

ERICA ELAINE KUBA

**DESENVOLVIMENTO DE UMA SOBREMESA PROBIÓTICA
MISTA DE *TOFU* E EXTRATO HIDROSSOLÚVEL DE SOJA
FERMENTADO**

ARARAQUARA – SP

2013



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
CAMPUS DE ARARAQUARA



ERICA ELAINE KUBA

DESENVOLVIMENTO DE UMA SOBREMESA PROBIÓTICA MISTA DE *TOFU* E EXTRATO HIDROSSOLÚVEL DE SOJA FERMENTADO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Alimentos e Nutrição, da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, para a obtenção do título de Mestre em Alimentos e Nutrição, área de Ciência dos Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Elizeu Antonio Rossi

ARARAQUARA – SP

2013

Ficha Catalográfica

Elaborada Pelo Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
UNESP – Campus de Araraquara

K95d Kuba, Erica Elaine
Desenvolvimento de uma sobremesa probiótica mista de tofu e extrato hidrossolúvel de soja fermentado / Erica Elaine Kuba. – Araraquara, 2013
71 f.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista. “Júlio de Mesquita Filho”. Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós Graduação em Alimentos e Nutrição
Orientador: Elizeu Antonio Rossi

1. Alimento funcional. 2. Bactérias lácticas. 3. Soja. 4. E. faecium. I. Rossi, Elizeu Antonio. II. Título.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Elizeu Antonio Rossi (Orientador)

Prof^a. Dr^a. Célia Maria de Sylos

Prof^a. Dr^a. Alice Yoshiko Tanaka

Araraquara - SP

2013

*Dedico este trabalho aos meus
pais e ao meu irmão, pelo amor
incondicional, apoio e carinho
mesmo nos momentos mais
difíceis dessa trajetória.*

AGRADECIMENTOS

A Deus, primeiramente, por tudo na minha vida, por iluminar meu caminho, possibilitando a superação de todos os desafios e adversidades.

Ao Prof. Dr. Elizeu Antonio Rossi, por ter confiado em mim e também pela orientação, auxílio, paciência, acessibilidade, ensinamentos; enfim, pela imprescindível contribuição para a realização do meu trabalho.

Aos meus pais e irmão pela força, compreensão, carinho, ajuda, apoio nas minhas decisões e incentivo, ao longo de mais essa etapa da minha vida.

Às técnicas de laboratório Roseli, Josiane e Adriana, pelo auxílio nas análises laboratoriais, esclarecimento de dúvidas e pela ótima companhia.

A todos os alunos, professores e funcionários do Departamento de Alimentos e Nutrição que me acolheram e que de alguma forma contribuíram para o meu crescimento pessoal e/ ou profissional, especialmente à Fer, Tê, Cá, Mari Costa e Lara pela amizade e auxílio em etapas importantes do meu trabalho.

À Prof^a. Dr^a. Palmira e à aluna de doutorado Flávia pela fundamental colaboração nas análises reológicas.

Aos membros da banca pela importante contribuição ao trabalho.

Aos voluntários que participaram das análises sensoriais realizadas.

Às empresas De Marchi, Duas Rodas Industrial e Ibrac pelo fornecimento de parte dos materiais utilizados nesse trabalho.

À CAPES pela bolsa concedida.

E a todos que de alguma forma tenham contribuído para a realização desse trabalho de mestrado.

*“Live as if you were to die tomorrow. Learn
as if you were to live forever.”*

Mahatma Gandhi

(1869 – 1948)

SUMÁRIO

RESUMO.....	8
ABSTRACT	9
CAPÍTULO 1	10
1 INTRODUÇÃO	11
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	13
2.1 Alimentos funcionais	13
2. 2 Probióticos	15
2. 3 Soja.....	19
2. 4 Extrato hidrossolúvel de soja	23
3 OBJETIVO	29
REFERÊNCIAS	30
CAPÍTULO 2	38
ARTIGO.....	39
ANEXO.....	70
<i>Anexo 1 - Ficha da análise sensorial</i>	<i>71</i>

RESUMO

Os alimentos probióticos representam uma classe muito importante para a manutenção do estado de saúde. No mercado, esses produtos são predominantemente iogurtes e leites fermentados, havendo uma demanda por alimentos probióticos não-lácteos para ampliar as opções dos consumidores vegetarianos, bem como atender às necessidades dos indivíduos intolerantes à lactose. Nesse contexto, a soja apresenta-se como um adequado substituto do leite, em virtude das suas qualidades nutricionais e funcionais. O presente estudo teve como objetivo o desenvolvimento de uma sobremesa potencialmente probiótica mista de *tofu* e extrato hidrossolúvel de soja, fermentado com *Enterococcus faecium* CRL 183. No total, foram produzidas três formulações de sobremesa probiótica, com diferentes proporções de *tofu* e fermentado de soja: “A” (50%/ 50%), “B” (70%/ 30%) e “C” (80%/ 20%). Todas apresentavam as mesmas porcentagens de NaHCO₃, creme de soja, polpa de morango, aroma de leite em pó, corante natural carmim de colchonilha, goma carragena e açúcar refinado. Testes sensoriais de aceitação e de intenção de compra foram realizados com 65 consumidores visando a escolha da melhor formulação, à qual foi submetida a análises físico-químicas e microbiológicas nos tempos de 2, 14 e 28 dias de estocagem a $\pm 5^{\circ}\text{C}$ e, também, a análise sensorial nos tempos de 4, 14 e 28 dias. A composição centesimal e o valor calórico também foram determinados. Os dados foram avaliados através de análise de variância e teste de médias de Tukey ($p < 0,05$). A sobremesa “A” foi considerada a melhor em termos sensoriais, principalmente quanto à intenção de compra, uma vez que 47% dos consumidores afirmaram que “certamente ou provavelmente comprariam” o produto. Sendo assim, ela foi selecionada para prosseguir o estudo. A composição da formulação “A” apresentou: 72,2% de umidade; 4,4% de proteínas; 3,1% de lipídios; 0,6% de cinzas e 19,6% de carboidratos; e o seu valor calórico foi de 124,3 Kcal/ 100g. As culturas de *E. faecium* CRL 183 e *L. helveticus* 416 permaneceram viáveis ao longo de todo o período experimental, com contagens entre 10^8 e 10^9 UFC. g⁻¹ de produto. Houve também a ocorrência de acidificação e sinérese, além de mudanças dos parâmetros de textura após 14 dias de estocagem. Em adição, constatou-se pelos testes de aceitação e de intenção de compra, que não houve alterações sensoriais do produto entre os períodos avaliados. Concluiu-se, portanto, a viabilidade da elaboração de uma sobremesa probiótica à base de *tofu* e fermentado de soja.

Palavras-chave: alimento funcional; bactérias lácticas; soja; *E. faecium*.

ABSTRACT

The probiotic foods represent a very important class for the maintenance of health state. At the market, these products are predominantly yogurts and fermented milks. There is a demand for non-dairy probiotic foods to increase the vegetarian options and attend the individuals with lactose intolerance. In this context, soy based food appears as an ideal substitute because its nutritional and functional qualities. The present study aimed the development of a potentially probiotic dessert added with tofu and aqueous extract of soy fermented with *Enterococcus faecium* CRL 183. Three formulations were produced with different proportions of tofu and fermented soy product: "A" (50% / 50%), "B" (70% / 30%) and "C" (80% / 20 %). All the desserts contained the same percentages of NaHCO₃, soy cream, strawberry pulp, flavor milk powder, natural colouring agent, carrageenan gum, and sugar. Sensory tests for acceptance and purchase intent were performed to choose the best formulation, which was studied by physico-chemical, microbiological and rheological analysis after 2, 14 and 28 days of storage ($\pm 5^{\circ}\text{C}$) and sensory analysis after 4, 14 and 28 days. The chemical composition and caloric value were also determined. Data were evaluated by analysis of variance and Tukey test ($p < 0,05$). The dessert "A" was considered the best sensorially, especially regarding the purchase intent, since that 47% of the panelists said they "would certainly or probably buy this product". Thus, it was chosen for further study. The composition of the formulation "A" had 72.2% of moisture, 4.4% of protein, 3.1% of fat, 0.6% of ash and 19.6% of carbohydrate, and the caloric value was 124.3 kcal / 100g. In this formulation, the strains of *E. faecium* CRL 183 and *L. helveticus* 416 remained viable throughout the experimental period, they exhibited counts between 10^8 and 10^9 CFU. g⁻¹, which is enough for a product to be considered probiotic. It was also noted the occurrence of acidification, syneresis and texture changes during 28 days of storage. In addition, it was found from the tests for acceptance and purchase intent, that there was not occur sensory changes between the periods. Thus we concluded that the development of a probiotic dessert with added tofu and fermented soy product was viable.

Keywords: Functional food; lactic bacteria; soy; *E. faecium*.

CAPÍTULO 1

1 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos tem havido uma crescente expansão do mercado de alimentos funcionais em virtude da maior conscientização da população a respeito da relação existente entre saúde e alimentação (OZEN et al., 2012; SZÁKALY et al., 2012; KHAN et al., 2013).

Os alimentos funcionais são aqueles que integram a dieta usual e que apresentam, além das suas funções nutricionais básicas, efeitos metabólicos ou fisiológicos e/ ou capacidade de reduzir o risco de doenças crônico-degenerativas (BRASIL, 1999). Dentre os alimentos funcionais, destacam-se os produtos *in natura* como a soja, por exemplo, e os processados como os probióticos, em razão dos seus efeitos benéficos à saúde humana, amplamente já demonstrados sob o ponto de vista científico (ROSSI et al., 2000; ROSSI et al., 2003; FUCHS et al., 2005; BEDANI et al., 2006; PARK et al., 2007; MANZONI et al., 2008; SIVIERI et al., 2008; BEDANI & ROSSI, 2009; RIBEIRO, 2010; CAVALLINI et al., 2011; DONG et al., 2012; KINOUCHI et al., 2012; RODRÍGUEZ-ROQUE et al., 2013).

Os probióticos podem ser definidos como “micro-organismos vivos que quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde do hospedeiro” (FAO & WHO, 2006). Os principais efeitos benéficos à saúde atribuídos ao consumo desses micro-organismos são: regulação e estabilização da microbiota e função intestinal, inclusive após o uso de antibióticos, impedimento à colonização do intestino por patógenos, modulação do sistema imune, alívio da intolerância à lactose, aumento da absorção de minerais e produção de vitaminas, redução do colesterol com consequente diminuição do risco de doenças coronarianas e, também, redução do risco de determinados tipos de câncer (FULLER, 1989; LEWIS & FREEDMAN, 1998; ROSSI et al., 2000; ISOLAURI et al., 2001; GORBACH, 2002; ROSSI et al., 2003; SAAD, 2006; SIVIERI et al., 2008; VALSEVIC & SHAH, 2008; CAVALLINI et al., 2011; KINOUCHI et al., 2012; SIVIERI et al., 2013).

Em alimentos, as principais bactérias empregadas como probióticos são espécies dos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* (BIELECKA et al., 2002; FOLIGNÉ et al., 2013). Mais recentemente a espécie *E. faecium* foi inserida na lista de micro-organismos probióticos permitidos em alimentos pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2008).

A maioria dos alimentos probióticos são lácteos, sendo considerados excelentes matrizes para carrear esses micro-organismos (MARTINS et al., 2013). Entretanto, existe grande demanda por alimentos probióticos não lácteos, como os produtos de soja, para atender aos intolerantes à lactose, vegetarianos ou pessoas que não apreciam o leite e seus derivados (KOMATSU et al., 2008; RANADHEERA et al., 2010).

A soja e os seus produtos têm despertado um enorme interesse, não apenas pelas características nutricionais intrínsecas, como também pelos seus efeitos funcionais decorrentes da presença de uma grande quantidade de componentes bioativos (CIABOTTI et al., 2006; CHANG et al., 2012).

Ao consumo da soja têm sido atribuídos diversos efeitos benéficos à saúde, incluindo prevenção de osteoporose (MATTHEWS et al., 2011), atenuação dos sintomas de diabetes (VASECCHI et al., 2011), prevenção de doenças cardiovasculares (MARSH et al., 2011), redução dos níveis de colesterol do plasma sanguíneo, além de proteção contra doenças renais (TORRES et al., 2006), câncer (DONG et al., 2012; KINOCHI et al., 2012) e doenças intestinais (ESTEVES & MONTEIRO, 2001; FRIEDMAN & BRANDON, 2001).

Conforme estudos já realizados, os derivados de soja estão entre os substratos mais apropriados para a veiculação de cepas probióticas (CHAMPAGNE & GARDNER, 2005). Além disso, sabe-se que o processo de fermentação pode aumentar a atividade antioxidante (WANG et al., 2006), o valor nutricional e a aceitabilidade desse tipo de alimento (MITAL et al., 1974; KOMATSU et al., 2008), que no Ocidente é limitada especialmente por questões culturais (TU et al., 2012).

Considerando que atualmente existe enorme demanda por alimentos probióticos à base de soja, especialmente as sobremesas; torna-se de interesse a busca por novos produtos, ampliando a possibilidade de escolha por parte daqueles que já são adeptos ao consumo da soja, ou também como forma de atrair novos consumidores dessa classe de alimentos tão importante para a manutenção do estado de saúde. Nesse cenário, o desenvolvimento de uma sobremesa de soja probiótica contendo os micro-organismos *E. faecium* CRL183 (cepa de espécie probiótica) (ANVISA, 2008) e *L. helveticus* 416 (cepa potencialmente probiótica) (REDONDO, 2008) mostra-se promissor e com potencial mercadológico.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Alimentos funcionais

Nos últimos anos, os consumidores têm manifestado não apenas a preocupação com características nutricionais e propriedades sensoriais atrativas nos alimentos, como também a necessidade de obter bem-estar, melhoria da qualidade de vida e benefícios à saúde através de uma alimentação saudável (KAPSAK et al., 2011).

As funções dos alimentos podem ser classificadas em três categorias. A função primária é a nutricional, a secundária diz respeito à satisfação sensorial, e a terciária, que foi definida mais recentemente, corresponde à função fisiológica através da modulação de sistemas do organismo, tais como imune, endócrino, nervoso, digestório e circulatório (ARAI, 1996).

A dieta exerce grande influência na saúde e vem sendo apontada como o principal fator de risco de doenças crônicas com fatores modificáveis. Inúmeras são as evidências científicas da interferência da alimentação na saúde ao longo da vida (FAO & WHO, 2003).

Em meados da década de 1980, com o envelhecimento da população e crescente interesse na prevenção de doenças pela mudança dos hábitos alimentares, surgiu no Japão o conceito de “alimento funcional” (ARAI et al., 2001). O governo japonês foi o primeiro a atribuir aos alimentos funcionais um *status* legal, através da criação de uma regulamentação específica e uso do termo FOSHU – “*Foods for specific health use*” para referir-se a essa classe de alimentos (ARAI, 2002).

Em 1984, o Ministério da Educação, Ciência e Cultura do Japão, através de um projeto nacional, definiu alimento funcional como “aquele que tem funções fisiológicas, incluindo regulação do biorritmo, do sistema nervoso, do sistema imune e das defesas do organismo, além de funções nutricionais”. Esse foi o primeiro projeto a descrever alimentos funcionais como alimentos dotados de função terciária (SHIMIZU, 2003).

De acordo com outra definição, alimentos funcionais são aqueles que proporcionam efeitos benéficos ao organismo, além da capacidade de nutrir, permitindo melhorar o estado de saúde e o bem-estar e/ ou reduzir o risco de doenças (EUROPEAN COMMISSION CONCERTED ACTION ON FUNCTIONAL ON FOOD SCIENCE IN EUROPE, 1999).

No Brasil, a portaria 398 do Ministério da Saúde, publicada em 30 de abril de 1999, descreveu os alimentos funcionais como alimentos que fazem parte da dieta usual e cujos benefícios não se restringem à função básica de nutrir, sendo responsáveis por efeitos metabólicos ou fisiológicos e/ ou redução do risco de doenças crônicas (BRASIL, 1999). A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 1999) definiu alegação de propriedade funcional como sendo “aquela relativa ao papel metabólico ou fisiológico que o nutriente ou não nutriente tem no crescimento, desenvolvimento, manutenção e em outras funções normais do organismo humano”.

O segmento de alimentos funcionais, considerado um dos mais competitivos (BIGLIARDI & GALATI, 2013), promissores e dinâmicos da última década (SIRÓ et al., 2008), tem apresentado uma taxa anual de crescimento entre 8 e 14% (AGRICULTURE AND AGRI-FOOD CANADA, 2009).

Os prováveis motivos para a crescente demanda são: aumento da expectativa de vida e dos gastos com saúde (BIGLIARDI & GALATI, 2013), envelhecimento da população, desejo de combater os danos provocados pela poluição, micro-organismos e substâncias químicas no ar, na água e nos alimentos (SANDERS, 1998), necessidade dos consumidores de prevenir doenças e de melhorar a sua qualidade de vida (KHAN et al., 2013), maior consciência sobre a relação entre saúde e alimentação (FUCHS et al., 2005; COSTA & ROSA, 2008; OZEN et al., 2012; SZÁKALY et al., 2012) e acúmulo de evidências sobre benefícios à saúde associados ao consumo desses alimentos (KOTILANIEN et al., 2006).

