

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
CAMPUS DE ARARAQUARA

NADIÉGE DOURADO PAULY SILVEIRA

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 (*Smallanthus*
sonchifolius).

ARARAQUARA – SP
2009

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
CAMPUS DE ARARAQUARA

**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 (*Smallanthus*
sonchifolius).**

NADIÉGE DOURADO PAULY SILVEIRA

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

ORIENTADOR: Prof. Dr. Elizeu Antonio Rossi
CO-ORIENTADOR: Prof. Dr. Dionisio Borsato

ARARAQUARA – SP
2009

Ficha Catalográfica

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

Silveira, Nadiége Dourado Pauly

S537e 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 (*Smallanthus sonchifolius*) / Nadiége Dourado Pauly Silveira. – Araraquara, 2009.
122 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
Co-orientador: Dionisio Borsato

. 1.Soja . 2.Iogurte. 3.Probióticos. 4.Yacon. 5.Alimentos. I.Rossi, Elizeu Antonio, orient.. II.Borsato, Dionisio, co-orient..III.Título

CAPES: 50700006

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Elizeu Antonio Rossi (Orientador)

Prof. Dr. Dionisio Borsato (Co-Orientador)

Prof^a Dr^a Daniela Cardoso Umbelino Cavallini

Prof^a Dr^a Eliane Maria Ravasi Stéfano Simionato

Prof^a Dr^a Adriane Elisabete Costa Antunes

Prof^a Dr^a Marla Simone Jovenasso Manzoni

**Araraquara – SP
2009**

Dedico este trabalho aos meus pais, Luis e Lúcia, às minhas irmãs Melaní e Mirele e ao meu esposo Mateus, que sempre me deram estrutura e segurança, em todos os momentos sonhados e concretizados da minha vida.

“A Ciência é sempre uma busca,
jamais um descobrimento real. É uma
viagem, nunca uma chegada.”

Karl Popper

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo privilégio de nascer num lar cristão, por ser uma luz constante aos meus pés, guiando meus caminhos, por ter me dado forças para alcançar mais uma vitória.

Aos meus pais, Luis e Lúcia, pelo amor incondicional, pela criação e dedicação, pelo exemplo de trabalho, humildade e honestidade, por tantos sacrifícios em meu favor, por sempre acreditarem em mim e em meus sonhos.

Às minhas queridas irmãs, Melaní e Mirele, pelo amor, pelos momentos de alegria e amizade, por me fazerem tão feliz e realizada como irmã.

Ao meu esposo Mateus, pelo amor e companheirismo, pelo apoio e compreensão, por estar sempre ao meu lado, por ser um exemplo de esforço e dedicação e disciplina.

Aos meus avós Joaquim, Alice e Terezinha, pelo amor dispensado, pelas orações, pelos conselhos. Ao Tio Sino pela força, pelo exemplo de determinação. A toda minha família pela torcida constante.

Ao Prof. Dr. Elizeu A. Rossi, pelo voto de confiança em me orientar, pela dedicação, pelos ensinamentos, não só científicos e profissionais, mas pela contribuição para meu amadurecimento pessoal.

Ao Prof. Dr. Dionisio Borsato, pela Co-orientação, por ter confiado em mim, mesmo não me conhecendo, pela imensa contribuição ao meu trabalho.

À Roseli, pelo carinho, pela paciência, pela constante ajuda e amizade.

Às amigas, Raquel, Daniela e Marla, pelo carinho, por tantos momentos alegres, pela oportunidade de trabalhar e aprender com vocês.

A toda família “LabTec”, eternos amigos do Laboratório de Tecnologia de Alimentos, pelo trabalho em equipe, pelo aprendizado, pela amizade em todos os momentos.

Aos professores alunos e funcionários do Departamento de Alimentos e Nutrição, pela valiosa contribuição direta ou indireta para minha formação acadêmica.

À Seção de Pós-graduação da FCFAR: Cláudia, Sônia e Laura, pelo carinho, atenção e profissionalismo dispensados a mim ao longo do meu mestrado.

A todos os funcionários da biblioteca, pela atenção e ajuda.

Aos membros da banca examinadora, pela relevante contribuição acadêmica e científica prestada a essa dissertação, pelas correções e sugestões.

À FAPESP pela bolsa concedida.

Passados mais de dois anos desde o início desse trabalho, muitas são as pessoas que, direta ou indiretamente contribuíram para sua realização. A todas elas meu muito obrigado.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Raiz do yacon (<i>Smallanthus sonchifolius</i>).....	33
Figura 2.	Estruturas químicas dos frutanos.....	38
Figura 3.	Estrutura química dos principais frutooligossacarídeos do yacon: 1-cestose (A), nistose (B) e frutofuranosilnistose (C).....	40
Figura.4.	Fluxograma do processo de produção de extrato aquoso de yacon em escala laboratorial.....	52
Figura 5.	Fluxograma do processamento empregado para a obtenção do produto fermentado.....	55
Figura 6.	Representação gráfica dos resultados de aceitação (“sabor” e “impressão global” - valores absolutos) dos produtos.....	69
Figura 7.	Superfície de Resposta para o atributo “sabor”.....	71
Figura 8.	Curvas de contorno para a resposta “sabor”.....	72
Figura 9.	Otimização da resposta “sabor” utilizando o software Statistica (2006)....	73
Figura 10.	Superfície de Resposta para o atributo “impressão global”.....	76
Figura 11.	Curvas de contorno para a resposta “impressão global”.....	77
Figura 12.	Otimização da resposta “impressão global” utilizando o software Statistica (2006).....	78
Figura 13.	Otimização conjunta das respostas “sabor” e “impressão global” utilizando o software Statistica (2006).....	80
Figura 14.	Representação gráfica da atitude de compra do produto otimizado.....	84
Figura 15.	Representação gráfica das médias de aceitação do “iogurte” otimizado, durante o período de armazenamento a 5°C.....	94
Figura 16.	Representação gráfica da frequência de notas referente à atitude de compra dos julgadores.....	95
Figura 17.	Representação gráfica dos valores médios de acidez titulável (°D) do produto otimizado, durante o período de armazenamento a 5°C.....	96
Figura 18.	Viabilidade de cocos e bacilos no “iogurte” de soja com extrato de yacon fermentado com <i>E. faecium</i> CRL 183 e <i>L. helveticus</i> ssp <i>jugurti</i> 416, durante armazenamento a 5°C.....	97
Figura 19.	Representação gráfica dos valores médios de consistência (cm/30s) do produto otimizado, durante o período de armazenamento a 5°C.....	98
Figura 20.	Representação gráfica dos valores médios de viscosidade (cP) do produto otimizado, durante o período de armazenamento a 5°C.....	99

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Composição química (base seca) das raízes tuberosas de yacon.....	36
Tabela 2.	Conteúdo de vitaminas e pró-vitaminas nas raízes de yacon (base úmida).....	37
Tabela 3.	Conteúdo de carboidratos na raiz tuberosa do yacon.....	42
Tabela 4.	Concentração média de frutanos e outros carboidratos solúveis em água em diferentes partes da planta do yacon.....	43
Tabela 5.	Variáveis independentes e níveis usados no estudo do perfil de otimização.....	57
Tabela 6.	Delineamento experimental para o preparo dos “iogurtes” de soja com extrato de yacon.....	58
Tabela 7.	Viabilidade dos microrganismos utilizados na fermentação dos produtos à base de soja e de yacon ao final do processamento.....	66
Tabela 8.	Médias dos resultados experimentais de aceitação (“sabor” e “impressão global”) das 10 formulações de “iogurte” de soja com extrato de yacon, segundo delineamento fatorial 2 ²	68
Tabela 9.	Estimativa dos coeficientes de regressão do modelo matemático e valor de “p” para o atributo “sabor”.....	70
Tabela 10.	Estimativa dos coeficientes de regressão do modelo matemático e valor de “p” para o atributo “impressão global”.....	75
Tabela 11.	Médias ¹ de aceitação dos experimentos 7, 9, 10 (iniciais e da validação) e do “iogurte” de soja.....	82
Tabela 12.	Valores médios de aceitação para a resposta “sabor” experimental e “sabor” predita pelo modelo, diferença entre eles e diferença percentual (%).	83
Tabela 13.	Valores médios de aceitação para a resposta “impressão global” experimental e “impressão global” predita pelo modelo, diferença entre eles e diferença percentual (%).	84
Tabela 14.	Composição centesimal da formulação otimizada e de produtos similares analisados em outros estudos.....	85
Tabela 15.	Tempo de fermentação e pH final das formulações processadas e do produto otimizado.....	90

SUMÁRIO

Resumo

Abstract

1. Introdução.....	14
2. Revisão Bibliográfica.....	16
2.1. Alimentos Funcionais.....	16
2.2. Soja.....	17
2.2.1. “Iogurte” de Soja.....	21
2.3. Microrganismos Probióticos.....	25
2.4. Prebióticos.....	27
2.4.1. Yacon.....	32
2.4.1.1. Composição química e nutricional do yacon.....	35
2.4.1.2. Caracterização dos carboidratos presentes no yacon.....	37
2.4.1.3. Propriedades funcionais dos frutanos do yacon.....	44
2.5. Metodologia de superfície de resposta (M.S.R.).....	46
3. Objetivos.....	49
3.1. Objetivos específicos.....	49
4. Material e Métodos.....	50
4.1. Material.....	50
4.2. Métodos.....	50
4.2.1. Obtenção do extrato aquoso de soja.....	50
4.2.2. Obtenção do extrato aquoso de yacon.....	50
4.2.3 Manutenção das culturas lácticas e preparo do inóculo.....	52
4.2.4. Obtenção do produto fermentado.....	53
4.2.5. Controle da viabilidade celular dos produtos fermentados.....	56
4.2.6. Metodologia de superfície de resposta.....	56
4.2.6.1. Delineamento estatístico.....	56
4.2.6.2. Respostas.....	58

4.2.6.2.1. Análise sensorial (Teste de Aceitação – “Sabor” e “Impressão Global”).....	58
4.2.7. Caracterização físico-química do produto otimizado.....	60
4.2.7.1. Composição centesimal.....	60
4.2.7.1.1. Umidade e sólidos totais.....	60
4.2.7.1.2. Cinzas.....	60
4.2.7.1.3. Lipídeos.....	60
4.2.7.1.4. Teor protéico.....	61
4.2.7.1.5. Carboidratos totais.....	61
4.2.7.2. Capacidade de retenção de água.....	61
4.2.7.3. Parâmetros reológicos.....	62
4.2.7.3.1. Determinação de viscosidade.....	62
4.2.7.3.2. Determinação de consistência.....	62
4.2.7.4. Tempo de fermentação e pH.....	62
4.2.7.5. Determinação de acidez titulável.....	63
4.2.8. Validação do modelo preditivo estabelecido pela Metodologia de Superfície de Resposta.....	63
4.2.9. Estimativa da vida de prateleira.....	63
5. Resultados e Discussão.....	65
5.1. Obtenção do produto.....	65
5.2. Viabilidade dos microrganismos nos produtos acabados.....	66
5.3. Análise das respostas observadas.....	67
5.3.1. Análise sensorial.....	67
5.3.2. Otimização conjunta das variáveis dependentes “sabor” e “impressão global”.....	79
5.4. Caracterização e validação do produto otimizado.....	81
5.4.1. Análise sensorial.....	81
5.4.2. Composição centesimal.....	85
5.4.3. Capacidade de retenção de água.....	86
5.4.4. Parâmetros reológicos.....	87

5.4.4.1. Determinação de viscosidade.....	88
5.4.4.2. Determinação de consistência.....	88
5.4.5. Tempo de fermentação, pH final das formulações processadas e do produto otimizado.....	89
5.4.6. Determinação de acidez titulável.....	92
5.4.7. Estimativa da vida de prateleira.....	92
6. Conclusões.....	100
7. Considerações Finais.....	101
8. Referências Bibliográficas.....	102
9. Anexos.....	120

RESUMO

O desenvolvimento de alimentos funcionais tem aumentado mundialmente devido a seus compostos bioativos que diminuem o risco de doenças e promovem a saúde. Baseado nisso, a indústria e a comunidade científica estão, cada vez mais, buscando ingredientes que possam conferir tais características aos alimentos. A soja, além de ser importante fonte protéica, possui fibras, isoflavonas, oligossacarídeos com potencial prebiótico (rafinose e estaquinose), vitaminas e minerais. As raízes tuberosas de yacon (*Smallanthus sonchifolius*) possuem grande quantidade de frutooligossacarídeos do tipo inulina, um componente não digerível pelo nosso organismo, com função de auxiliar na seleção de determinadas bactérias da microbiota intestinal, principalmente as bifidobactérias, possuindo, portanto, efeito prebiótico. O objetivo do presente estudo foi o de verificar, através da metodologia da superfície de resposta, as melhores condições para a utilização simultânea de extratos aquosos de soja e de yacon no desenvolvimento de um novo produto fermentado por um cultivo probiótico constituído por *Enterococcus faecium* CRL 183 e *Lactobacillus helveticus* ssp *jugurti* 416. Para tanto, as variáveis independentes foram representadas pelo teor protéico fornecido pelo extrato hidrossolúvel de soja (g/L) e pelo extrato aquoso de yacon (%). As variáveis dependentes (respostas) foram obtidas através do teste de aceitação sensorial (“sabor” e “impressão global”). A otimização conjunta das variáveis apontou a formulação 7 (1,74 g/L de teor protéico fornecido pelo extrato de soja e 25,86% de extrato de yacon) do planejamento experimental como sendo a mais adequada. No entanto, as formulações 9 e 10 (ambas contendo 1,74 g/L de teor protéico fornecido pelo extrato de soja e 40% de extrato de yacon) apresentaram valores de aceitação que não diferiram significativamente aos do experimento 7. O produto otimizado foi submetido a uma determinação da vida de prateleira, apresentando-se em condições de consumo por um período de 21 dias a 5 °C e com viabilidade do cultivo probiótico em torno de 10^8 UFC/mL. Pode-se concluir que foi possível a obtenção de um produto simbiótico, com propriedades nutricionais, tecnológicas e sensoriais satisfatórias, utilizando simultaneamente o extrato hidrossolúvel de soja e o extrato aquoso de yacon. O uso da metodologia de superfície de resposta se mostrou como uma ferramenta de grande valia na otimização da formulação do novo produto e permitiu o estabelecimento de modelos matemáticos preditivos para os parâmetros sensoriais avaliados.

Palavras-chave: soja, “iogurte” de soja, yacon, probióticos, prebióticos, metodologia de superfície de resposta.

ABSTRACT

World-wide the development of functional food has been increased, due to its bioactive components which decrease the risk of getting some illnesses and promote health. Based on that, the industry and the scientific population are more and more searching for ingredients that may confer such characteristics to food. The soy, besides being an important proteic source, has fibers and isoflavones, oligosaccharides with potential prebiotic (raffinose and stachyose), vitamins and minerals. The yacon tuber (*Smallanthus sonchifolius*) is a source of fructooligosaccharides, type inulin, undigestible components by our organism that helps in the selection and development of some bacteria of intestinal microbiota, mainly the bifidobacteria, which means that yacon has prebiotic effect. The aim of this study was to check, through Response Surface Methodology, the optimum conditions to use, simultaneously, the soy and yacon watery extracts in the development of a new fermented product with the probiotic culture constituted by *Enterococcus faecium* CRL 183 and *Lactobacillus helveticus* ssp *jugurti* 416. Therefore, the independent variables were represented by the protein of soymilk (g/L) and the yacon extract (%). The dependent variables (responses) were obtained through the acceptance test ("taste" and "overall acceptability"). The joint optimization of the variables pointed out the 7th formulation (1.74 g/L of soymilk protein and 25.86% of yacon extract) of the factorial design as the most adequate. However, the 9th and 10th formulations (both containing 1.74 g/L of soymilk protein and 40% of yacon extract) presented acceptance scores significantly equal to the 7th treatment. The optimized product was submitted to the shelf-life determination, and it was presented in conditions of consuming in the course of 21 days at 5 °C and with viability of the probiotic culture among 10⁸ UFC/mL. In conclusion, it was possible to obtain a symbiotic product, with satisfactory nutritional, technological and sensory properties using simultaneously the soy and yacon extracts. The use of the response surface methodology was shown as a tool of great value in the optimization of the new product formulation and to the establishment of predictive mathematical models for the sensory parameters evaluated.

Key words: soy, soy yogurt, yacon, probiotics, prebiotics, response surface methodology.

1. Introdução

1. INTRODUÇÃO

Os produtos de soja e os alimentos que exercem efeitos prebióticos, devido à presença frutooligossacarídeos (encontrados no yacon), apresentam grande potencial de aplicação na indústria devido às suas importantes propriedades funcionais, pois, além de fornecerem os nutrientes básicos, podem reduzir o risco do aparecimento de doenças crônico-degenerativas, por meio de mecanismos não previstos pela nutrição convencional (OLIVEIRA et al., 2002; FUCHS et al., 2005).

A soja (*Glycine Max*) e seus derivados têm recebido atenção dos pesquisadores, não somente pela sua quantidade e qualidade protéica, mas, também por ser importante fonte de outros compostos, como fibras, oligossacarídeos com potencial prebiótico (rafinose e estaquiose), vitaminas e minerais e isoflavonas, seu composto bioativo (FUCHS et al., 2005). Essa leguminosa pode auxiliar na prevenção e no tratamento de várias doenças, tais como diversos tipos de câncer, controle da osteoporose e alívio dos sintomas da menopausa (HASLER, 1998; ROSSI et al., 1999).

Probióticos são “microrganismos vivos que quando ingeridos agem de maneira benéfica, melhorando o equilíbrio intestinal do animal hospedeiro” (FULLER, 1994; OLIVEIRA et al., 2002). Os leites fermentados com bactérias probióticas têm sido muito estudados, por somar os benefícios sensoriais proporcionados por esses microrganismos aos efeitos, também benéficos, dessas culturas ao organismo do hospedeiro (FULLER, 1994).

Scutti e Rossi (1996) destacaram, dentre os vários efeitos benéficos à saúde, atribuídos às culturas probióticas, a prevenção e o tratamento contra diarreia, a diminuição dos sintomas da intolerância à lactose, a redução do colesterol sérico, a estimulação da resposta imune e a redução da incidência de tumores. No entanto, esses efeitos não podem ser atribuídos a todas as bioculturas, fazendo com que a seleção e a caracterização da cepa sejam essenciais para a obtenção do efeito probiótico.

O yacon (*Smallanthus sonchifolius*) é uma planta natural da região andina, que armazena frutano (oligofrutanos) do tipo inulina; um polímero composto principalmente

por frutose. Os oligofrutanos são também considerados alimentos funcionais, pois atuam no aumento de bifidobactérias benéficas à saúde do hospedeiro. Isso ocorre devido aos carboidratos resistirem ao processo digestivo, não sendo hidrolisados na parte superior do trato intestinal, mas sim metabolizados no cólon, principalmente pelas bifidobactérias (OLIVEIRA e NISHIMOTO, 2004).

Diante da procura por alimentos que tragam benefícios extras à saúde, e dos potenciais efeitos funcionais da soja, dos probióticos e dos prebióticos, este estudo teve por finalidade determinar, através da metodologia da superfície de resposta, as melhores condições para o desenvolvimento de um novo produto fermentado pelo cultivo probiótico de *Enterococcus faecium* CRL 183 e *Lactobacillus helveticus* ssp *jugurti* 416, que utilizasse simultaneamente os extratos aquosos de soja e de yacon (rico em frutooligossacarídeos do tipo inulina), propiciando, dessa forma, a obtenção de um produto simbiótico.

2. Revisão Bibliográfica

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. ALIMENTOS FUNCIONAIS

A definição para os Alimentos Funcionais teve origem no Japão, em meados de 1980, para caracterizar alimentos e/ou ingredientes alimentares que, além de suas funções nutricionais básicas (fonte de energia e substrato para a formação das células e tecidos), possuem em sua composição, uma ou mais substâncias capazes de atuar como moduladores dos processos metabólicos, melhorando as condições de saúde, promovendo o bem-estar e prevenindo o surgimento precoce de doenças degenerativas, principalmente em função de uma população sempre crescente de idosos (SANDERS, 1998).

A portaria nº15 de 30 de abril de 1999 (BRASIL, 1999a), da Agência Nacional de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde (ANVISA), fornece a definição de alimento funcional: "todo aquele alimento ou ingrediente que, além das funções nutricionais básicas, quando consumido como parte da dieta usual, produz efeitos metabólicos e/ou fisiológicos e/ou efeitos benéficos à saúde, devendo ser seguro para consumo sem supervisão médica".

Segundo Oliveira et al. (2002) alimentos funcionais são aqueles que, além de fornecerem nutrientes básicos, promovem a saúde, reduzindo o risco de doenças crônico-degenerativas. Deve-se salientar que esses alimentos possuem potencial para promover a saúde por meio de mecanismos não previstos pela nutrição convencional, isso significa que tal efeito restringe-se à promoção da saúde e não à cura de doenças (SANDERS, 1998).

Sanders (1998), em um de seus trabalhos, relacionou seis possíveis causas para o aumento da procura por alimentos funcionais, foram elas: a opção dos consumidores por prevenir ao invés de curar doenças; aumento dos custos médicos; consumidores mais conscientes sobre a relação saúde e nutrição; envelhecimento da população; desejo de combater os males causados pela poluição, por microrganismos e por agentes químicos; aumento das evidências científicas sobre a sua eficácia.

De acordo com Roberfroid (2002), um alimento pode ser considerado funcional se for demonstrado que o mesmo pode afetar benéficamente uma ou mais funções alvo no corpo, além de possuir os esperados efeitos nutricionais, de maneira que seja relevante tanto para o bem-estar e a saúde quanto para a redução do risco de determinadas doenças. O objetivo primário dos alimentos funcionais é melhorar, manter e reforçar a saúde dos consumidores via alimentação.

Vários efeitos benéficos sobre a saúde, produzidos pelos alimentos ou ingredientes funcionais, encontram-se atualmente comprovados, porém, para que um determinado alimento possa ser classificado como funcional é necessário que os componentes fisiologicamente ativos estejam presentes em quantidades suficientes e adequadas para produzir o efeito desejado (LAROSA, 2003).

Os alimentos funcionais devem fazer parte da alimentação cotidiana, dentro de uma dieta saudável e balanceada, podendo seu uso regular trazer benefícios fisiológicos específicos, graças à presença de ingredientes bioativos (MULLER, 2001).

2.2. SOJA

Em se tratando de alimentos funcionais, a soja tem sido um dos produtos mais estudados, apresentando um grande número de componentes bioativos.

A soja (*Glycine Max*) é uma leguminosa provavelmente originária da região leste da Ásia, mais especificamente no norte da China, embora essas informações não sejam ainda conclusivas. Com base em evidências, acredita-se que a soja emergiu como planta domesticada no nordeste da China por volta do século XI a.C. (MIYASAKA e MEDINA, 1981; MORAIS e SILVA, 1996). Foi introduzida no ocidente após a chegada dos navios europeus no fim do século XV e começo do XVI. No entanto, permaneceu apenas como uma curiosidade botânica durante os quatro séculos seguintes. Apenas no início do século XX se deu a expansão do intercâmbio da soja entre o Ocidente e o Oriente (MIYASAKA e MEDINA, 1981).

Atualmente, os Estados Unidos, o Brasil e a Argentina produzem 90% da soja do mundo, sendo os Estados Unidos os maiores produtores do grão, produzindo mais de 50% do total, enquanto que o Brasil é o segundo produtor, com cerca de 25% da produção mundial (RIOS VIVOS, 2007).

A produção de soja do Brasil em 2006 foi de 54 milhões de toneladas, das quais 31 milhões de toneladas foram exportadas, contra 79,87 milhões de toneladas nos EUA. A safra nacional de 2007/08 atingiu 60,02 milhões de toneladas, sendo considerada um recorde (CONAB, 2008).

A soja representa hoje 10,0% das exportações brasileiras, atingiram 4,44 milhões de toneladas em maio de 2008 e 3,093 milhões em julho do mesmo ano (CONAB, 2008). Em média, 72,8% do total produzido no país é exportado, principalmente para União Européia, China e Japão (ARBACHE, 2002; CONAB, 2008).

Segundo o documento *Projeções do Agronegócio: Mundial e Brasil – 2006/07 a 2017/18*, apresentado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) em 09 de janeiro de 2008, baseado em órgãos como a ONU, FAO, IBGE entre outros, até 2017 o Brasil deve ultrapassar os Estados Unidos na exportação mundial de soja. A participação do Brasil no mercado mundial passará de 40% para 59,4%, enquanto que a dos Estados Unidos cairá de 47,4% para 29,4% (BRASIL, 2008).

Nos últimos anos foram verificados na região central do país os maiores ganhos de rendimento do produto. Caso as políticas mundiais continuem incentivando a produção de soja, o Brasil Central será uma região muito visada e de grandes possibilidades, devido à disponibilidade de área cultivável e ao potencial de aumento de produtividade (RIOS VIVOS, 2007).

Segundo a Associação Brasileira das Indústrias de Óleos Vegetais (Abiove) a produção brasileira de farelo de soja, que em 2007 foi de 24 milhões de toneladas, aumentou para 24,5 milhões de toneladas em 2008. Da mesma forma, a produção de óleo de soja subiu de 6,0 milhões de toneladas, em 2007, para 6,2 milhões de toneladas em 2008 (ABIOVE, 2008). O aumento do consumo de óleo de soja no Brasil, destinado à fabricação de biocombustíveis, vai contribuir com

uma queda nas exportações do mesmo em 2008/09, estimada em 1,6 milhões de toneladas, ante 2,3 milhões de toneladas (AR RURAL, 2008).

O consumo da soja na alimentação brasileira tem sido estimulado principalmente devido ao seu alto valor nutritivo. A soja é uma excelente fonte de energia e de proteínas e razoável fonte de vitaminas (E, K, tiamina, riboflavina e ácido fólico) e de minerais (ferro, fósforo, magnésio, cobre e zinco). E, sabe-se que dentre os principais problemas nutricionais do Brasil estão justamente as deficiências de energia e de proteína e a anemia ferropriva (DUTRA DE OLIVEIRA, 1981; MIYASAKA e MEDINA, 1981).

Além da elevada quantidade e qualidade protéica dentre os vegetais, a soja é também importante fonte de outros compostos, como fibras, isoflavonas e oligossacarídeos com potencial prebiótico (rafinose e estaquiose) (FUCHS et al., 2005; HAULY et al., 2005). A proteína da soja apresenta um bom perfil de aminoácidos, sendo considerados limitantes apenas os sulfurados. O óleo de soja contém cerca de 15% de ácidos graxos saturados e 85% de insaturados, sendo grande o seu conteúdo em ácidos graxos essenciais (MORAIS e SILVA, 1996).

Nos últimos dez anos, a soja vem sendo muito estudada em razão de seu potencial na prevenção e no tratamento de doenças crônicas, decorrente da presença dos componentes bioativos, especialmente as isoflavonas. Estudos têm mostrado que as isoflavonas inibem a proliferação celular diminuindo o risco de câncer de mama e de próstata, reduzem os níveis de colesterol, e consequentemente, o risco de doenças cardiovasculares, aliviam os sintomas da menopausa e controlam a osteoporose (MESSINA, 1995; HASLER, 1998; MESSINA, 1999; SETCHELL e CASSIDY, 1999; ROSSI et al., 2000).

Recentemente, diversos estudos com diferentes produtos de soja têm sido divulgados, relatando um aumento no consumo dessa leguminosa na alimentação humana no Brasil, provavelmente em decorrência de uma mudança nos hábitos alimentares da população e, principalmente, devido a um aumento do poder aquisitivo, uma vez que tais produtos estão sendo comercializados a preços relativamente elevados (UMBELINO, 1999; ROSSI, 2000; BEDANI et al., 2007).

No entanto, um dos maiores obstáculos ao uso do grão de soja na alimentação humana tem sido o seu sabor amargo e adstringente, a presença de rafinose e estaquiose que são oligossacarídeos causadores de flatulência, além de algumas propriedades alergênicas (UMBELINO, 1999; CARLOS et al, 2000; ROSSI, 2000; CASÉ et al, 2001). Ressaltam-se também os inibidores de tripsina e quimotripsina e os quelantes de minerais, os quais podem ser inativados e/ou eliminados, total ou parcialmente, nas diversas etapas do processamento, principalmente naquelas em que se emprega o calor (CARVALHO e STECH, 1997; MAIA et al., 2006).

Com a intenção de incentivar o consumo de soja e produzir alimentos derivados dessa leguminosa com características sensoriais agradáveis, o Departamento de Alimentos e Nutrição da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara (UNESP) juntamente com a Prefeitura Municipal de Araraquara implantaram, em setembro de 1997, o Programa de Desenvolvimento e Produção de Derivados da Soja, UNISOJA, que tem por finalidade principal a produção do extrato hidrossolúvel de soja, conhecido popularmente por “leite” de soja. Nesse processo a soja não é deixada de molho, sendo submetida a um tratamento térmico controlado (95 °C por 14 minutos) logo após o descascamento, visando inativar a enzima lipoxigenase e os fatores antinutricionais, reponsáveis pelo sabor desagradável e pela redução do seu valor nutricional, respectivamente. (MANZANO, 2007).

Outra forma de melhorar algumas características dos derivados da soja é a utilização do processo de fermentação, que pode melhorar não somente os aspectos sensoriais como também o valor nutricional decorrente da redução dos níveis de saponinas e fitatos e até mesmo pelo aumento do teor de algumas vitaminas (KANDA et al., 1976 citado por FAVARO TRINDADE et al., 2001). Na literatura já se verifica um grande número de trabalhos realizados com produtos fermentados de soja similares aos iogurtes (SCUTTI, 1998; CARLOS et al., 2000; UMBELINO e ROSSI, 2001; KINOCHI et al., 2002; ROSSI et al., 2003; MANZANO, 2007; BEDANI et al., 2007, PAULY et al., 2007).

2.2.1. "IOGURTE" DE SOJA

Somente após a II Guerra Mundial os leites fermentados, principalmente o iogurte, passaram a ser produzidos em escala industrial, conquistando grande parte da população mundial, embora o consumo de leites fermentados remonte a origem da civilização humana (LERAYER e SALVA, 1997).

Desde que Metchnikoff sugeriu pela primeira vez, no início do século passado, a idéia de que o consumo regular de leites fermentados poderia oferecer certos benefícios à saúde do consumidor, as eventuais propriedades profiláticas e terapêuticas do iogurte e de produtos similares têm sido assunto de muita especulação (TAMINE et al., 1995).

Os alimentos fermentados têm se constituído importantes componentes da dieta, devido não somente às suas características nutricionais, mas também à capacidade de reduzirem o risco de doenças crônico-degenerativas (ROSSI et al., 2003). O consumo desses produtos contendo microrganismos benéficos é adequado em situações de infecções no trato gastrointestinal, inibindo microrganismos patogênicos; promovendo o equilíbrio da microbiota intestinal durante o uso prolongado de antibióticos e diminuindo sintomas de intolerância à lactose. A constância de consumo estabelece uma interação entre o microrganismo e o hospedeiro, reduzindo o número de patógenos potenciais, proporcionando uma vida mais saudável (SABOYA et al., 1997).

