

**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO - CAMPUS RIO VERDE
DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**

**DESENVOLVIMENTO DE BEBIDA SIMBIÓTICA A PARTIR DO EXTRATO
HIDROSSOLÚVEL DE SOJA FERMENTADA COM BIOMASSA DE QUEFIR
E ADICIONADO DE INULINA**

Discente: Daiane Costa dos Santos

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Mariana Buranelo Egea

Rio Verde - GO

Maio – 2017

**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO - CAMPUS RIO VERDE
DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**

**DESENVOLVIMENTO DE BEBIDA SIMBIÓTICA A PARTIR DO EXTRATO
HIDROSSOLÚVEL DE SOJA FERMENTADA COM BIOMASSA DE QUEFIR
E ADICIONADO DE INULINA**

Discente: Daiane Costa dos Santos

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Mariana Buranelo Egea

Dissertação apresentada, como parte das exigências para a obtenção do título de MESTRE EM TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, no Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Campus Rio Verde.

Rio Verde - GO
Maio – 2017

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida e por me dar forças para continuar.

À minha orientadora Professora Doutora Mariana Buranelo Egea, primeiramente por ter me aceitado sem mesmo me conhecer, pelo incentivo, por seu apoio e amizade, além da sua dedicação, competência, paciência e revisões fundamentais para conclusão deste trabalho.

A todos os professores do mestrado. que de alguma forma contribuíram para minha formação.

Aos meus colegas do Mestrado, e Josemar Oliveira, e as alunas de iniciação científica que contribuíram em parte deste projeto.

Por último, quero agradecer à minha família pelo apoio incondicional que me deram especialmente minhas irmãs Dáffiny e Denise, pelas traduções durante todo este percurso.

A todos, o meu sincero e profundo, muito obrigada!

BIOGRAFIA DA AUTORA

Daiane Costa dos Santos nasceu em Rio Verde, Goiás, filha de Ivo Diniz dos Santos e Valdiva Paulo Costa.

Durante o ensino médio estudou no Centro Federal de Educação Tecnológica de Rio Verde, atual Instituto Federal Goiano, matriculou-se no curso Técnico em Alimentos, concluído no ano de 2008. cursou a Faculdade de Nutrição na FESURV, atual Universidade de Rio Verde.

Buscando aprimoramento profissional cursou Pós-graduação em Nutrição Pediátrica Escolar e Adolescente pela Faculdade Estácio de SÁ em Brasília, concluindo em dezembro de 2014, em 2015 iniciou no mestrado em Tecnologia de Alimentos com conclusão em maio de 2017.

ÍNDICE

	Página
1. INTRODUÇÃO.....	12
1.1 Prebióticos, probióticos e simbióticos.....	12
1.2 Quefir.....	14
1.3 Soja.....	16
1.4 Bebida fermentada de soja.....	18
Referências bibliográficas.....	21
2. OBJETIVO.....	27
2.1 Objetivo geral.....	27
2.2 Objetivos específicos.....	27
CAPÍTULO 1- Desenvolvimento de bebida simbiótica a partir de extrato hidrossolúvel de soja utilizando biomassa de quefir e inulina.....	28
1. INTRODUÇÃO.....	29
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	31
2.1 Material.....	31
2.2 Estudos de variáveis de tempo de fermentação, quantidade de biomassa de quefir e sólidos solúveis do EHS.....	32
2.3 Estudo do armazenamento do EHS fermentado durante 28 dias a 7°C.....	33
2.4 Análises químicas das bebidas fermentadas.....	34
2.5 Análises físicas das bebidas fermentadas.....	34
2.6 Parâmetros microbiológicos das bebidas fermentadas.....	35
2.7 Análise sensorial das bebidas fermentadas.....	35
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	37
3.1 <i>Screening</i> de tempo de fermentação, quantidade de biomassa e sólidos solúveis do EHS.....	37
3.2 Avaliações das características físico-químicas das bebidas fermentadas durante o armazenamento.....	43
3.3 Viabilidade microbiológica das bebidas fermentadas durante o	

armazenamento.....	48
3.4 Avaliação sensorial do EHS fermentado por biomassa de quefir.....	51
3.5 Composição proximal e mineral das bebidas fermentadas.....	55
Conclusões.....	58
Referências.....	59
Anexo A - Termo de consentimento Livre e esclarecido –TCLE.....	65
Anexo B - Questionário de recrutamento de julgadores para análise sensorial.....	68

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1- Etapas da produção de bebida fermentada a partir de EHS utilizando biomassa de quefir.....	32
Figura 2- Diagrama de Pareto para as variáveis pH (A), acidez (B), teor de sólidos solúveis (C) e sedimentação (D) do EHS fermentado utilizando biomassa de quefir.....	39
Figura 3- Gráficos de superfície de resposta para a variável dependente pH do EHS fermentado utilizando biomassa de quefir em que se fixou o teor de sólidos solúveis do EHS nas variáveis codificadas -1 (6°Brix) (A), (8 horas) (D); 0 (8°Brix) (B), (12 horas) (E); e +1 (10°Brix) (C), (16 horas) (F).....	40
Figura 4- Gráficos de superfície de resposta para a variável dependente sedimentação do EHS fermentado utilizando biomassa de quefir em que se fixou o teor de sólidos solúveis do EHS nas variáveis codificadas -1 (6°Brix) (A), (4 gramas) (D); 0 (8°Brix) (B), (6 gramas) (E); e +1 (10°Brix) (C), (8 gramas) (F).....	41
Figura 5- Otimização do ensaio experimental desejável para o EHS fermentado utilizando biomassa de quefir.....	42
Figura 6- Análises de pH (traço contínuo) e acidez titulável total (mg ácido láctico por 100 mL de bebida fermentada) (traço pontilhado) das bebidas fermentadas.....	43
Figura 7- Sólidos solúveis totais (°Brix) das bebidas fermentadas.....	45
Figura 8- Bebidas fermentadas de extrato hidrossolúvel de soja utilizando biomassa de quefir controle (1) e inulina (2) durante o armazenamento a 7°C durante 28 dias.....	48
Figura 9- Frequência de consumo de soja (A), frequência de bebidas funcionais (B), frequência de consumo de EHS (C) e frequência de consumo de bebida fermentada à base de soja (D).....	52

Figura 10-	Frequência das notas atribuídas para a textura das bebidas fermentadas.....	53
Figura 11-	Frequência das notas atribuídas para os atributos aparência (A) e sabor (B) das bebidas fermentadas.....	54
Figura 12-	Frequência das notas atribuídas para a intenção de compra das bebidas fermentadas.....	55

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1- Variáveis codificadas e decodificadas da produção de EHS fermentado utilizando biomassa de quefir.....	33
Tabela 2- Análises de pH, acidez (mg ácido láctico por 100 mL de bebida fermentada), teor de sólidos solúveis (SS) e percentual de sedimentação (%) do EHS fermentado.....	38
Tabela 3- Análises cromática das bebidas fermentadas.....	45
Tabela 4. Firmeza (N), sedimentação (%) e sinérese (ml. 100g ⁻¹) das bebidas fermentadas.....	46
Tabela 5- Viabilidade dos gêneros <i>Lactobacillus</i> , <i>Lactococous</i> e leveduras das bebidas fermentadas.....	49
Tabela 6. Composição proximal das formulações das bebidas fermentadas	56
Tabela 7- Composição Mineral das formulações das bebidas fermentadas	57

RESUMO

SANTOS, D.C. Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde – GO, maio de 2017. **Desenvolvimento de bebida simbiótica a partir do extrato hidrossolúvel de soja fermentado com biomassa de quefir e adicionado de inulina.** Orientador (a): Mariana Buranelo Egea, Coorientadores (as): Katiuchia Pereira Takeuchi, Mayra Conceição Martins Peixoto.

A soja é um substituinte muito comum para consumidores que apresentam alguma restrição alimentar. A fermentação do extrato hidrossolúvel de soja (EHS) por bactérias probióticas promove características sensoriais de melhor aceitabilidade e confere benefícios fisiológicos ao organismo. O objetivo deste trabalho foi desenvolver um produto de soja fermentado com biomassa de quefir e adicionado de inulina. Inicialmente, foi avaliado o uso de diferentes quantidades de biomassa de quefir (4, 6 e 8 g.100 ml⁻¹), teor de sólidos solúveis totais (SST) do extrato hidrossolúvel de soja (6, 8 e 10 °Brix) e tempo de fermentação (8, 12 e 16 horas) para a escolha de um ensaio com pH maior que 4,5, menor teor de SST que indicaria maior consumo de substrato pela biomassa e menor percentual de sedimentação, fator que afetaria a aparência global do produto. A bebida fermentada foi produzida a partir de EHS com SST de 9° Brix, 4g:100ml (quefir:EHS) biomassa de quefir e 12 horas à 25°C. Controlou-se a vida de prateleira da bebida durante 28 dias de armazenamento (tempos 0, 7, 14, 21 e 28 dias) a 7°C em BOD em dois tratamentos: (A) tratamento controle e (B) tratamento com adição de 3,5% (m/v) de inulina. A estabilidade da bebida fermentada foi avaliada por meio análises de pH, acidez, SST, cor, firmeza, sinérese, sedimentação e contagens de células viáveis para *Lactotococcus*, *Lactobacillus* e leveduras. Foi possível perceber que durante o processo de fermentação houve consumo de SST e, associado ao aumento na produção de ácido, demonstrado pelo baixo pH e alto valor de acidez. A bebida fermentada apresentou característica de cor levemente amarelada, com valores positivos na coordenada b*. A firmeza e a sinérese das bebidas fermentadas foram maior quando a inulina foi utilizada. Por outro lado, o uso da inulina diminuiu a sedimentação nas bebidas. O desenvolvimento e manutenção da população microbiana na bebida fermentada das formulações mostrou que este substrato é excelente para o cultivo de bactérias probióticas já que em qualquer tempo a contagem foi maior que 10⁷ UFC. mL⁻¹. Após 14 dias houve decréscimo significativo para a maioria dos grupos de micro-organismos que compõe a biomassa de quefir e por isso, optou-se por delimitar este tempo como o tempo máximo de durabilidade para a bebida fermentada. A bebida mostrou-se de baixo valor energético para inulina e controle (33 e 44 kcal) ferro (2,31-2,40) e zinco (1,16-1,23). A inulina adicionada à bebida fermentada aumentou o teor de SST da bebida e foi eficiente na manutenção dos micro-organismos e contribuiu com a melhor aceitabilidade.

PALAVRAS – CHAVES: kefir, tecnologia, alimento saudável, fibra, bebida funcional

ABSTRACT

SANTOS, D.C. Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde – GO, May of 2017. **Development of a symbiotic beverage from the water-soluble extract of fermented soybeans with kefir biomass and added inulin.** Advisor: Mariana Buranelo Egea, Co-advisor's: Katiuchia Pereira Takeuchi, Mayra Conceição Martins Peixoto.

Soy is a very common substitute for consumers with food restriction. The fermentation of the soybean water soluble extract (EHS) by probiotic bacteria promotes sensorial characteristics of better acceptability and confers physiological benefits to the organism. The objective of this work was to develop a soy product fermented with kefir biomass and added inulin. Initially, it was evaluated the use of different amounts of kefir biomass (4, 6 and 8 g.100 ml⁻¹), total soluble solids content (TSS) of the water soluble soybean extract (6, 8 and 10 ° Brix) and time (8, 12 and 16 hours) for the choice of an assay with a pH higher than 4.5, lower SST content that would indicate a higher biomass substrate consumption and a lower percentage of sedimentation, a factor that would affect the overall appearance of the product. The fermented beverage was produced from EHS with SST of 9° Brix, 4g:100ml (kefir: EHS) of kefir biomass and 12 hours at 25°C. The shelf life of the beverage was controlled for 28 days of storage (times 0, 7, 14, 21 and 28 days) at 7 °C in BOD in two treatments: (A) control treatment and (B) treatment with addition of 3.5% (m/v) inulin. The stability of the fermented beverage was evaluated through pH, acidity, SST, color, firmness, syneresis, sedimentation and viable cell counts for *Lactotococcus*, *Lactobacillus* and yeasts. It was possible to observe that during the fermentation process there was consumption of TSS and, associated to the increase in acid production, demonstrated by the low pH and high acid value. The fermented beverage had a slightly yellowish color characteristic, with positive values in the b* coordinate. Firmness and syneresis of fermented beverages was higher when inulin was used. On the other hand, the use of inulin decreased sedimentation in beverages. The development and maintenance of the microbial population in the fermented beverage of the formulations showed that this substrate is excellent for the cultivation of probiotic bacteria since at any time the count was greater than 10⁷ CFU.mL⁻¹. After 14 days there was a significant decrease for most of the groups of microorganisms that make up the kefir biomass and therefore, it was decided to delimit this time as the maximum durability time for the fermented beverage. The beverage was of low energetic value for inulin and control (33 and 44 kcal) iron (2.31-2.40) and zinc (1.16-1.23). Inulin added to the fermented beverage increased the SST content of the beverage and was efficient in maintaining the microorganisms and contributed to the better acceptability.

KEY WORDS: kefir, technology, healthy food, fiber, functional drink

INTRODUÇÃO

1.1 Prebióticos, probióticos e simbióticos

O termo “alimentos funcionais” foi primeiramente introduzido no Japão em meados dos anos 1980 e se refere aos alimentos que além de apresentarem nutrientes, contêm ingredientes que auxiliam funções específicas do corpo. Eles contêm em sua composição compostos bioativos (substâncias capazes de modular respostas metabólicas no indivíduo, e resulta em maior proteção e estímulo à saúde) e ao ser adicionado a dieta habitual desencadeia processos bioquímicos e fisiológicos (SILVEIRA et al., 2009; MORAES, COLLA, 2006). Também é conhecido por proporcionar nutrição básica fornecendo nutrientes que contribuam com valor nutricional.

É indiscutível que a alimentação é um dos fatores que contribui para o aparecimento de doenças crônico-degenerativas no ser humano, e elas são a principal causa de mortalidade em adultos. É consenso que modificações no comportamento alimentar se impõem para prevenir doenças relacionadas à alimentação e promover a saúde do indivíduo (CARVALHO et al., 2009). Estudos epidemiológicos mostram que o aumento do consumo de alimentos de origem vegetal influencia positivamente à saúde, enquanto estudos *in vitro* e *in vivo* elucidam os mecanismos pelos quais compostos bioativos, não nutrientes, presentes nos alimentos, atuam na manutenção da saúde e na redução do risco de doenças. Segundo um estudo feito por Bastos et al., (2009) a modulação da expressão de genes que codificam proteínas envolvidas em vias de sinalização celular ativadas em Doenças Crônicas Não Transmissíveis (DCNT) é um dos mecanismos de ação dos compostos bioativos, sugerindo que estes possam ser essenciais à manutenção da saúde. Desta forma, a ênfase na busca por alimentos que contribuam para a obtenção da saúde adequada tem aumentado significativamente em todo o mundo. Na ciência da nutrição há grande interesse na modulação dietética no intestino humano. Estudos têm sido realizados há muitos anos em seres humanos

envolvendo resultados positivos à fermentação intestinal utilizando probióticos (MANNING et al., 2004).

Os probióticos são micro-organismos vivos (bactérias e/ou leveduras) que fornecem efeitos benéficos quando administrados em quantidades adequadas, contribuem melhorando o sabor do produto final além de produzirem substâncias antimicrobianas. As principais bactérias empregadas como suplementos em alimentos funcionais probióticos são as pertencentes aos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*.

Os probióticos podem ainda reduzir os sintomas de intolerância à lactose, aumentar a resistência intestinal a doenças, inibir a proliferação de células de câncer, modular a concentração de colesterol no plasma, melhorar as funções digestivas, e estimular o sistema imunológico. Por outro lado, os prebióticos são ingredientes alimentares que podem ser utilizados para aumentar o crescimento de probióticos. Na soja, oligossacarídeos são também considerados prebióticos e os mais comuns são rafinose, estaquiose e verbascose (AL-SHERAJI et al., 2013). Um estudo recente revelou mais um benefício em relação ao uso de prebióticos e sua ação terapêutica contra diversas doenças neurológicas. O seu impacto positivo na saúde do intestino é amplamente reconhecido (SAAD et al., 2006; SANTOS et al., 2011).

Os micro-organismos específicos devem ser viáveis, ativos e abundantes no produto final durante seu prazo de validade com a contagem mínima de 10^7 (UFC/g) de bactérias lácticas totais e de 10^4 (UFC/g) de leveduras específicas e de 0,5 a 1,5 de etanol (% v/m) (BRASIL, 2007).

Dados recentes sugeriram que a microbiota intestinal pode ter um papel importante na progressão e desenvolvimento de Diabetes *mellitus* tipo 2 (DM 2). Foi relatado que quando o equilíbrio da microbiota intestinal (em massa), o nível de endotoxina metabólica aumenta e pode provocar inflamação crônica, de baixo grau. A liberação de citocinas inflamatórias pode causar o estresse oxidativo, e em última análise, levar a destruição de células beta no pâncreas. O consumo de próbióticos que promove o aumento da quantidade de bactérias benéficas na flora intestinal poderia, por sua vez reduzir a permeabilidade intestinal no sentido dos lipopolissacarídeos (LPS) produzidos por micro-organismos intestinais insalubres e totalmente atenuando de resposta inflamatórias. Como tal, a modulação da microbiota intestinal através intervenções dietéticas (por exemplo ingestão de probióticos) pode ser útil na prevenção e controle de distúrbios metabólicos inflamatórios incluindo DM2 (SAMAH et al., 2016; TEITELBAUM et al., 2002).

O termo prebiótico foi introduzido por Gibson e Roberfroid (1995), e foi definido como sendo um ingrediente alimentar não digerível. Constituídos por carboidratos cuja composição varia pelo tamanho da cadeia molecular, e são encontrados em cebola, chicória, alho, alcachofra, cereais, aspargos, raízes de almeirão, beterraba, banana, trigo, etc. As fibras são substratos de crescimento dos microorganismos dos intestinos, não são digeridos no intestino delgado, e ao atingir o intestino grosso são metabolizados por um número de bactérias denominadas benéficas, que altera a microbiota do cólon resultando em benefício ao hospedeiro pela estimulação seletiva do crescimento, gerando uma microbiota bacteriana saudável. São classificados em solúveis, insolúveis ou mistas, podendo ser fermentáveis ou não.