O desenvolvimento de novos alimentos funcionais é caro, desafiador e, devendo atender às necessidades e expectativas do mercado consumidor (BETORET et al., 2011). O seu sucesso comercial depende essencialmente de estratégias usadas na divulgação das alegações de saúde (CARRILO et al., 2013) e de fatores como sabor, qualidade, conveniência e preço (SIRÓ et al., 2008).

Muitos pesquisadores em todo o mundo têm se dedicado ao estudo de alimentos funcionais, em especial daqueles que contém prováveis fatores anticarcinogênicos e antioxidantes, além de duas classes particulares dos funcionais: os probióticos e os prebióticos (ARAI et al., 2002).

2. 2 Probióticos

Probiótico é um termo relativamente novo, derivado do grego, cujo significado é “pró- vida” ou a “favor da vida” (FAO & WHO, 2006)

A palavra probiótico foi empregada por Lilly e Stillwell (1965) pela primeira vez para se referir a substâncias produzidas por micro-organismos capazes de estimular o crescimento de outros.

Em 1989, Fuller redefiniu os probióticos como “suplementos alimentares contendo micro-organismos vivos que afetam benéficamente o hospedeiro, melhorando o equilíbrio da sua microbiota intestinal”.

Três anos mais tarde, os probióticos foram descritos como culturas puras ou mistas de micro-organismos vivos que quando consumidos pelo homem ou animais, beneficiam o hospedeiro, melhorando as propriedades da sua microbiota (MULDER et al., 1997).

Outras inúmeras definições de probióticos têm sido publicadas em trabalhos científicos nos últimos anos (FULLER, 1995; VASILJEVIC & SHAH, 2008), mas todas sem perder a essência do seu significado.

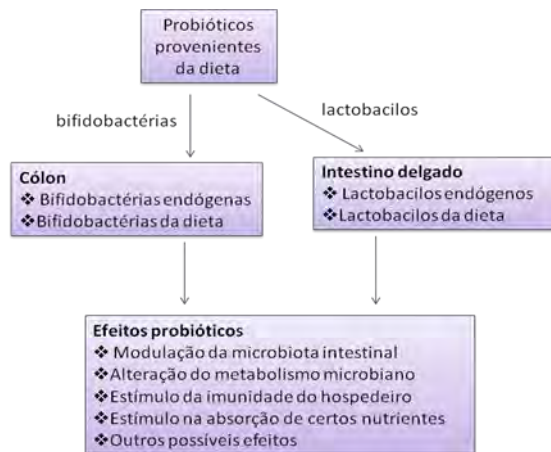
Atualmente, a definição aceita internacionalmente caracteriza os probióticos como “micro-organismos vivos que quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde do hospedeiro” (FAO & WHO, 2006). Já no Brasil, a ANVISA (2010) descreve probióticos como “preparações ou produtos contendo micro-organismos definidos e viáveis em quantidade suficiente para alterar a microbiota, por implantação ou colonização de um compartimento do hospedeiro e, assim, exercer efeito benéfico sobre a saúde desse”.

Durante a sua trajetória pelo trato gastrointestinal, os micro-organismos probióticos devem resistir à ação do ácido clorídrico, sais biliares e secreções intestinais e, também, à ação do sistema imune, para que possam conferir benefícios a saúde do hospedeiro (LEWIS & FREEDMAN, 1998; KEARNEY et al., 2008).

Segundo Fuller (1989) existem três prováveis mecanismos de ação dos probióticos: (1) supressão do número de células viáveis de micro-organismos

patogênicos através de produção de compostos com atividade antimicrobiana, competição por nutrientes ou por sítios de adesão situados na superfície do epitélio intestinal; (2) alteração do metabolismo de patógenos pelo aumento ou diminuição da atividade de enzimas e (3) estimulação da imunidade do hospedeiro pelo aumento dos níveis de anticorpos ou aumento da atividade de macrófagos (Fluxograma 1).

Fluxograma 1 - Destino dos probióticos no organismo e principais mecanismos de ação.



Fonte - Adaptado de Saad, 2006.

Na literatura científica, inúmeros benefícios à saúde têm sido atribuídos ao consumo de alimentos contendo probióticos, sendo apenas alguns deles comprovados, enquanto outros ainda demandam mais estudos (CRUZ et al., 2009).

Trabalhos a respeito das propriedades e funcionalidade de micro-organismos vivos em alimentos sugerem que os probióticos poderiam exercer efeitos benéficos nas funções imunológica, digestória e respiratória, e também, desempenhar um papel relevante no alívio de doenças infecciosas em pessoas pertencentes aos grupos de risco (FAO & WHO, 2006).

A prevenção e a redução dos sintomas de diarreia associada ao uso de antibióticos, de diarreia rotaviral e de diarreia causada por *Clostridium difficile*, além do alívio da intolerância à lactose, são efeitos benéficos à saúde humana que já foram bem estudados e documentados no caso das cepas de *Lactobacillus rhamnosus* GG (Valio), *Saccharomyces cerevisiae* Boulardii (Biocodex), *Lactobacillus casei* Shirota (Yakult®) e *Bifidobacterium animalis* Bb-12 (Chr.Hansen) (VASILJEVIC & SHAH, 2008).

Os produtos probióticos podem apresentar-se em diferentes formas, incluindo fórmulas infantis, pós, cápsulas e alimentos diversos (SANDERS, 2003).

O mercado global de ingredientes, suplementos e alimentos probióticos movimentou 14,9 bilhões de dólares em 2007, sendo que a perspectiva é de alcançar a marca de 19,6 bilhões no ano de 2013 (FOOD PROCESSING, 2008). Atualmente, os principais probióticos disponíveis para o consumidor pertencem ao grupo das bactérias ácido-láticas, que constituem parte da microbiota gastrointestinal de humanos e cujo principal metabólito é o ácido lático (RANADHEERA et al., 2010).

No Brasil, os micro-organismos probióticos autorizados para utilização em alimentos com alegações de propriedades funcionais e/ ou de saúde, desde que atendidas todas as exigências, são as espécies: *Lactobacillus acidophilus*, *L. casei* Shirota, *L. casei* variedade rhamnosus, *L. casei* variedade defensu, *L. paracasei*, *Lactococcus lactis*, *Bifidobacterium bifidum*, *B. animalis*, *B. longum*, *B. lactis* e *Enterococcus faecium* (ANVISA, 2008).

O principal desafio na área de desenvolvimento de alimentos funcionais contendo culturas probióticas é a manutenção da viabilidade desses micro-organismos durante o processamento, tendo em vista que muitos deles têm origem

intestinal e são sensíveis a temperaturas elevadas, ácidos ou oxigênio (KEARNEY et al., 2008). Outro fator relevante é a necessidade de realização de testes sensoriais durante o desenvolvimento de cada produto, utilizando técnicas adequadas, pois isso contribuirá para a sua aceitação pelo consumidor (CRUZ et al., 2010).

Os principais produtos probióticos disponíveis no mercado são lácteos, como por exemplo, iogurtes e leites fermentados (PRADO et al., 2008). As culturas de micro-organismos probióticos também podem ser incorporadas a vários outros produtos, tais como sorvetes, sorvetes de iogurte, diversos tipos de queijos, sucos de frutas, sobremesas lácteas aeradas, chocolates, *kefir*, maionese e leite em pó destinado a recém-nascidos (SAAD, 2006; SHEEHAN et al., 2007; KEARNEY et al., 2008; KOMATSU et al., 2008; VASILJEVIC & SHAH, 2008; CRUZ et al., 2009; RANADHEERA et al., 2010).

Na atualidade, o desenvolvimento de alimentos probióticos não-lácteos têm despertado grande interesse, devido a problemas como a intolerância à lactose, o teor de colesterol presente em produtos lácteos fermentados e o aumento do vegetarianismo (HEENAN et al., 2004; RANADHEERA et al., 2010). Nesse contexto, os derivados de soja vêm se apresentando como alternativas não-lácteas com potencial para veiculação de cepas probióticas. Nas últimas décadas, diferentes produtos desse tipo têm sido desenvolvidos (ROSSI et al., 1984; MIGUEL & ROSSI, 2003; HEENAN et al., 2004; KEAT-HUI et al., 2008; KOMATSU et al., 2008; PAULY-SILVEIRA et al., 2010; RIVERA-ESPINOZA & GALLARDO-NAVARRO, 2010).

2. 3 Soja

A soja (*Glycine max*) é uma planta herbácea nativa da China, pertencente à família Leguminosae e à classe Fabacea (MANDARINO, 2008). Seus ancestrais

eram plantas rasteiras que cresciam ao longo da costa leste asiática e cujas características eram bastante distintas daquelas apresentadas pela espécie atualmente cultivada (EMBRAPA, 2011a).

Os primeiros registros sobre essa leguminosa datam do período entre 2883 e 2838 a.C. (EMBRAPA, 2011a). Há milênios os chineses conhecem o valor da soja na alimentação humana, considerando-a um grão sagrado, assim como o arroz, o trigo, o centeio e o milheto (EMBRAPA, 2011b). A soja também compõe a dieta de outros países orientais, sendo considerada uma fonte muito importante de óleo (LIU, 1999), proteínas, fibras dietéticas e de uma enorme variedade de compostos fitoquímicos (LEE et al., 2005).

No Ocidente, porém, a cultura de soja adquiriu importância apenas na década de 1940 (LANDGRAF, 2004). No Brasil, a cultura de soja foi a que mais cresceu nos últimos 30 anos, sendo cultivada principalmente nas regiões Centro Oeste e Sul. Estima-se que o crescimento anual da produção de soja no país seja de 2,43% até 2019 (MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, 2013).

Assim como nos demais países ocidentais, somente uma pequena parcela da produção anual de soja no Brasil é destinada ao processamento de produtos para o consumo humano (LIU, 1999; MANDARINO, 2008). Tal cenário é reflexo de diferenças culturais quanto à percepção dos atributos sensoriais da soja (TORRES-PENARANDA et al., 1998). Entre os ocidentais existe certa resistência ao consumo dessa leguminosa, seu sabor é por vezes caracterizado como “*beany flavor*” (sabor de feijão-cru), “*paint*” (tinta), grama, verde, adstringente e amargo (TORRES-PENARANDA et al., 1998; TORRES-PENARANDA & REITEMEIER, 2001). Essas características sensoriais desagradáveis são decorrentes da ação da enzima

lipoxigenase que catalisa a reação de hidroperoxidação de ácidos graxos poliinsaturados e de alguns ésteres, resultando na produção de hidroperóxidos que, subsequentemente, serão degradados em compostos voláteis e não-voláteis responsáveis pelo *off-flavor* (RACKIS et al., 1979). Outro fator limitante do consumo da soja é a presença de altos teores de oligossacarídeos causadores de flatulência, entre eles rafinose e estaquiose (HOU et al., 2000).

Nos últimos anos, no entanto, tem havido maior popularização do consumo de soja entre os brasileiros, motivada pela maior divulgação de seu valor nutricional e funcional e desenvolvimento de novas tecnologias capazes de melhorar suas características sensoriais, incluindo melhoramento genético da soja e medidas tecnológicas, como o tratamento térmico dos grãos para inativação de lipoxigenases como etapa inicial de qualquer processo (NELSON et al., 1978; CARRÃO-PANIZZI, 2000; OSUNDAHUNSI et al., 2007; MANDARINO, 2008).

Na dieta humana, a soja pode ser consumida como grão *in natura* ou na forma de produtos derivados, tais como extrato hidrossolúvel de soja, *missô*, *natto*, *tempeh*, *tofu* (“queijo de soja”), proteína texturizada (PTS), bebida fermentada e *kinako* (farinha integral) (LIU, 1999; FRIEDMAN & BRANDON, 2001; MANDARINO, 2008; NAKAJIMA et al., 2010).

A soja contém, em média, 40% de proteínas, 20% de lipídios, 5% de minerais e 34% de carboidratos (glicose, frutose, sacarose, fibras e oligossacarídeos) (EMBRAPA, 2011b).

Em comparação aos cereais e outras espécies de leguminosas, a soja apresenta o maior conteúdo proteico. Além disso, o seu padrão de aminoácidos essenciais assemelha-se ao de proteínas de alta qualidade de origem animal. Esse

grão, porém, é pobre em aminoácidos sulfurados como a metionina que é o aminoácido mais limitante, seguido pela cisteína e treonina (MANDARINO, 2008; LIU, 1999).

Atualmente, a soja é a principal fonte de proteína vegetal da alimentação do homem e de animais em diversos países, podendo ser considerada como um alimento valioso no combate à fome no mundo (LIU, 1999). Em distintos países, essa leguminosa vem sendo utilizada com intenção de prevenir e tratar a desnutrição em populações carentes (MANDARINO, 2008).

Na soja, a presença de fatores antinutricionais (inibidores de proteases, lectinas, fitatos, saponinas e oligossacarídeos causadores de flatulência, etc.) pode prejudicar a biodisponibilidade de diferentes nutrientes e causar efeitos tóxicos ao homem. Todavia, um tratamento térmico adequado pode inativar grande parte desses fatores, além de inativar a lipoxigenase, e aumentar a digestibilidade proteica. (RACKIS, 1974; LIENER, 1995; FRIEDMAN & BRANDON, 2001).

A soja destaca-se como um dos alimentos funcionais mais estudados em razão da presença de substâncias bioativas, em especial as isoflavonas, que comprovadamente promovem benefícios à saúde e contribuem de forma relevante na redução dos riscos de doenças crônicas não transmissíveis (CASÉ et al., 2005; LEE et al., 2005; MANDARINO, 2008).

As isoflavonas integram um grupo de compostos conhecidos como flavonoides, cuja estrutura básica consiste de dois anéis benzeno ligados por três carbonos, que podem ou não se fechar em um anel pirano (LIU, 1999). Estudos sugerem que muitos dos efeitos benéficos da soja estão associados às isoflavonas, incluindo redução do risco de doenças cardiovasculares (KRIS-ETHERTON et al.,

2002), prevenção de câncer (KIM et al., 2012), melhoria da função cognitiva (LEE et al., 2005) e proteção contra osteoporose (WEI et al., 2012).

Segundo a ANVISA, a ingestão de proteína da soja “pode contribuir para a redução do colesterol”, desde que haja um consumo diário de no mínimo 25g, associado a uma dieta e hábitos de vida saudáveis. (ANVISA, 2008).

Ao longo dos anos, estudos epidemiológicos têm demonstrado que a incidência de doenças cardiovasculares e de certos cânceres, especialmente de cólon, mama e próstata, é menor nos países orientais cuja dieta é rica em soja e seus derivados (ESTEVES & MONTEIRO, 2001). Diferentes pesquisas têm fornecido evidências adicionais sobre tais efeitos protetores. Além disso, outros estudos sugerem ainda que o consumo de soja e derivados, contribui para atenuação dos sintomas de diabetes (VASECCHI et al., 2011), redução dos níveis de colesterol do plasma sanguíneo e proteção contra doenças renais (TORRES et al., 2006).

2. 4 Extrato hidrossolúvel de soja

O extrato hidrossolúvel de soja (EHS), também conhecido como “leite” de soja, é uma emulsão óleo/água com uma complexa dispersão de proteínas (CRUZ et al., 2009), que se assemelha ao leite em aparência e composição, e cujos principais constituintes são proteínas e lipídios. Sua obtenção é realizada a partir da trituração dos grãos de soja e subsequente diluição (LIU, 1999; SHUN-TANG et al., 1997).

De acordo com a EMBRAPA (2011b), em média, cada 100 mL de EHS contém 52 calorias; 2,5% de carboidratos; 3,4% de proteínas; 2,3% de lipídios; 40 mg de cálcio; 105 mg de potássio; 1,2 mg de ferro; 40 mg de vitamina B1 e 120 mg de vitamina B2.

Em comparação ao leite de vaca, o EHS, dependendo do fator de diluição utilizado, pode apresentar maiores quantidades de proteínas, ferro, gorduras insaturadas e niacina e, ao mesmo tempo, quantidades inferiores de gorduras saturadas, carboidratos e cálcio. Além disso, a sua composição química é livre de colesterol e lactose (LIU, 1999).

O EHS pode ser empregado na elaboração de uma ampla variedade de produtos, incluindo bebidas fermentadas ou não, sorvetes e *tofu* (GOLBITZ, 1995; LIU, 1999; MIGUEL & ROSSI, 2003; BERNAL, 2004; FELBERG et al., 2004). No Brasil, as bebidas não fermentadas à base de soja merecem destaque, pois tem havido um expressivo aumento do seu consumo. De acordo com a ACNielsen, entre os anos de 2004 e 2005, verificou-se crescimento recorde de vendas desse tipo de produto, em comparação ao crescimento de outras bebidas (SOUZA, 2006).

2. 4. 1 Produtos derivados do EHS

2. 4. 1. 1 *Tofu*

Dentre os derivados de soja, o *tofu* tem sido um dos mais consumidos em todo o mundo (KIM et al., 2007). O consumo desse produto vem aumentando devido ao crescente interesse por alimentos mais saudáveis (MO et al., 2013),

principalmente em decorrência da ausência de gordura animal (LIU, 1999; CAI & CHANG, 1998).

O *tofu* é um alimento de baixo custo, versátil e alto valor nutritivo cuja composição é livre de colesterol e lactose e, além disso, tem alto teor proteico e baixo teor de gorduras saturadas (LIU, 1999; CAI & CHANG, 1998; CIABOTTI, 2004).