Ultimamente vários estudos têm testado a soja como matéria-prima alternativa ao leite para obtenção de produtos fermentados semelhantes aos iogurtes, como forma, não somente de se obter produtos diversificados, mas também de reduzir o custo do produto final (SCUTTI, 1998; UMBELINO, 1999; MANZANO, 2007; PAULY et al., 2007).

Nesse sentido, Rossi et al. (1984) conduziram um estudo com a finalidade de obter um produto fermentado similar ao iogurte, utilizando como matéria-prima extrato aquoso de soja, soro de leite e leite integral, empregando-se o processamento convencional de obtenção do iogurte, com culturas de *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* ssp *bulgaricus*. Para

determinar a quantidade adequada de cada constituinte da matéria-prima, quinze formulações foram submetidas à análise sensorial. A metodologia de superfície de resposta foi aplicada para a otimização da formulação. Os resultados obtidos mostraram que é possível a obtenção de um sucedâneo do iogurte à base de extrato de soja e soro de leite, sem o emprego do leite integral. O produto desenvolvido apresentou acidez titulável e tempo de fermentação compatíveis com os fermentados lácteos convencionais, além de boa aceitação e custo reduzido. O produto descrito por Rossi et al. (1999) foi tomado como referência e ponto de partida para o presente estudo, sendo sua obtenção feita a partir de algumas modificações necessárias detalhadas no capítulo Material e Métodos.

O “iogurte” de soja apresenta algumas vantagens em relação ao iogurte convencional à base de leite, tais como nível reduzido de colesterol, de gorduras saturadas e de lactose (FAVARO TRINDADE et al., 2001). O processo de fermentação contribui para a melhora das características sensoriais do extrato hidrossolúvel de soja, podendo ser ainda adicionado de aromatizantes naturais. No entanto, a presença de rafinose e estaquiose, oligossacarídeos causadores de flatulência, pode ser considerada como uma característica negativa quando comparado ao iogurte convencional. Baseado nisso, Rossi et al. (1989) investigaram a possibilidade de redução dos níveis de oligossacarídeos em “iogurte” de soja por meio de culturas lácticas não convencionais. Para tanto, as culturas de *S. thermophilus* e *L. delbrueckii* ssp *bulgaricus*, tradicionalmente empregadas na elaboração de iogurte, foram substituídas e/ou associadas com culturas de *L. fermenti* e *L. acidophilus*. Nos diversos produtos obtidos foram determinados os níveis de estaquiose, rafinose e sacarose, além de avaliações sensoriais (aceitabilidade geral e textura), parâmetros reológicos (viscosidade e consistência) e o tempo de fermentação de cada produto. Com relação à estaquiose, os níveis encontrados nos “iogurtes” de soja aumentaram de 98 a 115%. A rafinose não foi detectada em nenhum dos produtos, enquanto a sacarose sofreu reduções que variaram de 55,5% a 68,0% do conteúdo inicial. Os resultados mostraram que a modificação do inóculo convencional de iogurte (*S. thermophilus* e *L. bulgaricus*), através de substituição ou associação com culturas

de *L. fermenti* e *L. acidophilus* não se constituiu uma alternativa adequada para a redução dos oligossacarídeos, além disso, nos produtos onde o *L. delbrueckii* ssp *bulgaricus* foi substituído, foi verificado um aumento significativo do tempo de fermentação.

Kinouchi et al. (2002) realizaram um estudo com o objetivo de verificar a aceitação dos “iogurtes” de soja com adição de aromas naturais de pêssego e morango, entre adolescentes de escola pública e particular do município de Araraquara. Os resultados revelaram boa aceitação do produto aromatizado, demonstrando ser, dessa forma, viável a inclusão do “iogurte” de soja na alimentação de adolescentes.

Rossi et al. (1994) estudaram 18 cepas bacterianas de *Lactobacillus acidophilus* e *Enterococcus faecium* quanto à capacidade de remoção do colesterol adicionado ao meio de cultura em presença de sais biliares. A maior remoção do colesterol foi obtida pelo *Enterococcus faecium* CRL 183 e *Lactobacillus acidophilus* CRL 1014 (55,4% e 54% respectivamente). A partir desses resultados, foi verificada a possibilidade de utilização desses microrganismos na obtenção de um novo produto de soja, com propriedades tecnológicas e sensoriais semelhantes aos fermentados tradicionais (ROSSI et al., 1999).

Rossi (2000) avaliou o efeito da ingestão desse novo produto de soja fermentado sobre os níveis de lípides séricos em coelhos e ratos com hipercolesterolemia induzida. O produto fermentado administrado durante 30 dias, em dose de 10 mL/dia, se mostrou capaz de reduzir o colesterol total em 18,4% e de aumentar a fração HDL em 17,8%, podendo ser considerado um possível coadjuvante no tratamento de hipercolesterolemias.

Na tentativa de se conhecer o comportamento deste produto em humanos, Rossi et al. (2003) estudaram o efeito da ingestão diária do produto sobre os níveis de lípides séricos de indivíduos normocolesterolêmicos, adultos e do sexo masculino. A ingestão de 200 mL/dia do produto foi capaz de manter inalterada a concentração de colesterol total e de LDL-colesterol e de aumentar em 10% o nível do HDL-colesterol, nas condições de estudo. Esse mesmo produto foi

também avaliado quanto ao seu potencial alergênico. Os resultados mostraram que o produto fermentado apresentou um percentual de degranulação de mastócitos menor que o observado para o placebo (produto não fermentado). Concluiu-se que o processo fermentativo reduziu favoravelmente a alergenicidade das proteínas de soja (CARLOS et al., 2000).

Vendramini (2002) analisou os níveis de citocinas IL-1 β , IL-6, IL-12, TNF- α , IFN- γ , além dos mediadores de óxido nítrico e peróxido de hidrogênio em camundongos que receberam o “iogurte” de soja fermentado com *Enterococcus faecium* CRL 183 e *Lactobacillus helveticus* ssp *jugurti* 416. Foi observado um aumento nos níveis de todas as citocinas estudadas, demonstrando a capacidade imunomoduladora desse produto.

Rossi et al. (2004) demonstraram que o processo de transformação da soja em “iogurte” resulta em uma diminuição das isoflavonas em cerca de 13 vezes em relação à concentração verificada no grão *in natura*. Desta forma, é possível que o efeito hipocolesterolemizante do “iogurte” de soja, observado nos estudos anteriores de Rossi e colaboradores (2000 e 2003), não seja devido à presença das isoflavonas, mas provavelmente à ação específica dos microrganismos utilizados na fermentação do produto.

Rossi et al. (2004) sugerem que o “iogurte” de soja fermentado com *E. faecium* poderia apresentar um efeito positivo sobre a inibição do desenvolvimento da osteoporose se suplementado com cálcio e isoflavonas. Nesse sentido, Bedani et al. (2006) realizaram um estudo, visando demonstrar o efeito da ingestão do “iogurte” de soja, fermentado com *Enterococcus faecium* CRL 183 e *Lactobacillus helveticus* ssp *jugurti* 416, suplementado com isoflavonas e cálcio sobre o peso corpóreo e o tecido ósseo de ratas maduras ovariectomizadas. Os resultados mostraram que o produto foi capaz de evitar o aumento do peso corpóreo, naturalmente causado pela ovariectomia, além de apresentar um efeito protetor sobre a ação osteoblástica provocada pela deficiência estrogênica.

Shigemoto et al. (2004) também estudaram o efeito da ingestão do mesmo produto sobre o desenvolvimento da osteoporose em ratas ovariectomizadas, submetidas ou não a um protocolo de exercício físico resistido, em que os animais

passavam por sessões de treinamentos, executando saltos dentro de um tanque com água aquecida e com uma sobrecarga anexada ao tórax. Os resultados comprovaram, de forma mais clara, aqueles observados por Bedani et al. (2006), mesmo quando o produto foi suplementado somente com isoflavonas.

É válido ressaltar que como as outras bactérias lácticas, o gênero *Enterococcus* está presente em um grande número de produtos lácteos como culturas iniciadoras, em suplementos alimentares e em alimentos funcionais (KLEIN, 2003).

As bactérias do gênero *Enterococcus* fazem parte da microbiota do trato gastrointestinal em alguns mamíferos, incluindo os humanos. A presença de determinadas espécies em produtos lácteos tem sido considerada como indicador de condições sanitárias insuficientes durante a produção e o processamento do leite (FRANCO e LANDGRAF, 2003). Um exemplo é o *E. faecalis*, que tem sido indicado como agente causador de endocardite humana, bem como de infecções urinárias. Entretanto, há espécies de *Enterococcus* com uma longa história de uso seguro no processamento de alimentos e que são de grande interesse biotecnológico, devido à produção de bacteriocinas, além de outras características probióticas (SIVIERI et al.; BEDANI et al.; REDONDO et al., 2007; REDONDO; SIVIERI et al., 2008).

Recentemente, vários estudos vêm sendo conduzidos visando demonstrar não só as características probióticas do *Enterococcus faecium*, mas, principalmente, a sua inocuidade em relação à saúde do consumidor, sendo recentemente incluído à lista de microrganismos probióticos pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2008).

2.3. MICRORGANISMOS PROBIÓTICOS

Atualmente a indústria de laticínios tem demonstrado um grande interesse pelos produtos contendo microrganismos probióticos.

Os probióticos são “microrganismos vivos que quando ingeridos agem de maneira benéfica, melhorando o equilíbrio intestinal do animal hospedeiro”

(FULLER, 1994). As bactérias probióticas permanecem vivas no produto fermentado e sobrevivem à passagem pelo trato gastrointestinal, fixando-se no intestino (SEIBEL, 1998).

Um microrganismo probiótico deve necessariamente sobreviver às condições do estômago e colonizar o intestino, mesmo que temporariamente, por meio da adesão ao epitélio intestinal (OLIVEIRA et al. 2002), impedindo, dessa forma, o desenvolvimento de patógenos e realçando a imunidade inata (SCUTTI, 1998).

Dos microrganismos benéficos usados tradicionalmente na fermentação, as bactérias produtoras de ácido láctico têm atraído a atenção de pesquisadores em todo o mundo, por estarem relacionadas ao tratamento e prevenção da diarreia, à diminuição dos sintomas da intolerância à lactose, redução do colesterol sérico, estimulação da resposta imune e redução da incidência de tumores. Entretanto, esses efeitos não podem ser atribuídos a todas as bactérias lácticas, dessa forma a seleção e a caracterização da cepa são essenciais para a obtenção do efeito probiótico desejado (SCUTTI e ROSSI, 1996; KOOP-HOOLIHAM, 2000; OLIVEIRA et al., 2002).

As bactérias probióticas, principalmente os *Lactobacillus acidophilus* e as *Bifidobacterium* spp, são normalmente dominantes no intestino humano. Esses microrganismos inibem o crescimento de organismos patogênicos através da produção de ácidos orgânicos, bacteriocinas e desconjugação de sais biliares (SIVIERI et al.; BEDANI et al.; REDONDO et al.; 2007; REDONDO, 2008). A presença destes microrganismos no intestino pode ser reduzida com a idade, alterações na dieta, com o consumo de antibióticos e “stress” (BEDANI et al., 2007). A ausência ou baixa viabilidade dos mesmos pode causar vários problemas digestivos. O efeito do consumo de culturas ativas com a finalidade de compensar tais perdas vem sendo investigado durante as últimas décadas (MAZZA, 1998 citado por MANZANO, 2007).

Para garantir um efeito contínuo, os probióticos devem ser ingeridos diariamente (SAAD, 2007). Mudanças positivas na composição da microbiota intestinal foram observadas com doses de 100g de produto contendo 10^9 UFC de

microrganismos probióticos (10^7 UFC/g de produto), geralmente com a administração durante o período de 15 dias. Dessa forma, para apresentarem importância fisiológica ao consumidor, os probióticos devem atingir populações entre 10^8 e 10^9 UFC na recomendação diária do produto pronto para consumo, conforme indicação do fabricante (SAAD, 2006; ANVISA, 2008).

2.4. PREBIÓTICOS

Os prebióticos são “ingredientes não digeríveis incorporados aos alimentos com a finalidade de estimular o crescimento e/ou atividade de determinadas bactérias da microbiota intestinal, por meio de sua atuação como um substrato seletivo ao nível do cólon” (ZIEMER e GIBSON, 1998; LEE et al., 1999; OLIVEIRA et al., 2002).

Segundo Gibson e Roberfroid (1995) para um ingrediente alimentar ser classificado como prebiótico, deve atender as seguintes características:

- não ser hidrolisado e nem absorvido na parte superior do trato gastrointestinal;
- ser um substrato seletivo para um número limitado de bactérias residentes no cólon, as quais têm seu crescimento estimulado e/ou são ativadas metabolicamente;
- ser capaz de modificar a microbiota colônica, permitindo uma composição equilibrada;
- induzir efeitos locais e sistêmicos benéficos à saúde do hospedeiro.

Os prebióticos abrangem as frutanas, que incluem a inulina natural, inulina hidrolisada enzimaticamente ou oligofrutose e frutooligossacarídeos sintéticos, além de galactoligossacarídeos, lactulose, isomaltoligossacarídeo, xiloligossacarídeos e gentioligossacarídeos (HAULY et al., 2005).

Atualmente, sabe-se que algumas fibras desempenham papel fundamental na manutenção da microbiota intestinal e que a quantidade de bactérias e sua excreção pelas fezes são diretamente proporcionais ao consumo dessas fibras, tanto em animais como em humanos. Nos últimos anos tem sido dada uma maior

atenção sobre o papel da inulina e dos frutooligossacarídeos (FOS) sobre a microbiota intestinal, mais especificamente sobre a população de bifidobactérias (CUMMINGS et al., 2004).

Os frutooligossacarídeos (FOS) são compostos por múltiplas moléculas de frutose ligadas a uma sacarose terminal por meio de ligações do tipo $\beta(2\rightarrow1)$, de ocorrência natural, principalmente em produtos vegetais. São chamados açúcares não convencionais e têm sido utilizados na indústria de alimentos, devido as suas excelentes características físico-químicas (PASSOS e PARK, 2003).

De acordo com Roberfroid (2000) os frutooligossacarídeos podem ser obtidos sob duas formas, do ponto de vista comercial: a primeira ocorre por hidrólise enzimática de inulina e consiste de unidades lineares de frutose com ou sem unidades de glicose. O grau de polimerização varia de 1 a 7 unidades de frutose. Esse processo ocorre amplamente na natureza, e esses oligossacarídeos podem ser encontrados em uma grande variedade de plantas, principalmente em alcachofras, aspargos, beterraba, chicória, banana, alho, cebola, trigo, cerveja, centeio, girassol, aveia e tomate (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 2005). Também podem ser encontrados no mel e açúcar mascavo e em tubérculos como o yacon (*Smallanthus sonchifolius* Poepp. & Endl.). Outra forma de obtenção dos FOS é por reação enzimática de transfrutossilação, resultando em resíduos de sacarose com grau de polimerização variando entre 1 a 5 unidades de frutose (SPIEGEL et al., 1994; HUSSEIN et al., 1998; ROBERFROID, 2000).

Os frutooligossacarídeos são resistentes à ação das enzimas α -amilase, sacarase e maltase. Por esta razão não são digeríveis pelos seres humanos, mas podem ser utilizados por alguns microrganismos gram-positivos, tais como as bifidobactérias, estimulando seletivamente seu crescimento e suas atividades intestinais na promoção de saúde (MOSCATTO et al., 2004). Apresentam características semelhantes às fibras alimentares, sendo empregados na indústria alimentícia como substitutos do açúcar ou da gordura e do ponto de vista fisiológico influenciando a função intestinal ao serem utilizados pelas bifidobactérias, presentes no cólon (LEITE et al., 2004).

Os efeitos benéficos dos FOS para a saúde humana incluem ainda a produção de ácidos graxos de cadeia curta, aumento das bifidobactérias no intestino, diminuição do pH e de substâncias putrefativas no intestino, melhora da diarreia associada ao uso de antibióticos e alteração de parâmetros lipídicos, ocasionando uma redução dos níveis de triglicerídeos e colesterol séricos (SPIEGEL et al., 1994; HERMANN et al., 1997-98; HUSSEIN et al., 1998; CAPITO, 2001; NITSCHKE e UMBELINO, 2002; MANNING e GIBSON, 2004; MOSCATTO, 2004).

Um comitê de cientistas nos Estados Unidos, criado em 1992, após avaliar a segurança do uso de frutooligossacarídeos e inulina para o consumo humano, determinou as seguintes diretrizes em relação ao seu consumo (COUSSEMENT, 1999):

- a segurança do consumo de inulina e frutooligossacarídeos se deve à presença destes componentes em muitos alimentos que tem sido consumido seguramente pelos homens há milênios;

- evidências científicas indicam que a inulina e os FOS não são hidrolisados no estômago ou intestino delgado, mas são fermentados completamente no cólon, onde servem de substratos para o crescimento das bifidobactérias;

- a ingestão de inulina e FOS são suas próprias doses limites, uma vez que se consumidas em grande quantidade causam efeitos de flatulência no cólon;

- a inulina e os frutooligossacarídeos são classificados como substâncias não tóxicas, devido a sua estrutura e composição química.

Segundo alguns autores (NINESS; ROBERFROID, 1999; GIBSON et al., 2004), o efeito bifidogênico dos oligofrutos, no sentido de gerar uma mudança positiva da microbiota intestinal, é alcançado quando são ingeridas doses diárias de 4 a 5 g de inulina e/ou oligofrutose. Outros pesquisadores afirmam que o consumo de 3 a 15 g diárias, durante diversas semanas, de inulina e oligofrutose presentes na chicória, promove mudanças significativas na microbiota intestinal podendo ser considerados prebióticos (SAAD, 2006). Na realidade, não existe consenso entre os pesquisadores, com relação à dose mínima efetiva de frutanos

capaz de promover uma melhor viabilidade de probióticos e, dessa forma, atender ao conceito de prebióticos (SAAD, 2007).

No entanto, Roberfroid (2007) sugere que a dose diária de prebióticos não determina o efeito prebiótico. De acordo com o autor, esse efeito é influenciado, principalmente, pela concentração de bifidobactérias nas fezes antes do início do consumo de prebióticos. Assim, a ingestão dos frutanos estimula a multiplicação das bifidobactérias da microbiota inicial e, quanto maior essa população, maior a quantidade de células bacterianas novas nas fezes. Tal hipótese levou o autor a propor o chamado “índice prebiótico”, cuja definição é dada como “um aumento da quantidade absoluta de bifidobactérias, dividida pela dose diária de prebiótico ingerido”.

A importância do consumo de prebióticos vai além da utilização dos mesmos pelo organismo. Deve-se principalmente aos diversos benefícios causados pelas bifidobactérias quando da utilização dos frutooligossacarídeos, que, além dos efeitos benéficos anteriormente descritos, estimulam o sistema imunológico; potencializam a tolerância à lactose; produzem vitaminas B₁, B₆, B₁₂ e ácido fólico; produzem enzimas digestivas e lisozima; e promovem a acidificação do pH intestinal pela formação de acetato e lactato, representando assim, outra forma de suprimir os patógenos (*E. coli*, *Clostridium perfringens*, *Salmonellas*, etc.). Somando-se a isso, com o decréscimo do pH gastrointestinal, essas bactérias transformam o NH₃, potencialmente tóxico, a NH₄⁺, menos tóxico (SGHIR et al., 1998; JENKINS et al., 1999; ALÍPIO, 2000).

Entretanto, os efeitos benéficos da associação dos frutooligossacarídeos às bifidobactérias podem ser alcançados também pela produção e liberação de ácidos graxos de cadeia curta (*short chain fatty acids*, SCFA) como ácido acético, propiônio, e butírico; além de CO₂, CH₄ e H₂ (WANG e GIBSON, 1993). Com a produção desses ácidos, as absorções de cálcio, ferro e magnésio são facilitadas, e com o consumo de 15 g de frutooligossacarídeos por dia, a absorção de Ca²⁺ é aumentada em 10,8% em humanos (ROBERFROID, 1993; GIBSON e ROBERFROID, 1995; VAN LOO et al., 1999).

Younes et al. (1996), em estudos com ratos, determinaram que uma mistura de fibras, incluindo frutooligossacarídeos, reduz o nível de uréia no soro sanguíneo, por meio da excreção fecal de uréia. Os efeitos seriam devidos à conversão do NH_3 a NH_4^+ (composto menos tóxico) pelas bifidobactérias em presença de meio ácido. Meio este alcançado também por ação dessas bactérias, que utilizam os FOS no processo de fermentação (JENKINS et al., 1999).

Na tentativa de verificar o potencial prebiótico dos frutooligossacarídeos em humanos, após ingestão de 3-5 g/dia, durante 2 semanas, Gibson e Roberfroid (1995) observaram aumento de bifidobactérias fecais de 6 para 22% e redução de *Bacteróides* e *Clostridium* de 25% para 4% e de 1 para 0,2%, respectivamente. Modler (1994) verificou que a adição de Neosugar® (Meiji Seika, Co, Japão), mistura de frutooligossacarídeos, à dieta humana (15g/dia), provocou um acréscimo de 10 vezes na população de bifidobactérias do intestino grosso. Concomitantemente, houve uma redução de 0,3 unidades no pH intestinal e também um decréscimo na contagem de enterobactérias.

Os frutooligossacarídeos também apresentam baixa cariogenicidade, uma vez que a microbiota bucal (*Streptococcus mutans*) não utiliza os FOS ao formar os poliglucanos insolúveis em água, responsáveis pela aderência do *S. mutans* aos dentes, evitando assim, a formação de placa bacteriana, além de não formar os ácidos que desmineralizam o esmalte (MITIKO, 1997).

Frente ao exposto, a inulina e a oligofrutose, presentes em plantas e vegetais, podem ser adicionadas aos alimentos normais, modulando funções fisiológicas-chaves como a absorção de cálcio e o metabolismo de lipídios, auxiliando na prevenção de infecções urogenitais e da osteoporose, além de modularem a composição da microbiota intestinal, a qual desempenha um papel importante na fisiologia gastrointestinal, promovendo alívio da constipação, redução da diarreia induzida por antibióticos, e podendo atuar na redução do risco de câncer de cólon (O'SSULLIVAN et al., 1992; WANG e GIBSON, 1993; WOLEVER, 1995; ROBERFROID e DELZENNE, 1998; VAN LOO et al., 1999; SCHOLZ-AHRENS et al., 2001; POOL-ZOBEL et al., 2002; DELZENNE et al.,

2002; SCHLEY e FIELD, 2002; SCHOLZ-AHRENS e SCHREZENMEIER, 2002; LOBO e FILISETTI, 2003a; LOBO e FILISETTI, 2003b).

Quando os microrganismos probióticos e os alimentos prebióticos são usados em combinação em um produto, fala-se de um alimento simbiótico (GIBSON e ROBERFROID, 1995).

2.4.1. YACON

O yacon era classificado botanicamente como *Polymnia*, mas estudos recentes de Robinson (GRAU e REA, 1997) restabeleceram o gênero *Smallanthus*. Cientificamente chamada de *Smallanthus sonchifolius* (Poepping & Endlicher) H. Robinson é uma espécie pertencente à família *Asteraceae*, caracterizada como uma planta herbácea de clima tropical de altitude, natural da região andina, que é tida como uma região rica quanto à variedade de raízes e tubérculos comestíveis (ZARDINI, 1991).

Sendo originário dos Andes, desenvolve-se desde a Colômbia e a Venezuela até o noroeste da Argentina, áreas de climas tropical e subtropical, em altitudes que atingem 2000 metros (HERMANN, 1997-98). Nessas regiões a raiz é considerada “fruta” e consumida crua, diferente de outras raízes e tubérculos como a batata que é consumida como fonte de energia (ZARDINI, 1991; ZANDSTRA et al., 1999; UFSC, 2002).

A introdução no Brasil se deu em 1991, como cultivo comercial em Capão Bonito – São Paulo e agora há também o desenvolvimento dessa cultura na região de Itajaí, no estado do Rio Grande do Sul (GRAU e REA, 1997; MEDEIROS, 2001; ITAYA et al., 2002; MACHADO et al., 2004; OLIVEIRA e NISHIMOTO, 2004).

O nome yacon possui origem da língua indígena Quéchuá, que significa; yakku= insípido e unu = água, e apresenta nomes populares em diferentes países, como na Inglaterra (leafcup, yacón), Espanha (yacon, yacuma, jícama), Peru e Bolívia (aricoma), Colômbia (arboloco, jiquima e jiquimilla), Venezuela (jiquima e jiquimilla), Argentina (llacon), França (poir de terre), Estados Unidos (yacon strawberry) e Itália (polimnia) (ZARDINI, 1991).

O yacon pertence a uma família extensa de plantas com numerosos representantes comuns, como o girassol, a dália e o dente de leão. A planta apresenta flores grandes distribuídas ao longo de talos pouco ramificados (GRAU e REA, 1997; GRAU et al., 2001). Na fase de crescimento, aproveitam-se as folhas e o caule para infusão.

O yacon apresenta um sistema subterrâneo complexo, não havendo consenso sobre a denominação dos órgãos que o compõem. Dessa forma, encontram-se referências a tubérculo, a caule rizomatoso, rizoma simpodial, a raiz tuberosa, a raiz comestível e tuberosa, ou ainda como rizoma lenhoso, rizoma carnoso e raiz de reserva (MACHADO et al., 2004).

A planta atinge entre 1,5 a 3 m de altura, e o sistema radicular é composto por 4 a 20 raízes tuberosas, que podem chegar ao diâmetro de 10 a 25 cm e aos pesos de 200 – 500 g cada, porém não é raro que atinjam os 2000 g (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 1989; GOTO et al., 1995; GRAU e REA, 1997). As raízes tuberosas do yacon são fusiformes, conforme apresentadas na Figura 1, e podem variar consideravelmente de sabor, tamanho e cor. Possuem aparência similar à batata doce (SILVA et al., 2003) e a cor da casca varia do marrom até uma tonalidade arroxeada, enquanto a porção comestível pode ser branca, amarela, laranja ou roxa, dependendo da variedade (GRAU e REA, 2004).



Figura 1. Raiz do yacon (*Smallanthus sonchifolius*).

Fonte: LOBO (2004).

O yacon é cultivado preferencialmente em regiões próximas a florestas úmidas, em microambientes temperados e chuvosos. Dependendo do índice pluviométrico, o yacon completa seu ciclo produtivo em 7 meses, podendo ser mais longo em altitudes mais elevadas. Quando as flores começam a desabrochar, em cerca de oito meses, inicia-se a colheita das batatas. A planta é rústica e resiste bem à seca. O solo deve estar sempre fofo, mas a planta sobrevive até mesmo em solos pobres (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 1989; GRAU e REA, 1997; ARAJARA, 1999; MEDEIROS, 2001).

No hemisfério sul a cultura de yacon pode abranger o período de julho a janeiro, e por isso, as colheitas podem ser realizadas pouco a pouco, ao longo de vários meses. Particularmente no Brasil, a safra vai de março a setembro, mas é possível encontrar uma pequena oferta em outros meses (ARAJARA, 1999; QUINTEROS, 2000; VENTURA, 2004).

O yacon tem seu ponto crítico, em termos de qualidade, no período pós-colheita devido a desconhecidas reações metabólicas responsáveis por sua deterioração, de forma que a sua conservação *in natura* é um sério problema (ZANDSTRA et al., 1999; QUIJANO et al., 2000; KAMIMURA, 2006). Além disso, quando recém-colhido o yacon é insípido, e para que ocorra a hidrólise dos frutanos e, conseqüentemente o desenvolvimento do sabor adocicado característico e maior quantidade de suco, é necessário que seja exposto ao sol por 3 a 5 dias até que as cascas fiquem pregueadas pela desidratação. Entretanto, quando destinado ao consumo por diabéticos e produção de inulina ou frutooligosacarídeos, o yacon deve ser processado rapidamente para evitar a degradação destes compostos (ZARDINI, 1991, QUINTEROS, 2000).

O sabor adocicado do yacon tem sido descrito pelo *National Research Council* (1989) e por Estrella e Lazarte (1994) como semelhante ao de uma maçã fresca, ou ainda lembrando a melancia. Outros autores descreveram o sabor do yacon como semelhante ao da pêra (OHYAMA et al., 1990; ARAJARA, 1999).

O processo de desintegração de tubérculos de yacon promove a incorporação de oxigênio que favorece a oxidação de compostos fenólicos com conseqüente escurecimento do extrato aquoso, o que prejudica a sua utilização.

Este processo é catalisado pelas enzimas do grupo das polifenoloxidasas, as responsáveis pela oxidação dos fenóis e eventual polimerização não enzimática das quinonas, gerando taninos ou melaninas. Esta oxidação se dá em presença de oxigênio livre, o que leva rapidamente ao escurecimento da superfície recém-cortada dos tubérculos, prejudicando sua aparência e a de seus produtos (CABELLO, 2005).

2.4.1.1. COMPOSIÇÃO QUÍMICA E NUTRICIONAL DO YACON

Segundo Santana e Cardoso (2008), o yacon apresenta em sua composição, principalmente, água e carboidratos, sendo que esses são armazenados, em sua maior parte, sob a forma de frutooligossacarídeos (FOS), dentre outros açúcares livres.

As raízes tuberosas do yacon contêm em torno de 83 a 90% de água. Devido a isso o yacon possui baixo valor energético (LACHMAN et al., 2004). De acordo com Manrique e Párraga (2005), é em decorrência desse alto teor de água que o yacon tem sua vida útil reduzida, em condições ambientais (cerca de 7 dias), tendo em vista que os tecidos internos de suas raízes são muito delicados, o que as leva a sofrer rachaduras ou a romperem-se facilmente durante os períodos de colheita, embalagem e transporte.

Estudo conduzido por Vilhena et al. (2000) relacionou o valor energético do yacon ao alto conteúdo de açúcares totais, além de determinar a composição química de cultivares introduzidos no Brasil (Tabela 1), que mostra que o yacon aqui cultivado apresenta composição muito semelhante ao de outros países da América Latina, como a Colômbia (NIETO et al., 1991).

Tabela 1. Composição química (base seca) das raízes tuberosas de yacon.

Propriedades	Valores¹	Valores²
Umidade (%)	87,9	87,18
Proteína (%)	3,7	4,34
Lipídeos (%)	1,5	1,66
Cinzas (%)	3,5	3,56
Fibras (%)	3,4	3,26
Carboidratos totais (%)	79,1	60 – 70*

*Frutanos

¹ Cultivares da Colômbia. Fonte: (NIETO et al., 1991).² Cultivares introduzidos no Brasil. Fonte: (VILHENA et al., 2000).

O conteúdo considerável de proteínas, cinzas e fibras mostra a potencialidade nutritiva desta raiz, além disso, o suco do yacon é rico em aminoácidos essenciais livres (NIETO, 1991; KAPULER e GURUSIDIAH, 1994). Com relação aos minerais, o potássio é o macroelemento presente em maior quantidade (1,34%), seguido pelo cálcio (0,14%), magnésio (0,12%), fósforo (0,08%) e sódio (0,06%). Dentre os microelementos, ferro e zinco destacam-se com 87 e 36 µg/g, respectivamente (INFORMÁTICO, 95/96 citado por MOURA, 2004). O yacon contém ainda algumas vitaminas ou pró-vitaminas que estão apresentadas na Tabela 2 com suas respectivas quantidades.