Nas últimas décadas, alimentos industrializados têm começado a ser explorado mais rigorosamente, o uso de fibras como a inulina e oligofrutose estão entre as fibras prebióticas mais estudadas. A inulina é um polímero extraído principalmente da raiz da chicória com grau de polimerização de 3 até 60 unidades de monômeros, principalmente de unidades de β -D-Frutofuranosil, unidas entre si por ligações $2 \rightarrow 1$ e finalizadas com molécula de glicose, desta forma a inulina pode ser classificada como um fruto-oligossacarídeo (FOS) (RAIZEL et al., 2011; GIBSON et al., 1994). A inulina e a oligofrutose, denominadas de frutanos, são fibras solúveis e fermentáveis, as quais não são digeríveis pela α -amilase e por enzimas hidrolíticas, na parte superior do trato gastrintestinal. Pertencem a uma classe de carboidratos denominados frutanos e são considerados ingredientes funcionais, uma vez que exercem influência sobre processos fisiológicos e bioquímicos no organismo. Estudos *in vitro* e *in vivo* têm mostrado que estes componentes têm vários efeitos fisiológicos na saúde humana, assim como, melhora no funcionamento da flora intestinal e mineralização óssea. Assim a adição de prébióticos em produtos alimentícios parece ter sido um bom caminho para impulsionar os consumidores a aumentar a ingestão de fibras (GRANATO et al., 2012).

1.2 Quefir

Quefir é uma mistura probiótica que teve sua origem das montanhas Caucásicas da Rússia, resultante da ação da microbiota natural presente nos “grãos” ou biomassa de quefir. Também conhecido como kefir, tibicos, cogumelos tibetanos, e quando cultivado no leite a bebida é conhecida como plantas de iogurte, cogumelos do iogurte que é um leite fermentado produzido a partir da biomassa de quefir. A biomassa de quefir é

descrita como uma associação simbiótica de leveduras, bactérias ácido-láticas, bactérias ácido-acéticas e fungos, e são envolvidas por polissacarídeos denominado kefirana. O tamanho dos “grãos” pode variar de 0,5-3,5 cm de diâmetro, volume de 0,5-20,0 mL/grão, com formato irregular e, são de cor amarelados ou esbranquiçados dependendo do substrato onde foi cultivado (OTLES, CAGINDI, 2003).

A composição microbiana da biomassa de quefir pode diferir conforme a região de origem, o tempo de utilização, técnicas usadas em sua manipulação, o meio de cultivo, o substrato utilizado para proliferação da biomassa. Seu cultivo mais comum acontece em leite, podendo também ser cultivado em solução contendo açúcar mascavo ou sucos de frutas. A biomassa é de cor amarelo claro quando cultivados em leite; ou ocre e parda, se cultivada em açúcar mascavo; ou purpúrea se cultivada em suco de uva (WSZOLEK et al., 2001; WITTHUHN et al., 2005).

De acordo com a legislação brasileira específica para esse produto regulado pelo MAPA, através do Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados a definição de *kefir* é o leite fermentado, adicionado ou não de outras substâncias alimentícias, obtidas por coagulação e diminuição do pH do leite, ou reconstituído, adicionado ou não de outros produtos lácteos, cuja fermentação se realiza com cultivos de ácido-lácticos elaborados com grãos de *kefir*, *Lactobacillus kefir*, espécies dos gêneros *Leuconostoc*, *Lactococcus* e *Acetobacter* com produção de ácido láctico, etanol e dióxido de carbono. A biomassa de quefir é constituída por leveduras fermentadoras de lactose (*Kluyveromyces marxianus*) e leveduras não fermentadoras de lactose (*Saccharomyces omnisporus*, *Saccharomyces cerevisiae* e *Saccharomyces exiguus*), e bactérias (*Lactobacillus casei*, *Bifidobacterium* sp e *Streptococcus salivarius* subsp. *Thermophilus*) (MAPA, 2007).

A produção da bebida de quefir utilizando biomassa é difícil e irregular pela complexidade da sua composição microbiológica. Tentativas têm sido realizadas para normalizar esta produção usando as culturas *starters* definidas. Devido à sua complexidade microbiana e os benefícios derivados da sua utilização, a biomassa de quefir pode ser considerada como uma fonte adequada de potenciais micro-organismos probióticos (ROMANIN et al., 2010). *Lactococcus lactis* é um importante micro-organismo probiótico e que geralmente compõe a cultura quefir (BAU et al., 2013; BRASIL, 2007; CHEN et al., 2008; CHENG et al., 2005; WITTHUHN, SCHOEMAN, BRITZ, 2005). Juntamente com *Lactococcus lactis*, leveduras e bactérias de ácido acético, também demonstraram estarem presentes na biomassa de quefir.

Uma característica da biomassa de quefir é que após ser utilizada na fermentação do substrato, sua cultura pode ser recuperada por separação e, além das mudanças esperadas como a produção da bebida fermentada, ocorre aumento na biomassa de quefir (SATIR et al. 2016).

Os micro-organismos existentes na cultura de quefir e sua variada simbiose conferem propriedades terapêuticas, como fatores antimicrobianos, anti-inflamatório, e efeitos antialérgicos (LEE et al., 2007; RODRIGUES et al., 2005; MOREIRA et al., 2003). Alguns micro-organismos de quefir são resistentes aos sais biliares e aos níveis de pH baixos e exibem propriedades de adesão e capacidade para inibir alguns agentes patogênicos intestinais (ROMANIN et al., 2010).

1.3 Soja

A soja é uma leguminosa que inicialmente foi cultivada na China, expandindo-se por todo o oriente, sendo utilizada sobretudo na alimentação humana. O Brasil é o segundo maior produtor mundial de soja, perdendo apenas dos EUA. Na safra 2016/2017, a cultura ocupou a área de 30,1 milhões de hectares, e totalizou uma produção de 113 milhões de toneladas. A cultura da leguminosa foi introduzida no Brasil no século XIX sendo cultivada primeiramente no estado de São Paulo (EMBRAPA, 2014., CONAB, 2016)

A soja tem sido utilizada em dietas japonesas por muito tempo e seu consumo tem alargado no ocidente. Ela é considerada um alimento com propriedades funcionais, possui boa composição lipídica (rica em ácido linoleico insaturados especialmente poli-insaturado e isoflavonas), é uma excelente fonte de proteína (30-45%) e apresenta em sua composição adequado perfil de minerais essenciais. O extrato hidrossolúvel de soja, popularmente chamado de ‘leite de soja’, tem sido usado como alternativa para pessoas com intolerância a lactose e à proteína do leite. Evidências científicas sobre os benefícios do consumo de soja, que ela está diretamente relacionada a redução de riscos de doenças crônicas-degenerativas, têm contribuído para o aumento do seu consumo e uso em produtos alimentícios (ALEZANDRO et al., 2011).

A obesidade é uma doença crônica não transmissível caracterizada por diversos fatores e tem se tornado um problema de saúde pública A obesidade está relacionada com outros fatores de riscos, como diabetes, hipertensão arterial, dislipidemias, doenças cardiovasculares, entre outras. Dentro de vários fatores que podem ocasionar a

obesidade, a causa mais comum é o desequilíbrio da ingestão energética e a falta de atividade física. Sendo assim, tudo sugere que os padrões atuais da dieta e o estilo de vida sejam as principais causas do sobrepeso (CARVALHO, 2009).

Alimentos com alto teor proteico vêm sendo utilizados nas dietas para o controle de obesidade. A proteína induz ao aumento da saciedade e ao efeito termogênico, levando a maior perda de peso comparado ao consumo de carboidratos. Proteína de soja é considerada proteína completa já que contém a maior parte dos aminoácidos essenciais que são encontrados na proteína animal. O valor nutricional da proteína de soja é aproximadamente equivalente ao da proteína animal, que é considerada de alto valor biológico. Além do seu alto conteúdo proteico, a soja contém fibras solúveis e outros constituintes que são efetivas no controle da obesidade, diabetes tipo II e na redução dos níveis sanguíneos de LDL colesterol. Maior consumo de soja também foi associado com menor presença de triglicérides elevado, dislipidemia, hiperuricemia e menor número de distúrbios cardiometabólicos em mulheres. Quanto maior o consumo de soja, menor a incidência de obesidade central e hiperuricemia (LIU et al., 2014; BEDANI et al., 2015., VONG., 2016).

As isoflavonas contidas na soja, também conhecidas como fitoestrógeno, constituem outra propriedade benéfica responsável pelo aumento do seu consumo. As isoflavonas da soja têm a função antioxidante, e atuam como inibidores de enzimas ligadas ao desenvolvimento do câncer, e pela similaridade molecular da isoflavona com hormônio estrogênio alguns estudos relacionam seu consumo para reposição hormonal em mulheres no período climatérico como positivo (RORIVA et al., 2012). O tipo e quantidade de isoflavonas na soja vão depender de alguns fatores genéticos e ambientais tais como variedade do grão, processamento, tipo de armazenamento, entre outros. As isoflavonas exercem vários efeitos benéficos à saúde, seus receptores de estrogênio afetam o desenvolvimento das células cancerígenas, nota-se que países orientais em que existem consumidores assíduos de soja, são locais que apontam menores índices de ocorrência de câncer. A forma biologicamente ativa das isoflavonas conhecida como aglicona é encontrada em maiores concentrações em produtos fermentados, sendo que o processamento é um fator importante na preservação deste composto bioativo (PIMENTEL et al., 2005).

A soja, apesar de possuir todas essas propriedades benéficas, não é consumida normalmente na dieta alimentar dos brasileiros. Uma das limitações do seu consumo se deve a seu sabor adstringente que é característico da leguminosa. Portanto, uma das

opções seria obter derivados que apresentassem características sensoriais satisfatórias (PEREIRA et al., 2009). Uma das maneiras de diminuir ou modificar estas características sensoriais é o processo fermentativo que modificam o substrato fermentado muitas vezes até melhorando as características nutricionais (ROSSI et al., 2011).

1.4 Bebida fermentada de soja

Os produtos fermentados à base de soja, como shoyu, misso, natto e tempeh, já são muito consumidos pela população da Ásia oriental (FUKUSHIMA et al., 1980). Entre eles, está o “iogurte” de soja, que tem se revelado como uma alternativa de produto que apresenta sabor satisfatório e ainda reduz fatores antinutricionais pelo processamento.

A presença de fatores antinutricionais e/ou tóxicos pode afetar o valor nutricional dos alimentos, nos grãos das leguminosas verifica-se a ocorrência natural de inibidores de enzimas proteolíticas, como por exemplo, a tripsina. A ação destes inibidores no trato gastrintestinal leva a redução da disponibilidade dos aminoácidos. Porém, pelo fato destas substâncias serem termolábeis são normalmente destruídas durante o processamento quando submetida à temperatura, diminuindo assim o risco para nutrição humana (BENEVIDES et al.; 2011).

A bebida fermentada de soja atende demanda alta de mercado na substituição de produtos destinados a indivíduos intolerantes a lactose ou proteína do leite, que é um novo nicho de mercado (MARTINS et al., 2013). Ainda, pode ser suplementado com cepas probióticas que conferem efeitos adicionais quanto aos benefícios à saúde (SAAD et al., 2011).

Durante a armazenagem dos produtos fermentados de soja, alguns estudos indicam que há redução do número de crescimento de micro-organismos. A redução do pH e aumento da acidez no produto de fermentação durante o armazenamento pode inibir o crescimento de algumas bactérias probióticas (MCCANN et al., 2011). Do ponto de vista probiótico, o desafio destes produtos é assegurar a estabilidade dos micro-organismos probióticos (Liong, 2011).

A utilização do processo de fermentação tem sido estudado extensivamente para desenvolver vários produtos fermentados e, assim, superar as limitações no consumo de produtos de soja. No entanto, os estudos sobre o extrato hidrossolúvel de soja

fermentado estavam preocupados com o desenvolvimento de bactérias, ou o sabor do produto, mas não com a totalidade das características de avaliação como um alimento probiótico de soja com fibras. Ainda, o efeito da utilização de fibras a partir de fontes alternativas em produtos de leite fermentado tem sido amplamente investigado (BAU et al., 2014).

Outro aspecto importante é a aceitação do produto dos produtos fermentados de soja. Em estudo recente, Baú et al. (2014) avaliaram as propriedades químicas, sensoriais e estabilidade de um produto de soja fermentado com quefir e adicionado de fibra de soja. O produto de soja funcional com a adição de fibra apresentou maior composição centesimal, quando comparado o teor proteico, produto sem adição de fibras 15,5 g.100 g⁻¹ e com adição de fibras 20,18 g.100 g⁻¹, além obviamente do teor de fibras que resultou em 7,53 g.100 g⁻¹ e 0 g.100 g⁻¹ para o produto sem adição de fibras, ambos tiveram boa aceitação sensorial. O produto de soja funcional desenvolvido apresentou maior firmeza e reduziu a sinérese em comparação com o produto de soja fermentado sem fibra.

Em outro estudo de bebida de soja com mel fermentada com quefir, os autores relataram que, após fermentação, a atividade antioxidante (método de DDPH), aumentou indicando que alguns componentes antioxidantes presentes nos grãos de quefir foram transferidos para a bebida (FIORDA et al., 2016). Além do efeito antioxidante Guamba et al., (2016) relatam que formulação da tradicional arepa contendo quefir apresentou maior resistência contra a contaminação por fungos principalmente sobre *Aspergillus flavus in vitro*.

Cui et al., (2013) desenvolveram uma bebida fermentada de nozes, sendo que este estudo foi um dos primeiros a relatar sobre a fermentação utilizando como inóculo o quefir e como substrato o extrato hidrossolúvel de castanha. Os autores concluíram que os grãos de quefir podem ser usados para fermentar extrato de nozes e entre vários testes para a otimização foram encontradas as condições ótimas de temperatura para fermentação 30° C, tempo de fermentação 12 h, e quantidade de inóculo 3 g de grãos de quefir, e a concentração de sacarose de 8 g.100 mL⁻¹. Este trabalho mostrou a importância de conhecer as melhores condições de processamento da fermentação utilizando a biomassa de quefir e a bebida foi caracterizada como probiótica alcançado resultados satisfatórios.

O *status* da soja como um alimento saudável e as suas inúmeras aplicações têm incentivado o desenvolvimento de novas possibilidades para incorporação de soja e para

novos produtos à base de soja nos hábitos alimentares dos brasileiros e isto permite a população obter o efeito positivo atribuído ao seu consumo (ALEZANDRO et al., 2011; BEDANI et al., 2014).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). **Alimentos com Alegações de Propriedades Funcionais e ou de Saúde, Novos Alimentos/Ingredientes, Substâncias Bioativas e Probióticos VIII - Lista dos Novos Alimentos aprovados.** 2008. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno_lista_alega.htm: Acesso em: 10 de set. de 2015.

ALEZANDRO, M.R.; GRANATO, D.; LAJOLO, F.M.; GENOVESE, M.I. Nutritional aspects of second generation soy foods. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, n. 10, p. 5490 - 5497, 2011.

AL-SHERAJI, S. H.; ISMAIL, A.; MANAP, M. Y.; MUSTAFA, S.; YUSOF, R. M.; HASSAN, F. A. Prebiotics as functional foods: A review. **Journal of Functional Foods**, v. 5, n. 4, p.1542 - 1553, 2013.

BASTOS, D.H.M.; ROGERO, M.M.; AREAS, J.A.G. Mecanismos de ação de compostos bioativos dos alimentos no contexto de processos inflamatórios relacionados à obesidade. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**, v. 53, n. 5, p. 646-56, 2009.

BAÚ, T.R.; GARCIA, S.; IDA, E.I. Changes in soymilk during fermentation with kefir culture: oligosaccharides hydrolysis and isoflavone aglycone production, **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 66, n. 8, p. 845-50, 2015.

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

BEDANI, R.; ROSSI, E.A.; CAVALLINI, D.C.U.; PINTO, R.A.; VENDRAMINI, R.C.; AUGUSTO, E.M.; ABDALLA, D.S.P.; SAAD, S.M.I. Influence of daily consumption of synbiotic soy-based product supplemented with okara soybean by-product on risk factors for cardiovascular diseases. **Food Research International**, v. 73, p. 142 -148, 2015.

BEDANI, R.; VIEIRA, A.D.S.; ROSSI, E.A.; SAAD, S.M.I. Tropical fruit pulps decreased probiotic survival to invitro gastrointestinal stress in synbiotic soy yoghurt with okara during storage. **LWT - Food Science and Technology**, v. 55, n.2, p. 436-443, 2014.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Resolução nº 46, de 23 de outubro de 2007. **Padrões de Identidade e Qualidade (PIQ) de Leites Fermentados**. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis>>. Acessado em 20 jun. 2016.

CARVALHO, E. Obesidade e síndrome metabólica. In CUPPARI, L: **Nutrição nas doenças crônicas não transmissíveis**. Barueri, SP: Manole, p. 23 – 119, 2009.

CHEN, H.C.; WANG, S.Y.; CHEN, M.J. Microbiological study of lactic acid bacteria in kefir grains by culture-dependent and culture-independent methods. **Food of Microbiology**, v. 25, p.1, 492-501, 2008.

CHENG, I.C.; SHANG, H.F.; LIN T.F.; WANG, T.H.; LIN, H.S.; LIN S.H. Effect of fermented soy milk on the intestinal bacterial ecosystem. **World Journal of Gastroenterology**, v. 11, n. 8, p. 1225-27, 2005.

CUI, X.H.; CHEN, S.J.; WANG, Y.; HAN, J.R. Fermentation conditions of walnut milk beverage inoculated with kefir grains. **LWT - Food Science and Technology**, v. 50, n. 1, p. 349-52, 2013.

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

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA). **Soja em números (safra 2013/2014)**. Disponível em: <https://www.embrapa.br/web/portal/soja/cultivos/soja1/dados-economicos>. Acesso em: 18 ag. 2015.

FIORDA, F.A.; VINICIUS DE MELO, G.; THOMAZ-SOCCOL, V.; MEDEIROS, A.P.; RAKSHIT, S.K.; SOCCOL, C.R., Development of kefir-based probiotic beverages with DNA protection and antioxidant activities using soybean hydrolyzed

extract, colostrum and honey. **LWT - Food Science and Technology**, v. 68, n. 1, p. 690-697, 2016.