A partir do *tofu* é possível a obtenção de produtos como o *tofufa* ou *tofu-pudding*, uma sobremesa de origem asiática, com textura macia e que é servida com calda de açúcar (NG et al., 2008).

Segundo Liu (1999), o *tofu* pode ser definido como uma rede formada por um gel proteico de soja, além de água, lipídios e outros constituintes, obtidos a partir de extração aquosa e coagulação com sais ou ácidos. Tradicionalmente, o seu processamento envolve as seguintes etapas: preparação do EHS e aquecimento, adição de coagulante e prensagem do coalho para remoção de soro e obtenção do *tofu* (WANG, 1984; LIU, 1999).

A formação do gel do *tofu* compreende duas etapas básicas: a desnaturação e a precipitação proteica, que pode ser por sais ou isoelétrica (LIU, 1999; KOHYAMA et al., 1995).

A desnaturação ocorre a partir de um tratamento térmico que expõe regiões hidrofóbicas das moléculas de proteína tornando sua carga líquida negativa. Na precipitação por sais, há formação de prótons que neutralizam a carga elétrica das proteínas, fazendo com que as interações proteína-proteína (interações hidrofóbicas) tornem-se mais fortes que as interações proteína-solvente. Por

consequência, as moléculas das proteínas sofrem agregação de forma aleatória e precipitam (KOHYAMA et al., 1995). Já a precipitação isoelétrica envolve a diminuição da solubilidade das proteínas pela redução do pH, através da adição de ácidos, e consequente aproximação ao ponto isoelétrico, que é o valor de pH no qual a solubilidade é a menor (MARZZOCO & TORRES, 2007).

Na produção de *tofu*, a coagulação é a etapa mais importante sendo influenciada por uma complexa interação entre diferentes fatores, incluindo composição química da soja (YANG & JAMES, 2013), pH, conteúdo de sólidos (LIM et al., 1990), temperatura de cozimento do EHS (RINGGENBERG et al., 2013) e, também, concentração e tipo de coagulante (PRABHAKARAN et al., 2006; OBATOLU, 2008; ZHANG et al., 2013).

O *tofu* apresenta sabor característico e é semelhante ao queijo fresco em termos de textura e cor (LIU, 1999; CAI & CHANG, 1998; CIABOTTI, 2004). Em geral, o sabor do *tofu* é mais suave do que aquele apresentado pelo EHS, possivelmente devido à dessora, etapa na qual pode haver perda de compostos hidrossolúveis que contribuem para o sabor (WATANABE & KISHI, 1984; TORRES-PENARANDA et al., 1998).

As características do EHS utilizado na elaboração do *tofu* exercem importante influência nas características sensoriais deste produto (TORRES-PENARANDA et al., 1998; CIABOTTI, 2004). Torres-Penaranda e colaboradores (1998), por exemplo, verificaram que o *tofu* feito a partir de soja livre das lipoxigenases SBL-1, SBL-2 e SBL-3 apresentou sabor e aroma de feijão cozido menos acentuado do que o produzido com soja comum.

2. 4. 1. 2 Bebida fermentada de soja

A bebida fermentada de soja é um produto pouco conhecido e consumido no Brasil, mas com oportunidade de mercado no país (BEHRENS & DA SILVA, 2004). Foi desenvolvida pela primeira vez em 1983, utilizando os cultivos tradicionais do iogurte convencional e adicionado de lactose como fonte de carboidrato fermentescível (ROSSI et al., 1984).

Em comparação ao iogurte tradicional, as bebidas fermentadas à base de EHS são mais vantajosas do ponto de vista nutricional por conterem níveis reduzidos de colesterol, gordura saturada e lactose (LEE et al., 1990; ESTÉVEZ et al., 2010).

A produção do fermentado de soja é realizada pelo emprego de culturas de bactérias lácteas. Esse processo é conhecido por conservar os alimentos (CHAMPAGNE & GARDNER, 2005) e melhorar o aroma pela alteração do perfil de compostos voláteis (CRUZ et al., 2009), além da aparência e do sabor de alguns deles, sendo capaz de reduzir os níveis de açúcares causadores de flatulência e de aumentar a aceitabilidade, o valor nutricional (MITAL et al., 1974; STEINKRAUS, 1994; MARTINS et al., 2013) e a atividade antioxidante (WANG et al., 2006) dos produtos de soja.

O EHS têm se revelado um substrato adequado para a fabricação de bebidas fermentadas probióticas, permitindo o desenvolvimento e a sobrevivência de bactérias probióticas, na forma de culturas puras ou mistas, tais como *Enterococcus faecium* CRL 183 (ROSSI et al., 1999; MIGUEL & ROSSI, 2003; PAULY-SILVEIRA, 2008), *Lactobacillus acidophilus* (MIGUEL, 2009), *L. rahmnosus* e *L. johnsonii*

(FARNWORTH et al., 2007), *L. casei* e *Bifidobacterium longum* (GARRO et al., 2004).

Rossi e colaboradores (1999) desenvolveram um produto de soja fermentado com culturas de *Lactobacillus helveticus* 416, micro-organismo considerado potencialmente probiótico (REDONDO, 2008), e *Enterococcus faecium* CRL 183, espécie aprovada pela Anvisa (2008) como probiótica. Nesse estudo, o emprego de *L. helveticus* 416 em associação com *E. faecium* CRL 183 melhorou o sabor do produto final e acelerou o tempo de fermentação, em relação a um outro obtido apenas com *E. faecium* CRL 183 (ROSSI et al., 1999). Assim, *L. helveticus* 416, independente de ser ou não um probiótico, tem sido utilizado na obtenção do fermentado de soja como cultura bioajustadora de processo.

Nos últimos anos, o grupo de pesquisa do Laboratório de Pesquisa em Probióticos (LPP) do Departamento de Alimentos e Nutrição da UNESP/Campus de Araraquara tem demonstrado diversos efeitos benéficos associados ao consumo da bebida de soja fermentada com *Enterococcus faecium* CRL 183 e *Lactobacillus helveticus* 416, incluindo efeitos hipocolesteromiantes (ROSSI et al., 2000), inibidor do câncer de mama (KINOUCHI et al., 2012), estimulador do sistema imune (RIBEIRO, 2010) e preventivo da osteoporose (BEDANI et al., 2006) e de doenças coronarianas (CAVALLINI et al., 2011).

3 OBJETIVO

O presente estudo teve como proposta o desenvolvimento de uma nova sobremesa probiótica, à base de *tofu* e de extrato hidrossolúvel de soja fermentado com *Enterococcus faecium* CRL 183.

REFERÊNCIAS

AGRICULTURE AND AGRI-FOOD CANADA. **Consumer trends: functional foods**. Ottawa, 2009. (Market Analysis Report). Disponível em: <http://www.gov.mb.ca/agriculture/statistics/agri-food/canada_functional_foods_en.pdf>. Acesso em: 30 abr 2013.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Alimentos com alegações de propriedades funcionais e ou de saúde**. 2008. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/portal/anvisa/home/alimentos?tax=Alimentos&cat=Alimentos+Com+Alimentos+de+Propriedades+Funcionais+e+ou+de+Saude&siteArea=Alimentos&pagedesign=Alimentos_N2&WCM_GLOBAL_CONTEXT=/wps/wcm/connect/Anvisa/Anvisa/Inicio/Alimentos>. Acesso em: 15 jun 2011.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 18 de 30 de abril de 1999. Regulamento Técnico que estabelece as diretrizes básicas para análise e comprovação de propriedades funcionais e ou de saúde alegadas em rotulagem de alimentos. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/815ada0047458a7293e3d73fbc4c6735/RESOLUCAO_18_1999.pdf?MOD=AJPERES>. Acesso em: 23 abr 2013.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 55 de 16 de dezembro de 2010. Dispõe sobre o registro de produtos biológicos novos e produtos biológicos e dá outras providências. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/73a029004ff7e91d980efe6d6e8afaaa/RDC+N%C2%BA+55%2C+DE+16+DE+DEZEMBRO+DE+2010.pdf?MOD=AJPERES>>. Acesso em: 23 abr 2013.

ARAI, S. Global view on functional foods: asian perspectives. **British Journal of Nutrition**, v. 88, suppl. 2, p. S139 – S146, 2002.

ARAI, S. Studies on functional food in Japan. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, v. 60, n. 1, p. 9 - 15, 1996.

ARAI, S.; MORINAGA, YOSHIKAWA, T.; ICHIISHI, T.; KISO, Y.; YAMASAKI, M.; MOROTOMI, M.; SHIMIZU, M.; KUWATA, T.; TAMINOGAWA, S. Functional food. Product development, marketing and consumer acceptance: a review. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, v. 66, n. 10, p. 2017 - 2029, 2002.

ARAI, S.; OSAWA, T.; OHIGASHI, H.; YOSHIKAWA, M.; KAMINOGAWA, S.; WATANABE, M.; OGAWA, T.; OKUBO, K.; WATANABE, S.; NISHINO, H.; SHINOHARA, H.; ESASHI, T.; HIRAHARA, T. A mainstay of functional food science in Japan: history, present status and future outlook . **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, v. 65, n. 1, p. 1 - 13, 2001.

BEDANI, R.; ROSSI, E. A. Microbiota intestinal e probióticos: implicações sobre o câncer de cólon. **Jornal Português de Gastroenterologia**, v. 16, n. 1, p. 19 -28, 2009.

BEDANI, R.; ROSSI, E. A.; LEPERA, J. S.; WANG, C. C.; VALDEZ, G. F. Efeito de um novo produto fermentado de soja, enriquecido com isoflavonas e cálcio, sobre o tecido ósseo de ratas. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v. 56, n. 1, p. 146 – 152, 2006.

BEHRENS, J. H.; DA SILVA, M. A. A. P. Atitude do consumidor em relação à soja e produtos derivados. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 24, n. 3, p. 431 – 439, 2004.

BERNAL, O. L. M. **Desenvolvimento de uma bebida fermentada a partir de extrato hidrossolúvel de soja, contendo agentes probióticos e prebióticos**. 2004. 103 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2004.

BETORET, E.; BETORET, N.; VIDAL, D.; FITO, P. Functional foods development: trends and technologies. **Trends in Food Science and Technology**, v. 22, n. 9 , p. 1 – 11, 2011.

BIELECKA, M.; BIEDRZYCKA, E.; MAJKOWSKA, A. Selection of probiotics and prebiotics for synbiotics and confirmation of their in vivo effectiveness. **Food Research International**, v. 35, n. 2-3, p.125-131, 2002.

BIGLIARDI, B.; GALATI, F. Innovation trends in the food industry: the case of functional foods. **Trends in Food Science and Technology**, v. 31, n. 2, p. 118 – 129, 2013.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria n.15, de 30 de abril de 1999. Institui, junto à Câmara Técnica de Alimentos, comissão de assessoramento de alimentos funcionais e novos alimentos. **Diário Oficial da União**, Brasília, 14 de maio 1999. Seção 2. 1999.

CAI, T. D.; CHANG, C. K. Characteristics of production-scale tofu as affected by soymilk coagulation method: propeller blade size, mixing time and coagulant concentration. **Food Research International**, v. 31, n. 4, p. 289-295, 1998.

CASÉ, R.; DELIZA, R.; MANTOVANI, D.; FELBERG, I. Produção de 'leite' de soja enriquecido com cálcio. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 5, n. 1, p. 86 – 91, 2005.

CAVALLINI, D. C. U.; SUZUKI, J. Y.; ABDALLA, D. S. P.; VENDRAMINI, R. C.; PAULY-SILVEIRA, N. D.; ROSELINO, M. N.; PINTO, R. A.; ROSSI, E. A. Influence of a probiotic soy product on fecal microbiota and its association with cardiovascular risk factors in an animal model. **Lipids in Health and disease**, v. 10, n. 126, 2011.

CARRÃO-PANIZZI, M. C. Melhoramento genético da soja para a obtenção de cultivares mais adequados ao consumo humano. **Revista Brasileira de Nutrição Clínica**, v. 15, p. 330-340, 2000.

CARRILLO, E.; PRADO-GASCÓ, V.; FISZMAN, F.; VARELA, P. Why buying functional foods? Understanding spending behaviour through structural equation modelling. **Food Research International**, v. 50, n. 1, p. 361 - 368, 2013.

CHAMPAGNE, C. P.; GARDNER, N.J. Challenges in the addition of probiotic cultures to foods. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 45, n. 1, p. 61 – 84, 2005.

CHANG, J. B.; MOON, W.; BALASUBRAMANIAN, S. K. Consumer valuation of health attributes for soy-based food: a choice modeling approach. **Food Policy**, v. 37, n. 3, p. 335 – 342, 2012.

CIABOTTI, S. **Aspectos químico, físico-químico e sensorial de extratos de soja protegidos dos cultivares de soja convencional e livre de lipoxigenase**. 2004. 122 f. Dissertação (Mestrado em Ciências dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2004.

CIABOTTI, S.; BARCELLOS, M. F. P.; MANDARINO, J. M. G.; TARINO, A. G. Avaliações químicas e bioquímicas dos grãos, extratos e *tofus* de soja comum e de soja livre de lipoxigenase. **Ciência Agrotecnológica**, v. 30, n. 5, p. 920-929, 2006.

COSTA; N. M. B.; ROSA, C. O. B. (Eds.). **Alimentos funcionais: benefícios para a saúde**. Viçosa: UFV, 2008. 298 p.

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

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

DONG, X.; XU, W.; SIKES, R. A.; WU, C. Apoptotic effects of cooked and in vitro digested soy on human prostate cancer cells. **Food Chemistry**, v. 135, n. 3, p. 1643 – 1652, 2012.

EMBRAPA . Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Soja**. Disponível em: < http://www.cnpso.embrapa.br/index.php?cod_pai=8&op_page=112>. Acesso em: 27 ago 2011a.

EMBRAPA . Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Soja na alimentação**. Disponível em: < http://www.cnpso.embrapa.br/soja_alimentacao/index.php?pagina=23>. Acesso em: 15 jun 2011b.

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

EUROPEAN COMMISSION CONCERTED ACTION ON FUNCTIONAL ON FOOD SCIENCE IN EUROPE. Scientific concepts of functional foods in Europe consensus document. **British Journal of Nutrition**, v. 81, suppl.1, p. S1 – S27, 1999.

ESTÉVEZ, A. M.; MEJÍA, J.; FIGUEROLA, F.; ESCOBAR., B. Effect of solid content and sugar combinations on the quality of soymilk-based yogurt. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 4, supplement s1, p. 87 – 97, 2010.

FAO, FOOD AND AGRICULTURAL ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. Rome: World Health Organization. **Probiotics in food: health and nutritional properties and guidelines for evaluation**. Rome, 2006. 50 p. Disponível em: <<ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/009/a0512e/a0512e00.pdf>>. Acesso em: 30 jun 2011.

FARNWORTH, E.; MAINVILLE, I.; DESJARDINS, M. P.; GARDNER, N.; FLISS, I.; CHAMPAGNE, C. Growth of probiotic bacteria and bifidobacteria in a soy yogurt formulation. **International Journal of Food Microbiology**, v. 116, n. 1, p. 174 – 181, 2007.

FELBERG, I.; DELIZA, R.; GONÇALVES, E. B.; ANTONIASSI, R.; FREITAS, S. C.; CABRAL, L. C. Bebida mista de extrato de soja integral e castanha-do-Brasil: caracterização físicoquímica, nutricional e aceitabilidade do consumidor. **Alimentos e Nutrição**, v. 15, n. 2, 163 – 174, 2004.

FOOD PROCESSING. **Modest growth for probiotic ingredients**. 2008. Disponível em: < <http://www.foodprocessing.com/articles/2008/383.html> >. Acesso em: 10 mai 2013.

FOLIGNÉ, B.; DANIEL, C.; POT, B. Probiotics from research to market: the possibilities, risks and challenges. **Current Opinion in Microbiology**, v. 16, n. 3, p. 284 – 292, 2013.

FRIEDMAN, M.; BRANDON, D. L. Nutritional and health benefits of soy proteins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n. 3, p. 1069 – 1086, 2001.

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

FULLER, R. Probiotics: their development and use. In: WAAJI, D.; HEIDT, P. J.; RUSCH, V. C. **Seminar Monograph 8**. Herborn-Dill: Institute for Microbiology and Biochemistry, 1995. 8 p.

FULLER, R. Probiotics in man and animals. **Journal of Applied Bacteriological**, v. 66, n. 5, p. 365 - 378, 1989.

GARRO, M. S.; VALDEZ, G. F.; GIORI, G. S. Temperature effect on the biological activity of *Bifidobacterium longum* CRL 849 and *Lactobacillus fermentum* CRL 251 in pure and mixed cultures grown in soymilk, v. 21, n. 5, p. 511 – 518, 2004.

GOLBITZ, P. Traditional soyfoods: processing and products. **The Journal Nutrition**, v. 125, n. 3, p. 570 – 572, 1995.

GORBACH, S. L. Probiotics in the third millennium. **Digestive and Liver Disease**, v. 34, suppl. 2, p. S2 – S7, 2002.

HEENAN, C. N.; ADAMS, M. C.; HOSKEN, R. W.; FLEET, G. H. Survival and sensory acceptability of probiotic microorganisms in a nonfermented frozen vegetarian dessert. **Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie**, v. 37, n. 4, p. 461 – 466, 2004.