Tabela 2. Conteúdo de vitaminas e pró-vitaminas nas raízes de yacon (base úmida).

Componentes	Composição
Calorias (Kcal/100g)	54,0 ⁽²⁾
Retinol (mg/g)	10,0 ⁽¹⁾
Caroteno (mg/g)	0,18 ⁽¹⁾
Tiamina (mg/g)	0,01 ⁽¹⁾
Riboflavina (mg/g)	0,1 ⁽¹⁾
Niacina (mg/g)	0,33 ⁽¹⁾
Ácido ascórbico (mg/g)	13,0 ⁽¹⁾

(1) Grau e Rea, 1997; (2) Tapia, 1990. Fonte: Adaptado de QUIJANO, 2002.

2.4.1.2. CARACTERIZAÇÃO DOS CARBOIDRATOS PRESENTES NO YACON

Os carboidratos presentes nos tubérculos de yacon são frutose, glicose, sacarose, traços de amido e quantidades apreciáveis de frutooligossacarídeos (FOS), que são armazenados nas raízes tuberosas, o que as diferencia da maioria das raízes e tubérculos que acumulam amido (polímeros de glicose) como carboidrato de reserva (ASAMI et al., 1989; OHYAMA et al., 1990; FUKAI et al., 1997; GALLARDO, 1999; SIMONOVSKA et al., 2003).

Os frutanos são oligo e polissacarídeos, constituídos por uma molécula de sacarose unida a resíduos de frutose através de ligações glicosídicas $\beta(2 \rightarrow 1)$ e $\beta(2 \rightarrow 6)$, podendo apresentar estruturas lineares ou ramificadas (CAPITO, 2001). Consistem de séries homólogas de oligo e polissacarídeos não redutores, cada uma contendo um resíduo a mais de frutose que o membro anterior da série, de forma que o frutano mais simples é um trissacarídeo (RIBEIRO, 1993). Os frutanos podem ser classificados, de acordo com sua estrutura, em três grupos: inulinas, levanos e graminanos (Figura 2).

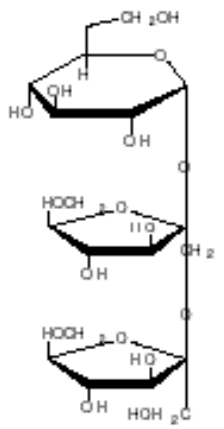
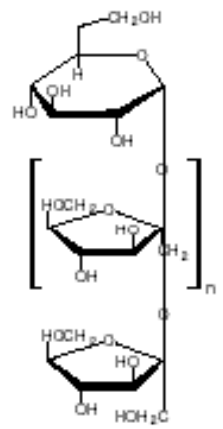
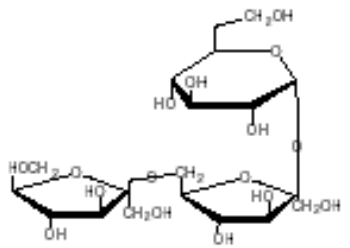
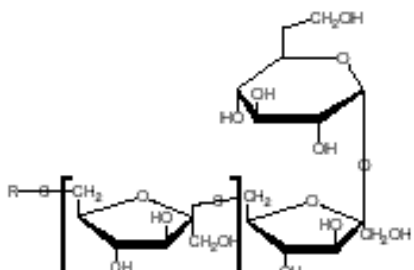
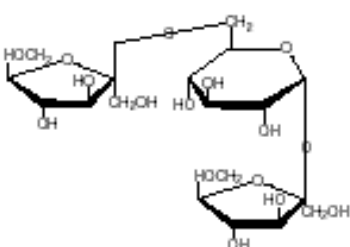
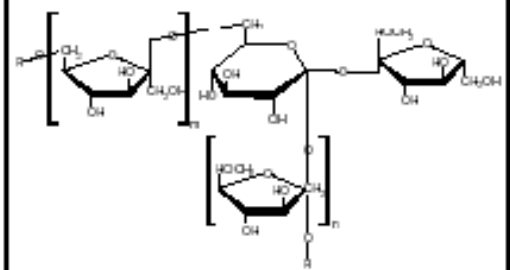
TIPO	SUBSTANCIA BASE DA ELONGAÇÃO	ESTRUTURA
INULINA		
LEVANO		
GRAMINANO		

Figura 2. Estruturas químicas dos frutanos.

Fonte: QUINTEROS (2000).

A inulina é um polímero linear de frutose com ligação (1-2), cuja extremidade da molécula é uma sacarose. A molécula de inulina pode ser representada por uma fórmula simples G-F-(F) n , onde G-F significa um grupo sucrosil e n o número de unidades de frutose presente na molécula (DYSSELER et al., 1994 citados por CAPITO, 2001). O grau de polimerização (GP) da inulina

pode variar de 3 até mais de 60 unidades de monômeros. Os frutooligossacarídeos (FOS) são uma parte da inulina, nos quais o grau de polimerização é menor que 10, cuja fração é também chamada de oligofrutose (CAPITO, 2001).

Segundo um estudo feito por Ohyama et al. (1990), as raízes tuberosas do yacon apresentam um elevado conteúdo de açúcares solúveis (820 ± 30 mg/g de base seca), frutose (589 ± 38 mg/g de base seca) e frutanos de baixo grau de polimerização (GP - 3 a 10), ou seja, os chamados frutooligossacarídeos ou oligofrutose. Foram encontrados baixos teores de inulina com grau de polimerização médio de 14,5 ($13,50 \pm 0,40$ mg/g de matéria seca), enquanto existe uma alta ocorrência de inulina com baixo grau de polimerização.

Goto et al. (1995) demonstraram que os oligossacarídeos presentes no yacon apresentam resíduos de frutose unidos por ligações glicosídicas ($\alpha(2 \rightarrow 1)$) com uma unidade de sacarose terminal e, portanto, são do tipo inulina, carboidrato de reserva que é encontrado principalmente nos seus órgãos subterrâneos (rizóforos e raízes tuberosas). No yacon, como já foi mencionado, os frutooligossacarídeos tem baixo grau de polimerização (GP) entre 3 e 10, sendo o grau de polimerização médio de 4,3 e representam entre 60 e 67% da massa seca na colheita das raízes, enquanto que frutanos com GP maiores que 10 correspondem apenas a traços (ASAMI et al., 1989; OHYAMA et al., 1990; ASAMI et al., 1991; GOTO et al., 1995; MOSCATTO et al., 2004; OLIVEIRA e NISHIMOTO, 2004).

Os principais componentes dos frutooligossacarídeos do yacon são 1-cestose, nistose e 1-frutofuranosilnistose, apresentando-se em maior quantidade no final do outono, podendo totalizar 17,58% da composição do yacon (Figura 3) (YUN, 1996; MOSCATTO et al., 2006).

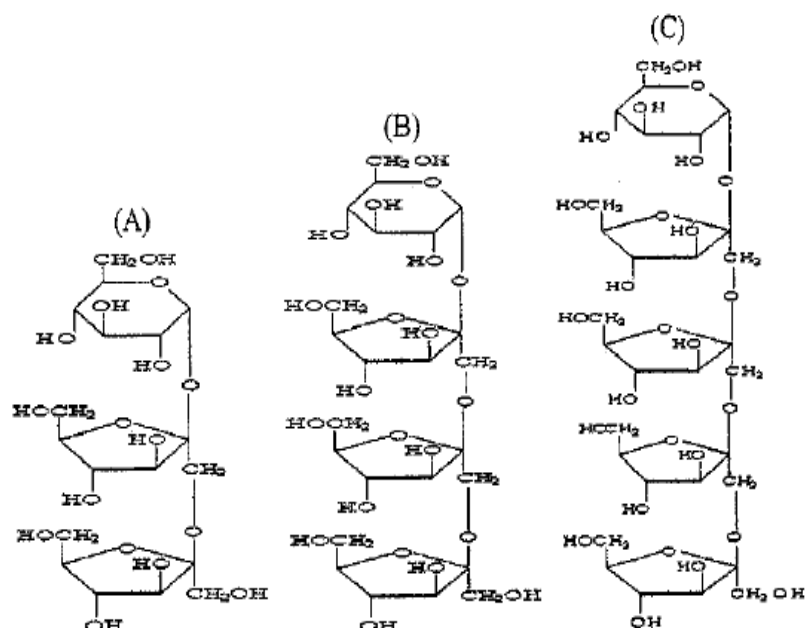


Figura 3. Estrutura química dos principais frutooligossacarídeos do yacon: 1-cestose (A), nistose (B) e frutofuranosilnistose (C).

Fonte: YUN (1996).

A inulina apresenta diversas propriedades físico-químicas que merecem destaque. Trata-se de um oligossacarídeo não redutor e por isso não participa da reação de Maillard. É moderadamente solúvel em água (10% à temperatura ambiente), sendo muito solúvel entre 50 e 60 °C (CÂNDIDO e CAMPOS, 1996).

Os frutooligossacarídeos do yacon apresentam estabilidade térmica superior à da sacarose na faixa de pH da maioria dos alimentos (pH de 4 a 7), em temperaturas de até 140 °C, não sendo, portanto, degradados na maioria dos processos térmicos utilizados pelas indústrias de alimentos (NITSCHKE e UMBELINO, 2002). No entanto, podem sofrer hidrólise em soluções aquosas de pH inferior a 3,5 (QUINTEROS, 2000).

Diversos estudos do comportamento pós-colheita dos carboidratos de reserva nas raízes tuberosas do yacon foram desenvolvidos. Ohyama et al. (1990) verificaram o conteúdo de carboidratos solúveis nos tubérculos de yacon 96 dias após a colheita, sob refrigeração, determinando o conteúdo total de 773 mg/g em

base seca, o equivalente em média a 9,93% do total do peso do yacon. A glicose e a sacarose correspondem a 2,98% do peso total. Eles verificaram apenas 20% de frutooligossacarídeos após esse período, enquanto Asami et al. (1991) relataram 67% de FOS (base seca) em yacon recém-colhido.

Em outro estudo semelhante, Carvalho et al. (2004) observou uma diminuição expressiva no conteúdo de frutanos de 101,3 mg/g na raiz recém-colhida para 84,31 mg/g após o segundo dia de exposição ao sol, estabilizando-se posteriormente a este período. Estes resultados devem-se à degradação enzimática destes compostos, que ocorre mesmo quando a raiz é armazenada a baixas temperaturas. Na Tabela 3 são apresentados alguns valores sobre a presença de carboidratos, notadamente frutooligossacarídeos, obtidos em diferentes condições pós-colheita.

Fukai et al. (1993) constataram que pela ação da frutano hidrolase a concentração dos frutanos do yacon sofre uma queda durante o armazenamento, enquanto a concentração de frutose sobe. Observando ainda os dados de Nieto (1991) na Tabela 3 pode-se verificar um expressivo acréscimo da frutose nas amostras expostas ao sol, com relação às amostras recém-colhidas (mais de 800%), acompanhados por aumentos menores em glicose e sacarose. Wei et al. (1991) também verificaram que durante o armazenamento das raízes tuberosas de yacon os conteúdos de frutose e glicose aumentaram e os dos FOS decresceram.

Os resultados verificados por esses autores em diferentes condições mostram a existência de uma atividade hidrolítica na estocagem do yacon, e que esta aumenta com a temperatura. No caso da alcachofra de Jerusalém, que diferentemente do yacon apresenta maior quantidade de frutooligossacarídeos de alto grau de polimerização, Wei et al. (1991) observaram um aumento dos FOS de baixo GP acompanhados de uma diminuição dos frutanos de alto GP.

Tabela 3. Conteúdo de carboidratos na raiz tuberosa do yacon.

Componentes	Base seca (mg/g)		Base úmida (mg/g)			
	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)
Frutose	305,1	6	24,7	215,3	**	**
Glicose	158,3	31	37,5	133,8	**	**
Sacarose	74,5	51	25,1	39,1	**	**
GF ₂	60,1	110	*	*	**	**
GF ₃	47,7	80	*	*	**	**
GF ₄	33,6	40	*	*	**	**
GF ₅	20,6	*	*	*	**	**
GF ₆	15,8	*	*	*	**	**
GF ₇	12,7	*	*	*	**	**
GF ₈	9,6	*	*	*	**	**
GF ₉	6,6	*	*	*	**	**
Total GF ₂ -GF ₉	206,4	*	*	*	101,3	76,1

NOTA: * não detectado; ** não analisado.

(1) Análise após 96 dias de colheita das raízes, mantidas sob refrigeração (OHYAMA et al., 1990)

(2) Análise de amostras frescas (FUKAI, MIYAZAKI e NANJO, 1993)

(3) Análise de amostras recém-colhidas (NIETO, 1991)

(4) Análise de amostras expostas ao sol por 15 dias (NIETO, 1991)

(5) Análise de amostras recém-colhidas (CARVALHO, 2004)

(6) Análise de amostras expostas ao sol por 8 dias (CARVALHO, 2004)

GF_n - frutooligossacarídeo – 1 glicose e n-frutoses

O processo de degradação dos frutanos ocorre por despolimerização da cadeia, em que, primeiramente, tem-se a ação da enzima frutano hidrolase, que promove o rompimento dos resíduos de frutose da cadeia até a molécula terminal de sacarose. Em seguida, a invertase quebra a molécula de sacarose resultando em frutose e glicose livres (CARVALHO et al., 2004). Por meio deste sistema multienzimático ocorre a síntese e a degradação de todos os tipos de frutooligossacarídeos que existem nas raízes tuberosas de yacon (SEMINARIO e VALDERRAMA, 2003; CARVALHO et al., 2004).

Somando-se a isso, algumas enzimas hidrolíticas, produzidas por microrganismos e plantas, conhecidas como inulinases (endo e exo) são capazes de clivar as ligações $\beta(2\rightarrow1)$ dos frutanos, gerando frutose e glicose (CAPITO, 2001).

O acúmulo de frutanos pode ocorrer em órgãos especializados das plantas como raízes e talos, mas também nas folhas (PREISS e LEV, 1980 citados por QUINTEROS, 2000). Na Tabela 4 são apresentados os valores médios do conteúdo de frutanos e outros carboidratos solúveis em água em diferentes partes do yacon, mostrando que a maior quantidade de frutanos encontra-se nas raízes tuberosas, e posteriormente nos rizomas e nas raízes.

Tabela 4. Concentração média de frutanos e outros carboidratos solúveis em água em diferentes partes da planta do yacon.

Componentes	Folhas	Talo superior	Talo inferior	Rizomas	Raiz tuberosa	Raiz
Peso da amostra fresca (g/planta)	229	33	40	63	186	91
Peso da amostra seca (g/planta)	38	3	4	10	26	10
Frutose ¹	9	24	54	32	31	27
Glicose ¹	4	9	32	29	6	4
Sacarose ¹	19	22	39	33	51	36
GF ₂ ¹	2	9	45	74	110	74
GF ₃ ¹	1	3	29	65	80	79
GF ₄ ¹	1	3	17	47	40	28

NOTA: 1- em base seca (mg/g) GF2 – 1-cestose GF3 – nistose GF4 – frutofuranosilnistose

Fonte: FUKAI et al. (1997).

Entre as plantas andinas, esta é atualmente a mais promissora a atrair a atenção mundial num futuro próximo, devido a sua surpreendente variedade de vantagens e benefícios. Assim como outras espécies do gênero, suas raízes sintetizam inulina ou componentes relacionados à inulina (ZARDINI, 1991). O corpo humano não possui enzimas que hidrolisam esses oligossacarídeos, dessa forma, eles passam através do trato digestivo sem que sejam metabolizados, o que significa que o yacon fornece poucas calorias (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 1989; NINESS, 1999). Portanto, trata-se de um alimento promissor para diabéticos, e pode ser mais produtivo que outros vegetais ricos em frutooligossacarídeos do tipo inulina (chicória e alcachofra, por exemplo), uma vez que tanto as raízes como os rizomas da planta são reservatórios desse carboidrato, ao contrário das outras, das quais, apenas uma das partes das plantas funciona como tal. Esta característica seria importante com relação ao processamento visando obter inulina e/ou derivados (ZARDINI, 1991; QUINTEROS, 2000; GRAU et al., 2001).

Além disso, os oligofrutos não são metabolizados no intestino delgado de mamíferos e aves, em geral. Passam para o intestino grosso, promovem o crescimento de bactérias dos gêneros *Bifidobacterium* as quais, por competição, inibem o crescimento de bactérias putrefativas, proporcionando assim um grande número de efeitos benéficos à saúde, incluindo a redução do risco de câncer de cólon (HERMANN et al., 1997-98; NITSCHKE e UMBELINO, 2002).

2.4.1.3. PROPRIEDADES FUNCIONAIS DOS FRUTANOS DO YACON

Devido às características fermentativas especiais que os oligossacarídeos apresentam ao organismo humano, os alimentos que contêm esses compostos são considerados alimentos funcionais, cuja definição já foi apresentada no item 2.1. Os oligossacarídeos são classificados como prebióticos, porque além de não serem hidrolisados e nem absorvidos na parte superior do trato gastrointestinal, eles promovem de uma forma seletiva o crescimento e/ou estimulam a atividade

metabólica de bactérias benéficas à saúde, sendo o crescimento de bifidobactérias considerado o principal objetivo dos prebióticos (ALÍPIO, 2000).

Estudos recentes têm investigado as propriedades funcionais do yacon, devido também à presença de antioxidantes, como compostos fenólicos (3,8%) e carotenóides, além das substâncias prebióticas, como os frutooligossacarídeos (GOTO et al., 1995).

Os frutanos do yacon são carboidratos resistentes às enzimas hidrolíticas da saliva e do sistema digestório do homem, devido à configuração de suas ligações e outras propriedades físico-químicas, causando, desta forma, efeito similar ao das fibras (ROBERFROID, 1993; ROLAND et al., 1995; CAMPBELL et al., 1997). Eles têm sido relacionados à redução dos níveis de glicose do sangue e considera-se que atuem como prebióticos, por melhorarem o balanço da microbiota intestinal e promoverem o crescimento de microrganismos probióticos (GIBSON e ROBERFROID, 1995).

Em um estudo conduzido por Pedreschi et al. (2003), foram cultivados, sob condições anaeróbicas, para simular o ambiente intestinal, *Lactobacillus plantarum*, *L. acidophilus* e *Bifidobacterium bifidum*, em frutooligossacarídeo comercial (Neosugar®, da Nutraflora) e em extrato de yacon. A fermentação de FOS foi avaliada pela medida do crescimento microbiano (mudanças na densidade óptica), pH ou acidificação do meio e pela determinação da quantidade de FOS consumida. O meio de cultura com ambas as linhagens de *Lactobacillus* e *B. bifidum* mostrou aumento da densidade óptica depois de 24 e 48 horas, respectivamente, indicando crescimento microbiano e sugerindo a utilização dos FOS como fonte de carbono. Em geral, o aumento da densidade óptica para cada tipo de probiótico foi muito similar para ambos os frutooligossacarídeos, tanto comercial como extrato de yacon. A variação de pH observada nos meios também foi similar para ambos. Estes resultados sugerem que os FOS do yacon têm potencial prebiótico e podem ser utilizados pelas espécies de *Bifidobacterium* e *Lactobacillus* probióticos.

Entretanto, além de todos os benefícios atribuídos ao yacon devido a seu potencial prebiótico, muito se tem estudado sobre a importância desse tubérculo

na redução da glicemia e no auxílio à redução da obesidade. Aybar et al. (2001) investigaram o efeito do extrato aquoso das folhas de yacon em ratos normais, transientemente hiperglicêmicos e diabéticos induzidos por estreptozotocina. Os resultados revelaram que uma única administração oral ou intraperitoneal de chá contendo 10% de folhas de yacon, preparado pela decocção do mesmo, causou um decréscimo nos níveis de glicose plasmática nos ratos normais, enquanto que a administração via oral de chá de yacon a 2% não foi eficaz. Entretanto, quando o chá a 2% foi administrado por 30 dias houve uma diminuição significativa da ação hiperglicêmica da estreptozotocina. As manifestações diabéticas em ratos tratados com o chá de yacon foram reduzidas conforme revelaram os parâmetros clínicos. Este efeito foi observado 30 dias depois, possivelmente devido à substância hipoglicêmica requerer um determinado período para atingir a concentração apropriada no organismo dos animais tratados. Estes resultados sugerem que o extrato de yacon produz um aumento na concentração de insulina no plasma.

2.5. METODOLOGIA DE SUPERFÍCIE DE RESPOSTA (M.S.R.)

A metodologia do planejamento fatorial, associada à análise de superfície de resposta (MSR), é uma ferramenta na teoria estatística, que fornece informações seguras sobre o processo, minimizando o empirismo que envolve técnicas de tentativa e erro (BOX et al., 1987 citado por RODRIGUES e IEMMA, 2005).

Embora esta metodologia tenha sido proposta por Box na década de 50, somente nos últimos anos ela tem sido utilizada com mais frequência na área de ciência e tecnologia de alimentos, por ser bastante simples e eficaz (BOX et al., 1987 citado por RODRIGUES e IEMMA, 2005).

A MSR é um método estatístico que se baseia no emprego de planejamentos fatoriais, introduzida na década 50 na área das engenharias, e desde então usada com grande sucesso na modelagem de diversos processos industriais, permitindo que diferentes respostas sejam medidas para um conjunto de condições experimentais e fornecendo um modelo matemático ajustado para

cada resposta (SIVIERI, 2002; BARROS-NETO et al., 2003; VALIM et al., 2003). Ela consiste em um grupo de técnicas usadas no estudo empírico das relações entre uma ou mais respostas e suas variáveis de entrada (BOX et al., 1978 citado por RODRIGUES e IEMMA, 2005).

Uma das diversas vantagens do uso da metodologia de superfície de resposta (MSR) consiste na economia de tempo e de recursos financeiros, proporcionada por um delineamento específico que possibilita a otimização de um processo a partir de um número bastante reduzido de ensaios experimentais (BARROS-NETO et al., 2003).

Um sistema pode ser otimizado com o emprego de várias técnicas, tais como programação linear, programação dinâmica e planejamento estatístico de experimentos. Entre os métodos que utilizam o planejamento ótimo de experimentos, a metodologia de superfície de resposta (MSR) tem sido empregada com sucesso, especialmente nas áreas de Química, Engenharia Química e Tecnologia de Alimentos, particularmente no desenvolvimento de novas formulações (BARROS-NETO et al., 2003). Essa metodologia visa, além de minimizar a relação custo/benefício, encontrar uma região de trabalho mais adequada em relação à concentração dos diferentes constituintes, a fim de se obter produtos com características otimizadas, considerando, inclusive, os efeitos de interações entre os ingredientes. (ROSSI, 1983; SIVIERI, 2002).

Através dessa metodologia várias respostas são medidas para um conjunto de condições experimentais e um modelo pode ser ajustado para cada resposta (ARTEAGA et al., 1994; SILVA et al., 2000).

A MSR é constituída de duas etapas distintas: modelagem e deslocamento. Essas etapas são repetidas tantas vezes quantas forem necessárias, com o objetivo de atingir a região ótima (máxima ou mínima da região investigada). A modelagem normalmente é feita ajustando-se os modelos lineares ou quadráticos a resultados experimentais obtidos a partir de planejamentos fatoriais (BARROS-NETO et al., 1995).

Rossi et al. (1984) utilizaram a MSR no desenvolvimento de um “iogurte” de soja similar aos tradicionais, empregando-se extrato aquoso de soja e soro de leite

como fonte de lactose para o processo fermentativo. Outro estudo, também conduzido por Rossi et al. (1990), empregando a MRS foi relativo a otimização de um sistema estabilizante para o “iogurte” de soja, que permitiu estabelecer modelos matemáticos preditivos para a textura e a aceitabilidade geral do produto.

Catharino e Godoy (2001) utilizaram a metodologia de superfície de resposta para a otimização da determinação de ácido fólico em leites enriquecidos. A metodologia foi aplicada para investigar as alterações na concentração de ácido fólico em leite enriquecido frente a algumas modificações na etapa de extração por eles desenvolvida.

Sivieri (2002) utilizou combinações de dois tipos de miméticos de gordura (polidextrose e concentrado protéico de soro) em iogurtes para a preparação de bebidas lácteas com baixo ou reduzido teor de lipídeos. Para tanto, fez uso da metodologia de superfície de resposta com a finalidade de otimizar o emprego dos substitutos de gordura e chegar a formulações otimizadas.

Barreto et al. (2003) também empregaram a MSR para avaliar o efeito da adição de dois antioxidantes (interação entre ácido fólico e α -tocoferol) na oxidação lipídica de carnes de frango estocadas sob refrigeração por um período de 96 horas a 4 °C sob luz fluorescente. Os resultados obtidos pelos autores indicaram um possível efeito sinérgico positivo entre os componentes.

Da mesma forma que esses estudos mencionados, muitos outros são encontrados na literatura científica, todos demonstrando a eficácia da metodologia de superfície de resposta no sentido de permitir a otimização de processos e produtos de forma rápida e pouco dispendiosa, caracterizando-a como uma ferramenta estatística de grande valia para área de alimentos (CASTRO et al., 2003; LEONHARDT et al., 2004; MOURA, 2004; CASTRO et al., 2005; AFONSO, 2006).

3. Objetivos

3. OBJETIVOS

Este trabalho foi realizado com o objetivo de desenvolver um produto simbiótico, fermentado com o *Enterococcus faecium* CRL 183 e o *Lactobacillus helveticus* ssp *jugurti* 416, empregando simultaneamente os extratos aquosos de soja e de yacon (*Smallanthus sonchifolius*).

3.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Otimizar, pelo emprego da metodologia de superfície de resposta (MSR) o uso de extratos aquosos de soja e de yacon no desenvolvimento do novo produto simbiótico;
- Avaliar características físico-químicas, microbiológicas, reológicas e sensoriais do produto otimizado;
- Validar o produto otimizado comparando os valores preditos pela metodologia de superfície de resposta com os valores obtidos experimentalmente, através da análise sensorial (teste de aceitação);
- Avaliar a qualidade da formulação otimizada sob os pontos de vista físico-químico, sensoriais, reológicos e microbiológicos durante o armazenamento refrigerado a 5 °C.

4. Material e Métodos

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. MATERIAL

Extratos aquosos de soja e de yacon (*Smallanthus sonchifolius*) e cultivos de *Enterococcus faecium* CRL 183 e *Lactobacillus helveticus* ssp *jugurti* 416.

4.2. MÉTODOS

4.2.1. OBTENÇÃO DO EXTRATO AQUOSO DE SOJA

O processamento do extrato aquoso de soja foi realizado na Unidade de Desenvolvimento e Produção de Derivados de Soja – UNISOJA, instalada no Departamento de Alimentos e Nutrição da Faculdade de Ciências Farmacêuticas - UNESP.

Grãos selecionados de soja da variedade Foscarim foram submetidos ao processo de descascamento e imediatamente tratados termicamente a 95 °C durante sete minutos. Em seguida, os grãos cozidos e hidratados, adicionados de antiespumante (Antiespumante® Real Sabores Indústria e Comércio LTDA), foram introduzidos na unidade de extração, sendo triturados e centrifugados. Nessa etapa do processamento, foi feita a adição de água na proporção de 1:6, isto é, seis partes de água para cada parte de extrato de soja, de forma que o produto resultante apresentasse um teor mínimo de 5% de sólidos totais. Finalmente, o produto foi pasteurizado e mantido sob refrigeração (5 °C) até o momento de utilização.

4.2.2. OBTENÇÃO DO EXTRATO AQUOSO DE YACON

Raízes de yacon *in natura*, cultivadas na região ribeirinha da cidade de São Miguel do Iguaçu no estado do Paraná, foram lavadas, descascadas, cortadas em filetes de tamanhos homogêneos e submetidas a uma solução contendo 0,5% de

ácido cítrico e 0,03% de ácido ascórbico, até o momento de serem branqueados, a fim de evitar o escurecimento decorrente da ação das enzimas polifenoloxidase e peroxidase, em presença de oxigênio (CLEMENTE e PASTORE, 1998).

O branqueamento foi realizado em água aquecida, sendo os filetes mantidos em torno de 95 °C, durante 15 minutos. Com esse procedimento as enzimas responsáveis pelo escurecimento da raiz foram inativadas. Para a confirmação dessa inativação, várias amostras retiradas aleatoriamente foram submetidas ao teste da peroxidase, segundo metodologia indicada pelas Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (2005).

Depois de branqueados, os filetes de yacon foram levados a um homogeneizador para serem desintegrados durante um tempo médio de 2 minutos. O homogeneizado obtido foi padronizado adicionando água até que se alcançasse 4 °Brix de sólidos solúveis, através de um refratômetro (QUIMIS, Q-I-107-B), sendo posteriormente resfriado e estocado em temperatura de 5 °C até o momento da sua utilização na formulação do produto a ser desenvolvido (PAULY et al., 2007). Na Figura 4 é apresentado um fluxograma do processamento do extrato de yacon.

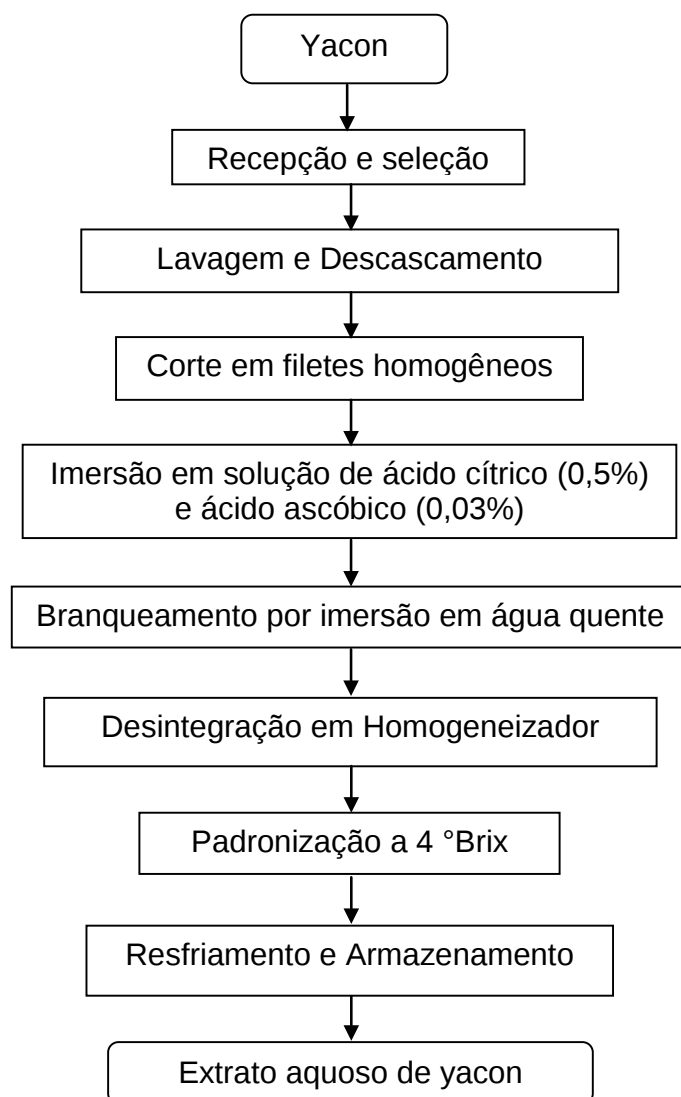


Figura 4. Fluxograma do processo de produção de extrato aquoso de yacon em escala laboratorial.