FUKUSHIMA, D.; HASHIMOTO, H. 1980. **Oriental soybean foods**. In: Processing of World Soybean Research Conference, Colorado: Westview Press, p. 729-743.

GAMBA, R.R.; CARO, C.A.; MARTÍNEZ, O.L.; MORETTI, A.F.; GIANNUZZI, L.; DE ANTONI, G.L.; PEL´AEZ, ANGELA L. Antifungal effect of kefir fermented milk and shelf life improvement of corn arepas. **International Journal of Food Microbiology**, v. 235, n. 1, p. 85-92, 2016.

GIBSON, G.R.; ROBERFROID, M.B. Dietary modulation of human colonic microbiota: introducing the concept of the prebiotics. **Journal Nutricion**, v. 125, n. 1, p. 1401-1412, 1995.

GIBSON, G.R.; WILLIS, C.L.; VAN, LOO, J. Non-digestible oligosaccharides and bifidobacteria-implications for health. **International Sugar Journal**, v. 96, n. 17, p. 381-387, 1994.

GRANATO, D.; MASSON, M.L.; RIBEIRO, J.C.B. Sensory acceptability and physical stability evaluation of a prebiotic soy-based dessert developed with passion fruit juice. **Food Science and Technology**, v. 32, n. 1, p. 119-26, 2012.

LEE, M.Y.; AHN, K.S.; KWON, O.K.; KIM, M.J.; KIM, M.K.; LEE, I.Y.; OH, S.R.; LEE, H.K. Anti-inflammatory and anti-allergic effects of kefir in a mouse asthma model. **Immunobiology**, v. 212, n. 8, p. 647-654, 2007.

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

LIU, J.; SUN, L.L.; HE, L.P.; LING, W.H.; LIU, Z.M.; CHEN, Y. M. **Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases**, v. 24, n. 10, p. 1097-04, 2014.

MANNING, T.S.; GIBSON, G.R. Microbial-gut interactions in health and disease. Prebiotics. **Best Practice Research Clinical Gastroenterology**, v. 18, n. 2, p. 287-98, 2004.

MAPA, Instrução normativa nº 46, de 23 de outubro de 2007. **Regulamento técnico de identidade e qualidade de leites fermentados**. Diário oficial da união. Poder Executivo, Brasília, DF, 24 out. 2007. n. 205, seção 1, p. 4.

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

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

MORAES, F.P.; COLLA, F; M. Alimentos funcionais e nutraceuticos: definições, legislação e benefícios à saúde. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 3, n. 2, p. 109-22, 2006.

MOREIRA, M.E.C., SANTOS, M.H., PEREIRA, I.O., FERRAZ, V.B.L.C.A., OTLE, S.; CAGINDI, O. Kefir: a probiotic dairy-composition nutritional and therapeutic aspects. **Pakistan Journal of Nutrition**, v. 2, n. 2, p. 54-59, 2003.

OTLES, S.; CAGINDI, O. Kefir: A Probiotic Dairy-Composition. Pakistan. **Journal of Nutrition**, v. 2, n. 2, p. 54-59, 2003.

PEREIRA, M.O.; BAMP, M.; ROFRIGUES, F. T.; SANTA, O.R.D; SANTA, H.S.D; RIGO, M. Elaboração de uma bebida probiótica fermentada a partir do extrato hidrossolúvel de soja com sabor de frutas. **International System for Agricultural Science and Technology**, v. 5, n. 3, p. 475-87, 2009.

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

RAIZEL, R; SANTINI, E; KOPPER, M.A; , REIS, F.A.D. Efeitos do consumo de probióticos, prebióticos e simbióticos para o organismo humano. **Revista Ciência & Saúde**, v. 4, n. 2, p. 66-74, 2011.

RODRIGUES, K.L.; CAPUTO, L.R.G; CARVALHO, J.C.T.; EVANGELISTA, J. Antimicrobial and healing activity of kefir and kefir extract. **International Journal Antimicrobial Agents**, v. 25, n. 5, p. 404–08, 2005.

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

ROSSI, E.A.; CAVALLINI, D.C.U.; MANZONI, M.S.J. Produtos próbióticos e prebióticos a base de soja. In: SAAD, S.M.I.; CRUZ, A.G., FARIA, J.A.F. **Probióticos e prebióticos em alimentos; Fundamentos e aplicações tecnológicas**. São Paulo, Editora Varela, p. 669, 2011.

ROVIRAA, A.P.; CASELLAS, Y.N.M.C. Efecto del consumo de soja en relación con los síntomas de la menopausia. **Revista Espanola de Nutricion Humana y Dietética**, v. 16, n. 2, p. 69-67, 2012.

SAAD, S.M.I. Probioticos e prebioticos: o estado da arte. **Revista Brasileira de Ciencia Farmaceuticas**, v. 42, n. 1, p. 1-16, 2006.

SAAD, S. M.; CRUZ, A.G.; FARIA, J.A.F. **Probióticos e Prebióticos em Alimentos: fundamentos e aplicações tecnológicas**. 1ª. ed. São Paulo, Varela, 2011

SAMAH, S.; RAMASAMY, K.; LIM, M.S.; NEOH, CF. Probiotics for the Management of Type 2 Diabetes Mellitus: A Systematic Review and Meta-analysis. **Diabetes Research and Clinical Practice**, v. 118, n. 1, p.172-182, 2016.

SANTOS, R.B; BARBOSA, L.P.J.L; BARBOSA, F.H.F. Probióticos: microrganismos funcionais. **Ciência Equatorial**, v. 1, n. 2, p. 26-38, 2011.

SATIR, G.; GUZEL-SEYDIM, Z.B.; How kefir fermentation can affect milk composition. **Small Ruminant Research**, v. 134, n. 1, p. 1-7, 2016.

SILVEIRA, T.F.V.; VIANNA, C.M.M.; MOSEGUI, G.B.G. Brazilian legislation for functional foods and the interface with the legislation for other food and medicine classes: contradictions and omissions. **Physis**, v. 19, n. 4, p. 1189-1202, 2009.

BENEVIDES, M.V.L.; SOUZA, M.V.M.; SOUZA, R.D.B. Fatores antinutricionais. **Segurança Alimentar e Nutricional**, v. 18, n. 2, p. 67-79, 2011.

TEITELBAUM, J.E.; WALKER, W.A. Nutritional impact of pre- and probiotics as protective gastrointestinal organisms. **Annual Reviews Nutrition**, v. 22, n.1, p. 107-138, 2002.

WITTHUHN, R.C.; SCHOEMAN, T.; BRITZ, T.J. Characterisation of the microbial population at different stages of kefir production and kefir grain mass cultivation. **International Dairy Journal**, v. 15, n. 1, p. 383-389, 2005.

WITTHUHN, R.C.; SCHOEMAN, T.; CILLIERS, A. Impact of preservation and different packaging conditions on the microbial community and activity of kefir grains. **Food Microbiology**, v. 22, n. 4, p. 337-44, 2005.

WSZOLEK, M.; TAMIME, A.Y.; MUIR, D.D. Properties of kefir made in Scotland and Poland using bovine, Caprine and ovine milk with different starter cultures. **Food Science and Technology**, v. 34, n. 4, p. 251-261, 2001.

1. OBJETIVOS

1.1 Objetivo geral

Desenvolver uma bebida fermentada simbiótica a partir do extrato hidrossolúvel de soja fermentado com biomassa de quefir e adicionado de inulina.

1.2 Objetivos específicos

- Desenvolver um produto fermentado a partir do extrato hidrossolúvel de soja.
- Definir parâmetros de fermentação como tempo, quantidade de inóculo e teor de sólidos solúveis favoráveis a produção da biomassa de quefir.
- Caracterizar as bebidas através de análises físico-químicas, microbiológicas durante o período e armazenamento de 28 dias.
- Caracterizar as bebidas através de análises sensoriais durante o período e armazenamento de 14 dias.

CAPÍTULO 1 – Desenvolvimento de bebida simbiótica a partir de extrato hidrossolúvel de soja fermentado com biomassa de quefir e adicionado de inulina

1. INTRODUÇÃO

Os avanços tecnológicos no processamento de alimentos vêm permitindo o desenvolvimento de novos produtos. Com o crescimento constante do mercado de bebidas à base de soja, as pesquisas no processamento de soja vêm sendo cada vez mais aprimoradas, buscando-se alternativas que permitam esta melhoria no processo e aumento na produção. O consumo de bebidas e alimentos que não contém leite é uma tendência mundial. Contudo, avanços tecnológicos têm possibilitado alterar algumas características estruturais das matrizes, modificando componentes alimentares de maneira controlada sem alterar drasticamente e, utilizando substituições de lácteos por outros produtos, mantendo boa aparência e palatibilidade (GRANATO et al., 2012).

Hoje em dia há aumento na incorporação de soja ou proteína de soja e alimentos proteicos no intuito de oferecer alimentos funcionais que possam contribuir para dieta equilibrada, este interesse na indústria alimentícia está associado com um pedido de saúde autorizado pela FDA em 1999, devido à relação entre a proteína de soja e a redução de doença cardíaca coronária (ALEZANDRO et al., 2011).

Alimentos probióticos são alimentos que contêm micro-organismos viáveis que causam benefícios à saúde (SANTOS et al., 2011). Estudos revelam que a influência benéfica dos probióticos sobre a microbiota intestinal inclui vários fatores além de resultar em aumento da resistência contra micro-organismos patogênicos na microbiota intestinal humana. A utilização de probióticos estimula a multiplicação de bactérias benéficas, prejudicando o crescimento de micro-organismos patogênicos, reforçando os mecanismos naturais de defesa do ser humano (COOK et al., 2012). Esses micro-organismos se localizam em várias partes do trato gastrointestinal modulando a microbiota, principalmente pelos aos compostos produzidos por seu metabolismo dificultando o crescimento de micro-organismos patogênicos (MENEZES & DURRANT, 2008; FRITZEN-FREIRE et al., 2013; BEDANI et al., 2013). Uma microbiota composta por mais micro-organismos probióticos pode auxiliar na manutenção de sua saúde, melhorar a digestão, favorecer o metabolismo de algumas substâncias como a lactose, aumentar a biodisponibilidade de minerais como cálcio, ferro e outros nutrientes e impedir a reabsorção de compostos aminados indesejáveis. A melhora da microbiota intestinal estimula o sistema imunológico favorecendo na diminuição de atividades antitumorais (BUJALANCE et al., 2007; COOK et al., 2012).

Todos estes relatos de benéficos à saúde são suficientes do ponto de vista científico para a inclusão diária de alimentos contendo probióticos na dieta humana. Segundo a Anvisa (2008), para um alimento ser considerado probiótico a quantidade mínima viável deve estar situada na faixa de 10^8 a 10^9 unidades formadoras de colônia (UFC por g) na recomendação diária de consumo do produto.

Os probióticos são muito utilizados em derivados lácteos e leites, no entanto, com aumento crescente de pessoas que não consomem leite e derivados, intolerantes a lactose, vegetarianos, alérgicos entre outros, vem surgindo alternativas do seu uso em outros produtos. Estudos recente desenvolveram bebidas de maçã e de soja simbióticas mostrando a importância dos estudos cada vez mais inovadores trazendo alternativas de consumo dessas substâncias benéficas a saúde (PIMENTEL et al., 2015, BAÚ et al., 2014).

Como os alimentos são materiais biológicos, as reações que acontecem com eles são extremamente complexas, ocorrem simultaneamente e com diferentes cinéticas. Mesmo controlando fatores como temperatura, presença de luz, quantidade de água do alimento, entre outros e, tendo a deterioração sob controle, eles podem estar susceptíveis a outras reações que podem comprometer a qualidade nutricional, cor, sabor, textura e causar alterações de cor, e dificulta a previsão da vida de prateleira. Desta forma, na determinação da vida de prateleira dos alimentos, é necessário levar em consideração as características do produto para evitar alterações indesejáveis (MOURA et al., 2004).

Durante a vida de prateleira os alimentos contendo micro-organismos probióticos pode sofrer alterações nas características tecnológicas e alguns fatores são responsáveis pela perda de viabilidade dos micro-organismos, como por exemplo, a permeabilidade da embalagem utilizada, o nível de oxigênio nos produtos durante o armazenamento refrigerado, a sensibilidade dos probióticos às substâncias produzidas, entre outros. Um dos desafios tecnológicos é manter a viabilidade dos micro-organismos probióticos durante o armazenamento já que a manutenção da temperatura influencia na sobrevivência de probióticos e sabe-se que a cadeia de frio é de difícil manutenção (CONRAD et al., 2000). Ainda assim, é preciso que as modificações sensoriais durante a manutenção dos micro-organismos probióticos no armazenamento sejam aceitáveis aos consumidores.

O objetivo deste trabalho foi desenvolver uma bebida fermentada simbiótica a partir de extrato hidrossolúvel de soja.

2. MATERIAL E MÉTODOS

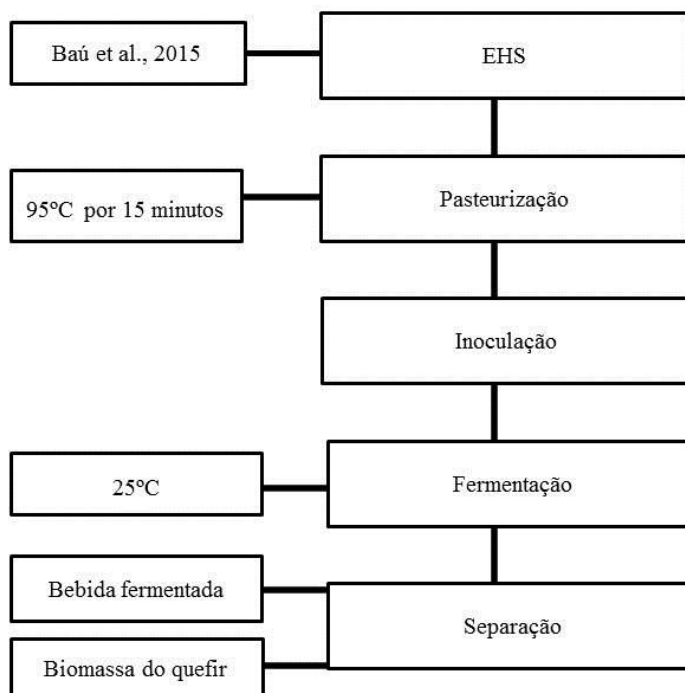
2.1 Material

A soja marca Siamar Natural Food (Neves Paulista, Brasil) utilizada na produção de extrato hidrossolúvel de soja foi adquirida em mercado local (Rio Verde, Brasil). A inulina ORAFTI[®] Beneo S/A (Sorocaba, Brasil) foi doada pela empresa Clariant S/A.

A biomassa de quefir foi mantida congelada e anteriormente aos experimentos foi ativada por 3 dias em solução de açúcar mascavo em água destilada (1:10, m/v) com troca contínua do material nutriente a cada 24 horas e mantida à 25° C em BOD.

O extrato hidrossolúvel de soja (EHS) foi produzido conforme o método descrito por Baú et al. (2015) como demonstrado na Figura 1. O EHS inoculado com biomassa de quefir foi mantido a 25° C em BOD e decorrido os variáveis tempos de fermentação, a bebida foi separada da biomassa de quefir com o auxílio de peneira, biomassa desprezada e a bebida utilizada nas análises.

Figura 1 - Etapas da produção de bebida fermentada a partir de EHS utilizando biomassa de quefir



2.2 Estudos de variáveis de tempo de fermentação, quantidade de biomassa de quefir e sólidos solúveis do EHS

Para avaliação dos efeitos das diferentes variáveis do processo fermentativo sobre as características da bebida fermentada foi utilizado um planejamento Box-Behnken (1978) com 3 níveis. Um dos diferenciais deste planejamento é que não foi utilizado pontos de vértices, pois, percebeu - se em ensaios preliminares que extremos do planejamento levavam ao excesso do processo fermentativo impossibilitando a produção de bebida já que a biomassa de quefir permaneceu fortemente aderida ao fermentado que por sua vez, já estava em estado sólido. Assim sendo, estudou-se por este planejamento a quantidade de inóculo (massa de biomassa em gramas), tempo de fermentação (em horas) e concentração do EHS (em sólidos solúveis totais), totalizando 15 experimentos conforme Tabela 1.

Em cada tratamento, como variáveis respostas estudadas, realizou-se as análises de pH, acidez, teor de sólidos solúveis (diferença entre o teor inicial e o final) e percentual de sedimentação e, estas análises foram realidades para o *screening* das melhores condições do processo fermentativo.

Tabela 1 – Variáveis codificadas e decodificadas da produção de EHS fermentado utilizando biomassa de quefir

Tratamento	Variáveis codificadas			Variáveis decodificadas		
	I	TF	[EHS]	I (g)	TF (h)	[EHS] (°Brix)
1	-1	-1	0	4	8	8
2	+1	-1	0	8	8	8
3	-1	+1	0	4	16	8
4	+1	+1	0	8	16	8
5	-1	0	-1	4	12	6
6	+1	0	-1	8	12	6
7	-1	0	+1	4	12	10
8	+1	0	+1	8	12	10
9	0	-1	-1	6	8	6
10	0	+1	-1	6	16	6
11	0	-1	+1	6	8	10
12	0	+1	+1	6	16	10
13	0	0	0	6	12	8
14	0	0	0	6	12	8
15	0	0	0	6	12	8

I: inóculo; TF: tempo de fermentação; [EHS]: teor de sólidos solúveis no extrato hidrossolúvel de soja

2.3 Estudo do armazenamento da bebida fermentada durante 28 dias a 7°C

As condições otimizadas utilizando o planejamento experimental foram: teor de sólidos solúveis do EHS corrigido para 9° Brix, inoculado com biomassa de quefir na proporção 4 g:100 ml (quefir:EHS), e fermentação por 12 horas a 25°C. A partir daí, dois tratamentos foram realizados com a bebida fermentada: A) tratamento controle:

sem adição de inulina e, B) tratamento inulina: com adição de 3,5% (m/v) de inulina. Após a fermentação, a bebida fermentada foi homogeneizada, embalada individualmente em embalagens de polietileno estéreis CL CLT80ES (CRAL, Goiânia, Brasil) contendo 40 mL e armazenados a 7°C em em BOD TE- 371 (Tecnal, Piracicaba, Brasil), e as amostras retiradas nos tempos de 0, 7, 14, 21 e 28 dias para a realização das análises.