HOU, J. W.; YU, R. C.; CHOU, C. C. Changes in some components of soymilk during fermentation with bifidobacteria. **Food Research International**, v. 33, n. 5, p. 393-397, 2000.

ISOLAURI, E.; SÜTAS, Y.; KANKAANPÄÄ, P.; ARVILOMMI, H.; SALMINEN, S. Probiotics: effects on immunity. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 73, suppl. 2, p. 444S – 450S, 2001.

KAPSAK, W. R.; RAHAVI, E. B.; CHILDS, N. M.; WHITE, C. Functional foods: consumer attitudes, perceptions and behaviors in a growing market. **Journal of the American Diet Association**, v. 111, n. 6, p. 804 - 810, 2011.

KEARNEY, N.; STANTON, C.; DESMOND, C.; FITZGERALD, G.; ROSS, R. P. Challenges associated with development of probiotic-containing functional foods. In: FARNWORTH, E. R. (Ed.). **Handbook of fermented functional foods**. 2 ed. Boca Raton: CRC, 2008. p. 25 -69.

KHAN, R. S.; GRIGOR, J.; WINGER, R.; WIN, A. Functional food product development: opportunities and challenges for manufacturers. **Trends in Food Science and Technology**, v. 30, n. 1, p. 27 – 37, 2013.

KIM, G.; SONG, J.; KIM, E.; CHOI, H.; JANG, H. Isoflavone content and apoptotic effect in HT- 29 cancer cells of a soy germ extract.. **Food Chemistry**, v. 130, n. 2, p. 404 – 407, 2012.

KIM, Y. S.; CHOI, Y. M.; NOH, D. O.; CHO, S. Y.; SUH, H. J. The effect of oyster shell powder on the extension of the shelf life of tofu. **Food Chemistry**, v. 103, n. 1, p. 155 – 160, 2007.

KINOUCHI, F. L. ; MAIA, D. C. G.; RIBEIRO, L. C. A.; PLACERES, M. C. P.; VALDEZ, G. F.; COLOMBO, ROSSI, E. A.; CARLOS, I. Z. A soy-based product fermented by *Enterococcus faecium* and *Lactobacillus helveticus* inhibits the development of murine breast adenocarcinoma. **Food and Chemical Toxicology**, v. 50, n. 11, p. 4144 – 4148, 2012.

KOHYAMA, K.; SANO, Y.; DOI, E. Rheological characteristics and gelation mechanism of tofu (soybean curd) **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 43, n. 7 , p. 1808 – 1812, 1995.

KOMATSU, T. R.; BURITI, F. C. A.; SAAD, S. M. I. Inovação, persistência e criatividade superando barreiras no desenvolvimento de alimentos probióticos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 44, n. 3, p. 329 - 347, 2008.

KOTILAINEN, L.; RAJALAHTI, R.; RAGASA, C.; PEHU, E. **Health enhancing foods**: Opportunities for strengthening the sector in developing countries (Agriculture and Rural Development Discussion Paper 30). Washington, DC: World Bank, Agriculture and Rural Development. 2006. Disponível em: <http://siteresources.worldbank.org/INTARD/Resources/Health_Enhancing_Foods_ARD_DP_30_final.pdf>. Acesso em: 20 jul. 2013.

KRIS-ETHERTON, P. M.; HECKER, K. D.; BONANOME, A.; COVAL, S. M.; BINKONSKI, A. M.; HILPERT, K. F.; GRIEL, A. E.; ETHERTON, . D. Bioactive compounds in foods: their role on prevention of cardiovascular disease and cancer. **The American Journal of Medicine**, v. 113, n. 9, p. 71 – 88, 2002.

LANDGRAF, L. **Embrapa proporciona viagem histórica pela cultura da soja no Brasil**, 2004. Disponível em: <<http://www.embrapa.br/imprensa/noticias/2003/fevereiro/bn.2004-11-25.9583116521/>>. Acesso em: 27 ago 2011.

LEE, S. Y.; MORR, C. V.; SEO, A. Comparison of milk-based and soymilk-based yogurt. **Journal of Food Science**, v. 55, n. 2, p. 532 – 536, 1990.

LEE, Y.; LEE, H.J.; SOHN, H. S. Soy isoflavones and cognitive function. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 16, n. 11, p. 641 – 649, 2005.

LEWIS, S. J.; FREEDMAN, A. R. Review article: the use of biotherapeutic agents in the prevention and treatment of gastrointestinal disease. **Alimentary Pharmacology & Therapeutics**, v. 12, n. 9, p. 807 – 822, 1998.

LIENER, I. E. Possible adverse effects of soybean anticarcinogens. **Journal of Nutrition**, v. 125, suppl. 3, p. 744S – 750S.

LILLY, D. M.; STILLWELL, R. H. Probiotics: growth-promoting factors produced by microorganisms. **Science**, v. 147, n. 3659, p. 747 – 748, 1965.

LIM, B. T.; DEMAN, J. M.; DEMAN, L.; BUZZELL, R. I. Yield and quality of tofu as affected by soybean and soymilk characteristics. Calcium sulfate coagulant. **Journal of Food Science**, v. 55, n. 4, p. 1088-1092, 1990.

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

MANDARINO, J. M. G. Compostos antinutricionais da soja: Caracterização e propriedades funcionais. In: COSTA, N. M. B.; ROSA, C. O. B. (Eds.) **Alimentos funcionais**: benefícios para a saúde. Viçosa, 2008. p. 55 – 80.

MANZONI, M. S. J.; CAVALLINI, D. C. U.; ROSSI, E. A. Efeitos do consumo de probióticos nos lípides sanguíneos. **Alimentos e Nutrição**, v. 19, n. 13, p. 351 – 360, 2008.

MARSH, T. G.; STRAUB, R. K.; VILLALOBOS, F.; HONG, M. Y. Soy protein supports cardiovascular health by downregulating hydroxymethylglutaryl–coenzyme A reductase and sterol regulatory element-binding protein–2 and increasing antioxidant enzyme activity in rats with dextran sodium sulfate–induced mild systemic inflammation. **Nutrition Research**, v. 31, n. 12, p. 922 – 928, 2011.

MARTINS, E. M. F.; RAMOS, A.M.; VANZELA, E. S. L.; STRINGHETA, P. C.; PINTO, C. L. O.; MARTINS, J. M. Products of vegetable origin: a new alternative for the consumption of probiotic bacteria. **Food Research International**, v. 51, n. 2, p. 764 – 770, 2013.

MARZZOCO, A.; TORRES, B. B. **Bioquímica Básica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 3 ed. 2007. 386 p.

MATTHEWS, V. L.; KNUTSEN, S. F.; BEESON, W. L.; FRASER, G. E. Soy milk and dairy consumption is independently associated with ultrasound attenuation of the heel bone among postmenopausal women: the adventist health study-2. **Nutrition Research**, v. 31, n.10, p. 766 – 775, 2011.

MIGUEL, D. P. **Desenvolvimento de sorvete de “iogurte” simbiótico à base de extrato aquoso de soja e de yacon (*Smallanthus sonchifolius*) fermentado com *Lactobacillus acidophilus* CRL 1014**. 2009. 117 f. Tese (Doutorado em Alimentos e Nutrição) – Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2009.

MIGUEL, D. P.; ROSSI, E. A. Viabilidade de bactérias ácido lácticas em sorvetes de iogurte durante o período de estocagem. **Alimentos e Nutrição**, v. 14, n. 1, p. 93 – 96, 2003.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA. Soja. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/vegetal/culturas/soja>. Acesso em: 10 jan 2013.

MITAL, B. K.; STEINKRAUS, K. H.; NAYLOR, H. B. Growth of lactic acid bacteria in soy milks. **Journal of Food Science**, v. 39, n. 5, p. 1018 – 1022, 1974.

MO, H.; KARILUOTO, S.; PIIRONEN, V.; ZHU, Y.; SANDERS, M. G.; VINCHEN, J. P.; WOLKERS-ROOIJACKERS, J.; NOUT, M. J. R. Effect of soybean processing on content and bioaccessibility of folate, vitamin B12 and isoflavones in tofu and tempe. **Food Chemistry**, v. 141, n. 3, p. 2418 – 2425, 2013.

MULDER, R. W. A. W.; HAVENAAR, R.; HUIS EN'T VELD, J. H. J. Intervention strategies: the competitive exclusion microfloras against contamination with pathogens in pigs and poultry. In: FULLER, R. **Probiotics 2: applications and practical aspects**. London: Chapman & Hall, 1997. p. 185-207.

NAKAJIMA, V. M.; OLIVEIRA, C. G.; COSTA, A. G. V.; PAIXÃO, M. P. C.; ARRUDA, A. C. ; MINIM, V. P. R. Hábitos e motivações para o consumo ou não consumo de extrato hidrossolúvel de soja. **Alimentos e Nutrição**, v. 21, n. 4, p. 633 – 642, 2010.

NELSON, A. I.; STEINBERG, M. P.; WEI, S. L. Development of whole soybean foods for home use: rationale, concept and examples. In: Whole soybean foods: for home and village use. **International Agricultural Publications**, n. 14, p. 1 – 31, 1978.

NG, K. H. ; LYE H. S.; EASA, A. M. ; LIONG, M. T. Growth characteristics and bioactivity of probiotics in tofu-based medium during storage. **Annals of Microbiology**, v. 58, n. 3 , p. 477–487, 2008.

OBATOLU, V. A. Effect of different coagulants on yield and quality of tofu from soymilk. **European Food Research an Technology**, v. 226, n. 3, p. 467 – 472, 2008.

OSUNDAHUNSI, D., AMOSU, D.; IFESAN, B. O. T. Quality evaluation of acceptability of soy-yoghurt with different colors and fruit flavors. **American Journal of Food Technology**, v. 2, n. 4, p. 273 – 280, 2007.

OZEN, A. E.; PONS, A.; TUR, J. A. Worldwide consumption of functional foods: a systematic review. **Nutrition Reviews**, v. 70, n. 8, p. 472 – 481, 2012.

PARK, I. H.; KIM, J. G.; SHIN, Y. W.; KIM, S. H.; WHANG, K. Y. Effect of dietary inclusion of *Lactobacillus acidophilus* ATCC 43121 on cholesterol metabolism in rats. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 17, n. 4, p. 655 – 662, 2007.

PAULY-SILVEIRA, N. D. **O emprego da metodologia de superfície de resposta no desenvolvimento de um novo produto simbiótico, fermentado com *Enterococcus faecium* CRL 183 E *Lactobacillus helveticus* ssp *jugurti* 416, à base de extratos aquosos de soja e de yacon (*Smilax sonchifolius*)**. 2009. 122 f. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição) – Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2009.

PAULY-SILVEIRA, N.; BEDANI, R.; CAVALLINI, D. C. U.; MANZONI, M. S. J.; MIGUEL, D. P.; BORSATO, D.; ROSSI, E. A. Optimization of a synbiotic formulation of soy yoghurt containing yacon extract by response surface methodology. **International Journal of Probiotics & Prebiotics**, n. 4, v. 5, p. 211 – 216, 2010.

PRABHAKARAN, M. P.; PERERA, C. O.; VALIYAVEETIL, S. Effect of diferent coagulants on the isoflavone levels and physical properties of prepared firm tofu. **Food Chemistry**, v. 99, n. 3, p. 492 – 499, 2006.

PRADO, F. C.; PARADA, J. L.; PANDEY, A.; SOCCOL, C. R. Trends in non-dairy probiotic beverages. **Food Research International**, v. 41, n. 2, p. 111 - 123, 2008.

RACKIS, J. J. Biological and physiological factors in soybeans. **Journal of the American Oil Chemistry Society**, v. 51, n. 1, p. 161A – 174A, 1974.

RACKIS, J. J.; SESSA, D. J.; HONIG, D. H. Flavor problems of vegetable food proteins. **Journal of the American Oil Chemistry Society**, v. 56, n. 6, p. 262 – 271, 1979.

RANADHEERA, R.D.C.S.; BAINES, S. K.; ADAMS, M. C. Importance of food in probiotic efficacy. **Food Research International**, v. 43, n. 1, p. 1 – 7, 2010.

REDONDO, N. C. **Avaliação *in vitro* de características probióticas do *Enterococcus faecium* CRL183 e do *Lactobacillus helveticus* ssp *jugurti* 416**. 2008. 109 f. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição) – Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2008.

RIBEIRO, L. C. A. **Modulação da resposta imune através do consumo de produto probiótico de soja durante o desenvolvimento de câncer de mama murino experimental**. 2010. 124 f. Dissertação (Mestrado em Biociências e Biotecnologia Aplicadas à Farmácia) – Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2010.

RINGGENBERG, E.; ALEXANDER, M.; CORREDIG, M. Effect of concentration and incubation temperature on the acid induced aggregation of soymilk. **Food Hydrocolloids**, v. 30, n. 1, p. 463 – 469, 2013.

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

RODRÍGUEZ-ROQUE, M. J.; ROJAS-GRÄL, M. A.; ELEZ-MARTÍNEZ, P.; MARTÍN-BELLOSO, O. Soymilk phenolic compounds, isoflavones and antioxidant activity as affected by in vitro gastrointestinal digestion. **Food Chemistry**, v. 136, n. 1, p. 206 – 212, 2013.

ROSSI, E. A.; REDDY, K. V.; SILVA, R. S. F. S. Formulation of soy-whey-yogurt, using response surface methodology. **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, v. 7, p. 387 – 389, 1984.

ROSSI, E. A.; VENDRAMINI, R. C.; CARLOS, I. Z.; OLIVEIRA, M. G.; VALDEZ, G. F. Efeito de um novo produto fermentado de soja sobre os lípides séricos de homens adultos normocolesterolêmicos. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v. 53, n. 1, p. 47 – 51, 2000.

ROSSI, E. A.; VENDRAMINI, R. C.; CARLOS, I. Z.; PEI, Y. C.; VALDEZ, G. F. Development of a novel fermented soymilk product with potential probiotic properties. **European Food Research Technology**, v. 209, n. 5, p. 305 – 307, 1999.

ROSSI, E. A.; VENDRAMINI, R. C.; CARLOS, I. Z.; UEJI, I. S.; SQUINZARI, M. M.; SILVA JR, S. I.; VALDEZ, G. F. Effects of a novel fermented soy product on the serum lipides of hipercholesteromic rabbits. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 74, n. 3, p. 213 – 216, 2003.

SAAD, S. M. I. Probióticos e prebióticos: o estado da arte. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 42, n. 1, p. 1 – 16, 2006.

SANDERS, M. E. Overview of functional foods: emphasis on probiotic bacteria. **International Dairy Journal**, v. 8, n. 5 – 6, p. 341- 347, 1998.

SHEEHAN, V. M.; ROSS, P.; FITZGERALD, G. F. Assessing the acid tolerance and the technological robustness of probiotic cultures for fortification in fruit juices. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 8, n. 2, p. 279 – 284, 2007.

SHIMIZU, T. Health claims on functional foods: the japanese regulations and an international comparison. **Nutrition Research Reviews**, v. 16, n. 2, p. 242 -252, 2003.

SHUN-TANG, G.; ONO, T.; MIKAMI, M. Interaction between protein and lipid in soybean milk at elevated temperature. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 45, n. 12, p. 4601 – 4605, 1997.

SIRÓ, I.; KAPOLNA, E.; KAPOLNA, B.; LUGASI, A. Functional food. Product development, marketing and consumer acceptance: a review. **Appetite**, v. 51, n. 3, p. 456 – 467, 2008.

SIVIERI, K.; MORALES, M. L. V.; ADORNO, M. A. T.; SAKAMOTO, I. K.; SAAD, S. M. I.; ROSSI, E. A. *Lactobacillus acidophilus* 1014 improved “gut health” in the SHIME® reactor. **BMC Gastroenterology**, v. 13, p. 1 – 9, 2013.

SIVIERI, K.; SPIPARD-BARBISAN; A. L. T.; BARBISAN, L. F.; BEDANI, R.; PAULY, N. D.; CARLOS, I. Z.; BENZATTI, F.; VENDRAMINI, R. C.; ROSSI, E. A. Probiotic *Enterococcus faecium* CRL 183 inhibit chemically induced colon cancer in male Wistar rats. **European Food Research and Technology**, v. 228, n. 2, p. 231 – 237, 2008.

SOUZA, D. A. **O mercado de bebidas em cena.** 2006. Disponível em: < <http://www.acnielsen.com.br/news/pr20060530.shtml>>. Acesso em: 01 ago 2012.

STEINKRAUS, K. H. Nutritional significance of fermented foods. **Food Research International**, v. 27, n. 3, p. 259 – 267, 1994.

SZAKÁLY, Z.; SZENT, V.; KÖVER, G.; POLERECZKI, Z.; SZIGETI, O. The influence of lifestyle on health behavior and preference for functional foods. **Appetite**, v. 58, n. 1, p. 406 – 413, 2012.

TORRES, N.; TORRE-VILLALVAZO, I.; TOVAR, A. R. Regulation of lipid metabolism by soy protein and its implication in diseases mediated by lipid disorders. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 17, n. 6, p. 365 – 373, 2006.

TORRES-PENARANDA, A. V.; REITMEIER, C. A.; WILSON, L. A.; FEHR, W. R.; NARVEL, J. M. Sensory characteristics of soymilk and tofu made from lipoxigenase-free and normal soybeans. **Journal of Food Science**, v. 63, n. 6, p. 1085 – 1087, 1998.

TORRES-PENARANDA, A. V.; REITMEIER, C. A. Sensory descriptive analysis of soymilk. **Journal of Food Science**, v. 66, n. 2, p. 352 – 356, 2001.

TU, V. P.; HUSSON, F.; SUTAN, A.; HA, D. T.; VALENTIN, D. For me the taste of soy is not a barrier to its consumption. And how about you? **Appetite**, v. 58, n. 3, p. 914 -921, 2012.

VALSECCHI, A. E.; FRANCHI, S.; PANERAI, A. E.; ROSSE, A.; SACERDOTE, P.; COLLEONI, M. The soy isoflavone genistein reverses oxidative and inflammatory state, neuropathic pain, neurotrophic and vasculature deficits in diabetes mouse model. **European Journal of Pharmacology**, v.650, n. 2-3, p. 694 – 702, 2011.

VASILJEVIC, T.; SHAH, N. P. Probiotics: from Metchnikoff to bioactives. **International Dairy Journal**, v. 18, n. 7, p. 714 – 728, 2008.

YANG, A.; JAMES, A. T. Effects of soybean protein composition and processing conditions on silken tofu properties. **Journal of the Food Science and Agriculture**, v. 93, n. 12, p. 3065 – 3071, 2013.

WANG, H. L. Tofu e tempeh as potential protein sources in the western diet. **Journal of the Association Oil Chemistry Science**, v. 61, n. 3, p. 528-534, 1984.

WANG, Y. C.; YU, I. C.; CHOW, C.C. Antioxidative activities of soymilk fermented with lactic acid bacteria and bifidobacteria. **Food Microbiology**, v. 23, n. 2, p. 128 – 135, 2006.

WATANABE, T.; KISHI, A. **The book of soybeans.** Tokyo and New York: Japan Publications Inc., 1984.

WEI, P.; LIU, M.; CHEN, Y.; CHEN, D. Sistematic review of soy isoflavone supplements on osteoporosis in women. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, v. 5, n. 3, p. 243 – 248, 2012.

ZHANG, Q.; LI, W.; FENG, M.; DONG, M. Effects of different coagulants on coagulation behavior of acid-induced soymilk. **Food Hydrocolloids**, v. 33, n. 1, p. 106 – 110, 2013.

CAPÍTULO 2

ARTIGO

Desenvolvimento de uma sobremesa potencialmente probiótica, mista de *tofu* e extrato aquoso de soja fermentado

“Abstract”

The aim of this study was to develop a potentially probiotic dessert with added tofu and aqueous extract of soy fermented with *Enterococcus faecium* CRL 183. Three formulations were prepared with different proportions of tofu and fermented soy product: "A" (50% / 50%), "B" (70% / 30%) and "C" (80% / 20%). All the formulations contained the same percentages of NaHCO₃, soy cream, strawberry pulp, flavor milk powder, natural colouring agent, carrageenan gum, and sugar. Sensory tests of acceptance and purchase intent were performed to select the best formulation, after four days of storage, which was monitored by physico-chemical, microbiological and rheological analysis after 2, 14 and 28 days of storage ($\pm 5^\circ \text{C}$) and sensory analysis after 4, 14 and 28 days. We also determined the chemical composition and caloric value. The dessert "A" was considered the best in sensory tests, mainly regarding the purchase intent, because 47% of the panelists reported that "would certainly or probably buy this product". Thus, it was selected to continue the study. This formulation exhibited counts of lactic acid strains between 8 and 9 log CFU. g⁻¹ throughout the experimental period. We also observed the occurrence of acidification, syneresis and texture changes after 14 days of storage. Both the sensory results did not change in the different times of storage. In conclusion, the results revealed the possibility to develop a probiotic dessert with added tofu and fermented soy product.

Keywords: Functional food; lactic bacteria; soy; *E. faecium*.

Resumo

O objetivo desse trabalho foi desenvolver uma sobremesa com potencial probiótico, mista de *tofu* e extrato hidrossolúvel de soja fermentado com *Enterococcus faecium* CRL 183. Foram elaboradas três formulações contendo as mesmas porcentagens de NaHCO_3 , creme de soja, polpa de morango, aroma de leite em pó, corante carmim de colchonilha, goma carragena e açúcar; mas que diferiam quanto às proporções de *tofu* e fermentado de soja, sendo formulação “A”: (50%/ 50%), formulação “B”: (70%/ 30%) e formulação “C”: (80%/ 20%). Testes sensoriais de aceitação e de intenção de compra foram conduzidos para selecionar a melhor formulação, à qual foi posteriormente submetida a análises físico-químicas, reológicas e microbiológicas nos tempos de 2, 14 e 28 dias de estocagem ($\pm 5^\circ\text{C}$) e também a análises sensoriais nos tempos de 4, 14 e 28 dias. Também foram determinados a composição centesimal e o valor calórico. A sobremesa “A” foi considerada a melhor em termos sensoriais, principalmente quanto à intenção de compra, pois 47% dos consumidores “certamente ou provavelmente comprariam o produto”. Sendo assim, ela foi selecionada para a continuidade do estudo. Nessa formulação, as culturas láticas permaneceram viáveis ao longo do período experimental, com contagens entre 10^8 e 10^9 UFC. g^{-1} . Houve também a ocorrência de mudanças na textura, acidificação e sinérese, após 14 dias de armazenamento. Tanto a aceitação quanto a intenção de compra não variaram nos tempos avaliados. A partir desses resultados, concluiu-se que é viável a elaboração de uma sobremesa probiótica contendo *tofu* e fermentado de soja.

Palavras-chave: alimento funcional; bactérias láticas; soja; *E. faecium*.

Introdução

Os alimentos funcionais são aqueles “consumidos como parte da dieta usual, que produzem efeitos metabólicos ou fisiológicos e/ ou capacidade de reduzir o risco de doenças crônico-degenerativas, além das suas funções nutricionais básicas” (BRASIL, 1999). No segmento de mercado de alimentos funcionais, considerado um dos mais competitivos (BIGLIARDI & GALATI, 2013), promissores e dinâmicos na atualidade (SIRÓ et al., 2008; KHAN et al., 2013), destacam-se alimentos *in natura*, como a soja e alimentos processados como os probióticos, em virtude das muitas evidências científicas dos benefícios associados à sua ingestão (FAO & WHO, 2006; KIM et al., 2012; FOSTER & NEUFELD, 2013; RODRÍGUEZ-ROQUE et al., 2013; SIVIERI et al., 2013).

A soja é uma leguminosa de valor nutritivo e que contém grande quantidade de compostos bioativos aos quais são atribuídos diversos efeitos funcionais, como prevenção de osteoporose (MATTHEWS et al., 2011), atenuação dos sintomas de diabetes (VASECCHI et al., 2011), prevenção de doenças cardiovasculares (MARSH et al., 2011), redução dos níveis de colesterol do plasma sanguíneo, além de proteção contra doenças renais (TORRES et al., 2006), câncer (DONG et al., 2012; KINOCHI et al., 2012). De acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2008), a ingestão de proteína da soja “pode contribuir para a redução do colesterol”, desde que haja um consumo diário de no mínimo 25g, associado a uma dieta e hábitos de vida saudáveis.

O consumo de derivados de soja é muito variável em diferentes países do mundo, sendo fortemente influenciado por diferenças culturais (TU et al., 2012). Entre os ocidentais, o consumo dessa leguminosa é pouco expressivo e, além disso,

seu sabor é descrito frequentemente como “*beany flavor*” (sabor de feijão-cru), adstringente ou amargo (TORRES-PENARANDA & REITEMEIER, 2001).

A soja pode ser empregada para a fabricação de ampla variedade de produtos, incluindo *tofu*, *tempeh* (LAI et al., 2013), sorvetes (MIGUEL et al., 2004) , bebidas fermentadas ou não (POTTER et al., 2007; BEDANI et al., 2013). O *tofu* se caracteriza pela versatilidade, baixo custo e alto valor nutritivo (CAI & CHANG, 1998). Sua composição é isenta de colesterol e lactose e, além disso, apresenta alto teor proteico e pequena quantidade de gorduras saturadas (LIU, 1999). Já a bebida fermentada de soja é alimento pouco conhecido e consumido no Brasil (BEHRENS & DA SILVA, 2004) e que contém níveis reduzidos de colesterol, gordura saturada e lactose (ESTÉVEZ et al., 2010). Em 1999, Rossi e colaboradores desenvolveram um produto de soja fermentado com cepas de *Enterococcus faecium* CRL 183, espécie aprovada pela Anvisa (2008) como probiótica; e de *Lactobacillus helveticus* 416, que atuou como cultura bioajustadora do processo fermentativo. Estudos desenvolvidos no Laboratório de Pesquisa em Probióticos (LPP), têm verificado diferentes benefícios atribuídos à ingestão dessa bebida, tais como efeitos hipocolesteromiantes (ROSSI et al., 2003), estimulador do sistema imune, inibidor dos cânceres de mama (KINOUCHI et al., 2012) e de cólon (SIVIERI et al., 2008), preventivo da osteoporose (BEDANI et al., 2006) e de doenças coronarianas (CAVALLINI et al., 2011).

Os derivados de soja representam boas matrizes para carrear cepas viáveis de micro-organismos probióticos após a fermentação (MOLINA et al., 2012). Vale destacar que o processo fermentativo é capaz de exercer uma ação conservante (CHAMPAGNE & GARDNER, 2005), reduzir os níveis de oligossacarídeos causadores de flatulência (WANG et al., 2003) e de fatores antinutricionais (LAI et al., 2013), aumentar os níveis de isoflavonas biologicamente ativas (formas

agliconas) (CHIEN et al., 2006) e melhorar a atividade antioxidante (WANG et al., 2006), o valor nutricional e a aceitabilidade de produtos de soja (MITAL et al., 1974; MARTINS et al., 2013).

Os probióticos são “micro-organismos vivos que quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde do hospedeiro” (FAO & WHO, 2006). Diversos estudos têm demonstrado que a sua ingestão exerce efeitos benéficos à saúde, incluindo redução dos sintomas de doenças intestinais inflamatórias (HALLER et al., 2010) e de diabetes (DAVARI et al., 2013); prevenção e redução dos sintomas de diferentes tipos de diarreia (SZAJEWSKA & MRUKOWICZ, 2005; CHEN et al., 2010); produção de vitaminas (MOLINA et al., 2012); alívio da intolerância à lactose (DE VRESE et al., 2001); inibição de certos tipos de câncer (SIVIERI et al., 2008; SERBAN, 2013) e redução dos níveis de colesterol sérico (GUO et al., 2011).

O mercado global de probióticos movimentou 14,9 bilhões de dólares em 2007, sendo que a perspectiva é de alcançar a marca de 19,6 bilhões no ano de 2013 (FOOD PROCESSING, 2008). No mundo, os alimentos probióticos mais consumidos são lácteos, em especial, iogurtes e leites fermentados (PRADO et al., 2008). Entretanto, devido ao aumento do número de indivíduos vegetarianos, com dislipidemias ou intolerantes à lactose, têm sido observado um crescente interesse pelo desenvolvimento de alimentos probióticos à base de matrizes não-lácteas (MARTINS et al., 2013), com destaque para os fermentados de soja, em virtude das suas inúmeras qualidades e efeitos funcionais (LAI et al., 2013). Sendo assim, este trabalho teve por objetivo o desenvolvimento de uma sobremesa probiótica, mista de *tofu* e extrato hidrossolúvel de soja fermentado com *E. faecium* CRL 183.

Material e Métodos

Material

O material foi constituído por extrato hidrossolúvel de soja (EHS) processado na UniverSoja, instalada na Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara/Unesp (ROSSI et al., 1984); e por cepas de *E. faecium* CRL183 (Centro de Referência para Lactobacilos - CERELA) e *L. helveticus* 416 (Instituto de Tecnologia de Alimentos – ITAL). Todos foram utilizados para a obtenção do *tofu* e do fermentado de soja, cujas associações constituíram as bases das sobremesas com potencial probiótico a serem estudadas.

Métodos

1 - Planejamento experimental

Inicialmente foram processados o *tofu* e o fermentado probiótico de soja. Ao *tofu* foram adicionados todos os demais ingredientes, com exceção do fermentado de soja, que foi incorporado ao final do processamento nas seguintes proporções: 50% de *tofu* e 50% de fermentado (formulação “A”), 70% de *tofu* e 30% de fermentado (formulação “B”) e 80% de *tofu* e 20% de fermentado de soja (formulação “C”). As três formulações processadas foram submetidas às análises microbiológicas para garantir a segurança dos consumidores e, posteriormente, aos testes sensoriais para a seleção da melhor formulação de sobremesa probiótica mista de *tofu* e EHS fermentado.

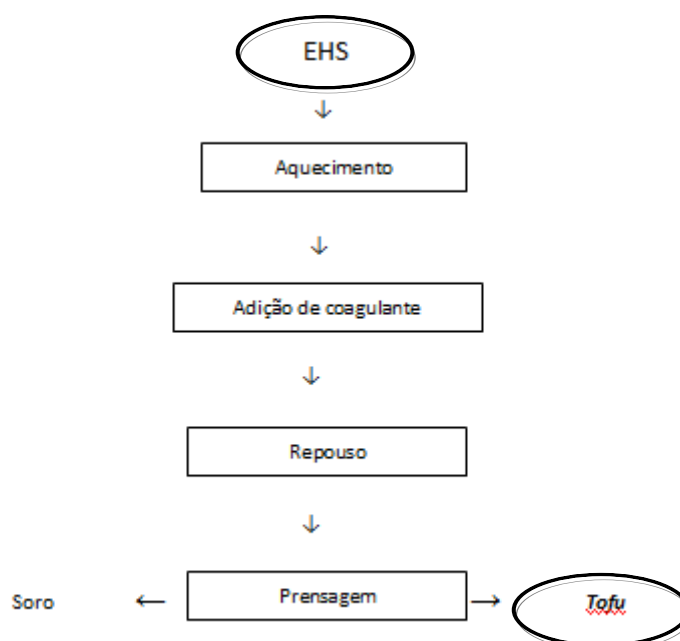
A melhor formulação, selecionada sensorialmente, foi avaliada quanto à composição centesimal e ao valor calórico, uma semana após sua produção; e foi

monitorada através de avaliações microbiológicas, físico-químicas e reológicas nos tempos de 2, 14 e 28 dias de armazenamento sob refrigeração ($\pm 5^{\circ}\text{C}$) e de análise sensorial nos tempos de 4, 14 e 28 dias (FERRAGUTI et al., 2009; CODA et al., 2012).

2 - Obtenção do tofu

Um volume de 1800 mL de EHS, processado pela UniverSoja/ UNESP, foi aquecido à 87°C , temperatura na qual foi realizada a incorporação de 37,5 mL de suco de limão Tahiti (*Citrus latifolia*) previamente diluído em 200 mL de EHS, sob agitação lenta durante 5 segundos e, em seguida, foi mantido em repouso durante 15 minutos para que ocorresse a precipitação das proteínas. Após esse período, os coágulos formados foram transferidos para formas de queijo (15 cm de diâmetro e 12,5 cm de altura) e prensados ($\pm 1,7\text{ kPa/ 1h}$) para a remoção do soro e obtenção do *tofu*, o qual foi armazenado sob refrigeração ($\pm 5^{\circ}\text{C}$) por 12h (Figura 1).

Figura 1 - Processamento do *tofu*.



Fonte - Dados da pesquisa.

3 - Obtenção do fermentado de soja

O produto fermentado foi produzido conforme a metodologia descrita por Rossi e colaboradores (1999), a partir de EHS adicionado de: 1,5% (v/v) de cultivo recente de *E. faecium* CRL 183; 1,5% (v/v) de cultivo de *L. helveticus* 416; 0,8% de óleo de soja (Liza[®], Brasil); 1% de lactose grau alimentício (Purac[®], Brasil); 0,14% de Recodan[™] RS-B (Danisco[®], Brasil); 2,5% de leite em pó desnatado (Nestlé[®], Brasil); 0,3% de gelatina em pó sem sabor (Oetker[®], Brasil) e 6% de açúcar (União[®], Brasil). A fermentação foi conduzida em estufa bacteriológica à 37°C até que se atingisse o pH 4,4.

4 - Obtenção da sobremesa probiótica de soja

Após cozimento do *tofu*, visando melhorar a textura do produto final, este foi homogeneizado durante 5 minutos e, em seguida, foi adicionado de bicarbonato de sódio dissolvido em água (Synth[®], Brasil) (0,3%) e realizada nova homogeneização durante 5 minutos. A essa mistura foi incorporado o creme de soja (Naturis[®], Brasil) (15%) e homogeneizado por mais 5 minutos. A seguir, foram adicionados, e homogeneizados durante 5 minutos, 7,5% de base de polpa de morango (De Marchi[®], Brasil); 0,1% de aroma de leite em pó idêntico ao natural como mascarante para soja (Duas Rodas Industrial[®], Brasil); 0,1 % de corante natural carmim de colchonilha (Ibrac[®], Brasil); 0,4% de goma carragena tipo K-100 (Genulacta[®], Estados Unidos) e açúcar refinado (União[®], Brasil) suficiente para perfazer a concentração de 8% em todas as formulações (A, B, C). Por fim, o EHS fermentado foi incorporado e homogeneizado durante 2 minutos. As amostras foram conservadas sob refrigeração ($\pm 5^{\circ}\text{C}$) até o início das análises.

5 - Monitoramento de micro-organismos contaminantes

O controle microbiológico de contaminantes foi feito anteriormente a cada sessão de análise sensorial, considerando-se os padrões microbiológicos sanitários estabelecidos para *tofu* e similares (desengordurados ou não) regulamentados pela ANVISA (2001), através da pesquisa de: coliformes totais e termotolerantes (coliformes a 45°C) pelo método do número mais provável segundo a *American Public Health Association* (KORNACKI & JOHNSON, 2001), *B. cereus* pela contagem direta em placas (BENNETT & BELAY, 2001), *Salmonella* sp pelo método ISO 6579 (2007) e estafilococos coagulase positiva por meio de placas Petrifilm[™] *Staph Express* (3M, Brasil).

6 - Análise sensorial

O painel de avaliação sensorial foi constituído por 65 consumidores voluntários, não treinados e de ambos os sexos, que foram recrutados na Faculdade de Ciências Farmacêuticas da UNESP de Araraquara. No teste de aceitação foi utilizada uma escala hedônica de 9 pontos e os atributos avaliados foram: aroma, aparência, sabor, textura e impressão global (STONE & SIDEL, 1993). A avaliação da intenção de compra foi feita empregando-se uma escala estruturada de 5 pontos (MEILGAARD et al, 1999) (Anexo 1). As amostras foram codificadas com números de três dígitos e servidas de forma monádica e aleatória.

A formulação mais aceita, determinada na etapa anterior, foi submetida às seguintes avaliações:

A - Caracterização físico – química e valor calórico

Foram realizadas, em triplicata, as determinações de pH utilizando medidor de pH digital modelo PG 1800 (Gehaka, Brasil) (IAL, 2008) e de acidez titulável por titulação com NaOH 0,1N (IAL, 2008) nos tempos de 2, 14 e 28 dias de estocagem. Também foram determinados em triplicata: umidade por infravermelho com balança MA 35 (Sartoris), utilizando 5g de amostra (SLEAGUN & POPA, 2009); lipídios por Mojonnier (IAL, 2008); cinzas por gravimetria em mufla a 550°C (AOAC, 2010); proteínas pelo método de micro Kjeldahl (fator de correção 6, 25) (AOAC, 2010) e carboidratos totais por diferença (fração NIFEXT). O valor calórico (VC) foi estimado em Kcal/ 100g de produto, empregando a conversão de Atawer.

B - Viabilidade celular

As contagens de células de *E. faecium* CRL 183 e de *L. helveticus* 416 foram realizadas nos tempos de 2, 14 e 28 dias de estocagem, empregando-se os meios de cultura M17 (Himedia®, Índia) e MRS ágar (Acumedia®, Estados Unidos), respectivamente.

C - Textura instrumental

A textura instrumental foi realizada através de teste de dupla compressão em texturômetro TA-XT plus (*Stable Micro Systems*, Reino Unido), utilizando 8 g de amostra ($\pm 10^{\circ}\text{C}$) e empregando compressão de 1 cm e velocidade de 1 mm.s^{-1} (MARUYAMA et al., 2006; BURITI et al., 2010). Os parâmetros avaliados foram firmeza, coesividade, adesividade, elasticidade e gomosidade.

D - Monitoramento de micro-organismos contaminantes

Realizada anteriormente a cada sessão de avaliação sensorial, conforme descrito no item 5.

E - Análise sensorial

Realizada nos tempos de 4, 14 e 28 de estocagem, conforme descrito no item 6.

F - Análise estatística

Os dados foram avaliados pela análise de variância (ANOVA) e pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Todas as análises foram realizadas por meio do *software* Bioestat 5.0.

Resultados e Discussão

Testes preliminares

O sulfato de cálcio foi testado como coagulante para a elaboração do *tofu*, por ser o mais comumente empregado pelos produtores (LIU, 1999) e pelos diversos relatos na literatura sobre seu uso (PRABHAKARAN et al., 2006; BENASSI et al., 2011). Entretanto, verificou-se que o produto obtido dessa forma, apresentou um acentuado amargor e sabor residual de soja. Assim, optou-se pela realização de precipitação isoelétrica pela adição de ácido cítrico proveniente do suco de limão, visando conferir ao produto uma melhor qualidade sensorial (SANJAY et al., 2008).

A adição de bicarbonato de sódio às formulações foi adotada com o propósito de neutralizar o pH do produto, tornando-o não tão próximo do ponto isoelétrico das proteínas da soja que está em torno de 4,5 (LIU, 1999) e, dessa forma, melhorar a solubilização dessas proteínas.

Ao todo, foram elaboradas três formulações que se diferenciavam quanto às proporções de *tofu* e fermentado de soja (Tabela 1).

Tabela 1 – Composição das formulações elaboradas.

Formulação	<i>Tofu</i> (%)	EHS fermentado (%)
A	80	20
B	70	30
C	50	50

Fonte - Dados da pesquisa.

Seleção da melhor formulação em termos sensoriais

Todas as formulações obtiveram notas acima de 6 e, portanto, estavam dentro de um limite crítico de aceitação (nota 6 - “gostei ligeiramente”), com exceção da formulação C, quanto aos atributos sabor e impressão global (Tabela 2). Vale ressaltar que as amostras foram analisadas previamente quanto a presença de micro-organismos contaminantes, segundo a determinação da ANVISA (2001), apresentando-se aptas a serem avaliadas sensorialmente.

Tabela 2 - Médias e desvios-padrões (D.P.) dos resultados de aceitação das formulações A, B e C.

Atributo	Formulação (média ± D.P.)		
	A	B	C
Aparência	7,5±1,3 ^a	7,5±1,5 ^a	7,1±1,6 ^a
Aroma	7,2±1,5 ^a	7,1±1,3 ^a	6,6±1,7 ^a
Sabor	6,5±1,9 ^a	6,0±1,9 ^a	5,1±1,9 ^b
Textura	6,5±1,8 ^a	6,5±1,7 ^a	6,1±1,9 ^a
Impressão			
Global	6,6±1,5 ^a	6,2±1,6 ^{ab}	5,7±1,7 ^b

Fonte - Dados da pesquisa.

Notas - Médias com letras iguais na mesma linha não diferem entre si ao nível 5% de probabilidade pelo teste de Tukey, n=65 consumidores, escala de 0 a 9 correspondendo de desgostei muitíssimo a gostei muitíssimo.

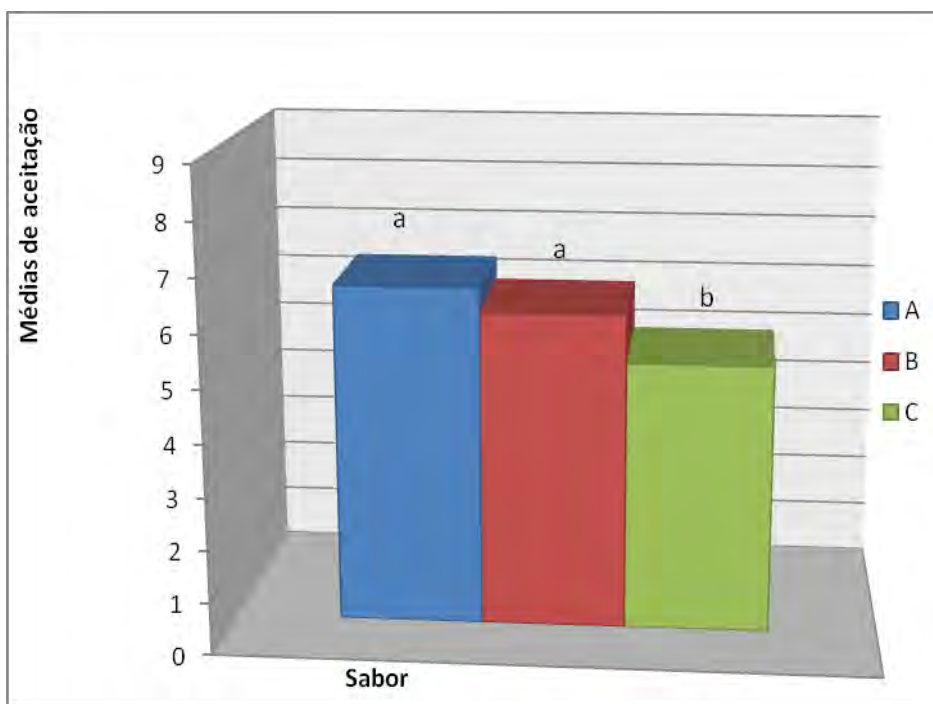
Formulação "A": 50% *tofu* + 50% EHS fermentado; Formulação "B": 70% *tofu* + 30% EHS fermentado; Formulação "C": 80% *tofu* + 20% EHS fermentado.

Foi observado ainda, que parte dos consumidores relatou a presença de "sabor residual de soja", "amargor" e "adstringência" nas formulações analisadas. Esses termos são recorrentes na descrição de produtos à base de soja (TORRES-PENARANDA & REITMEIER, 2001), a percepção dos mesmos na sobremesa avaliada nesse estudo deve ter contribuído negativamente para a sua aceitação. Outra característica algumas vezes citada e que provavelmente influenciou na aceitação foi "textura arenosa" ou "presença de grumos", que é considerado como um dos defeitos tecnológicos que podem contribuir para a rejeição de um produto pelo consumidor (LAZARINI, 2013).

Os resultados de aceitação das três formulações foram muito semelhantes, sendo que as formulações A e B apresentaram as melhores pontuações, diferindo da formulação C apenas quanto ao sabor ($p < 0,05$), revelando que este atributo exerceu importante influência sobre a aceitação do produto pelos consumidores neste estudo (Gráfico 1). De fato, o sabor tem papel de destaque na aceitação de

alimentos, especialmente daqueles à base de soja, em função de características típicas como adstringência e sabor de feijão cru, consideradas desagradáveis ao paladar ocidental (GRANATO et al., 2010; LV et al., 2011). As médias verificadas para o atributo sensorial “sabor” nas formulações A, B e C, variaram entre 5,1 e 6,5, sendo condizentes com os resultados obtidos por Rossi e colaboradores (1999) durante o desenvolvimento de um novo produto fermentado à base de EHS e potencialmente probiótico, no qual verificaram uma pontuação média de 5,9 para o atributo sabor no produto formulado com as culturas de *E. faecium* CRL183 e *L. helveticus* 416.

Gráfico 1 - Resultados de aceitação das formulações A, B e C em relação ao atributo “sabor”.



Fonte - Dados da pesquisa.

Notas - Médias com letras em comum no mesmo bloco não diferem entre si ($p < 0,05$), $n=65$ consumidores (escala de 0 a 9 correspondendo de desgostei muitíssimo a gostei muitíssimo).

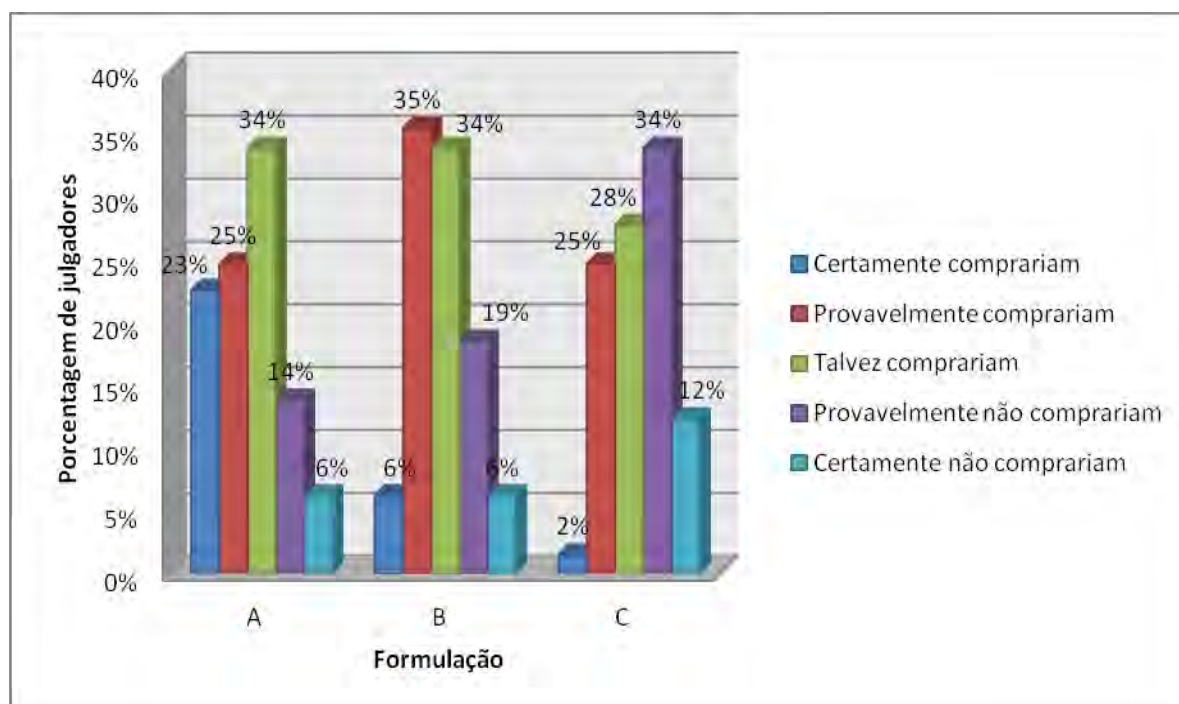
Formulação “A”: 50% *tofu* + 50% EHS fermentado; Formulação “B”: 70% *tofu* + 30% EHS fermentado; Formulação “C”: 80% *tofu* + 20% EHS fermentado.

Nos últimos anos, tem se observado esforços no sentido de desenvolver novos produtos de soja, tendo em vista a melhoria da qualidade sensorial do extrato hidrossolúvel de soja através de fermentação láctica e/ou desenvolvimento de novos cultivares de soja livre de lipoxigenase, e, ainda, da adição de sacarose, aromatizantes, saborizantes, entre outros (MIGUEL et al., 2004; TEH et al., 2005; ESTÉVEZ et al., 2010) . Há diversos relatos de resultados de aceitação distintos de produtos à base de EHS. Cavallini e colaboradores (2010) obtiveram médias entre 6 e 7, para um produto de soja fermentado com culturas *E. faecium* CRL183 e *L. helveticus* 416 e suplementado com isoflavonas. Mondragón-Bernal e colaboradores (2010) visando melhorar as características sensoriais de uma bebida fermentada simbiótica de soja testaram 16 saborizantes diferentes e encontraram os melhores valores de aceitação global para o sabor pêssago, com notas entre 4,6 e 5,3. Boatto e colaboradores (2010) desenvolveram uma sobremesa à base de *tofu* enriquecida com cálcio e polpa de morango e observaram médias de aceitação de 4,54 para o produto elaborado com soja comum e de 7,08 para o outro contendo soja livre de lipoxigenase (BRS 213). Nem sempre a aromatização dos produtos a base de soja melhora substancialmente a aceitação, uma vez que tal prática não encobre falhas de processamento, ou mesmo características impróprias das matérias-primas.

Em relação aos resultados de intenção de compra das formulações A e B, a soma de todos os consumidores que “certamente” ou “provavelmente comprariam” o produto foi superior à dos consumidores que “certamente” ou “provavelmente não comprariam” o produto, sugerindo que a aceitação sensorial de ambos foi maior do que a rejeição, em contraste com a formulação “C” (Gráfico 2). Os melhores resultados foram obtidos pela formulação “A”, com maior proporção de fermentado

de soja, pois 47% de consumidores “certamente” ou “provavelmente comprariam” esse produto.

Gráfico 2 - Médias dos resultados de intenção de compra das formulações A, B e C.



Fonte - Dados da pesquisa.

Notas - Formulação “A”: 50% *tofu* + 50% EHS fermentado; Formulação “B”: 70% *tofu* + 30% EHS fermentado; Formulação “C”: 80% *tofu* + 20% EHS fermentado.
n=65 consumidores.

Sendo assim, a formulação “A”, com 50% de *tofu* e 50% de fermentado de soja, foi selecionada para realização das análises físico-químicas, microbiológicas, reológicas e sensoriais durante o tempo de 28 dias em estocagem refrigerada.

Avaliações da formulação selecionada sensorialmente

A composição centesimal e o valor calórico estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 - Composição química e valor calórico (Kcal/ 100g) da formulação selecionada sensorialmente ("A").

Análises	Média ¹ ± DP
Umidade	72,2% ± 0,0
Proteínas	4,4% ± 0,0
Lipídeos	3,1% ± 0,0
Cinzas	0,6% ± 0,0
Carboidratos	19,6%
Valor calórico	124,3 Kcal/ 100g

¹ Média de três determinações (triplicata).

Fonte – Dados da pesquisa.

Nota - Formulação "A": 50% *tofu* + 50% EHS fermentado.

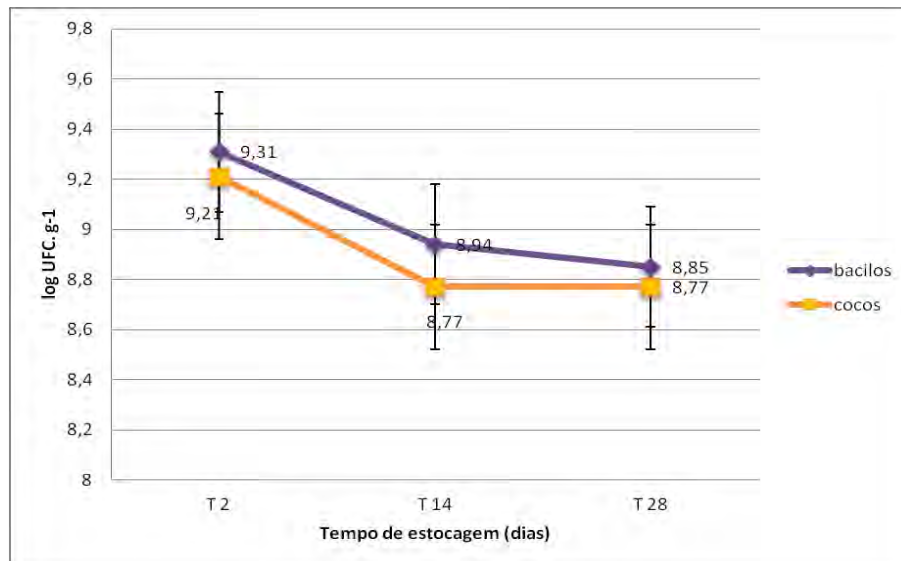
A sobremesa mista de *tofu* e extrato hidrossolúvel de soja fermentado com *E. faecium* CRL183 e *L. helveticus* 416 apresentou níveis superiores de proteínas, lipídios, cinzas e carboidratos em relação aos de outros produtos de soja fermentados com as mesmas cepas bacterianas, como o produto fermentado de soja descrito por Rossi e colaboradores (2003) e o fermentado de soja e yacon desenvolvido por Pauly-Silveira e colaboradores (2010). Essas diferenças podem ser atribuídas ao elevado teor de sólidos totais na sobremesa desenvolvida nesse estudo, em comparação às bebidas fermentadas, devido à presença de *tofu* na sua formulação (produto com alto teor de proteína).

Em termos de valor calórico, a sobremesa probiótica de soja apresentou 124,32 Kcal/ 100g; resultado inferior ao do sorvete simbiótico de soja e yacon (178 Kcal/ 100g) (MIGUEL et al., 2004) e ao do queijo de soja tipo *petit suisse* (149,83 Kcal/100g) (BOATTO et al., 2010). Entretanto, foi superior ao de outros produtos à

base de extrato hidrossolúvel de soja, tais como o fermentado de soja elaborado com o cultivo convencional de iogurte (OSUNDAHUNSI et al., 2007), o fermentado de soja probiótico (ROSSI et al., 2003) e o fermentado de soja produzido a partir de cepas para iogurte e com adição de frutooligossacarídeos (HAULY et al., 2005), os quais apresentaram valores de 69,22; 86,42 e 97,05 Kcal/ 100g, respectivamente.

Em relação à viabilidade, as culturas de *E. faecium* CRL183 e *L. helveticus* 416 mostraram-se viáveis ao longo do período de armazenamento, com contagens entre 10^8 e 10^9 unidades formadoras de colônia por grama (UFC.g⁻¹) e, portanto, mantiveram-se acima dos limites mínimos exigidos pela legislação para que seja classificado como probiótico (BRASIL, 2008). Entretanto, vale ressaltar que a viabilidade de ambos os micro-organismos apresentou queda de um ciclo logarítmico entre os tempos 2 e 14, atingindo depois a estabilidade (Gráfico 3). Essa diminuição pode ser resultado da exposição aos ingredientes utilizados na formulação (polpa de fruta, aromatizante, corante, espessantes, etc.) os quais podem interferir em diferentes graus no metabolismo de micro-organismos, (VINDEROLA et al., 2002; MARUYAMA et al., 2006; KAILASAPATHY et al., 2008).

Gráfico 3 - Viabilidade de bacilos e cocos na formulação “A” durante o tempo de armazenamento (28 dias) sob refrigeração ($\pm 5^\circ \text{C}$).

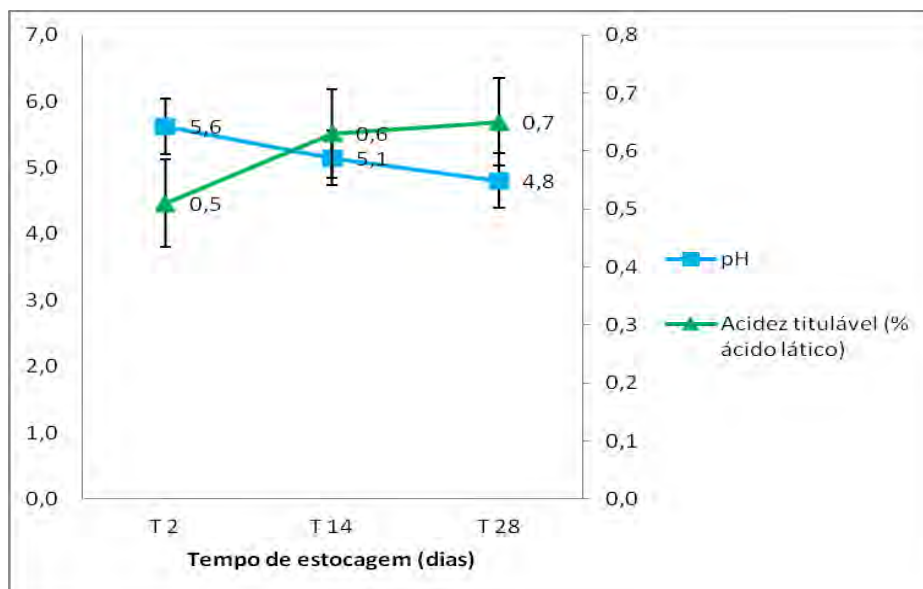


Fonte - Dados da pesquisa.

Nota - Formulação "A": 50% *tofu* + 50% EHS fermentado.

Quanto ao pH, foi observada uma redução significativa com concomitante aumento da acidez titulável do produto em estudo ($p < 0,05$) durante o período de armazenamento (Gráfico 4).

Gráfico 4 - Variação do pH e da acidez titulável (% ácido láctico) na formulação “A” ao longo do período de armazenamento (28 dias) sob refrigeração ($\pm 5^\circ \text{C}$).



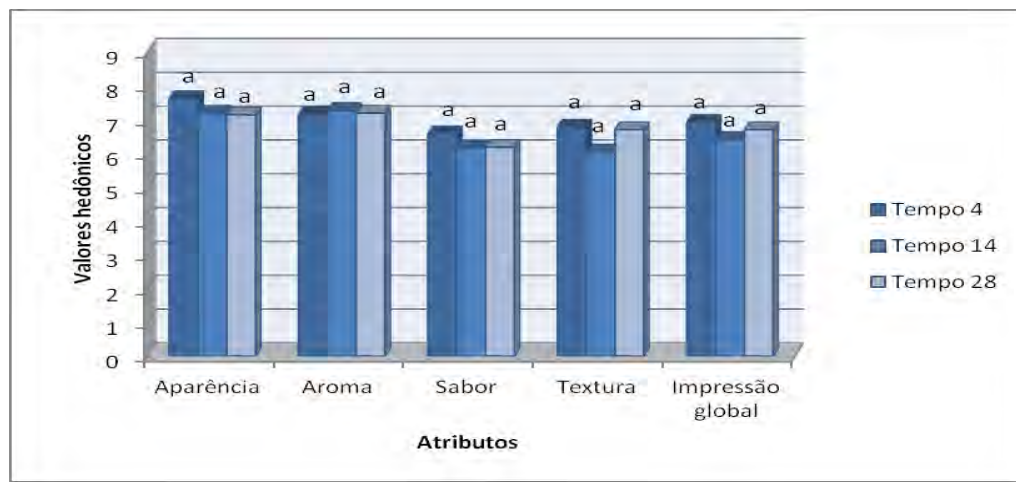
Fonte - Dados da pesquisa.

Nota - Formulação “A”: 50% *tofu* + 50% EHS fermentado.

Observou-se também a ocorrência de sinérese, uma vez que parte dos consumidores relatou a presença de soro durante os testes sensoriais realizados nos tempos de 14 e 28 dias. Esse fenômeno ocorreu em função da queda do pH do produto e consequente aproximação do ponto isoelétrico das proteínas da soja (4,5). Numa pesquisa realizada por Mondragón-Bernal (2004) envolvendo alimentos simbióticos de soja, também foi verificada a ocorrência de sinérese em decorrência da acidificação durante a estocagem sob refrigeração. Essas modificações foram acompanhadas por alterações sensoriais do produto avaliado, às quais não foram observadas no presente estudo. Ao longo dos 28 dias, a ocorrência de acidificação, assim como a presença de soro na sobremesa estudada, não prejudicou a sua aceitabilidade, pois não houve diferenças significativas ($p < 0,05$) para nenhum dos atributos avaliados ao longo de todo o período de estocagem (Gráfico 5). Além

disso, os resultados de intenção de compra foram muito semelhantes nos três tempos de análise (Gráfico 6).

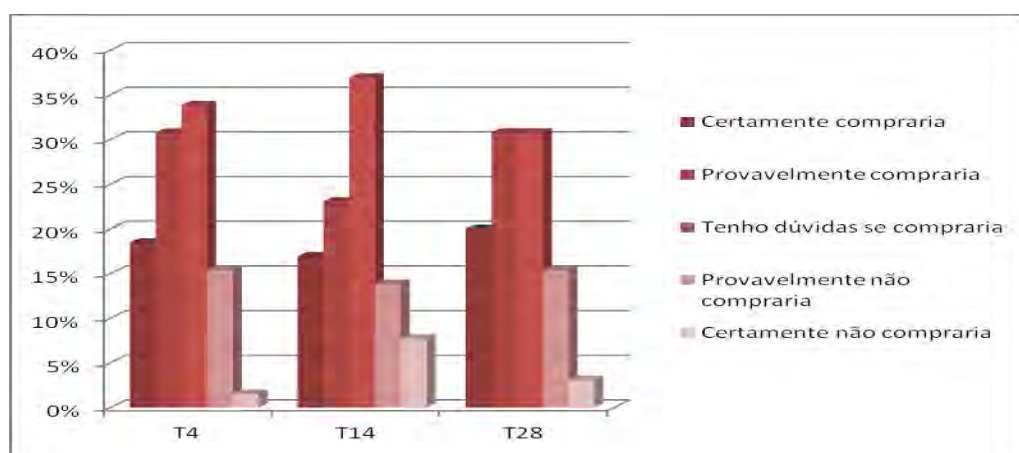
Gráfico 5 – Médias dos atributos sensoriais da formulação “A” durante o período de estocagem (28 dias) sob refrigeração ($\pm 5^\circ \text{C}$).



Fonte - Dados da pesquisa.

Notas - Médias com letras iguais na mesma linha não diferem entre si ao nível 5% de probabilidade pelo teste de Tukey; n=65 consumidores; escala de 0 a 9 correspondendo de desgostei muitíssimo a gostei muitíssimo; Formulação “A”: 50% *tofu* + 50% EHS fermentado.

Gráfico 6 - Atitude de compra em relação à formulação “A” durante o tempo de estocagem (28 dias) sob refrigeração ($\pm 5^\circ \text{C}$).



Fonte - Dados da pesquisa.

Formulação “A”: 50% *tofu* + 50% fermentado de soja; n=65 consumidores.

Em relação à textura, observou-se que não houve estabilidade ao longo do período experimental (Tabela 4).

Tabela 4 – Perfil de textura da formulação selecionada sensorialmente (“A”) após 2, 14 e 28 dias de armazenamento ($\pm 5^\circ \text{C}$).

Tempo de estocagem (dias)	Firmeza (gf)	Adesividade (gf.s)	Elasticidade	Coesividade	Gomosidade
T2	18,54 ^a (0,15)	-73,61 ^a (5,18)	0,95 ^b (0,004)	0,58 ^b (0,002)	10,84 ^a (0,56)
T 14	29, 67 ^b (1,02)	-82,90 ^a (3,83)	0,98 ^c (0,001)	0,47 ^a (0,007)	13,98 ^b (0,70)
T 28	36, 93 ^c (0,66)	-105,12 ^b (5,74)	0,94 ^a (0,0006)	0,43 ^a (0,002)	15,98 ^c (0,62)

Fonte - Dados da pesquisa.

Notas - Médias com letras iguais na mesma coluna não diferem entre si ao nível 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

A firmeza aumentou ao longo do tempo, assim como no produto estudado por Matias (2011), que sugeriu uma provável relação desse aumento com a capacidade que a soja tem de formar uma rede de gel proteica. Houve também aumento da adesividade em módulo, provavelmente associada à redução do pH (CARDARELLI, 2006).

No produto avaliado foi observada uma sinérese, provavelmente decorrente da perda de atração intermolecular entre os ingredientes da formulação, tal fenômeno pode ter exercido influência na diminuição da coesividade entre os tempos T2 e T14 e no aumento da gomosidade ao longo do período de armazenamento (CORRÊA, 2006).

Como já discutido anteriormente, não foram observadas diferenças ($p < 0,05$) em relação às análises sensoriais realizadas, o que evidencia a inexistência de uma correlação positiva entre o perfil instrumental de textura e as características sensoriais do produto. De fato, mudanças na textura durante o armazenamento podem não prejudicar a aceitabilidade de um produto. No estudo conduzido por Buriti e colaboradores (2010), por exemplo, observou-se manutenção da aceitabilidade de uma mousse de goiaba simbiótica contendo *L. acidophilus* LA5 e oligofructose, apesar da ocorrência de alterações nos parâmetros de textura nos tempos de 7, 35, 56, 84 e 112 dias de estocagem (-18 ± 3 °C). O mesmo foi verificado por Matias (2011) quando monitorou o perfil de textura e a aceitação sensorial de um alimento probiótico de soja com polpa de fruta nos períodos de 7, 14 e 21 dias de estocagem (± 4 °C).

Conclusão

Com base nos resultados observados pode-se afirmar que foi viável a obtenção de uma nova sobremesa com potencial probiótico, contendo 50% de *tofu* e 50% de extrato aquoso de soja fermentado com *E. faecium* CRL 183 e *L. helveticus* 416,

As características químicas, sensoriais e microbiológicas dessa formulação foram satisfatórias durante o período de 28 dias ($\pm 5^\circ \text{C}$).

Referências

- AOAC. Association of Official Analytical Chemists. **Official Methods of Analysis of AOAC International**. 18 ed. 3 rev. Washington, 2010.
- BEDANI, R.; ROSSI, E. A.; LEPERA, J. S.; WANG, C. C.; VALDEZ, G. F. Efeito de um novo produto fermentado de soja, enriquecido com isoflavonas e cálcio, sobre o tecido ósseo de ratas. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v. 56, p. 146 – 152, 2006.
- 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, p. 382 – 389, 2013.
- BEHRENS, J. H.; DA SILVA, M. A. A. P. Atitude do consumidor em relação à soja e produtos derivados. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 24, p. 431 – 439, 2004.
- BENASSI, V. T.; YAMASHITA, F.; PRUDENCIO, S. H. A statistical approach to define some tofu processing conditions. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 31, p. 897 – 904, 2011.
- BENNETT, R. W.; BELAY, N. *Bacillus cereus*. In: **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4 ed. Washington: American Public Association of Health, 2001. p. 311 – 316.
- BIGLIARDI, B.; GALATI, F. Innovation trends in the food industry: the case of functional foods. **Trends in Food Science and Technology**, v. 31, p. 118 – 129, 2013.
- BOATTO, D. A.; MESOMO, M. C.; MADRONA, G. S.; BRANCO, I. G.; MATUMOTO-PINTRO, P. T. Desenvolvimento e caracterização de queijo tipo *petit suisse* de soja comum e livre de lipoxigenase, enriquecidos com cálcio. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 3, p. 766 – 770, 2010.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Alimentos com alegações de propriedades funcionais e ou de saúde**. 2008. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/portal/anvisa/home/alimentos?tax=Alimentos&cat=Alimentos+Com+Al+egacoes+de+Propriedades+Funcionais+e+ou+de+Saude&siteArea=Alimentos&pagedesign=Alimento+s_N2&WCM_GLOBAL_CONTEXT=/wps/wcm/connect/Anvisa/Anvisa/Inicio/Alimentos>. Acesso em: 15 jun 2011.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 12 de 02 de janeiro de 2001. Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Disponível em: < <http://www.anvisa.gov.br/e-legis>>. Acesso em: 20 jul 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria n.15, de 30 de abril de 1999. Institui, junto à Câmara Técnica de Alimentos, comissão de assessoramento de alimentos funcionais e novos alimentos. **Diário Oficial da União**, Brasília, 14 de maio 1999. Seção 2. 1999.

BURITI, F. C. A.; CASTRO, I.; SAAD, S. M. I. Effects of refrigeration, freezing and replacement of milk fat by inulin and whey protein concentrate on texture profile and sensory acceptance of synbiotic guava mousses. **Food Chemistry**, v. 123, p. 1190 – 1197, 2010.

CAI, T. D.; CHANG, K. C. Characteristics of production-scale tofu as affected by soymilk coagulation method: propeller blade size, mixing time and coagulant concentration. **Food Research International**, v. 31, p.289- 295, 1998.

CARDARELLI, H. R. **Desenvolvimento de queijo tipo *petit suisse* probiótico**. 2006. 133 f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

CAVALLINI, D. C. U.; ROSELINO, M. N.; MANZONI, M. S. J.; PAULY-SILVEIRA, N. D.; SYLOS, S. M.; ROSSI, E. A. Isoflavones supplementation of a probiotic fermented soy product: effects on quality characteristics and isoflavones profile. **Alimentos e Nutrição**, v. 21, p. 175 – 182, 2010.

CAVALLINI, D. C. U.; SUZUKI, J. Y.; ABDALLA, D. S. P.; VENDRAMINI, R. C.; PAULY-SILVEIRA, N. D.; ROSELINO, M. N.; PINTO, R. A.; ROSSI, E. A. Influence of a probiotic soy product on fecal microbiota and its association with cardiovascular risk factors in an animal model. **Lipids in Health and Disease**, v. 10, n. 126, p. 1 -9, 2011.

CHEN, C.; KONG, M.; LAI, M.; CHAO, H.; CHANG, K.; SHEN, S.; HUANG, Y.; CHIU, C.; LI, W.; LIN, P.; CHEN, C.; LIN, T. Probiotics have clinical, microbiologic, and immunologic efficacy in acute infectious diarrhea. **The Pediatric Infectious Disease Journal**, v. 29, p. 135 – 138, 2010.

CHIEN, H. L.; HUANG, H. Y.; CHOU, C. C. Transformation of isoflavone phytoestrogens during the fermentation of soymilk with lactic acid bacteria and bifidobacteria. **Food Microbiology**, v.23, p. 772 – 778, 2006.

CODA, R.; LANERA, A.; TRANI, A.; GOBBETTI, M.; CAGNO, R. D. Yogurt-like beverages made of a mixture of cereals, soy and grape must: microbiology, texture, nutritional and sensory properties. **International Journal of Food Microbiology**, v. 155, p. 120 – 127, 2012.

CORRÊA, S. B. M. **Desenvolvimento de manjar branco potencialmente probiótico**. 2006. 85 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

DAVARI, S.; TALEI, S. A.; ALEI, H.; SALAMI, M. Probiotics treatment improves diabetes-induced impairment of synaptic activity and cognitive function: behavioral and electrophysiological proofs for microbiome–gut–brain axis. **Neuroscience**, v. 240, p. 287 – 296, 2013.

DE VRESE, M.; STEGELMANN, A.; RICHTER, B.; FENSELAU, S.; LAUE, C.; SCHREZENMEIR J. Probiotics: compensation for lactase insufficiency. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 3, p. 421S – 429S, 2001.

DONG, X.; XU, W.; SIKES, R. A.; WU, C. Apoptotic effects of cooked and in vitro digested soy on human prostate cancer cells. **Food Chemistry**, v. 135, p. 1643 – 1652, 2012.

ESTÉVEZ, A. M.; MEJÍA, J.; FIGUEROLA, F.; ESCOBAR., B. Effect of solid content and sugar combinations on the quality of soymilk-based yogurt. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 4, supplement s1, p. 87 – 97, 2010.

FAO, Food and Agricultural Organization of the United Nations; WHO, World Health Organization. **Probiotics in food: health and nutritional properties and guidelines for evaluation**. Rome, 2006. 50 p. Disponível em: <[ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/009/a0512e/a0512e00.pdf](http://ftp.fao.org/docrep/fao/009/a0512e/a0512e00.pdf)>. Acesso em: 30 jun 2011.

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

FOOD PROCESSING. **Modest growth for probiotic ingredients**. 2008. Disponível em: <<http://www.foodprocessing.com/articles/2008/383.html>>. Acesso em: 10 mai 2013.

FOSTER, J. A.; NEUFELD, K. M. Gut–brain axis: how the microbiome influences anxiety and depression. **Trends in Neurosciences**, v. 36, p. 305 – 312, 2013.

GRANATO, D.; RIBEIRO, J. C.; CASTRO, I. A.; MASSON, M. Sensory evaluation and physicochemical optimization of soy-based desserts using response surface methodology. **Food Chemistry**, v. 121, p. 899 – 906, 2010.

GUO, Z.; LIU, X. M.; ZHANG, Q. X.; SHEN, Z.; TIAN, F. W.; ZHANG, D.; SUN, Z. H.; CHEN, W. Influence of consumption of probiotics on the plasma lipid profile: a meta-analysis of randomised controlled trials. **Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases**, v. 21, p. 844 – 850, 2011.

HALLER, D.; ANTOINE, J.; BENGMARK, S.; ENCK, P.; RIJKERS, G. T.; LENOIR-WIJNKOOP, I. Guidance for substantiating the evidence for beneficial effects of probiotics: probiotics in chronic inflammatory bowel disease and the functional disorder irritable bowel syndrome. **Journal of Nutrition**, v. 140, 690S – 697S, 2010.

HAULY, M. C. O.; FUCHS, R. H. B.; PRUDENCIO-FERREIRA, A. H. Suplementação de iogurte de soja com frutooligossacarídeos: características probióticas e aceitabilidade. **Revista de Nutrição**, v. 18, p. 613 – 622, 2005.

IAL. Instituto Adolfo Lutz. **Normas analíticas: métodos químicos e físicos para análise de alimentos**. 5 ed. São Paulo, 2008. 1020 p.

ISO 6579. Microbiology of food and animal feeding stuffs: Horizontal method for detection of *Salmonella* spp. 4.ed. 2002. **The International Method for Standardization**, ammendt 1: 15/07/2007.

KAILASAPATHY, K.; HARMSTORFI, I.; PHILIPS, M. Survival of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* in stirred fruit yogurts. **LWT- Food Science and Technology**, v. 41, p. 1317 – 1322, 2008.

KAPSAK, W. R.; RAHAVI, E. B.; CHILDS, N. M.; WHITE, C. Functional foods: consumer attitudes, perceptions and behaviors in a growing market. **Journal of the American Diet Association**, v. 111, p. 804 - 810, 2011.

KHAN, R. S.; GRIGOR, J.; WINGER, R.; WIN, A. Functional food product development: opportunities and challenges for manufacturers. **Trends in Food Science and Technology**, v. 30, p. 27 – 37, 2013.

KIM, G.; SONG, J.; KIM, E.; CHOI, H.; JANG, H. Isoflavone content and apoptotic effect in HT- 29 cancer cells of a soy germ extract.. **Food Chemistry**, v. 130, p. 404 – 407, 2012.

KINOUCHI, F. L. ; MAIA, D. C. G.; RIBEIRO, L. C. A.; PLACERES, M. C. P.; VALDEZ, G. F.; COLOMBO, ROSSI, E. A.; CARLOS, I. Z. A soy-based product fermented by *Enterococcus faecium* and *Lactobacillus helveticus* inhibits the development of murine breast adenocarcinoma. **Food and Chemical Toxicology**, v. 50, p. 4144 – 4148, 2012.

KORNACKI, J. L.; JOHNSON, J. L. Enterobacteriaceae, coliforms, *Escherichia coli* as quality and safety indicators. In: **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4 ed. Washington: American Public Association of Health, 2001. p. 69 – 82.

LAI, L. R.; HSIEH, S. C.; HUANG, H. Y.; CHOW, C. C. Effect of lactic fermentation on the total phenolic, saponin and phytic acid contents as well as anti-colon cancer cell proliferation activity of soymilk. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 115, p. 552 – 556, 2013.

LAZARINI, C. **Estabilização de iogurte e bebida láctea fermentada**. Disponível em: <http://www.milknet.com.br/?pg=informativo_ler&id=61&local=1>. Acesso em 14 jan 2013.

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

LV, Y. C.; SONG, H. L.; LI, X.; WU, L.; GUO, S. T. Influence of blanching and grinding process with hot water on beany and non-beany flavor in soymilk. **Journal of Food Science**, v. 76, p. s20 – s25, 2011.

MARTINS, E. M. F.; RAMOS, A.M.; VANZELA, E. S. L.; STRINGHETA, P. C.; PINTO, C. L. O.; MARTINS, J. M. Products of vegetable origin: a new alternative for the consumption of probiotic bacteria. **Food Research International**, v. 51, p. 764 – 770, 2013.

MARSH, T. G.; STRAUB, R. K.; VILLALOBOS, F.; HONG, M. Y. Soy protein supports cardiovascular health by downregulating hydroxymethylglutaryl–coenzyme A reductase and sterol regulatory element-binding protein–2 and increasing antioxidant enzyme activity in rats with dextran sodium sulfate–induced mild systemic inflammation. **Nutrition Research**, v. 31, p. 922 – 928, 2011.

MARUYAMA, L. Y.; CARDARELLI, H. R.; BURITI, F. C. A.; SAAD, S. M. I. Textura instrumental de queijo *petit-suisse* potencialmente probiótico: influência de diferentes combinações de gomas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, p. 386 – 393, 2006.

MATIAS, N. S. **Desenvolvimento de alimento probiótico à base de soja com polpa de fruta**. 2011. 78 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.

MEILGAARD, M.; CIVILLE, G. V.; CARR, B.T. **Sensory evaluation techniques**. 3 ed. Boca Raton: CRC, 1999. 390p.

MIGUEL, D. P.; VALDEZ, G. F.; ROSSI, E. A. Sensory and chemical aspects of frozen soy yogurt fermented with *Enterococcus faecium* and *Lactobacillus jugurti*. **Alimentos e Nutrição**, v.15, p. 197 – 201, 2004.

MITAL, B. K.; STEINKRAUS, K. H.; NAYLOR, H. B. Growth of lactic acid bacteria in soy milks. **Journal of Food Science**, v. 39, p. 1018 – 1022, 1974.

MOLINA, V.; MÉDICI, M.; VALDEZ, G. F.; TRANTO, M. P. Soybean-based functional food with vitamin B₁₂-producing lactic acid bacteria. **Journal Of Functional Foods**, v. 4, p. 831 – 836, 2012.

MONDRAGÓN-BERNAL, O.; RODRIGUES, M. I.; BOLINI, H. M. A.; MAUGERI, F. Optimization of synbiotic fermented food from hydrosoluble soy extract applying experimental design and sensory analysis techniques. **Journal of Sensory Studies**, v. 25, p. 371 – 389, 2010.

MONDRAGÓN-BERNAL, O. **Desenvolvimento de alimento simbiótico fermentado de soja**. 2004. f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2004.

OSUNDAHUNSI, D., AMOSU, D.; IFESAN, B. O. T. Quality evaluation of acceptability of soy-yoghurt with different colors and fruit flavors. **American Journal of Food Technology**, v. 2, p. 273 – 280, 2007.

PAULY-SILVEIRA, N.; BEDANI, R.; CAVALLINI, D. C. U.; MANZONI, M. S. J.; MIGUEL, D. P.; BORSATO, D.; ROSSI, E. A. Optimization of a synbiotic formulation of soy yoghurt containing yacon extract by response surface methodology. **International Journal of Probiotics & Prebiotics**, v. 5, p. 211 – 216, 2010.

POTTER, R. M.; DOUGHERTY, M. P.; HALTEMAN, W. A.; CAMIRE, M. E. Characteristics of wild blueberry–soy beverages. **LWT – Food Science and Technology**, v. 40, p. 807 – 814, 2007.

PRABHAKARAN, M. P.; PERERA, C. O.; VALIYAVEETIL, S. Effect of different coagulants on the isoflavone levels and physical properties of prepared firm tofu. **Food Chemistry**, v. 99, p. 492–499, 2006.

PRADO, F. C.; PARADA, J. L.; PANDEY, A.; SOCCOL, C. R. Trends in non-dairy probiotic beverages. **Food Research International**, v. 41, p. 111 - 123, 2008.

RANADHEERA, R.D.C.S.; BAINES, S. K.; ADAMS, M. C. Importance of food in probiotic efficacy. **Food Research International**, v. 43, p. 1 – 7, 2010.

RODRÍGUEZ-ROQUE, M. J.; ROJAS-GRÄL, M. A.; ELEZ-MARTÍNEZ, P.; MARTÍN-BELLOSO, O. Soymilk phenolic compounds, isoflavones and antioxidant activity as affected by in vitro gastrointestinal digestion. **Food Chemistry**, v. 136, n. 1, p. 206 – 212, 2013.

ROSSI, E. A.; VENDRAMINI, R. C.; CARLOS, I. Z.; UEJI, I. S.; SQUINZARI, M. M.; SILVA JR, S. I.; VALDEZ, G. F. Effects of a novel fermented soy product on the serum lipides of hipercholesteromic rabbits. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 74, p. 213 – 216, 2003.

ROSSI, E. A.; VENDRAMINI, R. C.; CARLOS, I. Z.; PEI, Y. C.; VALDEZ, G. F. Development of a novel fermented soymilk product with potential probiotic properties. **European Food Research Technology**, v. 209, p. 305 – 307, 1999.

SANJAY, K. R.; SUBRAMANIAN, R.; AMUDHA, S. VIJAYALAKSHMI, G. Use of natural coagulants of plant origin in production of soycurd (tofu). **International Journal of Food Engineering**, v. 4, p. 1- 12, 2008.

SERBAN, D. E. Gastrointestinal cancers: Influence of gut microbiota, probiotics and prebiotics. **Cancer Letters**, 2013.

SIRÓ, I.; KAPOLNA, E.; KAPOLNA, B.; LUGASI, A. Functional food. Product development, marketing and consumer acceptance: a review. **Appetite**, v. 51, p. 456 – 467, 2008.

SIVIERI, K.; SPIPARD-BARBISAN; A. L. T.; BARBISAN, L. F.; BEDANI, R.; PAULY, N. D.; CARLOS, I. Z.; BENZATTI, F.; VENDRAMINI, R. C.; ROSSI, E. A. Probiotic *Enterococcus faecium* CRL 183 inhibit chemically induced colon cancer in male Wistar rats. **European Food Research and Technology**, v. 228, p. 231 – 237, 2008.

SLEAGUN, G.; POPA, M. Determination of the moisture content in infrared dried apples. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM EURO-ALIMENT, 2009, Galati, Romania. **Annals...Galati**, 2009. p.39-44.

STONE, H.; SIDEL, J.L. **Sensory Evaluation Practices**. New York: Academic Press, 1993. 338p.

SZAJEWSKA, H.; MRUKOWICZ, J. Meta-analysis: non-pathogenic yeast *Saccharomyces boulardii* in the prevention of antibiotic-associated diarrhea. **Alimentary Pharmacology & Therapeutics**, v. 22, p. 365 – 372, 2005.

TEH, Y.; DOUGHERTY, M. P.; CAMIRE, M. E. Frozen blueberry-soy dessert quality. **Journal of Food Science**, v. 70, p. S119 – S 122, 2005.

TORRES, N.; TORRE-VILLALVAZO, I.; TOVAR, A. R. Regulation of lipid metabolism by soy protein and its implication in diseases mediated by lipid disorders. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 17, p. 365 – 373, 2006.

TORRES-PENARANDA, A. V.; REITMEIER, C. A. Sensory descriptive analysis of soymilk. **Journal of Food Science**, v. 66, p. 352 – 356, 2001.

TU, V. P.; HUSSON, F.; SUTAN, A.; HA, D. T.; VALENTIN, D. For me the taste of soy is not a barrier to its consumption. And how about you? **Appetite**, v. 58, p. 914 -921, 2012.

VALSECCHI, A. E.; FRANCHI, S.; PANERAI, A. E.; ROSSE, A.; SACERDOTE, P.; COLLEONI, M. The soy isoflavone genistein reverses oxidative and inflammatory state, neuropathic pain, neurotrophic and vasculature deficits in diabetes mouse model. **European Journal of Pharmacology**, v.650, p. 694 – 702, 2011.

VINDEROLA, C. G.; COSTA, G. A.; REGENHARDT, S.; REINHEIMER, J. A. Influence of compounds associated with fermented dairy products on the growth of lactic acid starter and probiotic bacteria. **International Dairy Journal**, v. 12, p. 579 – 589, 2002.

WANG, Y. C.; YU, R. C.; YANG, H. Y.; CHOW, C. C. Sugar and acid contents in soymilk fermented with lactic acid bacteria alone or simultaneously with bifidobacteria. **Food Microbiology**, v.20, p. 333 – 338, 2003.

WANG, Y. C.; YU, I. C.; CHOW, C.C. Antioxidative activities of soymilk fermented with lactic acid bacteria and bifidobacteria. **Food Microbiology**, v. 23, p. 128 – 135, 2006.

ANEXO

Anexo 1 - Ficha da análise sensorial

Nome: _____		Data: __/__/__	
Amostra: _____			
Prove a amostra e indique sua opinião em relação à aparência, aroma, sabor, textura e impressão global, utilizando a escala abaixo:			
9 gostei muitíssimo	Aparência: _____		
8 gostei muito	Aroma: _____		
7 gostei moderadamente	Sabor: _____		
6 gostei ligeiramente	Textura: _____		
5 nem gostei/ nem desgostei	Impressão Global: _____		
4 desgostei ligeiramente			
3 desgostei moderadamente			
2 desgostei muito			
1 desgostei muitíssimo			
Assinale qual seria sua atitude em relação à compra do produto:			
() Eu certamente compraria este produto			
() Eu provavelmente compraria este produto			
() Tenho dúvidas se compraria ou não este produto			
() Eu provavelmente não compraria este produto			
() Eu certamente não compraria este produto			
Comentários: _____			