4.2.3. MANUTENÇÃO DAS CULTURAS LÁTICAS E PREPARAÇÃO DO INÓCULO

Foram utilizadas culturas puras de *Enterococcus faecium* CRL 183 e *Lactobacillus helveticus* ssp *jugurti* 416 procedentes da coleção de culturas do Centro de Referência para Lactobacilos (CERELA) e do Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL), respectivamente.

Essas culturas lácticas foram mantidas congeladas (-80 °C) em um meio composto de leite em pó desnatado, reconstituído a 10% e suplementado com 1% de glicose, 0,5% e extrato de levedura e 5% de glicerol como protetor crioscópico.

Os inóculos foram preparados pela transferência de 10% das culturas de manutenção ativadas para leite em pó desnatado, reconstituído a 10% e esterilizado em autoclave (121 °C/15 min.). Em seguida, foram incubados em estufa bacteriológica a 37 °C por 14 - 16 horas. Foram efetuados no máximo 5 repiques a partir da mesma cultura de manutenção.

As culturas de *E. faecium* CRL 183 e *L. helveticus* ssp *jugurti* 416 foram misturadas apenas no momento da inoculação, na proporção de 1:1. Frequentemente eram realizados exames bacteriológicos para verificar a pureza das culturas lácticas (SILVA et al., 2007).

4.2.4. OBTENÇÃO DO PRODUTO FERMENTADO

O produto fermentado também foi processado na Unidade de Desenvolvimento e Produção de Derivados de Soja - UNISOJA, do Departamento de Alimentos e Nutrição da Faculdade de Ciências Farmacêuticas - UNESP, seguindo as operações indicadas na metodologia descrita por Rossi et al. (1999).

Ao extrato aquoso de soja foram adicionados o extrato aquoso de yacon (nas concentrações previstas no delineamento estatístico), o óleo de soja (0,8%), a lactose (1,0%) e o emulsificante Recodan® (0,14%). A mistura obtida foi homogeneizada em liquidificador industrial na velocidade máxima, durante cinco minutos. Após a homogeneização, esta mistura foi submetida a um aquecimento, sob agitação constante, em bico de bunsen, controlado através de termômetro até atingir 50 °C, quando então foi adicionado o açúcar (6%) e, posteriormente, a 80 °C, o leite em pó desnatado (2,5%) com a finalidade de conferir o grau de doçura desejado e de aumentar o teor de sólidos totais, respectivamente. Nessa temperatura também foi adicionada a gelatina (0,3%).

Por fim, a mistura sofreu novo tratamento térmico, em que a temperatura foi elevada a 95 °C e mantida por cinco minutos para que a pasteurização do meio

fosse realizada, com o intuito de destruir os microrganismos patogênicos que pudessem se desenvolver. Então a mistura foi resfriada em banho de água e gelo até a temperatura de inoculação (37 °C). A inoculação foi efetuada em condições assépticas e sob agitação lenta, de maneira que se incorporasse o mínimo possível de ar. O inóculo bacteriano foi constituído por 1,5% (v/v) de cultivo de *Enterococcus faecium* CRL 183 e 1,5% (v/v) de cultivo de *Lactobacillus helveticus* ssp *jugurti* 416.

A fermentação foi conduzida em temperaturas de 37 °C, até que o pH de 4,4 a 4,5 fosse alcançado. Finalmente, o produto já fermentado foi gradualmente resfriado, evitando-se o choque térmico e a desestabilização do coágulo, sendo primeiramente colocado em banho de água e gelo para então ser acondicionado à temperatura de refrigeração (aproximadamente 5 °C) durante 12 horas (tempo necessário para a estabilização da textura do produto) para realização do rompimento do coágulo, gerando um “iogurte” batido. Um fluxograma que mostra de maneira simplificada o processamento empregado para a obtenção do produto é apresentado na Figura 5.

O extrato aquoso de yacon substituiu parcialmente o extrato de soja em diferentes proporções de acordo com o delineamento estatístico (Metodologia de Superfície de Resposta – MSR) previamente estabelecido (Tabela 5).

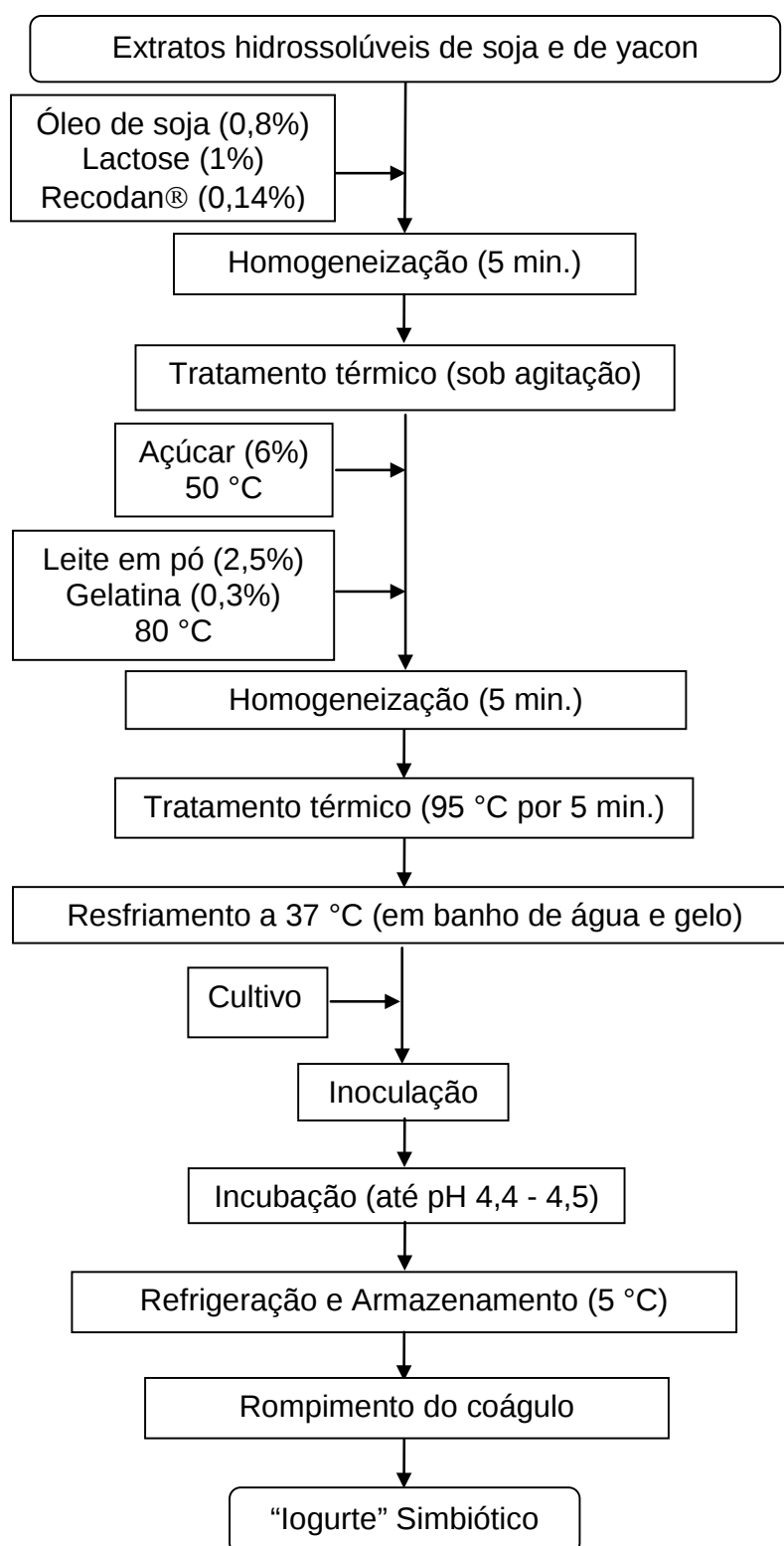


Figura 5. Fluxograma do processamento empregado para a obtenção do produto fermentado.

4.2.5. CONTROLE DA VIABILIDADE CELULAR DOS PRODUTOS FERMENTADOS

A análise da viabilidade dos microrganismos utilizados para o processo fermentativo foi realizada nos produtos finais. Um grama de produto fermentado foi suspenso em 9 mL de solução de água peptonada estéril e, então, as demais diluições seriais foram preparadas.

Para a contagem de bacilos e cocos foram utilizados os meios Lactobacilli MRS Ágar (Difco, França) adicionado de ácido acético estéril até pH 5,4 e M17 Ágar (Difco, França), respectivamente. As placas de MRS foram incubadas em anaerobiose e as de M17 em aerobiose, ambas por 24 - 48 horas a 37 °C (SILVA et al., 2007).

As contagens de células viáveis foram realizadas nos diversos produtos obtidos, como forma de garantir que as formulações estivessem fornecendo de 10^8 a 10^9 UFC/mL de cada uma das bactérias utilizadas no processo, condição necessária para que o produto pudesse ser considerado probiótico (ANVISA, 2008).

4.2.6. METODOLOGIA DE SUPERFÍCIE DE RESPOSTA (M.S.R.)

4.2.6.1. DELINEAMENTO ESTATÍSTICO

Foi empregado um Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR), consistindo de um fatorial de 2^2 , com dois níveis eqüidistantes de variação, codificados em -1 e +1, dois pontos centrais (0) e quatro pontos axiais ($\pm\alpha$, 0); (0, $\pm\alpha$), resultando em 10 experimentos (RODRIGUES e IEMMA, 2005). A codificação das variáveis foi feita com base na equação (1).

$$Xi = \frac{Zi - Z \text{ ponto central}}{\text{Faixa de variação}} \dots\dots\dots(1)$$

Z = valores reais das variáveis independentes.

As variáveis independentes foram representadas pelo teor protéico fornecido pelo extrato de soja (g/L) e pela porcentagem do extrato de yacon na formulação do produto (%), enquanto que as variáveis dependentes (respostas) referiram-se à aceitação dos produtos através do teste de aceitação (atributos “sabor” e “impressão global”).

A região experimental, ou seja, os limites superior e inferior de cada uma das variáveis independentes utilizadas foi determinada por ensaios preliminares com base em dados da literatura (SILVA, 2004; FUCHS et al.; HAULY et al., 2005). As variáveis independentes e os níveis de variação podem ser observados nas Tabelas 5 e 6, onde Z representa as variáveis independentes originais e X as mesmas variáveis codificadas.

O polinômio de segundo grau empregado para o ajuste das variáveis de resposta está representado na equação 2.

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_{12} X_1 X_2 \dots \dots \dots (2)$$

Onde X_1 e X_2 representam o teor protéico fornecido pelo extrato de soja e a porcentagem de extrato de yacon, respectivamente, expressos em forma codificada; β_0 , β_1 , β_2 , β_{11} , β_{22} e β_{12} representam os parâmetros a serem estimados – coeficientes; Y representa as variáveis dependentes (respostas) dos dados experimentais.

Tabela 5. Variáveis independentes e níveis utilizados no estudo do perfil de otimização.

Variáveis	Níveis Codificados				
Originais	-1,414	-1	0	+1	+1,414
Z_1 (g/L)	1,33	1,45	1,74	2,03	2,15
Z_2 (%)	25,86%	30%	40%	50%	54,14%

Z_1 = teor protéico fornecido pelo extrato de soja (g/L); Z_2 = porcentagem do extrato de yacon na formulação do produto (%)

Tabela 6. Delineamento experimental para o preparo dos “iogurtes” de soja com extrato de yacon.

N.º de Ensaio	Variáveis Codificadas		Variáveis Originais		Ingredientes (%)	
	X ₁ (g/L)	X ₂ (%)	Teor protéico do Extrato de Soja (g/L)	Extrato de Yacon (%)	Extrato de soja	Extrato de yacon
1	-1	-1	1,45	30	50	30
2	-1	+1	1,45	50	50	50
3	+1	-1	2,03	30	70	30
4	+1	+1	2,03	50	70	50
5	-1,414	0	1,33	40	45,86	40
6	+1,414	0	2,15	40	74,14	40
7	0	-1,414	1,74	25,86	60	25,86
8	0	+1,414	1,74	54,14	60	54,14
9	0	0	1,74	40	60	40
10	0	0	1,74	40	60	40

O teor protéico médio fornecido pelo extrato de soja foi de 2,0%, determinado previamente.

4.2.6.2. RESPOSTAS

4.2.6.2.1. ANÁLISE SENSORIAL (TESTE DE ACEITAÇÃO – “SABOR” E “IMPRESSÃO GLOBAL”)

As formulações processadas foram avaliadas sensorialmente, através do Teste de Aceitação. Para tanto, foi utilizada a escala hedônica não estruturada de

nove centímetros, ancoradas à esquerda pelo termo “desgostei muitíssimo” e à direita pelo termo “gostei muitíssimo” (ANEXO 1).

Os testes foram realizados primeiramente para verificar quais as formulações foram mais aceitas com relação ao “sabor” e à “impressão global” e, posteriormente, para validação da formulação otimizada e para o estudo da vida de prateleira da mesma. Cinquenta julgadores não treinados (40 do sexo feminino e 10 do sexo masculino), com idade entre 18 e 60 anos, realizaram as análises sensoriais de aceitação das formulações (STONE e SIDEL, 1993). Todos os voluntários foram recrutados na Faculdade de Ciências Farmacêuticas, sendo, portanto, funcionários, professores e alunos de graduação e de pós-graduação, dos quais 88% possuem o hábito de consumir produtos à base de soja (ANEXO 2).

A “impressão global” foi definida como a impressão causada pelo produto como um todo, considerando-se os atributos cor, sabor, aparência, viscosidade, textura, além de outros que o julgador considerasse relevante.

A ficha empregada também apresentou um espaço reservado para eventuais comentários, onde os julgadores puderam expressar, de forma mais detalhada, alguns aspectos considerados importantes.

Os testes foram realizados em cabines individuais providas de abastecimento de água filtrada e cuspidouro, instaladas em laboratório apropriado, com suficiente iluminação natural e artificial, no laboratório de Análise Sensorial do Departamento de Alimentos e Nutrição da Faculdade de Ciências Farmacêuticas – UNESP/Araraquara-SP.

As formulações iniciais foram apresentadas em blocos de três ou quatro amostras, conforme possibilidade de produção, aleatorizadas e de forma monádica, enquanto que para a avaliação da formulação otimizada e do seu estudo de vida de prateleira as amostras foram apresentadas em blocos completos casualizados, de forma monádica.

Todas as formulações foram codificadas com números de três dígitos, ao acaso, e servidas à temperatura de refrigeração, em copos plásticos brancos com capacidade para 50 mL.

Os julgadores foram instruídos a enxaguar a boca com água e, se necessário, mastigar bolachas de água e sal durante a realização do teste, para evitar possível interferência de gosto residual.

4.2.7. CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO PRODUTO OTIMIZADO

4.2.7.1. COMPOSIÇÃO CENTESIMAL

A composição centesimal foi determinada apenas para a formulação otimizada.

4.2.7.1.1. UMIDADE E SÓLIDOS TOTAIS

A estimativa da umidade e dos sólidos totais da formulação otimizada foi realizada a partir da determinação gravimétrica de voláteis a 105 °C em estufa com circulação de ar, até peso constante, em triplicata, segundo metodologia indicada pelas Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (2005).

4.2.7.1.2. CINZAS

O teor de cinzas da formulação otimizada foi determinado gravimetricamente através do resíduo mineral fixo, em mufla a 550 °C, até peso constante, em triplicata, segundo metodologia indicada pelas Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (2005).

4.2.7.1.3. LIPÍDEOS

O teor lipídico da formulação otimizada foi determinado pelo método de Monjonier, em triplicata, segundo metodologia indicada pelas Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (2005).

4.2.7.1.4. TEOR PROTÉICO

O teor protéico da formulação otimizada foi estimado através da determinação do nitrogênio total pelo método de micro-Kjeldhal, em triplicata, e utilizando-se o fator de conversão de 6,25, segundo Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (2005).

O cálculo da porcentagem de proteína foi feito a partir das equações 3 e 4 apresentadas a seguir.

$$\% \text{ Nitrogênio} = \frac{\text{Vol. Titulado} \times N_{\text{HCl}} \times \text{fator} \times 0,014 \times 100}{\text{Peso da amostra}} \dots\dots\dots(3)$$

$$\% \text{ Proteína} = 6,25 \times \% \text{ de Nitrogênio} \dots\dots\dots(4)$$

Os resultados foram expressos em % de proteína.

4.2.7.1.5. CARBOIDRATOS TOTAIS

A fração NIFEXT ou fração livre de nitrogênio representa a concentração de carboidratos totais (incluindo fibra) e foi feita pela subtração de 100 do somatório das porcentagens de umidade, cinzas, lipídeos e proteínas. Dessa forma, os carboidratos totais da formulação otimizada foram estimados por diferença, e foram expressos em % de fração NIFEXT (SIVIERI, 2002; SANTOS et al., 2004; FUCHS et al., 2005).

4.2.7.2. CAPACIDADE DE RETENÇÃO DE ÁGUA

A capacidade de retenção de água foi realizada de acordo com metodologia descrita por Harte et al. (2003), submetendo-se o produto otimizado a uma centrifugação a 4500rpm (15000xG) por 15 minutos a 20 °C. Para o cálculo desse parâmetro foi utilizada a equação 5. A determinação da capacidade de retenção

de água também foi realizada para o “iogurte” de soja e para o iogurte tradicional a título de comparação.

$$\text{CRA (\%)} = [1 - (Y1/Y2)].100 \dots\dots\dots(5)$$

Onde: CRA = capacidade de retenção de água;

Y1 = peso (g) do soro após centrifugação;

Y2 = peso (g) do produto antes da centrifugação.

4.2.7.3. PARÂMETROS REOLÓGICOS

4.2.7.3.1. DETERMINAÇÃO DE VISCOSIDADE

A viscosidade da formulação otimizada foi determinada através de leitura direta em viscosímetro rotacional da marca WAAKE modelo VT 02, utilizando-se alíquotas de 120 mL a 5 °C. Essa determinação foi realizada também ao longo do estudo de vida de prateleira. Os resultados foram expressos em centipoise (cP) (MANZANO, 2007).

4.2.7.3.2. DETERMINAÇÃO DE CONSISTÊNCIA

A consistência da formulação otimizada foi determinada através da distância percorrida em centímetros pela amostra (alíquota de 80 mL), mantida a 5 °C, em um intervalo de tempo de 10 a 30 segundos, utilizando-se um consistômetro de Bostwick, que é um equipamento de baixo custo, simples e de largo emprego no controle rotineiro de qualidade (MANZANO, 2007).

4.2.7.4. TEMPO DE FERMENTAÇÃO E pH

Durante o processo fermentativo, foram realizadas determinações de pH da formulação otimizada, em pHmetro digital Micronal, modelo 320, com eletrodo de

vidro combinado, em intervalos de 1 hora, até atingir o valor 4,4, quando se registrou o tempo de fermentação, segundo Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (2005).

4.2.6.5. DETERMINAÇÃO DE ACIDEZ TITULÁVEL

A acidez titulável foi determinada ao final do processo fermentativo da formulação otimizada e semanalmente durante o estudo de vida de prateleira do mesmo, através de titulação com solução de NaOH 1/9N e solução alcoólica de fenolftaleína a 1% como indicador, em triplicata. Os resultados foram expressos em graus Dornic (°D), de acordo com Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (2005).

4.2.8. VALIDAÇÃO DO MODELO PREDITIVO ESTABELECIDO PELA METODOLOGIA DE SUPERFÍCIE DE RESPOSTA

A formulação otimizada foi avaliada sensorialmente através do Teste de Aceitação, conforme procedimento anteriormente descrito no item 4.2.5.2.1., juntamente com a atitude de compra do consumidor, com a finalidade de validar experimentalmente os valores calculados através da Metodologia de Superfície de Resposta.

Posteriormente verificou-se a aceitabilidade do novo produto ao longo do estudo de vida de prateleira.

4.2.9. ESTIMATIVA DA VIDA DE PRATELEIRA

A estimativa da vida de prateleira foi realizada submetendo-se a formulação otimizada à análise sensorial (teste de aceitação), à análise de acidez titulável, à viabilidade dos microrganismos probióticos utilizados na fermentação do produto e às determinações de consistência e viscosidade, seguindo metodologias descritas anteriormente neste capítulo.

O produto otimizado também foi submetido ao controle microbiológico, através da pesquisa de coliformes totais e fecais e contagem de bolores e leveduras. A pesquisa de coliformes foi realizada utilizando-se a técnica do número mais provável (NMP), em que tubos contendo Caldo Lauril Sulfato Triptose (LST) foram incubados a 37 °C e analisados depois de 24 e 48 horas, para verificar existência ou não de formação de gás e/ou turvação. A contagem de bolores e leveduras foi realizada através do meio de cultura Ágar Batata Dextrose (PDA) acidificado com solução de ácido tartárico estéril, incubado a 25°C por quatro dias (SILVA et al., 2007).

Todas essas análises foram realizadas ao início e aos 7, 14 e 21 dias de armazenamento refrigerado a 5 °C.

5. Resultados e Discussão

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. OBTENÇÃO DO PRODUTO

O emprego da metodologia descrita por Rossi et al. (1999), utilizada na manufatura de “iogurte” de soja, foi adequado para a obtenção dos produtos à base de extratos aquosos de soja e yacon.

A etapa de branqueamento empregada no yacon *in natura* garantiu a inativação das enzimas polifenoloxidase e peroxidase, evitando, desse modo, o escurecimento do extrato aquoso durante o seu processamento, permitindo uma coloração muito semelhante à do extrato de soja.

O extrato aquoso de yacon obtido foi acrescido de água até que se alcançasse um valor de sólidos solúveis de 4 °Brix. Esse procedimento foi efetuado para que o extrato se apresentasse mais fluido, propiciando sua utilização nas novas formulações sem influir nas características físicas dos produtos finais.

A presença do extrato aquoso de yacon e a diminuição da quantidade de extrato hidrossolúvel de soja, com relação à formulação original, não interferiram no processo de fermentação, pois, após um período de incubação de aproximadamente 5 horas, tanto as 10 formulações desenvolvidas quanto o produto otimizado, apresentaram uma produção de ácido, como descrito na literatura (ROSSI, 1983; ROSSI et al., 1999), atingindo pH em torno de 4,5, mostrando ser tecnologicamente viável a obtenção desse novo produto simbiótico.

Os produtos apresentaram-se em condições adequadas até o momento do consumo pelos julgadores (24 horas após o processamento), tanto em relação à textura quanto ao corpo.

5.2. VIABILIDADE DOS MICRORGANISMOS NOS PRODUTOS ACABADOS

Os resultados de viabilidade dos microrganismos (cocos e bacilos) nos produtos acabados ("iogurtes" à base de extratos de soja e de yacon) estão apresentados na Tabela 7.

Tabela 7. Viabilidade dos microrganismos utilizados na fermentação dos produtos à base de soja e de yacon ao final do processamento.

Formulações	Bacilos (UFC/mL)	Cocos (UFC/mL)
1	$5,6 \times 10^8$	$4,8 \times 10^8$
2	$5,8 \times 10^8$	$7,6 \times 10^8$
3	$5,3 \times 10^8$	$7,3 \times 10^8$
4	$9,2 \times 10^8$	$5,1 \times 10^8$
5	$7,9 \times 10^8$	$6,3 \times 10^8$
6	$6,2 \times 10^8$	$5,5 \times 10^8$
7	$8,1 \times 10^8$	$6,2 \times 10^8$
8	$5,9 \times 10^8$	$5,0 \times 10^8$
9	$6,9 \times 10^8$	$5,2 \times 10^8$
10	$7,7 \times 10^8$	$6,1 \times 10^8$

Observa-se que em todas as 10 formulações foram obtidas contagens da ordem de 10^8 UFC/mL, tanto de cocos quanto de bacilos, número adequado para que os mesmos possam ser considerados probióticos (LEE e SALMINEN, 1995; NINESS, 1999; ROBERFROID, 1999; ANVISA, 2008).

Cabe destacar que o produto em estudo foi fermentado por um inóculo misto, constituído por *Enterococcus faecium* CRL 183 e *Lactobacillus helveticus* ssp *jugurti* 416, sendo este último apenas recentemente considerado como microrganismo potencialmente probiótico (REDONDO, 2008).

A existência de bactérias lácticas viáveis em leite fermentados, tais como iogurtes e bebidas lácteas, tem efeito benéfico na saúde do hospedeiro.

Entretanto, os efeitos só são exercidos se elas atingirem, no produto de 10^8 a 10^9 UFC/mL (ANVISA 2008).

Os valores encontrados para a contagem dos microrganismos probióticos utilizados nas 10 formulações também estão de acordo com padrão estabelecido pelo Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade das Bebidas Lácteas (BRASIL, 2005).

A sobrevivência das bactérias probióticas em produtos lácteos fermentados depende de vários fatores, tais como linhagem utilizada, interação entre as espécies presentes, condições da cultura, composição química do meio (fonte de carboidratos), acidez final, conteúdo de sólidos, disponibilidade de nutrientes, concentração de açúcar, conteúdo de oxigênio dissolvido, quantidade inoculada, temperatura e tempo de estocagem (KALAIAPATHY e RYBKA, 1997; HATTING e VILJOEN, 2001; SHAH, 2001).

5.3. ANÁLISE DAS RESPOSTAS OBSERVADAS

5.3.1. ANÁLISE SENSORIAL

As médias dos resultados experimentais para os atributos “sabor” e “impressão global”, de cada um dos 10 ensaios previstos no delineamento estatístico, estão apresentadas na Tabela 8 e na Figura 6, a qual permite uma melhor visualização dos resultados obtidos.

Tabela 8. Médias dos resultados experimentais de aceitação (“sabor” e “impressão global”) das 10 formulações de “iogurte” de soja com extrato de yacon, segundo delineamento fatorial 2^2 .

Variáveis Independentes Codificadas			Variáveis Independentes Originais		Respostas (Teste de Aceitação)	
Ensaio	X ₁	X ₂	Z ₁ (g/L)	Z ₂ (%)	Sabor	Impressão Global
1	-1	-1	1,45	30	5,05	5,44
2	-1	1	1,45	50	5,26	5,32
3	1	-1	2,03	30	5,40	5,6
4	1	1	2,03	50	4,51	4,76
5	-1,414	0	1,33	40	4,54	4,24
6	1,414	0	2,15	40	4,34	4,10
7	0	-1,414	1,74	25,86	5,91	6,00
8	0	1,414	1,74	54,14	4,97	4,87
9	0	0	1,74	40	5,34	5,42
10	0	0	1,74	40	5,94	5,87

Z₁ = teor protéico fornecido pelo extrato de soja (g/L); Z₂ = porcentagem do extrato de yacon na formulação do produto (%)

Nota-se que as formulações 7 e 10 foram as que apresentaram os melhores valores para aceitação (“sabor” e “impressão global”), ambas apresentando as mesmas concentrações de extrato de soja, no entanto a formulação 7 fornece uma porcentagem de extrato de yacon diferente da apresentada pela formulação 10. Tal fato demonstra que o extrato de yacon quando presente na formulação em porcentagens de 25,86 a 40% não exerce grande influência nos atributos sensoriais a ponto de ser percebido pelos julgadores.

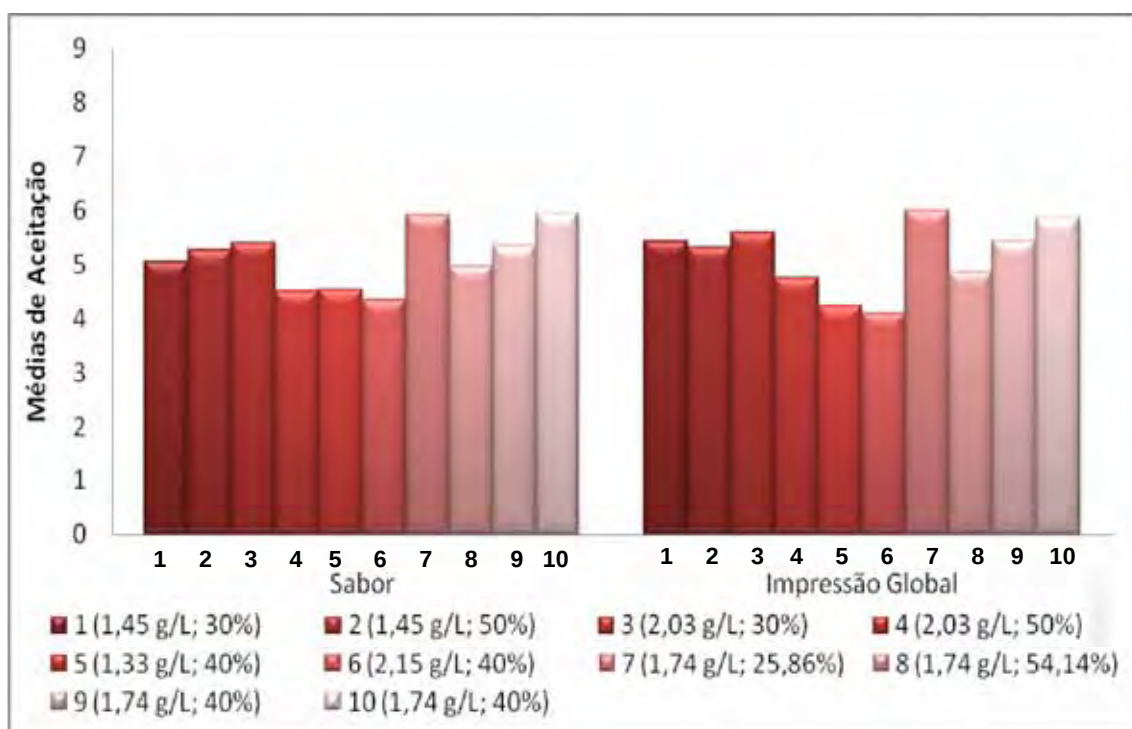


Figura 6. Representação gráfica dos resultados de aceitação (“sabor” e “impressão global” - valores absolutos) dos produtos.

n=50 julgadores (escala de 0 a 9 correspondendo de desgostei muitíssimo a gostei muitíssimo).

Alguns julgadores relataram terem sentido nos produtos, a presença de partículas desagradáveis ao paladar, provavelmente advindas do extrato de yacon, o que pode ter contribuído para as médias de aceitação terem sido, em geral, mais baixas quando comparadas com produtos similares formulados exclusivamente com extrato aquoso de soja (ROSSI et al., 1984).

Na busca por um modelo que se ajustasse adequadamente aos dados, foram realizadas as análises de variância (ANOVA), a partir dos dados experimentais obtidos. A estimativa do coeficiente de regressão da variável dependente “sabor”, como também o valor de “p” estão apresentados na Tabela 9. O termo quadrático da variável “extrato de yacon” (X_2) foi retirado das equações por ter sido o menos significativo.

Tabela 9. Estimativa dos coeficientes de regressão do modelo matemático e valor de “p” para o atributo “sabor”.

Fatores	Coeficientes	Erro Padrão	t (4)	p
Intercepto β_0	5,639965*	0,180619*	31,22569*	0,000000*
(1) X_1 (L)	-0,085363	0,090317	-0,94515	0,398098
X_1 (Q)	-0,571352*	0,119492*	-4,78152*	0,008766*
(2) X_2 (L)	-0,251183*	0,090317*	-2,78114*	0,04976*
1L x 2L	-0,275000	0,127717	-2,15319	0,097631

* Significativo para $p < 0,05$;
 Coeficiente de determinação (R^2) = 0,9063;
 Falta de ajuste (p) = 0,9183.

Com base nesses resultados foi possível estabelecer a equação 6, ajustada para o atributo sensorial “sabor”.

$$Y_1 = 5,6400 - 0,0854 x_1 - 0,2512 x_2 - 0,5714 x_1^2 - 0,2750x_1x_2$$

.....(6)

O valor do coeficiente total de determinação (R^2), observado para o atributo “sabor” foi de 91% e a falta de ajuste não foi significativa ao nível de 92% o que sugere um bom ajuste do modelo para a resposta em questão.

A região de combinação binária entre as variáveis “teor protéico do extrato de soja (g/L)”, X_1 , e “extrato de yacon (%)”, X_2 , pode ser observada por meio da superfície de resposta e das curvas de contorno apresentadas nas Figuras 7 e 8 para a variável dependente “sabor”. Nota-se que tanto a variável “teor protéico do extrato de soja” quanto a “extrato de yacon” encontram-se dentro da região experimental estabelecida, mais precisamente entre 1,62 e 2,03 g/L para o “teor protéico do extrato de soja (g/L)” e entre 25,86 e 40% para “extrato de yacon”, indicando que esta variável deve ser empregada em proporções próximas as mais baixas dentre as utilizadas nesse estudo, ao contrário “teor protéico do extrato de

soja”, que pode chegar próxima dos limites superiores avaliados. Essas observações podem ser comprovadas pela Figura 9, onde é apresentada a otimização através do software Statistica (2006).

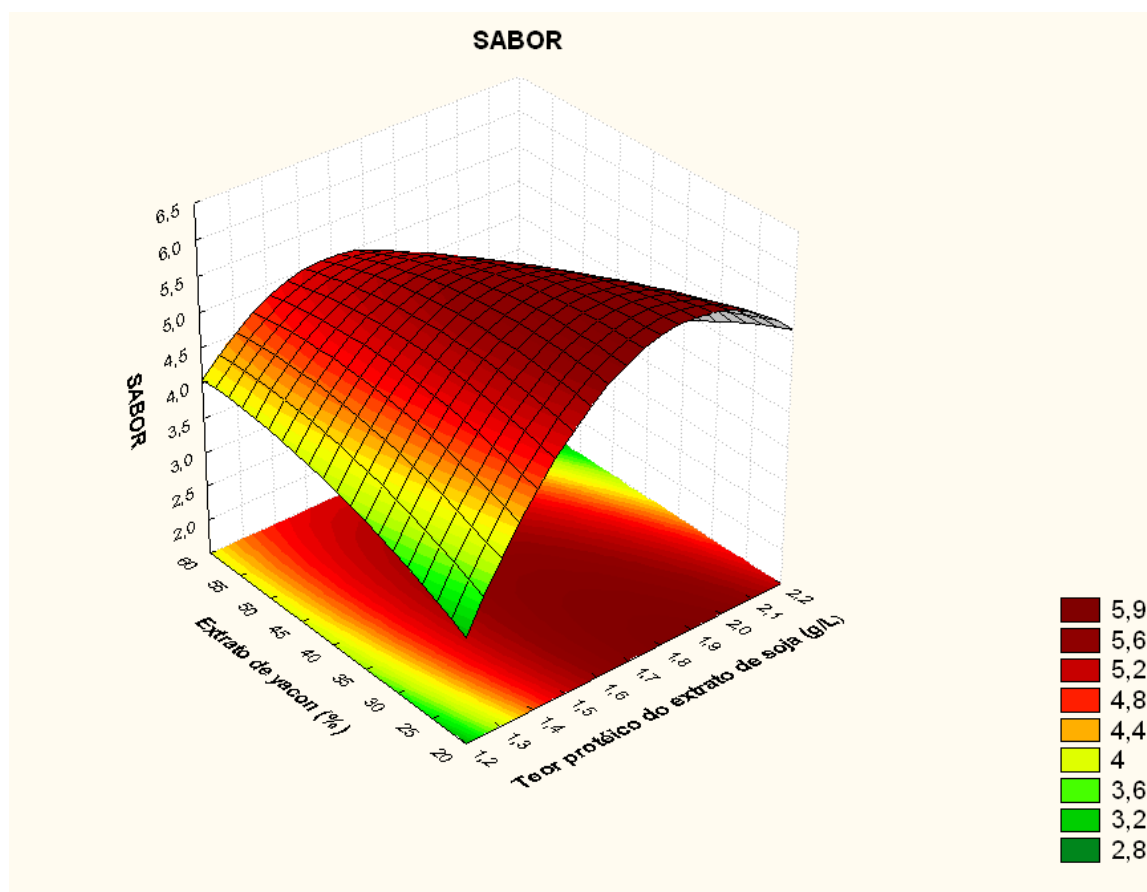


Figura 7. Superfície de Resposta para o atributo “sabor”.

Com base nas Figuras 7 e 8 observa-se que a região ótima para o atributo “sabor” encontra-se situada próxima ao ponto central, entre 1,68 e 1,91 g/L, para a variável “teor protéico do extrato de soja” e entre 25,86 e 32% para a variável “extrato de yacon”, demonstrando, mais uma vez, que este deve ser utilizado na menor porcentagem possível.

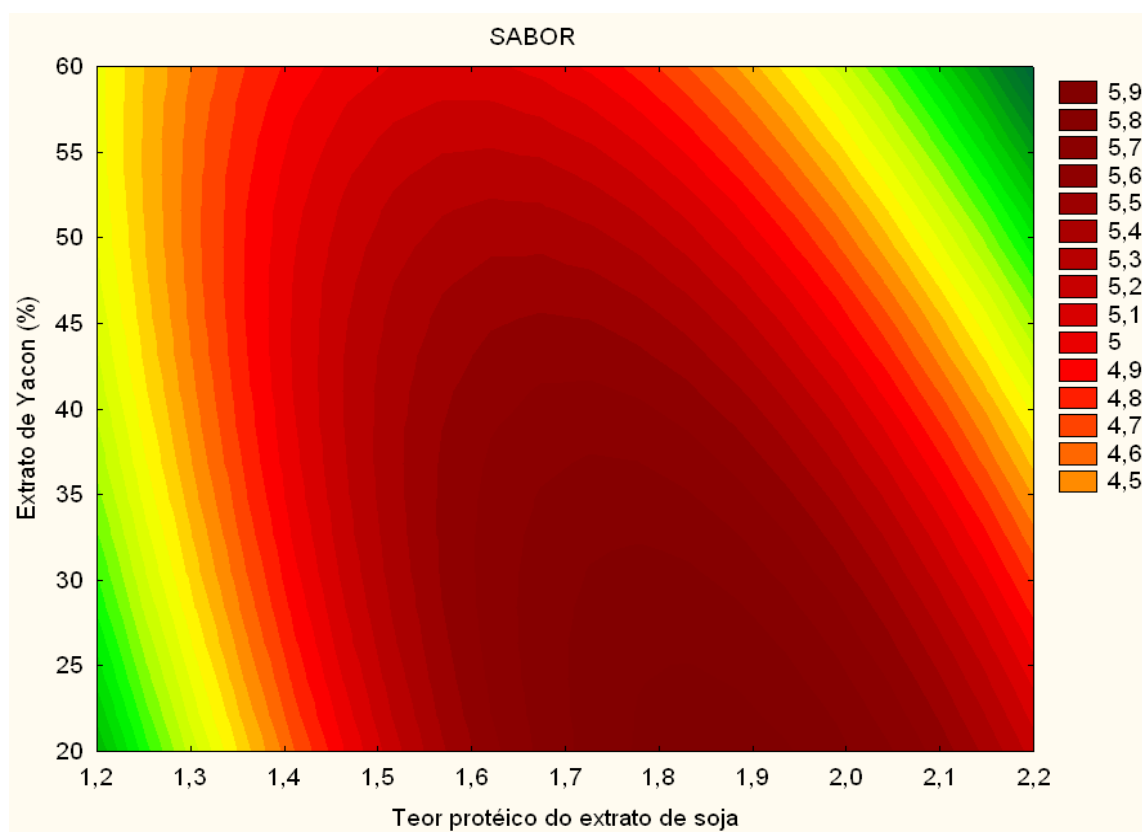


Figura 8. Curvas de contorno para a resposta “sabor”.

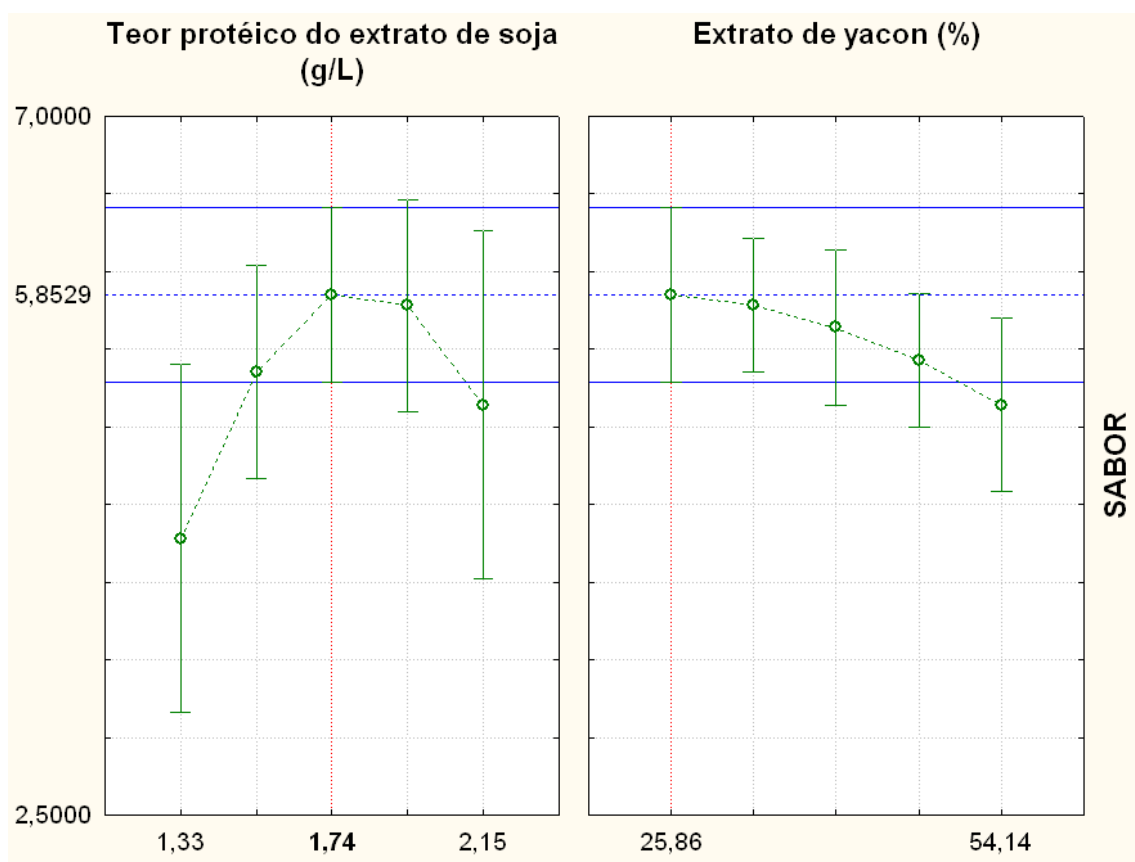


Figura 9. Otimização da resposta “sabor” utilizando o software Statistica (2006).

É possível observar na Figura 9 exatamente os pontos 1,74 g/L para a variável “teor protéico o extrato de soja” e 25,86% para a variável “extrato de yacon” como ótimos e fornecendo como resposta estimada o valor aproximado de 5,85 para o atributo “sabor”.

Analisando-se conjuntamente as Figuras 7, 8 e 9 percebe-se que a variável mais importante, para a resposta “sabor”, foi o “teor protéico do extrato de soja”, pois pequenas variações na sua concentração proporcionaram uma maior aceitação para o atributo em questão, enquanto que o aumento na porcentagem de “extrato de yacon” influenciou negativamente esta resposta.

Resultado de aceitação semelhante foi encontrado por Rossi et al. (1999) ao desenvolverem um novo produto fermentado a base de extrato hidrossolúvel de soja, com propriedades probióticas devido à utilização das culturas *Enterococcus*

faecium CRL 183 e *Lactobacillus helveticus* ssp *jugurti* 416, cujo valor médio para o atributo sabor foi de 5,90.

Em outro estudo Umbelino et al. (2001) verificaram para o “iogurte” de soja, fermentado com inóculo misto comercial de *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus*, valor médio de 6,04 para o atributo sabor, sendo que desta vez o produto foi enriquecido com diversas fontes de cálcio ou ferro. Os resultados mostraram que, exceto para o “iogurte” enriquecido com $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, todos os produtos apresentaram-se com valores significativamente iguais ($p < 0,05$) ao do controle (“iogurte” de soja sem adição de cálcio e/ou ferro).

Comparando os resultados do presente estudo com os obtidos por Rossi et al. (1999) e por Umbelino et al. (2001), pode-se observar que o novo produto fermentado apresentou médias, para o atributo sabor, muito semelhantes ao “iogurte” de soja avaliado por esses autores, indicando que a utilização simultânea do extrato aquoso de yacon na formulação não comprometeu as características sensoriais esperadas.

A estimativa do coeficiente de regressão da variável dependente “impressão global”, como também o valor de “p” estão apresentados na Tabela 10. O termo quadrático da variável “extrato de yacon” (X_2) foi retirado das equações por ter sido o menos significativo.

Tabela 10. Estimativa dos coeficientes de regressão do modelo matemático e valor de “p” para o atributo “impressão global”.

Fatores	Coeficientes	Erro Padrão	t (4)	p
Intercepto β_0	5,644856*	0,276955*	20,38188*	0,000034*
(1) X_1 (L)	-0,074756	0,138488	-0,53980	0,617980
X_1 (Q)	-0,618176*	0,183224*	-3,37388*	0,027943*
(2) X_2 (L)	-0,319776	0,138488	-2,30905	0,082118
1L x 2L	-0,18000	0,195836	-0,91913	0,410036

* Significativo para $p < 0,05$

Coeficiente de determinação (R^2) = 0,8381

Falta de ajuste (p) = 0,5026

Também a partir dessa análise de variância foi possível estabelecer a equação 7, ajustada para a “impressão global”.

$$Y_2 = 5,6449 - 0,0748 x_1 - 0,3198 x_2 - 0,6182 x_1^2 - 0,1800 x_1 x_2$$

.....(7)

O valor do coeficiente total de determinação (R^2), observado para a resposta “impressão global” foi de 84% e a falta de ajuste também não foi significativa ao nível de 51%, sugerindo, mais uma vez, um bom ajustamento do modelo para a resposta estudada.

A região de combinação binária entre as variáveis “teor protéico do extrato de soja” e “extrato de yacon” pode ser observada por meio da superfície de resposta e das curvas de contorno apresentadas nas Figuras 10 e 11 para a variável dependente “impressão global”.

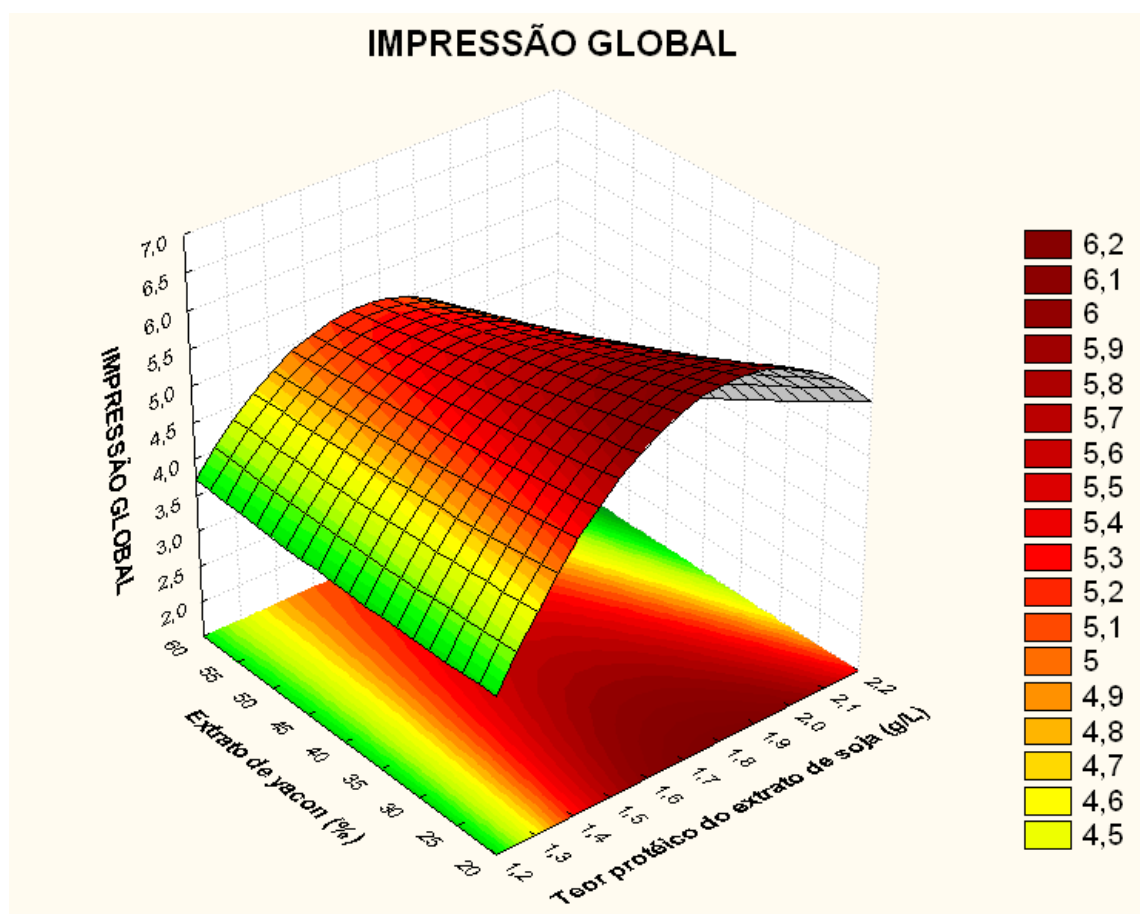


Figura 10. Superfície de Resposta para o atributo “impressão global”.

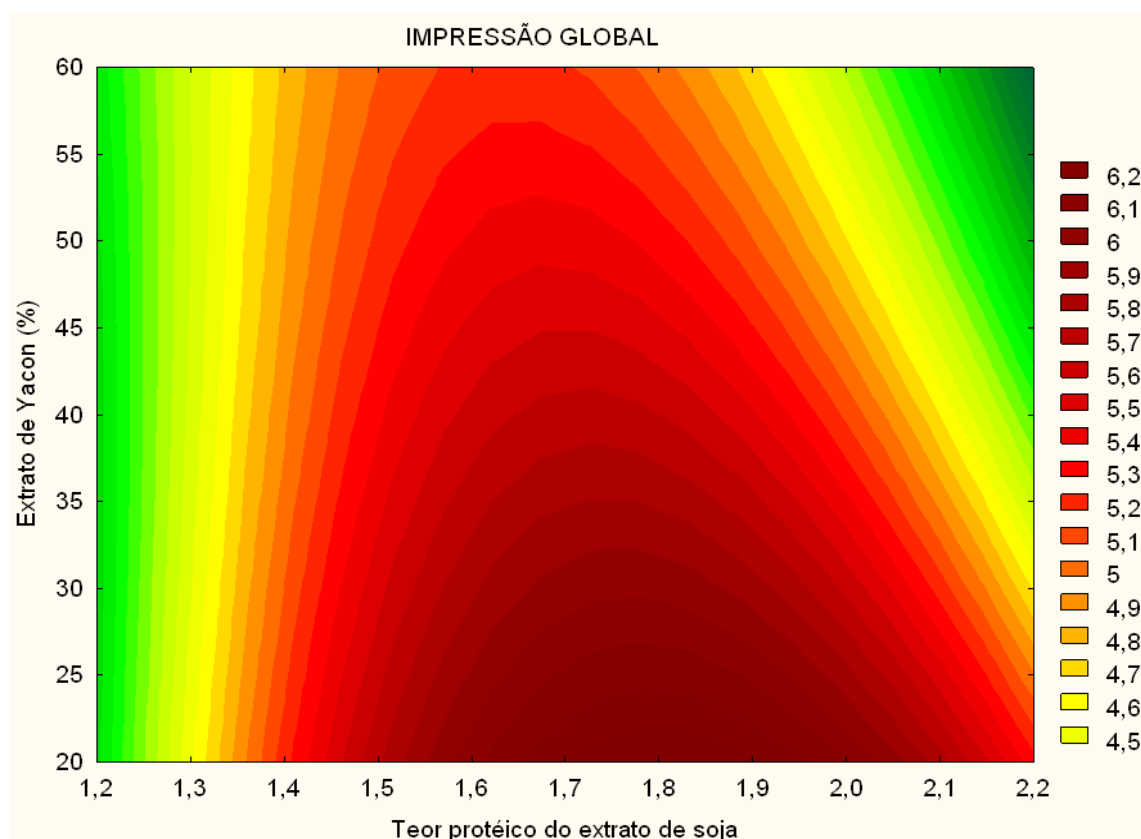


Figura 11. Curvas de contorno para a resposta “impressão global”.

Observa-se que a região ótima para o atributo “impressão global” encontra-se situada próxima ao ponto central, entre 1,65 e 1,95 g/L, para a variável “teor protéico do extrato de soja” e entre 25,86 e 30% para a variável “extrato de yacon”, demonstrando, mais uma vez, que o extrato de yacon deve ser utilizado na menor porcentagem possível.

A otimização através do software Statistica (2006), indicando exatamente os pontos 1,74 g/L, para a variável “teor protéico do extrato de soja”, e 25,86%, para a variável “extrato de yacon”, como ótimos e fornecendo como resposta estimada o valor aproximado de 6,1 para “impressão global” pode ser visualizado pela Figura 12.

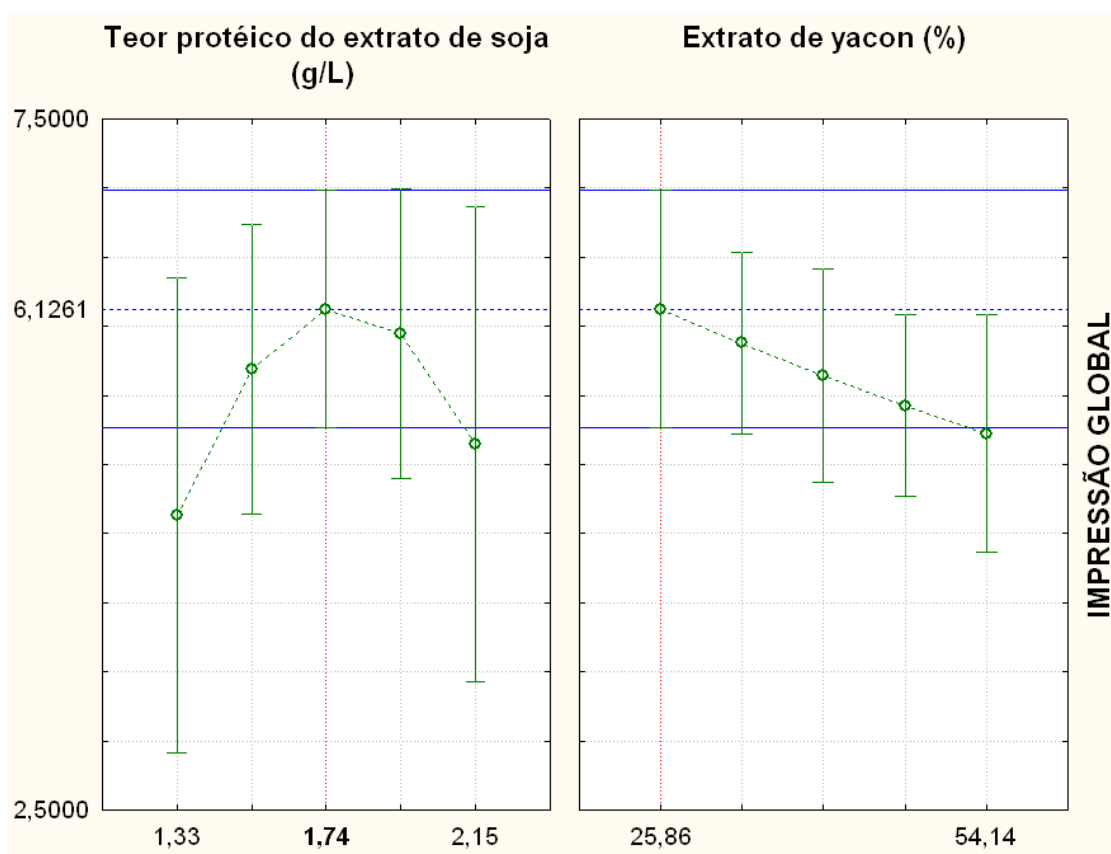


Figura 12. Otimização da resposta “impressão global” utilizando o software Statistica (2006).

Da mesma forma do observado para o atributo “sabor”, as Figuras 10, 11 e 12 indicam que, ao contrário da variável “extrato de yacon”, os maiores níveis da variável “teor protéico do extrato de soja” proporcionam uma maior aceitação para o atributo “impressão global”.

De acordo com as estimativas dos coeficientes de regressão apresentadas nas Tabelas 9 e 10 as respostas sensoriais, tanto para o “sabor” quanto para a “impressão global”, foram influenciadas pelo efeito quadrático da variável “teor protéico do extrato de soja” e pelo efeito linear da variável “extrato de yacon”, com o intercepto significativo, o que demonstra que o ponto central foi escolhido adequadamente.

Ainda com base nas Tabelas 9 e 10 as respostas sensoriais (“sabor” e “impressão global”) apresentaram coeficiente de determinação ajustado, maior

que 0,83 para o atributo “impressão global”, indicando que mais de 83% das variações totais em torno das médias desse atributo foram explicadas pela regressão; e maior que 0,90 para o atributo “sabor”, o que significa que mais de 90% das variações totais em torno das médias desse atributo também foram explicadas pela regressão. Estes valores de coeficiente de determinação indicam que os modelos ajustaram-se bem à resposta “análise sensorial” para ambos os atributos.

A impressão global do novo produto fermentado apresentou resultados semelhantes aos verificados para o atributo sabor, seguindo a mesma tendência de notas, demonstrando que a aceitabilidade das formulações está muito relacionada ao sabor do produto.

O valor médio de “impressão global” para o produto otimizado foi semelhante aos resultados obtidos por Umbelino et al. (2001) e por Scutti (1998) para o “iogurte” de soja, cujos valores médios foram de 6,25 e 5,25, respectivamente. O resultado foi também compatível com produtos que empregaram extratos de milho verde e mandioca juntamente com o de soja, cujas médias variaram de 4,9 a 6,54 (SCUTTI, 1998), evidenciando que o extrato aquoso de yacon não exerce grandes influências no parâmetro sensorial em questão.

5.3.2. OTIMIZAÇÃO CONJUNTA DAS VARIÁVEIS DEPENDENTES “SABOR” E “IMPRESSÃO GLOBAL”.

Os resultados da otimização conjunta das variáveis dependentes “sabor” e “impressão global” estão apresentados na Figura 13.

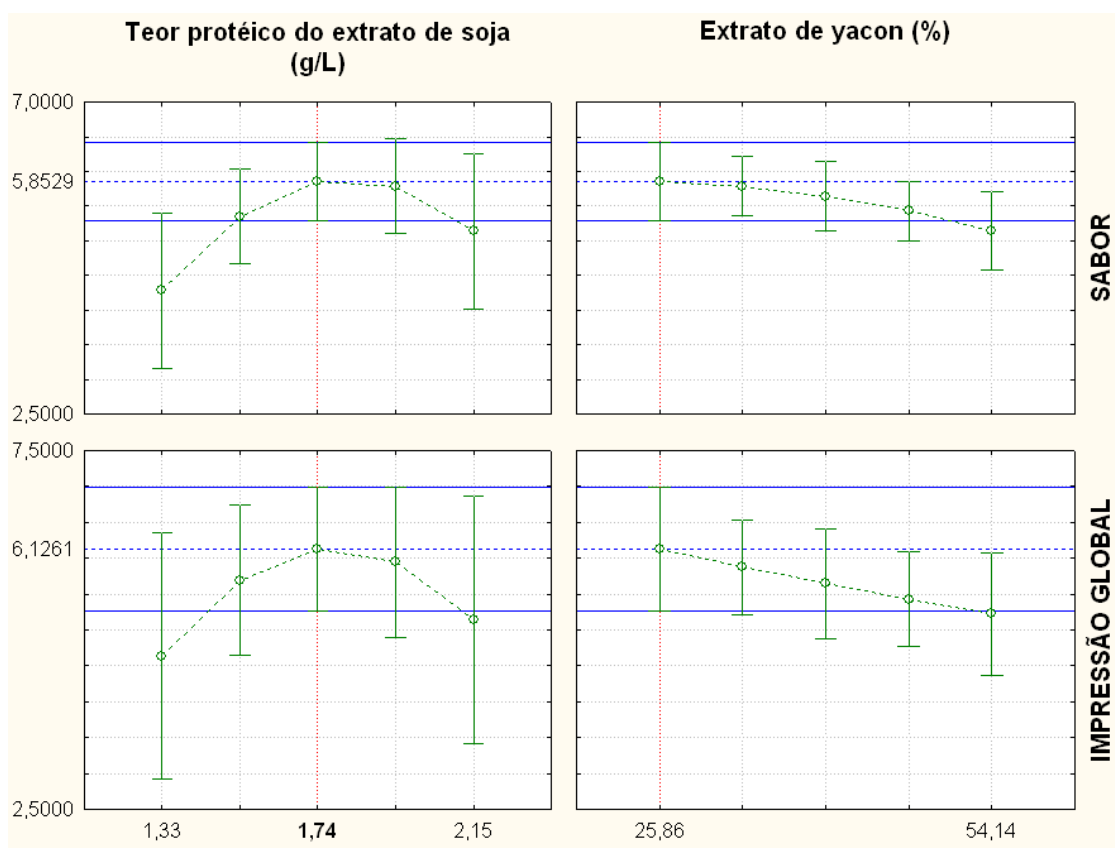


Figura 13. Otimização conjunta das respostas “sabor” e “impressão global” utilizando o software Statistica (2006).

É possível observar na Figura 13 a indicação dos pontos 1,74 g/L, para a variável “teor protéico do extrato de soja”, e 25,86%, para a variável “extrato de yacon”, como valores ótimos, fornecendo como resposta estimada o valor aproximado de 5,8 e 6,1 para “sabor” e “impressão global” respectivamente. Tais resultados mostram que tanto a otimização individual quanto a otimização conjunta foram coincidentes, o que confirma o bom ajustamento do modelo matemático para o desenvolvimento do novo produto fermentado em relação aos parâmetros sensoriais.

A otimização conjunta das variáveis dependentes, “sabor” e “impressão global”, ambas maximizadas, apresentou como ótima a formulação contendo 1,74 g/L de teor protéico fornecido pelo extrato hidrossolúvel de soja e 25,86% de extrato aquoso de yacon, como forma de se obter os melhores valores para os

parâmetros sensoriais estudados. Essa formulação apontada na otimização corresponde exatamente ao experimento 7 do delineamento experimental.

Apesar de a otimização ter demonstrado que a formulação 7 foi a que apresentou os melhores resultados sensoriais para o novo produto fermentado simbiótico, é relevante ressaltar que as formulações 9 e 10, contendo ambas a mesma quantidade de teor protéico fornecido pelo extrato hidrossolúvel de soja da formulação 7 (1,74 g/L), mas com uma proporção de extrato aquoso de yacon maior (40%), apresentaram valores de aceitação sensorial que não diferiram estatisticamente aos da formulação 7 (Tabela 11), contrariando a indicação fornecida pela MSR de que o extrato de yacon deveria ser utilizado em concentrações próximas ao limite inferior da região experimental. Provavelmente, tal fato pode ser encarado como indicador de que a variável “teor protéico do extrato de soja” tenha uma influência maior na aceitação do produto do que a variável “extrato de yacon”.

5.4. CARACTERIZAÇÃO E VALIDAÇÃO DO PRODUTO OTIMIZADO

É difícil padronizar a qualidade do iogurte devido às diversas formas, variedades, métodos de fabricação, ingredientes e preferência do consumidor (PENNA et al., 1997). A avaliação da qualidade do iogurte pode ser feita através de algumas análises laboratoriais, tais como: avaliações sensoriais, acidez titulável, medida do valor de pH e tempo de fermentação, parâmetros reológicos, análise de composição centesimal e estimativa da vida de prateleira (KROGER, 1976 citado por PENNA et al., 1997). Portanto, foi com base nessas medidas que o produto otimizado foi validado e caracterizado no presente estudo.

5.4.1. ANÁLISE SENSORIAL

O experimento 7, apontado pela metodologia de superfície de resposta como sendo a formulação otimizada pelo modelo matemático, foi submetido novamente à análise sensorial, com a finalidade de validar o modelo, comparando-

se os resultados experimentais aos valores estimados. O mesmo procedimento foi realizado com os ensaios 9 e 10, devido ao fato de terem apresentado resultados de aceitação semelhantes ao do experimento 7, além de fornecerem o mesmo teor protéico do extrato de soja com quase o dobro da porcentagem de extrato de yacon (40%).

Esses resultados foram comparados também com uma formulação sem extrato de yacon, considerada, portanto, como sendo uma formulação padrão de “iogurte” de soja, segundo metodologia descrita por Rossi et al. (1999).

Os resultados da validação dos experimentos 7, 9 e 10, bem como os resultados referentes ao “iogurte” de soja e os obtidos no início do estudo estão apresentados na Tabela 11.

Tabela 11. Médias¹ de aceitação dos experimentos 7, 9, 10 (iniciais e da validação) e do “iogurte” de soja.

Produtos	Médias de Aceitação		Médias de Aceitação da	
	Iniciais		Validação	
	Sabor	Impressão Global	Sabor	Impressão Global
Formulação 7	5,91 ^a	6,00 ^a	5,91 ^a	6,14 ^a
Formulação 9	5,34 ^a	5,42 ^a	5,47 ^a	5,43 ^a
Formulação 10	5,94 ^a	5,87 ^a	5,43 ^a	5,37 ^a
“iogurte” de Soja ²	-	-	5,22 ^a	5,73 ^a

¹ Médias com letras em comum na mesma linha e na mesma coluna não diferem entre si ($p < 0,05$), $n=50$ julgadores, escala de 0-9 correspondendo de desgostei muitíssimo a gostei muitíssimo.

² Análise realizada apenas no momento da validação.

Pode-se observar pela Tabela 11 que tanto os resultados iniciais quanto os da validação das formulações 7, 9 e 10 foram muito similares, não apresentando diferença significativa entre si ($p < 0,05$), além disso, também não diferiram estatisticamente ($p < 0,05$) do “iogurte” de soja.

De um modo geral, pode-se afirmar que o novo produto elaborado no presente estudo mostra resultados concordantes com os encontrados na literatura para o “iogurte” de soja, principalmente no tocante aos aspectos sensoriais, uma

vez que apresentou médias de aceitação similares, entre 5,0 e 7,0 (em uma escala de 9 cm) (SCUTTI, 1998; ROSSI et al., 1999; UMBELINO et al., 1999; 2001; KINOUCI et al., 2002; ROSSI et al., 2003).

A validação da formulação otimizada apresentou valores para os atributos sensoriais (Tabela 11) muito semelhantes aos previstos pelo modelo matemático, tanto para “sabor” (5,85) quanto para a “impressão global” (6,13), o que permite assumi-los como valor de otimização global para ambas as respostas.

A validação do produto otimizado é confirmada através do cálculo da diferença entre a resposta experimental e a resposta predita pelo modelo (RODRIGUES e IEMMA, 2005). A diferença para a resposta “sabor”, apresentada na Tabela 12, foi de 0,06 entre as respostas experimental e predita, correspondendo a uma diferença percentual de 1,02%.

Tabela 12. Valores médios de aceitação para a resposta “sabor” experimental e “sabor” predito pelo modelo, diferença entre eles e diferença percentual (%).

Validação	Produto Otimizado
“Sabor” Experimental	5,91
“Sabor” Predito	5,85
Diferença	0,06
Diferença Percentual (%)	1,02

Para a resposta “impressão global”, Tabela 13, a diferença entre as respostas experimental e predita foi de 0,01 (diferença percentual de 0,16%). Nota-se que tanto para o “sabor” quanto para a “impressão global” as diferenças foram extremamente baixas, confirmando, mais uma vez, o bom ajuste do modelo e uma boa adequação da região experimental pré-estabelecida.

Tabela 13. Valores médios de aceitação para a resposta “impressão global” experimental e “impressão global” predita pelo modelo, diferença entre eles e diferença percentual (%).

Validação	Produto Otimizado
“Impressão Global” Experimental	6,14
“Impressão Global” Predito	6,13
Diferença	0,01
Diferença Percentual (%)	0,16

Simultaneamente ao teste de aceitação, a atitude de compra dos julgadores foi avaliada, cujos resultados são apresentados na Figura 14. Percebe-se que mais da metade dos julgadores *certamente comprariam* ou *provavelmente comprariam* o novo “iogurte” simbiótico, indicando, portanto, uma boa aceitação do produto pelos julgadores.

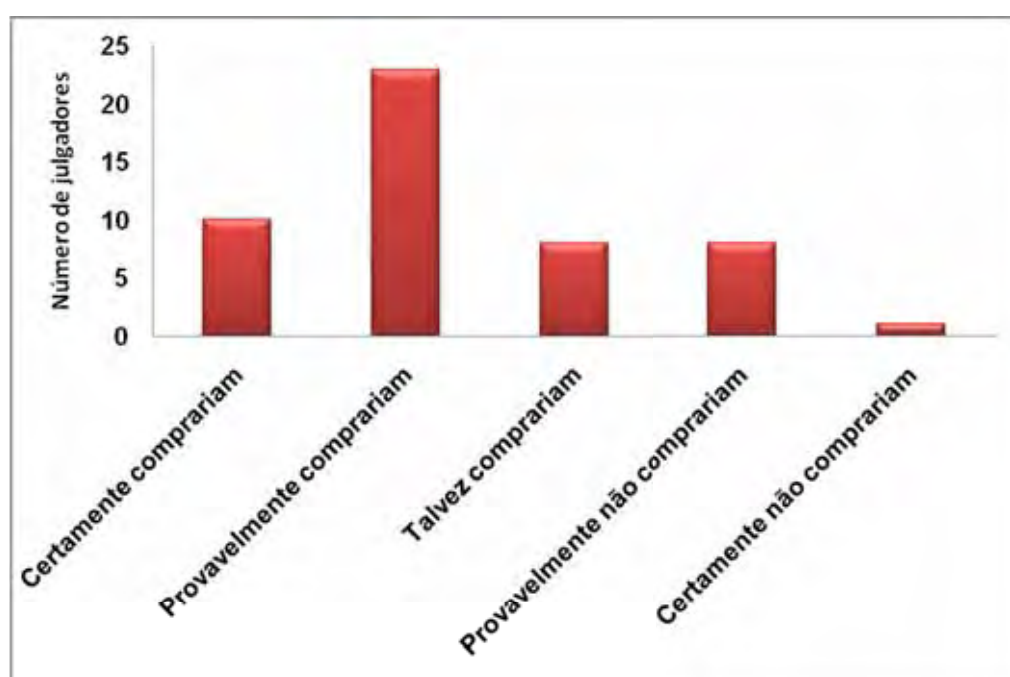


Figura 14. Representação gráfica da atitude de compra do produto otimizado.

5.4.2. COMPOSIÇÃO CENTESIMAL

Visando-se caracterizar quimicamente a formulação otimizada, foram determinados os teores de umidade, sólidos totais, proteína, carboidratos, lipídeos e cinzas (Tabela 14).

Tabela 14. Composição centesimal da formulação otimizada e de produtos similares analisados em outros estudos.

Componentes (%)	Formulação otimizada¹	SCUTTI (1998)	ROSSI et al. (2003)	SHIGUEMOTO et al. (2007)
Umidade	82,85 ± 0,2542	80,55	81,32	85,7
Sólidos totais	17,15 ± 0,2542	19,45	18,68	14,3
Proteínas	3,97 ± 0,4952	3,39	3,39	3,1
Lipídeos	2,49 ± 0,2571	2,91	2,74	1,9
Cinzas	0,51 ± 0,0153	0,69	0,47	0,7
Carboidratos ²	10,19 ± 0,9341	12,45	12,05	8,6

¹Média de 3 determinações (triplicata).

²Calculado por diferença.

Com base na Tabela 14, pode-se observar que, de modo geral, a composição centesimal encontrada para o produto otimizado à base de extratos aquosos de soja e de yacon apresentou-se semelhante à do “iogurte” de soja obtido por Rossi et al. (2003) oferecendo maior quantidade de proteínas, lipídeos e carboidratos do que o “iogurte” de soja avaliado por Shiguemoto et al. (2007).

Em relação ao estudo de Scutti (1998), no qual foi desenvolvido um produto fermentado à base de extrato de soja associado aos extratos de milho verde e de mandioca, verifica-se que a composição centesimal desse produto também foi semelhante ao da formulação otimizada.

De maneira geral, pode-se afirmar que o produto otimizado apresenta uma composição química muito semelhante às aquelas descritas na literatura para produtos similares à base de extrato aquoso de soja, indicando que o extrato de

yacon causa interferência muito pequena na caracterização físico-química do produto.

O elevado teor de sólidos totais do produto fermentado à base de extratos de soja e de yacon não conferiu uma consistência firme ao produto, que apresentou características de pronto para beber, o mesmo tendo sido observado por Scutti (1998) em relação às formulações tanto do “iogurte” de soja, quanto dos produtos contendo extratos aquosos de milho verde e de mandioca.

Segundo Tamime e Robinson (1985) o teor de sólidos totais de um iogurte pode variar desde 9%, para o produto desnatado, até 30% para outros tipos de iogurte, com uma influência direta sobre as propriedades físicas, como consistência e viscosidade e também sobre o valor nutritivo do produto acabado. Contudo, os autores relataram que o iogurte com as melhores características de corpo e textura é obtido de uma matéria-prima contendo de 15 a 16% de sólidos totais. Teores superiores a 25% podem diminuir a atividade de água, inibindo o desenvolvimento da cultura lática.

A formulação otimizada exibiu um conteúdo mineral inferior aos encontrados por Scutti (1998) para o “iogurte” de soja, mas ainda semelhante ao teor de cinzas do leite e de alguns fermentados à base de extrato hidrossolúvel de soja (TAMIME e ROBINSON, 1985; VISCARRA, 1995).

5.4.3. CAPACIDADE DE RETENÇÃO DE ÁGUA

A capacidade de retenção de água dos géis consiste na quantidade de líquido expelido de um sistema protéico pela aplicação de uma força centrífuga. Segundo Antunes et al. (2003) para a produção de iogurte são sugeridas condições que aumentem a capacidade de retenção de água para inibir a sinérese. Valores de pH próximos a 4,0 são favoráveis à elasticidade do produto, enquanto que próximos a pH 5,0 podem aumentar a firmeza e a coesividade do mesmo. Em produtos com pH menor que 4,0, ocorre separação do soro devido à redução da hidratação das proteínas e contração do coágulo (BRANDÃO, 1997).

Embora a formulação do produto simbiótico otimizado tenha apresentado pH de 4,4, a mesma não mostrou valor de capacidade de retenção de água muito satisfatório (45,75%) quando comparado aos valores encontrados para o “iogurte” só de soja (53,31%), fermentado com os mesmos microrganismos probióticos, e para o iogurte tradicional (73,35%), à base de leite bovino e fermentado com cultura comercial convencional. Tal condição indica que o extrato aquoso de yacon interferiu na textura dos géis, modificando a capacidade de retenção de água no produto.

5.4.4. PARÂMETROS REOLÓGICOS

Na ciência dos alimentos, a reologia é usada para o estudo da estrutura dos alimentos como resposta à aplicação de força ou deformação. Várias são as razões para se conhecer as propriedades reológicas dos alimentos, dentre elas: efetuar o controle de qualidade de matérias-primas, de processo ou fabricação de produtos finais; estudar a influência de componentes de formulação e relacionar a estrutura dos produtos com as suas características reológicas (STEFFE, 1996 citado por GOMES, 2005).

Renkema (2004) estudou a relação entre as propriedades reológicas e a estrutura da cadeia em isolados protéicos de soja, e os resultados mostraram que essas propriedades variam em função do pH e da força iônica, devido à quantidade de proteínas incorporadas à estrutura da cadeia.

As características reológicas também são afetadas pelas condições de fermentação, em que o aumento da temperatura (de 37 para 46°C) é diretamente proporcional à taxa de redução do pH, consequência da atividade metabólica das bactérias lácteas, e à formação da estrutura do iogurte, tanto com relação à firmeza do gel quanto à viscosidade do iogurte, devido ao aumento da força nas ligações hidrofílicas (HAQUE et al., 2001).

Na avaliação da consistência deve-se levar em conta o corpo do produto quando consumido. Coágulo pouco encorpado, com presença de grumos e com

problemas com a viscosidade são defeitos que podem levar à rejeição do produto por parte dos consumidores (GUEDES NETO et al., 2003).

5.4.4.1. DETERMINAÇÃO DE VISCOSIDADE

O “iogurte” otimizado, que se refere à formulação 7 (1,74 g/L de teor protéico de extrato de soja e 25,86% de extrato de yacon) apresentou viscosidade média de 160cP, enquanto que os “iogurtes” referentes às formulações 9 e 10 (1,74 g/L de teor protéico de extrato de soja e 40% de extrato de yacon) apresentaram resultados de viscosidade média de 240cP. Essa diferença deve-se, provavelmente, a uma maior quantidade de extrato de yacon.

É possível observar uma elevação da viscosidade com o aumento da quantidade de extrato de yacon, rico em frutooligossacarídeos do tipo inulina. Tal fato se deve provavelmente à ação desses FOS quando interagem com a água, formando microcristais. Estes, por sua vez, interagem entre si, elevando a viscosidade da mistura (NITSCHKE e UMBELINO, 2002; BORTOLOZO e QUADROS, 2007).

5.4.4.2. DETERMINAÇÃO DE CONSISTÊNCIA

A consistência do iogurte é tão importante quanto o sabor e o aroma. A firmeza adequada, sem separação de soro é essencial para a máxima qualidade do produto. Diversas técnicas têm sido usadas para aumentar a consistência de iogurtes. Um dos métodos para se obter uma boa textura e consistência é aumentar o teor de sólidos do leite ou usar espessantes e/ou emulsionantes (PENNA et al., 1997).

A distância percorrida no consistômetro pela formulação otimizada foi de 18 cm em 30 segundos, o que corresponde a uma consistência maior quando comparada aos resultados obtidos por Rossi et al. (2003) para o “iogurte” de soja que foi de 26,25 cm em 30 segundos e por Scutti (1998) 34,50 cm em 30s para o mesmo produto.

Embora a consistência do “iogurte” simbiótico otimizado tenha sido maior do que a do “iogurte” só de soja avaliado em alguns estudos, ela pode ser considerada como satisfatória, uma vez que o novo produto desenvolvido apresentou características de produto “pronto para beber”, dispensando o uso de colher para seu consumo, condição bastante aceita pelo mercado consumidor de iogurtes.

5.4.5. TEMPO DE FERMENTAÇÃO, pH FINAL DAS FORMULAÇÕES PROCESSADAS E DO PRODUTO OTIMIZADO

As formulações apresentaram um bom desenvolvimento da fermentação durante a incubação, atingindo pH de 4,4 a 4,5 em um período de tempo que variou de 4 horas e 20 minutos a 5 horas e 40 minutos, resultados semelhantes aos encontrados por Umbelino et al. (2001) para o “iogurte” de soja, cujo tempo médio de fermentação foi de 4 horas e 15 minutos para um pH de 4,46. Isso demonstra que a presença do extrato de yacon na formulação do produto não afeta o tempo de fermentação, quando comparado ao produto tido como padrão (Tabela 15).

Tabela 15. Tempo de fermentação e pH final das formulações processadas e do produto otimizado.

Ensaio	Teor Protéico Extrato hidrossolúvel de soja (g/L)	Extrato de Yacon (%)	Tempo de Fermentação (horas)	pH
1	1,45	30	5,25	4,45
2	1,45	50	5,40	4,49
3	2,03	30	4,20	4,46
4	2,03	50	4,50	4,41
5	1,33	40	5,25	4,51
6	2,15	40	4,45	4,49
7	1,74	25,86	5,15	4,41
8	1,74	54,14	5,35	4,40
9	1,74	40	5,30	4,45
10	1,74	40	5,28	4,41
Produto Otimizado	1,74	25,86	5,35	4,40

O mesmo não foi observado por Scutti (1998) quando desenvolveu novos produtos fermentados contendo extratos aquosos de soja, de milho verde e de mandioca, os quais apresentaram tempos de fermentação variando de 5 horas e 15 minutos a 6 horas e 45 minutos, indicando que dependendo do extrato utilizado em substituição ao de soja pode ocorrer aumento no tempo de fermentação do produto.

Ainda de acordo com a Tabela 15 todos os valores de pH ficaram abaixo de 4,6, o que é recomendado, do ponto de vista tecnológico, uma vez que o ponto isoelétrico das proteínas da soja fica entre 4,6 e 4,7, sendo, portanto, importante alcançar um pH abaixo dessa faixa de menor solubilidade, como uma das maneiras de se evitar a sinerese (TAMIME e ROBINSON, 1985; BRANDÃO, 1995).

Ainda com base na Tabela 15, o tempo de fermentação parece estar mais relacionado com a composição das formulações, uma vez que aquelas que apresentam maiores concentrações de extrato de soja mostraram um tempo inferior de fermentação, mesmo tendo os inóculos provenientes do mesmo repique, o que pode ser observado através das formulações 3, 4 e 6, que apresentam maior teor protéico fornecido pelo extrato de soja (2,03; 2,03 e 2,15 g/L respectivamente) e atingiram o pH desejado em menor tempo (4 horas e 20 minutos, 4 horas e 50 minutos e 4 horas e 45 minutos, respectivamente), enquanto que a formulação 2 com menor teor protéico fornecido pelo extrato de soja (1,45 g/L) apresentou o maior tempo de fermentação (5 horas e 40 minutos).

Todas as formulações processadas apresentaram um tempo de fermentação superior ao do iogurte comercial e bastante inferior ao de alguns fermentados à base de extrato hidrossolúvel de soja suplementado com açúcares fermentescíveis, onde valores semelhantes de pH foram atingidos em períodos de incubação de 16 a 24 horas. (PINTHONG et al., 1980; TAMIME e ROBINSON, 1985; SCUTTI, 1998; KANDA et al., 1976 citado por FAVARO-TRINDADE et al., 2001).

Rossi (1983) ao desenvolver um “iogurte” formulado com soro de leite e extrato aquoso de soja observou um tempo de fermentação em torno de 5 horas e 30 minutos para um pH final de 4,4.

A variação nas concentrações das matérias-primas utilizadas na elaboração das bebidas lácteas e o tempo de estocagem da cultura láctica no congelador podem influenciar a viabilidade da cultura e conseqüentemente a variação dos tempos de fermentação (GOMES, 2005).

O valor de pH tem sua importância relacionada também com o aspecto visual do produto final durante sua conservação em temperaturas baixas. É fundamental que haja um controle rigoroso para que não ocorram possíveis separações de fase, acidificação elevada, influenciada pelo tipo de fermentação, além de alterações nas características sensoriais que poderão tornar o produto indesejável (GOMES, 2005).

5.4.6. DETERMINAÇÃO DE ACIDEZ TITULÁVEL

O resultado da acidez titulável da formulação otimizada foi de 87 °D, estando dentro da faixa estabelecida para bebidas lácteas na legislação brasileira, que é de 60 a 150 °D (BRASIL, 2005). Valores semelhantes foram obtidos por Scutti (1998) para o “iogurte” de soja (90,67 °D) e por Umbelino et al. (2001) para o mesmo produto (84,34 °D).

Segundo Pinthong et al. (1980), uma acidez láctica superior a 1,2% (equivalente a 120 °D) pode resultar em produtos com sabor ácido desagradável, comprometendo sua aceitação (TAMIME e ROBINSON, 1985).

O sabor dos produtos fermentados deve ser ligeiramente ácido, portanto, depende dos microrganismos que constituem o inóculo e de seu metabolismo durante a fermentação (GUEDES NETO et al., 2003).

A acidez exerce grande influência sobre os atributos de qualidade dos produtos lácteos fermentados e é um dos fatores que limita a aceitação dos mesmos. O ácido láctico produzido, substância característica de todos os leites fermentados, atua como conservante natural além de tornar os componentes do leite mais digeríveis, favorecendo os indivíduos aclorídricos (SILVA et al., 2001).

5.4.7. ESTIMATIVA DA VIDA DE PRATELEIRA

A vida de prateleira pode ser definida como o tempo decorrido entre o processamento do produto até o ponto em que este se torna inaceitável para o consumo (ELLIS, 1996).

A diminuição da qualidade e a redução da vida de prateleira podem ser consequência de mudanças no produto com relação a valores nutricionais e atributos sensoriais. A perda de qualidade também pode ser causada por ação de microrganismos, tais como leveduras, bolores ou bactérias; infestação de insetos e parasitas; reações enzimáticas, reações químicas e mudanças físico-químicas (PFEIFFER, 1999).

O primeiro passo para se determinar a vida de prateleira de qualquer produto é identificar quais as características dos ingredientes, as condições de processamento e de estocagem que poderão influenciar na perda de qualidade do produto estudado (LEWIS e DALE, 1996). A definição do tempo de vida de prateleira requer que o produto seja estocado em condições normais e que este seja analisado durante o armazenamento (ELLIS, 1996).

Para a determinação da vida de prateleira de iogurtes alguns fatores devem ser considerados, tais como: temperatura de armazenamento e distribuição, contaminação por bolores e leveduras, consistência e degradação da cor e do sabor (ELLIS, 1996). De acordo com Souza (1990) deve-se incluir na avaliação da qualidade do iogurte a análise sensorial, a determinação da acidez titulável, a presença de coliformes e, de bolores e leveduras.

A formulação otimizada foi submetida à análise da estimativa da vida de prateleira através das seguintes determinações: análise sensorial (teste de aceitação), análises de acidez titulável, análise da viabilidade dos microrganismos probióticos utilizados na fermentação do produto, consistência, viscosidade e controle microbiológico (contagem de bolores e leveduras e pesquisa de coliformes totais e fecais) no início e aos 7, 14 e 21 dias de armazenamento refrigerado a 5 °C.

A vida de prateleira de produtos alimentícios é também determinada pelos consumidores a partir da recusa ou da compra dos mesmos, em função de características sensoriais que no momento da compra satisfazem ou não as expectativas dos indivíduos.

O produto otimizado foi submetido ao teste de aceitação durante a vida de prateleira e a Figura 15 representa graficamente as médias dessa aceitação. Os resultados mostraram que não houve alteração estatística ($p < 0,05$) tanto para o atributo “sabor” quanto para o atributo “impressão global”, indicando que a aceitação continua praticamente a mesma verificada no início do experimento, com notas entre 5 e 6, ao longo dos 21 dias, o que pode ser considerado como um resultado satisfatório.

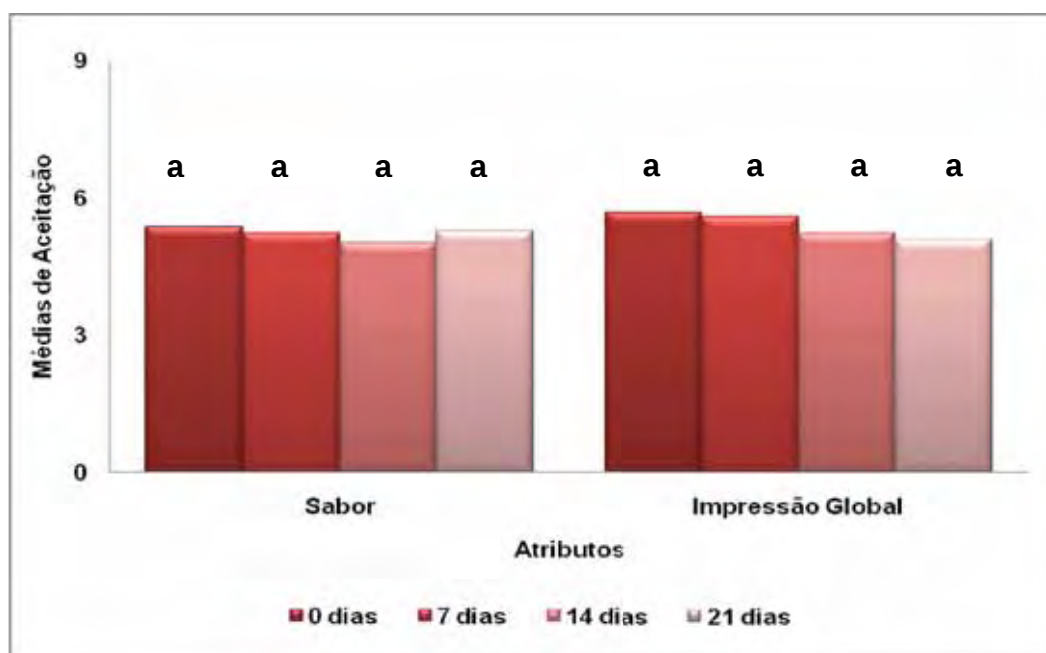


Figura 15. Representação gráfica das médias de aceitação do “iogurte” otimizado, durante o período de armazenamento a 5 °C.

Médias com letras em comum no mesmo bloco não diferem entre si ($p < 0,05$), $n=50$ julgadores (escala de 0 a 9 correspondendo de desgostei muitíssimo a gostei muitíssimo).

Nos últimos anos, a vida de prateleira dos produtos alimentícios tem sido determinada também através de testes sensoriais de aceitação (SIVIERI, 2002). A percepção e a atitude do consumidor são de grande importância na determinação da qualidade sensorial do produto (STONE e SIDEL, 1993). Neste caso, o parâmetro avaliado é a queda de aceitação do produto durante o armazenamento, o que não ocorreu com o produto em questão, indicando que o mesmo permaneceu com propriedades sensoriais aceitáveis ao longo do período de estocagem.

Ainda durante a execução dos testes sensoriais, foi também avaliada a atitude de compra dos julgadores ao longo do período de 21 dias. Pode-se verificar pela Figura 16 que somando-se os julgadores que *certamente comprariam* com aqueles que *provavelmente comprariam*, obtem-se uma

quantidade maior do que os que *provavelmente* e *certamente não comprariam* o produto, o que indica que a aceitação do mesmo foi maior do que sua rejeição.

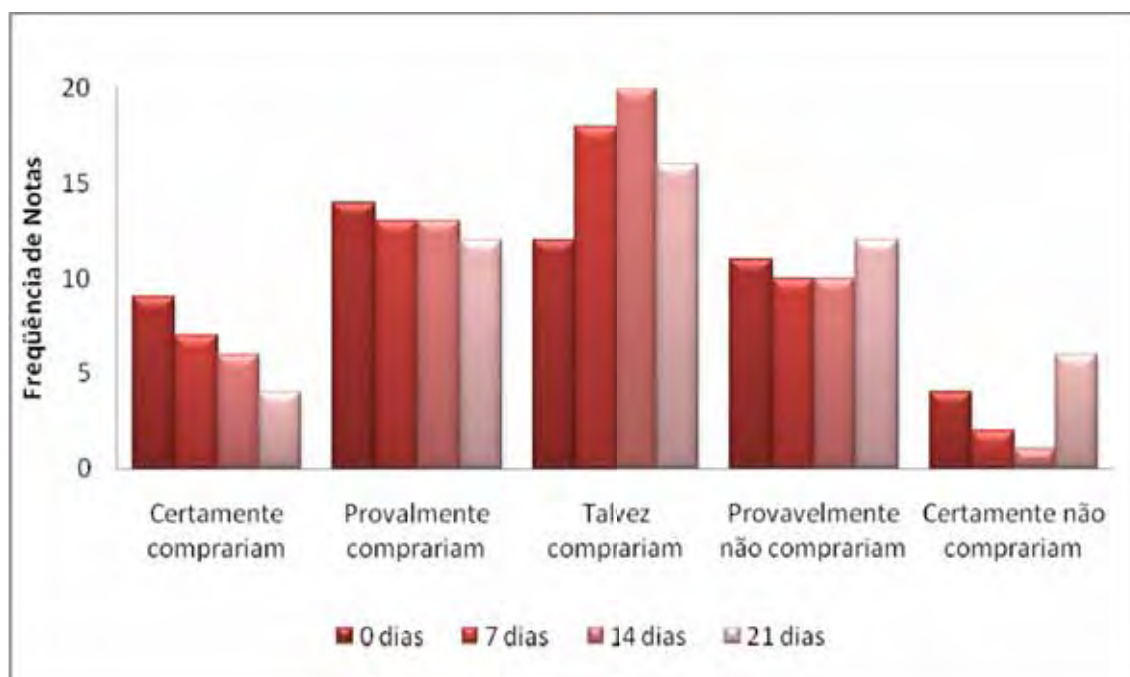


Figura 16. Representação gráfica da frequência de notas referente à atitude de compra dos julgadores.

Ao longo da vida de prateleira de bebidas lácteas os microrganismos da cultura láctica continuam viáveis, mas com o armazenamento a 7°C sua taxa metabólica é muito baixa, portanto, a medida do teor de acidez se faz necessária para indicar as mudanças que ocorrem durante a vida de prateleira decorrente da ação das bactérias lácticas (ELLIS, 1996).

Os resultados da acidez titulável ao longo dos 21 dias estão apresentados na Figura 17, indicando claramente que a acidez aumentou 15 °D, do tempo zero até 21 dias, sem, entretanto, diferir estatisticamente ($p < 0,05$), mantendo-se estável ao longo do período de armazenamento e não superando o valor de 95 °D, pois a partir desse valor de acidez o produto já seria considerado como inadequado (TAMIME e ROBINSON, 1985). Somando-se a isso, a acidez titulável

manteve-se dentro dos padrões de qualidade estabelecidos pela legislação para produtos fermentados, que deve ser entre 60 e 150 °D (BRASIL, 2005).

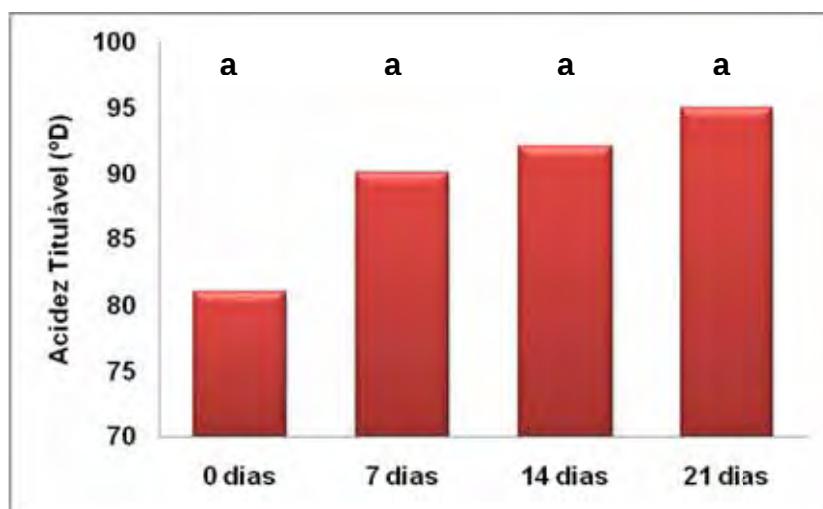


Figura 17. Representação gráfica dos valores médios de acidez titulável (°D) do produto otimizado, durante o período de armazenamento a 5 °C. Médias com letras em comum não diferem entre si ($p < 0,05$).

As bactérias lácticas só apresentam efeitos biológicos no ambiente intestinal se estiverem presentes em determinado número mínimo. Muitos países têm procurado estabelecer esse número durante o armazenamento do produto. A França e a Espanha exigem a presença de no mínimo 5×10^8 UFC/mL. Outros países vêm estabelecendo valores como 10^6 UFC/mL (Suíça e Itália), 10^7 UFC/mL (Japão e Argentina), 10^8 UFC/mL (Portugal) (BIROLLO et al., 2000).

Com relação aos microrganismos probióticos utilizados na formulação do produto otimizado, *Enterococcus faecium* CRL 183 e *Lactobacillus helveticus* ssp *jugurti* 416, esses se mostraram viáveis, com contagem em torno de 10^8 UFC/mL (Figura 18), ao longo de 21 dias de estocagem a 5 °C, inclusive com contagens superiores ao mínimo estabelecido pelo Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade das Bebidas Lácteas e pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária que é de 10^8 a 10^9 UFC/mL de microrganismos específicos, para que o produto possa ter a característica probiótica assegurada (BRASIL, 2005; ANVISA, 2008).

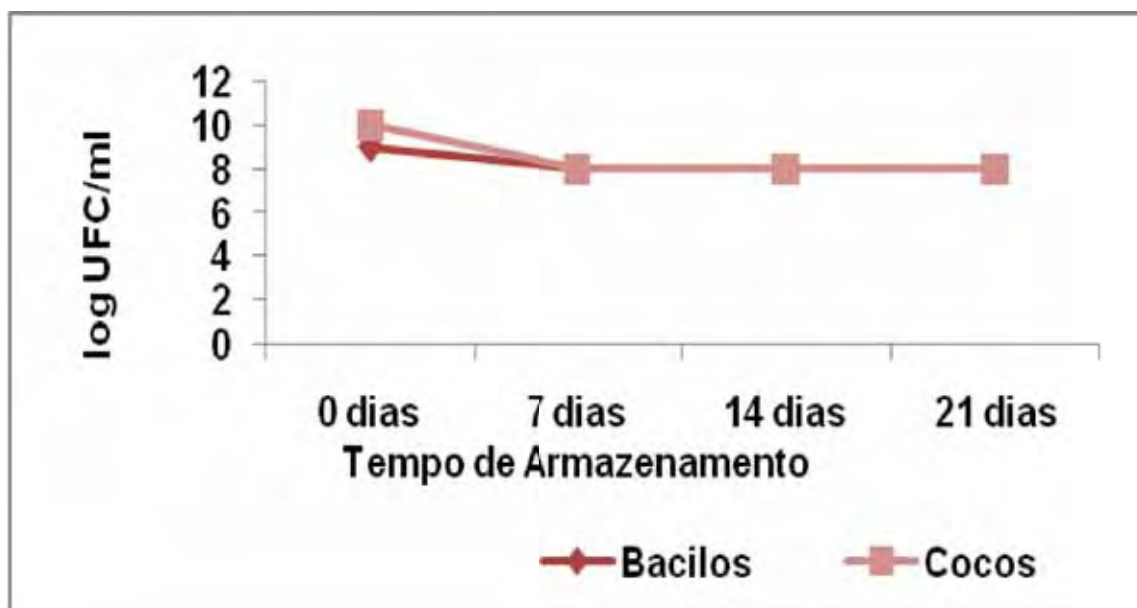


Figura 18. Viabilidade de cocos e bacilos no “iogurte” de soja com extrato de yacon fermentado com *E. faecium* CRL 183 e *L. helveticus* ssp *jugurti* 416, durante armazenamento a 5°C.

Nos países da América do Sul existem deficiências na cadeia de frio durante a distribuição, causando a pós-acidificação, a qual contribui para a diminuição do pH do produto, modificando a viabilidade das bactérias lácticas durante o armazenamento, que segundo Birollo et al. (2000) dependem do tipo de iogurte e da temperatura de estocagem.

A propriedade reológica viscosidade é de grande importância no desenvolvimento de novos produtos, pois determinam a consistência e a textura dos mesmos e influenciam sua aceitabilidade pelos consumidores (BENEZECH e MAINGONNAT, 1994).

A consistência do produto otimizado, ao longo da vida de prateleira, se mostrou estável (Figura 19), sem diferença significativa ao longo do período de estocagem, apresentando valores, medidos através da distância percorrida no consistômetro, semelhantes aos encontrados na validação do produto otimizado.

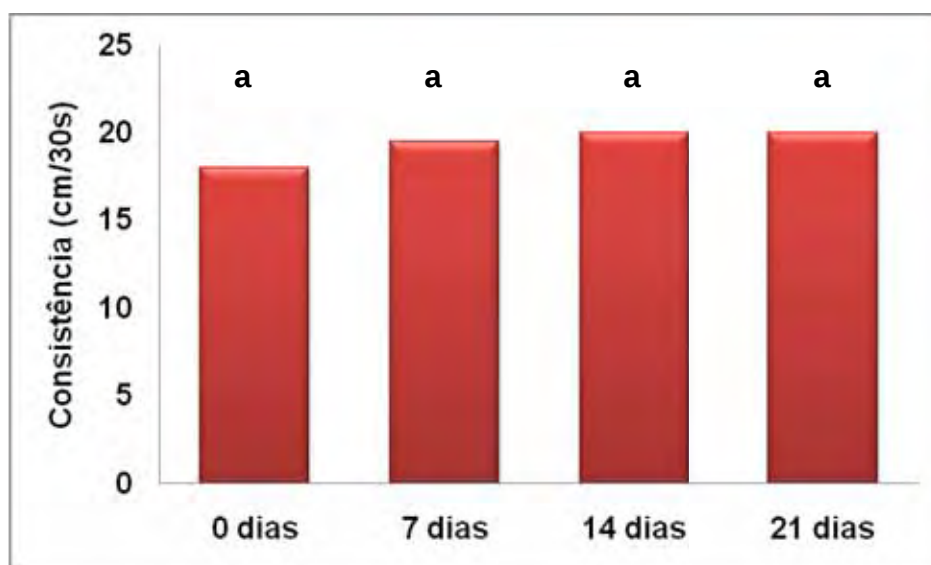


Figura 19. Representação gráfica dos valores médios de consistência (cm/30s) do produto otimizado, durante o período de armazenamento a 5 °C.

Médias com letras em comum não diferem entre si ($p < 0,05$).

O mesmo não ocorreu com a viscosidade que apresentou um aumento nos primeiros sete dias de análise, seguido de uma pequena queda ao 14º dia e voltando a aumentar, ligeiramente, no 21º dia (Figura 20). Tal condição pode ser explicada pelo fato do iogurte ser um produto que perde viscosidade com a agitação. Vale lembrar que logo após o processamento o produto foi homogeneizado e, então, teve a viscosidade determinada pela primeira vez (tempo zero). Por ocasião da segunda determinação (7 dias) o produto teve tempo de repouso suficiente para ter restabelecida a sua viscosidade característica.

A viscosidade verificada ao longo de todo o período de estocagem foi maior que a verificada por ocasião da sua validação, provavelmente em decorrência de diferenças na matéria-prima utilizada, particularmente do yacon que pode sofrer consideráveis alterações de composição em decorrência da época do plantio e da colheita, além da influência da região onde foi cultivado.

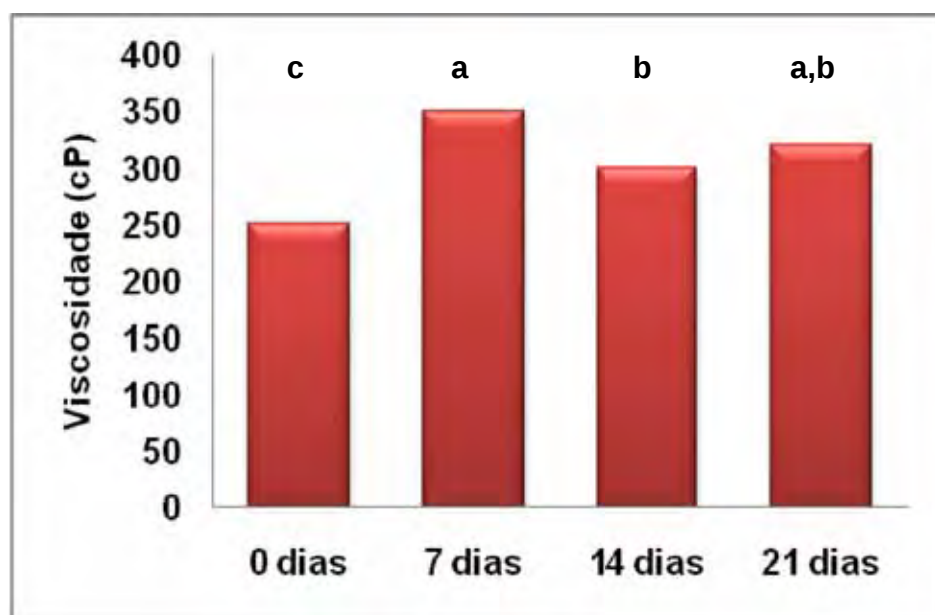


Figura 20. Representação gráfica dos valores médios de viscosidade (cP) do produto otimizado, durante o período de armazenamento a 5 °C.

Médias com letras em comum não diferem entre si ($p < 0,05$).

De acordo com Robinson e Tamime (1993) a vida de prateleira de um iogurte produzido com culturas selecionadas e conservado sob refrigeração, não deve ser menor que 3 semanas. Do ponto de vista microbiológico também foi feito o controle de bolores e leveduras e pesquisa de coliformes totais e fecais. Ao longo dos 21 dias de estudo não foi detectada a presença de coliformes em nenhum tubo contendo Caldo Lauril Sulfato Triptose (LST), pois não houve formação de gás ou turvação do meio, o que indica que o produto foi desenvolvido e armazenado em condições adequadas de higiene (SILVA et al., 2007).

Quanto aos bolores e leveduras, ao final de 21 dias esses microrganismos foram encontrados em número de $1,7 \times 10^3$ UFC/mL, ocasionando uma deterioração visível em algumas embalagens, fato que determinou o final do estudo de vida de prateleira do produto. Vale ressaltar que, embora os valores tenham aumentado ao longo do período, não ultrapassaram os padrões previstos pela legislação (BRASIL, 1997). No entanto a vida de prateleira poderia ter-se estendido com a adição de um conservante, como o sorbato de sódio, por exemplo.

6. Conclusões

6. CONCLUSÕES

Diante dos resultados obtidos, nas condições do presente estudo, pode-se concluir que o emprego do extrato de yacon, em substituição parcial ao extrato hidrossolúvel de soja, é viável na obtenção de um novo produto fermentado similar ao iogurte, porém com potencial simbiótico, devido ao uso simultâneo das culturas probióticas de *Enterococcus faecium* CRL 183 e *Lactobacillus helveticus* ssp *jugurti* 416 e da raiz tuberosa de yacon, rica em prebióticos. Esse novo produto fermentado apresentou características tecnológicas e sensoriais consideradas como satisfatórias.

A metodologia de superfície de resposta, aplicada no presente estudo, se apresentou como uma ferramenta de grande valia no processo de otimização da formulação em relação às variáveis dependentes estabelecidas, além de permitir o estabelecimento de modelos matemáticos preditivos para os parâmetros sensoriais.

O produto otimizado contendo 1,74 g/L de teor protéico fornecido pelo extrato hidrossolúvel de soja e 25,86% de extrato de yacon mostrou-se em adequadas condições químicas, tecnológicas, microbiológicas e sensoriais por um período de estocagem de 21 dias a 5 °C, com viabilidade das bactérias probióticas em número satisfatório.

7. Considerações Finais

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Embora os objetivos propostos para o presente trabalho tenham sido alcançados, não se poderia deixar de salientar que tal estudo caracterizou-se apenas como uma primeira etapa na elaboração do produto em questão, mesmo considerando que as condições ótimas de formulação tenham sido estabelecidas. Outros aspectos importantes na elaboração de novos produtos, tais como, características nutricionais, biológicos e funcionais, além da viabilidade econômica, deverão ser considerados em estudos futuros.

8. Referências Bibliográficas

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIOVE. **Associação Brasileira das Indústrias de Óleos Vegetais**. Complexo Soja – Balanço Oferta/Demanda. Disponível em: http://www.abiove.com.br/balanco_br.html. Acesso em: 19 dez. 2008.

AFONSO, G. **Utilização da metodologia de superfície de resposta no desenvolvimento de um molho tipo Pesto visando a atividade antioxidante**. São Paulo - SP: USP, 2006. 113p. Dissertação (Mestrado em Nutrição Humana Aplicada- PRONUT) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas/ Faculdade de Engenharia de Alimentos/Faculdade de Saúde Pública, São Paulo, 2006.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Alimentos com alegações de propriedades funcionais e ou de saúde, novos alimentos/ingredientes, substâncias bioativas e probióticos. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno_lista_alega.htm. Acesso em: 9 dez. 2008.

ALÍPIO, R. Oligossacarídeos e suas propriedades funcionais. **Food Ingredients**, n. 7, p. 94-5, 2000.

ANTUNES, A.E.C.; MOTTA, E.M.P.; ANTUNES, A.J. Perfil de textura e capacidade de retenção de água de géis ácidos de concentrado protéico de soro de leite. **Ciê. Tecnol. Aliment.**, Campinas, 23 (Supl): 183-189, dez. 2003.

AR RURAL. **Oil World reduz estimativa para produção mundial de óleo de soja**. Disponível em: http://www.agrural.com.br/index.php?option=com_content&task=view&id=26818&Itemid=174. Acesso em: 19 dez. 2008.

ARAJARA, F. Yacon, o primo da batata que ajuda a controlar o diabetes. **Saúde**, São Paulo, Brasil, n. 194, p. 38-42, nov. 1999.

ARBACHE, J. **Perspectivas de exportação para o setor de serviços e distribuição**. Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior, 2002. Disponível em: <http://www.desenvolvimento.gov.br/arquivo/sdp/proAcao/forCompetitividade/perExpServico/ServicosDistribCompleto.pdf>. Acesso em: 28/12/2007.

ARTEAGA, G.E; LI-CHAN, E; VAZQUEZ-ARTEAGA, M.C; NAKAI, S. Systematic experimental designs for product formula optimization. **Trends in Food Science & Technology**, v.5, p.243-253, 1994.

ASAMI, T.; KUBOTA, M.; MINAMISAWA, K.; TSUKIHASHI, T. Chemical composition of yacon, a new root crop from the Andean Highlands. **Japanese Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, Japão, v. 66, n. 2, p. 122-126, 1989.

ASAMI, T.; MINAMISAWA, K.; TSUKIHASHI, T.; KANO, K.; HORI, I.; OHYAMA, T.; KUBOTA, M.; TSUKIHASHI, T. Fluctuation of oligofructan contents in tubers of yacon (*Polymnia sonchifolia*) during growth and storage. **Japanese Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, Japão, v. 62, n. 6, p. 621-627, 1991.

AYBAR, M.J., SANCHEZ RIERA, A.N., GRAU, A., SANCHEZ, S.S. Hypoglycemic effect of the water extract of *Smallanthus sonchifolius* (yacon) leaves in normal and diabetic rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 74, issue 2, p. 125-132, 2001.

BARRETO, A.C.S.; IDA, E.I.; SILVA, R.S.; TORRES, E.A.F.S.; SHIMOKOMAKI, M. Empirical Models for Describing Poultry Meat Lipid Oxidation Inhibition by Natural Antioxidants. **Journal of Food Composition and Analysis**, Londres, v. 16, n. 5, p. 587-594, 2003.

BARROS-NETO, B.B.; SCARMINIO, I.S.; BRUNS, R.E. **Como fazer experimentos: pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria**. Campinas: Editora da UNICAMP, 2003.

BARROS-NETO, B.; SCARMÍNIO, I.S.; BRUNS, R.E. **Planejamento e otimização de experimentos**. Campinas: Editora da UNICAMP, 1995. 299p.

BEDANI, R.; ROSSI, E. A.; LEPERA, J. S.; WANG, C. C.; VALDEZ, G. F. Efeito do consumo 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.; PAULY, N.D.; ROSELINO, M.N.; REDONDO, N.C.; ROSSI, E.A. Efeito do consumo de "iogurte" de soja fermentado com *Enterococcus faecium* CRL 183 em parâmetros intestinais de ratos alimentados com ração a base de carne bovina. In: **7º Simpósio Latino Americano de Ciência de Alimentos**, 2007. Campinas, 2007.

BENEZECH, T.; MAINGONNAT, J.F. Characterization of rheological properties of yogurt: a review. **J. Food Eng.**, Oxford, v.21 n.4, p.447-472, 1994.

BIROLLO, G.A.; REINHEIMER, J.A.; VINDEROLA, C.G. Viability of lactic acid microflora in different types of yogurt. **Food Research International**, v.33, p.799-805, 2000.

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

BRANDÃO, S.C.C. Tecnologia da produção indústria do iogurte. **Leite e derivados**, n.25, p.24 – 38, 1995.

BRASIL. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Bebida Láctea. Instrução Normativa nº 16, de 23 de agosto de 2005, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Diário Oficial da União. Brasília, 24 de agosto de 2005. Seção 1, página 7.

BRASIL. Regulamento Técnico sobre as Condições Higiênicas-Sanitárias e de Boas Práticas de Elaboração para Estabelecimentos Elaboradores/Industrializadores de Alimentos - Portaria nº 368, de 4 de setembro de 1997 - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Brasil. Diário Oficial da União. Brasília, 8 de setembro de 1997. Seção 1, página 19697.

BRASIL. 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. 1999a.

BRASIL **Projeções do Agronegócio: Mundial e Brasil – 2006/07 a 2017/18**. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. 09 de janeiro de 2008. Disponível em: <http://blog.cnpat.embrapa.br/?p=236> Acesso em: 17/10/2008.

CABELLO, C. Extração e pré-tratamento químico de frutanos de Yacon, *Polymnia sonchifolia*. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v.25, n.2, 2005.

CAMPBELL, J.M.; FAHEY, G.C.; WOLF, B.W. Selected indigestible oligosaccharides affect large bowel mass, cecal and fecal short-chain fatty acids, pH and microflora in rats. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 127, p. 130-136, 1997.

CÂNDIDO, L.M.B.; CAMPOS, ^aM. **Alimentos para fins especiais: Dietéticos**. São Paulo: Livraria Varela, p. 200-243, 1995.

CAPITO, S.M.P. **Raiz tuberosa de yacon (*Polymnia sonchifolia*): caracterização química e métodos de determinação de frutanos (CG e CLAE-DPA)**. São Paulo, 2001. 101f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo.

CARLOS, I.Z.; ROSSI, E.A.; VENDRAMINI, R.C.; MACHADO, C.O.; CYRILLO, R.N.S.; PERAZZO, F.F.; VALDEZ, G.F. Avaliação do potencial alergênico de um novo fermentado de soja. **Revista de Ciências Farmacêuticas - Unesp**. São Paulo v.21, p.103 - 113, 2000.

CARVALHO, M.R.B.; STECH, M.R. Avaliação da composição centesimal e das atividades dos fatores antinutricionais em diferentes cultivares de soja. **Boletim do Instituto de Pesca**. São Paulo, v.24, p139-145, 1997.

CARVALHO, S.; TOLEDO, I.; ARAUJO, F.; PEREIRA, G. Fructanos en raices tuberosas de yacon (*Smallanthus sonchifolius* Poep. and Endl.) expuestas al sol y

almacenadas bajo condiciones ambientales. **Agro-Ciencia**. v. 20(1) p. 17-23. (Ene-Jun 2004).

CASÉ, F.; DELIZA, R.; ROSENTHAL, A.; CABRAL, L.C.; FREITAS, S.C. Leite de soja enriquecido com cálcio: avaliação da perda do mineral no processamento. EMBRAPA – Agroindústria de Alimentos/Rio de Janeiro - RJ. In: **IV Simpósio Latino Americano de Ciências dos Alimentos**. 2001. p.1227-304.

CASTRO, I.A. et al. Simultaneous optimization of response variables in protein mixture formulation: constrained simplex method approach. **Int J Food Sci Technol**, v.38, n.2, p.103-110, 2003.

CASTRO, I.A. et al. Optimization of the antioxidant capacity of a mixture of carotenoids and α -tocopherol in the development of a nutritional supplement. **Food Res Int**, v.38, p.861-866, 2005.

CATHARINO, R.R.; GOGOY, H.T. Otimização da determinação de ácido fólico em leites enriquecidos através da análise de superfície de resposta. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, 21(3): 326-329, set-dez. 2001.

CLEMENTE, E.; PASTORE, G.M. Peroxidase and polyphenoloxidase, the importance for food technology. **Ciênc. Tecnol. Aliment.** V.32, p. 167-171, 1998.

CONAB. Intenção de plantio safra agrícola 2007/2008 – **Primeiro levantamento - outubro de 2008**. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/conabweb/index.php?PAG=73&NSN=663>
Acesso em: 17/10/2008.

COUSSEMENT, P.A. The inulin and oligofructose: safe intakes and legal status. **J. Nutr** 1999; 129: 1412S-1417S.

CUMMINGS, J.H.; EDMOND, L.M.; MAGEE, A. Dietary carbohydrates and health: do we still need the fiber concept? **Clinical Nutrition** 2004; (supp) 1: 5-17.

DELZENNE, N.M.; WILLIAMS, C.M. Prebiotics and lipid metabolism. **Cur. Opin. Lip.** v.13, p.61-67, 2002.

DUTRA DE OLIVEIRA, J.E. O uso da soja como feijão. In: MISAKA, S. **A soja no Brasil**. Campinas: ITAL, 1981. p. 847-9.

DUTRA de OLIVEIRA, J.E.; SANTOS, A.C.; WILSON, E.D. **Nutrição básica**. São Paulo: Savier, 1982. 286p.

ELLIS, M.J. **Shelf life evaluation of foods**. London: Black Academic and Professional, 1996. p.28-39. In: MAN, C.M.D.; JONES, A.A., eds.

FAVARO TRINDADE, C.S.; TERZI, S.C.; TRUGO, L.C.; DELLA MODESTA, R.C.; COURI, S. Development and sensory evaluation of soy milk based yoghurt. **Arch. Lationamer. de Nutr.** v. 51, n. 1, 2001.

FRANCO, B.D.G.M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia de Alimentos**. São Paulo: Editora Atheneu, 2003.

FUCHS, R.H.B.; BORSATO, D.; BONA, E.; HAULY, M.C.O. "iogurte" de soja suplementado com oligofrutose e inulina. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v.25, n.1, p.175-181, 2005.

FUKAI, K., OHNO, S., GOTO, K., NANJO, F., HARA, Y. Seasonal fluctuations in fructan content and related enzyme activities in yacon (*Polymnia sonchifolia*). **Soil Science and Plant Nutrition**, v. 43, n. 1, p. 171–177, 1997.

FUKAI, K., MIYAZAKI, S., NANJO, F. Distribution of carbohydrates and related enzyme activities in yacon (*Polymnia sonchifolia*). **Soil Science and Nutrition**, Fujeda, Japão, v. 39, n. 3, p. 567-571, 1993.

FULLER, R. History and development of probiotics. In: FULLER, R. (ed) **Probiotics**. New York: Chapman & Hall, 1994, p. 1-8.

GALLARDO, R.S.C. **Obtención y caracterización de los oligofructanos a partir de la raíz del yacon (*Smallanthus sonchifolius* Poepp. & Endl.)**. Lima/Perú, 1999. 125 f. Tese (M. Sc. Tecnologia de Alimentos). Universidad Nacional Agraria La Molina.

GIBSON, G.R.; ROBERFROID, M.B. Dietary modulation of human colonic microbiota: introducing the concept of the prebiotics. **J. Nutr.** 1995; 125: 1401-12.

GIBSON, G.R.; ROBERT, H.M.; VAN LOO, J.; RASTALL, R.A.; ROBERFROID, M.B. Dietary modulation of the human colonic microbiota updating the concept of prebiotics. **Nutrition Research Review**, v.17, p.259-275, 2004.

GOMES, R.G. **Efeito dos teores de leite, soro e proteína de soja nas características físico-químicas, microbiológicas, reológicas e sensoriais de uma bebida láctea probiótica**. 2005. 140f. Dissertação (Mestre em Engenharia e Ciências de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto, 2005.

GOTO, K.; FUKAI, K.; HIKIDA, J.; NANJO, F.; HARA, Y. Isolation and structural analysis of oligosaccharides from yacon (*Polymnia sonchifolia*). **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, Tokyo, v. 59, n. 12, p. 2346-2347, 1995.

GRAU, A.; REA, J. **Yacon *Smallanthus sonchifolius*. (Poepp. & Endl.)**. 2004. Disponível em: <<http://www.cipotato.org>>. Acesso em: 28 jul. 2008.

GRAU, A.; KORTSARZ, A.M.; AYBAR, M.J.; RIERA, A.N.S.; SANCHEZ, S.S. El retorno del yacó. **Revista de Divulgación Científica y Tecnológica de la asociación Ciencia Hoy**, Buenos Aires, v.11, n.63, jun/jul. 2001.

GRAU, A.; REA, J. Yacon *Smallanthus sonchifolius* (Poepp. & Endl.) H. Robinson. In: HERMANN, M. AND HELLER, J. **Andean roots and tubers: Ahipa, arracacha, maca and yacon. Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops**. Rome: IPK, Gatersleben/ IPGRI. p.199-242, 1997.

GUEDES NETO, L.G.; CERQUEIRA, M.M.O.P.; PENNA, C.F.A.M. et al. Defeitos tecnológicos de leites fermentados. **Revista Leite e Derivados**, n. 74, p. 29-35, 2003.

HAQUE, A.; RICHARDSON, R.K.; MORRIS, E.R. Effect of fermentation temperature on the rheology of set and stirred yogurt. **Food Hydrocolloids**, v. 15, p. 593-602, 2001.

HARTE, F.; LUEDECKE, L.; SWANSON, B.; BARBOSA-CÁNOVAS, G.V. Low fat set yogurt made from milk subjected to combinations of high hydrostatic pressure and thermal processing. **J. of Dairy Sci.**, v.86, n.4, p.1074-1082, 2003.

HASLER, C.M. Functional foods: their role in disease prevention and health promotion. **Food Technology**, v.57, p.57-62, 1998.

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

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

HERMANN, M.; FREIRE, I.; PAZOS, C. Compositional diversity of the yacon storage root. In: Impact on a changing world. **Program Report. CIP**, Lima, p.199-242, 1997-1998.

HUSSEIN, S.H.; CAMPBELL, J.M.; BAUER, L.; FAHEY, G.C.; HOGARTH, A.J.C.L.; WOLF, B.W.; HUNTER, D.E. Selected Fructooligosaccharide composition of pet-food ingredients. **J. Nutr** 1998; 2803S-2805S.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz. Métodos Químicos e Físicos para Análise de Alimentos**, 4ª Ed. São Paulo, 2005. 2017p.

ITAYA, N.M.; CARVALHO, M.A.M.; RIBEIRO, R.C.L.F. Fructosyl transfers and hyfrolase activities in rhizophores and tuberous roots upon growth of *Polymnia sonchifolia* (Asteraceae). **Physiologia Plantarum**, v. 116, p. 451–459, 2002.

JENKINS, J.A.; KENDALL, C.W.C.; VUKSAN, V. Inulin, oligofructose and intestinal function. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 129, p. 1431s-1433s, 1999.

KAILASAPATHY, K.; RYBKA, S. *L. acidophilus* and *Bifidobacterium sp*: the therapeutic potential and survival in yogurt. **Australian Journal of Dairy Technology**, v. 52, n. 1, p. 28-35, 1997.

KAMIMURA, G.K.F. **Isolamento, purificação e caracterização da peroxidase de yacon (*Smallanthus sonchifolius*)**. Araraquara – SP: UNESP, 2006. 114 f. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade Estadual Paulista, 2006.

KAPULER, A.M.; GURUSIDDIAH, S. The twenty protein aminoacids free in the juices fout common vegetables and herbs. *Journal of Home & Consumer Horticulture*, v. 1, n. 1, p. 3-18, 1994. Apud: **Food Science and Techology Abstracts**, England, HU105, 1994.

KINOUCHI, F.L.; CARDELLO, H.M.B.; ROSSI, E.A.; TELAROLLI JÚNIOR, R. Aceitação do “iogurte” de soja entre adolescentes. **Alim. Nutr., São Paulo**, v. 13, p. 131-142, 2002.

KINSELLA, J.E. **Functional properties of proteins in foods: A Survey Critical Reviews in Food Science and Nutrition**. CRC Press Inc. Cleverland OH, 1976.

KLEIN, G. Taxonomy, ecology and antibiotic resistance of enterococci from food and gastro-intestinal tract. **International Journal of Food Microbiology**, v.88, p.123-131, 2003.

KOPP-HOOLIHAN, L. Prophylatic and therapeutical uses of probiotics: a review. **J. Am. Diet. Assoc.**, v. 101, p. 229-238, 2000.

LACHMAN, L.; HAVRLAND, B.; FERNANDÉZ, E.C.; DUDJAK, J. Saccharides os yacon [*Smallanthus sonchifolius* (Poepp. Et Endl.) H. Robinson] tubers and rhizomes and factors affecting their content. **Plant soil environment**, Czech Republic, v. 50, n. 9, p. 383-390, 2004.

LAROSA, G. **Desenvolvimento de biscoito doce contendo farinha de “okara”: aspectos tecnológicos, nutricionais e sensoriais**. Araraquara – SP: UNESP, 2003. 80p. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade Estadual Paulista, 2003.

LEE, Y.K.; NOMOTO, K.; SALMINEN, S.; GORBACH, S.L. **Handbook of probiotics**. New York: Wiley, 1999. 211p.

LEE, Y.K.; SALMINEN, S. The coming of age of probiotics. **Trends Food Sci. Technol.**, v. 6, p. 241-245, 1995.

LEITE, J.T.C.; PARK, K.J.; RAMALHO, J.R.P. Caracterização reológica das diferentes fases de extrato de inulina de raízes de chicória, obtidas por abaixamento de temperatura. **Eng. Agric.**, v.24, n.1, 2004.

LEONHARDT, C.; SANTOS, H.C.P.; MARCZAK, L.D.F.; ZAPATA-NOREÑA, C.P. Otimização do cozimento de filé de frango empanado em forno de injeção direta de vapor. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, 24(1): 043-046, jan-mar. 2004.

LEWIS, M.; DALE, R.H. Chilled yogurt and other dairy desserts. In: MAN, C.M.D.; JONES, A.A., eds. **Shelf life evaluation of foods**. New York: Blackie Academic and Professional, p. 127-147, 1996.

LOBO, A.R. **Efeito dos frutanos (frutooligossacarídeos) na biodisponibilidade de cálcio e magnésio em ratos**. São Paulo – SP: USP, 2004. 138f. Dissertação (Mestrado em Ciências dos Alimentos) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo, 2004.

LOBO, A.R.; FILISETTI, T.M.C.C. Bone mineral parameters in growing rats fed fructooligosaccharides. **Rev. Bras. Cienc. Farm.**, São Paulo, v. 39 (supl. 2), p. 67, 2003a.

LOBO, A.R.; FILISETTI, T.M.C.C. Yacon (*Polymnia sonchifolia*) flour containing fructooligosaccharides and its effects on bone mineral density and gastrointestinal parameters in growing rats. **Rev. Bras. Cienc. Farm.**, São Paulo, v. 39 (supl. 3), p. 36, 2003b.

MACHADO, S.R.; OLIVEIRA, D.M.T.; DIP, M.R.; MENEZES, N.L. Morfoanatomia do sistema subterrâneo de *Smallanthus sonchifolius* (Poepp. & Endl.) H. Robinson (Asteraceae). **Revs. Bras. Bot.**, v.27, n.1, 2004.

MAIA, M.J.L.; ROSSI, E.A.; CARVALHO, M.R.B. Qualidade e rendimento do leite de soja da Unidade de Produção de Derivados de Soja- UNISOJA- FCF-Ar/UNESP. **Alimentos e Nutrição** (UNESP), v. 17, p. 65-72, 2006.

MANNING, T.S.; GIBSON, G.R. Prebiotics. **Best Practice Research Clinical Gastroenterology** 2004; 18(2): 297-298.

MANZANO, G.P.P. **Aspectos sensoriais e físico-químicos de “iogurtes” de soja com espessantes/estabilizantes à base de fécula de inhame (*Dioscorea alata*), amido modificado e gelatina**. Araraquara – SP: UNESP, 2007. 93p. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade Estadual Paulista, 2007.

MANRIQUE, I.; PÁRRAGA, A. **Conservación y uso de la biodiversidad de raíces y tubérculos Andinos: Una década de investigación para el desarrollo (1993-2003). Jarabe de yacón: principios y procesamiento**. Lima: Centro Internacional de La Papa, 2005. 40p.

MEDEIROS, J. A batata que alimentou os incas. **Revista Globo Rural**, n. 185, mar. 2001. Disponível em: <http://globo rural.globo.com/barra.asp?d=/edic/185/grresponde1a.htm> Acesso 27 dez. 2007.

MESSINA, M.J. Modern applications for an ancient bean: soybeans and the prevention and treatment of chronic disease. **Journal of Nutrition**, v.125, n.3, p.567S-569S, 1995.

MESSINA, M.J. Soyfoods: their role in disease prevention and treatment. In: **Soybeans: chemistry, thecnology and utilization**. Gaithersburg: Aspen, 1999. cap.10, p.442-477.

MITIKO, E.I. Yacon como fonte de frutanos. In: WORKSHOP DE YACON: BASES RACIONAIS PARA A UTILIZAÇÃO DE UMA NOVA CULTURA, 1, 1997, Botucatu. **Anais...** Botucatu: Faculdade de Ciências Agrônômicas Universidade Estadual Paulista, 1997. CD-ROM.

MIYASAKA, S; MEDINA, J.C. 1ªEd - **A soja no Brasil** - ITAL. Campinas / SP. 1062p, 1981.

MODLER, H.W. Bifidogenic factors – Sources, metabolism and applications. **International Dairy Journal**, England, v. 4, p. 383-407, 1994.

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

MOSCATTO, J.A.; PRUDÊNCIO - FERREIRA, S.H.; HAULY, M.C.O. Farinha de yacon e inulina como ingredientes na formulação de bolo de chocolate. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v.24, n.4, 2004.

MOSCATTO, J.A.; BORSATO, D.; BONA, E.; OLIVEIRA, A.S.; HAULY, M.C.O. The otimization of the formulation for a chocolate cake containing inulin and yacon meal. **International Journal of Food Science and Technology**, v.41, n.2, p.181-188, 2006.

MOURA, C.P. **Aplicação de redes neuronais para a predição e otimização do processo de secagem de yacon (*Polymnia sonchifolia*) com pré-tratamento osmótico**. Curitiba – PR: UFPR, 2004. 115p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2004.

MULLER, V. **Alimentos Funcionais**, Duas Rodas – Acontece – Ano II, número 08, ago-set, p. 2-3, 2001.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Dietary reference intakes for energy, carbohydrate, fiber, fat, fatty acids, cholesterol, protein, and amino acids (macronutrients)**. In chapter 7: Fiber, Washington, D.C., p.339-397, 2005.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Lost crops of the Incas: little known plants of the Andes with promise for worldwide cultivation**. National Academy Press, Washington, D.C., 1989.

NIETO, C.C. Estudios agronómicos y bromatológicos em “jicama” (*Polymnia sonchifolia* Poepp. Endl.). **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, Caracas, v. 41, n. 2, p. 213-21, jun, 1991.

NINESS, K.R. Inulin and oligofructose: What are they? **Journal of Nutrition**, v.129, n.7, p.402- 6, 1999.

NITSCHKE, M.; UMBELINO, D.C. Frutooligossacarídeos: novos ingredientes funcionais. **Boletim SBCTA**, Campinas, 36(1): 27-34. jan. – jun., 2002.

OHYAMA, T.; ITO, O.; YASUYOSHI, S.; IKARASHI, T.; MINAMISAWA, K.; KUBOTA, M.; TSUKIHASHI, T.; ASAMI, T. Composition os storage carbohydrate in tubers of yacon (*Polymnia sonchifolia*). **J. Soil Sci. Plant Nutr.** Jpn. 36: 167-171, 1990.

OLIVEIRA, M.A.; NISHIMOTO, E.K. Avaliação do desenvolvimento de plantas de yacon (*Polymnia sonchifolia*) e caracterização dos carboidratos de reserva em HPLC. **Braz. J. Food Technol.**, v.7, n.2. p.215-220, 2004.

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

O’SULLIVAN, M.G.; THORNTON, G.; O’SULLIVAN, G.C.; COLLINS, J.K. Probiotic bacteria: myth or reality?. **Trends in Food Science and Technology**, Oxford, v. 2, p. 309-314, December, 1992.

PASSOS, L.M.; PARK, Y.K. Frutooligossacarídeos: implicações na saúde humana e utilização em alimentos. **Ciência Rural**, 2003; 33, n 2: 385-90.

PAULY, N.D.; BORSATO, D.; ROSSI, E.A. Avaliação sensorial do “iogurte” de soja, “iogurte” de soja com extrato de yacon (*Smallanthus sonchifolius*) e iogurte convencional: um estudo comparativo. In: 7º SIMPÓSIO LATINO AMERICANO DE CIÊNCIAS DE ALIMENTOS, 2007, Campinas. **Anais...** Campinas: 7ºSLACA, 2007. CD-ROM.

PAULY, N.D.; BORSATO, D.; ROSSI, E.A. Desenvolvimento de uma bebida fermentada à base de soja e de yacon (*Smallanthus sonchifolius*). In: 7º

SIMPÓSIO LATINO AMERICANO DE CIÊNCIAS DE ALIMENTOS, 2007, Campinas. **Anais...** Campinas: 7ºSLACA, 2007. CD-ROM.

PEDRESCHI, R.; CAMPOS, D.; NORATTO, G.; CHIRINOS, R.; ZEVALLOS, L.C.; Andean Yacon root (*Smallantus sonchifolius* Poepp. Endl) fructooligosaccharides as a potential novel source of prebiotics. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 5278-5284, 2003.

PENNA, A.L.B.; BARUFFALDI, R.; OLIVEIRA, M.N. Optimization of yogurt production using demineralized whey. **Journal of Food Science**. v.62, n.4, p.846-850, 1997.

PERIS, G.P.; LESMES, B.; CUERDA; COMPES, C.M.; ÁLVAREZ, C. Metabolismo colônico de la fibra. **Nutr. Hosp.** 2002; 17: 11-16.

PFEIFFER, C.; D'AUJOURD'HUI, J.W.; NUESSELI, J.; ESCHER, F. Optimizing food packaging and shelf life. **Food Technol.**, Chicago, v.52-59, 1999.

PINHEIRO, M.V.S. **Caracterização de iogurtes fabricados com edulcorantes, fermentados por cultura láctica probiótica**. 2003, 196 f. Dissertação (Mestrado em Ciências e Tecnologia de Alimentos). Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual "Júlio de Mesquita Filho". São José do Rio Preto, 2003.

PINTHONG, R.; MACRAE, R.; ROTHWELL, J. The development of a soya-based yoghurt. I. Acid production by lactic acid bacteria. **J. Food Technol.**, v.15, p.647 – 52, 1980.

POOL-ZOBEL, B.; VAN LOO, J.; ROWLAND, I.; ROBERFORID, M. Experimental evidences on the potential of prebiotic fructans to reduce the risk of colon cancer. **British Journal of Nutrition**, v. 87, suppl. 2, p. 273-281, 2002.

QUIJANO, F.G.; VILHENA, S.M.C.; LIMA, G.P.P.; CÂMARA, F.L.A. Atividade de peroxidase e polifenoloxidase durante armazenamento de yacon. **Horticult. Bras.** v. 18, p. 888-889, 2000.

QUINTEROS, E.T.T. **Produção com tratamento enzimático e avaliação do suco de yacon**. Campinas, 2000. 96 f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, 2000.

REDONDO, N.C.; BEDANI, R.; PAULY, N.D.; MIGUEL, D.P.; ROSSI, E.A. Sobrevivência do *Enterococcus faecium* CRL 183 às condições do Trânsito Gastrointestinal. In: **7º Simpósio Latino Americano de Ciência de Alimentos**, 2007. Campinas, 2007.

REDONDO, N.C. **Avaliação *in vitro* de características probióticas do *Enterococcus faecium* CRL 183 e do *Lactobacillus helveticus* ssp *jugurti* 416.** 2008. 93f. Dissertação (Mestre em Alimentos e Nutrição, Área Ciência dos Alimentos) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2008.

RENKEMA, J.M.S. Relations between rheological properties and network structure of soy protein gels. **Food Hydrocolloids**, n. 18, p. 39-47, 2004.

RIBEIRO, R.C.L.F. Distribuição, aspectos estruturais e funcionais dos frutanos, com ênfase em plantas herbáceas do cerrado. **Revista Brasileira Fisiologia Vegetal**, v. 5, n. 2, p. 203-208, 1993.

RIOS VIVOS. **Soja. Produção e Perspectivas.** Disponível em: http://www.riosvivos.org.br/canal.php?canal=133&mat_id=1188. Acesso em: 28/dez/2007.

ROBERFROID, M.B. **Chicory fructo-oligosaccharides and the gastrointestinal tract.** 2000; 16(7/8)677- 679.

ROBERFROID, M.B. Concepts in functional foods: the case of inulin and oligofructose. **J. Nutr.**, Bethesda, v.129, suppl.7, p.1398S-1401S, 1999.

ROBERFROID, M.B. Dietary fiber, inulin and oligofructose: a review comparing their physiological effects. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 33, n. 2, p. 103-148, 1993.

ROBERFROID, M.B. Functional food concept and its application to prebiotics. **Dig. Liver Dis.**, Rome, v.34, suppl.2, p.S105-S110, 2002.

ROBERFROID, M.B. Prebiotics: the concept revisited. **Journal of Nutrition**, v.137, p.830S-837S, 2007.

ROBERFROID, M.B.; DELZENNE, N.M. Dietary fructans. **Annu. Rev. Nutr.**, Palo Alto, v. 18, p. 117-43, 1998.

ROBINSON, R.K.; TAMIME, A.Y. Manufacture of yoghurt and other fermented milks. In: *Modern dairy technology: advances in milk products*. 2ed. London: Chapman & Hall, 1993. p.1-48.

RODRIGUES, M.I.; IEMMA, A.F. **Planejamento de Experimentos e Otimização de Processos:** Uma estratégia seqüencial de planejamentos. 2005. Campinas, SP: Editora Casa do Pão. 326p. 1ª edição.

ROLAND, N.; NUGON-BAUDON, L.; ANDRIEUX, C.; SZYLIT, O. Comparative study of the fermentative characteristics of inulin and different types of fibre in rats

inoculated with a human whole fecal flora. **British Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 74, p. 239-249, 1995.

ROSSI, E.A. **Desenvolvimento e avaliação biológica do potencial hipocolesterolêmico de um novo produto probiótico de soja**. 2000. 154p. Livre Docência – Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara/UNESP, Araraquara, SP. 2000.

ROSSI, E.A. **Formulação de um sucedâneo do iogurte a base de soro de leite e extrato aquoso de soja**. Londrina - PR: UEL, 1983. 65p. Dissertação (Mestrado em Ciências dos Alimentos)- Departamento de Tecnologia de Alimentos e Medicamentos, Universidade Estadual de Londrina, 1983.

ROSSI, E.A.; ROSIER, I.; DÂMASO, A.R.; CARLOS, I.Z.; VENDRAMINI, R.C.; ABDALLA D.S.P.; TALARICO, V.H.; MINTO, D.F. Determinação de isoflavonas nas diversas etapas do processamento de “iogurte” de soja. **Alim. Nutr.**, v.15, n.2, p.93-99, 2004.

ROSSI, E.A.; FARIA, J.B.; BORSATO, D.; BALDOCHI, F.L. Otimização de um sistema estabilizante para o “iogurte” de soja. **Alim. Nutr.**, v.2, p.83-92, 1990.

ROSSI, E.A.; GIORI, G.S.; HOLGADO, A.P.R.; VALDEZ, G.F. In vitro effects of *Enterococcus faecium* and *Lactobacillus acidophilus* on cholesterol. **Microbiologie-Aliments-Nutrition**, v.12, p.267-270, 1994.

ROSSI, E.A.; REDDY, K.V.; SILVA, R.S.F.S. Formulation of soy- whey yogurt using response methodology. **Arq. Biol. Tecno.**, v.27, p.387-390, 1984.

ROSSI, E.A.; SILVA, H.C.; BIANCHI, M.L.P. Redução de níveis de oligossacarídeos em “iogurte” de soja pelo uso de culturas lácticas. **Alim. Nutr.**, v.1, p. 37-46, 1989.

ROSSI, E.A.; VENDRAMINE, R.C.; CARLOS, I.Z.; OLIVEIRA, M.G.; VALDEZ, G.F. Efeito de um novo produto fermentado de soja sobre lípides séricos de homens adultos normocolesterolêmicos. **Archivos Latinamericanos de Nutricion**, v.53, n.1, 2003.

ROSSI, E.A.; VENDRAMINE, R.C.; CARLOS, I.Z.; PEI, Y.C.; VALDEZ, G.F. Development of a novel fermentad soymilk product with potential probiotic properties. **Eur. Foods Res. Technol.**, v.209, p.305-307, 1999.

SAAD, S.M.I. **Desenvolvimento de produos lácteos probióticos e simbióticos sólidos e semi-sólidos: desafios e perspectivas**. 2007. 144p. Livre Docência – Faculdade de Ciências Farmacêuticas de São Paulo/USP, São Paulo. 2007.

SAAD, S.M.I. Probióticos e prebióticos: o estado da arte. **Rev. Bras. Cienc. Farm.** vol.42, nº1. São Paulo. Jan./Mar. 2006.

SABOYA, L.V.; OETTERER, M.; OLIVEIRA, A.J. Propriedades profiláticas e terapêuticas de leites fermentados – uma revisão. **Bol. SBCT**, 31 (2): 176-187, jul/dez 1997.

SANDERS, M.E. Overview of functional foods: emphasis on probiotic bacteria. **Int. Dairy J.**, Amsterdam, v.8, p.341-347, 1998.

SANTANA, I.; CARDOSO, M.H. Raiz tuberosa de yacon (*Smallanthus sonchifolius*): potencialidade de cultivo, aspectos tecnológicos e nutricionais. **Cienc. Rural**, v. 38 n. 3 Santa Maria, May/June 2008.

SANTOS, G.C.; BEDANI, R.; ROSSI, E.A.. Utilização de resíduo de soja (okara) no desenvolvimento de um cereal matinal. **Rev. Alimentos e Nutrição** Araraquara-SP, v. 15, n. 1, p. 31-34, 2004.

SCUTTI, L.F. **O emprego de extratos aquosos de soja, milho verde e mandioca na obtenção de um produto fermentado com *Enterococcus faecium* e *Lactobacillus jugurti***. Araraquara - SP: UNESP, 1998. 118p. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição - Área de Ciências dos Alimentos)- Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista, 1998.

SCUTTI, L.F.; ROSSI, E.A. Propriedades profiláticas e terapêuticas das culturas lácticas. **Cadernos da Nutrição**, v. 12, p. 9-18, 1996.

SCHLEY, P.D.; FIELD, C.J. The immune-enhancing effects of dietary fibres and prebiotics. **Brit. J. Nutr.**, Cambridge, v. 87 (suppl. 2), p. S221-S230, 2002.

SCHOLZ-AHRENS, K.E.; SCHAAFSMA, G.; VAN DER HEUVEL, E.G.H.M.; SCHREZENMEIR, J. Effects of prebiotics on mineral metabolism. **Am. J. Clin. Nutr.**, Bethesda, v. 73 (suppl.), p. 459S-64S, 2001.

SCHOLZ-AHRENS, K.E.; SCHREZENMEIR, J. Inulin, oligofructose and mineral metabolism – experimental data and mechanism. **Brit. J. Nutr.**, Cambridge, v. 87 (suppl. 2), p. S179-S186, 2002.

SEIBEL, W. Funktionelle lebensmittel auf getreidebasis. Getreide Mehi und Bot., v. 52, p. 185-187, 1998. In: BEHRENS, J.H.; ROIG, S.M.; DA SILVA, M.A.P. Aspectos de funcionalidade, de rotulagem e de aceitação de extrato hidrossolúvel de soja fermentado e culturas lácteas probióticas. **Bol. SBCTA**, v. 34, p. 99-106, 2000.

SEMINARIO, J.; VALDERRAMA, M. **El yacon: fundamentos para el aprovechamiento de un recurso promisorio**. Lima, Peru: Centro Internacional de La Papa (CIP) Universidad Nacional de Cajamara, Agencia Suiza para El Desarrollo y La Cooperación (COSUDE), 2003. 60p. Disponível em: <<http://www.cipotato.org>>. Acesso em 28 jun.2008.

SETCHELL, K.D.R.; CASSIDY, A. Dietary isoflavones: biological effects and relevance to human health. **Am. Soc. Nutri. Sci.**, v.22, p.3166-3199, 1999.

SGHIR, A.; CHOW, J.M.; MACKIE, R.I. Continuous culture selection of bifidobacteria and lactobacilli from human faecal samples using fructooligosaccharide as selective substrate. **Journal of Applied Microbiology**, v. 85, p. 769-777, 1998.

SHAH, N.P. Functional foods from probiotics and prebiotics. **Food Technology**, v. 55, n. 11, p. 46-52, 2001.

SHIGUEMOTO, G.E. **Efeito do “iogurte” de soja suplementado com isoflavonas associado ao exercício físico resistido no metabolismo ósseo de ratas maduras ovariectomizadas**. 2004. 106f. (Mestre em Alimentos e Nutrição, área Ciência dos Alimentos) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2004.

SHIGUEMOTO, G.E.; ROSSI, E.A.; BALDISSERA, V.; GOUVEIA, C.H.; VALDEZ, G.F.; PEREZ, S.E.A. Isoflavone-supplemented soy yoghurt associated with resistive physical exercise increase bone mineral density of ovariectomized rats. **Maturitas**. V.57, p.261-270, 2007.

SILVA, E.B. **Processamento de bebida funcional à base do yacon (*Polymnia sonchifolia* Poepping & Endlicher)**. Curitiba – PR: UFPR, 2004. 96 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Federal do Paraná, 2004.

SILVA, E.B.; WATANABE, T.H.S.; CÂNDIDO, L.M.B. **Propriedades funcionais do yacon (*Polymnia sonchifolia* Poepping & Endlicher)**. In: VIII ENCONTRO REGIONAL SUL DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 2003, Curitiba. VIII ERSCTA - Alimentos, Tecnologia e Cidadania. Curitiba: SBCTA - Paraná, 2003.

SILVA, M.R.; FERREIRA, C.L.L.F.; COSTA, N.M.B. et al. Elaboração e avaliação de uma bebida láctea fermentada à base de soro de leite fortificada com ferro. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 56, n. 321, p. 7-14, 2001.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A.; TANIWAKI, M.H.; SANTOS, R.F.S.; GOMES, R.A.R.. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos** – 3ª.ed. São Paulo: Livraria Varela, 2007. v.1. 536 p.

SILVA, R.A.; BORSATO, D.; SILVA, R.S.F. Método simplex supermodificado como estratégia de otimização para respostas combinadas em sistemas alimentares. **Ciê. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v.20, n.3, 2000.

SIMONOVSKA, B; VOVK, I.; ANDRENESEK, S.; VALENTOVA, K.; ULRICHOVA, J. Investigation of phenolics acids in yacon (*Smallanthus sonchifolius*) leaves and tubers. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, 2003.

SIVIERI, K. **Caracterização e otimização do uso de miméticos de gordura em bebidas lácteas**. São Paulo – SP: USP, 2002. 151p. Dissertação (Doutorado em Tecnologia Bioquímico- Farmacêutica- Área de Tecnologia de Alimentos)- Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, 2002.

SIVIERI, K.; PAULY, N.D.; SPINARDI-BARBISAN, A.L.T.; BARBISAN, L.F.; BEDANI, R.; CARLOS, I.Z.; BENZATTI, F. ; ROSSI, E.A. A probiotic strain of *Enterococcus faecium* CRL183 reduces DMH-induced large intestinal tumors in male Wistar rats. In: **European Cancer Conference**, 2007, Barcelona. *European Journal of Cancer*, v. 5, p. 86-86, 2007.

SIVIERI, K.; SPINARDI-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 chemical induced colon cancer in male Wistar rats. **European Food Research and Technology**, v.228, p.231-237, 2008.

SOUZA, G. Fatores de qualidade do iogurte. **Colet. Inst. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v.21, n.1, p.20-27, 1990.

SPIEGEL, J.; ROSE, R.; KARABELL, FRANKOS, V.H.; SCHIMTT, F. Safety and benefits of fructooligosaccharides as food ingredients. **Food Technology**, 1994; jan: 85-89.

STATISTICA v. 7.1 For Windows. Tulsa, OK: Statsoft Inc. Software, 2006.

STONE, H.; SIDEL, J.L. **Sensory evaluation practices**. 2nd ed. London: Academic Press, 1993. 338p.

TAMINE, A.Y.; MARSHALL, V.M.E.; ROBINSON, R.K. Microbiological and technological aspects of milks fermented by bifidobacteria. **Journal of Dairy Reserch**. N.62, p.151-187, 1995.

TAMIME, A.Y.; ROBINSON, R.K. **Yoghurt: science and technology**. Oxford: Pergamon, 1985. 431p.

UMBELINO, D.C. **Aspectos tecnológicos e sensoriais do “iogurte” de soja enriquecido com ferro e cálcio**. Araraquara - SP: UNESP, 1999. 108p. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição - Área de Ciências dos Alimentos)- Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 1999.

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

UMBELINO, D.C.; CARDELLO, H.M.A.B.; ROSSI, E.A. Efeito de diferentes sais de ferro sobre as características sensoriais do “iogurte” de soja. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion.** v. 51, nº2, p.199-202, 2001.

UFSC, Universidade Federal de Santa Catarina Departamento de Química. **Batata yacon.** 2002. Disponível em: http://www.quimica.matrix.com.br/artigos/batata_yacon.html. Acesso em 19 dez. 2007.

VALIM, M.F.; ROSSI, E.A.; SILVA, R.S.F.; BORSATO, D. Sensory acceptance of a functional beverage on orange juice and soymilk. **Bras. J. Food Technol.**, v.6, n.2, p.153-156, 2003.

VAN LOO, J.; CUMMINGS, J.; DELZENE, N.; ENGLYST, H.; FRANCK, A.; HOPKINS, M.; KOK, N.; Mc FARLANE, G.; NEWTON, D.; QUIGLEY, M.; ROBERFROID, M.B.; AN VLIET, T.; VAN DEN HEUVEL, E. Functional food properties of non-digestible oligosaccharides: a consensus report from the ENDO project (DGXII AIRII – CT94- 1094). **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 81, p. 121-132, 1999.

VENDRAMINI, A.P. **Efeito da ingestão de um produto de soja fermentado com *Enterococcus faecium* e *Lactobacillus helveticus* na produção de citocinas, óxido nítrico e peróxido de hidrogênio.** 2002. 96p. Dissertação (Mestrado em Análises Clínicas). Fac. De Ciênc. Farm. De Araraquara/UNESP, Araraquara, SP.

VENTURA, F.C. **Desenvolvimento de doce de fruta em massa funcional de valor calórico reduzido, pela combinação de goiaba vermelha e yacon desidratado osmoticamente e acerola.** Campinas – SP: UNICAMP, 2004. 194p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2004.

VILHENA, S.M.C; CÂMARA, F.L.; KADIHARA, S.T. O cultivo do yacon no Brasil. **Horticultura Brasileira.** v. 18, n. 1, p. 5-8, 2000.

VISCARRA, R.V. **Biofermentação láctica de extrato aquoso de soja e soro de leite por *Lactobacillus casei*.** Curitiba, UFPR, 1995. 94p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Química) – Setor de Tecnologia da Universidade Federal do Paraná, 1995.

WANG, X.; GIBSON, G.R. Effects of the in vitro fermentation of oligofructose and inulin by bacteria growing in the human large intestine. **Journal of Applied Bacteriology**, Oxford, v. 75, p. 373-380, 1993.

WEI, B.; HARA, M. YAMAUCHI, R.; UENO, Y.; KATO, K. Fructooligosaccharides in the tubers of Jerusalem artichoke and yacon. **Research Bulletin of the Faculty of Agriculture**, Gifu University, v.56, p.133-138, 1991. Apud: **Food Science and Technology Abstracts J0088**, England, 1992.

WOLEVER, T.M.S. Short-chain fatty acids and carbohydrate metabolism. In: CUMMINGS, J.H.; ROMBEAU, J.L.; SAKATA, T. eds. **Physiological and clinical aspects of short-chain fatty acids**. Cambridge: Cambridge University Press, 1995. p. 483-493.

YUN, J.W. Fructooligosaccharides – occurrence, preparation and application. **Enzyme and Microbial Technology**, New York, v. 19, p. 107-117, 1996.

ZANDSTRA, H.; SCOTT, G.J. A global research agenda for horticultural crops: CIP and the role of roots and tubers. **Acta-Horticult.** v. 495, p. 363-372, 1999.

ZARDINI, E. Ethno botanical notes on yacon, *Polymnia sonchifolia* (Asteraceae). **Economic Botany**, New York, v.45, n.1, p.72-85, 1991.

ZIEMER, C.J.; GIBSON, G.R. An overview of probiotics, prebiotics and synbiotics in the functional food concept: perspectives and future strategies. **Int. Dairy J.**, Amsterdam, v.8, p.473-479, 1998.

9. *Anexos*

Anexo 1. Modelo de ficha utilizada na avaliação sensorial dos produtos fermentados.

Nome: _____ Data: _____

Você tem o costume de consumir produtos à base de soja?

R.: _____

Prove a amostra e indique na escala sua opinião em relação aos atributos em questão.

SABOR

N.º amostra	Desgostei muitíssimo	Gostei muitíssimo
_____	_____	

IMPRESSÃO GLOBAL

N.º amostra	Desgostei muitíssimo	Gostei muitíssimo
_____	_____	

Assinale, para esta amostra, qual seria sua atitude quanto à compra do produto:

- () eu certamente não compraria este produto
- () eu provavelmente não compraria este produto
- () tenho dúvidas se compraria ou não este produto
- () eu provavelmente compraria este produto
- () eu certamente compraria este produto

Comentários: _____

Anexo 2. Modelo de questionário aplicado aos julgadores.

Nome: _____ Data: ____/____/____

1. Sexo: () masculino () feminino

2. Idade: ____ anos

3. Professor () Funcionário () Aluno Pós-Graduação () Aluno Graduação ()

4. Por favor, marque na escala da esquerda o quanto você gosta ou desgosta de iogurte, e na da direita, a frequência com que você costuma consumi-lo.

() gosto muitíssimo

() gosto muito

() gosto moderadamente

() gosto ligeiramente

() nem gosto/nem desgosto

() desgosto ligeiramente

() desgosto moderadamente

() desgosto muito

() desgosto muitíssimo

() Consumo muito (todos os dias)

() Consumo moderadamente (até três vezes por semana)

() Consumo pouco (uma vez por semana)

() Consumo ocasionalmente (até 1 vez por mês)

() Nunca consumo

5. Você consome algum tipo de produto à base de soja? () sim () não

6. Qual o motivo do consumo? (Pode ter mais de uma resposta)

() saudável

() agradável

() necessidade

() outros

7. Se não, qual o motivo do não consumo?

() não gosta

() preço

() nunca provou

() falta de hábito

() outros

8. Qual a frequência de consumo destes produtos?

() diariamente

() semanalmente

() quinzenalmente

() mensalmente

() esporadicamente

Anexo 3. Composição química do extrato aquoso de soja (%).

Componentes (%)	Extrato aquoso de soja
Umidade	91,8
Proteínas	3,0
Lipídeos	1,4
Carboidratos	3,5
Cinzas	0,3

Fonte: DUTRA de OLIVEIRA et al., 1982.