2.4 Análises químicas das bebidas fermentadas

As bebidas fermentadas foram submetidas a análises físico-químicas em triplicata de acordo com a AOAC (2000): teor de umidade (n° 968.11), lipídeos pelo método de Bligh e Dyer, proteínas (n° 99120); cinzas (n° 94546) e carboidratos calculado por diferença (100 – lipídeos – proteínas – cinzas). A determinação do teor de minerais cálcio (Ca), cobre (Cu), ferro (Fe), fósforo (P), magnésio (Mg), manganês (Mn), potássio (K), sódio (Na) e zinco (Zn) foi realizada empregando a metodologia baseada naquela descrita por Cônsolo (2014).

A determinação de pH, acidez total titulável e sólidos solúveis foram determinados seguindo a metodologia analítica da AOAC (2000). O pH foi medido em pHmetro de bancada modelo LUCA-210 (Lucadema, Campinas, Brasil) com calibração prévia com soluções tampão padrões pH = 4 e pH = 7 e a acidez titulável total foi determinada por titulação com solução NaOH 0,1N, utilizando fenolftaleína a 1% como indicador do ponto de viragem de cor e expressa em mg de ácido láctico por 100 ml de bebida fermentada. O teor de sólidos solúveis foi determinado utilizando refratômetro digital modelo 14043 (Reichert, Depew, EUA).

2.5 Análises físicas das bebidas fermentadas

A sinérese foi avaliada através do soro liberado pelas formulações de bebida de soja fermentada com quefir seguindo a metodologia de Aryanna (2003). Para isso, a amostra da bebida fermentada foi invertida em peneiras cobertas com tecido tunil e após 2 horas em repouso à temperatura ambiente (aproximadamente 25°C) a quantidade de soro liberada foi medida em volume de soro (ml) por 100 g do produto.

A firmeza da bebida fermentada foi realizada utilizando metodologia de Dello Staffolo et al. (2004) modificada em texturômetro CT3 (Brookfield, Middleboro, MA,

USA). Para isso, utilizou-se probe cilíndrica em acrílico de 25 mm, com a força de 0,03 N velocidade de 2 mm/s, profundidade de compressão de 10 mm e tempo de 0,5 segundos. O teste foi realizado com a bebida fermentada em seu recipiente original com dimensões de circunferência de 12,7 cm e 6 cm de altura (DOMAGALA et al., 2006).

A cor das bebidas fermentadas foi determinada utilizando espectrofotômetro Color test II (Hunter lab, Reston, Virgínia, EUA) e medindo-se os parâmetros de cor L* (luminosidade) que varia de 0 a 100, em que o 0 é o preto total e o 100 é o branco total, tendência da cor para a tonalidade vermelha (+a*), tendência a cor para a tonalidade verde (-a*), tendência da cor para a tonalidade amarela (+b*) e a tendência da cor para a tonalidade azul (-b*). Foram tomadas três medidas de cor para cada amostra.

2.6 Parâmetros microbiológicos das bebidas fermentadas

A contagem de células viáveis foi realizada em placa de Petri contendo ágar M17 (Sigma-Aldrich, São Paulo, Brasil) para *Lactococos* e incubada a 37 °C (micro-organismos termofílicos); em ágar MRS acidificado (Sigma-Aldrich, São Paulo, Brasil) e incubado a 30°C por 72 h em anaerobiose para *Lactobacillus* (micro-organismos mesofílicos); e, em ágar de Peptona Dextrose YPD (Sigma-Aldrich São Paulo, Brasil) incubados a 30°C por 72 horas para leveduras. Para acidificar o meio MRS foi utilizado solução de ácido clorídrico a 1M até atingir pH desejável (entre 4,58 a 5,20) (THARMARAJ et al., 2003). 1 mL da amostra representativa de bebida fermentada em triplicada foi homogeneizada em 9 ml de solução salina ($8,5\text{g}\cdot 1000\text{mL}^{-1}$), e, nas diluições estabelecidas foi inoculada em placa de Petri contendo o ágar em camadas e incubadas em BOD modelo TE- 371 (Tecnal, Piracicaba, Brasil). Para *Lactococcus* e *Lactobacillus* as placas de Petri foram colocadas em jarras de anaerobiose contendo solução ATM CO₂ (Dióxido de Carbono Atmosférico). Decorrido o tempo, as colônias das placas foram contadas e expressas como unidades formadoras de colônias (UFC) por mL de bebida fermentada.

2.7 Análise sensorial das bebidas fermentadas

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa envolvendo seres humanos do Instituto Federal Goiano (nº do parecer 36/2014). O teste sensorial foi realizado em cabines individuais no Laboratório de Análise Sensorial do Instituto

Federal Goiano - Campus Rio Verde, utilizando equipe com 70 julgadores. Anteriormente a realização da análise os julgadores receberam instruções sobre o produto e aqueles que aceitaram participar da pesquisa assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE (ANEXO A). Além disso, um questionário de recrutamento foi realizado com os julgadores (ANEXO B) com a finalidade de reconhecer padrões e frequências de consumo. Os julgadores receberam aproximadamente 40 mL de cada amostra (embalagem individual) em temperatura < 10 ° C, simulando a condição real de uso doméstico. Para a análise sensorial a bebida foi adocicada (2,5 mL.L⁻¹) com sucralose marca Gold Premium Sweet (Caçapava SP, Brasil). Os julgadores foram solicitados a abrir a embalagem individual e provar o produto utilizando uma colher.

Foram utilizados os testes de escala do ideal quanto aos atributos aparência, sabor e textura e o teste de intenção de compra utilizando uma escala de cinco pontos. No teste de escala do ideal, o indivíduo expressou o quão ideal o produto estava em relação à intensidade de aparência, sabor e textura. A escala utilizada possuía 9 pontos sendo para o atributo textura: -4 Extremamente menos consistente, -3 Muito menos consistente que o ideal, -2 moderadamente menos consistente que o ideal, -1 Ligeiramente menos consistente que o ideal, 0 Ideal, +1 Ligeiramente mais consistente que o ideal, +2 Moderadamente mais consistente que o ideal, +3 Muito mais consistente que o ideal e +4 Extremamente mais consistente. Para os atributos aparência e sabor, a escala utilizada foi: -4 Extremamente pior que o ideal, -3 Muito pior que o ideal, -2 Moderadamente pior que o ideal, -1 Ligeiramente pior que o ideal, 0 Ideal, +1 Ligeiramente melhor que o ideal, +2 Moderadamente melhor que o ideal, +3 Muito melhor que o ideal e +4 Extremamente melhor que o ideal. No teste de intenção de compra, foi utilizado uma escala de 1 a 5 em que os provadores foram solicitados a dizer o quanto comprariam a amostra provada sendo a nota 1 para certamente compraria, 2 provavelmente compraria, 3 não tenho certeza se compraria, 4 provavelmente compraria, 5 nunca compraria.

Os resultados dos testes sensoriais foram avaliados através de análise de variância (ANOVA), teste de Tukey para comparação de médias entre as amostras e histograma de frequência de notas. A diferença estatística entre as médias, a 5% de significância, foi determinada pelo teste de Tukey.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 *Screening* do tempo de fermentação, quantidade de biomassa e sólidos solúveis do EHS

O efeito da concentração de sólidos solúveis na fermentação foi avaliado utilizando concentrações de sólidos solúveis de 6, 8 e 10 °Brix no EHS, tempo de fermentação de 8, 12 e 16, e 4, 6 e 8 de biomassa de quefir para 100 mL de EHS. A Tabela 2 apresenta os resultados obtidos para as análises de pH, acidez, teor de sólidos solúveis (diferença entre o teor inicial e o final) e percentual de sedimentação.

Foi observado que quanto maior o tempo de fermentação, maior diminuição no pH, ou seja, os produtos se tornaram mais ácidos. Esse declínio no pH é provavelmente o resultado da continuidade do processo fermentativo pelas bactérias ácido-láticas e leveduras presentes na biomassa de quefir. Bebidas fermentadas por 8 horas (formulações 1, 4, 7) apresentaram valores de pH entre 5,60 a 5,91, enquanto as fermentadas por 12 horas (formulações 2, 5, 8) apresentaram pH entre 5,53 e 5,81, e àquelas fermentadas por 16 horas (formulações 3, 6, 9) mostraram pH entre 5,05 a 5,09. Alguns autores relatam que valores de pH para produtos fermentados inferiores a 4,5 poderiam levar à rejeição dos produtos pelos consumidores (JANUÁRIO et al., 2016).

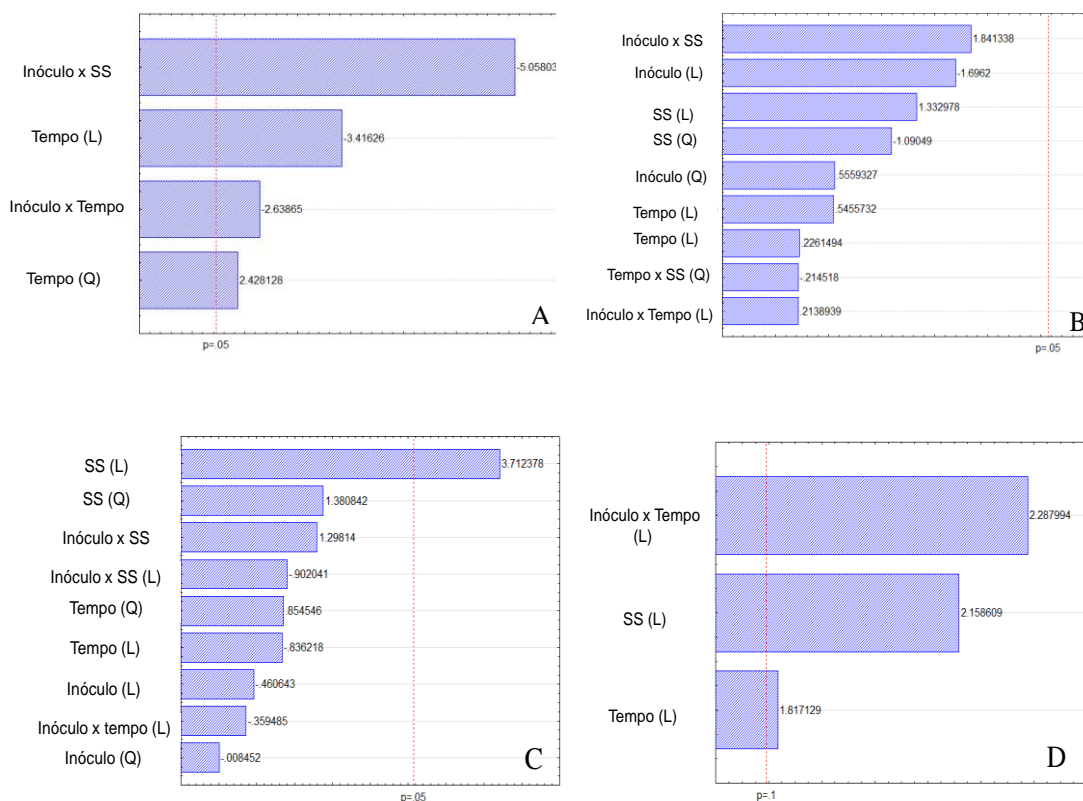
Tabela 2 – Análises de pH, acidez (mg ácido láctico por 100 mL de bebida fermentada), teor de sólidos solúveis (SS) e percentual de sedimentação (%) do EHS fermentado

Ensaio	Variáveis independentes			Variáveis dependentes			
	I	TF	[EHS]	pH	Acidez	SS ²	S
1	4	8	8	5,05	0,40	5,68	98,66
2	8	8	8	5,59	0,40	5,91	89,28
3	4	16	8	5,07	0,45	6,20	90,96
4	8	16	8	4,90	0,49	5,68	99,21
5	4	12	6	5,09	0,67	4,47	90,83
6	8	12	6	5,79	0,25	2,56	83,99
7	4	12	10	5,67	0,58	7,23	96,59
8	8	12	10	5,01	0,51	8,05	99,84
9	6	8	6	5,45	0,46	4,63	90,54
10	6	16	6	5,14	0,49	4,19	99,40
11	6	8	10	5,37	0,58	6,97	90,99
12	6	16	10	5,05	0,56	4,63	99,70
13	6	12	8	5,48	0,46	6,04	88,51
14	6	12	8	5,48	0,43	6,03	93,72
15	6	12	8	5,08	0,54	6,92	94,52

I: inóculo (gramas); TF: tempo de fermentação (horas); [EHS]: teor de sólidos solúveis no extrato hidrossolúvel de soja (°Brix); SS: diferença do teor de sólidos solúveis inicial pelo final; S: sedimentação.

A Figura 2 apresenta os efeitos de cada variável dependente nas variáveis independentes pelo diagrama de Pareto, para as variáveis avaliadas pelo planejamento experimental Box-Behnken.

Figura 2 – Diagrama de Pareto para as variáveis pH (A), acidez (B), teor de sólidos solúveis (C) e sedimentação (D) do EHS fermentado utilizando biomassa de quefir

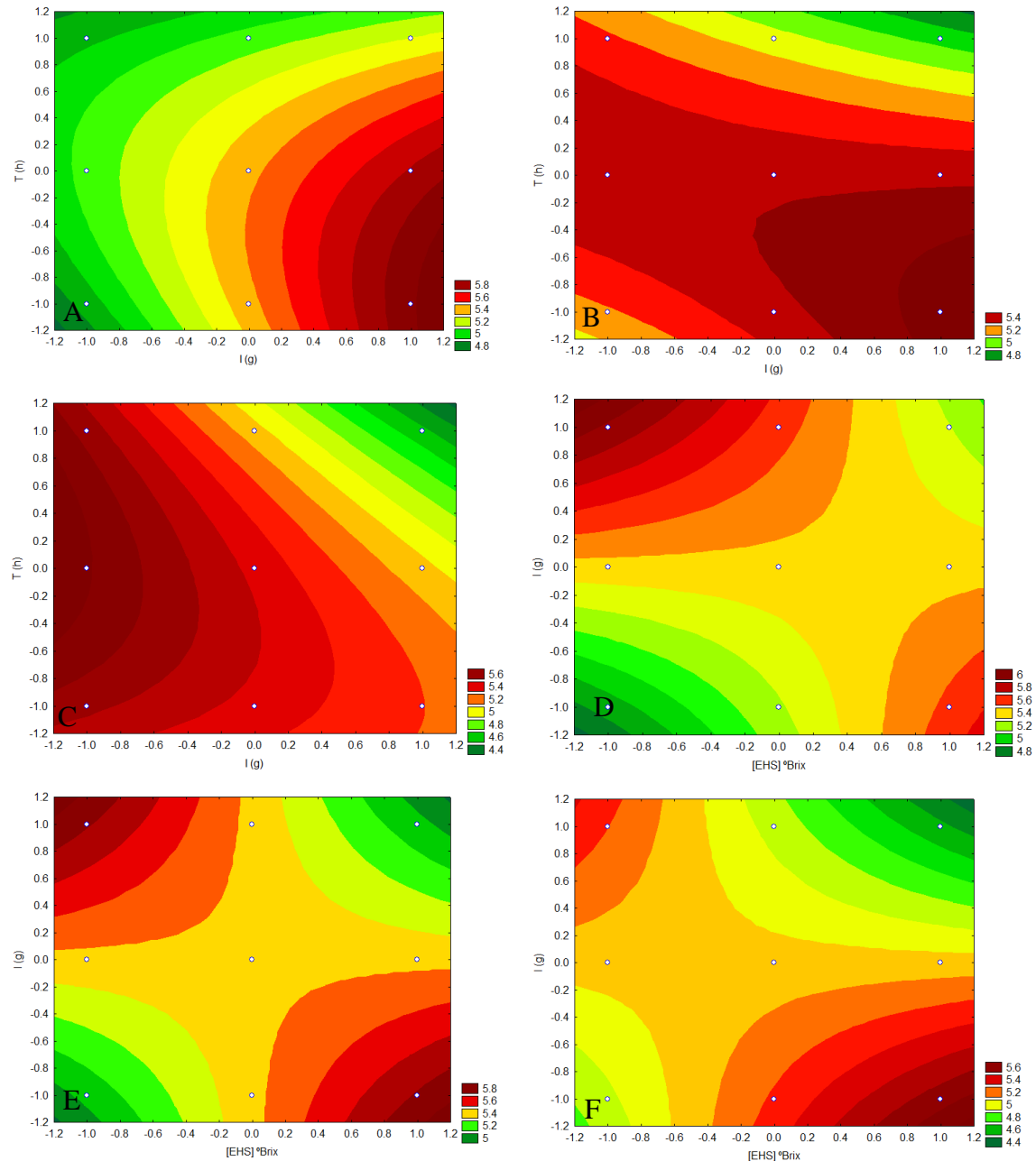


O tempo de fermentação, a interação entre a quantidade de inóculo e o teor de sólidos solúveis, e, a interação entre a quantidade de inóculo e o tempo de fermentação foram significativos ($p < 0,05$) para a variável resposta pH do EHS fermentado utilizando biomassa de quefir (Figura 3). Destes, o maior efeito foi exercido pela interação entre a quantidade de inóculo e o teor de sólidos solúveis do EHS que foi negativo. Isto indica que quando alguma das variáveis independentes são aumentadas, o pH no produto final diminui. A Equação 1 representa a variável pH ($R^2 = 83,36\%$, $R_{adj} = 76,71\%$).

$$pH = 5,26 - 0,32T + 0,17T^2 - 0,36IxT - 0,68Ix[EHS] \quad (1)$$

Enquanto nenhum efeito das variáveis independentes mostrou-se significativa para a acidez do EHS fermentado utilizando biomassa de quefir (Figura 2 B), para o teor de sólidos solúveis totais (Figura 2 C), a diferença entre o valor inicial e o valor final foi significativa e positiva. Assim, quanto maior o teor de sólidos solúveis iniciais no EHS, maior a diferença entre este valor e o valor final no EHS fermentado.

Figura 3 – Curva de contorno de superfície de resposta para a variável dependente pH do EHS fermentado utilizando biomassa de quefir em que se fixou o teor de sólidos solúveis do EHS nas variáveis codificadas -1 (6°Brix) (A), (8 horas) (D); 0 (8°Brix) (B), (12 horas) (E); e +1 (10°Brix) (C), (16 horas) (F).

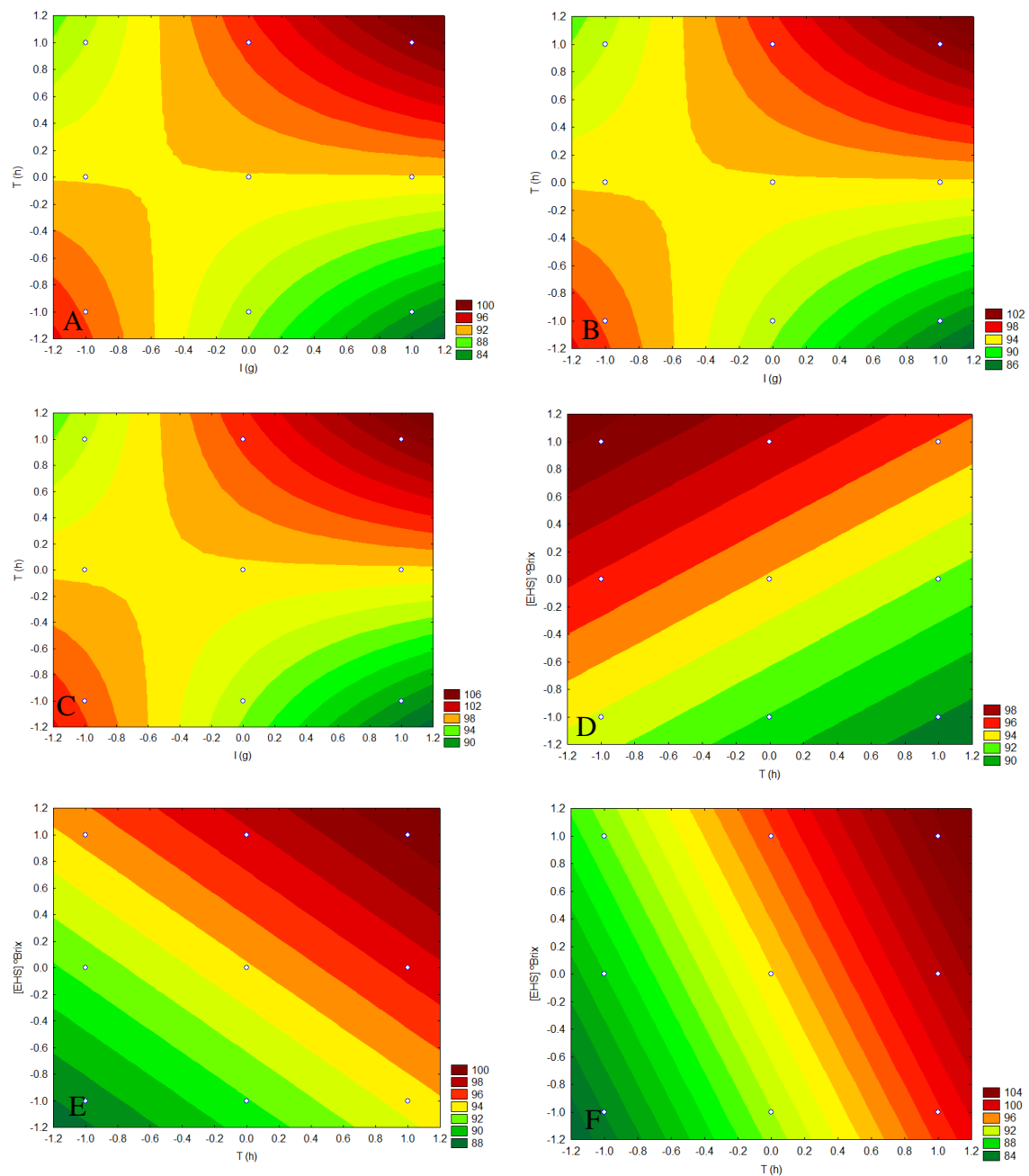


A estabilidade física representa importante parâmetro sob o ponto de vista sensorial no caso de bebidas proteicas (MARIN et al., 2014). Neste trabalho, o tempo, o teor de sólidos solúveis totais e a interação entre a quantidade de inóculo e tempo de fermentação mostraram-se significativas ($p < 0,07$) para a sedimentação (Figura 2 D). A

Equação 2 apresenta a variável sedimentação ($R^2 = 54,54\%$, $R_{adj} = 42,14\%$) e a Figura 4 os gráficos de superfície de resposta.

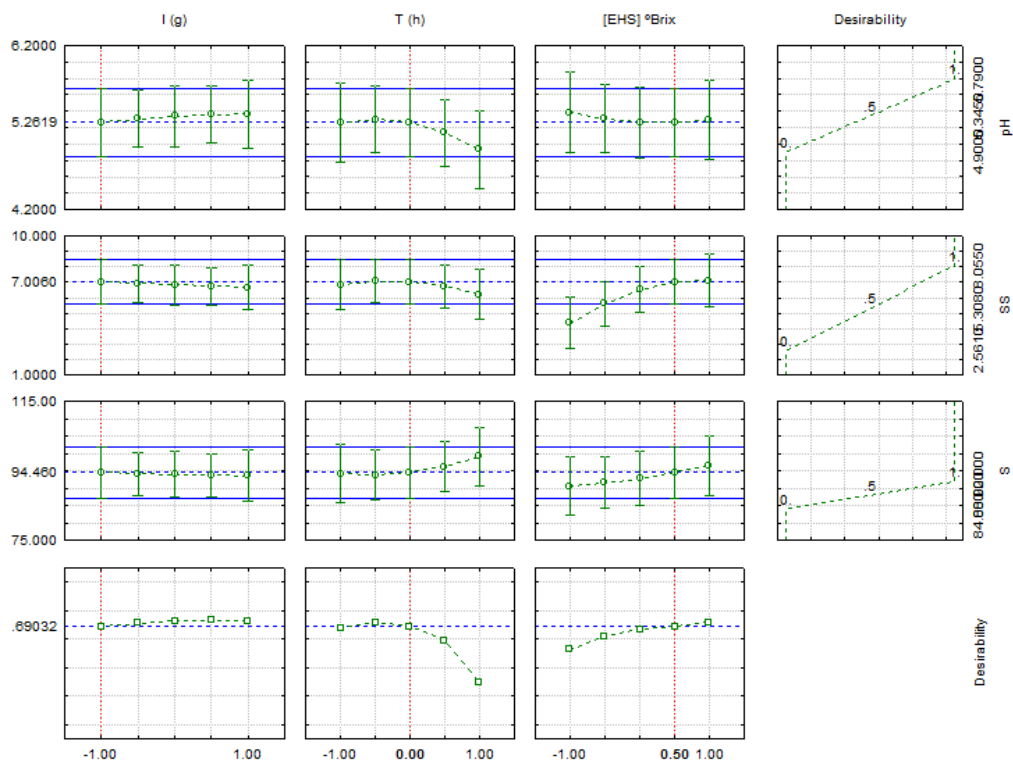
$$\text{Sedimentação} = 93,86 + 4,95T + 5,88[EHS] + 8,82I \times T \quad (2)$$

Figura 4 – Curva de contorno de superfície de resposta para a variável dependente sedimentação do EHS fermentado utilizando biomassa de quefir em que se fixou o teor de sólidos solúveis do EHS nas variáveis codificadas -1 (6°Brix) (A), (4 gramas) (D); 0 (8°Brix) (B), (6 gramas) (E); e +1 (10°Brix) (C), (8 gramas) (F).



Considerando como desejabilidade para a bebida fermentada desenvolvida, um pH maior que 4,5, menor teor de sólidos solúveis totais que indicaria maior consumo de substrato pela biomassa e menor percentual de sedimentação, fator que afetaria a aparência global do produto, realizou-se a otimização conforme apresentado pela Figura 5.

Figura 5 – Otimização do ensaio experimental desejável para o EHS fermentado utilizando biomassa de quefir

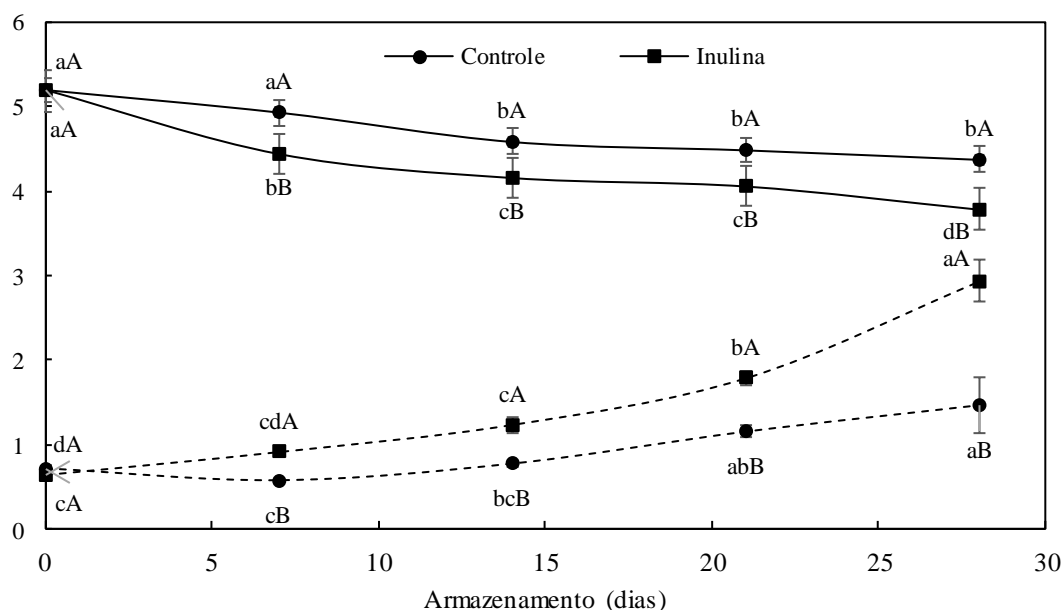


Desta forma, o tratamento escolhido para a bebida fermentada foi a correção do teor de sólidos solúveis do EHS para 9° Brix antes da fermentação, a inoculação com biomassa de quefir na proporção de 4g:100ml (quefir:EHS) e a fermentação por 12 horas a 25°C. Então, a partir da definição destes parâmetros do processo fermentativo, adotou-se dois tratamentos para o estudo da vida de prateleira da bebida que foi realizado durante 28 dias de armazenamento (tempos 0, 7, 14, 21 e 28 dias) a 7°C em BOD em dois tratamentos: (A) tratamento controle e (B) tratamento com adição de 3,5% (m/v) de inulina.

3.2 Avaliação das características físico-químicas da bebida fermentada durante o armazenamento

A Figura 6 apresenta os valores de pH e acidez total titulável das bebidas fermentadas para os tratamentos controle e contendo inulina.

Figura 6 – Análises de pH (traço contínuo) e acidez titulável total (mg ácido láctico por 100 mL de bebida fermentada) (traço pontilhado) das bebidas fermentadas



Letras maiúsculas diferentes mostram diferença significativa entre as amostras de bebida fermentada com e sem inulina no mesmo dia de armazenamento pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Letras minúsculas diferentes mostram diferença significativa entre a bebida fermentada durante o tempo de armazenamento pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Houve decréscimo nos valores de pH durante o armazenamento das bebidas fermentadas controle e inulina. Durante o período de armazenamento foi observado um aumento na acidez titulável, ou seja, as bebidas tornaram-se mais ácidas. Maiores valores de pH corroboraram com menores valores de acidez titulável. O aumento da acidez titulável da bebida fermentada durante armazenamento de 0 a 28 dias foi entre 0,66 a 1,48 % e 0,64 a 2,66 % para as formulações controle e inulina, respectivamente. A legislação brasileira preconiza que as bebidas de quefir devem ter acidez titulável entre 0,5 e 1,5 % de ácido láctico (BRASIL, 2000), portanto, a durabilidade máxima das

formulações, considerando este parâmetro, seriam de no máximo 28 e 14 dias para a bebida fermentada controle e inulina, respectivamente.

Autores alegam que em produtos fermentados é comum manutenção ou diminuição da acidez durante o armazenamento, fato que é atribuído à proteólise microbiana (GUZEL-SEYDIM et al., 2005) ou a capacidade das leveduras em assimilar o lactato presente no meio (LOPITZOTSOA et al., 2006). O aumento da acidez é resultado da pós-acidificação dos produtos e está relacionado à continuidade do processo fermentativo pelas bactérias ácido-láticas durante o período de estocagem, com produção de ácido lático. Embora o aumento da acidez tenha ocorrido durante toda a vida de prateleira (até o 28º dia), as análises microbiológicas (Tabela 5) mostraram aumento na contagem significativo de todos os gêneros de micro-organismos somente até o 14º dia de armazenamento.

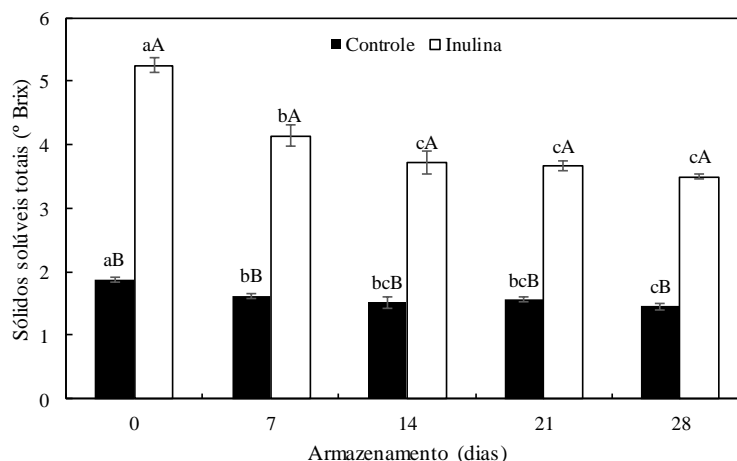
A Figura 7 apresenta a concentração de sólidos solúveis totais da bebida fermentada controle e com inulina ao longo de 28 dias de armazenamento. A adição de 3,5 % de inulina aumentou a concentração de sólidos solúveis independente do período de armazenamento das bebidas fermentadas. As concentrações de sólidos totais da bebida fermentada variaram de 1,88 a 1,45 % e 5,26 a 3,49 %, nas formulações controle e com inulina, respectivamente. Foi possível perceber que durante o processo de fermentação houve consumo de sólidos solúveis e, associado ao aumento na produção de ácido, demonstrado pelo baixo pH e alto valor de acidez, são indicativos de processo microbiológico pós-acidificação.

A Tabela 3 apresenta as coordenadas de cromaticidade L*, a* e b* que foram avaliadas na bebida fermentada de extrato hidrossolúvel de soja utilizando biomassa de quefir no armazenamento a 7 ° C durante 28 dias. Até 14º dia de armazenamento não houve mudança significativa na coordenada a* (associada a dimensão verde-vermelho) para o tratamento controle e com inulina. Enquanto para a coordenada b* (associada a dimensão azul-amarelo) os maiores valores aconteceram aos 28 dias de armazenamento e diferença significativa foi encontrada após o 7º dia de armazenamento (Tabela 3) para os tratamentos controle e com inulina.

A cor da bebida está relacionada à presença de pigmentos na matéria-prima que pode ser influenciada pela variedade da soja. O tempo de armazenamento e as variações de pH, podem também atuar na modificação da coloração de alimentos fermentados pelos efeitos das condições de processamento (GONÇALVES, 2009). A bebida

fermentada apresentou característica de cor levemente amarelada, com valores positivos na coordenada b*.

Figura 7 – Sólidos solúveis totais (°Brix) das bebidas fermentadas



Letras maiúsculas diferentes mostram diferença significativa entre as amostras de bebida fermentada com e sem inulina no mesmo dia de armazenamento pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Letras minúsculas diferentes mostram diferença significativa entre a bebida fermentada durante o tempo de armazenamento pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Tabela 3 – Análise cromática das bebidas fermentadas

Tempo (dias)	L*		a*		b*	
	Controle	Inulina	Controle	Inulina	Controle	Inulina
0	81,02±0,23 ^{aA}	80,63±0,12 ^{cB}	2,54±0,04 ^{aA}	2,70±0,00 ^{ab}	18,14±0,32 ^{cB}	18,82±0,07 ^{cA}
7	81,02±0,12 ^{aA}	80,33±0,32 ^{dB}	2,54±0,17 ^{aA}	2,56±0,20 ^{abA}	19,32±0,35 ^{bA}	19,60±0,31 ^{bA}
14	81,51±0,36 ^{bA}	81,30±0,55 ^{abA}	2,43±0,09 ^{bA}	2,50±0,18 ^{abA}	19,29±0,19 ^{bB}	19,92±0,32 ^{abA}
21	81,68±0,56 ^{abA}	81,0±0,23 ^{bcB}	2,28±0,09 ^{bA}	2,42±0,15 ^{bA}	19,61±0,31 ^{abA}	19,75±0,25 ^{abA}
28	82,10±0,12 ^{aA}	81,69±0,57 ^{Aa}	2,40±0,02 ^{aA}	2,49±0,11 ^{bA}	19,82±0,36 ^{aA}	20,05±0,25 ^{aA}

Letras maiúsculas diferentes mostram diferença significativa entre as amostras de bebida fermentada com e sem inulina no mesmo dia de armazenamento pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Letras minúsculas diferentes mostram diferença significativa entre a bebida fermentada durante o tempo de armazenamento pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

A Tabela 4 apresenta a firmeza, a sedimentação e a sinérese avaliadas na bebida fermentada de extrato hidrossolúvel de soja utilizando biomassa de quefir durante o armazenamento a 7° C durante 28 dias.

Tabela 4 – Firmeza (N), sedimentação (%) e sinérese (mL.100g⁻¹) das bebidas fermentadas

Tempo	Firmeza (N)		Sedimentação (%)		Sinérese (mL.100g ⁻¹)	
	Controle	Inulina	Controle	Inulina	Controle	Inulina
0	0,19±0,03 ^{aA}	0,20±0,03 ^{cA}	89,3±5,62 ^{aA}	91,7±3,13 ^{aA}	49,9±1,56 ^{Aa}	47,6±1,08 ^{aA}
7	0,20±0,04 ^{aA}	0,33±0,13 ^{bcA}	87,9±5,96 ^{aA}	88,1±3,14 ^{abA}	23,8±0,89 ^{bB}	37,8±7,49 ^{aA}
14	0,25±0,05 ^{abB}	0,59±0,14 ^{abA}	92,2±2,32 ^{aA}	85,9±3,65 ^{bB}	15,8±2,77 ^{cB}	39,8±7,73 ^{aA}
21	0,40±0,21 ^{aA}	0,61±0,04 ^{abA}	88,7±3,24 ^{aA}	87,6±4,43 ^{abA}	11,3±1,72 ^{cB}	19,3±1,24 ^{bA}
28	0,34±0,12 ^{abB}	0,77±0,12 ^{aA}	90,5±3,10 ^{aA}	90,7±2,24 ^{aA}	10,8±3,85 ^{cA}	16,3±2,60 ^{bA}

Letras maiúsculas diferentes mostram diferença significativa entre as amostras de bebida fermentada com e sem inulina no mesmo dia de armazenamento pelo teste de Tukey (p<0,05). Letras minúsculas diferentes mostram diferença significativa entre a bebida fermentada durante o tempo de armazenamento pelo teste de Tukey (p<0,05).

*Tempo em dias.

Foi possível perceber que a firmeza das bebidas fermentadas foi maior quando a inulina foi utilizada no 14° dia de armazenamento e aumentou significativamente com o aumento dos dias de armazenamento no tratamento inulina. Entre os oligofrutos a inulina é a que possui maior peso molecular e a torna menos solúvel e com habilidade de formar micro cristais quando misturada com água ou leite. Esses microcristais não são percebidos na boca, mas interagem para formar uma textura finamente cremosa (FRANCK, 2002).

O aumento na quantidade de biomassa de quefir (formulação 4, 5, 6, 7, 8, 9) principalmente as formulações 5, 6, 8, 9, que tiveram tempo maior de fermentação, ocasionou aumento na firmeza dos produtos que foi significativo para o tratamento

inulina e não significativo para o tratamento controle. Segundo Farnworth (2005), os micro-organismos presentes na biomassa de quefir são capazes de produzir polissacarídeos extracelulares, principalmente a kefirana, os quais podem aumentar a viscosidade, capacidade de retenção de água e interação com outros componentes, resultando em aumento da rigidez, e conseqüentemente, maior firmeza nas bebidas. Porém a característica esponjosa descaracteriza a bebida além de resultar num acentuado sabor de levedura. Além disso, existe uma preferência dos consumidores de bebida fermentada geralmente têm preferência por produtos com textura semissólida (cremosa) (WSZOLEK et al., 2001; IRIGOYEN et al., 2005).

Não houve diferença significativa na sedimentação da bebida fermentada controle durante os 28 dias de armazenamento. Enquanto isso, para o tratamento utilizando inulina, a partir 14º dia houve diminuição significativa da sedimentação.

A sinérese nas bebidas fermentadas diminuiu ao longo do armazenamento tanto para o tratamento controle quanto para o tratamento inulina. A partir do 7º dia de armazenamento houve a redução de sinérese de 49,91 para 23,80 ml.100g⁻¹ no tratamento controle. Enquanto isso, mudança significativa na sinérese da bebida fermentada contendo inulina aconteceu somente a partir do 21º dia (de 39,84 para 19,37 ml.100g⁻¹). Para Lucey (2004), alguns fatores que contribuem para que os produtos fermentados apresentem sinérese são temperatura de fermentação, baixo teor de sólidos e armazenamento em temperaturas inadequadas.

Após 21 dias de armazenamento verificou-se desestabilidade da estrutura proteica com a conseqüente coagulação (Figura 8). Isso ocorreu provavelmente, pelo pH da bebida ter atingido o ponto isoelétrico das proteínas presentes na soja, relatado por ser aproximadamente 4,0 a 5,0 (ORTIZ et al., 2002). Para todas as proteínas há um valor de pH definido em que as cargas positivas e negativas se equilibram, ocorrendo atração entre elas, o que leva à insolubilização e a conseqüente precipitação (ponto isoelétrico). A solubilidade proteica de soja decresce ao valor mínimo perto do ponto isoelétrico (pH 4,5), e restringe sua utilização em alimentos ácidos (ORTIZ et al., 2002; RIBEIRO e SERAVALLI, 2004). Em um trabalho relatado por Marin et al. (2014) foi desenvolvida uma bebida probiótica de soja e encontrado resultados semelhantes, e valores de pH ácido resultaram numa agregação e precipitação das proteínas.

A sinérese não aumentou durante o período de armazenamento em ambos tratamentos. Para Aportela-Palacios, Sosa-Morales e Vélez-Ruiz (2005), valores de sinérese abaixo de 39% podem ser considerados satisfatórios. Exceto para o primeiro

dia de armazenamento, os valores médios obtidos neste estudo se encontraram dentro do recomendado por estes autores.

Figura 8 - Bebida fermentada de extrato hidrossolúvel de soja considerando biomassa de quefir controle (1) e inulina (2) durante o armazenamento a 7°C durante 28 dias



Fonte: O autor

3.3 Viabilidade microbiológica da bebida fermentada durante o armazenamento

A determinação de células viáveis para os gêneros *Lactobacillus*, *Lactococcus* e leveduras são apresentados pela Tabela 5.

O desenvolvimento e manutenção da população microbiana na bebida fermentada de ambas as formulações mostrou que este substrato é excelente para o cultivo de bactérias probióticas já que em qualquer tempo a contagem foi maior que 10^7 UFC. mL⁻¹, contagem no início da avaliação do armazenamento. Gilliland et al (2002) relatou que a contagem celular mínima de cultura específica recomendada para bebidas lácteas fermentadas é de $1,0 \times 10^6$ células viáveis por mL no momento do consumo, dependendo do micro-organismo. As bebidas que utilizam biomassa de quefir devem apresentar contagens de 10^7 UFC.g⁻¹ do total de bactérias de ácido lático e 10^4 UFC.g⁻¹ de contagens de leveduras (FAO/OMS, 2003). Desta forma, ambas bebidas, independente do dia de armazenamento, apresentaram-se dentro da legislação norte-americana.

Tabela 5 - Viabilidade dos gêneros *Lactobacillus*, *Lactococcus* e leveduras nas bebidas fermentadas

Tempo (dias)	<i>Lactobacillus</i> (UFC.mL ⁻¹)		<i>Lactococcus</i> (UFC.mL ⁻¹)		Leveduras (UFC.mL ⁻¹)	
	Controle	Inulina	Controle	Inulina	Controle	Inulina
0	3,47x10 ⁷ _{dA}	2,84x10 ⁷ _{cB}	2,13x10 ⁷ _{cB}	2,82x10 ⁷ _{bA}	3,06x10 ⁷ _{cA}	2,82x10 ⁷ _{cA}
7	8,79x10 ⁷ _{cB}	1,62x10 ⁸ _{bA}	8,07x10 ⁷ _{abB}	1,21x10 ⁸ _{aA}	1,44x10 ⁸ _{abB}	1,92x10 ⁸ _{bA}
14	1,97x10 ⁸ _{aB}	2,55x10 ⁸ _{aA}	9,16x10 ⁷ _{abA}	1,22x10 ⁸ _{aA}	1,53x10 ⁸ _{abB}	2,58x10 ⁸ _{aA}
21	1,59x10 ⁸ _{bB}	2,36x10 ⁸ _{aA}	1,05x10 ⁸ _{aB}	1,34x10 ⁸ _{aA}	1,70x10 ⁸ _{abB}	2,23x10 ⁸ _{bA}
28	7,14x10 ⁷ _{cB}	2,28x10 ⁸ _{aA}	7,90x10 ⁷ _{bB}	1,23x10 ⁸ _{aA}	1,36x10 ⁸ _{bB}	2,08x10 ⁸ _{bA}

Letras maiúsculas diferentes mostram diferença significativa entre as amostras de bebida fermentada com e sem inulina no mesmo dia de armazenamento pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Letras minúsculas diferentes mostram diferença significativa entre a bebida fermentada durante o tempo de armazenamento pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

A formulação contendo inulina apresentou maior crescimento de bactérias e leveduras comparado com a formulação controle. Houve aumento no número de colônias viáveis na bebida fermentada para *Lactobacillus* na formulação controle 1,59x10⁸ UFC mL⁻¹ e com inulina 2,36x10⁸ UFC.mL⁻¹ em até 21 dias. Foi possível perceber que mesmo assim, para ambos tratamentos, a contagem de *Lactobacillus* esteve acima de 10⁷ UFC mL⁻¹. De acordo com Ballus et al. (2010), os *Lactobacillus* possuem capacidade de resistir ao ácido, e é atribuída a presença de gradiente constante entre o pH extracelular e o pH citoplasmático.

Já para *Lactococcus* e leveduras este aumento foi até 21 dias de armazenamento, resultando em 1,05x10⁸ UFC.mL⁻¹ para a formulação controle e 1,34x10⁸ UFC.mL⁻¹ para a formulação com inulina. Para leveduras a variação foi de 1,70x10⁸ UFC.mL⁻¹ para 2,23x10⁸ UFC.mL⁻¹ para os tratamentos controle e inulina, respectivamente. Ao sétimo dia de armazenamento, ocorreu diminuição do número de bactérias, na formulação controle. Para formulação controle e com inulina foram encontradas diferenças significativas durante o crescimento de *Lactococcus*. Na formulação com inulina a instabilidade na contagem do micro-organismo pode ter decorrido do conteúdo

de frutanos utilizado como fonte nutricional durante o armazenamento. Alguns estudos encontraram efeito protetor de frutanos tipo inulina sobre bactérias probióticas, incluindo o aumento de sua sobrevivência e atividade durante a estocagem do produto (AKALIN, FENDERYA, AKBULUT, 2004; ARYANA, MCGREW, 2007).

Quanto a aplicação de fibras, Sendra et al., (2008) observaram que a adição de fibras cítricas reforçou o crescimento e a sobrevivência das bactérias durante o armazenamento, pois podem proteger culturas probióticas sob condições de estresse, tais como liofilização, secagem e armazenamento.

O crescimento dos micro-organismos possui 4 fases, conhecidas como fase lag, log, fase estacionária e de declínio. A fase lag é considerada a fase de adaptação da bactéria, ou seja, a fase em que ela está se adaptando ao meio, porém não significa que o crescimento está paralisado. Após esta fase acontece uma intensa metabolização e absorção de nutrientes e as bactérias começam a duplicar de tamanho, ou seja, aumentar o número de indivíduos. Esta duplicação é conhecida como a fase log ou de crescimento exponencial. À medida que aumenta o número de bactérias a quantidade de nutrientes ficará menor e mais rapidamente os nutrientes começarão a diminuir, resultando na redução do metabolismo conhecido como fase estacionária, logo as bactérias começarão a morrer entrando para a fase de declínio (JAY, 2005).

Neste produto fermentado utilizando biomassa de quefir, a fase log ou fase de crescimento exponencial provavelmente ocorreu entre 14 e 21 dias de armazenamento, onde houve maior crescimento de micro-organismos.

Como já discutido anteriormente, houve aumento da acidez durante o armazenamento. Isso está possivelmente relacionado ao fato de que os micro-organismos presentes na bebida continuarem viáveis, e mesmo mantendo o produto a uma temperatura de 7°C, estes continuam se reproduzindo e acidificando o meio durante o consumo de nutrientes. A formulação contendo inulina resultou em uma bebida mais acidificada e pH mais baixo comparada com o tratamento controle. Isso ocorreu porque o açúcar é metabolizado (Zhao e Shah, 2014) e o crescimento adequado de micro-organismos na maioria dos sistemas depende do catabolismo de açúcares. De acordo com Panesar et al. (2010) a concentração de íons de hidrogênio do meio tem influência sobre os micro-organismos. Outros fatores, tais como a presença de promotores ou inibidores do crescimento, a presença de peróxido de hidrogênio e oxigênio, as concentrações de metabólitos e nutrientes, e a capacidade tampão do meio ambiente, também pode afetar a sobrevivência do probiótico durante o armazenamento

(DONKOR et al., 2006; MORAES FILHO et al., 2016). Os principais ácidos formados pela biomassa de quefir são o ácido láctico, acético, cítrico, propiônico e butírico (Leite et al., 2013).

Baú et al. (2014) desenvolvendo uma bebida fermentada de soja com quefir observaram que no início da fermentação houve aumento de células e diminuição de pH pelo aumento da produção ácido láctico (LUCEY, 2001). No entanto, o acúmulo excessivo de ácido em produtos pode resultar em diminuição posterior do crescimento dos micro-organismos (MCCANN et al., 2011; DONKOR & SHAH, 2008; LEITE et al., 2013).

Segundo o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Bebidas Lácteas (BRASIL,2000), a manutenção da população de bactérias lácticas deve ser no mínimo de 10^6 UFC/mL no produto final durante todo o prazo de validade. Preconiza-se a ingestão semanal mínima de 300 a 500 gramas de produtos lácteos fermentados contendo entre 10^6 a 10^7 UFC/mL (GILLILAND, et al.,2002). Portanto, embora esta legislação não seja específica para o tipo de bebida desenvolvida, a contagem final de células viáveis na bebida fermentada em até 28 dias sob refrigeração, mostrou-se dentro dos limites recomendados para este produto.

3.4 Avaliação sensorial da bebida fermentada

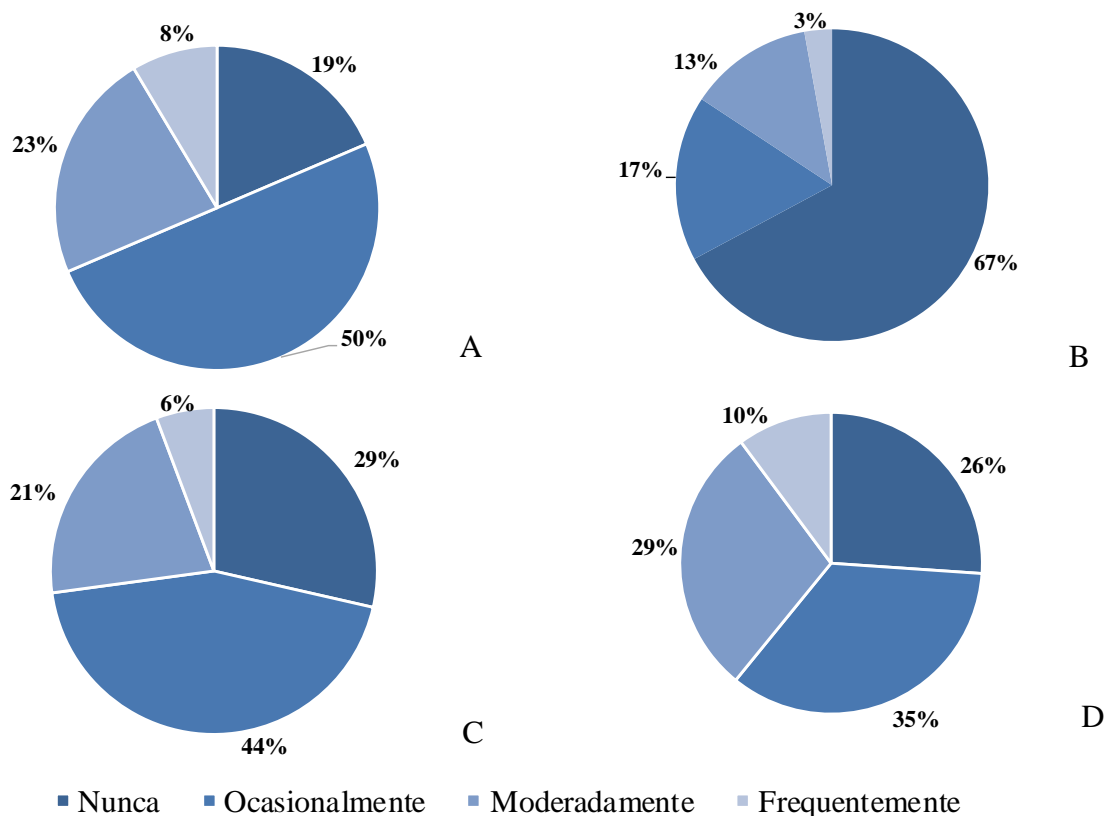
A bebida de soja fermentada foi avaliada sensorialmente após 14 dias de armazenamento e foi solicitado aos julgadores que agitassem antes de provar. Essa quantidade de dias foi escolhida para que o pH não fosse maior que 4,5, e a sedimentação e a sinérese são maiores e isso é um fator prejudicial para a aceitabilidade da bebida.

A avaliação sensorial foi realizada utilizando 70 provadores sendo 75,7% do sexo masculino e 24,3 % do sexo feminino. Destes, 74 % possuíam faixa etária de 15 a 25 anos, 20 % de 25 a 35 anos e 5 % entre de 35 a 50 anos. Os julgadores eram alunos de curso técnico, graduação e mestrado.

Do grupo de julgadores, 56 % indicaram gostar de soja e 48 % relataram gostar de extrato hidrossolúvel de soja. No questionário de recrutamento de julgadores utilizou-se teste de frequência de consumo e nele a frequência de consumo foi dividida em: nunca, ocasionalmente (2 a 3 vezes no ano), moderadamente (1 vez no mês) e frequentemente (semanalmente). A Figura 8 apresenta a frequência de consumo de soja,

bebidas funcionais, EHS e bebidas à base de soja dos julgadores selecionados para análise sensorial.

Figura 9 – Frequência de consumo de soja (A), frequência de bebidas funcionais (B), frequência de consumo de EHS (C) e frequência de consumo de bebida fermentada à base de soja (D)

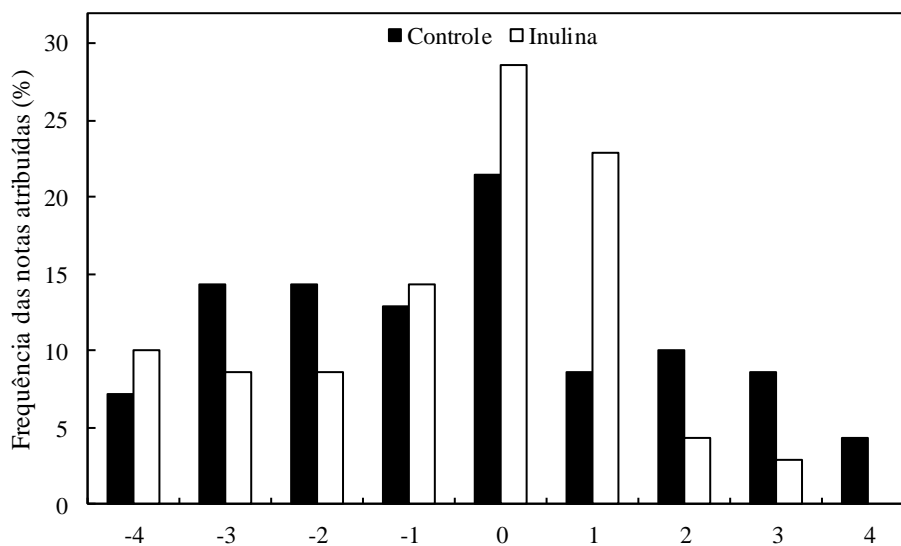


O consumo de soja e seus produtos foram considerado baixo, sendo que 50% (Figura 8 A), 67% (Figura 8 C), 44% (Figura 8 D) nunca consomem soja, EHS e bebidas à base de soja, respectivamente.

Quanto a bebidas funcionais, apenas 35% dos julgadores relataram nunca consumir. Entre os exemplos das bebidas funcionais consumidas foram relatadas bebidas contendo fibras ou probióticos como exemplo Yakult[®], Activia[®] e Ades[®].

O resultado da análise sensorial realizada com as bebidas fermentadas quanto a textura, aparência e sabor estão apresentados nas Figuras 10, 11A e 11B, respectivamente.

Figura 10 – Frequência das notas atribuídas para as texturas das bebidas fermentadas



Legenda: -4 Extremamente menos consistente, -3 Muito menos consistente que o ideal, -2 moderadamente menos consistente que o ideal, -1 Ligeiramente menos consistente que o ideal, 0 Ideal, +1 Ligeiramente mais consistente que o ideal, +2 Moderadamente mais consistente que o ideal, +3 Muito mais consistente que o ideal e +4 Extremamente mais consistente.

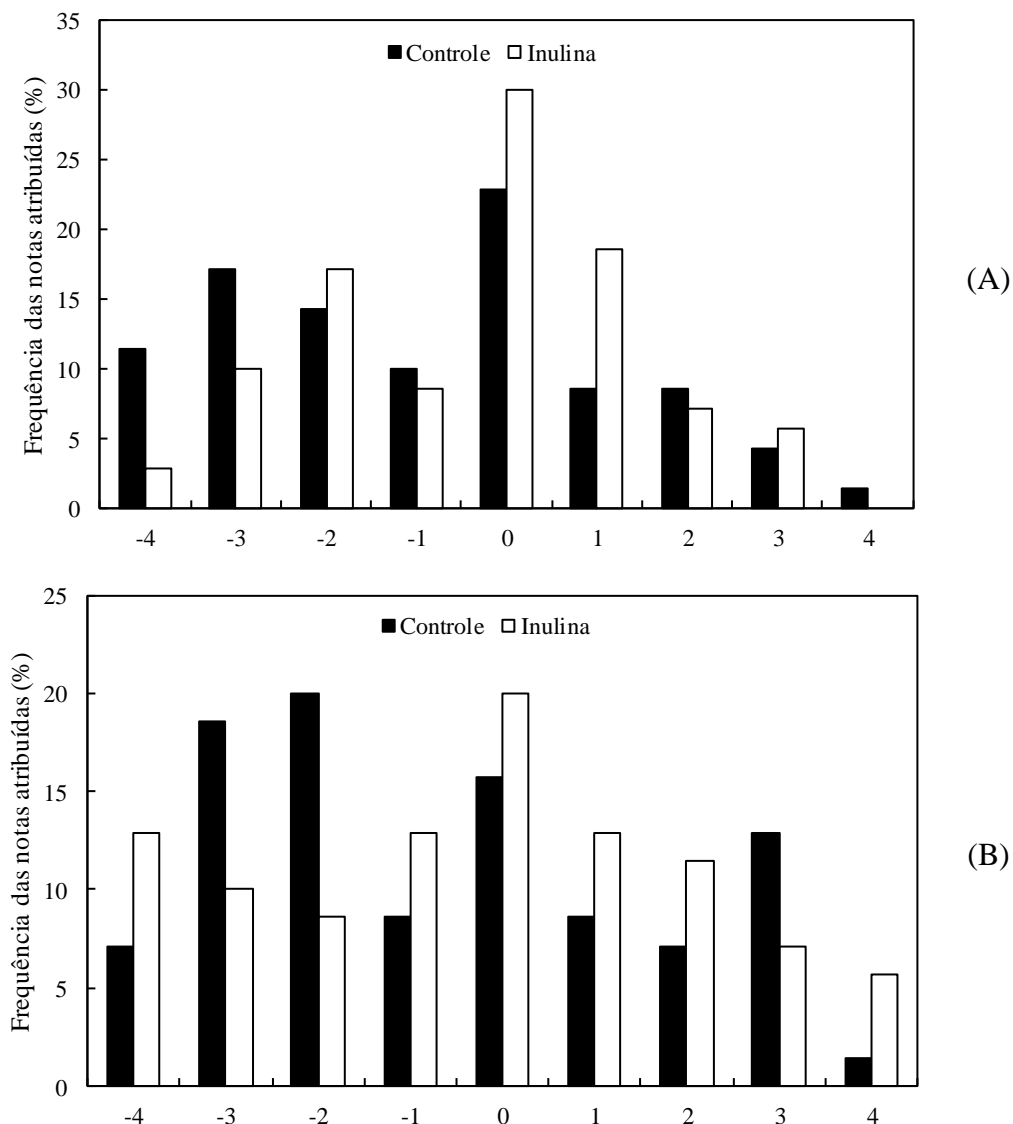
Na avaliação de textura, a formulação utilizando inulina obteve 29% dos julgadores para a classificação “ideal” e 21% para a formulação controle. Isso mostra que a inulina contribui para a aceitabilidade quanto a textura da bebida fermentada. Em um estudo feito por Bedani (2014) a inulina também não afetou na aceitabilidade sensorial.

Em relação ao atributo aparência, a formulação contendo inulina apresentou quase 50% dos julgadores que consideraram a bebida fermentada ideal/ligeiramente melhor que o ideal, enquanto para a formulação controle esse percentual foi de 30%.

Quanto ao atributo sabor que na formulação contendo inulina 32% dos julgadores consideraram ideal ligeiramente melhor que o ideal, enquanto para a formulação controle esse percentual foi somente de 24%. Estes dados apresentam a melhor aceitação da formulação contendo inulina quanto aos atributos textura, aparência e sabor. Segundo Gronnevik et al (2011), durante a fermentação muitos compostos de sabor são produzidos pelas culturas presentes na biomassa de quefir. O acetaldeído,

diacetil e acetoina são produzidos por bactérias lácticas e o etanol e dióxido de carbono pelas leveduras, sendo que a quantidade de biomassa e ingredientes adicionados está relacionada com número de micro-organismos e leveduras na bebida o que pode influenciar no sabor.

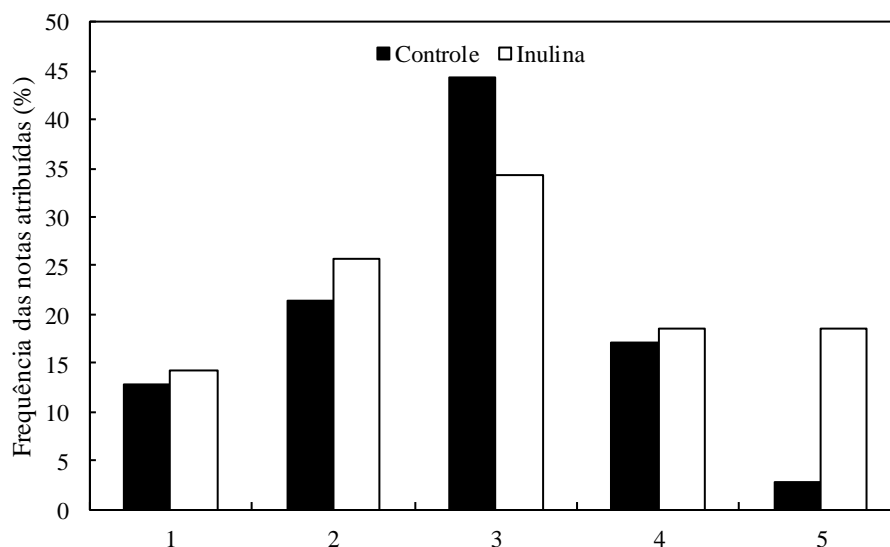
Figura 11 – Frequência das notas atribuídas para os atributos aparência (A) e sabor (B) das bebidas fermentadas



Legenda: -4 Extremamente pior que o ideal, -3 Muito pior que o ideal, -2 Moderadamente pior que o ideal, -1 Ligeiramente pior que o ideal, 0 Ideal, +1 Ligeiramente melhor que o ideal, +2 Moderadamente melhor que o ideal, +3 Muito melhor que o ideal e +4 Extremamente melhor que o ideal.

O teste de intenção de compra com as bebidas fermentadas (Figura 12) mostrou que para o tratamento contendo inulina houve maior percentual de julgadores que atribuíram as notas 1 e 2, sendo “certamente compraria” e “provavelmente compraria” (5,71 e 18,57 %, respectivamente). Sendo que 44,28 % dos julgadores indicaram que não tinha certeza se comprariam a formulação controle. Estes resultados corroboram com o grande percentual dos julgadores que nunca consumiram produtos de soja. Uma alternativa para a bebida fermentada seria a aromatização com polpa de frutas ou aromas naturais ou artificiais (ULIANA et al., 2012).

Figura 12 – Frequência das notas atribuídas para a intenção de compra das bebidas fermentadas



Legenda: 1 Certamente compraria, 2 Provavelmente compraria, 3 Não tenho certeza, 4 Provavelmente não compraria, 5 Nunca compraria.

3.5 Composição proximal e mineral da bebida fermentada

No 14º dia de armazenamento, foi avaliado a composição proximal e mineral presente na bebida fermentada (controle e inulina) que estão apresentadas nas Tabelas 6 e 7, respectivamente.

Tabela 6 - Composição proximal das formulações das bebidas fermentadas

Formulações	Controle	Inulina
Umidade (g.100g ⁻¹)	92,85±0,16 ^A	90,74±0,08 ^B
Proteína* (g.100g ⁻¹ BU)	2,85±0,59 ^A	3,70±0,59 ^A
Lipídeos (g.100g ⁻¹ BU)	1,25±0,54 ^B	1,73±0,32 ^A
Cinzas (g.100g ⁻¹ BU)	0,40±0,57 ^B	0,39±0,14 ^A
Carboidratos (g.100g ⁻¹)	2,62±0,85 ^A	3,42±0,74 ^A
Valor energético (Kcal)	33,25	44,14

Valores constituem média ± desvio padrão de triplicatas. *Fator de conversão de nitrogênio em proteína 6,25. Letras maiúsculas diferentes mostram diferença significativa entre a bebida fermentada durante o tempo de armazenamento pelo teste de t (p<0,05). BU base úmida.

A formulação com inulina apresentou maior teor de carboidratos uma vez que a mesma foi adicionada de fibra. Isso faz com que nesta formulação seja coerente o aumento constatado dos macronutrientes e do valor calórico total em relação a formulação controle, já que no cálculo do valor energético se considera os valores de proteínas, lipídios e carboidratos.

Tabela 7 - Composição mineral das formulações das bebidas fermentadas

Minerais	Controle	Inulina
	*Quantidade	*Quantidade
Fósforo (g.100g ⁻¹)	0,21±0,01 ^A	0,21±0,00 ^B
Potássio (g.100g ⁻¹)	0,34±0,01 ^A	0,30±0,00 ^B
Cálcio (g.100g ⁻¹)	0,01±0,00 ^A	0,01±0,00 ^A
Magnésio (g.100g ⁻¹)	0,06±0,00 ^A	0,05±0,00 ^A
Enxofre (g.100g ⁻¹)	0,22±0,00 ^A	0,22±0,05 ^A
Ferro (mg.100g ⁻¹)	2,40±0,08 ^A	2,31±0,09 ^A
Manganês (mg.100g ⁻¹)	0,84±0,04 ^A	0,75±0,05 ^B
Cobre (mg.100g ⁻¹)	0,27±0,05 ^A	0,23±0,01 ^A
Zinco (mg.100g ⁻¹)	1,23±0,01 ^A	1,16±0,01 ^B

*Valores constituem médias ± desvio padrão de triplicata. Letras maiúsculas diferentes mostram diferença significativa entre a bebida fermentada durante o tempo de armazenamento pelo teste de t (p<0,05). BS base seca.

A Tabela 7 apresenta a composição mineral da bebida fermentada. Segundo TACO (Tabela Brasileira de Composição de Alimentos) (2011), a bebida de soja deve apresentar, 0,4 mg de ferro e 0,3 mg de zinco. Os valores de ferro e zinco encontrados neste trabalho são superiores quando comparados com a TACO.

O zinco é um mineral essencial que atua em diversas funções do organismo pelo fato de ser cofator de mais de 300 enzimas e proteínas. Por isso, o Zn é importante em atividades do sistema imune, prevenção de formação de radicais livres, crescimento estatual, desenvolvimento sexual e cognitivo e síntese de DNA (MAFRA, 2004). O ferro é um componente fundamental da hemoglobina, atua na síntese (fabricação) das células vermelhas do sangue e no transporte de oxigênio para todas as células do corpo. A anemia ferropriva é causada pela deficiência de ferro e pode resultar em retardo do desenvolvimento motor e neurofisiológico, comprometimento da imunidade celular, diminuição da capacidade intelectual e desempenho cognitivo. A deficiência de zinco pode causar redução do apetite, retardo no crescimento, disfunções reprodutivas, perda de peso, diarreia, alopecia, letargia mental, alterações na pele e paladar. A carência destes micronutrientes pode trazer sérias consequências à saúde infantil (TOSTES, 2015).

A IDR (Ingestão Diária Recomendada) preconiza a ingestão de zinco de 2,5 mg/dia para criança, 12 a 14 mg/dia para lactantes e 8 a 11mg/dia para adultos. Observa-se que a ingestão de 2 porções, 200 ml para crianças, da bebida fermentada atinge os valores da IDR para zinco (FAO, 2001).

Conclusões

Com o planejamento experimental foi possível a escolha de uma formulação de EHS fermentado utilizando biomassa de quefir nas seguintes condições: teor de sólidos solúveis do EHS 9 ° Brix, biomassa de quefir (4 g:100mL, quefir: EHS), e o estudo da vida de prateleira da bebida durante 28 dias de armazenamento (tempos 0, 7, 14, 21 e 28 dias) à 7° C.

Lactobacilos, *Lactococcus* e leveduras atingiram o máximo em 21 dias a 7°C. No entanto, durante o armazenamento, o crescimento dos probióticos provenientes da biomassa de quefir, pelo fator limitante de consumo que é o valor do pH (4,5) determinou-se a vida de prateleira máxima da bebida fermentada em 14 dias. A inulina adicionada à bebida fermentada foi eficiente na manutenção dos micro-organismos, na firmeza, diminuição da sedimentação e contribuiu com a aceitabilidade da bebida.

REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). **Alimentos com Alegações de Propriedades Funcionais e ou de Saúde, Novos Alimentos/Ingredientes, Substâncias Bioativas e Probióticos VIII - Lista dos Novos Alimentos aprovados.** 2008. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno_lista_alega.htm: Acesso em: 10 de set. de 2015.

AKALIN, A.S.; GONÇ, G.; UNAL,G.; FENDERYA,S. Effects of fructooligosaccharide and whey protein concentrate on the viability of lactic culture in reduced fat probiotic yogurt during storage. **Journal of Food Science**, v. 72, n. 7, p. 222-227, 2007.

ALEZANDRO, M.R.; GRANATO, D.; LAJOLO, F.M.; GENOVESE, M.I. Nutritional aspects of second generation soy foods. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, n.10, p.5490-7, 2011.

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

ARYANA, K. J.; MCGREW. P. Quality attributes of yogurt with *Lactobacillus casei* and various prebiotics. **Food Science Technology**, v. 40, n. 10, p. 1808-1814, 2007.

ARYANA, K.J. Folic acid fortified fat free plain set yoghurt. **International Journal of Dairy Technology**, v.56, n.4, p.219-22, 2003.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of Analysis of AOAC International.** 17th. v. II., 2000.

BALLUS, C. A.; KLAJN, V. M.; CUNHA, M.F.; OLIVEIRA, M.L.; FIORENTINI, A.M. - Aspectos Científicos e Tecnológicos do Emprego de Culturas Probióticas na elaboração de produtos lácteos fermentados: Revisão – **Boletim CEPPA**, v. 28, n. 1, p. 85-96, 2010.

BAÚ, T.R.; GARCIA, S.; IDA, E.I. Changes in soymilk during fermentation with kefir culture: oligosaccharides hydrolysis and isoflavone aglycone production. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v.1, p.845-50, 2015.

BAÚ, T.R.; GARCIA, S.; IDA, E.I. Evaluation of a functional soy product with addition of soy fiber and fermented with probiotic kefir culture. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.57, n.3, p.402-09, 2014.

BEDANI, R.; CAMPOS, M.M.S.; CASTRO, I.A.; ROSSI, E.A.; SAAD, S.M.I. Incorporation of soybean by-product okara and inulin in a probiotic soy yoghurt: texture profile and sensory acceptance. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 94, n.1, p. 119–125, 2014.

BEDANI, R.; ROSSI, E.A.; SAAD, S.M.I. Impact of inulin and okara on *Lactobacillus acidophilus* La-5 and *Bifidobacterium animalis* Bb-12 viability in a fermented soy product and probiotic survival under in vitro simulated gastrointestinal conditions **Food Microbiology**, v. 34 n.2, p. 382-389, 2013.

BOWLES, S.; DEMIATE, I.M. Caracterização físico-química de okara e aplicação em pães do tipo francês. **Ciências e Tecnologia de Alimentos**, v.26, n.3, p. 652-59, 2006.

BOX, G.E.P.; HUNTER, W.G.; HUNTER, J.S. **Statistics for experiments as introduction to design, data analysis and model building**. New York: John Wiley and Sons, p 510-39, 1978.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. **Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Bebidas Lácteas da Instrução Normativa Nº 36, de 31 de outubro de 2000**. Disponível em: <<http://anvisa.gov.br>>. Acesso em: 30 abr. 2017.

BUJALANCE, C.; MORENO, E.; VALERA-JUMENEZ, M.; BRAVO-RUIZ, A. Probiotic strain of *Lactobacillus plantarum* stimulates lymphocyte responses in immunologically intact and immunocompromised mice. **International Journal of Food Microbiology**, v.113, p.28-34, 2007.

CÔNSOLO, F. Z. **Avaliação das concentrações de magnésio, zinco, cobre, ferro, manganês, alumínio, cromo, cádmio, níquel, cobalto e molibdênio nas hortaliças tuberosas comercializadas e consumidas em Mato Grosso do Sul**. 2014. 126 f. Tese (Programa de Pós-Graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro Oeste) apresentada a Faculdade de Medicina/UFMS, Campo Grande, 2014.

COOK, M.; KHUTORYANSKIY, W. Microencapsulation of probiotics for gastrointestinal delivery. **Journal of Controlled Release**, v.162, n.1, p.56-67, 2012.

DELLO STAFFOLO, M.; BERTOLA, N.; MARTINO, M.; BEVILACQUA, A. Influence of dietary fibre addition on sensory and rheological properties of yoghurt. **International Dairy Journal**, v.14, n.3, p. 263–68, 2004.

DOMAGALA, J.; SADY, M.; GREGA T.; BONCZAR, G. Rheological properties and texture of yoghurts when oat-maldextrin is used as fat substitute. **International Journal of Food Properties**, v. 9, n.1, p. 1-11, 2006.

DONKOR, O.N.; SHAH, N.P. Production of beta-glucosidase and hydrolysis of isoflavone phytoestrogens by *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium lactis*, and *Lactobacillus casei* in soymilk. **Jornal of Food Science**, v. 73, n. 1, p. 15-20, 2008.

FAO/OMS. Human Vitamin and Mineral Requirements. In: Report 7^a Joint **FAO/OMS Expert Consultation**. Bangkok, Thailand, 2001, 286p.

FAO/WHO (Food and Agriculture Organization of the United Nations/ World Health Organization). 2003. **Codex standard for fermented milk**. Codex Stan. 2 ed. FAO/WHO: Rome, Italy, 2003.243p.

FARNWORTH, E.R. kefir - a complex probiotic. **Food Science and Technology Bulletin**, v. 2, n. i, p. 1-17, 2005.

FRANCK, A. Technological functionality of inulin and oligofructose. **British Journal of Nutrition**, v. 87, n. 2, p. 287- 291, 2002.

FRITZEN-FREIRE, C.B.; E.S.; PINTO, S.S; MUÑOZ, I.B.; AMBONI, R.D.M.C. Effect of microencapsulation on survival of *Bifidobacterium* BB-12 exposed to simulated gastrointestinal conditions and heat treatments. **LWT- Food Science and Technology**, v.50, n.1, p.39 – 44, 2013.

GILLILAND, S.E.; REILLY, S.S.; KIM, H.S. Viability during storage of selected probiotic lactobacilli and bifidobacteria in yogurt-like product. **Food Microbiology Safety**, v. 67, n. 8, p.3091- 95, 2002.

GONÇALVES, M.M. **Desenvolvimento e caracterização de queijo tipo quark simbiótico**. 2009. 61p. Dissertação. (Mestrado em Ciências e Tecnologia de Alimentos) apresentado a Universidade Federal de Viçosa –MG, 2009.

GRANATO, D.; MASSON, M.L.; RIBEIRO, J.C.B. Sensory acceptability and physical stability evaluation of a prebiotic soy-based dessert developed with passion fruit juice. **Food Science and Technology**, v. 32, n.1, p.119-126, 2012.

GRONNEVIK, H.; FALSTAD, M.; NARVHUS, J.A. Microbiological and chemical properties of Norwegian kefir during storage. **International Dairy Journal**, v.21, n. 9, p.601-606, 2011.

GUZEL-SEYDIM, Z.; WYFFELS, J.; SEYDIM, A.C.; GREENE, A.K. Turkish kefir and kefir grains: microbial enumeration and electron microscopic observation. **International Journal of Dairy Technology**, v. 58, n. p. 25-29, 2005.

IRIGOYEN, A.; ARANA, I.; CASTIELLA, M.; TORRE, P.; IBANEZ, F.C. Microbiological, physicochemical, and sensory characteristics of kefir during storage. **Food Chemistry**, v. 90, n.1, p. 613-20, 2005.

JACKSON, C.J.C.; DINI, J.P.; LAVANDIER, C.; RUPASINGHE, H.P.V.; FAULKNER, H.; POYSA, V.; BUZZELL, D.; GRANDIS, S. Effects of processing on the content and composition of isoflavones during manufacturing of soy beverage and tofu. **Process Biochemistry**, v. 37, n. p. 1117-1123, 2001.

JANUÁRIO, J.G.B., LIMA, T.M., PORTELLA, D.A.C., JANUÁRIO, C.B, KLOSOSKI, S.J., PIMENTEL, T.C. Development of Kefir Beverages: Standardization of Process Parameters, **Brazilian Journal of Food Research**, v.7, n. 2, p. 80-95, 2016.

JAY, J. M. **Microbiologia de alimentos**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.

LEITE, A.M.O.; LEITE, D.C.A.; AGUILA, E.M.D.; ALVARES, T.S.; PEIXOTO, R.S.; MIGUEL, M.A.L.; SILVA, J.T.; PASCHOALIN, V.M.F. Microbiological and chemical characteristics of Brazilian kefir during fermentation and storage processes. **Journal Dairy Science**, v.96, n.t ,p. 4149-59, 2013.

LOPITZ-OTSOA, F.; REMENTERIA, A.; ELGUEZABAL, N.; GARAIZAR, J. Kefir: a symbiotic yeasts-bacteria community with alleged healthy capabilities. **Revista Iberoamericana de Micologia**, v. 23, n.2, p. 67-74, 2006.

LUCEY JA. The relationship between rheological parameters and whey separation in milk gels. **Food Hydrocolloids**, v.15, n.4-6 ,p.603-08, 2001.

LUCEY, A.J. Culture dairy products: An overview of their gelation and texture properties. **International Journal of Dairy Technology** , v.57, n. 1, p.34-40, 2004.

MAFRA, D.; COZZOLINO, S.M. The importance of zinc in human nutrition. *Revista de Nutrição*,v.17, p. 79-87, 2004.

MARIN, M.; MADRUGA, N.A.; RODRIGUES, R.S.; MACHADO, M.R.G. Caracterização físico-química e sensorial de bebida probiótica de soja. **Boletim CEPPA**, v. 32, n. 1, p. 93-104, 2014.

MCCANN, T.H.; FABRE, F.; DAY, L. Microstructure, rheology and storage stability of low-fat yoghurt structured by carrot cell wall particles. **Food Research International**, v.44, n.4, p.884-92, 2011.

MENEZES, C.R.; DURRANT, L.R. Xilooligossacarídeos: produção, aplicações e efeitos na saúde humana. **Ciência Rural**, v.38, n.2, p.587-92, 2008.

MORAES FILHO, M.L.; BUSANELLO, M.; GARCIA, S. Optimization of the fermentation parameters for the growth of *Lactobacillus* in soymilk with okara flour **LWT - Food Science and Technology**, v.74, p. 456 - 464, 2016.

MOURA, S.C.S.R., GERMER, S.P.M. Reações de Transformação e Vida de Prateleira de Alimentos processados - **Manual Técnico**, ed.3, Campinas: ITAL, 2004, 92 p.

ORTIZ, S.E.M.; WAGNER, J. E. Hydrolysates of native and modified soy protein isolates: structural characteristics, solubility and foaming properties. **Food Research International**, v.35, p. 511-18, 2002.

PANESAR, P.S.; KENNEDY, J.F.; KNILL, C.J.; KOSSEVA, M. Production of L (+) lactic acid using *Lactobacillus casei* from whey. **Brasilian Archive of Biology and Tecnology**, v. 53, n. 1, p. 219-226, 2010.

PIMENTEL, T.C.; MADRONA, G. S.; GARCIA, S.; PRUDENCIO, S. H. Probiotic viability, physicochemical characteristics and acceptability during refrigerated storage of clarified apple juice supplemented with *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei* and oligofructose in different package type. **Food Science Technology**, v. 63, n.1, p. 415-422, 2015.

RIBEIRO, E.P.; SERAVALLI, E.A.G. **Química de alimentos**. São Paulo: Edgard Blücher, 2004. 184 p.

RODRIGUES, R. da S.; MORETTI, R.H. Caracterização físico-química de bebida proteica elaborada com extrato de soja e polpa de pêssego. **Boletim do CEPPA**, v.26, n.1, p.101-110, 2008.

SANTOS, R. B; BARBOSA, L. P. J. L; BARBOSA, F. H. F. Probióticos: microrganismos funcionais. **Ciência Equatorial**, v. 1, n. 2, p. 26-38, 2011.

SENDRA, E.; FAYOS, P.; FERNANDEZ-LÓPEZ, J.; BARBERÁ, S.; PÉREZ-ALVAREZ, J.A. Incorporation of citrus fibers in fermented milk containing probiotic bacteria. **Food Microbiol**, v. 25, n. 1, p.13-21, 2008.

TACO. Tabela brasileira de composição de alimentos. 4 ed. rev. e amp. Campinas: NEPA-UNICAMP, 2011. 161p.

THARMARAJ, N., SHAH, N. P. Selective Enumeration of *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacteria*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus*, and Propionibacteria. **Journal of Dairy Science**, v. 86, n. 7, p. 2288-96, 2003.

TOSTES, M.G.V.; PIRES, P.C.C.; PAULA, A.H.; BARROS, A.B.; FREITAS, F.V.; ANA, H.M.P.S.; PEDROSA, R.G.; COSTA, N.M.B. Estado nutricional relativo ao ferro, zinco e vitamina A de pré-escolares inseridos em um programa de educação alimentar e nutricional. **UH Revista**, v. 41, n. 3 e 4, p. 163-170, 2015.

ULIANA, M.R., VENTURINI FILHO, W.G., ULIANA, L.R. Teste de aceitação de bebida mista de soja e amora. **Brazilian Journal Food Technology**, v. 15, n. 2, p. 174-181. 2012.

WSZOLEK, M.; TAMIME, A.Y.; MUIR, D.D.; BARCLAY, M.N.I. Properties of Kefir made in Scotland and Poland using bovine, caprine and ovine milk with different starter cultures. **LWT-Food Science and Technology**, v. 34, n.4, p. 251-61, 2001.

ZHAO, D.; SHAH, N.P. Changes in antioxidant capacity, isoflavone profile, phenolic and vitamin contents in soymilk during extended fermentation. **LWT – Food Science Technology**, v.58, n.2, p. 454-62, 2014.

ANEXO A - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE

Você está sendo convidado (a) como voluntário (a) a participar da pesquisa: intitulada “Desenvolvimento de bebida simbiótica fermentada a partir do extrato hidrossolúvel de soja”. Após receber os esclarecimentos e as informações a seguir, no caso de aceitar fazer parte do estudo, este documento deverá ser assinado em duas vias, sendo a primeira de guarda e confidencialidade do Pesquisador (a) responsável e a segunda ficará sob sua responsabilidade para quaisquer fins.

Em caso de recusa, você não será penalizado (a) de forma alguma. Em caso de dúvida sobre a pesquisa, você poderá entrar em contato com o (a) pesquisador (a) responsável MARIANA BURANELO EGEA através do telefone: (64)3620-5644/ (64) 8166-5107 ou através do e-mail mariana.egea@ifgoiano.edu.br. Em caso de dúvida sobre a ética aplicada a pesquisa, você poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto Federal Goiano (situado na Rua 88, nº310, Setor Sul, CEP 74085-010, Goiânia, Goiás. Caixa Postal 50) pelo telefone: (62) 3605 3664 ou pelo email: cep@ifgoiano.edu.br.

1. Justificativa, os objetivos e procedimentos

A presente pesquisa é motivada para atender as exigências do consumidor quanto a busca por novos produtos que tenham benefícios à saúde e pelo aproveitamento integral dos grãos de soja como matéria-prima. De forma a agregar os benefícios da soja o presente estudo consiste no desenvolvimento de um produto de soja com características funcionais adicionado de agente simbiótico (inulina) se justificando no desenvolvimento de um produto com alegação de propriedade funcional.

O objetivo desse projeto é desenvolver uma bebida simbiótica fermentada a partir do extrato hidrossolúvel de soja. Para a coleta de dados da análise sensorial será utilizado o método de análise sensorial afetivo.

O teste será realizado em uma etapa, brevemente: Inicialmente as amostras serão apresentadas para levantamento de atributos, e os provadores irão expressar o quanto ideal o produto está em relação ao quão próximo do ideal está o atributo avaliado. Além disso, os julgadores farão o teste de intenção de compra através de ficha resposta com escala estruturada de 5 pontos, oscilando de 1= certamente compraria a 5= Nunca

compraria. Para evitar fadiga aos participantes as amostras serão servidas uma de cada vez. Em todos os casos será servida água mineral a temperatura ambiente e bolacha água e sal, para que os provadores possam efetuar a limpeza do palato, entre as amostras. Ainda, anteriormente à realização da análise sensorial em si, como participante você irá responder ao questionário sobre os seus hábitos alimentares que em hipótese alguma divulgará os seus nomes ou os seus dados pessoais em posteriores publicações.

2. Desconfortos, riscos e benefícios

Para os participantes da pesquisa, no caso do extrato hidrossolúvel de soja, existem benefícios e desconfortos relacionado ao ingrediente adicionado denominado inulina. A inulina é conhecida por ser fibra solúvel e prebiótica pelos seus benefícios a saúde. Em alimentos que a contêm, a legislação brasileira permite que seja adicionada a seguinte alegação “A inulina contribui para o equilíbrio da flora intestinal”. Nesta pesquisa, asseguramos, antes da ingestão pelos provadores que na somatória das sessões realizadas durante um dia, a quantidade máxima ingerida não ultrapasse 30g. O consumo excessivo de inulina poderá resultar em diarreia, flatulência, cólicas, inchaço e distensão abdominal, estado que é reversível com a interrupção da ingestão.

3. Forma de acompanhamento e assistência:

Aos participantes será assegurada a garantia de assistência integral em qualquer etapa do estudo. Você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. Caso você apresente algum problema, a interrupção da ingestão destes produtos poderá ser realizada a qualquer momento do estudo e o participante poderá ser encaminhado ao ambulatório do Instituto Federal Goiano - Campus Rio Verde que conta com profissionais da área da saúde (médico, enfermeira e auxiliar de enfermagem).

4. Garantia de esclarecimento, liberdade de recusa e garantia de sigilo

Você será esclarecido (a) sobre a pesquisa em qualquer tempo e aspecto que desejar, através dos meios citados acima. Você é livre para recusar-se a participar, retirar seu consentimento ou interromper a participação a qualquer momento, sendo sua participação voluntária e a recusa em participar não irá acarretar qualquer penalidade.

O(s) pesquisador(es) irá(ão) tratar a sua identidade com padrões profissionais de sigilo e todos os dados coletados servirão apenas para fins de pesquisa. Seu nome ou o

material que indique a sua participação não será liberado sem a sua permissão. Você não será identificado(a) em nenhuma publicação que possa resultar deste estudo.

5. Custos da participação, ressarcimento e indenização por eventuais danos

Para participar deste estudo você não terá nenhum custo nem receberá qualquer vantagem financeira. Caso você, participante, sofra algum dano decorrente dessa pesquisa, os pesquisadores garantem indenizá-lo por todo e qualquer gasto ou prejuízo.

Ciente e de acordo com o que foi anteriormente exposto, eu _____ estou de acordo em participar da pesquisa intitulada “**Desenvolvimento de bebida simbiótica de soja fermentada com quefir**”, de forma livre e espontânea, podendo retirar a qualquer meu consentimento a qualquer momento.

_____, de _____ de 20__

Assinatura do responsável pela pesquisa

Assinatura do participante

ANEXO B – Questionário de recrutamento de julgadores para análise sensorial

Desejamos formar uma equipe de provadores para avaliar a qualidade de produtos produzidos a partir da fermentação de extrato hidrossolúvel de soja. Ser um provador não exigirá de você nenhuma habilidade excepcional, não tomará muito seu tempo e não envolverá nenhuma tarefa difícil. A prova será realizada no Laboratório de Análise Sensorial do IF Goiano – Campus Rio Verde, em duas sessões que levarão em torno de 15 minutos cada e você poderá fazê-la no horário que tiver maior disponibilidade (no máximo duas sessões por dia). Se tiver qualquer dúvida, ou necessitar de informações adicionais, entre em contato com a Profa. Mariana Buranelo Egea, pelo telefone (64) 8166-5107 ou pelo e-mail mariana.egea@ifgoiano.edu.br.

Dados Pessoais

Nome _____

Telefone para contato / e mail _____

1-Faixa etária

- () 15-25
 () 25-35
 () 35-50
 () acima de 50 anos

2- Sexo

- () masculino
 () feminino

3- Ocupação

- () aluno _____
 () funcionário
 () professor
 () outro _____

4- Escolaridade

- () 1º grau
 () 2º grau
 () 3º grau
 () outro _____

5- Faixa salarial

- () 1 salário mínimo
 () 2 a 3 salários mínimo
 () acima de 3 salários mínimo
 () outro _____

6. Gosta de soja: () Sim () Não
7. Gosta de extrato hidrossolúvel de soja (“iogurte” de soja): () Saborizados () Sem sabor () Não gosto
8. Gosta de bebidas fermentadas a base de soja: () Sim () Não
9. Gosta de bebidas ou iogurtes com próbióticos (tipo Yakult, Activia com soja): () Sim () Não
10. Qual a bebida de sua preferência: () com próbióticos () adicionado de fibras () com próbióticos e fibras () sem próbióticos e fibras
11. Gosta de alimentos com alegação de propriedades funcionais: () Sim () Não

12- Frequência de Consumo de: Grãos de soja:

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

Extrato hidrossolúvel de soja:

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

Bebidas fermentadas à base de soja:

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

Bebidas funcionais (com próbióticos e fibras)

- () Nunca
- () Ocasionalmente - ____ vezes por ano

() Moderadamente - ____ vezes por mês

() Frequentemente - ____ vezes por semana

Produtos que costuma consumir que contenham soja:
