizante de goiaba mascarou satisfatoriamente o gosto residual da soja.

Para o atributo de consistência, os Tratamentos A10 e A2 inseriram-se nas categorias “gostei regularmente” e “gostei muito”, respectivamente.

Considerando-se o atributo de doçura, os Tratamento A10 e A2 apresentaram-se na categoria “gostei regularmente”, enquanto o Tratamento A6 inseriu-se na categoria “gostei ligeiramente”.

Para o atributo de impressão global, o Tratamento A2 apresentou-se na categoria “gostei regularmente”, o Tratamento A10 apresentou-se na categoria “gostei ligeiramente” e o Tratamento A6 apresentou-se na categoria “Indiferente”.

Todas as amostras apresentaram diferença significativa para todos os atributos a 5% de significância. Observou-se que o Tratamento A2, com *Lactobacillus casei* e 100% sacarose, apresentou o melhor resultado para todos os atributos.

5.3.1 Análise de componentes principais para as três melhores formulações

Observa-se na Figura 8 que primeiro fator explica 98,63% da variação total dos dados, neste fator todos obtiveram carga fatorial forte e na mesma direção, apontando que todos os atributos se correlacionaram fortemente entre si, tendo seus comportamentos explicados por apenas uma dimensão.

Dada a pouca variabilidade explicada pelo segundo fator, a correlação inversa evidenciada pelos os atributos cor e consistência tem pouca importância, dada a sua baixa contribuição de explicação para variabilidade total.

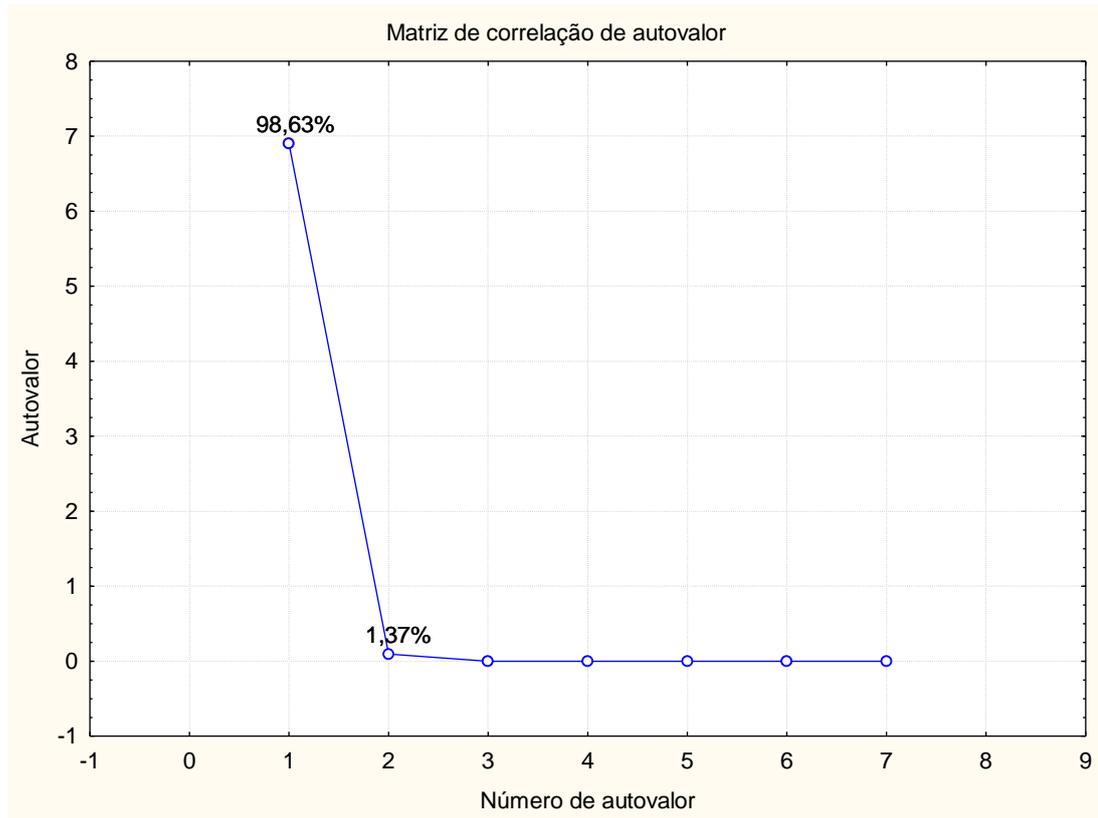


Figura 8 Análise de componentes principais (ACP) das três amostras com melhor aceitação.

Na Figura 9, observa-se que o Tratamento A2 apresentou maior intensidade para todos os atributos avaliados, enquanto que o Tratamento A6 apresentou uma correlação inversa, ou seja, menor intensidade para as características avaliadas.

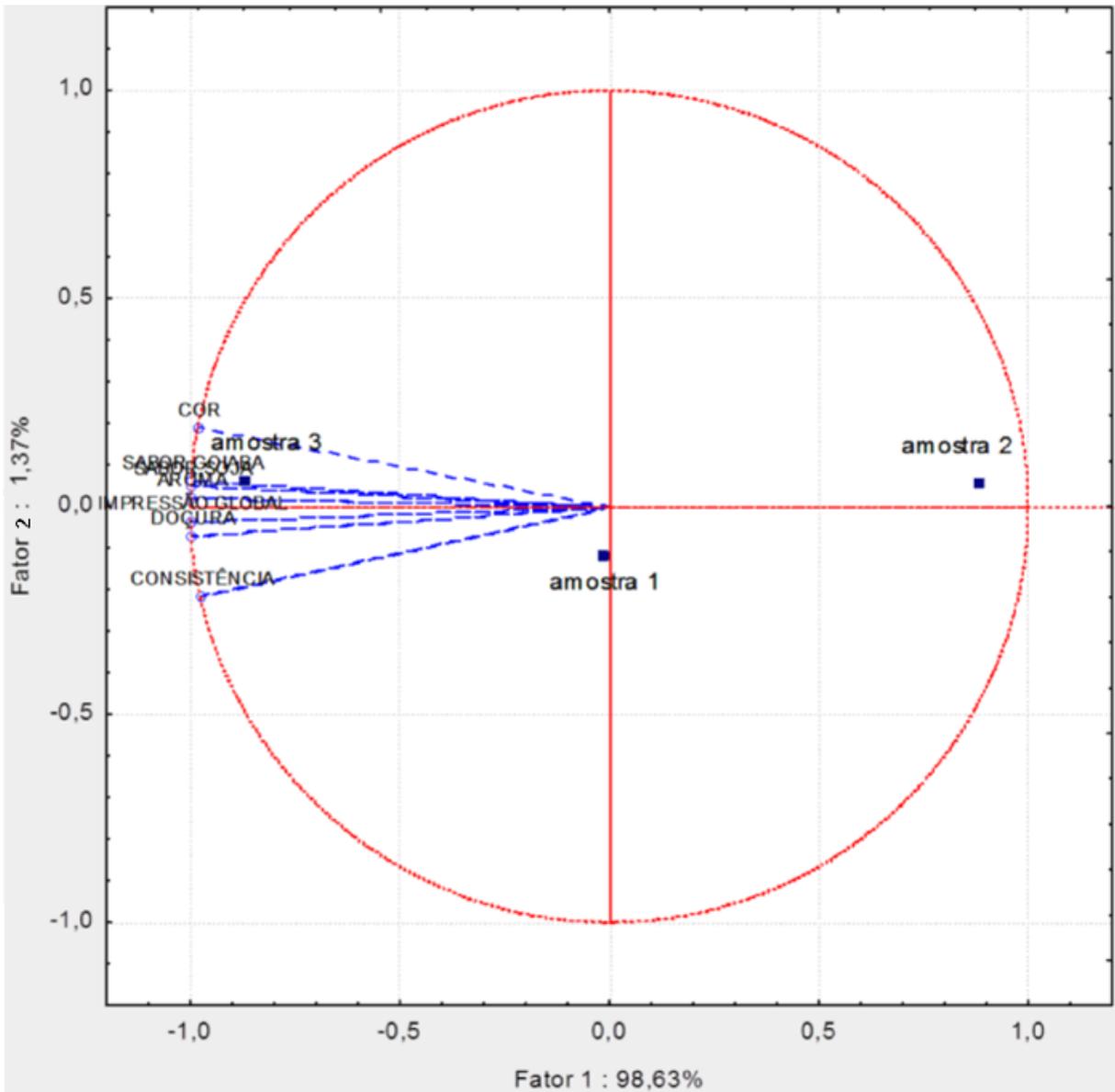


Figura 9 Biplot para análise de componentes principais (ACP) das três amostras de bebida fermentada simbiótica e seus atributos.

O Tratamento A10 apresentou comportamento mediando entre as demais amostras para as intensidades dos atributos avaliados de forma geral. Percebe-se que esta amostra recebeu destaque no segundo fator. É nela que ocorre a peculiaridade referente ao comportamento dos atributos cor e consistência (correlação inversa).

Constatou-se que a formulação contendo o *Lactobacillus casei* e 100% de sacarose apresentou os melhores resultados para todos os atributos sensoriais avaliados.

5.3.2 Análise dos dados referentes à escala de atitude quanto ao consumo da bebida fermentada de soja simbiótica

Na Figura 10 são visualizados os resultados relacionados à atitude de consumo da bebida fermentada de soja simbiótica, considerando-se as três melhores formulações. As categorias de consumo referem-se a: 9 – “eu beberia isto, em cada oportunidade que tivesse”; 8 – “eu beberia isto, muito frequentemente”; 7 – “eu beberia isto, frequentemente”; 6 – “eu beberia isto, agora e depois”; 5 – “eu beberia isto, se possível, mas não sairia da minha rotina”; 4 – “eu não gosto, mas se fosse preciso, beberia”; 3 – “eu beberia isto, raramente”; 2 – “eu beberia isto, se não tivesse outra escolha”; 1 – “eu beberia isto, se fosse forçado”.

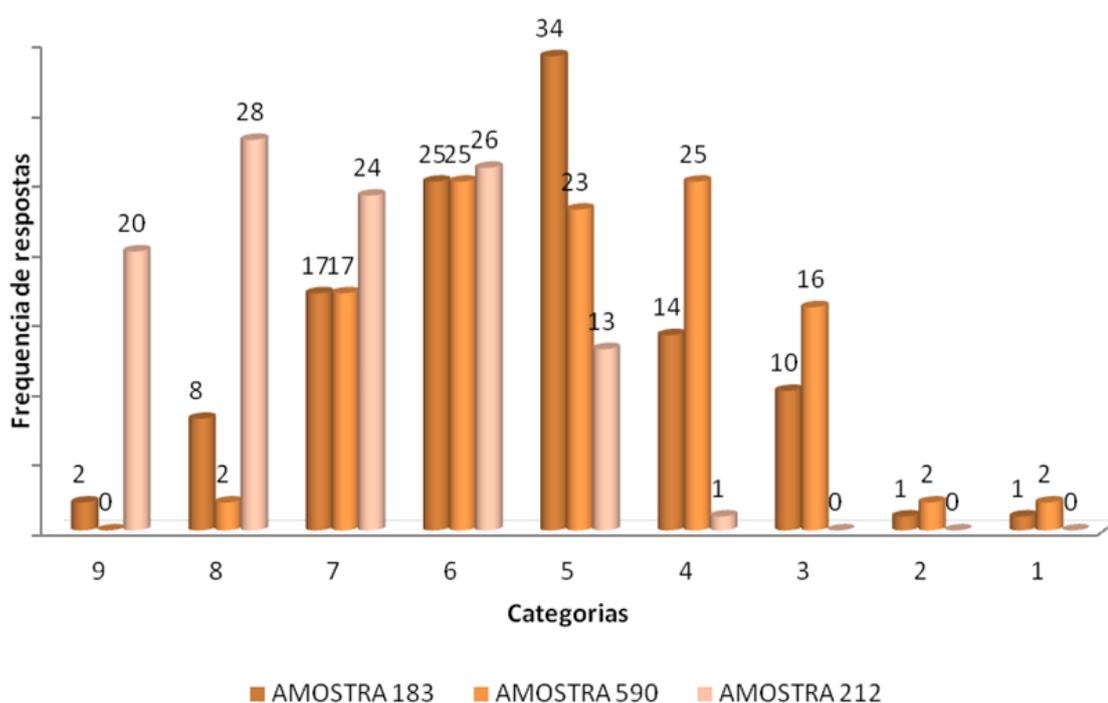


Figura 10 Dados referentes à escala de atitude de consumo.

O Tratamento A2, formulação com *Lactobacillus casei* e 100% de sacarose, apresentou 98 respostas entre as categorias “eu beberia isto, em cada oportunidade que tivesse” e “eu beberia isto, agora e depois”, e 14 respostas entre as categorias “eu beberia isto, se possível, mas não sairia da minha rotina” e “eu não gosto, mas se fosse preciso, beberia”, denotando uma atitude de consumo deste produto muito positiva.

O Tratamento A6, formulação com SAB e 100% sacarose, apresentou 44 respostas entre as categorias “eu beberia isto, muito frequentemente”, “eu beberia isto,

frequentemente” e “eu beberia isto, agora e depois”, e apontou 48 respostas entre as categorias “eu beberia isto, se possível, mas não sairia da minha rotina” e “eu não gosto, mas se fosse preciso, beberia”, e, finalmente, 20 respostas entre as categorias “eu beberia isto, raramente”, “eu beberia isto, se não tivesse outra escolha” e “eu beberia isto, se fosse forçado”.

O Tratamento A10, formulação com *Lactobacillus acidófilos* e 100% sacarose, apresentou 52 respostas entre as categorias “eu beberia isto, muito frequentemente”, “eu beberia isto, frequentemente” e “eu beberia isto, agora e depois”, e 48 respostas entre as categorias “eu beberia isto, se possível, mas não sairia da minha rotina” e “eu não gosto, mas se fosse preciso, beberia”, e 12 respostas entre as categorias “eu beberia isto, raramente”; “eu beberia isto, se não tivesse outra escolha”; e “eu beberia isto, se fosse forçado”.

Na Figura 11 visualiza-se os dados referentes ao índice de aceitabilidade (IA) das três amostras que apresentaram as melhores médias, após as sessões de avaliação sensorial quanto ao atributo cor.

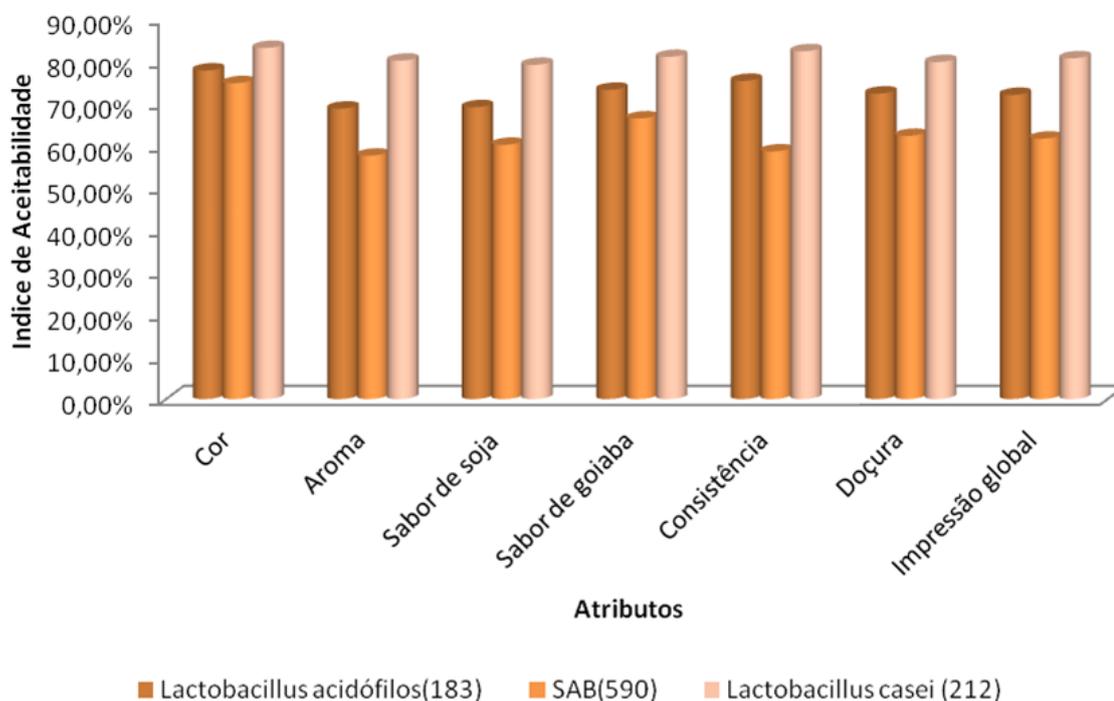


Figura 11 Índice de aceitabilidade dos atributos das amostras.

Observou-se que os Tratamento A10 (*Lactobacillus acidófilos*) e A2 (*Lactobacillus casei*) apresentaram acima de 70% de aceitabilidade para todos os atributos, sendo que o Tratamento A2 apontou os maiores índices. Segundo Dutcosky (2007), Teixeira (1987) e

Minin (2006), o IA acima de 70% indica que o produto será bem aceito no mercado consumidor.

Uma adequada aplicação da metodologia sensorial permite a obtenção de resultados significativos sobre o alimento desenvolvido, de forma prévia, quanto à sua aceitabilidade no mercado consumidor (CRUZ *et al.*, 2010).

Diante dos resultados apresentados através da aplicação dos métodos estatísticos como a ANOVA, e ACP, observou-se que o Tratamento A2 (fermentação com (*Lactobacillus casei*) apresentou o melhor comportamento sensorial, indicando que esta formulação será bem aceita no mercado consumidor. A formulação utilizando como inóculo o *L. casei*, com o uso da sacarose como substrato de desenvolvimento, apresentou melhor repercussão sensorial, pois a sacarose possui um maior poder de doçura comparado à glicose e não um gosto residual de “remédio” como o adoçante, conforme relatado por alguns provadores. O micro-organismo *L. casei* possui característica de fermentar, mas em âmbitos sensoriais ele colabora por não tornar o gosto do produto tão ácido como os demais inóculos.

6 CONCLUSÃO

A contagem total de probióticos nas doze formulações, após 28 dias de estocagem, atendeu aos requisitos descritos na literatura, bem como os da legislação brasileira para bebidas lácteas, que preconizam que todos os micro-organismos produtores da fermentação láctica devem ser viáveis e presentes no produto em quantidades mínimas de 7 log UFC/mL.

Observou-se que as bactérias do gênero *Lactobacillus* desenvolvem-se muito satisfatoriamente em meio cujo substrato é a sacarose.

Com referência aos teores de minerais, observou-se que todas as formulações, quando comparadas com o leite de vaca, podem ser consideradas fontes adequadas, apresentando valores mais próximos aos indicados na ingestão diária recomendada (IDR). Entretanto, o teor de sódio apresentou-se elevado, o que indica que pessoas com restrição da ingestão deste mineral devam ter cautela na quantidade consumida, tendo em vista a ocorrência de hipertensão arterial e a preocupação na atualidade na redução do teor deste mineral na alimentação.

Quanto ao teor proteico, as bebidas elaboradas podem ser excelentes fontes de proteínas de alto valor biológico, devido à adição de WPC.

A formulação contendo o *Lactobacillus casei* com sacarose apresentou os melhores resultados para todos os atributos sensoriais avaliados. Entretanto, de acordo com o Índice de Aceitabilidade, a formulação com *Lactobacillus acidófilos* utilizando sacarose apresentou um resultado acima de 70%, indicando que esta formulação também seria bem aceita no mercado consumidor.

Os resultados da escala de atitude demonstraram que a formulação com *Lactobacillus casei* apresentou um comportamento muito favorável ao seu consumo, seguida da formulação com *Lactobacillus acidófilos*, indicando uma coerência com a aceitabilidade diagnosticada pela aplicação da avaliação sensorial das três formulações que apresentaram, no decorrer das sessões de testes com consumidores, os melhores resultados.

Embora os doze Tratamentos tenham apresentado resultados adequados quanto às características microbiológicas, sensoriais e físico-químicas, a bebida fermentada com *Lactobacillus casei* e sacarose foi a que apresentou os melhores requisitos para uma produção em escala industrial, indicando a sua viabilidade tecnológica.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Para quem possa interessar em prosseguir este trabalho, sugiro trabalhar a bebida sem a utilização de saborizante, conforme foi observado por alguns provadores e também a realizar análise de contagem de bactérias lácticas não somente aos lactobacilos, mas também a outras culturas quando o fermento utilizado na bebida for misto. Isso irá ressaltar o caráter probiótico do produto.

REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA – ANVISA. Alimentos. Comissões e Grupos de trabalho. Comissão Técnico Científica de Assessoramento em Alimentos Funcionais e Novos Alimentos. **Alimentos com alegações de propriedades funcionais e ou de saúde. novos alimentos/ingredientes, substâncias bioativas e probióticos: lista de alegações de propriedade funcional aprovadas.** Atualizado em agosto, 2005. Disponível em :http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno_lista_alega.htm. Acesso em: 15 abr. 2012a.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA - ANVISA. Portaria nº 33, de 13 de janeiro de 1998. **Ingestão diária recomendada (idr) para proteínas, vitaminas e minerais.** Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/legis/portarias/33_98.htm. Acesso em: 27 abr. 2012b.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA - ANVISA. Resolução nº 18, de 30 de abril de 1999. **Diretrizes básicas para análise e comprovação de propriedades funcionais e ou de saúde alegadas em rotulagem de alimentos.** Diário Oficial [da] Republica Federativa do Brasil, Brasília, Seção 1, de 3 de dezembro de 1999. Disponível em: <<http://elegis.bvs.br/leisref/public/showAct.php?id=108>>. Acesso em: 13 abr. 2012c.

AGOSTONI, C.; AXELSSON, I.; BRAEGGER, C.; GOULET, O.; KOLETZKO, B.; MICHAELSEN, K. F. Probiotic bacteria in dietetic products for infants: a commentary by the ESPGHAN Committee on Nutrition. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, v. 238, p. 365-374, 2004.

AMESHIMA, T.; MAGOME. C.; TAKESHITA. K.; ARIHARA. K.; ITOH. M.; KONDO. Y. Effect of intestinal *Lactobacillus* starter cultures on the behavior of Staphylococcus aureus in fermented sausage. **International Journal of Food Microbiology**, v. 41, n. 1, p. 1-7, 1998.

ANDERSON, J. W.; JOHNSTONE, B. M.; COOK-NEWELL, M. E. Meta-analysis of the effects of soy protein intake on serum lipids. **New England Journal of Medicine**, v. 333, n. 5, p. 276-282, 1995.

APUZZIO, D. M. Isoflavones may help prevent premenopausal ER-positive breast cancer. **Physician Assistant**, v. 27, n. 1, p. 35-38, 2003.

ARCHIBALD, A. O que é proteína de soro? In: SOUZA, L. (Ed). Guia 2003 de fornecedores. **Food Ingredients**, n. 22, p. 118-122, jan/fev, 2003.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS - ABNT. **NBR 14141**: escalas utilizadas em análise sensorial de alimentos e bebidas. Rio de Janeiro, 1999.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS – AOAC. **Official methods of analytical of the Association of Official Analytical Chemists.** 15.ed. Washington, 1990. v. 2.

AXELSSON, L. Bactérias do ácido láctico: classificação e fisiologia. In: SALMINEN, S.; WRIGHT, A.; (eds). **As bactérias lácticas: Aspectos Microbiologia e Funcional**, 2. ed. Nova York: Marcel Dekker, Inc, 1998. p.1-72.

AXELSSON, L. Lactic acid bacteria: classification and physiology. In: SALMINEN, S.; WRIGHT, A.; OUWEHAND, A.; (editors). **Lactic acid bacteria: microbiological and functional aspects**. 3. ed. New York: Marcel Dekker; 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. **NUTRIR GERAIS – Revista Digital de Nutrição**, Ipatinga-MG, v. 2, n. 3, p, 1-20, ago./dez. 2008.

BARNES, S.; KIM, H.; XU, J. Soy in the prevention and treatment of chronic diseases. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SOJA, 2., 2002, Foz do Iguaçu. **Anais...** Londrina: Embrapa, 2002. p. 295-308.

BARRANTES, X.; RAILEY, D.; ARIAS, M. L.; CHAVES, C. Evaluación del efecto de cultivos probióticos adicionados a yogurt comercial, sobre poblaciones conocidas de *Listeria monocytogenes* y *Escherichia coli* O157:H7. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, Caracas, v. 54, n. 3, p. 293-297, 2004.

BATES, C. J. PRENTICE, A. M.; PAUL, A. A.; PRENTICE A.; SUTCLIFFE, B. A.; WHITEHEAD, R. G. Riboflavin status in infants born in rural Gambia, and the effects of a weaning food supplement. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 76, p. 253-258, 1982.

BEHRENS, J. H.; ROIG, S. M.; DA SILVA, M. A. A. P. Aspectos de funcionalidade, de rotulagem e de aceitação de extrato hidrossolúvel de soja fermentado e culturas lácteas probióticas. **Boletim SBCTA**, v. 34, n. 2, p. 99-106, 2001.

BENNINK, M. R. Soybean in the prevention and treatment of cancer. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE OS BENEFÍCIOS DA SOJA PARA A SAÚDE HUMANA, 1., 2001, Londrina. **Anais...** Londrina: Embrapa Soja, 2001. p. 24-27.

BEZERRA, M. F. **Caracterização físico-química, reológica e sensorial de iogurte obtido pela mistura dos leites bubalino e caprino**. 2010. 116 f. Dissertação (Programa de pós-graduação em Engenharia Química) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2010.

BLANCHETTE, L.; ROY, Q.; BELANGER, G.; GAUTHIER, S. Production of cottage cheese using dressing fermented by bifidobacteria. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 79, p. 8-15, 1996.

BOBBIO, P. A.; BOBBIO, F. **Química do processamento de alimentos**. São Paulo: Varela, 1992. 150 p.

BOISVERT, W. A.; MENDOZA, I.; CASTENADA, C. *et al.* Riboflavin requirement of healthy elderly humans and its relationship to the macronutrient composition of the diet. **Journal of Nutrition**, v. 123, p. 915-925, 1993.

BOUNOUS, G.; BATIST, G.; GOLD, P. Immunoenhancing property of dietary whey protein in mice: role of glutathione. **Clin. Invest.Med.** v. 12: p.154-161,1991.

BOŽANIĆ, R.; BRLETIĆ, S.; LOVKOVIĆ, S. Influence of temperature and sugar addition on soymilk fermentation by probiotic bacteria. **Mljekarstvo**, Zagreb, v. 58, p. 61-68, 2008.

BRADLOW, H. L.; SEPKOVIC, D. W. Diet and breast cancer. **Annals of the New York Academy of Sciences**, New York, v. 963, p. 247-267, 2002

BRANDÃO, S. C. C. Tecnologia da produção industrial de iogurte. **Leite & Derivados**, Juiz de Fora, v. 5, n. 25, p. 24-38, nov./dez., 1995.

BRANDÃO, W. A. P. L. N. T. M. **Elaboração de bebida fermentada simbiótica de soro lácteo**. 2007. 120 f. Dissertação (Mestrado em Ciências dos Alimentos) - Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2007.

BRANDÃO, W. A. P. L. N. T. M.; SEIBERT, D. **Bebida fermentada probiótica de soro de leite**. 2004. 70 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Tecnologia de Laticínios) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira, 2004.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº16, de 23 de agosto de 2005. Regulamento técnico de identidade e qualidade de bebida láctea. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 24 agosto 2005, sec. 1, p. 7.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Padrões de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados. **Resolução** nº5, de 13 de novembro de 2000. Publicada no Diário Oficial da União de 27 de novembro de 2000.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 71, de 21 de setembro de 2004. Regulamento técnico de identidade e qualidade de bebidas lácteas. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 23 de setembro de 2004. p. 18.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC nº 12**, de 02 de janeiro de 2002. Aprova o regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Disponível em: <http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=144&word=>. Acesso em: 10/05/2012.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretária de Vigilância Sanitária. Portaria nº 27, de 13 de janeiro de 1998. A Secretária de Vigilância Sanitária do MS aprova o Regulamento Técnico referente à Informação Nutricional complementar. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 16 jan. 1998. Seção 1, p. 1-3.

BRITO, C. A. K.; CÂMARA, V. H. A.; H. M. A. BOLINI. Equivalência de dulçor e poder edulcorante de néctares de goiaba adoçados com diferentes edulcorantes. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, Ponta Grossa – PR, v. 1, n. 2, p. 26-36, 2007.

CARAGAY, A. B. Cancer-preventive foods and ingredients. **Food Technology**, Chicago v. 46, p. 65-68, 1992.

CARRÃO-PANIZZI, M. C.; MANDARINO, J. M. G. **Soja**: potencial de uso na dieta brasileira. Londrina: Embrapa-CNPSo, 1998. (Embrapa-CNPSo. Documento, 113).

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

CENTENARO, A. I. **Desenvolvimento de bebida láctea pasteurizada, de diversos sabores, adicionada de *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* Bb-12**. 2009. 71 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Tecnologia de Laticínios) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira, 2009.

CHANG, Y. K. Alimentos funcionais e aplicação tecnológica: padaria da saúde e centro de pesquisas em tecnologia de extrusão. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE OS BENEFÍCIOS DA SOJA PARA A SAÚDE HUMANA, 1., 2001, Londrina. **Anais...** Londrina: Embrapa Soja, 2001. p. 41-45.

CHIECHI, L. M.; SECRETO, G.; D'AMORE, M.; FANELLI, M.; VENTURELLI, E.; CANTORE, F.; VALÉRIO, T.; LASELVA, G.; LOIZZI, P. Efficacy of a soy rich diet in preventing postmenopausal osteoporosis: the Memphis randomized trial. **Maturitas**, v. 42, p. 295-300, 2002.

CHO, S. S.; DREHER M. L. **Handbook of dietary fiber**. New York: Marcel Dekker, Inc; 2001.

CLARKSON, T. B. Soy, soy phytoestrogens and cardiovascular disease. **Journal of Nutrition**, v. 132, n. 3, p. 566S-569S, 2002.

CLYDESDALE, F. M. Changes in color and flavor and their effects on sensory perception in the elderly. **Nutrition Reviews**, v. 52, p. 19-20, 1994.

COEURET, V.; GUEGUEN, M.; VERNOUX, J. P. In vitro screening of potential probiotic activities of selected lactobacilli isolated from unpasteurized milk products for incorporation into soft cheese. **Journal of Dairy Research**, v. 71, n. 4, p. 451-460, 2004.

CONWAY, P. Prebiotics and human health: the state of the art and future perspectives. **Scandinavian Journal of Clinical Nutrition**, v. 45, p. 13-21, 2001.

COPPOLA, M. M.; GIL-TURNES, C. Probióticos e resposta imune. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 4, p. 1297-1303, 2004.

COSTA, J. A. Origem e histórico. In: MANICA, I.; COSTA, J. A. (eds). **Cultura da soja: interpretação, procedência da soja**. Porto Alegre: Evangraf, 1996. p. 13-16.

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 symbiotic product development. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 9, p. 358-373, 2010.

CRUZ, A. G.; MORTAZAVIAN, A.M.; KARINI, R. Viability of probiotic microorganisms in cheese during production and storage: a review. **Dairy Science & Technology**, v. 91, p. 283-308, 2011.

DE ANGELIS, R. C. Compostos bioativos e antioxidantes nos alimentos. **Nutrição em Pauta**. São Paulo, Ano XII, v. 65, p. 6-11, mar./abr., 2004.

DELWICHE, J. The impact of perceptual interactions on perceived flavor. **Food Quality and Preference**, v. 15, p. 137-146, 2004.

DONNET-HUGHES, A. Modulation of nonspecific mechanisms of defense by lactic acid bacteria: effective dose. **Journal of Dairy Science**, v. 82, n. 5, p. 863-869, 1999.

DUTCOSKY, S. D. **Análise sensorial de alimentos**. 2. ed. Curitiba: Champagnat, 2007. 239 p.

ERDMAN, J. W. Soy protein and cardiovascular disease a statement for healthcare professionals from the Nutrition Committee of the AHA. **Circulation**, v. 102, p. 2555-2559, 2000.

FARIA, E. V.; YOTSUYANAGI, K. **Técnicas de análise sensorial**. Campinas: ITAL/LAFISE, 2002.

FELIS, G. E.; DELLAGLIO, F.; MIZZI, L.; TORRIANI S. Comparative sequence analysis of a recA gene fragment brings new evidence for a gänge in the taxonomy of the *Lactobacillus casei* group. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 51, n. 6, p. 2113-2117, 2001.

FERREIRA, C. L. L. F. Tecnologia para produtos lácteos funcionais: probióticos. In: PORTUGAL, J. A. B.; CASTRO, M. C. D.; SILVA, P. H. F. (Ed.). **O agronegócio do leite e os alimentos lácteos funcionais**. Juiz de Fora: EPAMIG – Centro Tecnológico – ILCT, 2001. p. 183-203.

FERREIRA, V. L. P.; ALMEIDA, T. C. A.; PETTINELLI, M. L. C. V.; SILVA, M. A. A. P.; CHAVES, J. B. P.; BARBOSA, E. M. M. **Análise sensorial: testes discriminativos e afetivos**. São Paulo: SBCTA, 2000. 127 p.

FERRERO, M.; CESENA, C.; MORELLI, L.; SCOLARI, G.; VESCOVO, M. Molecular characterization of *Lactobacillus casei* strains. **FEMS Microbiology Letters**, n. 140, v. 2-3, p. 215-219, 1996.

FONDEN, R.; MOGENSEN, G.; TANAKA, R.; SALMINEN, S. Efeito da cultura de produtos contendo diário sobre a microflora intestinal, nutrição e saúde humanas - conhecimento atual e perspectivas futuras. **Boletim 352**, Federação Internacional do Leite, IDF, Bruxelas, 2000.

FOOKS, L. J; GIBSON, G. R. Probiotics as modulators of the gut flora. **British Journal of Nutrition**, n. 88, p. S39–S49, 2002.

FORESTIER C.; DE CHAMPS, C.; VATOUX, C.; JOLY, B. Probiotic activities of *Lactobacillus casei* rhamnosus: in vitro adherence to intestinal cells and antimicrobial properties. **Research in Microbiology**, v. 152, n. 2, p.167-173, 2001.

FOX, P. F.; SINGH, T. K.; MCSWEENEY, P. L. H. Biogenesis of flavor compounds in cheese. In: MALIN, E. L.; TUNICK, M. H. (Eds.). **Chemistry of structure/function relationships in cheese**. London: Plenum Press, 1995. p. 59-98.

FRIEDMAN, M.; BRANDON, D. L. Nutritional and health benefits of soy proteins. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 49, p. 1069-1086, 2001.

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

FUHRMAN, B.; AVIRAM, M. Flavonoids protect from oxidation and attenuate atherosclerosis. **Current Opinion in Lipidology**, v. 12, n. 1, p. 41-48, 2001.

FULLER, R. Modulation of the intestinal microflora by probiotics. **Nestlé Nutrition Workshop series**, v. 42, p. 33-45, 1999.

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. 48 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira, 2010.

GAUDREAU, H.; CHAMPAGNE, C. P.; JELEN, P. The use of crude cellular extracts of *Lactobacillus delb ueckii* ssp. *bulgar icus* 11842 to stimulate growth of a probiotic *Lactobacillus rhamnosus* culture in milk. **Enzyme and Microbial Technology**, n. 36, p. 83-90, 2005.

GENOVESE, M. I.; LAJOLO, F. M. Isoflavones in soy-based foods consumed in Brazil: levels, distribution, and estimated intake. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 20, p. 5987-5993, 2002.

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

GRAJEK, W.; OLEJNIK, A.; SIP, A. Probiotics, prebiotics and antioxidants as functionalfoods. **Acta Biochimica Polonica**, v. 52, n. 3, p. 665-671, 2005

GRASTEN, S.; LIUKKONEN, K. H.; CHREVATIDIS, A.; EL-NEZAMI, H.; POUTANEN, K.; MYKKÄNEM, H. Effects of wheat pentosan and inulin on the metabolic activity of fecal microbiota and on bowel function in healthy humans. **Nutrition Research**, v. 23, p. 1503-1514, 2003.

HAMMES, W. P.; HERTEL, C. Research approaches for pre- and probiotics: challenges and outlook. **Food Research International**, v. 35, n. 2-3, p. 165-170, 2002.

HASLER, C. M. The cardiovascular effects of soy products. **Journal of Cardiovascular Nursing**, Hagerstown, v. 16, n. 4, p. 50-63, 2002.

HAULY, M. C. O.; FUCHS, R. H. B.; PRUDÊNCIO-FERREIRA, S. F. Suplementação de iogurte de soja com frutooligossacarídeos: características probióticas e aceitabilidade. **Revista Nutrição**, Campinas, v. 18, n. 5, p. 613-622, 2005.

HEENAN C. N.; ADAMS, M. C.; HOSKEN, R. W.; FLEET GH. Survival and sensory acceptability of probiotic microorganisms in a nonfermented frozen vegetarian dessert. **LWT - Food Sci Technol**, v. 37, n. 4, p. 461-466, 2004.

HEKMAT, S.; MCMAHON, D. Survival of lactobacillus acidophilus and bifidobacterium bifidum in ice cream for use as a probiotic food. **Journal of Dairy Science**, v. 75, p. 1415-1422, 1992.

HENDRICH, S.; MURPHY, P.A. **Isoflavones**: source and metabolism. In: Handbook of nutraceuticals and functional foods. Boca Raton: CRC Press, 2001. p. 55-72.

HERMAN, C.; ADLERCREUTZ, T.; GOLDIN, B. R.; GORBACH, S. L.; HOCKERSTEDT, K. A. V.; WATANABE, S.; HAMALAINEN, E. K.; MARKKANEN, M. H.; MAKELA, T. H.;

WAHALA, K. T.; HASE, T. A.; FOTSIS, T. Soybean phytoestrogen intake and cancer risk. **Journal of Nutrition**, v. 125, Supplement 3, p. 757S-770S, 1995.

HIRAKURI, M. H. Efeito da estiagem na viabilidade econômica da produção de soja no oeste do Paraná: um estudo de caso da safra 2008/2009. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 40, n. 2, p. 230-237, abr./jun. 2010.

HOLZAPFEL, W. H.; HABERER, P.; GEISEN, R.; BJÖRKROTH, J.; SCHILLINGER, U. Taxonomy and important features of probiotic microorganisms in food and nutrition. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 73, n. 2, p. 365S-373S, 2001.

HOLZAPFEL, W. H.; SCHILLINGER, U. Introduction to pre- and probiotics. **Food Research International**, v. 35, p. 109-116, 2002.

<http://www.ipardes.gov.br/modules/conteudo/conteudo.php?conteudo=98>. Acesso em: 10 maio 2011.

HUDAULT, S.; LIÉVIN, V.; BERNET-CAMARD, M. F.; SERVIN, A. L. Antagonistic activity exerted in vitro and in vivo by *Lactobacillus casei* (strain GG) against *Salmonella typhimurium* C5 infection. **Applied Environmental Microbiology**, v. 63, n. 2, p. 513-518, 1997.

HUI, E.; HENNING, S. M.; PARK, N.; HEBER, D.; GO, V. L. W. Genistein and Daidzein/Glycitein Content in Tofu. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 14, p. 199-206, 2001.

IDF. INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. **Detection and enumeration of Lactobacillus acidophilus**. Bull. Int. Dairy Fed., Brussels, n. 306, p. 23-33, 1999.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. Odair Zenebon, Neus Sadocco Pascuet e Paulo Tiglea (coordenadores) São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. p. 1020.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA ESTATÍSTICA - IBGE. Disponível em: <http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/agric/default.asp?t=2&z=t&o=11&u1=1&u2=1&u3=1&u4=1&u5=1&u6=1><http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/agric/default.asp?t=2&z=t&o=11&u1=1&u2=1&u3=1&u4=1&u5=1&u6=1>. Acesso em: 27 maio 2012.

INSTITUTO PARANAENSE DE DESENVOLVIMENTO ECONÔMICO E SOCIAL - IPARDES. **Desenvolvimento rural sustentável a partir da agroecologia e da agricultura orgânica: o caso do paraná**. Disponível em:

INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS (ICMSF). **Microorganisms in foods: their significance and methods enumeration**. Toronto: University of Toronto Press, 1978. v. 1, 434 p.

INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION (IDF). **General standard of identity for fermented milks**. Brussels: International Dairy Federation, 1992a. Standard n°. 163.

INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION (IDF). **General standard of identity for milk products obtained from fermented milks heat treated after fermentation**. Brussels: International Dairy Federation, 1992b. Standard n°. 164.

INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION (IDF). Yogurt: enumeration of characteristic microorganisms count technique at 37 °C. **Bulletin of the International Dairy Federation**, n. 117, p. 1-4, 1983.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION (ISO). **Sensory analysis: methodology evaluation of food products by method using scales**. International Standard - ISO 4121. Geneva: ISO, 1987, 7 p.

ITSARANUWAT, P.; AL-HADDAD K. S. H.; ROBINSON, R. K. The potential therapeutic benefits of consuming 'health-promoting' fermented dairy products: a brief update. **Journal of Dairy Technology**, v. 56, n. 4, p. 203-210, 2003.

JAYAGOPAL, V.; ALBERTAZZI, P.; KILPATRICK, E. S.; HOWARTH, E. M.; JENNINGS, P. E.; HEPBURN, D. A.; ATKIN, S. L. Beneficial effects of soy phytoestrogen intake in postmenopausal women with type 2 diabetes. **Diabetes Care**, v. 25, n. 10, p. 1709-1714, 2002.

JENKINS, D. J. A.; KENDALL, C. W. C.; D'COSTA, M. A.; JACKSON, C.; VIDGEN, E.; SINGER, W.; SILVERMAN, J. A.; KOUMBRIDIS, G.; HONEY, J.; VENKET, R. A.; FLESHNER, N.; KLOTZ, L. Soy consumption and phytoestrogens: effect on serum prostate specific antigen when blood lipids and oxidized low-density lipoprotein are reduced in hyperlipidemic men. **Journal of Urology**, v. 169, n. 2, p. 507-511, 2003.

KABOOSI, H. Antibacterial effects of probiotics isolated from yoghurts against some common bacterial pathogens. **African Journal of Microbiology Research**, v. 5, n. 25, p. 4363-4367, 2011.

KANDLER, O.; WEISS, E. N. Lactobacillus gênero. In: SNEATH, P. H. A.; MAIR, N. S.; SHARPE, M. E.; HOLT, J. G. (eds.). **Manual Bergey de bacteriologia sistemática**. Baltimore: Williams e Wilkins, 1986. v. 2. p. 1063-1065.

KENNEDY, A. R. The evidence for soybean products as cancer preventive agents. **American Institute of Nutrition**, v. 125, Supplement, p. 733s-743s, 1995.

KHURANA, H. K.; KANAWJIA, S. K. Recent trends in development of fermented milks. **Current Nutrition & Food Science**, v. 3, p. 91-108, 2007.

KNIGHT, D. C.; EDEN, J. A. A review of the clinical effects of phytoestrogens. **Obstetrics and Gynecology**, v. 87, p. 897-904, 1996.

KOMATSU, T. R.; BURITI, F. C. A.; SAAD, S. M. I. Inovação, persistência e criatividade superando barreiras no desenvolvimento de alimentos probióticos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. São Paulo, v. 44, n. 3, jul./set. 2008.

KOSIKOWSKI, F. V. **Queijos e leite fermentado**. Alimentos. 2. ed. Brooktondale, NY: Kosikowski e Assoc., 1982.

KOZAC, M.; SCAMAN, C. H. Unsupervised classification methods in food science: discussion and outlook. **Journal of the Food Science and Agriculture**, v. 88, n. 7, p. 1115-1117, 2008.

KURMAN, J. A.; RASIC, J. L. The health potential of products containing bifidobacteria. In: Robinson R. K. (ed.). **Therapeutic properties of functional milks**. London: Elsevier, 1991. p. 117-158.

KWON, B.; KIM, Y. B.; LEE, J.-H.; LEE, H. J.; CHUNG, D. K.; JI, G. E. Analysis of sugars and α -glycosidase activity during soymilk fermentation by bifidobacteria. **Food Science and Biotechnology**, v. 11, n. 4, p. 389-391, 2002.

LAMARTINIERE, C. A.; COTRONEO, M. S.; FRITZ W. A.; WANG, J.; MENTOR-MARCEL, R.; ELGAVISH, A. Genistein chemoprevention: timing and mechanisms of action in murine mammary and prostate. **Journal of Nutrition**, v. 132, n. 3, p. 552S-558S, 2002.

LAMMERS, K. M.; BRIGIDI, P.; VITALLI, B.; GIONCHETTI, P.; RIZELLO, F.; CARAMELLI, E.; MATTEUZZI, D.; CAMPIERI, M. Immunomodulatory effects of probiotic bacteria DNA: IL-1 and IL-10 response in human peripheral blood mononuclear cells. **FEMS Immunology and Medical Microbiology**, v. 38, p. 165-172, 2003.

LIMA, D. M.; COLUGNATI, F. A. B.; PADOVANI, R. M.; RODRIGUEZ-AMAYA, D.; SALAY, E.; GALEAZZI, M. A. M. **Tabela brasileira de composição de alimentos**. NEPA-UNICAMP. Versão II. Campinas: NEPA/UNICAMP, 2006. 105 p.

LOPES, C. G. **Alimentos Funcionais**. Parte III. 4 de novembro de 2002. Disponível em: <http://www.acesa.com/viver/arquivo/nutricao/2002/11/04-Cristina>. Acesso em: 28 fev. 2011.

LOSADA, M. A.; OLLEROS, T. Towards a healthier diet for the colon: the influence of fructooligosaccharides and lactobacilli on intestinal health. **Nutrition Research**, v. 22, p. 71-84, 2002.

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

MADDOX, D. A.; ALAVI, F. K.; SILBERNICK, E. M.; ZAWADA Jr, E. W. Protective effects of a soy diet in preventing obesitylinked renal disease. **Kidney International**, v. 61, n. 1, p. 96-104, 2002.

MAHAN, L. K.; ESCOTT-STUMP S. **Alimentos, nutrição e dietoterapia**. 12 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010.

MARANHÃO, M. F. C. Benefícios da soja para o coração e a saúde. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE OS BENEFÍCIOS DA SOJA PARA A SAÚDE HUMANA, 1., 2001, Londrina. **Anais...** Londrina: Embrapa Soja, 2001. p. 21-23. (Embrapa Soja. Circular, 169).

MARSHALL, V. M.; COLI, W. M. Threonine aldolase and alcohol dehydrogenase activities in *Lactobacillus bulgaricus* and *Lactobacillus acidophilus* and their contribution to flavour production in fermented milks. **Journal of Dairy Research**, v. 50, p.375-379, 1983.

MARTIN, C. The elixir of life. **Chemistry in Britain**, v. 8, p. 56-58, 1996.

MATHUR, S.; SINGH, M. Antibiotic resistance in food lactic acid bacteria - a review. **International Journal of Food Microbiology**, n. 105, p. 281-295, 2005.

MATTAR, R.; MAZO, D. F. C. Intolerância à lactose: mudança de paradigmas com a biologia molecular. **Revista Associação Médica Brasileira**, v. 56, n. 2, p. 230-236, 2010.

MEILGAARD, M.; CIVILLE, G. V.; CARR, B. T. **Sensory evaluation techniques**. 3. ed. EUA: CRC Press, Inc., Boca Raton, FL, 1999.387 p.

MELLO, E. M. **Obtenção e caracterização de concentrado protéico de soro de queijo por ultrafiltração**. 1989. 118 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - UNICAMP, Campinas, 1989.

MESSINA, M. J.; PERSKY, V.; SETCHELL, K. D.; BARNES, S. Soy intake and cancer risk: a review of the *in vitro* and *in vivo* data. **Nutrition and Cancer**, v. 21, p. 113-121, 1994.

MICANEL, N.; HAYNES, I. N.; PALYNE, M. J. **Viability of probiotic cultures in commercial Australian yoghurts**. The Australian Journal of Dairy Technology, v.52, p. 24-27, 1997.

MING, P. **Proteínas de soro em alimentos funcionais**. Ingredientes inovadores funcionais: tendências. : US Dairy Export Council, 2002.

MINIM, V. P. R. **Análise sensorial**. Estudos com consumidores. Viçosa: UFV, 2006.

MITAL, B. K.; GARG, S. K. Acidophilus milk products: manufacture and therapeutics. **Food Reviews International**, v. 8, p. 347-389, 1992.

MODESTA, R. C. D.; ANTONIASSI, R.; DELIZA, D.; FREITAS, S. C.; FELBERG, I. Soy and Brazil nut beverage: processing, composition, sensory, and color evaluation. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 29, n. 3, p. 609-617, 2009.

MOGENSEN, G.; ROWLAND, I.; MIDTVEDT, T.; FONDEN, R. Functional aspects of pro- and prebiotics: A literature review on immune modulation and influence on cancer. **Microbial Ecology in Health and Disease**, v. 12, n. 2, p. 40-44, 2000.

MORETTI, R. H.; GUTIERREZ, R. H. Produção de soja em escala semi-industrial. In: MIYASAKA, S.; MEDINA, J. C.(eds). **A soja no Brasil**. Campinas: ITAL, 1981. p. 979-986.

MUSTAPHA, A.; JIANG, T.; SAVAIANO, D. A. Improvement of lactose digestion by humans following ingestion of unfermented acidophilus milk: influence of bile sensitivity, lactose transport, and acid tolerance of *Lactobacillus acidophilus*. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 80, n. 8, p. 1537-1545, 1997.

NAGATA, C.; TAKATSUKA, N.; KAWAKAMI, N.; SHIMIZU, H. Soy products intake and hot flashes in Japanese women: results from a community-based prospective study. **American Journal of Epidemiology**, v. 153, p. 790-793, 2001.

NAGPAL, R. YADAV, H.; PUNIYA, A. K.; SINGH, K.; JAIN, S.; MAROTTA, F. Potential of probiotics and prebiotics for symbiotic functional dairy foods. **International Journal of Probiotics and Prebiotics**, v. 2, p. 75-84, 2007.

NAGPAL, R.; BEHARE, P. V.; KUMAR, M.; MOHANIA, D.; YADAV, M.; JAIN, S.; MENON, S.; PARKASH, O.; MAROTTA, F.; MINELLI, E.; HENRY, C. J. K.; YADAV, H. Milk, milk products and disease free health: an updated overview. **Critical Reviews on Food Science and Nutrition**, v. 52, n. 4, p. 321-333, 2012.

NAGPAL, R.; KUMAR, A.; ARORA, S. In-vitro probiotic potential of lactobacilli from indigenous milk products. **International Journal of Probiotics and Prebiotics**, v. 5, n. 2, p. 103-110, 2010.

NESTEL, P. Isoflavones: their effects on cardiovascular risk and functions. **Current Opinions on Lipidology**, v. 14, n. 1, p. 3-8, 2003.

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, M. N.; SODINI, I.; REMEUF, F.; CORRIEU, G. Effect of milk supplementation and culture composition on acidification, textural properties and microbiological stability of fermented milks containing probiotic bacteria. **International Dairy Journal**, v. 11, p. 935–942, 2001.

OPPENHEIMER, S. J.; BULL, R.; THURNHAM, D. I. Riboflavin deficiency in Madang infants. **Papua New Guinea Medical Journal**, v. 26, p. 17-20, 1983.

OSTLIE, H. M.; HELLAND, M. H.; NARVHUS, J. A. Growth and metabolism of selected strains of probiotic bacteria in milk. **International Journal of Food Microbiology**, n. 87, p. 17-27, 2003.

OUWEHAND, A. C.; KIRJAVAINEN, P. V.; SHORTT, C.; SALMINEN, S. Probiotics: mechanisms and established effects. **Int Dairy J.** v. 9, n. 1, p. 43-52, 1999.

PACHECO, M. T. B.; SGARBIERI, V. C. Alimentos Funcionais: conceituação e importância na saúde humana. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE OS BENEFÍCIOS DA SOJA PARA A SAÚDE HUMANA, 1., 2001, Londrina, 2001. **Anais...** Londrina: Embrapa Soja, 2001. p. 37-40.

PARK, Y. W.; JUÁREZ, M.; RAMOS, M.; HAENLEIN, G. F. W. Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk. **Small Ruminant Research**, v. 68, n. 1-2, p. 88-113, 2007.

PENNA, C. *Lactobacillus acidophilus* e a indústria de laticínios. **Revista Leite & Derivados**, n. 66, p. 17-23, set./out. 2002.

PEREIRA, M. A. G. **Efeito do teor de lactose e do tipo de cultura na Acidificação e pós-acidificação de iogurtes**. 2002. 86 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2002.

PUUPPONEN-PIMIÄ, R.; AURA A. M.; OKSMAN-CALDENTY K. M.; MYLLARINEN P.; SAARELA M.; MATTILA-SANDHOLM T.; POUTANEN K. Development of functional ingredients for gut health. **Trends in Food Science & Technology**, v. 13, n. 1, p. 3-11, 2002.

RANI, B.; KHETARPAUL, N. Probiotic fermented food mixtures: possible applications in clinical anti-diarrhoea usage. **Nutrition Health**, v. 12, n. 2, p. 97-105, 1998.

RASTALL, R.; MAITIN, V. Prebiotics and symbiotics: towards the next generation. **Current opinion in biotechnology**, v. 13, p. 490-496, 2002.

RIBEIRO, E. P.; SIMÕES, L. G.; JURKIEWICZ, C. H. Desenvolvimento de queijo minas frescal adicionado de *Lactobacillus acidophilus* produzido a partir de retentados de ultrafiltração. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 2, n. 1, p. 19-23, 2009.

ROBERFROID, M. B. Concept in functional foods: the case of inulin and oligofructose. **Journal of Nutrition**, v. 129, p. 1398-1401, 1999.

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

ROBINSON, R. K. (ed.). **Dairy microbiology handbook**. 3. ed. New York: Wiley Interscience, 2002. 765 p.

ROBINSON, R. K. **Therapeutic properties of fermented milks**. New York: Elsevier, 1991. 185 p.

RYBKA, S.; KAILASAPATHY, K. The survival of culture bacteria in fresh and freeze-dried A B yoghurts. **The Australian Journal of Dairy Technology**, v. 5, n. 2, p. 51-57, 1995.

SAKHARE, P. Z.; NARASIMHA, R. D. Microbial profiles during lactic fermentation of meat by combined starter cultures at high temperatures. **Food Control**, v. 14, n. 1, p. 1-5, 2003.

SAMONA, A.; ROBINSON, R. K. Enumeration of bifidobacteria in dairy products. **Journal of the Society of Dairy Technology**, v. 44, n. 3, p. 64-66, 1991.

SAXELIN, M. Lactobacillus GG—a human probiotic strain with thorough clinical documentation. **Food Reviews International**, v. 13, p. 293–313, 1997.

SCHWENNINGER, S. M.; VON AH, U.; NIEDER, B.; TEUBER, M.; MEILE L. Detection of antifungal properties in *Lactobacillus paracasei* subsp paracasei SM20, SM29, and SM63 and molecular typing of the strains. **Journal of Food Protection**, v. 68, n. 1, p. 111-119, 2005.

SHORTT, C. The probiotic century: historical and current perspectives. **Trends Food Science and Technology**, v. 10, n. 12, p. 411-417, 1999.

SOUZA S. L.; BORONI A. P.M.; PINHEIRO-SANT'ANA H. M.; ALENCAR, E.R., Conteúdo de carotenos e provitamina A em frutas comercializadas em Viçosa, Estado de Minas Gerais, **ACTA Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 26, n. 4, p. 453-459, 2004.

SOUZA, F. S.; COCCO, R. R.; SARNI, R. O. S.; MALLOZI, M. C.; SOLÉ, D. Prebióticos, probióticos e simbióticos na prevenção e tratamento das doenças alérgicas. **Revista Paulista de Pediatria**, v. 28, n. 1, p. 86-97, 2010.

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.

TAVARES, M. M. **Políticas públicas e pequenos municípios**: uma avaliação do Estado do Paraná. 2006. 218 f. Dissertação (Mestrado em Geografia) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.

TEIXEIRA, E., MEINERT, E., BARBETTA, P.A. **Análise sensorial dos Alimentos**, Florianópolis: Ed da UFSC, 1987. 182 p.

THAMER, K. G.; PENNA, A. L. B. Caracterização de bebidas lácteas funcionais fermentadas por probióticos e acrescidas de prebiótico. **Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 3, p. 589-595, 2006.

TIHOLE, F. Possible treatment of AIDS patients with live lactobacteria. **Medical Hypothesis**, v. 26, n. 1, p. 85-88, 1988.

TRADECOS. **Toda la fruta**. 2007. Disponível em: [http:// www.tradecos.com.ar](http://www.tradecos.com.ar). Acesso em: 22 abr. 2011.

TSANGALIS, D.; SHAH, N. P. Metabolism of oligosaccharides and aldehydes and production of organic acid in soymilk by probiotic bifidobacteria. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 39, p. 541–554, 2004.

UMBELINO, D. C.; ROSSI, E. A.; Aspectos tecnológicos e sensoriais do “iogurte” de soja enriquecido com cálcio. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 21, p. 276-280, 2001.

UNITED STATE DEPARTMENT OF AGRICULTURE – USDA. Agricultural Research Service. **USDA Nutrient Database for Standard Reference** 2006. Disponível em: <http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp>. Acesso em: 15 mar. 2012.

VÁSQUEZ, A.; MOLIN, G.; PETTERSSON, B.; ANTONSSON, M.; AHRNE, S. DNA-based classification and sequence heterogeneities in the 16S rRNA genes of *Lactobacillus casei/paracasei* and related species. **Systematic and Applied Microbiology**, n. 28, v. 5, p. 430-441, 2005.

VINDEROLA, C. G.; PROSELLO, W.; GHIBERTO, D.; REINHEIMER, J. A. Viability of probiotic (*Bifidobacterium*, *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei*) and nonprobiotic microflora in Argentinian cheese. **Journal of Dairy Science**, v. 83, p. 1905-1911, 2000.

VOGEL, R. F.; POHLE, B. S.; TICHACZEK, P. S.; HAMMES, W. P. The competitive advantage of *Lactobacillus curvatus* LTH1174 in sausage fermentations is caused by formation of curvacina A. **Systematic and Applied Microbiology**, v. 16, p. 457-462, 1993.

VRESE M.; SCHREZENMEIR, J. Probiotics, prebiotics, and synbiotics. **Advances in Biochemistry Engineering and Biotechnology**, n. 111, p. 1-66, 2008.

WALZEM, R. L.; DILLARD, C. J.; GERMAN, J. B. Whey components: millennia of evolution create functionalities for mammalian nutrition: what we know and what we may be overlooking. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Philadelphia, v. 42, n. 4, p. 353-375, 2002.

WALZEM, R. Propriedades benéficas à saúde das proteínas de soro e frações de soro. **Revista U. S. Dairy**. 1999. Disponível em: http://www.abenuutri.org/Yahoo_site_admin/assets/docs/HealthWheyProteinsandFractionsPortuguese111133011.116152302.pdf. Acesso em: 13 out. 2011.

WILDMAN, R. E. C. (Ed.). **Handbook of nutraceuticals and functional foods**. Boca Raton: CRC Press, 2001. 542 p.

YEBRA, M. J.; COLL-MARQUE´S, J. M.; SANFÉLIX-HAYWOOD, N. Role of a-phosphoglucomutase and phosphoglucoase isomerase activities at the branching point between sugar catabolism and anabolism in *Lactobacillus casei*. **Journal of Applied Microbiology**, v. 111, p. 433-442, 2011.

ANEXOS

ANEXO A – TESTES DE ACEITAÇÃO

Teste da Escala Hedônica

Nome: _____ Turma: _____ Data: _____ Idade: _____ Peso: _____ Altura: _____

Instruções: Deguste cuidadosamente cada uma das amostras de bebida fermentada de soja e utilize a escala abaixo para expressar o quanto você gostou ou desgostou do produto.

- 9= gostei muitíssimo
- 8= gostei muito
- 7= gostei regularmente
- 6= gostei ligeiramente
- 5= indiferente
- 4= desgostei ligeiramente
- 3= desgostei regularmente
- 2= desgostei muito
- 1= desgostei muitíssimo

AMOSTRAS	AROMA	SABOR DE SOJA	SABOR DE GOIABA	COR	CONSISTÊNCIA	DOÇURA	IMPRESSÃO GLOBAL
365							
590							
210							
430							

Observações: _____

Teste de Escala de Ação

Instruções: Você está recebendo amostras de 4 formulações diferentes de um novo produto que será introduzido no mercado. Primeiro, observe se o produto é “conhecido” ou “desconhecido” e, em seguida, deguste cuidadosamente cada uma das amostras, avaliando de acordo com a seguinte escala:

Produto conhecido () **Produto não conhecido ()**

- Eu beberia isto, em cada oportunidade que tivesse 9
- Eu beberia isto, muito freqüentemente 8
- Eu beberia isto, freqüentemente 7
- Eu beberia isto, agora e depois 6
- Eu beberia isto, se possível, mas não sairia da minha rotina 5
- Eu não gosto, mas se fosse preciso, beberia 4
- Eu beberia isto, raramente 3
- Eu beberia isto, se não tivesse outra escolha 2
- Eu beberia isto, se fosse forçado 1

AMOSTRA	VALOR ATRIBUÍDO
247	
183	
906	
508	

Observações: _____

ANEXO B – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA**PARECER 006/2012 – CEP/FAG**

O comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade Assis Gurgacz, reunido em sessão ordinária, no dia 25/01/2012, ata 01/12 considera **APROVADO** o projeto abaixo especificado.

PROCOLO: 164/2011

PESQUISADOR: Henry Charles Albert David Naidoo Terroso de Mendonça Brandão

PROJETO: Utilização de extrato hidrossolúvel de soja na elaboração de bebida fermentada simbiótica

Em atendimento à Resolução 196/96, deverá ser encaminhado ao CEP para acompanhamento da pesquisa o relatório final e a publicação de seus resultados, até o dia 30/04/2012, bem como a comunicação de qualquer intercorrência, efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo (Res. CNS Item V.4). É papel de o pesquisador assegurar medidas imediatas adequadas frente a evento adverso grave ocorrido. Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas. O pesquisador deve desenvolver a pesquisa conforme delineada no protocolo aprovado e descontinuar o estudo somente após análise das razões da descontinuidade pelo CEP que o aprovou (Res. CNS Item III.3.2), aguardando seu parecer, exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao sujeito participante ou quando constatar a superioridade de regime oferecido a um dos grupos da pesquisa (Item V.3) que requeiram ação imediata.

Cascavel, 25 de Janeiro de 2012.

Fulvio Natercio Feiber
Coordenador do Comitê de Ética em
Pesquisa com Seres Humanos
FAG - Faculdade Assis Gurgacz

FULVIO NATERCIO FEIBER

Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos