

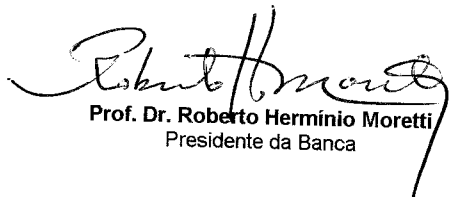
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS

**CARACTERIZAÇÃO DE EXTRATOS DE SOJA OBTIDOS DE GRÃOS,
FARINHA INTEGRAL E ISOLADO PROTÉICO VISANDO À FORMULAÇÃO
E AVALIAÇÃO BIOLÓGICA (EM COELHOS) DE BEBIDA FUNCIONAL
À BASE DE EXTRATO DE SOJA E POLPA DE PÊSSEGOS**

PARECER

Este exemplar corresponde à
redação final da tese defendida por
Rosane da Silva Rodrigues,
aprovada pela Comissão Julgadora
em 20 de agosto de 2003.

Campinas, 20 de agosto de 2003.



Prof. Dr. Roberto Hermínio Moretti
Presidente da Banca

Rosane da Silva Rodrigues

Engenheira Agrônoma

Prof. Dr. Roberto Hermínio Moretti

Orientador

Tese apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual
de Campinas para obtenção do Título de Doutor em Tecnologia de Alimentos.

CAMPINAS - SP
2003

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
SEÇÃO CIRCULANTE

UNIDADE	B.C.
Nº CHAMADA	11111111
V	EX
TOMBO BCI	55653
PROC.	16-12 4/03
C	☐
D	☒
PREÇO	R\$ 11,00
DATA	12/9/03
Nº CPD	

CM00188943-3

Bib id 300070

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DA F.E.A. – UNICAMP

R618c Rodrigues, Rosane da Silva
Caracterização de extratos de soja obtidos de grãos, farinha integral e isolado protéico visando à formulação e avaliação biológica (em coelhos) de bebida funcional à base de extrato de soja e polpa de pêssegos / Rosane da Silva Rodrigues. – Campinas, SP: [s.n.], 2003.

Orientador: Roberto Hermínio Moretti
Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos.

1.Soja. 2.Extrato de soja. 3.Bebidas. 4.Colesterol.
5.Bifidobactérias. I.Moretti, Roberto Hermínio.
II.Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos. III.Título.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Roberto Hermínio Moretti – FEA/UNICAMP
(Orientador)

Dr^a Eliete Vaz de Faria – ITAL
(Membro)

Dr. João Ernesto de Carvalho – CPQBA/UNICAMP
(Membro)

Prof. Dr. Nélson Horácio Pezoa Garcia – FEA/UNICAMP
(Membro)

Prof^{fa} Dr^a Neura Bragagnolo – FEA/UNICAMP
(Membro)

Dr. Roberto Machado de Moraes – ITAL
(Membro)

Um tempo para cada coisa

*Para tudo há um tempo,
para cada coisa há um momento debaixo dos céus:*

*Tempo para nascer, e tempo para morrer;
tempo para plantar, e tempo para arrancar
o que foi plantado;*

*tempo para matar, e tempo para sarar;
tempo para demolir, e tempo para construir;*

*tempo para chorar, e tempo para rir;
tempo para gemer, e tempo para dançar;
tempo para atirar pedras, e tempo para ajuntá-las;
tempo para dar abraços, e tempo para apartar-se.*

*Tempo para procurar, e tempo para perder;
tempo para guardar, e tempo para jogar fora;
tempo para rasgar, e tempo para costurar;
tempo para calar, e tempo para falar;
tempo para amar, e tempo para odiar;
tempo para a guerra, e tempo para a paz.*

(Eclesiastes 3, 1-8)

*Recebei a instrução como uma grande soma de prata,
e possuireis nela grande quantidade de ouro.
Que vossa alma se regozije na misericórdia de Deus!
E não sereis humilhados quando O louvardes.
Cumprí vossa tarefa antes que o tempo passe e,
no devido tempo, Ele vos dará a recompensa.*

(Eclesiástico 51, 36-38)

*Ao Flavio João,
por tudo o que representa
na minha vida,
dedico.*

*A meus pais, Reneu e Virgínia,
pelo exemplo de vida,
por terem me indicado o caminho
e estimulado a segui-lo.
Minha eterna gratidão.*

AGRADECIMENTOS

Ao prof. Roberto Hermínio Moretti, pela orientação.

A Universidade Federal de Pelotas pelo estímulo a qualificação e pelo suporte financeiro.

A CAPES, pelo apoio financeiro.

A FAPESP, pelo auxílio financeiro ao projeto.

Aos colegas do Departamento de Ciência de Alimentos da UFPel, pelo apoio. Em especial a Jane, pelo incentivo e a Miriam e Márcia, pela presença durante o período de afastamento.

A minha família, pelo apoio silencioso.

Ao Flávio, pelo apoio pessoal e profissional em todas as fases do trabalho. Por seu amor generoso, fundamental para que tivéssemos uma excelente estada em Campinas.

Aos amigos do sul sempre presentes, Débora, Rinaldo, Miriam, Antônio, Márcia, Graçaliz, Eduardo e Sula.

Aos amigos gaúchos Álvaro e Elizabete, Paulo e Márcia, Valmir e Fernanda, pelo convívio em Campinas.

Aos funcionários do DTA/FEA, em especial a Ana Koon, Priscila Ferraz e Ana Lourdes Gandara, pelo auxílio técnico, paciência e amizade.

A Maria Fernanda e Maria Luzenira, pelo convívio nas disciplinas e pela amizade.

Ao apoio inestimável da Daniela, Elisângela, Karina, Maria Fernanda e Patrícia na execução da primeira parte do trabalho e pelo carinho.

A Samantha Marchesini que atuou como estagiária na primeira fase.

A Sementes Brejeiro, Protein Technology International, Perdigão e Demarchi Congelados, pelo fornecimento das matérias-primas.

A Prefeitura de Nova Odessa, pela cessão da vaca mecânica. Em especial ao Marco e ao Édson pela atenção dispensada.

Ao Dr. Roberto Machado de Moraes (ITAL), pelo uso do desodorizador de extrato de soja, pelas sugestões, amizade e ensinamentos de vida.

A Prof^a Helena Maria Cardello, pela orientação na avaliação sensorial.

A Ângela Maria Gozzo, pela ajuda nas análises de reologia.

Ao Centro Nacional de Pesquisa de Soja da EMBRAPA, pela determinação de isoflavonas. Em especial a Dr^a Mercedes Carrão-Panizzi pelo estímulo e sugestões.

A Divisão de Farmacologia e Toxicologia do CPQBA/UNICAMP, pela cessão das instalações para a condução do ensaio biológico. A todo o pessoal da divisão pela acolhida. Em especial ao Dr. João Ernesto de Carvalho, pelo estímulo e valiosas sugestões. A Ana Possenti, pela inestimável ajuda e pelo seu contagiante modo simples e autêntico de encarar a vida. A Carolina Salgado que, como estagiária participou com profissionalismo e esmero do experimento e como amiga soube amenizar os momentos difíceis. Ao Orlando, pela ajuda, pelos momentos divertidos e pela amizade.

A Prof^a Neura Bragagnolo, Tatiana Saldanha e Mônica Mazalli do Laboratório de Química de Alimentos/DCA/FEA, pelas análises cromatográficas de colesterol.

Ao Dr. Waldemar Antônio Páffaro Júnior do Departamento de Histologia e Embriologia/IB/UNICAMP, pela análise planimétrica das aortas.

Ao Leonardo Rangel, pelo auxílio na análise estatística.

A Marinalda, pela amizade e apoio logístico.

Aos colegas do DTA: Alessandra, Amanda, Ana Vânia, Daniela F., Daniela M., Elisângela, Fernanda, Gabriela, Gisele, Karina, Leonel, Luciane, Luciano, Maria Fernanda, Maria Luzenira, Marinalda, Patrícia P., Patrícia Z., Paulo B., Paulo T., Rafaella e tantos outros que, de alguma forma, se fizeram presente.

Aos membros da banca examinadora pelas contribuições na tese.

A Deus, pela vida e por ter colocado todas estas pessoas no meu caminho.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	xix
ABSTRACT.....	xxi
INTRODUÇÃO.....	1

Capítulo 1

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1. Revisão bibliográfica.....	7
1.1. Soja: aspectos econômicos e de produção.....	7
1.2. Extrato de soja.....	8
1.3. Bebidas de soja.....	12
1.4. Soja como alimento funcional.....	14
1.5. Soja e as doenças cardiovasculares.....	19
1.6. Referências bibliográficas	25

Capítulo 2

AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E SENSORIAL DE EXTRATOS OBTIDOS DE GRÃOS, FARINHA INTEGRAL E ISOLADO PROTÉICO DE SOJA

1. Introdução.....	41
2. Material e métodos	44
2.1. Matérias-primas utilizadas.....	44
2.2. Obtenção do extrato hidrossolúvel de soja.....	44
2.3. Determinações físicas, químicas e físico-químicas.....	44
2.4. Avaliação sensorial.....	47
3. Resultados e discussão.....	49
4. Conclusões.....	72
5. Referências bibliográficas.....	74

Capítulo 3

FORMULAÇÃO DE BEBIDA FUNCIONAL À BASE DE EXTRATO DE SOJA E POLPA DE PÊSSEGOS

1. Introdução.....	85
2. Material e métodos.....	88
2.1. Matérias-primas utilizadas.....	88
2.2. Elaboração da bebida à base de extrato de soja e polpa de pêssegos.....	88
2.3. Planejamento experimental.....	89
2.4. Determinações físicas, químicas e físico-químicas.....	90
2.5. Avaliação sensorial.....	91
3. Resultados e discussão.....	93
4. Conclusões.....	115
5. Referências bibliográficas.....	116
Apêndice.....	123

Capítulo 4

AVALIAÇÃO DE PROPRIEDADES FUNCIONAIS DE BEBIDA À BASE DE EXTRATO DE SOJA E POLPA DE PÊSSEGOS

1. Introdução.....	129
2. Material e métodos.....	131
2.1. Bebida teste.....	131
2.2. Ensaio biológico.....	132
2.3. Determinações bioquímicas.....	134
2.4. Coleta da artéria aorta.....	135
2.5. Determinação planimétrica de placas lipídicas na artéria aorta.....	135
2.6. Determinação cromatográfica de colesterol total na aorta.....	136
2.7. Avaliação microbiológica nas fezes.....	137
2.8. Análise estatística.....	138

	Página
3. Resultados e discussão.....	139
4. Conclusões.....	162
5. Referências bibliográficas.....	165
Apêndice.....	171

RESUMO

RODRIGUES, R. da S. Caracterização de extratos de soja obtidos de grãos, farinha integral e isolado protéico visando à formulação e avaliação biológica (em coelhos) de bebida funcional à base de extrato de soja e polpa de pêssegos. Campinas. 2003. 177p. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2003.

Bebidas de extrato de soja com suco de frutas têm-se mostrado uma excelente alternativa para o aproveitamento e a introdução da soja na dieta humana. Aos consumidores, além dos benefícios nutricionais e funcionais atribuídos à soja, as bebidas devem atender a características sensoriais esperadas, mantendo os constituintes presentes nas matérias-primas de origem. O trabalho teve por objetivos avaliar extratos de soja obtidos de diferentes matérias-primas (grãos, farinha integral e isolado protéico de soja). O extrato mais aceito sensorialmente foi utilizado para a elaboração de bebida à base de soja e polpa de pêssegos, com teor protéico superior a produtos similares existentes no mercado, preservando ao máximo a sua qualidade tecnológica e sensorial. A bebida foi avaliada quanto às suas propriedades como alimento funcional relativamente a sua influência sobre os níveis de colesterol sanguíneo e crescimento de bactérias bífidas intestinais, utilizando coelhos como modelo experimental. Extratos com 3% de proteína foram obtidos a partir de grãos (em equipamento conhecido como “vaca mecânica”), a partir de farinha integral e isolado protéico (por dissolução em água), e pasteurizados a $74\pm 2^{\circ}\text{C}$ por 15seg. As matérias-primas e os correspondentes extratos diferiram entre si quanto à composição físico-química. Observou-se menores perdas dos teores de sacarose e oligossacarídeos no extrato proveniente da farinha comparativamente ao dos grãos e ausência de oligossacarídeos no extrato obtido do isolado. Os perfis de aminoácidos nos grãos e na farinha integral foram similares e quantitativamente superiores ao do isolado. Na elaboração do extrato a partir dos grãos de soja, ocorreu redução de 15 e 11% de aminoácidos essenciais e não-essenciais, respectivamente. O teor de isoflavonas foi maior na farinha, no isolado protéico e nos grãos de soja, nesta ordem, verificando-se a redução de 0,3, 4,9 e 8,1% no teor total, bem como alteração nas frações β -glicosídicas, malonil-glicosídicas e agliconas que passaram da relação 40:57:3, 28:65:7 e 16:83:1, respectivamente, nas matérias-primas, para 62:28:10, 76:17:7 e 66:31:3, nos extratos correspondentes. Os extratos diferenciaram-se também quanto ao comportamento reológico, apresentando maior viscosidade aquele oriundo dos grãos, farinha e isolado, nesta ordem. Os extratos obtidos dos grãos e de isolado protéico de soja mostraram similar aceitação em relação aos atributos avaliados (cor, aroma, sabor, textura e impressão global), superando o extrato obtido de farinha integral de soja. Considerando a boa aceitação e a composição físico-química e nutricional, o extrato obtido de grãos de soja foi escolhido para utilização na formulação de bebida com polpa de pêssegos. Foram formuladas 18 bebidas à base de extrato de grãos de soja e polpa de pêssegos, açúcar e estabilizante, de acordo com um planejamento experimental fatorial completo (2^3 com 4 pontos centrais e 6 axiais) e análise de superfície de

resposta, às quais adicionou-se corante urucum, aroma de pêssego, ácido cítrico e conservador do tipo parabenos, seguido de pasteurização (80-85°C, 20seg). As variáveis independentes proteína de soja (1,5 a 2,5%), estabilizante (0,12 a 0,16%) e açúcar (8 a 12%) tiveram efeito significativo ($p \leq 0,05$) sobre os teores de sólidos solúveis, acidez, cor, viscosidade e aceitabilidade das bebidas. O percentual de proteína de soja foi o fator determinante da aceitação, considerando os atributos cor, aroma, sabor, textura e impressão global. O percentual de estabilizante teve maior efeito sobre os atributos textura e impressão global, enquanto que o percentual de açúcar foi mais efetivo em relação ao sabor e à impressão global. A bebida mais aceita foi a formulada com extrato de soja contendo 2% de proteína, polpa de pêssegos, 10% de açúcar e 0,14% de estabilizante, correspondente ao ponto central do planejamento experimental. A mesma foi utilizada em ensaio biológico com coelhos (4 grupos de 6 animais cada) durante 105 dias (Fase 1). Um grupo de animais (controle) foi alimentado com ração comercial, um outro grupo recebeu ração comercial mais 50mL da bebida e dois grupos foram induzidos à hipercolesterolemia pela ingestão diária de 200mg de colesterol associado com a ração comercial, um destes recebendo juntamente a bebida. A bebida mostrou-se efetiva para o controle dos níveis séricos de colesterol total, HDL-colesterol e triacilglicerídeos e a formação de placas lipídicas na aorta dos animais induzidos à hipercolesterolemia. Nos animais normocolesterolêmicos, observou-se que a bebida proporcionou redução nos níveis de HDL e aumento de triacilglicerídeos. Nos coelhos hiper e normocolesterolêmicos a bebida aumentou os níveis séricos de glicose, mas não interferiu no ganho de peso. Ocorreu o incremento de um ciclo logarítmico na contagem de bifidobactérias avaliadas nas fezes dos animais que ingeriram a bebida. Os efeitos observados foram confirmados na continuidade do ensaio por mais 120 dias (Fase 2), quando inverteu-se a dieta dos grupos hipercolesterolêmicos: os animais induzidos à hipercolesterolemia (dieta composta por ração e 0,2% de colesterol) por 105 dias receberam em continuidade a bebida por 120 dias, e os animais que consumiram dieta composta por ração comercial, acrescida de colesterol e bebida durante 105 dias, tiveram suprimida a bebida nos 120 dias subseqüentes.

Palavras-chave: soja; extrato de soja; bebida de soja; colesterol; bifidobactérias; coelhos.

ABSTRACT

Rodrigues, R. da S. **Characterization of soymilk obtained from soybean, whole soy flour and isolated soy protein, for the formulation and biological evaluation (in rabbits) of a functional beverage composed of soymilk and peaches pulp.** Campinas. 2003. 177p. Thesis (Doctor in Food Technology) – Faculty of Food Engineering, State University of Campinas, Campinas, 2003.

Beverages based on soymilk and fruit juice have been an excellent option for the utilization and introduction of soy in the human diet. To the consumers, besides nutritional and functional benefits attributed to the soy, the beverages must attend the expected sensorial characteristics, keeping the original constituents of the raw materials. Soy extracts (soymilk) obtained from different raw materials (soybeans, whole soy flour and isolated soy protein) were evaluated. The most sensorially accepted extract was used to elaborate a beverage based on soymilk and peaches pulp. The protein content was higher than the similar products in the market, preserving the maximum technological and sensory quality. The beverage was evaluated regarding its influence like functional food related to the cholesterol blood levels and growth of intestinal bifidobacteria, using rabbits as the experimental model. Extracts with 3% of protein were obtained from three different sources: soybeans (in a specific equipment), whole soy flour and isolated soy protein (for dissolution in water), and pasteurized at $74\pm 2^{\circ}\text{C}$ for 15sec. The raw materials and the respective extracts were different regarding the physical-chemical composition. It was observed that the saccharose and oligosaccharides contents had lower losses in the extract originated from the flour comparatively to the one from the soybeans and the absence of oligosaccharides in the extract obtained from the isolated. The aminoacid profiles in the soybean and in the whole soy flour were similar and their amount was higher in the isolated soy protein. In the extract elaboration from the soybean a reduction of 15 and 11% of essential and non-essential aminoacid, respectively, was verified. Flour, isolated protein and soybean, in this order, showed a higher Isoflavones content and a reduction of 0.3, 4.9 and 8.1% in the total content in the extract. The fractions of β -glucosides, malonyl-glucosides and aglycones changed from the relation 40:57:3, 28:65:7 and 16:83:1, respectively, in the raw materials, to 62:28:10, 76:17:7 and 66:31:3, in the corresponding extracts. The extracts were also different according to the reological behavior. The viscosity was higher in soybean, flour and isolated extracts, in this order. The extracts obtained from the soybean and isolated soy protein had similar acceptance based on the evaluated attributes (color, aroma, flavor, texture and overall impression), overcoming the extract obtained from the whole soy flour. Considering the good acceptance and the physical-chemical and nutritional composition, the extract obtained from soybean was chosen to elaborate the beverage with peaches pulp. Eighteen beverages formulations made of soybean extract and peaches pulp, sugar and stabilizer, according to an complete factorial design (2^3 with 4 central points and 6 axial points) and surface response analysis were formulated. Pigment ("urucum"), peach aroma, citric acid and paraben preservatives were added, followed by pasteurization ($80-85^{\circ}\text{C}$, 20sec). The independent variables soy protein (1.5 at 2.5%), stabilizer (0.12 at 0.16%) and sugar (8

at 12%) had significant effect ($p \leq 0,05$) in the soluble solid, acidity, color, viscosity and acceptability of the beverage. The percentage of soy protein was the acceptance determinant factor, considering the attributes color, aroma, flavor, texture and overall impression. The percentage of stabilizer had higher effect on the attributes texture and overall impression, while the percentage of sugar was more effective regarding the flavor and the overall impression. The most accepted beverage was the one formulated with soybean extract using 2% of protein, peaches pulp, 10% of sugar and 0,14% of stabilizer, corresponding to the experimental design central point. This beverage was used in biological assay with rabbits (4 groups of 6 animal each) during 105 days (Phase 1). The control group was fed with commercial meal, other group received commercial meal more 50mL of the beverage and the other two groups were induced to hypercholesterolemia by the daily ingestion of 200mg of cholesterol added to the commercial meal, one of these also receiving the beverage. The beverage was effective for the total cholesterol control levels in the blood, HDL-cholesterol and triglycerides and the aorta's lipidic plaques formation in the animals induced to hypercholesterolemia. In the normocholesterolemic animals the beverage provided reduction in HDL's levels and increased the triglycerides. In the hyper and normocholesterolemic rabbits the beverage increased the glucose blood levels, but it didn't interfere in the weight gain. Bifidobacteria counting evaluation in the animals' feces that ingested the beverage increased in one logarithmic cycle. The observed effects were confirmed by the assay continuity for more 120 days (Phase 2). Hypercholesterolemic groups diet was inverted: the animals induced to hypercholesterolemia (diet composed by meal and 0,2% of cholesterol) during 105 days received in continuity the beverage for 120 days, and the animals that consumed diet composed by commercial meal plus cholesterol and beverage during 105 days, had suppressed the beverage during 120 subsequent days.

Key-words: soy; soymilk; soy beverage; cholesterol; bifidobacteria; rabbits.

INTRODUÇÃO

A soja, no Brasil, é um dos principais produtos agrícolas de importância econômica, tendo sua produção atingido volumes recordes nos últimos anos, passando a liderar o volume de exportação mundial na safra 2002/2003 (Panorama Brasil, 2003).

Os grãos de soja são utilizados sobretudo para a extração de óleo vegetal, sendo a torta ou farelo resultantes, empregados principalmente como matérias-primas para ração animal. Os produtos protéicos de soja como farinha, isolado e concentrado, têm sido utilizados principalmente como melhoradores tecnológicos de alimentos industrializados.

Na alimentação humana, em face o elevado potencial de produção, baixo custo e valor nutricional, a soja tem sido destacada como importante fonte protéica vegetal notadamente para populações com escassez de alimentos e desnutrição (Liu, 2000).

Pesquisas têm evidenciado que a soja, além do seu potencial nutritivo, é um alimento importante para a prevenção de doenças o que vem estimulando o seu consumo pela população em geral. Populações asiáticas, em virtude do costume milenar de se alimentarem com grandes quantidades de soja e produtos derivados, apresentam baixa incidência de enfermidades como câncer de mama e de próstata, osteoporose e doenças cardiovasculares, além de rara manifestação dos sintomas adversos da menopausa (Messina *et al.*, 1994b). Em países ocidentais, incluindo o Brasil, essas doenças são endêmicas. A utilização da soja e derivados regularmente na alimentação pode refletir em consideráveis benefícios à saúde pública quanto à manutenção da saúde e prevenção de enfermidades.

No Brasil, a utilização da soja na alimentação humana, na forma direta ou em produtos como ingrediente principal, ainda é incipiente, devido a fatores de rejeição associados a determinados atributos sensoriais característicos destes produtos que,

não obstante a aplicação de tecnologias adequadas para o seu controle, ainda não lograram eficiência para aumentar a sua aceitação pela população.

A associação de produtos derivados da soja com outros usualmente consumidos tem se mostrado uma excelente estratégia para incrementar o hábito do seu consumo. Também, a associação de produtos à base de soja com frutas tem mostrado excelente compatibilidade pois a cor, o sabor e o aroma das mesmas minimizam o impacto sensorial indesejável da soja e agrega elementos nutricionais e funcionais aos produtos resultantes. O Brasil detém grande variedade e disponibilidade de frutas que propiciam o desenvolvimento de produtos com sabores e misturas peculiares, indo ao encontro à crescente preocupação dos consumidores com a saúde.

O mercado nacional tem oferecido bebidas que associam o extrato de soja a sucos de frutas com boa aceitação pelo consumidor, as quais são formuladas com uma quantidade de proteína de soja relativamente baixa, de 0,6 a 1,4%, limitada, em grande parte, pelas dificuldades tecnológicas para a estabilização da bebida e aos atributos sensoriais negativos associados à soja.

Em 1999, a *Food and Drug Administration* (FDA, 1999) aprovou a alegação nutricional em base à ingestão diária de 25g de proteína de soja para a obtenção de efeitos de prevenção e/ou redução de doenças cardíacas, considerando-se uma dieta pobre em gordura saturada e colesterol. Contudo, a definição dos compostos e dos mecanismos envolvidos, bem como da quantidade efetivamente necessária para a caracterização de suas propriedades de saúde, ainda não são conclusivos e vêm sendo intensamente pesquisados.

Considerando-se a grande disponibilidade de matéria-prima, o baixo custo e o aporte nutritivo e de saúde, é de primordial importância o desenvolvimento de produtos à base de soja com maiores teores protéicos daqueles já existentes no mercado, levando-se em conta as exigências de qualidade almejadas pelo mercado consumidor e a comprovação da eficiência nutritiva e funcional ao organismo, dos produtos.

Este trabalho teve como objetivos avaliar extratos de soja obtidos de diferentes matérias-primas (grãos, farinha integral e isolado protéico de soja), sendo o mais aceito sensorialmente base para a elaboração de bebida à base de soja e polpa de pêssegos, com teor protéico superior a produtos similares existentes no mercado, preservando a sua qualidade tecnológica e sensorial. A bebida foi avaliada com relação às suas propriedades como alimento funcional relativamente a sua influência sobre os níveis de colesterol sanguíneo e crescimento de bactérias bífidas intestinais, utilizando coelhos como modelo experimental.

CAPÍTULO 1

Revisão bibliográfica

1. Revisão bibliográfica

1.1. Soja: aspectos econômicos e de produção

A soja foi introduzida no Brasil no final do século XIX, proveniente da China, onde o cultivo e o consumo são tradicionais e seculares, como em vários outros países orientais. A expansão das lavouras no País foi gradativa, tendo atingido maior proporção a partir da década de 60 nos estados do sul do País, favorecida por condições edafo-climáticas e a estímulos à industrialização e à exportação baseados em programas de incentivo fiscal e de modernização agrícola e agroindustrial. O melhoramento genético e a adaptação de tecnologias possibilitaram a introdução da cultura em outras regiões, aonde a produtividade média vem aumentando ano a ano (Barbosa e Assumpção, 2001; Moraes e Silva, 1996).

Atualmente, o Brasil é o segundo maior produtor mundial de soja tendo atingido um volume recorde de produção estimado em cerca de 50 milhões de toneladas no ano de 2003, 16% superior a safra de 2002, o que tornou o país o maior exportador mundial desta leguminosa (Panorama Brasil, 2003; Safra, 2003).

O elevado potencial produtivo, as características agronômicas favoráveis para cultivo e a composição química da soja têm determinado a sua importância econômica. Consideradas as variações entre variedades e condições edafo-climáticas, em média, os grãos de soja contêm 40% de proteínas, 20% de óleo, 35% de carboidratos e 5% de minerais, constituintes que, íntegros ou fracionados em produtos ou matérias-primas com características específicas, permitem uma variada gama de utilizações (Liu, 2000; Wolf, 1972).

A utilização dos grãos de soja no País é predominantemente para obtenção de óleo e ração para animais, a partir do farelo ou torta (Freitas *et al.*, 2000). Os derivados protéicos de soja como farinhas, concentrados e isolados também têm sido amplamente usados tecnologicamente como ingredientes de vários alimentos

industrializados, o que introduziu a soja de forma indireta na alimentação humana (Morais e Silva, 1996). O consumo direto aumentou com a utilização de proteínas texturizadas em formulações tecnológicas semelhantes às de alimentos tradicionalmente consumidos e pela introdução de produtos fermentados ou não, pelos imigrantes orientais, destacando-se o extrato de soja.

Apesar da produção elevada de soja e da variedade de produtos disponíveis no mercado, a demanda por produtos de soja para consumo direto não atingiu níveis marcantes devido ao preconceito associado com fatores antinutricionais, sabor e odor característicos da soja (estranhos ao paladar da população), e à alegação de que estes alimentos são pouco nobres e relegados a populações de baixo poder aquisitivo. Atualmente, verifica-se um discreto aumento no consumo, em face da constatação de propriedades de saúde da soja, além do seu reconhecido valor nutritivo, que a tornam um produto singular. O aprimoramento das tecnologias de produção e a diversificação dos produtos têm contribuído para este comportamento, embora muito ainda deva ser feito com relação à qualidade tecnológica, principalmente no sentido de atingir a qualidade sensorial esperada pelos consumidores e, ao mesmo tempo, manter as propriedades nutritivas e funcionais.

1.2. Extrato de soja

O extrato de soja, também conhecido como leite de soja, é a emulsão/suspensão aquosa obtida a partir dos grãos de soja. O produto tem origem na China ao redor de 2000 anos a.C., tendo sido introduzido no ocidente no início do século XX. No Brasil, a produção industrial de extrato de soja data da década de 60, com a introdução de uma bebida nutritiva, adoçada e aromatizada, pronta para o consumo (Berk, 1992). A partir dali, inúmeras tecnologias foram geradas e/ou adaptadas para produção de extrato de soja na forma líquida ou em pó, em diferentes formulações, visando estimular o seu consumo, acompanhando a tendência mundial, cujo estímulo foi a exploração agrícola da soja e a explosão demográfica e os conseqüentes problemas de má nutrição.

Os esforços em adotar o extrato de soja em substituição ao leite bovino não obtiveram o sucesso esperado, mesmo com a ampla divulgação das características nutricionais inerentes devido, principalmente, às características sensoriais do produto (Ginn *et al.*, 1998). Sua utilização como alternativa ao leite bovino, ficou restrita às regiões onde a disponibilidade deste era insuficiente, à alimentação de crianças com intolerância à lactose e para indivíduos vegetarianos ou com restrições religiosas. Atualmente, o interesse pelo extrato de soja tem aumentado em função dos aspectos de saúde associados à soja e a sua caracterização como produto nutritivo e não somente como substituto do leite bovino (Liu, 1999).

A composição química do extrato de soja, bem como as suas características físicas e sensoriais, variam em função da matéria-prima de origem e do processo tecnológico utilizado na sua obtenção (Chauhan *et al.*, 1998b; Mnkeni e Nyaruhucha, 1994; Bourne, 1976). Em média, 100g de extrato de soja apresenta 0,4-2,0g de carboidratos, 2,0-3,5g de proteínas, 0,3-1,9g de lipídios, 15-70mg de cálcio, 30-105mg de fósforo, 1,2-3mg de ferro, 40µg de tiamina, 120µg de riboflavina e 0,1mg de niacina (Chauhan *et al.*, 1998b; Franco, 1986; Bourne, 1976). Apresenta concentrações relativamente altas de cobre, magnésio, molibdênio, alumínio, bário, níquel e selênio (Biego *et al.*, 1998; Foster e Sumar, 1996); contém quantidades substanciais de todos os aminoácidos essenciais com exceção dos sulfurados (Zarkadas *et al.*, 1993); e, além disso, preserva substâncias responsáveis por efeitos benéficos à saúde associados à soja, tais como oligossacarídeos e isoflavonas.

Os processos de obtenção do extrato a partir dos grãos de soja consistem basicamente em operações preliminares de seleção e lavagem dos grãos, maceração em água, retirada da casca, desintegração, aquecimento e separação do resíduo (Liu, 1999; Berk, 1992; Ferreira *et al.*, 1974).

O extrato, além dos grãos, pode ser obtido diretamente da farinha ou do isolado protéico de soja, o que permite eliminar algumas etapas do processo de obtenção do

extrato a partir dos grãos, associando alterações na sua composição química, física, nutricional e propriedades funcionais relacionadas à saúde.

A farinha de soja integral é uma fração fina, obtida a partir de grãos de soja descascados, tratados termicamente e moídos, que passa por uma peneira de 100mesh e cuja composição química centesimal assemelha-se à da soja que lhe deu origem. O tratamento térmico, aplicado para inativar os fatores antinutricionais e enzimas, diferencia os processos usados na sua obtenção: tratamento dos grãos íntegros com vapor superaquecido, seguido de descascamento e moagem; tratamento térmico dos grãos por cozimento em água, seguido de secagem, quebra, retirada da casca e moagem; e, processamento por extrusão a altas temperaturas (150-170°C) por 4-5min (Liu, 1999; Moraes e Silva, 1996; Berk, 1992).

O isolado protéico é produzido a partir do farelo da soja, após o processo de extração do óleo, podendo ser definido como um produto que apresenta a maior concentração de proteína de soja, normalmente superior a 80%, em detrimento dos compostos não protéicos (lipídios, açúcares e fibras). O processo de obtenção compreende, fundamentalmente, quatro fases: extração, precipitação, neutralização e secagem (Liu, 1999; Moraes e Silva, 1996; Berk, 1992). Dependendo da tecnologia aplicada, podem ocorrer perdas ou modificações dos aminoácidos e de outros componentes originais da soja, como as isoflavonas, que são parcialmente perdidas no processo quando a extração é feita com álcool, mas podem ser mantidas quando a extração é com água (Fiori, 2001).

O gosto e o odor desagradáveis do extrato de soja tiveram papel limitante e ainda constituem o fator de rejeição a sua aceitação nas populações ocidentais. O sabor característico de “feijão cru” deve-se aos compostos voláteis de baixo peso molecular, resultantes da ação catalítica da enzima lipoxigenase na oxidação de ácidos graxos insaturados, especialmente linoléico e linolênico (Goossens, 1974). O amargor e a adstringência estão relacionados a compostos não voláteis como as isoflavonas,

especialmente na forma aglicona, e as saponinas (Kwok e Niranjani, 1995; Huang *et al.*, 1982).

O extrato de soja tem sido estudado em relação a inúmeros aspectos como a utilização de variedades de soja melhor adaptadas para a sua produção (Reddy e Mital, 1992; Tango *et al.*, 1984; Turatti *et al.*, 1979); tecnologias de processamento (Lanzani *et al.*, 1988; Moretti *et al.*, 1979; Ferreira *et al.*, 1974); suplementação e fortificação (Casé *et al.*, 2002; Silva Júnior e Demonte, 1997; Weingartner *et al.*, 1983; Hippe e Warthesen, 1978); aumento do rendimento (Poysa e Woodrow, 2002; Eriksen, 1983; Bourne, 1976); estabilidade no armazenamento (Nsofor e Anyanwu, 1992; Uboldi Eiroa e Ferreira, 1984); controle dos fatores antinutricionais (Wang, 1986; Johnson *et al.*, 1980); entre outros. Contudo, face a limitação do consumo em função das características sensoriais desenvolvidas na sua elaboração, aspectos como sabor e aroma são os mais exaustivamente pesquisados.

As tecnologias disponíveis para a melhoria da qualidade sensorial do extrato de soja incluem o uso de variedades de soja cuja enzima lipoxigenase tenha sido suprimida por melhoramento genético (Liu, 1999), uso de íons cúpricos (Huhn e Pinheiro, 1980) ou de substâncias alcalinas (Miya *et al.*, 1975), maceração dos grãos em álcool (Ashraf e Snyder, 1981), desodorização do extrato por vácuo (Liu, 1999) ou arraste de vapor (Moraes, 2002) e inativação enzimática por tratamento térmico.

O tratamento térmico visando a inativação enzimática pode ser feito nos grãos íntegros usando água quente como proposto por Nelson *et al.* (1976) ou com radiação de microondas (Pino *et al.*, 2002; Wang, 1986) e, também, durante o processo de rompimento dos mesmos (Wilkens *et al.*, 1967), método mais usado e bastante eficiente, principalmente se forem mantidas ao mínimo as condições oxidantes (Arkcoll e Costa, 1981; Moretti, 1981).

O tratamento térmico também tem por finalidade eliminar e/ou reduzir a atividade de fatores antinutricionais como as hemaglutininas, o fator bocígeno, as antivitaminas,

os fitatos e os inibidores de tripsina, que têm a capacidade de inibir a atividade proteolítica de algumas enzimas do sistema digestivo de humanos e animais (Liener, 1994).

Os tratamentos térmicos muito rigorosos, contudo, podem comprometer o valor nutritivo do extrato de soja pela degradação de aminoácidos, redução do rendimento no processo de obtenção do produto e afetar negativamente as características sensoriais de cor, aparência, consistência, aroma e sabor. Atualmente, tem sido considerada positiva a indução de efeitos fisiológicos pela ingestão de compostos considerados antinutricionais, o que também minimiza a necessidade de aplicação de tratamentos térmicos muito intensos no processamento do extrato de soja (Goldberg, 1994) .

1.3. Bebidas de soja

O extrato é um dos produtos da soja mais difundidos em nosso meio, devido à sua versatilidade para utilização na forma direta ou na elaboração de outros produtos como sorvetes, análogos de leite condensado, bebidas e em mistura com inúmeras outras matérias-primas (Prudêncio *et al.*, 2002; Della Modesta *et al.*, 2001; Inui *et al.*, 2001; Omueti *et al.*, 2000; Otero *et al.*, 1998; Paz Frassino *et al.*, 1998; Silva *et al.*, 1998).

As tecnologias disponíveis para melhorar as características sensoriais do extrato de soja têm alcançado resultados bastante positivos. Entretanto, sua melhor aceitação pelos consumidores, especialmente na forma pura, ainda é limitada, visto que os extratos de soja “naturais” prontos para o consumo disponíveis no mercado adicionam invariavelmente ingredientes que conferem doçura e/ou aromatizantes com o intuito de mascarar o sabor característico de soja.

Esta restrição ao aroma e ao sabor de soja pelos povos ocidentais deve-se a aspectos culturais, notadamente os associados aos hábitos alimentares, por sua vez agravados pela oferta de produtos de soja de baixa qualidade. A pouca familiaridade

com este sabor por parte da população faz com que a aceitação do extrato de soja seja marcadamente aumentada quando associado a aditivos e/ou ingredientes que lhe confere características de sabor e aroma diferentes (Casé *et al.*, 2002; Pino *et al.*, 2002; Tashima e Cardello, 2002; Espinosa *et al.* 2000; Ginn *et al.*, 1998; Wang *et al.*, 1997; Chauhan *et al.*, 1993; Ferreira e Shirose, 1976).

Considerando-se a inércia natural à mudança de hábitos alimentares, é importante que a introdução da soja como ingrediente na alimentação cotidiana seja implementada de forma a afetar pouco esses hábitos. A associação de extrato de soja com produtos usualmente consumidos como sucos de frutas é uma forma de introdução deste alimento na dieta. Tem sido bastante utilizada e vem alcançando ótimos resultados em termos de aceitação pelos consumidores, cujo julgamento é determinante para a ampliação e a diversificação da produção deste tipo de bebida (Soymilk, 1984).

Rosário e Maldo (1979) verificaram maior aceitação quando a adição de leite de coco ao extrato obtido de grãos de soja era em concentrações tal que o coco fosse perceptível sensorialmente mas mantendo a possibilidade de percepção das características sensoriais do extrato.

Vieira *et al.* (1994) obtiveram excelentes resultados em termos de aceitação adicionando calda de polpa de frutas tropicais (bacuri, cupuaçu, taperebá, graviola e murici) ao extrato obtido de grãos de soja.

Chauhan *et al.* (1998a) testando diferentes combinações de polpa de manga com isolado protéico de soja na elaboração de uma bebida verificaram maior aceitação daquela formulada com 60 partes de polpa e 40 partes de isolado, com significativa melhora do sabor e da textura.

O consumo mundial de bebidas de soja vem aumentando nitidamente, tendo atingido um volume estimado em 2 bilhões de litros por ano, com previsão de

duplicação até o ano de 2004 (Innovation, 2001). No Brasil, o mercado de bebidas saudáveis, destacando-se as que utilizam a soja como ingrediente principal, vem crescendo muito, impulsionado pela mudança de hábitos dos consumidores, que hoje estão cada vez mais preocupados em buscar o seu bem-estar através de uma boa alimentação. Tal comportamento vem transformando este segmento que está bastante diversificado, oferecendo inúmeros produtos na linha saúde, especialmente em formulações que associam extrato de soja e frutas (Datamark, 2003a,b).

As bebidas disponíveis no mercado nacional que associam extrato de soja e frutas apresentam uma quantidade de proteína de soja que varia entre 0,6 a 1,4% (Genovese e Lajolo, 2002). Entre outros aspectos, problemas de ordem tecnológica, como a estabilização, e sensoriais, como o sabor característico de soja, têm sido fatores limitantes da utilização de percentuais mais elevados de soja na formulação deste tipo de bebidas.

1.4. Soja como alimento funcional

Alimentos funcionais são aqueles que contém em sua composição, substâncias nutrientes ou não nutrientes, capazes de modular as respostas metabólicas do indivíduo, resultando em maior proteção e estímulo à saúde (Pacheco e Sgarbieri, 2001). A soja, além do seu reconhecido valor nutricional, também apresenta inúmeros compostos que a identificam como um alimento funcional.

As propriedades funcionais associadas ao consumo de produtos contendo soja têm sido atribuídas principalmente aos fitoquímicos presentes nesta leguminosa, destacando-se os inibidores de proteases, fitatos, fitoesteróis, saponinas, ácidos fenólicos, lecitina, ácidos graxos insaturados (ômega 3) e isoflavonóides. Outros compostos da soja como aminoácidos, fibras, vitaminas, minerais e carboidratos também têm sido relatados com efeitos benéficos à saúde. Tem se destacado também a ação sinérgica destes compostos na prevenção de osteoporose, diabetes, doenças coronarianas, controle dos sintomas da pós-menopausa, redução de colesterol e

inibição de diversos tipos de câncer (Friedman e Brandon, 2001; Waggle e Potter, 2000; Tham *et al.*, 1998; Knight e Éden, 1996; Messina *et al.*, 1994a,b).

As isoflavonas são um grupo de compostos fenólicos encontrados em diversos vegetais, predominantemente nas leguminosas e em maior concentração na soja (Tham *et al.*, 1998), onde os teores variam entre 0,1 e 6mg/g dependendo da variedade e das condições climáticas e ambientais (Jackson *et al.*, 2002; Nakamura *et al.*, 2000; Carrão-Panizzi *et al.*, 1999a; Franke *et al.*, 1999; Araújo *et al.*, 1995; Tsukamoto *et al.*, 1995; Wang e Murphy, 1994a; Coward *et al.*, 1993; Eldridge e Kwolek, 1993; Santos, 1993). Três tipos de isoflavonas foram identificados na soja: daidzina, genistina e glicitina que podem estar presentes nas formas de β -glicosídeos, malonil-glicosídeos, acetil-glicosídeos e agliconas. Enquanto nos grãos predominam as formas maloniladas (Naim *et al.*, 1974), nos produtos obtidos a partir da soja, a ocorrência e a retenção de isoflavonas, bem como a distribuição dos isômeros, varia em função dos processos tecnológicos empregados (Wang e Murphy, 1994b).

Nos produtos obtidos a partir da soja, perdas de isoflavonas podem ocorrer em determinadas etapas do processamento empregado como a de fracionamento e/ou de lixiviação (Wang e Murphy, 1996; Jackson *et al.*, 2002). As etapas de processamento tecnológico também estão envolvidas com as modificações entre os isômeros, incluindo a hidrólise enzimática, durante a maceração do grão e/ou nos processos que envolvem fermentação, e o processamento térmico e/ou químico, resultando na conversão da forma malonil para a glicosídica e desta para a forma aglicona (Jackson *et al.*, 2002; Carrão-Panizzi *et al.*, 1999b; Araújo *et al.*, 1997; Matsuura e Obata, 1993).

A ocorrência de isoflavonas em produtos de soja sempre esteve associada a características sensoriais indesejáveis, como amargor e adstringência (Kwok e Niranjan, 1995; Matsuura *et al.*, 1989). Mais recentemente, com a verificação da sua presumida ação na prevenção e controle de algumas doenças, sua presença nestes produtos tornou-se desejável.

As isoflavonas da soja têm sido muito estudadas pela constatação de que a excreção urinária destes compostos está diretamente correlacionada com a ingestão significativa de soja por populações que apresentam baixo índice de algumas doenças crônico-degenerativas (Messina *et al.*, 1994a). São também chamadas fitoestrógenos por apresentarem propriedade estrogênica e antiestrogênica, devido à sua semelhança química estrutural com o estrógeno endógeno e sintético, o que permite a interação com os receptores destes hormônios no organismo (Setchell, 1998). Estudos em cultura de células, modelos animais e ensaios clínicos em humanos têm evidenciado a ação das isoflavonas na prevenção e diminuição de cânceres, relacionados ou não a hormônios; efeito protetor contra doenças cardiovasculares; redução dos níveis de colesterol, benefícios no tratamento da osteoporose, alívios dos sintomas da pós-menopausa e modulação das funções renal e cognitiva (Demonty *et al.*, 2002; Kurzer, 2002; Lamartiniere *et al.*, 2002; Anderson *et al.*, 1999; Messina, 1999; Mazur *et al.*, 1998; Potter, 1998; Fracog e Fracog, 1996).

As formas agliconas das isoflavonas (daidzeína e genisteína) têm sido relatadas como as formas biologicamente ativas por apresentarem atividade estrogênica, antiestrogênica, antiviral, antifúngica, bactericida, antioxidante, antimutagênica, anti-hipertensiva, antiinflamatória e antiproliferativa (Jenkins *et al.*, 2000; Kelloff *et al.*, 2000; Casanova, 1999; Halbe *et al.*, 1999; Miyazawa, 1999; Sadowska-Krowicka, 1998; Kim *et al.*, 1998; Knight e Eden, 1996; Wu *et al.*, 1992; Naim *et al.*, 1976; Naim *et al.*, 1974;). A biodisponibilidade das isoflavonas no organismo depende da espécie, sexo, idade e da microbiota intestinal presente, a qual é capaz de metabolizar as isoflavonas conjugadas em agliconas (Izumi *et al.*, 2000).

A genisteína é a isoflavona mais extensivamente estudada e tem mostrado atividade como antioxidante e inibidora da angiogênese, da diferenciação celular e da atividade de algumas enzimas envolvidas no crescimento e regulação celular, como a tirosinaquinase, fatores envolvidos na ocorrência e desenvolvimento de inúmeras enfermidades (Lamartiniere *et al.*, 2002; Jenkins *et al.*, 2000; Yamakoshi *et al.*, 2000;

Schoene e Guidry, 1999; Kirk *et al.*, 1998; Nogowisk *et al.*, 1998; Potter, 1998; Setchell, 1998; Tham *et al.*, 1998).

Os oligossacarídeos são outros compostos da soja potencialmente envolvidos com efeitos funcionais fisiológicos. Tais compostos, quando ingeridos podem provocar efeitos indesejáveis como flatulência e diarreia (Rackis *et al.*, 1970), mas, ao mesmo tempo, assim como as isoflavonas, sua ocorrência nos alimentos de soja tornou-se desejável pela sua possível ação terapêutica, relacionada com o crescimento de bifidobactérias, microrganismos que constituem a microbiota intestinal e promovem muitos efeitos benéficos à saúde.

Os oligossacarídeos são carboidratos formados de três a dez unidades de monômeros de hexoses que podem ser encontrados em muitos vegetais na forma livre ou combinada (Crittenden e Playne, 1996). Na soja, a rafinose e a estaquiose, juntamente com a sacarose, constituem cerca de 15% (base seca) do grão, dos quais 63%, 5% e 32%, respectivamente, correspondem à sacarose, rafinose e estaquiose. Tais frações podem variar em função da variedade e do estágio de maturação da soja (Liu, 1999). Nos produtos derivados de soja, a ocorrência destes açúcares depende da tecnologia de processamento empregada, podendo ocorrer perdas em decorrência de transformações químicas e/ou bioquímicas ou por lixiviação (Ida *et al.*, 1981).

O crescente interesse pelos oligossacarídeos advém do fato de que estes compostos são resistentes às enzimas salivares, pancreáticas e intestinais, bem como à acidez estomacal, não sendo digeridos pelo organismo humano por não apresentar a enzima α -galactosidase, necessária à hidrólise destes açúcares. Conseqüentemente, os oligossacarídeos atingem o cólon na forma intacta onde podem ser metabolizados pela microbiota residente, incluindo as bactérias do gênero *Bifidobacterium*, que são seletivas a este substrato. Os efeitos benéficos à saúde pela ingestão de oligossacarídeos não-digeríveis também se assemelham àqueles atribuídos às fibras na dieta, pois aumentam o bolo fecal, reduzem o trânsito gastrointestinal e podem suprimir a digestão e a absorção de nutrientes no intestino (Liu, 1999; Mitsuoka, 1978).

As bifidobactérias são bactérias gram-positivas, estritamente anaeróbicas, que habitam naturalmente o intestino de animais e do homem. Em bebês pode corresponder a até 95% da microbiota intestinal passando a aproximadamente 25% na fase adulta, dependendo de inúmeros fatores como idade, imunidade, condições físicas, distúrbios fisiológicos, utilização de antibióticos, competição com outras bactérias e a presença de fatores bifidogênicos na dieta (Modler, 1994; Mitsuoka, 1978).

As bifidobactérias parecem ter efeitos benéficos para humanos e animais por vários mecanismos, destacando-se a acidificação intestinal (produção de ácidos orgânicos) e a competição com outras bactérias pelos nutrientes e pelos sítios de fixação na parede intestinal. A produção de ácidos orgânicos (acético e láctico), como resultado da fermentação e conseqüente abaixamento do pH do intestino, limita o crescimento de bactérias putrefativas e/ou patogênicas, residentes ou introduzidas pela dieta, diminuindo, conseqüentemente, a produção de toxinas e outras substâncias nocivas ao hospedeiro como amônia, aminas, nitrosaminas, fenóis, cresóis, indol, escatol e ácidos biliares secundários. Algumas destas têm sido consideradas potentes carcinógenos (Cummings e MacFarlane, 2002; Marteau e Boutron-Ruault, 2002; Gibson *et al.*, 1994; Tomomatsu, 1994; Mitsuoka, 1978).

A redução da concentração de metabólitos tóxicos, proporcionada pelas bifidobactérias com a ingestão de oligossacarídeos, alivia a carga de desintoxicação do fígado. Devido à produção de altos níveis de ácidos graxos de cadeia curta, estes microrganismos previnem a constipação pela estimulação dos movimentos peristálticos do intestino. Tem sido relatada sua ação imunomoduladora, na produção de vitaminas do complexo B, aumento da absorção de cálcio, estímulo a apoptose, função anticâncer e controle na formação de cálculos biliares e nos níveis séricos de colesterol. Alguns destes efeitos ainda não lograram resultados conclusivos (Buddington *et al.*, 2002; Marteau e Boutron-Ruault, 2002; Wang e Gibson, 1993).

1.5. Soja e as doenças cardiovasculares

Estudos epidemiológicos têm evidenciado que os países orientais, destacando-se o Japão, têm menor incidência de doenças cardiovasculares comparativamente aos países ocidentais. Esta manifestação está relacionada não só às diferenças no estilo de vida mas também à dieta, que inclui nos hábitos alimentares produtos à base de soja (Waggle e Potter, 2000; Messina *et al.*, 1994a).

O colesterol tem funções fisiológicas importantes no organismo como constituinte das membranas celulares e como elemento na síntese de ácidos biliares, hormônios e vitamina D. Entretanto, quando em níveis elevados no plasma, tem sido relatado como um dos fatores primários de risco de doenças cardiovasculares. A hipercolesterolemia pode ser causada por anormalidades genéticas ou adquiridas ou ser induzida pela dieta. O aumento dos níveis séricos de colesterol estão correlacionados com a ocorrência de aterosclerose, a qual é caracterizada pela formação de placas fibrogordurosas na túnica íntima das artérias (ateroma), especialmente naquelas de grande e médio calibre. O transporte de lipídios e colesterol na corrente sanguínea é feito por lipoproteínas que possibilitam a solubilização destes compostos no sangue. São partículas globulares constituídas por um núcleo apolar de triacilglicerídeos e ésteres de colesterol, circundado por uma camada polar de fosfolipídios, colesterol livre e apolipoproteínas. As partículas de lipoproteínas incluem: quilomícrons, lipoproteínas de densidade muito baixa (VLDL), lipoproteínas de densidade baixa (LDL) e lipoproteínas de densidade alta (HDL) que se diferenciam em função do tamanho e densidade. Os quilomícrons são responsáveis pelo transporte de triacilglicerídeos exógeno e as VLDL, pelo endógeno. A fração LDL transporta o colesterol para os órgãos e tecidos. Quando em excesso pode levar à ocorrência de problemas cardiovasculares. A fração HDL, por outro lado, remove o colesterol da corrente sanguínea para o fígado onde é eliminado pela bile ou reaproveitado (Pasqualucci *et al.*, 2002; Champe e Harvey, 1997; Stryer, 1996).

A redução dos níveis séricos de colesterol através da dieta, especialmente da fração LDL, tem se mostrado efetiva na diminuição da ocorrência de doenças cardiovasculares. Dietas ricas em gorduras insaturadas, fibras, proteínas vegetais, fitoestrógenos, alguns minerais e/ou substâncias antioxidantes também têm sido relacionadas com sua menor incidência (Anderson *et al.*, 1999; Kushi *et al.*, 1999; Slavin *et al.*, 1999; Potter, 1998; Kurzer e Xu, 1997; Fracog e Fracog, 1996; Hunninghake *et al.*, 1994). A soja, por apresentar estes e outros constituintes em quantidades relativamente elevadas, tem sido destacada como alimento importante na prevenção e controle destas e de outras enfermidades (Maranhão, 2001; Njoku *et al.*, 1999; Goldberg *et al.*, 1982).

Baseado no reconhecimento científico, a FDA (FDA, 1999) aprovou a declaração na rotulagem de alimentos de soja de que o consumo de 25g de proteína de soja ao dia, associado a uma dieta pobre em gorduras saturadas e colesterol, pode reduzir o risco de doenças cardiovasculares.

Apesar dos efeitos benéficos da ingestão de proteína de soja sobre os lipídios do plasma, lipoproteínas e aterosclerose serem conhecidos há muitas décadas, os mecanismos envolvidos e os compostos responsáveis pelos efeitos apresentados ainda não estão bem definidos (Jenkins *et al.*, 2002; Anthony *et al.*, 1996; Kritchevsky, 1995).

Um dos mecanismos propostos refere-se ao aumento na excreção fecal de ácidos biliares com a conseqüente redução na concentração de colesterol total sérico. Neste estado, o metabolismo hepático do colesterol muda para prover colesterol e aumentar a síntese de ácidos biliares. Ao mesmo tempo, a biossíntese de colesterol aumenta a atividade dos receptores de LDL, resultando em um aumento da remoção de colesterol, a partir do sangue, via receptores de LDL, reduzindo as concentrações de colesterol no sangue, particularmente da fração LDL. Outro mecanismo envolve alterações no metabolismo hepático do colesterol, mais especificamente no aumento da atividade da HMG CoA redutase (hidroximetil glutaril coenzima A), induzindo a um aumento da re-síntese de colesterol para compensar o aumento na excreção de ácidos

biliares. Alguns autores sugerem um terceiro mecanismo no qual a proteína da soja teria um efeito endócrino sobre o aumento da taxa insulina:glucagon e tiroxina, hormônios responsáveis pelo aumento da atividade dos receptores de LDL (Waggle e Potter, 2000; Giroux *et al.*, 1997; Kurzner e Xu, 1997; Carroll e Kurowska, 1995; Forsythe, 1995; Potter, 1995).

Aminoácidos e peptídeos, saponinas, ácido fítico, inibidores de tripsina, fibras e isoflavonas são alguns dos constituintes da soja aos quais têm sido atribuídos, isolada ou conjuntamente, os efeitos hipocolesterolêmicos observados (Clarkson, 2002; Tonstad *et al.*, 2002; Takatsuka *et al.*, 2000; Sirtori *et al.*, 1999; Potter, 1995; Raaij *et al.*, 1981).

Investigações mais antigas focavam apenas a composição em aminoácidos da proteína da soja como sendo a responsável pelo efeito hipocolesterolêmico. Esta composição foi o fator determinante na redução do colesterol plasmático observado nos estudos de Katan *et al.* (1982) e Huff e Carroll (1980), utilizando dietas com proteína de soja. Kritchevsky (1993) verificou que coelhos alimentados com uma dieta na qual o aminoácido arginina era adicionado à caseína permaneciam hipercolesterolêmicos, mas mostravam uma redução de aproximadamente 25% na aterosclerose e que quando o aminoácido lisina era adicionado à proteína de soja, ocorria um aumento de 50% nos níveis de colesterol sérico e de 60% na aterosclerose. Posteriormente, Kurowska e Carroll (1994) verificaram que animais alimentados com a proteína de soja sem adição de aminoácidos, apresentaram melhor resposta hipocolesterolêmica, sugerindo que a proteína não era o único componente envolvido nesta resposta.

A ação isolada dos aminoácidos da soja sobre a hipercolesterolemia ainda tem sido postulada. De acordo com Damasceno *et al.* (2000) a composição em aminoácidos, especialmente a relação entre os aminoácidos arginina e lisina e a baixa concentração de metionina na soja, é um fator importante no controle do estresse oxidativo em dietas ricas em colesterol. Estes autores sugerem que o efeito protetor

relacionado ao decréscimo na peroxidação de lipídios, conteúdo de colesterol, triacilglicerídeos e de lipoproteínas aterogênicas (VLDL e LDL), observado em coelhos alimentados com isolado protéico de soja, seja atribuído a uma ação intrínseca da proteína.

O estudo do mecanismo de ação da proteína de soja a nível molecular realizado por Sirtori *et al.* (1995) indicou que as globulinas da soja, especificamente a fração 7S, podem exercer um efeito de redução do colesterol em animais por estímulo hormonal e que, *in vitro*, elas podem aumentar significativamente a ligação do LDL com os receptores hepáticos. Este resultado foi posteriormente confirmado *in vivo* por Sirtori *et al.* (2001) e Carrol e Kurowska (1995).

Atualmente as isoflavonas também têm sido relacionadas ao efeito hipocolesterolêmico e antiaterogênico da soja. Resultados positivos têm sido obtidos principalmente em modelos animais (Demonty *et al.*, 2002), bem como em mulheres na pós-menopausa (Potter, 1998), homens e mulheres jovens (Ho *et al.*, 2000) e indivíduos hipercolesterolêmicos (Jenkins *et al.*, 2002; Wong *et al.*, 1998). Anthony *et al.* (1996) constataram que macacos alimentados com proteína de soja com isoflavonas naturalmente presentes tiveram níveis de colesterol significativamente menores do que aqueles alimentados com a mesma proteína, sem as isoflavonas, ou com caseína. Yamakoshi *et al.* (2000) verificaram que um extrato alcoólico rico em isoflavonas agliconas inibiu a progressão da aterosclerose em coelhos, sem afetar os níveis de colesterol séricos. Já Crouse *et al.* (1999) mostraram que as isoflavonas que ocorrem naturalmente na soja reduziram a concentração plasmática de colesterol total e LDL sem afetar os níveis de triacilglicerídeos e HDL e que as isoflavonas isoladas em extrato etanólico não produziram qualquer efeito.

Os mecanismos que podem estar envolvidos na alteração do metabolismo lipídico pelas isoflavonas incluem o aumento na atividade dos receptores de LDL e/ou inibição da síntese do colesterol endógeno (Kirk *et al.*, 1998; Nogowisk *et al.*, 1998; Tham *et al.*, 1998). As isoflavonas inibem o desenvolvimento da lesão aterosclerótica

pela inibição das células de adesão e alteração na atividade de fatores de crescimento específicos, como o fator derivado de plaquetas e citocinas, as quais influem na formação da placa; efeitos estes provavelmente mediados pela inibição da tirosinaquinase (Yamakoshi *et al.*, 2000; Schoene e Guidry, 1999; Potter, 1998; Raines e Ross, 1995; Wilcox e Blumenthal, 1995). As propriedades antioxidantes das isoflavonas também têm sido associadas à redução da peroxidação lipídica, importante fator de risco na patogênese da aterosclerose (Jenkins *et al.*, 2000; Anthony *et al.*, 1998; Setchell, 1998; Kanazawa *et al.*, 1995).

De acordo com Izumi *et al.* (2000) as formas agliconas das isoflavonas são mais facilmente absorvidas e efetivas em seres humanos na prevenção de doenças crônicas como doenças coronarianas, para cuja resposta positiva é necessário manter uma concentração constante destes componentes no plasma por um longo período.

A interpretação da ação exclusiva das isoflavonas no controle da hipercolesterolemia tem sido questionada em face de respostas negativas obtidas em experimentos com animais e humanos utilizando estes compostos isoladamente (Dewell *et al.*, 2002; Nestel *et al.*, 1997; Anthony *et al.*, 1996). A variação nos resultados tem sido atribuída às diferentes quantidades e tipos de proteínas utilizadas nas dietas experimentais, às diferentes frações de isoflavonas presentes no alimento e ao consumo de fitoestrógenos adicionais na dieta e/ou a outros compostos capazes de alterar o metabolismo lipídico (Friedman e Brandon, 2001).

Alguns autores sugeriram que o efeito de redução do colesterol seja devido principalmente às fibras da soja, mas esta suposição não foi confirmada em virtude da maioria dos trabalhos utilizarem isolado protéico de soja (sem fibras) com resultados positivos. Contudo, em dietas onde a fibra esteve presente naturalmente ou adicionada foi observada marcante redução nos níveis de colesterol (Waggle e Potter, 2000).

Os oligossacarídeos da soja também têm sido relatados no controle dos níveis séricos de colesterol em estudos *in vitro* e *in vivo* (Freitas, 2000; Tomomatsu, 1994). Os

mecanismos envolvidos supõem uma ação semelhante a das fibras e a alterações na microbiota intestinal, com crescimento de bifidobactérias que teriam supostamente um efeito inibitório contra absorção de misturas de colesterol através da parede do intestino.

Muitos autores associam os efeitos gerados pelo consumo de alimentos de soja a um conjunto de fatores agindo conjuntamente gerando uma matriz na qual o metabolismo do colesterol é alterado e resultando em decréscimo na concentração de colesterol no sangue (Clarkson, 2002). Os mecanismos variam dependendo do modelo animal. Os componentes responsáveis pelos efeitos hipocolesterolêmicos atuam diferentemente dependendo da espécie, do tempo de estudo e da quantidade de colesterol ingerida, bem como da quantidade e do tempo de ingestão da proteína de soja. Contudo, as evidências dos benefícios potenciais associados à soja são inegáveis (Teixeira *et al.*, 2000; Nilausen e Meinertz, 1998; Potter, 1995).

1.6. Referências bibliográficas

- ANDERSON, J. W.; SMITH, B. M.; WASHNOCK, C. S. Cardiovascular and renal benefits of dry bean and soybean intake. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 70 (suppl.), p. 464-474, 1999.
- ANTHONY, M. S.; CLARKSON, T. B.; HUGHES JR., C. L.; MORGAN, T. M.; BURKE, G. L. Soybean isoflavones improve cardiovascular risk factors without affecting the reproductive system of peripubertal rhesus monkeys. **The Journal of Nutrition**, v. 126, p. 43-50, 1996.
- ANTHONY, M. S.; CLARKSON, T. B.; WILLIAMS, J. K. Effects of soy isoflavones on atherosclerosis: potential mechanisms. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 68 (suppl.), p. 1390-1393, 1998.
- ARAÚJO, J. M. A.; CARLOS, J. C. S.; SEDYAMA, C. S. Isoflavonas em grãos de soja: importância da atividade de β -glicosidase na formação do sabor amargo e adstringente. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 17, n. 2, p. 137-141, mar/ago, 1997.
- ARAÚJO, J. M. A.; SANTOS, C. J.; MOREIRA, M. A. Teores de isoflavonas em cultivares de soja. **Arquivos em Biologia e Tecnologia**, v. 38, n. 3, p. 725-730, 1995.
- ARKCOLL, D. B.; COSTA, S. I. Formas de preparo e aceitação da soja nos cardápios brasileiros. . In : MIYASAKA, S. & MEDINA, J. C. **A soja no Brasil**. 1. ed., s.l., 1981. Capítulo 14, p. 845-847.
- ASHRAF, H-R. L.; SNYDER, H. E. Influence of ethanolic soaking of soybeans on flavor and lipooxygenase activity of soymilk. **Journal of Food Science**, v. 46, p. 1201-1204, 1981.
- BARBOSA, M. Z.; ASSUMPÇÃO, R de Ocupação territorial da produção e da agroindústria da soja no Brasil, nas décadas de 80 e 90. **Informações Econômicas**, v. 31, n. 11, p. 7-16, nov., 2001.
- BERK, Z. Technology of production of edible flours and protein products from soybeans. **FAO Agricultural Services Bulletin** n. 97, Roma, 1992.
- BIEGO, G. H.; JOYEUX, M.; HARTEMANN, P.; DEBRY, G. Determination of mineral contents in different kinds of milk and estimation of dietary intake in infants. **Food Addit. Contam.**, v. 15, n. 7, p. 775-781, oct., 1998.
- BOURNE, M. C. Survey of suitability of thirty cultivars of soybeans for soymilk manufacture. **Journal of Food Science**, v. 41, p. 1204-1208, 1976.

BUDDINGTON, R. K.; KELLY-QUAGLIANA, K.; BUDDINGTON, K. K.; KIMURA, Y. Non-digestible oligosaccharides and defense functions: lessons learned from animal models. **British Journal of Nutrition**, v. 87, suppl. 2, p. 231-239, 2002.

CARRÃO-PANIZZI, M. C.; BELÉIA, A. D. P.; KITAMURA, K.; OLIVEIRA, M. C. N. Effects of genetics and environment on isoflavone content of soybean from different regions of Brazil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 34, n. 10, p. 1787-1795, out., 1999a.

CARRÃO-PANIZZI, M. C.; BELÉIA, A. D. P.; OLIVEIRA, M. C. N.; KITAMURA, K. Effects of isoflavones on beany flavor and adstringency of soymilk and cooked whole soybean grains. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 34, n. 6, p. 1045-1052, jun., 1999b.

CARROLL, K. K.; KUROWSKA, E. M. Soy consumption and cholesterol reduction: review of animal and human studies. **The Journal of Nutrition**, v. 125, n. 3 (suppl.), p. 594-597, 1995.

CASANOVA, M. Developmental effects of dietary phytoestrogens in sprague-dawley rats and interactions of genistein and daidzein with rat strogen receptors and in vitro. **Toxicology Science**, v. 51, p. 236-244, 1999.

CASÉ, F. V.; DELIZA, R.; ROSHENTAL, A.; WAKELING, I. Avaliação da aceitação pelo consumidor de "leite" de soja enriquecido com cálcio. In: Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 18., 2002, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: UFRGS, 2002. 1 CD-ROM.

CHAMPE, P. C.; HARVEY, R. A. **Bioquímica ilustrada**. 2 ed., Porto Alegre: Artes Médicas, 1997, 446p.

CHAUHAN, S.K.; JOSHI, V.K.; LAL, B.B. Apricot-soy fruit-bar: a new protein-enriched product. **Journal of Food Science and Technology**, v. 30, n. 6, p.457-458, 1993.

CHAUHAN, S.K.; LAL, B.B.; JOSHI, V.K. Development of a protein-rich mango beverage. **Journal of Food Science and Technology**, v. 35, n. 6, p.521-523, 1998a.

CHAUHAN, S.K.; SINGH, J. D.; TOMAR, N. S. Nutritional changes in soymilk subjected to different physical and chemical treatments. **Journal of Food Science and Technology**, v.35, n.3, p.271-273, 1998b.

CLARKSON, T. B. Soy, soy phytoestrogens and cardiovascular disease. **The Journal of Nutrition**, v. 132 (suppl.), p. 566-569, 2002.

COWARD, L.; BARNES, N. C.; SETCHELL, K. D. R.; BARNES, S. Genistein, daidzein, and their β -glycoside conjugates: antitumor isoflavones in soybean foods from american and asian diets. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 41, p. 1961-1967, 1993.

CRITTENDEN, R.G.; PLAYNE, M.J. Production, properties and applications of food-grade oligosaccharides. **Trends in Food Science and Technology**, v.32 p.353-361, 1996.

CROUSE, J. R.; MORGAN, T.; TERRY, J. G.; ELLIS, J.; VITOLINS, M.; BURKE, G. L. A randomized trial comparing the effect of casein with that of soy protein containing varying amounts of isoflavones on plasma concentrations of lipids and lipoproteins. **Archives International in Medicine**, v. 159, p. 2070-2076, 1999.

CUMMINGS, J. H.; MACFARLANE, G. T. Gastrointestinal effects of prebiotics. **British Journal of Nutrition**, v. 87, suppl. 2, p. 145-151, 2002.

DAMASCENO, N. R. T.; GOTO, H.; RODRIGUES, F. M. D.; DIAS, C. T. S.; OKAWABATA, F. S.; ABDALLA, D. S. P.; GIDLUND, M. Soy protein isolate reduces the oxidizability of LDL and the generation of oxidized LDL autoantibodies in rabbits with diet-induced atherosclerosis. **The Journal of Nutrition**, v. 130, p. 2641-2647, 2000.

DATAMARK. **Bebidas – consumo em alta**. 2003. Disponível em <<http://www.datamark.com.br>> Acesso em: 03 jan. 2003(a).

DATAMARK. **Bebidas - um brinde à saúde**. 2003. Disponível em <<http://www.datamark.com.br>> Acesso em: 03 jan. 2003(b).

DELLA MODESTA, R. C.; FELBERG, I.; CABRAL, L. C.; FERREIRA, J. C. S. Avaliação da influência da adição de “leite” de castanha-do-brasil na cor de “leites” de soja integral e hidrossolúvel. In: Simpósio Latino Americano de Ciência dos Alimentos. 4., 2001, Campinas. **Anais...** Campinas: UNICAMP, nov., 2001. 1 CD-ROM.

DEMONTY, I.; LAMARCHE, B.; DESHAIRES, Y.; JACQUES, H. Role of isoflavones in the hypotriglyceridemic effect of soy protein in the rat. **Journal of Nutritional Biochemistry**, n. 13, p. 671-67, 2002.

DEWELL, A.; HOLLENBECK, C. B.; BRUCE, B. The effects of soy-derived phytoestrogens on serum lipids and lipoproteins in moderately hypercholesterolemic postmenopausal women. **The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 87, p. 118-121, 2002.

ELDRIDGE, A. C.; KWOLEK, W. F. Soybean isoflavones: effect of environment and variety on composition. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 31, p. 394-396, 1993.

ERIKSEN, S. Application of enzymes in soy milk production to improve yield. **Journal of Food Science**, v. 48, p. 445-447, 1983.

ESPINOSA, B.; MARTÍNEZ, G.; GARCÍA, A.; PÉREZ, N. Jugo de fruta enriquecido con leche de soja. **Alimentaria**, p. 59-60, dez, 2000.

FERREIRA, E.; BORGES, J. M.; MENDES, A. C. C. Novo processo de elaboração de leite de soja. **Revista Ceres**, v. 21, n. 117, p. 422-425, 1974.

FERREIRA, V. L. P.; SHIROSE, I. Estudo sobre a aromatização do leite de soja destinado à merenda escolar. **Boletim do Instituto de Tecnologia de Alimentos**, n. 44, p. 87-102, dez., 1976.

FIORI, M. de. Proteínas isoladas de soja Suprosoy® e seus benefícios à saúde. **Food Ingredients**, n. 11, p. 22-23, mar./abr., 2001.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (FDA). Food Labeling: health claims: soy protein and coronary heart disease. 21 CFR Part. 101. Fed. Regist. 64:57700-57733, 1999.

FORSYTHE, W. A. Soy protein, thyroid regulation and cholesterol metabolism. **The Journal of Nutrition**, v. 125, n. 3 (suppl.), p. 619-623, 1995.

FOSTER, L. H.; SUMAR, S. Selenium concentrations in soya based milks and infant formulae available in the United Kingdom. **Food Chemistry**, v. 56, n. 1, p. 93-98, 1996.

FRACOG, D. C. K.; FRACOG, J. A. D. A review of the clinical effects of phytoestrogens. **Obstetric and Gynecology**, v. 87, n. 5, p. 897-904, may, 1996.

FRANCO, G. **Tabela de composição de alimentos**. 7ed. Rio de Janeiro : Atheneu, 1986. 145p.

FRANKE, A. A.; HANKIN, J. H.; YU, M. C.; MASKARINEC, G.; LOW, S. H.; CUSTER, L. J. Isoflavone levels in soy foods consumed by multiethnic populations in Singapore and Hawaii. **Journal of Agricultural and Food Science**, v. 47, p. 977-986, 1999.

FREITAS, D. de G. **Efeito da adição de pectina e frutooligossacarídeo como ingredientes funcionais no suco misto de cenoura e laranja**. 2000. 108p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2000.

FREITAS, S. M. de; BARBOSA, M. Z.; FRANCA, T. J. F. Cadeia de produção de soja no Brasil: o caso do óleo. **Informações Econômicas**, v. 30, n. 12, p. 30-40, dez., 2000.

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

GENOVESE, M. I.; LAJOLO, F. M. Isoflavones in soy-based foods consumed in Brazil: levels, distribution, and estimated intake. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 5987-5993, 2002.

- GIBSON, G. R.; WILLIS, C. L.; LOO, J. V. Non-digestible oligosaccharides and bifidobacteria – implications for health. **International Sugar Journal**, v. 96, n. 1150, p. 381-387, 1994.
- GINN, P. W.; HOSKEN, R. W.; COLE, S. J.; ASHTON, J. F. Physicochemical and sensory evaluation of selected australian UHT processed soy beverages. **Food Australia**, v. 50, n. 7, p. 347-351, july, 1998.
- GIROUX, I.; LAVIGNE, C.; MOORJANI, S.; AJCQUES, H. Simvastatin further enhances the hypocholesterolemic effect of soy protein in rabbits. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 16, n. 2, p. 166-174, 1997.
- GOLDBERG, A. P.; LIM, A.; KOLAR, J. B.; GRUNDHAUSER, J. J.; STEINKE, F. H.; SCHONFELD, G. Soybean protein independently lowers plasma cholesterol levels in primary hypercholesterolemia. **Atherosclerosis**, v. 43, p. 355-368, 1982.
- GOLDBERG, I. **Functional foods: designer foods, pharmafoods, nutraceuticals**. New York: Chapman e Hall, 1994. 571p.
- GOOSSENS, A. E. Protein foods: flavors and off-flavors. **Food Engineering**, v. 4, n. 10, p.59-60, oct., 1974.
- HALBE, H. V.; CELESTINO, C. A.; LOPES, C. M. C.; HAYASHIDA, S. A. Y. Xenosestrógenos, fitoestrógenos e o receptor estrogênico subtipo beta. **Sinopse de Ginecologia e Obstetrícia**, v. 4, p. 90-93, 1999.
- HIPPE, R. L.; WARTHESEN, J. J. **Journal of Food Science**, v. 43, p. 793-796, 1978.
- HO, S. C.; WOO, J. L. F.; LEUNG, S. S. F.; SHAM, A. L. K.; LAM, T. H.; JANUS, E. D. Intake of soy products is associated with better plasma lipid profiles in the Hong Kong chinese population. **The Journal of Nutrition**. v. 130, p. 2590-2593, 2000.
- HUANG, A. S.; HSIEH, O. A. L.; CHANG, S. S. Characterization of the nonvolatile minor constituents responsible for the objectionable taste os defatted soybean flour. **Journal of Food Science**, v. 47, n.1, p.19-23, jan./feb., 1982.
- HUFF, M. W.; CARROLL, K. K. Effects of dietary proteins and amino acid mixture on plasma cholesterol levels in rabbits. **The Journal of Nutrition**, v. 110, p. 1676-1685, 1980.
- HUHN , S.; PINHEIRO, A. J. R. Efeito do íon cúprico no sabor do leite de soja. **Revista Ceres**, v. 27, n. 150, p. 145-154, 1980.
- HUNNINGHAKE, D. B.; MILLER, V. T.; LAROSA, J. C.; KINOSIAN, B.; BROWN, V.; HOWARD, W. J.; DISERIO, F. J.; O'CONNOR, R. R. Hypocholesterolemic effects of a dietary fiber supplement. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 59, p. 1050-1054, 1994.

IDA, E. I.; SILVA, R. S. F. da; RAO, C. S. Oligossacarídeos da soja: problemas e soluções. **Arquivos em Biologia e Tecnologia**, v. 24, n. 4, p. 461-467, 1981.

INNOVATION – no stagnation new product strategies for the fruit juice industry. **Fruit Processing**, p. 457-459, nov, 2001.

INUI, K. H.; NAKAZAKI, C. D; PRADO, C. C. A.; TSUHAKO, V. P.; ADELL, E. A. A.; LIMA U. A. Alimento concentrado e adoçado à base de extrato hidrossolúvel de soja. In: Simpósio Latino Americano de Ciência dos Alimentos. 4., 2001, Campinas. **Anais...** Campinas: UNICAMP, nov., 2001. 1 CD-ROM.

IZUMI, T.; PISKULA, M. K.; OSAWA, S.; OBATA, A.; TOBE, K.; SAITO, M.; KATAOKA, S.; KUBOTA, Y.; KIKUCHI, M. Soy isoflavone aglycones are absorbed faster and higher amounts than their glucosides in humans. **The Journal of Nutrition**, v. 130, p. 1695-1699, 2000.

JACKSON, C. J. C.; DINI, J. P.; LAVANDIER, C.; RUPASINGHE, H. P. V.; FAULKNER, H.; POYSA, V.; BUZZELL, D.; DeGRANDIS, S. Effects of processing on the content and composition of isoflavones during manufacturing of soy beverage and tofu. **Process Biochemistry**, n. 37, p. 1117-1123, 2002.

JENKINS, D. J. A.; KENDALL C. W. C.; JACKSON, C. J. C.; CONNELLY, P. W.; PARKER, T.; FAULKNER, D.; VIDGEN, E.; CUNNANE, S. C.; LEITER, L. A.; JOSSE, R. G. Effects of high- and low-isoflavone soyfoods on blood lipids, oxidized LDL, homocysteine, and blood pressure in hyperlipidemic men and women. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 76, p. 365-372, 2002.

JENKINS, D. J. A.; KENDALL, C. W. C.; VIDGEN, E.; VUKSAN, V.; JACKSON, C. J.; AUGUSTIN, L. S. A.; LEE, B.; GARSETTI, M.; AGARWAL, S.; RAO, A. V.; CAGAMPANG, G. B.; FULGONI, V. Effect of soy-based breakfast cereal on blood lipids and oxidized low-density lipoprotein. **Metabolism**, v. 49, n. 11, p. 1496-1500, 2000.

JOHNSON, L. A.; HOOVER, W. J.; DEYOE, C. W.; ERICKSON, L. E.; JOHNSON, W. H.; SCHWENKE, J. R. Modeling the kinetics of heat inactivation of trypsin inhibitors during steam-infusion cooking of soymilk. **Transactions of the ASAE**, p. 1326-1329, 1980.

KANAZAWA, T.; OSANAI, T.; ZHANG, X. S.; UEMURA, T.; YIN, X. Z.; ONODERA, K.; OIKE, Y.; OHKUBO, K. Protective effects of soy protein on the peroxidizability of lipoproteins in cerebrovascular diseases. **The Journal of Nutrition**, v. 125, n. 3 (suppl.), p. 639-645, 1995.

KATAN, M. B.; VROOMEN, L. H. M.; HERMUS, R. J. J. Reduction of casein induced hypercholesterolaemia and atherosclerosis in rabbits and rats by dietary glycine, arginine e alanine. **Atherosclerosis**, v. 43, p. 381-391, 1982.

KELLOFF, G. J.; CROWELL, J. A.; STEELE, V. E.; LUBET, R. A.; MALONE, W. A.; BOONE, C. W.; KOPELOVICH, L.; HAWK, E. T.; LIEBERMAN, R.; LAWRENCE, J. A.; ALI, I.; VINER, J. L.; SIGMAN, C. C. Progress in cancer chemoprevention: development of diet-derived chemopreventive agents. **The Journal of Nutrition**, v. 130 (suppl.), p. 467-471, 2000.

KIM, H.; PETERSON, T. G.; BARNES, S. Mechanisms of action of the isoflavone genistein: emerging role for its effects via transforming growth factor b signaling pathways. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 68, n. 6 (suppl.), p. 1418-1425, 1998.

KIRK, E. A.; SUTHERLAND, P.; WANG, S. A.; CHAIT, A.; LEBOUF, R. C. Dietary isoflavones reduce plasma cholesterol and atherosclerosis in C57BL/6 mice but not LDL receptor-deficient mice. **The Journal of Nutrition**, v. 128, p. 954-959, 1998.

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

KRITCHEVSKY, D. Dietary protein and experimental atherosclerosis. **Ann. N. Y. Acad. Sci.** v. 676, p. 180-187, 1993.

KRITCHEVSKY, D. Dietary protein, cholesterol and atherosclerosis: a review of the early history. **The Journal of Nutrition**, v. 125, n. 3 (suppl.), p. 589-593, 1995.

KUROWSKA, E. M.; CARROLL, K. K. Hypercholesterolemic responses in rabbits to select groups of dietary essential amino acids. **The Journal of Nutrition**, v. 124, p. 364-370, 1994.

KURZER, M. Hormonal effects of soy in premenopausal women and men. **The Journal of Nutrition**, v. 132 (suppl.), p. 570-573, 2002.

KURZER, M. S.; XU, X. Dietary phytoestrogens. **Annual Reviews in Nutrition**, v. 17, p. 353-381, 1997.

KUSHI, L. H.; MEYER, K. A.; JACOBS JR.; D. R. Cereals, legumes, and chronic disease risk reduction: evidence from epidemiologic studies. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 70 (suppl.), p. 451-458, 1999.

KWOK, K.-C.; NIRANJAN, K. Effect of thermal processing on soymilk. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 30, p. 263-295, 1995.

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

LANZANI, A.; BONDIOLO, P.; MANGANIELLO, B.; CARDILLO, M.; FEDELI, E.
Tecnologie di produzione del latte di soia. Nota 2. **La Rivista Italiana delle Sostanze Grasse**, v. 115, p. 267-270, abr., 1988.

LIENER, I. E. Implications of antinutritional components in soybean foods. **Critical Review in Food Science and Nutrition**, v. 34, n. 1, p. 31-67, 1994.

LIU, K. Expanding soybean food utilization. **Food Technology**, v. 54, n. 7, p. 46-58, july, 2000.

LIU, K. **Soybeans: chemistry, technology and utilization**. New York: Chapman & Hall, 1999. 532p.

MARANHÃO, M. F. Benefícios da soja para o coração e a saúde. In: Simpósio Brasileiro sobre os Benefícios da Soja para a Saúde Humana, 1., 2001, Londrina. **Anais...** Londrina: Embrapa Soja, out., 2001.

MARTEAU, P.; BOUTRON-ROUULT, M. C. Nutritional advantages of probiotics and prebiotics. **British Journal of Nutrition**, v. 87, suppl. 2, p. S153-S157, 2002.

MATSUURA, M.; OBATA, A. β -glucosidases from soybeans hydrolyse daidzin and genistin. **Journal of Food Science**, v. 58, n. 1, p. 144-147, 1993.

MATSUURA, M.; OBATA, A.; FUKUSHIMA, D. Objectionable flavor of soy milk developed during the soaking of soybeans and its control. **Journal of Food Science**, v. 54, n. 3, p. 602-605, 1989.

MAZUR, W. M.; DUKE, J. A.; WÄHÄLÄ, K.; RASKU, S.; ADLERCREUTZ, H. isoflavonoids and lignans in legumes: nutritional and health aspects in humans. **J. Nutr. Biochem.**, v. 9, p. 193-200, 1998.

MESSINA, M. J. Legumes and soybeans: overview of their nutritional profiles and health effects. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 70 (suppl.), p. 439-450, 1999.

MESSINA, M.; PERSKY, V.; SETCHELL, K. D. R.; BARNES, S. Soy intake and cancer risk: a review of the in vitro and in vivo data. **Nutrition Cancer**, v. 21, p. 113-131, 1994(a).

MESSINA, M.; MESSINA, V.; SETCXHELL, K. D. R. **The simple soybean and your health**. New York: Avery Publishing Group, 1994(b). 260p.

MITSUOKA, T. **Intestinal bacteria and health**. Japão: Harcourt Brace Jovanovich Japan, 1978. 208p.

MIYA, E. E.; PUPO, L. M.; CHAIB, M. A.; ANGELUCCI, E.; TANGO, J. S.; FIGUEIREDO, I. B.; TOSELLO, Y. **Estudo sensorial de sabor do leite de soja**. Boletim do Instituto de Tecnologia de Alimentos, Campinas, n. 42, p. 43-54, jun, 1975.

MIYAZAWA, M. Antimutagenic activity of isoflavones from soybean seeds (*Glycine max*, Merrill). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 47, p. 1346-1349, 1999.

MNKENI, A. P.; NYARUHUCHA, C. N. M. Acceptability and keeping quality of soymilk in Tanzania. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 46, p. 175-180, 1994.

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

MORAES, R. M. de **Montagem e avaliação de um equipamento para desodorização de “leite de soja” por arraste de vapor superaquecido**. 2002. 51p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2002.

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

MORETTI, R. H. Soy milk developments in Latin America. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 58, n. 3, p. 521-522, mar., 1981.

MORETTI, R. H.; BARIONI, J. R. L.; ROMEIRO, S. R. Equipamento compacto para produção de extratos vegetais e/ou animais. Patente PI – 7904296, 1979.

NAIM, M.; GESTETNER, B.; BONDI, A.; BIRK, Y. Antioxidative and antihemolytic activities of soybean isoflavones. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 24, n. 6, p. 1174-1177, 1976.

NAIM, M.; GESTETNER, B.; ZILKAH, S. Soybean isoflavones. Characterization, determination and antifungal activity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 22, p. 806-810, 1974.

NAKAMURA, Y.; TSUJI, S.; TONOGAI, Y. Determination of the levels of isoflavonoids in soybeans and soy-derived foods and estimation of isoflavonoids in the Japanese daily intake. **Journal of AOAC International**, v. 83, n. 3, p. 635-650, 2000.

NELSON, A. I.; STEINBERG, M. P.; WEI, L. S. Illinois process for preparation of soymilk. **Journal of Food Science**, v. 41, p. 57-61, 1976.

NESTEL, P. J.; YAMASHITA, T.; SASAHARA, T. Soy isoflavones improve systemic arterial compliance but not plasma lipids in menopausal and perimenopausal women. **Arteriosclerosis Thrombosis Vascular Biology**, v. 17, p. 3392-3398, 1997.

NILAUSEN, K.; MEINERTZ, H. Variable lipemic response to dietary soy protein in healthy, normolipemic men. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 68 (suppl.), p. 1380-1384, 1998.

-
- NJOKU, O. U.; NGANDU, F. T.; ALUMUNAH, E. O. Effect of soybean milk on rat serum lipid levels. **Journal of Food Science and Technology**, v. 36, n. 1, p. 55-57, 1999.
- NOGOWISK, L.; MACKOVIK, P.; KANDULSKA, K.; SZKUDELSKI, T.; NOWAK, K. W. Genistein-induced changes in lipid metabolism of ovariectomized rats. **Annals of Nutrition & Metabolism**, v. 42, p. 360-366, 1998.
- NSOFOR, L. M.; ANYANWU, K. B. effect of heat processing on refrigerated shelf-life of concentrated soymilk beverages. **Journal of Food Science and Technology**, v. 29, n. 1, p. 40-44, 1992.
- OMUETI, O.; OGUNTONA, E. B.; FAIYEOLA, O.; ASHAYE, O. A. Nutritional evaluation of home-prepared soy-corn milk – a protein beverage. **Nutrition and Food Science**, v. 30, n. 3, p. 128-132, 2000.
- OTERO, M.; RODRIGUEZ, T.; CAMEJO, J.; HOMBRE, R. de; VALDÉS, C. Reologia de las mezclas para helado de soya. **Alimentaria**, p. 87-88, 1998.
- PACHECO, M. T. B.; SGARBIERI, V. C. Alimentos funcionais: conceituação e importância na saúde humana. . In: I Simpósio Brasileiro sobre os Benefícios da soja para a Saúde Humana, 1., 2001, Londrina. **Anais...** Londrina: Embrapa Soja, out., 2001.
- PANORAMA BRASIL – Soja. 2003. Disponível em:
<<http://br.news.yahoo.com/030228/13/atpa.html>> Acesso em : 31 mar. 2003.
- PASQUALUCCI, C.; UINT, L.; LAGE, S. G. Aterosclerose – Parte II. Papel dos lípidos e lipoproteínas na aterosclerose. 2002. Disponível em : <<http://www.cibersaude.com.br>> Acesso em: 21 mai. 2002.
- PAZ FRASSINO, M. T.; PEREA, J.; NÚÑEZ de VILLAVICENCIO, M.; HERNANÁNDEZ, R. Desarrollo de una bebida de soya-suero aromatizada com chocolate. **Alimentaria**, p. 83-86, abr, 1998.
- PINO, L. M.; REGITANO-d'ARCE, M. A. B.; SPOTO, M. H. F. Obtenção de leite de soja aromatizado artificialmente de grãos aquecidos em forno de microondas. In: Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 18., 2002, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: UFRGS, 2002. 1 CD-ROM.
- POTTER, S. M. Overview of proposed mechanisms for the hypocholesterolemic effect of soy. **The Journal of Nutrition**, v. 125, n. 3 (suppl.), p. 606-611, 1995.
- POTTER, S. M. Soy protein and cardiovascular disease: the impact of bioactive components in soy. **Nutrition Reviews**, v. 56, n. 8, p. 231-235, 1998.
- POYSA, V.; WOODROW, L. Stability of soybean seed composition and its effect on soymilk and tofu yield and quality. **Food Research International**, v. 35, p. 337-345, 2002.

PRUDÊNCIO, E.; FALCÃO, L. D.; BODIGNON LUIZ, M. T.; HAMAD, A. J. S.; BENEDET, H. D. Elaboração de uma bebida a partir de extrato de soja (*Glycine max*) adicionado de soro de queijo e antioxidantes. In: Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 18., 2002, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: UFRGS, 2002. 1 CD-ROM.

RAAIJ, J. M. A.; KATAN, M. B.; HAUTVAST, J. G. A. J.; HERMUS, R. J. J. Effects of casein versus soy protein diets on serum cholesterol and lipoproteins in young healthy volunteers. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 34, p. 1261-1271, jul., 1981.

RACKIS, J. J.; HONIG, D. H.; SESSA, D. J.; STEGGERDA, F. R. Flavor and flatulence factors in soybean protein products. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 18, n. 6, p. 977-982, 1970.

RAINES, E. W.; ROSS, R. Biology of atherosclerotic plaque formation: possible role of growth factors in lesion development and the potential impact of soy. **The Journal of Nutrition**, v. 125, n. 3 (suppl.), p. 624-630, 1995.

REDDY, P. V.; MITAL, B. K. Physical and chemical characteristics of soy milk. **Journal of Food Science and Technology**, v. 29, n. 3, p. 193-194, 1992.

ROSARIO, R. R. Del; MALDO, O. M. Studies on soybean milk processing. **NSDB Technology Journal**, p. 61-67, oct/dec, 1979.

SADOWSKA-KROWICKA, H. Genistein and gut inflammation: role of nitric oxide. **Proc. Soc. Exp. Biol. Med.**, v. 217, n. 3, p. 351-357, 1998.

SAFRA de soja deve crescer 16% e de milho, 7,7%, segundo IBGE. 2003. Disponível em: <<http://br.news.yahoo.com/030131/16/aefw.html>> Acesso em: 31 mar. 2003.

SANTOS, C. J. C dos **Teor de isoflavonas e atividade de β -glicosidase em grãos de soja (*Glycine max* (L.) Merrill)**. 1993. 51p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1993.

SCHOENE, N. W.; GUIDRY, C. A. Dietary soy isoflavones inhibit activation of rat platelets. **Journal of Nutrition and Biochemistry**, v. 10, p. 421-426, 1999.

SETCHELL, K. Phytoestrogens: the biochemistry, physiology, and implications for human health of soy isoflavones. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 68 (suppl.), p. 1333-1346, 1998.

SILVA JUNIOR, S. I.; DEMONTE, A. Avaliação da qualidade nutricional da proteína do "leite de soja" e do leite integral em pó. Ensaio experimental e discussão metodológica. **Alimentos e Nutrição**, n. 8, p. 105-120, 1997.

SILVA, F. C. da; WANG, S. H.; FERNANDES, S. M.; ASCHERI, J. L. R.; CABRAL, L. C. Propiedades reológicas y sensoriales de bebidas reconstituidas a base de extracto hidrosoluble de arroz y soya. **Alimentaria**, p. 67-72, sept, 1998.

SIRTORI, C. R.; LOVATI, M. R.; MANZONI, C.; MONETTI, M.; PAZZUCCONI, F.; GATTI, E. Soy and cholesterol reduction: clinical experience. **The Journal of Nutrition**, v. 125, n. 3 (suppl.), p. 598-605, 1995.

SIRTORI, C. R.; PAZZUCCONI, F.; COLOMBO, L.; BATTISTIN, P.; BONDIOLI, A.; DESCHEEMAER, K. Double-blind study of the addition of high-protein soya milk v. cows' milk to the patients with severe hypercholesterolaemia and resistance to or intolerance of statins. **British Journal of Nutrition**, v. 82, p. 91-96, 1999.

SIRTORI, C. R.; PAZZUCCONI, F.; COLOMBO, L.; BATTISTIN, P.; BONDIOLI, A.; DESCHEEMAER, K. Soy proteins and cardiovascular disease. **Curr. Atheroscler. Rep.**, v. 3, p. 47-53, 2001.

SLAVIN, J. L.; MARTINI, M. C.; JACOBS JR., D. R.; MARQUART, L. Plausible mechanisms for the protectiveness of whole grains. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 70 (suppl.), p. 459-463, 1999.

SOYMILK – new processing, packaging expand markets. **JAOCs**, v. 16, n. 12, p. 1784-1798, dec., 1984.

STRYER, L. **Bioquímica**. 4 ed., Rio de Janeiro:Guanabara Koogan, 1996. 1000p.

TAKATSUKA, N.; NAGATA, C.; KURISU, Y.; INABA, S.; KAWAKAMI, N.; SHIMIZU, H. Hypocholesterolemic effect of soymilk supplementation with usual diet in premenopausal normolipidemic Japanese women. **Preventive Medicine**, v. 31, p. 308-314, 2000.

TANGO, J. S.; SANTOS, L. C. dos; TURATTI, J. M.; MORI, E. E. M.; SHIROSE, I.; YOTSUYANAGI, K. Caracterização de algumas cultivares de soja para produção de extrato protéico. **Boletim do ITAL**, v. 21, n. 2, p. 157-182, 1984.

TASHIMA, E. H.; CARDELLO, H. M. A. B. Extrato hidrossolúvel de soja (*Glycine max* L., Merrill) comercial adoçado com sacarose e com sucralose. In: Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 18., 2002, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: UFRGS, 2002. 1 CD-ROM.

TEIXEIRA, S. R.; POTTER, S. M.; WEIGEL, R.; HANNUM, S.; ERDMAN, J. W.; HASLER, C. M. Effects of feeding 4 levels of soy protein for 3 and 6 wk on blood lipids and apolipoproteins in moderately hypercholesterolemic men. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 71, p. 1077-1084, 2000.

- THAM, D. M.; GARDNER, C. D.; HASKELL, W. L. Potential health benefits of dietary phytoestrogens: a review of the clinical, epidemiological, and mechanistic evidence. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 83, p. 2223-2235, 1998.
- TOMOMATSU, H. Health effects of oligosaccharides. **Food Technology**, v. 48, p. 61-65, oct, 1994.
- TONSTAD, S.; SMERUD, K.; HØIE, L. A comparison of the effects of 2 doses of soy protein on serum lipids, serum lipoproteins, and plasma total homocysteine in hypercholesterolemic subjects. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 76, p. 78-84, 2002.
- TSUKAMOTO, C.; SHIMADA, S.; IGITA, K.; KUDOU, S.; KOKUBUN, M.; OKUBO, K.; KITAMURA, K. Factors affecting isoflavone content in soybean seeds: changes in isoflavones, saponins, and composition of fatty acids at different temperatures during seed development. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 43, p. 1184-1192, 1995.
- TURATTI, J. M.; SALLES, A. M.; SANTOS, L. C. dos; MORI, E. E. M.; FIGUEIREDO, I. B. Estudos preliminares com cultivares de soja para produção de leite. **Boletim do ITAL**, v. 16, n. 3, p. 289-305, jul/set. 1979.
- UBOLDI EIROA, M. N.; FERREIRA, V. L. P. Estudo comparativo da vida-de-prateleira do extrato protéico de soja pasteurizado e do leite pasteurizado tipo B e especial. **Boletim do ITAL**, v. 21, n. 1, p. 101-108, jan./mar., 1984.
- VIEIRA, L. C.; LOURENÇO JUNIOR, J. de B.; HÜHN, S.; BRAGA, C. M. M.; SOARES, D. **Extrato hidrossolúvel de soja (leite de soja) com sabores de frutas da Amazônia**. Belém: EMBRAPA – CPATU, 1994. 20p.
- WAGGLE, D. H.; POTTER, S. M. Soy protein and health. **Food Australia**, v. 52, n. 1,2, p. 31-36, jan./feb., 2000.
- WANG, H. J.; MURPHY, P. A. Mass balance study of isoflavones during soybean processing. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 44, p. 2377-2383, 1996.
- WANG, H. J.; MURPHY, P. A. Isoflavone composition of american and japanese soybeans in Iowa: effects of variety, crop year, and location. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 42, p. 1674-1677, 1994(a).
- WANG, H. J.; MURPHY, P. A. Isoflavone content in commercial soybean foods. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 42, p. 1666-1673, 1994(b).
- WANG, S. H.; CABRAL, L. C.; FERNANDES, S. M. Bebida à base de extrato hidrossolúvel de arroz e soja. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 17, n. 2, p. 73-77, mai-ago, 1997.

WANG, S. **Tratamento do grão de soja com radiação de microondas e seus efeitos no sabor, extração e algumas propriedades nutricionais do leite de soja.** 1986. 138p. Tese (Doutorado) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1986.

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

WEINGARTNER, K. E.; NELSON, A. I.; ERDMAN JR., J. W. Effects of calcium addition on stability and sensory properties of soy beverage. **Journal of Food Science**, v. 48, p. 256-258, 1983.

WILCOX, J. N.; BLUMENTHAL, B. F. Thrombotic mechanisms in atherosclerosis; potential impact of soy proteins. **The Journal of Nutrition**, v. 125, n. 3 (suppl.), p. 631-638, 1995.

WILKENS, W. F.; MATTICK, L. R.; HAND, D. B. Effect of processing method on oxidative off-flavors of soybean milk. **Food Technology**, v. 46, n. 4, p. 391-397, 1967.

WOLF, W. J. Purification and properties of the proteins. In: SMITH, A. K. e CIRCLE, S. J., **Soybeans: chemistry and technology**. Westport: AVI, v. 1, chap. 4, p. 93-143, 1972.

WONG, W. W.; SMITH, E. O.; STUFF, J. E.; HACHEY, D. L.; HEIRD, W. C.; POWNELL, H. J. Cholesterol-lowering effect of soy protein in normocholesterolemic and hypercholesterolemic men. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 68 (suppl.), p. 1385-1389, 1998.

WU, E. S.; LOCH, J. T.; TODER, B. H. Flavones. Synthesis, biological activities, and conformational analysis of isoflavone derivatives and related compounds. **J. Med. Chem.**, v. 18, p. 3519-3525, 1992.

YAMAKOSHI, J.; PISKULA, M. K.; IZUMI, T.; TOBE, K.; SAITO, M.; KATAOBA, S.; OBATA, A.; KIKUCHI, M. Isoflavone aglycone-rich extract without soy protein attenuates atherosclerosis development in cholesterol-fed rabbits. **The Journal of Nutrition**, v. 130, p. 1887-1893, 2000.

ZARKADAS, C. G.; HARVEY, Z. Y.; VOLDENG, H. D.; MINERO-AMADOR, A. Assessment of the protein quality of a new high-protein soybean cultivar by amino acid analysis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 41, p. 616-623, 1993.

CAPÍTULO 2

**Avaliação físico-química e sensorial de
extratos obtidos de grãos, farinha integral e
isolado protéico de soja**

1. Introdução

O extrato protéico de soja, também conhecido como “leite de soja”, é originário da China e tem sido um item importante na dieta dos asiáticos há centenas de anos. Foi introduzido no ocidente por volta da metade do século XX para atender a pessoas com intolerância à lactose, vegetarianos e indivíduos com restrições alimentares e/ou de ordem religiosa (Liu, 1999). Posteriormente as bebidas comerciais de soja alcançaram penetração considerável nos mercados ocidentais como fonte protéica barata, em substituição ao leite bovino, para atender populações carentes. A utilização destes produtos não logrou o sucesso esperado devido a atributos sensoriais característicos não bem assimilados e aceitos pela população (Ginn *et al.*, 1998; Moretti, 1981).

A importância da soja como fonte de proteína na nutrição humana reside no seu alto teor de aminoácidos essenciais, sendo limitante apenas com relação aos aminoácidos sulfurados (Liu, 1999; Morais e Silva, 1996; Wang, 1986; Turatti *et al.*, 1979; Lam-Sánchez, 1978; Sikka *et al.*, 1978). Além da falta do hábito de consumo da população, vários outros fatores têm dificultado o emprego da soja em larga escala, destacando-se seus componentes inibidores de tripsina, as hemaglutininas, as saponinas, os causadores de bócio e de flatulência, o sistema lipoxigenase e as isoflavonas; estes últimos responsáveis pelo sabor e aroma característicos presentes não só na soja crua como também nos produtos dela derivados, incluindo os extratos protéicos (Kwok e Niranjan, 1995; Huhn e Pinheiro, 1980).

De maneira geral, os fatores antinutricionais da soja são termolábeis, sendo, portanto, inativados pelo calor. A aplicação de tratamentos térmicos rigorosos pode provocar a degradação de aminoácidos, comprometendo o valor nutricional, e a insolubilização das proteínas, reduzindo o rendimento do processo de obtenção de extratos (Johson *et al.*, 1980).

O sabor, aspecto mais exaustivamente estudado, pode ser melhorado de muitas maneiras: por melhoramento genético da planta, pela desodorização do extrato com

vácuo (Liu, 1999) ou por arraste de vapor (Moraes, 2002), pelo uso de substâncias químicas (Huhn e Pinheiro, 1980; Miya *et al.*, 1975) e por inativação enzimática. A inativação térmica (método mais usado) tem sido atingida pelo aquecimento a 80-100°C por cerca de 3 minutos durante a etapa de rompimento dos grãos (Wilkens *et al.*, 1967) ou antes desta etapa (Nelson *et al.*, 1976), onde o binômio temperatura x tempo depende da variedade de soja utilizada, do grau de hidratação dos grãos e do tipo de tratamento térmico aplicado. Estes procedimentos introduzem um sabor “cozido” ao extrato protéico, atributo sensorial considerado negativo segundo Ashraf e Snider (1981), mas positivo de acordo com Iwuoha e Umunnakwe (1997), por constituir o sabor característico do produto.

Esforços ao longo dos anos têm sido feitos para manter ou melhorar as qualidades do extrato protéico de soja: inibição dos fatores antinutricionais (Wang, 1986; Johnson *et al.*, 1980), aumento do rendimento (Poysa e Woodrow, 2002; Eriksen, 1983; Bourne, 1976), suplementação e fortificação (Casé *et al.*, 2002; Silva Júnior e Demonte, 1997; Weingartner *et al.*, 1983), eliminação do aroma e melhoria do sabor (Pio *et al.*, 2002; Moraes, 2002; Iwuoha e Umunnakwe, 1997; Ashraf e Snyder, 1981), entre outros.

Ótimos resultados vêm sendo obtidos em inúmeras pesquisas em curso, visando adequar a soja e os produtos dela derivados às exigências mercadológicas e nutricionais.

Enfoque tem sido dado aos fatores antinutricionais e restritivos da soja. Pesquisas têm comprovado que alguns dos fatores considerados limitantes ao consumo do extrato protéico de soja têm efeitos benéficos sobre o organismo, como é o caso dos inibidores de proteases, considerados anticarcinogênicos (Kennedy, 1995); dos oligossacarídeos, que estimulam o crescimento de bifidobactérias no intestino (Tomomatsu, 1994); e das isoflavonas, as quais têm colocado a soja em destaque nos últimos anos pelos seus efeitos benéficos nos sintomas da pós-menopausa, prevenção

de alguns tipos de câncer e controle da hipercolesterolemia (Han et al, 2001; Greaves *et al.*, 1999; Kennedy, 1995; Messina *et al.*, 1994).

Apesar do potencial produtivo, disponibilidade, baixo custo relativo, avanços tecnológicos, indiscutível qualidade protéica e comprovados efeitos à saúde, a influência de aspectos econômicos e sócio-culturais sobre os hábitos alimentares apresenta-se, ainda, como um dos principais fatores limitantes à aceitação e ao consumo cotidiano dos produtos derivados da soja no Brasil.

O extrato protéico de soja tem sido um dos produtos mais consumidos no País, ganhando espaço no mercado nacional devido à sua disponibilidade em diversos tipos de produtos e pelo enfoque atual que tem destacado a soja com relação aos efeitos benéficos nutricionais e na prevenção de algumas doenças. O extrato normalmente é obtido a partir de grãos de soja, através de processos tecnológicos que consistem, basicamente, em descascamento, hidratação, desintegração à quente, suspensão em água, cozimento e filtração. Pode também ser produzido a partir da farinha ou do isolado protéico, o que permite eliminar algumas etapas de processamento, aumentando a versatilidade do processo, mas acarretando modificações nas características nutricionais, funcionais e sensoriais do produto final, comparativamente ao extrato obtido a partir dos grãos de soja.

O objetivo deste trabalho foi avaliar as características físico-químicas e a aceitabilidade de extratos elaborados a partir de grãos, farinha integral e isolado protéico de soja e escolher o melhor extrato para ser utilizado em estudos subseqüentes.

2. Material e métodos

2.1. Matérias-primas utilizadas

Foram utilizados grãos de soja [*Glycine max* (L.) Merrill], da variedade Embrapa 48 (safra 2001) produzidos por Sementes Brejeiro S.A. (Orlândia – SP); farinha de soja integral fornecida pela Perdigão S.A.; e isolado protéico de soja HO159® da Protein Technologies International.

2.2. Obtenção do extrato hidrossolúvel de soja

O extrato proveniente dos grãos foi obtido em equipamento conhecido como “vaca mecânica”, de propriedade da prefeitura de Nova Odessa (SP), no qual os grãos, após descascamento em descascador de rolos e maceração em água por 2 horas à temperatura ambiente, foram submetidos à trituração a quente, separação do resíduo e cozimento. Os extratos provenientes da farinha e do isolado protéico foram obtidos pela dissolução da respectiva matéria-prima em água. Em todos os casos, a proporção de matéria-prima:água foi calculada visando obter extratos com 3% de proteína.

Os extratos de soja foram desodorizados em equipamento piloto desenvolvido no Instituto de Tecnologia de Alimentos (Campinas - SP) (Moraes, 2002) o qual consiste basicamente numa coluna recheada com anéis de vidro por onde o líquido passa em contra-corrente ao vapor de água superaquecido. Na sequência foram submetidos à pasteurização à temperatura de $74\pm 2^{\circ}\text{C}$ por 15 segundos e acondicionados em garrafas de poliéster (PET) com capacidade para 250mL, imediatamente resfriados a $3-4^{\circ}\text{C}$, sendo mantidos sob refrigeração (4°C), até o momento das análises.

2.3. Determinações físicas, químicas e físico-químicas

Nos grãos, na farinha integral, no isolado protéico de soja e nos extratos obtidos destes, foram determinados, em sextuplicata, conforme metodologias descritas na *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC) (AOAC, 1995): umidade (AOAC

nº14058), sólidos totais (AOAC nº92523), proteínas (AOAC nº99120), lipídios (AOAC nº90502), cinzas (AOAC nº94546) e fibra bruta (AOAC nº7061). Os carboidratos foram calculados por diferença (carboidratos = 100 – umidade – proteínas – lipídios – cinzas – fibras).

Os açúcares sacarose, rafinose e estaquiose foram extraídos e determinados quantitativamente segundo a metodologia proposta por Vidal-Valverde *et al.* (1993), por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), em equipamento dotado de injetor automático, coluna Shim-Pack CLCNH₂ (250mm) e detector de índice de refração. Foi utilizado como fase móvel acetonitrila:água na proporção de 75:25, com taxa de fluxo de 1,0mL/min., à temperatura ambiente. A determinação dos mesmos nas amostras foi feita utilizando-se os padrões de sacarose, rafinose e estaquiose Sigma Chemical Co. (St. Louis, Missouri).

Os aminoácidos foram determinados por CLAE, em aparelho equipado com detector UV, coluna revestida com NH₂ (3,0 x 250mm), com velocidade de fluxo de 0,3mL/min., conforme adaptação do método proposto por Spackman *et al.* (1958) para cromatografia usando coluna de troca iônica.

A determinação de isoflavonas foi realizada pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Centro Nacional de Pesquisa de Soja (Londrina - PR) baseado na técnica de Kudou *et al.* (1991). As isoflavonas foram extraídas a partir de 100mg de amostra de grãos de soja, farinha integral e isolado protéico moídos e dos extratos liofilizados, colocadas em tubos de ensaio com 4,0mL de etanol aquoso a 70%, contendo 0,1% de ácido acético, mantidos à temperatura ambiente por cinco horas, com agitação a cada 15 minutos. Após centrifugação de 1,5mL de cada amostra por 10 minutos a 13.346g, à temperatura de 10°C, o material foi analisado por CLAE, sendo 80µl do sobrenadante transferidos para as bandejas do auto-aplicador de amostras do cromatógrafo, no qual a alíquota de 10µl era injetada automaticamente. As análises de isoflavonas foram realizadas em coluna de fase reversa YMC-Pack ODS-C-18 (4,6 x 250mm). Na fase móvel, o solvente A foi acetonitrila com 0,1% ácido acético e o

solvente B, água com 0,1% de ácido acético. As condições iniciais foram 20% do solvente B, em gradiente linear, passando para 50%, depois de 20 minutos. O efluente foi monitorado em detector UV à 260nm. Padrões de daidzina, daidzeína, genistina e genisteína Sigma Chemical Co. (St. Louis, Missouri) foram utilizados para calcular a concentração de isoflavonas nas amostras.

Nos extratos de soja determinou-se ainda: sólidos solúveis, pH, acidez e índice de sedimentação, conforme metodologias específicas descritas na AOAC (1995).

A cor dos extratos de soja foi determinada instrumentalmente através de espectrofotômetro, modelo Color Quest II, marca Hunter Lab, calibrado em RSIN, usando calibrador branco n°C6299 (X=77,46; Y=82,08; Z=88,38 em RSIN $D_{65/10^\circ}$) e cinza n°C6299G (X=47,71; Y=50,83; Z=54,94 em RSIN $D_{65/10^\circ}$), ambos de março de 1996. A cor foi avaliada pelo sistema Cielab, com iluminante D_{65} , ângulo de 10° , colocando-se a amostra em cubeta de vidro óticamente limpa de 20mm de caminho ótico, cuja área de observação correspondeu a 1 polegada.

As medidas reológicas foram efetuadas em reômetro rotacional Brookfield, modelo RVIII (Brookfield Engineering Laboratories), acoplado a banho termostático com temperatura controlada. Os parâmetros reológicos (coeficiente de consistência e índice de comportamento do fluxo) foram determinados a 4°C e 25°C numa velocidade de 12,5rpm até 250rpm, com intervalo de espera de 15 segundos entre cada aumento, num total de 5 minutos para tempo de rampa crescente. Determinou-se também a viscosidade aparente dos extratos às temperaturas de 4 e 25°C com taxa de deformação constante de 100s^{-1} . Utilizou-se o programa computacional Rheocalc 2.3 (Brookfield Engineering Laboratories) para a captura dos dados.

Os resultados das determinações físico-químicas foram compilados e analisados pelo programa Statistica, versão 5.0 (Statistica, 1995), utilizando-se a análise de variância (ANOVA), teste F e aplicando-se o teste de Tukey ($p \leq 0,05$) para a comparação das médias dos resultados das amostras. Os parâmetros reológicos foram

analisados por métodos estatísticos quantitativos com determinação das equações de regressão correspondentes.

2.4. Avaliação sensorial

Os extratos de soja obtidos a partir de grãos de soja, farinha integral e isolado protéico, adicionados de 4% de sacarose (sendo o último acrescido também de 1,7% de óleo refinado de soja), foram avaliados sensorialmente através de método afetivo com a aplicação de teste de aceitação, considerando-se os atributos cor, aroma, sabor, textura e impressão global.

As amostras foram apresentadas a 56 provadores não treinados, com idade entre 21 e 48 anos, pertencentes à comunidade acadêmica da Universidade Estadual de Campinas, recrutados através de questionário no qual indicavam se consumiam extrato de soja e/ou se não rejeitavam este produto. Os provadores manifestaram sua opinião em relação aos atributos escolhidos, para cada amostra, utilizando escala não estruturada de 9 centímetros (Figura 1) (Stone e Sidel, 1993). As amostras foram servidas à temperatura de $4\pm 2^{\circ}\text{C}$, em copos incolores e transparentes devidamente codificados (3 algarismos) e oferecidas aos provadores de forma monádica, segundo um delineamento de blocos completos casualizados (Wakeling e MacFie, 1995).

Os resultados foram compilados e analisados pelo programa SAS (SAS Institute, 1993), utilizando-se a análise de variância (ANOVA), teste F e aplicando-se o teste de Tukey ($p \leq 0,05$) para a comparação das médias das 3 amostras de extrato de soja em relação a cada atributo avaliado.

Nome : _____ Idade : _____ Data : ____/____/____
E-mail : _____ Fones : _____

AMOSTRA nº : _____

Estás recebendo amostra de **extrato de soja**. Por favor, avalia esta bebida e indica nas escalas tua opinião.

☞ COR

Desgostei muitíssimo _____ Gostei muitíssimo

☞ AROMA

Desgostei muitíssimo _____ Gostei muitíssimo

☞ SABOR

Desgostei muitíssimo _____ Gostei muitíssimo

☞ TEXTURA

Desgostei muitíssimo _____ Gostei muitíssimo

☞ IMPRESSÃO GLOBAL

Desgostei muitíssimo _____ Gostei muitíssimo

Especifica ou comenta o que mais gostaste e o que menos gostaste nesta amostra:

+ Gostei : _____
- Gostei : _____

Figura 1. Ficha de avaliação sensorial utilizada nos testes de aceitação dos extratos de soja.

3. Resultados e discussão

Na Tabela 1 estão os resultados das determinações físico-químicas realizadas nos grãos, na farinha integral e no isolado protéico de soja.

Tabela 1. Composição centesimal dos grãos, da farinha integral e do isolado protéico de soja

Determinação (%)	Grãos de soja	Farinha integral de soja	Isolado protéico de soja
Umidade	10,01 ± 0,13 ^a	4,48 ± 0,09 ^b	5,63 ± 0,11 ^c
Proteínas	35,43 ± 0,43 ^a	39,48 ± 0,32 ^b	76,24 ± 1,19 ^c
Lipídios	19,00 ± 0,29 ^a	23,42 ± 0,08 ^b	0,44 ± 0,00 ^c
Cinzas	4,79 ± 0,29 ^a	4,73 ± 0,20 ^a	11,26 ± 1,01 ^b
Fibra bruta	5,24 ± 0,42 ^a	2,56 ± 0,71 ^b	0,56 ± 0,31 ^c
Sacarose	3,38 ± 0,00	3,66 ± 0,00	0,42 ± 0,00
Rafinose	0,28 ± 0,00	0,30 ± 0,00	nd
Estaquiose	1,68 ± 0,00	1,86 ± 0,00	0,024 ± 0,00
Outros carboidratos*	20,19	19,51	5,43

* Calculados por diferença (Outros carboidratos = 100 – umidade – proteínas – lipídios – cinzas – fibra bruta – sacarose – refinose – estaquiose);

nd: não detectado;

Os valores correspondem à média de 2 (açúcares) e de 6 repetições (demais determinações) ± estimativa de desvio padrão;

Médias em uma mesma linha que possuem letras distintas diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Os valores encontrados estão de acordo com a indicação do produtor (grãos) e do fabricante (farinha e isolado protéico). Embora a literatura indique uma composição média de referência para a soja e produtos dela derivados, as características físico-químicas dos grãos variam muito em função da variedade de soja, das condições edafo-climáticas e de cultivo (Tango *et al.*, 1984; Turatti *et al.*, 1979; Bourne, 1976). Os produtos derivados dos grãos, além destes fatores, diferem também em função dos processos tecnológicos que os originaram e/ou aplicados para a sua conservação (Liu, 1999; Moraes e Silva, 1996).

Os açúcares da soja, especialmente os oligossacarídeos refinose e estaquiose, têm sido considerados aspectos negativos por estarem associados à ocorrência de

desconforto abdominal quando se ingere produtos de soja (Rackis *et al.*, 1970), mas positivos por estimularem o crescimento de bifidobactérias no cólon, microrganismos que promovem inúmeros efeitos benéficos à saúde (Tomomatsu, 1994).

Verifica-se pela Tabela 1 que os teores de sacarose, rafinose e estaquiose foram similares entre as amostras de grãos e farinha integral, apresentando percentuais dentro da faixa relatada por Hou *et al.* (2000) e Ida *et al.* (1981). Segundo estes autores, os valores médios do teor de cada açúcar na soja, em base seca, variam de 2,5 a 8,2% de sacarose, 0,1 a 0,9% de rafinose e 1,4 a 4,1% de estaquiose; podendo estar presentes quantidades menores de outros açúcares como glicose, arabinose e verbascose. Poysa e Woodrow (2002), Silva *et al.* (1988), Ida *et al.* (1981), Hymowitz *et al.* (1972), Rackis *et al.* (1970), relataram que os açúcares dos grãos de soja correspondem em média a 63% de sacarose, 5% de rafinose e 32% de estaquiose. O teor de cada açúcar não é estável e pode variar em função da variedade de soja e do estágio de maturação (Liu, 1999).

O isolado protéico de soja apresentou baixo percentual ou ausência dos açúcares analisados como era de se esperar. A obtenção deste produto envolve normalmente a lavagem da farinha desengordurada com água, arrastando os açúcares solúveis, não permanecendo no produto (Moraes e Silva, 1996; Ida *et al.*, 1981).

Os resultados das determinações físico-químicas realizadas nos extratos de soja elaborados a partir dos grãos, farinha integral e isolado protéico são apresentados na Tabela 2. Observa-se que os extratos de uma forma geral apresentaram diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre si quanto à composição físico-química analisada. Isto se deve, principalmente, à composição química da matéria-prima original (Tabela 1) e aos processamentos que os originaram.

Tabela 2. Composição físico-química dos extratos obtidos dos grãos, da farinha integral e do isolado protéico de soja

Determinação	Extrato de grãos de soja	Extrato de farinha integral de soja	Extrato de isolado protéico de soja
Sólidos totais (%)	5,88 ± 0,01 ^a	6,68 ± 0,57 ^b	3,65 ± 0,00 ^c
Proteínas (%)	3,03 ± 0,02 ^a	3,03 ± 0,01 ^{ab}	3,00 ± 0,03 ^b
Lipídios (%)	0,89 ± 0,02 ^a	1,47 ± 0,02 ^b	0,02 ± 0,00 ^c
Cinzas (%)	0,23 ± 0,01 ^a	0,34 ± 0,01 ^b	0,42 ± 0,01 ^c
Fibra bruta (%)	0,07 ± 0,00 ^a	0,28 ± 0,10 ^b	0,02 ± 0,01 ^a
Sacarose (%)	0,12 ± 0,00	0,15 ± 0,00	0,013 ± 0,00
Rafinose (%)	0,012 ± 0,00	0,021 ± 0,00	nd
Estaquiase (%)	0,064 ± 0,00	0,13 ± 0,00	nd
Outros carboidratos (%) [*]	1,46	1,26	0,18
Sólidos solúveis (°Brix)	5,29 ± 0,01 ^a	5,65 ± 0,01 ^b	3,49 ± 0,01 ^c
pH	6,60 ± 0,08 ^a	6,85 ± 0,06 ^b	7,10 ± 0,05 ^c
Acidez (% em ácido cítrico)	0,06 ± 0,00 ^a	0,04 ± 0,00 ^b	0,05 ± 0,00 ^c
Índice de sedimentação	13,50 ± 0,35 ^a	25,05 ± 9,22 ^b	2,70 ± 5,61 ^c

* Calculados por diferença (Outros carboidratos = 100 – umidade – proteínas – lipídios – cinzas – fibra bruta – sacarose – rafinose – estaquiase, onde umidade = 100 – sólidos totais);

nd : não detectado;

Os valores correspondem à média de 2 (açúcares) e de 6 repetições (demais determinações) ± estimativa de desvio padrão;

Médias em uma mesma linha que possuem letras distintas diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey (p ≤ 0,05).

O extrato de grãos de soja apresentou perdas marcantes em relação à matéria-prima de origem devido às diversas etapas de processamento aplicados na sua obtenção, além da diluição em água e pasteurização aplicada na obtenção dos extratos de farinha e isolado. A composição de extratos protéicos de soja pode variar em função da tecnologia empregada, da quantidade de água usada no processo de extração e da variedade de soja (Chauhan *et al.*, 1998; Mnkeni e Nyaruhucha, 1994; Bourne, 1976).

Os oligossacarídeos (estaquiase e rafinose) não foram detectados no extrato obtido do isolado protéico, mantiveram-se integralmente no extrato obtido da farinha e em percentuais de 64,8 e 57,5 (base seca) de rafinose e estaquiase, respectivamente, no extrato obtido dos grãos, em relação à matéria-prima original. Perdas de 45,6, 43,1 e

20,6% (base seca) foram observadas nos teores de sacarose, respectivamente, nos extratos de grãos, farinha integral e isolado protéico.

As perdas em açúcares verificadas no extrato obtido de grãos de soja podem ser atribuídas à lixiviação destes compostos durante a maceração do grão (Silva *et al.*, 1988; Rosário e Maldo, 1979). A manutenção de açúcares em extratos de soja é muito variável. Normalmente os açúcares mais solúveis em água são perdidos em maior extensão, como pode ser observado no extrato de grãos de soja. Segundo Ida *et al.* (1981), a extração de carboidratos solúveis a partir dos grãos de soja aumenta com a diminuição da relação sólido:líquido na faixa de 1:3 a 1:10. Tal comportamento pode ser atribuído à maior disponibilidade de água e à formação de um maior gradiente de concentração na solução, mais propício para a sua extração.

A acidez mostrou-se significativamente ($p \leq 0,05$) diferente para os extratos obtidos a partir de grãos, farinha integral e isolado protéico de soja, podendo evidenciar diferenças nos atributos sensoriais dos mesmos. Da mesma forma, os extratos de soja apresentaram valores de pH significativamente ($p \leq 0,05$) diferentes, mas em acordo com o relatado na literatura para este produto (Liu, 1999). Os valores bastante próximos não caracterizam o pH como um parâmetro determinante de eventuais diferenças entre os extratos, sobretudo com relação à solubilidade, por estarem numa faixa de pH acima do ponto isoelétrico.

A estabilidade dos extratos verificada através do índice de sedimentação pode diferenciá-los em relação à matéria-prima de origem. Mostrou maior estabilidade, nesta ordem, o extrato obtido do isolado, dos grãos e da farinha. O teor relativo de sólidos totais e sólidos solúveis na composição dos mesmos pode ter contribuído para o resultado observado. Supõe-se que a intensidade do tratamento térmico usado na inativação enzimática da farinha tenha sido determinante na solubilidade das proteínas pela desnaturação irreversível das mesmas. De acordo com Rustom *et al.* (1996), as proteínas desnaturadas insolúveis tendem a formar agregados que sedimentam rapidamente, os quais estão associados à textura indesejável em bebidas por

conferirem uma sensação de areosidade na boca. Estas partículas podem da mesma forma, afetar negativamente parâmetros reológicos do produto, como a viscosidade. A boa dispersibilidade do isolado protéico utilizado neste estudo pode estar associada à presença de fosfato de cálcio na sua composição, melhorando o valor nutritivo ao mesmo tempo em que reduz a sedimentação do produto final (Protein, 2002).

O teor de aminoácidos das matérias-primas e do extrato obtido de grãos de soja são mostrados na Tabela 3. Considerando-se que os extratos obtidos da farinha e do isolado protéico foram obtidos apenas pela dissolução das respectivas matérias-primas em água, seguidos de tratamento térmico brando, não se efetuou a determinação dos aminoácidos destes extratos.

Tabela 3. Composição em aminoácidos da proteína dos grãos, da farinha integral, do isolado protéico e do extrato obtido dos grãos de soja

Aminoácidos (g/16g de nitrogênio)	Grãos de soja	Farinha integral de soja	Isolado protéico de soja	Extrato de grãos de soja
<i>Essenciais</i>				
Fenilalanina e tirosina	5,70 e 3,11	6,35 e 3,87	5,49 e 3,16	4,89 e 2,77
Isoleucina	4,46	5,11	4,30	3,81
Leucina	7,69	9,06	7,54	7,00
Lisina	6,65	7,51	6,21	5,78
Metionina e cistina	1,32 e 1,24	1,19 e 1,29	0,60 e 1,17	1,01 e 1,36
Treonina	3,97	4,64	3,50	3,31
Triptofano	nd	nd	nd	nd
Valina	5,70	5,44	5,86	3,97
<i>Não essenciais</i>				
Ác. Aspartico	10,68	10,99	10,73	10,32
Ac. Glutâmico	18,02	15,12	15,12	18,03
Alanina	4,66	5,08	4,47	3,95
Arginina	7,46	9,13	7,29	4,82
Glicina	4,17	4,57	4,00	3,92
Histidina	2,36	2,84	2,30	2,21
Prolina	5,35	6,99	4,64	4,61
Serina	5,58	4,15	5,62	4,37
Amônia	1,67	1,88	2,09	1,13

nd : não detectado.

A soja é considerada excelente fonte protéica, considerando-se a quantidade de proteína disponível em torno de 40% e o seu valor nutritivo. A composição de aminoácidos essenciais da soja, comparada com o padrão da FAO (1973) indica que, com exceção dos aminoácidos sulfurados (metionina e cistina), a soja apresenta um bom balanço em relação aos demais aminoácidos. A menor quantidade de aminoácidos sulfurados, especialmente metionina, em grãos de soja e produtos derivados, tem sido relatada por diversos autores (Liu, 1999; Morais e Silva, 1996; Wang, 1986; Turatti *et al.*, 1979; Lam-Sánchez, 1978; Sikka *et al.*, 1978).

A metionina é o principal doador de grupos metílicos para a obtenção de determinados compostos como a colina, envolvida na síntese de fosfolípidios (Stryer, 1996). Por essa razão, a ingestão de soja tem sido recomendada em associação com outros alimentos que supram este aminoácido (Zarkadas *et al.*, 1993; Wolf, 1970). Alguns produtos de soja, como a proteína isolada, apresentam composição em aminoácidos que atende as necessidades de aminoácidos essenciais em quantidades adequadas quando calculada pelo PDCAAS (*Protein Digestibility Correct Amino Acid Score*) (Waagle e Potter, 1999). Oscilações quantitativas nos perfis de aminoácidos estão relacionadas às diferenças genotípicas encontradas entre variedades de soja (Grieshop e Fahey, 2001; Turratti *et al.*, 1979) e às tecnologias aplicadas na obtenção dos produtos derivados (Liu, 1999; Wolf, 1972).

Observa-se na Tabela 3 que os grãos e a farinha apresentaram composição de aminoácidos similar e em teores que se enquadram no padrão estabelecido pela FAO (1973), considerando-se os aminoácidos essenciais. O isolado protéico de soja apresentou teores de metionina, cistina e treonina marcadamente menores, comparativamente às demais matérias-primas. A etapa de isolamento das proteínas no ponto isoelétrico, com a conseqüente separação do soro no processamento do isolado protéico, tem sido associada à perda destes aminoácidos (Berk, 1992).

Verificou-se que no extrato, comparativamente aos grãos, ocorreram perdas da ordem de 15,0 e 11% em aminoácidos essenciais e não-essenciais, respectivamente,

devidas à desnaturação protéica decorrente do aquecimento aplicado no processo de obtenção da bebida. O fato de que as proteínas da soja são relativamente estáveis ao calor permite o uso de tratamento térmico mais intenso no processamento do extrato o que é importante para destruir fatores antinutricionais e aumentar a qualidade nutricional da proteína (Kwok *et al.*, 1999). Entretanto, ao mesmo tempo em que o inibidor de tripsina é inativado, pode ocorrer degradação de aminoácidos, redução do valor nutricional e insolubilização da proteína, reduzindo o rendimento do extrato (Johnson *et al.*, 1980). Chauhan *et al.* (1998), observaram que o conteúdo de lisina e metionina foi afetado pelo método de branqueamento e tratamento à quente, em pH alcalino, associando as perdas de metionina à degradação de aminoácidos que contém enxofre na sua constituição. Wang (1986) verificou que o aquecimento provoca modificações variáveis no perfil de aminoácidos de extratos de soja em função do teor de umidade inicial do grão.

Na Tabela 4 estão apresentados os teores de isoflavonas dos grãos, da farinha integral e do isolado protéico de soja.

Tabela 4. Teor de isoflavonas dos grãos, da farinha integral e do isolado protéico de soja

Isoflavonas (mg/100g de amostra seca)	Grãos de soja	Farinha integral de soja	Isolado protéico de soja
Daidzina	17,03 ± 0,27	46,12 ± 0,39	23,24 ± 0,29
Genistina	21,77 ± 0,34	60,44 ± 0,28	49,16 ± 0,07
Malonil-daidzina	88,28 ± 0,00	66,48 ± 0,57	57,66 ± 0,32
Malonil-genistina	116,20 ± 0,57	87,96 ± 0,83	108,28 ± 0,31
Daidzeina	1,02 ± 0,02	5,42 ± 0,05	7,62 ± 0,02
Genisteina	1,36 ± 0,04	3,36 ± 0,04	8,62 ± 0,06
Teor total de isoflavonas	245,66 ± 0,43	269,78 ± 2,15	254,58 ± 0,14

Os valores correspondem à média de 2 repetições ± estimativa de desvio padrão.

As isoflavonas em grãos de soja têm sido amplamente estudadas tanto pelo atributo sensorial de amargor e adstringência que estes compostos conferem aos produtos de soja (Carrão-Panizzi *et al.*, 1999b; Araújo *et al.*, 1997; Ha *et al.*, 1992), como pelo aspecto relacionado à saúde, notadamente na ação preventiva sobre alguns

tipos de câncer, atenuação dos sintomas da pós-menopausa e redução da hipercolesterolemia (Wong *et al.*, 1998; Kritchevsky, 1995; Herman *et al.*, 1995; Messina *et al.*, 1994).

A quantificação de isoflavonas na soja apresenta uma variação muito ampla, verificando-se teores compreendidos numa faixa de 10 a 600mg/100g de soja (Jackson *et al.*, 2002; Carrão-Panizzi *et al.*, 1999a; Franke *et al.*, 1999; Araújo *et al.*, 1997; Coward *et al.*, 1993; Santos, 1993).

O teor de isoflavonas em grãos de soja está relacionado com a variedade, fatores genéticos e climáticos. Quanto menor a temperatura na fase de desenvolvimento dos grãos, maior o teor deste constituinte, o que induz a diferenças quando uma mesma variedade de soja é cultivada em diferentes localidades ou mesmo em safras distintas, na mesma localidade (Nakamura *et al.*, 2000; Carrão-Panizzi *et al.*, 1999a; Araújo *et al.*, 1995; Tsukamoto *et al.*, 1995; Wang e Murphy, 1994a; Eldridge e Kwolek, 1993).

Nos grãos de soja há predominância das formas glicosídicas das isoflavonas, sobressaindo-se a forma malonil-glicosídica à forma β -glicosídica, embora freqüentemente sejam encontrados percentuais variáveis de isoflavonas agliconas (Naim *et al.*, 1974). Alguns autores associam esta transformação à ação da enzima β -glicosidase durante o crescimento da planta como resposta à infecção por patógenos em geral ou pela indução por bactérias do gênero *Bradyrhizobium* (Moraes e Silva, 1996; Araújo *et al.*, 1995).

Wang e Murphy (1994b) verificaram que cerca de 98% do conteúdo total de isoflavonas em grãos de soja que se encontram na forma glicosídica, permanecem nos correspondentes derivados protéicos, como farinha desengordurada, isolado, concentrado e proteína texturizada. A sua distribuição entre as formas malonil e β -glicosídicas, no entanto, varia de produto para produto. Neste estudo, conforme Tabela 4, houve predominância das formas glicosídicas, verificando-se os teores

médios de 99,0, 96,7 e 93,6% do total de isoflavonas, relativamente aos grãos, farinha e isolado protéico, respectivamente.

O teor total de isoflavonas (base seca) (Tabela 4) foi decrescente na farinha, no isolado e no grão de soja, nesta ordem, cujos teores foram bastante próximos, variando de 245 a 269mg/100g. As diferenças devem-se, em grande parte, à variedade de soja utilizada. As frações relativas diferiram bastante entre si, correspondendo a 15,8, 83,2 e 1,0%, 39,5, 57,2 e 3,3% e 28,4, 65,2 e 6,4%; de β -glicosídeos, malonil-glicosídeos e agliconas, respectivamente, para grãos, farinha integral e isolado protéico de soja. As variações observadas entre as frações de isoflavonas na farinha e no isolado protéico, comparativamente aos grãos de soja, devem-se, sobretudo, aos efeitos dos processos tecnológicos aplicados na sua obtenção, destacando-se a intensidade do tratamento térmico. Tem sido relatado que quando a soja é processada a altas temperaturas (maiores do que 80°C) as formas malonil-glicosídicas, consideradas termicamente instáveis, são convertidas para as suas correspondentes frações daidzina e genistina, através de mecanismos de desesterificação. Este processo pode variar em função do tempo e da intensidade do aquecimento (Park *et al.*, 2001; Carrão-Panizzi 1999b; Barnes *et al.*, 1994).

A distribuição de isoflavonas verificada na farinha de soja (Tabela 4) se aproxima daquela relatada por Franke *et al.* (1999), os quais quantificaram um teor médio de 257mg de isoflavonas por 100g de farinha de soja, sendo 33% de β -glicosídeos, 65% de malonil-glicosídeos e 2% de agliconas. Ravelo e Sanchez (2001) identificaram em farinha desengordurada de soja um teor total de isoflavonas de 136,1mg/100g (base seca), sendo, em média, 8,7% relativos a agliconas. Park *et al.* (2002) observaram a relação média de 27,6% de β -glicosídeos, 71,4% de malonil-glicosídeos e 1% de agliconas em soja moída desengordurada, passando para 87,2, 7,1 e 5,7%, respectivamente, em farinha de soja desengordurada, após tratamento térmico a 121°C por 40 minutos.

O teor total de isoflavonas (base seca) do isolado protéico (Tabela 4) correspondeu ao especificado pelo fabricante (Protein, 2002), mas foi bastante superior ao teor relatado para este produto na literatura, que é de 2 a 3 vezes menor do que o encontrado na farinha e/ou nos grãos dos quais se origina (Wang e Murphy, 1994b; Coward *et al.*, 1993). Variações nas etapas do processamento aplicado na obtenção de isolados protéicos contribuem para as diferenças constatadas.

Em estudos conduzidos por Wang *et al.* (1998) e Wang e Murphy (1996) durante o processamento de isolado protéico, a etapa de extração alcalina do processamento (com descarte da fração insolúvel) resultou em perdas de 74 e 53% (base seca), respectivamente, do total de isoflavonas, em relação à farinha de soja original.

Na Tabela 5 são mostrados os teores de isoflavonas dos extratos de soja obtidos de grãos, farinha integral e isolado protéico.

Tabela 5. Teor de isoflavonas dos extratos obtidos dos grãos, da farinha integral e do isolado protéico de soja

Isoflavonas (mg/100g de amostra seca)	Extrato de grãos de soja	Extrato de farinha integral de soja	Extrato de isolado protéico de soja
Daidzina	53,02 ± 0,35	71,60 ± 0,62	61,08 ± 0,26
Genistina	95,79 ± 0,32	96,77 ± 0,67	122,48 ± 0,10
Malonil-daidzina	24,42 ± 0,15	31,21 ± 0,61	14,22 ± 0,06
Malonil-genistina	44,75 ± 0,25	43,36 ± 0,18	28,67 ± 0,02
Daidzeína	3,12 ± 0,04	12,76 ± 0,10	7,92 ± 0,31
Genisteína	4,55 ± 0,01	13,38 ± 0,09	7,71 ± 0,01
Teor total de isoflavonas	225,65 ± 1,02	269,08 ± 2,26	242,08 ± 0,31

Os valores correspondem à média de 2 repetições ± estimativa de desvio padrão.

Comparativamente à matéria-prima original (Tabela 4), o extrato de grãos de soja (Tabela 5) apresentou perda de isoflavonas correspondente a 8% (base seca) e o extrato do isolado protéico, de 5% enquanto o extrato da farinha praticamente manteve o teor da matéria-prima de origem (perda de 0,25%). As menores concentrações de

isoflavonas no extrato, comparativamente aos grãos, são variáveis e têm sido atribuídas, em maior parte, à sua lixiviação na etapa de maceração dos grãos, às perdas nos resíduos que são descartados e à retirada da espuma durante o processamento (Jackson *et al.*, 2002; Fukutake *et al.*, 1996; Wang e Murphy, 1996; Matsuura e Obata, 1993; Tsukamoto *et al.*, 1990).

Os resultados obtidos para o extrato (Tabela 5) proveniente de grãos de soja (Tabelas 4) são similares aos obtidos por Wang e Murphy (1996), onde a perda de isoflavonas foi de 11,5% (base seca), 10% dos quais lixiviados pela água de maceração.

Teores diferentes de isoflavonas em extratos protéicos de soja têm sido relatados e relacionados ao teor na matéria-prima de origem e à tecnologia de processamento empregada na sua elaboração (Nakamura *et al.*, 2000; Carrão-Panizzi *et al.*, 1999b; Franke *et al.*, 1999; Murphy *et al.*, 1999).

Analisando-se os dados da Tabela 5 comparativamente aos dados da Tabela 4, verificou-se uma mudança no perfil das isoflavonas, cuja relação entre as formas β -glicosídica:malonil-glicosídica:aglicona passou de 16:83:1, 40:57:3 e 28:65:7, respectivamente, nos grãos, na farinha e no isolado protéico de soja para 66:31:3, 62:28:10 e 76:17:7 nos extratos correspondentes. Esta variação resultou num acréscimo na concentração de β -glicosídeos e um decréscimo na de malonil-glicosídeos. Resultados similares foram observados por Jackson *et al.* (2002), Wang e Murphy (1996) e Barnes *et al.* (1994). Efetivamente, a forma β -glicosídica das isoflavonas é a predominante em extratos de soja de acordo com Sherkat *et al.* (2001), Carrão-Panizzi *et al.* (1999b) e Coward *et al.* (1993), devido, provavelmente, ao decréscimo dos níveis de malonil-daïdzina e malonil-genistina. Fato sugerido devido à clivagem dos grupos malonil éster para formarem daïdzina e genistina, sob aquecimento, considerando que as formas maloniladas das isoflavonas são termolábeis.

A hidratação dos grãos de soja tem sido apontada como a etapa onde, além de perdas marcantes de isoflavonas e de outros compostos solúveis, ocorre a ação enzimática da β -glicosidase sobre as isoflavonas glicosídicas, convertendo-as à forma aglicona (Jackson *et al.*, 2002; Carrão-Panizzi *et al.*, 1999b; Araújo *et al.*, 1997).

Matsuura *et al.* (1989) observaram que durante a maceração da soja por 16 horas a 20°C, o teor de isoflavonas agliconas aumentou de 3,3% para 12,4% devido à hidrólise dos glicosídeos por β -glicosidases, sendo esta conversão diretamente proporcional ao tempo e à temperatura utilizados. Em trabalho posterior, Matsuura e Obata (1993) confirmam a ação hidrolítica desta enzima e a sua correlação positiva com o tempo de maceração o que também foi confirmado por Murphy *et al.* (1999). Góes-Favoni *et al.* (2002) fizeram a mesma observação e sugerem, ainda, que possa haver variabilidade na atividade da enzima β -glicosidase, baseados na observação de que a formação de agliconas foi diferente entre grãos de soja de diferentes variedades, macerados até 24h.

O aumento na concentração de isoflavonas agliconas não foi observado no extrato originado do isolado protéico de soja, mas sim naquele oriundo da farinha. Considerando que igual tratamento térmico foi aplicado a ambos, supõe-se que as isoflavonas glicosídicas do isolado sejam menos suscetíveis à hidrólise. Este comportamento pode estar relacionado com as modificações na estrutura molecular dos isômeros de isoflavonas decorrentes dos processos tecnológicos empregados na obtenção destes produtos, influenciando a estabilidade das ligações químicas das cadeias ramificadas destes componentes.

Genovese e Lajolo (2002) encontraram 82,9mg/L de isoflavonas em extratos de soja da marca comercial Ades disponíveis no mercado, sendo 74,8% correspondentes à forma β -glicosídica, 22,7% à forma malonil-glicosídica e 2,5% à forma aglicona. Os autores atribuem a relação do conteúdo de isoflavonas ao teor de 2,5% de proteína existente no extrato de soja comercial. Os resultados foram análogos aos obtidos neste

trabalho, onde os extratos foram elaborados com o teor de 3% de proteína e apresentaram teores proporcionalmente superiores de isoflavonas (Tabela 5).

A relação entre a concentração de isoflavonas e o teor de proteínas em alimentos de soja tem sido sugerida por Coward *et al.* (1993) e Murphy (1982).

A cor dos extratos obtidos a partir de grãos, farinha integral e isolado protéico de soja está representada na Tabela 6 e na Figura 2.

Tabela 6. Valores de luminosidade (L^*) e das coordenadas de cromaticidade (a^* e b^*) para os extratos obtidos do grão, da farinha integral e do isolado protéico de soja

Parâmetro	Extrato de grãos de soja	Extrato de farinha integral de soja	Extrato de isolado protéico de soja
L^*	$73,69 \pm 0,05^a$	$69,33 \pm 0,08^b$	$70,46 \pm 0,19^c$
a^*	$0,24 \pm 0,04^a$	$2,54 \pm 0,14^b$	$-1,33 \pm 0,22^c$
b^*	$11,79 \pm 0,08^a$	$16,73 \pm 0,13^b$	$9,51 \pm 0,35^c$

Os valores correspondem à média de 4 repetições $\pm$ desvio padrão;

Médias em uma mesma linha que possuem letras distintas diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

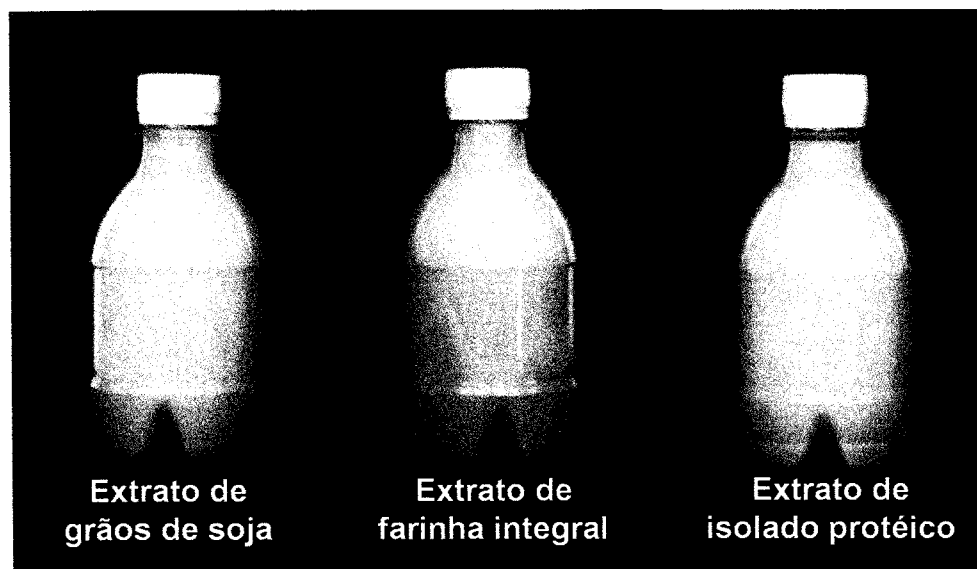


Figura 2. Extratos obtidos dos grãos, da farinha integral e do isolado protéico de soja.

Observa-se na Tabela 6 e Figura 2 que os extratos de soja diferiram significativamente ($p \leq 0,05$) com relação à cor, sendo aquele proveniente da farinha mais escuro do que o do isolado e este mais escuro do que o do grão (valor L^*). Os extratos do grão e da farinha tenderam à cor vermelha da escala ($+a^*$) e o do isolado à cor verde ($-a^*$) embora, no que diz respeito a cromaticidade, a cor dominante fosse a amarela, uma vez que todas as amostras apresentaram maiores valores de b^* e menores valores de a^* .

A cor é um atributo determinante na escolha e aceitabilidade de um alimento pelos consumidores. Além da influência dos tratamentos e ingredientes empregados na elaboração do extrato, a cor clara do hilo do grão é um parâmetro genotípico importante na obtenção de produtos mais claros e está intrinsecamente relacionada com a variedade de soja (Souza *et al.*, 2000; Tango *et al.*, 1984). Da mesma forma, a intensidade dos tratamentos térmicos no processamento da soja, pode promover reações químicas de escurecimento, influenciando a cor dos produtos finais.

A cor escura apresentada pelo extrato obtido da farinha integral de soja, pode ser proveniente da cor dos grãos utilizados na obtenção da farinha e/ou de reações químicas de escurecimento (caramelização e/ou Maillard) decorrentes do tratamento térmico aplicado para a inativação enzimática (Kwok e Niranjana, 1995). Da mesma forma, no preparo dos extratos, aquelas reações podem ocorrer ou serem intensificadas, determinando características sensoriais específicas aos produtos e definindo a severidade do tratamento, podendo também comprometer nutrientes, como vitaminas e aminoácidos (Kwok *et al.*, 1999; Bai *et al.*, 1998).

Kwok *et al.* (1999) verificaram pouco escurecimento em extratos obtidos de grãos de soja comparativamente ao leite bovino, relacionando o comportamento ao baixo conteúdo de açúcares redutores na soja, o que não favoreceria as interações destes compostos com os grupamentos amina na reação de Maillard. Os autores sugerem que um outro fator que poderia afetar a cinética do escurecimento pela reação de Maillard no extrato de soja seria a estrutura e conformação das moléculas de proteína que

participam da reação, as quais, embora sejam consideradas termoeestáveis, se dissociam e re-agregam, em função da temperatura, pH e força iônica do meio.

A viscosidade aparente dos extratos de soja elaborados neste estudo é mostrada na Figura 3.

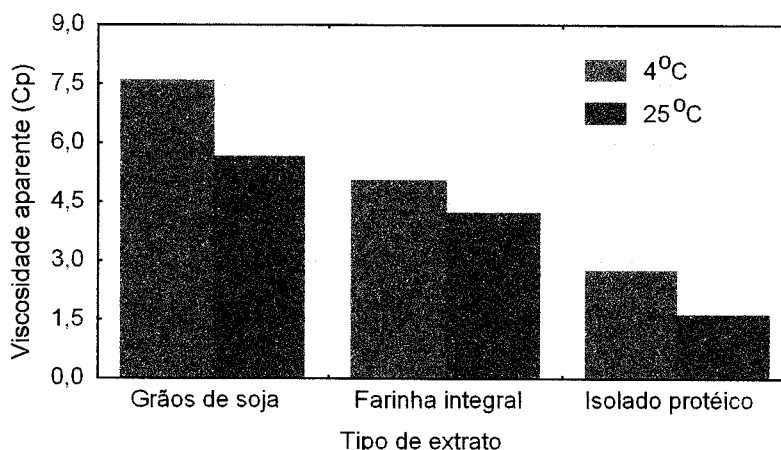


Figura 3. Viscosidade aparente dos extratos obtidos de grãos, farinha integral e isolado protéico de soja, às temperaturas de 4 e 25°C e taxa de deformação de 100s⁻¹.

O conhecimento das propriedades reológicas de um alimento é importante no dimensionamento e operacionalização dos equipamentos envolvidos no seu processamento, bem como no controle de qualidade e na determinação da sua vida-de-prateleira. Muitos dos atributos sensoriais relacionados à textura de emulsões alimentícias estão diretamente relacionados às suas propriedades reológicas (Buffo e Reineccius, 2002; Muller, 1973), como a viscosidade, a qual é um parâmetro importante na aceitabilidade do produto pelos consumidores (Yanes *et al.*, 2002; Penna *et al.*, 2001; Courregelongue *et al.*, 1999; Silva *et al.*, 1998).

Observa-se na Figura 3 que a viscosidade aparente do extrato obtido dos grãos de soja foi maior que aquela da farinha e do isolado, em ambas temperaturas estudadas. De acordo com Oguntunde e Akintoye (1991), a viscosidade é dependente do teor de sólidos totais e da composição de proteínas, lipídios e fibras. Era esperado

que a viscosidade fosse maior para o extrato obtido da farinha integral de soja, devido ao seu maior teor de lipídios e fibras (Tabela 2). Tal fato não foi observado, provavelmente devido à rápida sedimentação das partículas durante o tempo de espera (30 segundos) para a realização da leitura da amostra no viscosímetro.

Muitos são os fatores que podem afetar o comportamento reológico de um fluido. Para extratos de soja tem sido encontrado na literatura uma variação de valores de viscosidade de 3,8 a 14,7Cp. Tal comportamento tem sido atribuído a diferenças nos processos de obtenção dos extratos e/ou à variedade de soja utilizada (Wang *et al.*, 2001; Saxena e Singh, 1997; Reddy e Mital, 1992). A viscosidade de uma solução é função da concentração, tamanho e forma das moléculas em suspensão, das conformações que as mesmas adotam no solvente, das oscilações entre as ligações formadas e do número de colisões intra e intermoleculares (Buffo e Reineccius, 2002). Nsofor e Osuji (1997) propõem que a viscosidade dos extratos de soja tratados termicamente possa ser afetada pelo número de ligações cruzadas resultantes da associação entre polissacarídeos, parcialmente hidrolisados, e as proteínas solúveis e insolúveis, parcialmente desnaturadas.

A temperatura afetou a viscosidade como pode ser observado na Figura 3, ou seja, maiores temperaturas resultaram em viscosidades aparentes menores para todos os extratos, concordando com o relatado por Kaya e Belibagh (2002), Kim *et al.* (1984) e Forster e Ferrier (1979).

Os parâmetros reológicos dos extratos obtidos de grãos, farinha integral e isolado protéico de soja estão mostrados na Tabela 7 e representados na Figura 4.

Tabela 7. Parâmetros reológicos dos extratos obtidos dos grãos, da farinha integral e do isolado protéico de soja, a 4 e 25°C, segundo o modelo da “Lei de Potência”

Extrato	Coeficiente de consistência (K)		Índice de comportamento do fluxo (n)		Coeficiente de correlação (R^2)	
	4°C	25°C	4°C	25°C	4°C	25°C
Grãos de soja	2,72	2,08	0,74	0,69	0,97	0,89
Farinha integral de soja	0,93	0,20	0,94	1,20	0,92	0,82
Isolado protéico de soja	0,31	0,11	1,0	1,0	0,93	0,85

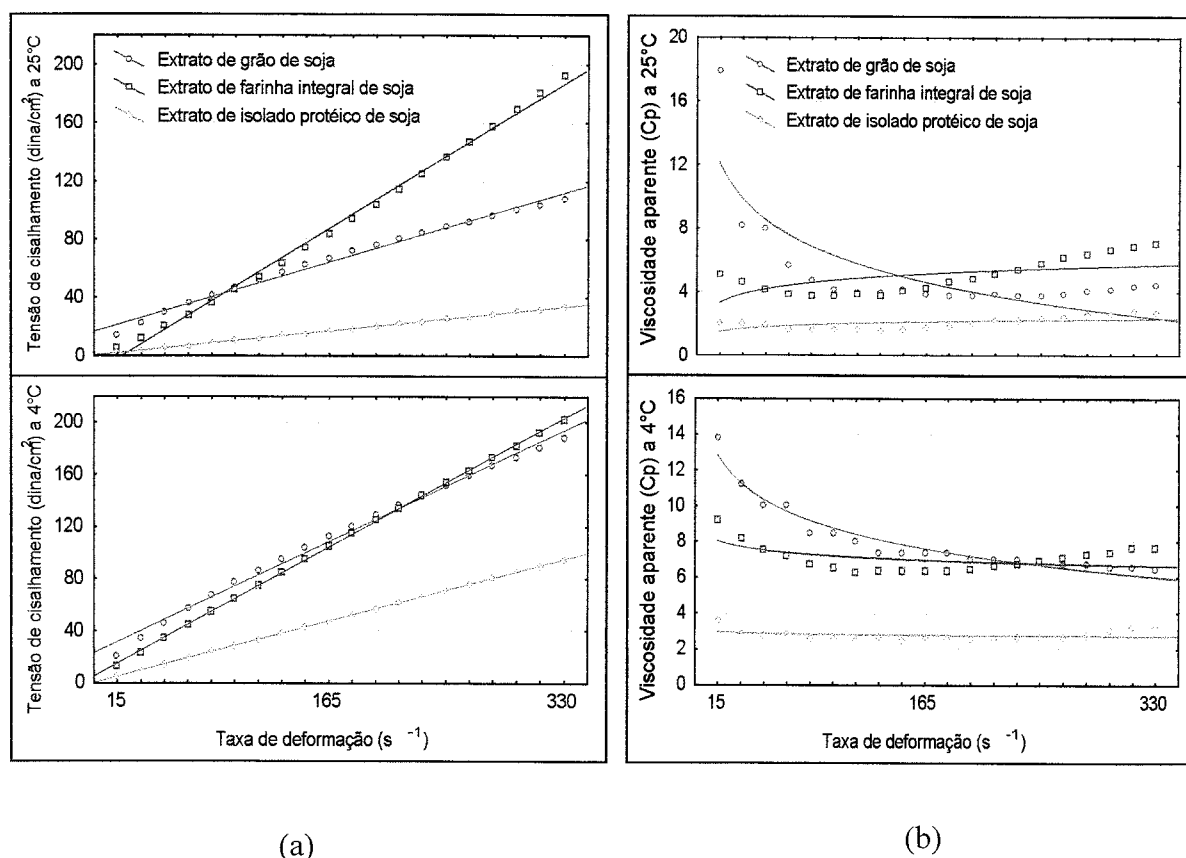


Figura 4. Relação entre tensão de cisalhamento e taxa de deformação (a) e relação entre viscosidade aparente e taxa de deformação (b) dos extratos obtidos de grãos, farinha integral e isolado protéico de soja, a 4 e 25°C.

Verifica-se pela Tabela 7 e Figura 4 que o extrato elaborado com grãos de soja mostrou ser um fluido não-newtoniano com comportamento pseudoplástico ($n < 1$), concordando com o observado por Wang *et al.* (2001) e Trindade *et al.* (1997), enquanto que o extrato obtido do isolado protéico de soja mostrou ser um fluido newtoniano ($n = 1$).

O índice de comportamento do fluxo (n) não mudou consideravelmente quando a temperatura passou de 4 para 25°C (Tabela 7), indicando que a temperatura não influencia o grau de comportamento não-newtoniano exibido pelo extrato elaborado com grãos de soja. Por outro lado, o extrato elaborado com farinha integral de soja apresentou comportamento ligeiramente pseudoplástico ($n < 1$), à temperatura de 4°C, passando a dilatante ($n > 1$) quando a temperatura aumentou para 25°C.

Na Figura 4b verifica-se que a taxas de deformação mais elevadas ($> 150 \text{ s}^{-1}$), a viscosidade aparente do extrato obtido de grãos de soja foi menor do que a do extrato obtido da farinha integral. A relação inversa entre viscosidade e taxa de deformação em fluidos pseudoplásticos deve-se ao maior alinhamento das moléculas em direção ao fluxo formado, induzindo a uma maior fluidez do líquido com conseqüente menor atrito. Os fluidos dilatantes, por sua vez, geralmente contêm altas concentrações de sólidos em suspensão e à medida que a taxa de deformação aumenta, os aglomerados de partículas sólidas formadas não são suficientemente lubrificados pela fase líquida e os mesmos permanecem juntos, aumentando a tensão (Nsofor e Osuji, 1997).

O comportamento reológico observado no extrato obtido da farinha integral de soja está relacionado à provável aglomeração das partículas de proteína desnaturadas, associando maior índice de sedimentação deste extrato comparativamente aos demais (Tabela 2).

O índice de aceitabilidade dos extratos de soja em relação aos atributos cor, aroma, sabor, textura e impressão global estão apresentados na Tabela 8.

Tabela 8. Avaliação sensorial dos extratos obtidos dos grãos, da farinha integral e do isolado protéico de soja

Atributo	Extrato de grãos de soja	Extrato de farinha integral de soja	Extrato de isolado protéico de soja
Cor	6,75 ^a	5,76 ^b	6,19 ^{ab}
Aroma	5,84 ^a	3,74 ^b	6,24 ^a
Sabor	5,33 ^a	3,59 ^b	5,25 ^a
Textura	5,50 ^a	4,61 ^b	5,18 ^{ab}
Impressão global	5,87 ^a	4,16 ^b	5,49 ^a

Os valores correspondem à média das notas de 56 provadores;

Médias em uma mesma linha que possuem letras distintas diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Observando-se a Tabela 8, verifica-se que os extratos obtidos dos grãos e do isolado protéico apresentaram melhor aceitação quanto ao aroma sabor e impressão global em relação ao extrato de farinha integral de soja, sendo igualmente aceitos em relação a estes atributos, considerando-se 95% de significância estatística. O extrato obtido da farinha de soja obteve a menor aceitação pelos consumidores em relação aos atributos descritos anteriormente. Contudo, para os atributos cor e textura, a diferença em relação àquele obtido do isolado não foi significativa ($p \leq 0,05$). Nas fichas de avaliação foram manifestadas algumas características pelos provadores relativamente à cor “muito escura” e à textura “arenosa” para o extrato obtido da farinha; enquanto que, para o extrato do isolado, a textura foi citada com “fluidez” ou “baixa viscosidade”.

Como observado na Tabela 8 e Figura 2, a cor do extrato obtido da farinha integral de soja diferiu significativamente ($p \leq 0,05$) dos demais, por ser mais escuro, evidenciando uma relação direta entre a observação sensorial e a instrumental. Da mesma forma, mostraram-se relacionados o atributo textura, avaliado sensorialmente (Tabela 8) e a viscosidade aparente, determinada instrumentalmente (Figura 3). De acordo com Courregelongue *et al.* (1999), quanto maior a viscosidade do extrato de soja, menor a percepção sensorial de adstringência.

O sabor característico de soja “feijão cru” muito intenso e “rancidez” foram manifestados, respectivamente, nas observações de 20% e 25% dos provadores para o extrato da farinha. Embora todos os extratos tenham sido desodorizados, a técnica implementada por Moraes (2002) visando a melhoria da aceitabilidade do produto, neste caso, não se mostrou efetiva, provavelmente, devido às alterações químicas severas ocorridas no processo de obtenção da farinha. A rancidez parece ter sido o fator limitante para a aceitação do extrato. Pode ter sido desencadeada durante o preparo do extrato, possivelmente no processo de fabricação da farinha e/ou durante o armazenamento, através de processos de oxidação lipídica, fenômeno muito comum em grãos de oleaginosas e produtos derivados. Mesmo após a inativação térmica das enzimas lipoxigenases, principais catalisadoras da reação, o processo de degradação oxidativa de ácidos graxos continua, em velocidade reduzida, através de reações não enzimáticas (Araújo, 2001; Wang *et al.*, 2001; Moraes e Silva, 1996).

Extratos obtidos dos grãos e do isolado protéico de soja apresentaram sabor “suave” de acordo com 41% dos provadores, sendo que 11% manifestaram ter identificado sabor de “feijão cru” para o extrato de grãos. Normalmente, nos isolados protéicos o sabor é quase ausente porque a tecnologia empregada na sua fabricação elimina os compostos responsáveis pelo sabor característico de soja. Nos extratos elaborados com grãos de soja, esta característica de sabor está associada à variedade utilizada, bem como ao processamento aplicado, cujos parâmetros devem ser adequados (principalmente tempo e temperatura) à inativação das enzimas lipoxigenases, responsáveis pela degradação dos ácidos graxos insaturados dos quais resultam os compostos voláteis de baixo peso molecular que originam o sabor indesejável (Berk, 1992; Ashraf e Snyder, 1981). Neste trabalho, as características observadas podem ter sido afetadas notadamente pela etapa de maceração dos grãos realizada à temperatura ambiente (2 horas), caracterizando o sabor de “feijão cru”.

Os termos “amargor” e “adstringência” foram mencionados por 1,8% dos provadores para o extrato oriundo dos grãos e por 7% para aquele obtido do isolado

protéico. No caso da farinha, é provável que os sabores de “feijão cru” e “rancidez” tenham mascarado essas características, da mesma forma, que o sabor de “feijão cru” para o extrato obtido dos grãos. De acordo com Moraes (2002), o processo de desodorização não resultou em diferenças entre extratos tratados e não tratados com relação à adstringência. Na avaliação sensorial de extratos de soja, Carrão-Panizzi *et al.* (1999b) concluíram que daidzeína (0,10 a 0,75mg/100mL) e genisteína (0,23 a 1,07mg/100mL) não estavam em quantidades suficientes para que os provadores percebessem o amargor e a adstringência nos produtos. Neste estudo, embora os teores de daidzeína e genisteína estivessem dentro da faixa citada por aqueles autores, sugerem estar associados às características sensoriais verificadas outros compostos, além das isoflavonas.

Segundo Kwok e Niranjani (1995) e Matsuura *et al.* (1989), as isoflavonas agliconas são as responsáveis pelo sabor amargo e adstringente e têm sido um dos fatores responsáveis pela baixa aceitação de extratos de soja natural, ou seja, sem a adição de saborizantes. Por outro lado, os benefícios fisiológicos da soja têm sido atribuídos especialmente a estas substâncias, o que leva a controvérsias na busca de tecnologias que melhorem o sabor (pela redução destes compostos), em detrimento da sua ação de prevenção à saúde.

A farinha e o isolado são matérias-primas importantes sob o ponto de vista tecnológico para a elaboração de extratos protéicos de soja, devido à sua praticidade de utilização nos processos. Têm sido largamente usadas nos Estados Unidos e na Europa na elaboração de extratos para consumo direto ou em formulações com outros ingredientes (Poysa e Woodrow, 2002; Soymilk, 1984). Contudo, naqueles e em outros mercados, incluindo o brasileiro, é importante salientar que estes benefícios resultem também em satisfação aos consumidores.

É fundamental que o estímulo ao consumo da soja esteja vinculado a produtos que, além de manterem os constituintes nutritivos e funcionais inerentes aos grãos, sejam apreciáveis pelos consumidores e que suas características sensoriais sejam

desvinculadas do leite bovino. Tecnicamente, a melhoria do sabor pode ser obtida com eficiência por diferentes mecanismos, mas que não solucionam totalmente o problema da aceitação em algumas regiões. Visto que a eliminação do sabor é impraticável e, além disso, muitas das técnicas que visam eliminá-lo comprometem a qualidade do produto, seria interessante que as caracterizações de sabor “feijão cru”, “feijão cozido”, “cereal” e gosto amargo e adstringente, dentro de certos limites, fossem atributos que distinguíssem positivamente o extrato de soja como um produto único pelos consumidores.

4. Conclusões

Os extratos elaborados com grãos, farinha integral e isolado protéico de soja variaram significativamente entre si ($p \leq 0,05$) em relação aos parâmetros físico-químicos avaliados.

Em relação à matéria-prima de origem, o extrato obtido da farinha apresentou proporcionalmente maior teor de sacarose e dos oligossacarídeos estaquiose e rafinose, em relação ao proveniente de grãos. No extrato obtido de isolado protéico não foram detectados estes oligossacarídeos, e o teor de sacarose advindo da matéria-prima de origem, foi mantido em maior proporção neste extrato em relação aos demais.

O perfil de aminoácidos dos grãos e da farinha integral de soja apresentou-se similar entre si, sendo o de aminoácidos essenciais dentro dos padrões estabelecidos pela FAO (1973). O isolado protéico apresentou teores de aminoácidos essenciais (metionina, cistina e treonina) marcadamente menores. A obtenção do extrato a partir dos grãos de soja resultou em perdas de 15 e 11% de aminoácidos essenciais e não-essenciais, respectivamente.

Os teores totais de isoflavonas na farinha, no isolado protéico e nos grãos de soja, foram de 269,8, 254,6 e 245,7mg/100g de amostra seca, respectivamente. Os extratos apresentaram reduções correspondentes de 0,25, 5 e 8%.

As formas β -glicosídica, malonil-glicosídica e aglicona das isoflavonas mudaram da relação 16:83:1, 40:57:3 e 28:65:7, respectivamente, nos grãos, na farinha e no isolado protéico de soja para 66:31:3, 62:28:10 e 76:17:7 nos extratos correspondentes. O tratamento térmico aplicado na obtenção dos extratos, mais a etapa de maceração dos grãos e separação do resíduo (para o extrato do grão), foram as prováveis causas do comportamento observado.

A viscosidade aparente, nas temperaturas de 4 e 25°C, do extrato obtido de grãos de soja (fluido não-newtoniano com comportamento pseudoplástico) foi maior que a do extrato da farinha (fluido não-newtoniano com comportamento pseudoplástico a 4°C e dilatante a 25°C) e do isolado (fluido newtoniano). O maior índice de sedimentação verificado no extrato de farinha integral e o baixo teor de sólidos solúveis no extrato de isolado protéico foram determinantes, entre outros fatores, no comportamento reológico verificado.

Os extratos obtidos dos grãos e de isolado protéico de soja mostraram similar aceitação em relação aos atributos avaliados (cor, aroma, sabor, textura e impressão global), superando o extrato obtido de farinha integral de soja, cuja limitação de aceitabilidade foi em relação à cor e ao sabor.

O extrato obtido de grãos de soja foi escolhido para utilização em estudos subseqüentes, considerando, além do menor custo relativo, a sua boa aceitação e que o mesmo manteve proporcionalmente todos os constituintes do grão, incluindo oligossacarídeos e isoflavonas.

5. Referências bibliográficas

- ARAÚJO, J. M. A. **Química de alimentos: teoria e prática**. 2 ed., Viçosa:UFV, 1999. 1ª reimpressão, 2001. 416p.
- ARAÚJO, J. M. A.; SANTOS, C. J.; MOREIRA, M. A. Teores de isoflavonas em cultivares de soja. **Arquivos em Biologia e Tecnologia**, v. 38, n. 3, p. 725-730, 1995.
- ARAÚJO, J. M. A.; CARLOS, J. C. S.; SEDYAMA, C. S. Isoflavonas em grãos de soja: importância da atividade de β -glicosidase na formação do sabor amargo e adstringente. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 17, n. 2, p. 137-141, mar/ago, 1997.
- ASHRAF, H. R. L.; SNYDER, H. E. Influence of ethanolic soaking of soybeans on flavor and lipoxygenase activity of soymilk. **Journal of Food Science**, v. 46, p. 1201-1204, 1981.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC) . **Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 12 ed. Washington: Horwitz, W., 1995.
- BARNES, S.; KIRK, M.; COWARD, L. Isoflavones and their conjugates in soy foods: extraction conditions and analysis by HPLC – mass spectrometry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 42, p. 2466-2474, 1994.
- BAI, Y.; WILSON, L. A.; GLATZ, B. A. Quality of commercial shelf-stable soymilk products. **Journal of Food Protection**, v. 61, n. 9, p. 1161-1164, 1998.
- BERK, Z. Technology of production of edible flours and protein products from soybeans. **FAO Agricultural Services Bulletin**, n. 97, Roma, 1992.
- BOURNE, M. C. Survey of suitability of thirty cultivars of soybeans for soymilk manufacture. **Journal of Food Science**, v. 41, p. 1204-1208, 1976.
- BUFFO, R. A.; REINECCIUS, G. A. Modeling the rheology of concentrated beverage emulsions. **Journal of Food Engineering**, v. 51, p. 267-272, 2002.
- CARRÃO-PANIZZI, M. C.; BELÉIA, A. D. P.; KITAMURA, K.; OLIVEIRA, M. C. N. Effects of genetics and environment on isoflavone content of soybean from different regions of Brazil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 34, n. 10, p. 1787-1795, out., 1999(a).
- CARRÃO-PANIZZI, M. C.; BELÉIA, A. D. P.; OLIVEIRA, M. C. N.; KITAMURA, K. Effects of isoflavones on beany flavor and adstringency of soymilk and cooked whole soybean grains. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 34, n. 6, p. 1045-1052, jun., 1999(b).

CASÉ, F. V.; DELIZA, R.; ROSHENTAL, A.; WAKELING, I. Avaliação da aceitação pelo consumidor de “leite” de soja enriquecido com cálcio. In: Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 18., 2002, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: UFRGS, 2002. 1 CD-ROM.

CHAUHAN, S.K.; SINGH, J. D.; TOMAR, N. S. Nutritional changes in soymilk subjected to different physical and chemical treatments. **Journal of Food Science and Technology**, v. 35, n. 3, p. 271-273, 1998.

COURREGELONGUE, S.; SCHLICH, P.; NOBLE, A. C. Using repeated ingestion to determine the effect of sweetness, viscosity and oilness on temporal perception of soymilk adstringency. **Food Quality and Preference**, v. 10, p. 273-279, 1999.

COWARD, L.; BARNES, N. C.; SETCHELL, K. D. R.; BARNES, S. Genistein, daidzein, and their β -glycoside conjugates: antitumor isoflavones in soybean foods from american and asian diets. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 41, p. 1961-1967, 1993.

ELDRIDGE, A. C.; KWOLEK, W. F. Soybean isoflavones: effect of environment and variety on composition. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 31, p. 394-396, 1993.

ERIKSEN, S. Application of enzymes in soy milk production to improve yield. **Journal of Food Science**, v. 48, p. 445-447, 1983.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO) / WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Energy and protein requeriments; report of a joint FAO/WHO**. Geneva, WHO, 1973. p. 62-64 (WHO Technical Report Series, 522; FAO Nutrition Meetings Report Series, 52).

FORSTER, L. L.; FERRIER, L. K. Viscometric characteristics of whole soybean milk. **Journal of Food Science**, v. 44, n. 2, p. 583-590, 1979.

FRANKE, A. A.; HANKIN, J. H.; YU, M. C.; MASKARINEC, G.; LOW, S. H.; CUSTER, L. J. Isoflavone levels in soy foods consumed by multiethnic populations in Singapore and Hawaii. **Journal of Agricultural and Food Science**, v. 47, p. 977-986, 1999.

FUKUTAKE, M.; TAKAHASHI, M.; ISHIDA, K.; KAWAMURA, H.; SUGIMURA, T.; WAKABAYASHI, K. Quantification of genistein and genistin in soybeans and soybean products. **Food and Chemycal Toxicology**, v. 34, p. 457-461, 1996.

GENOVESE, M. I.; LAJOLO, F. M. Isoflavones in soy-based foods consumed in Brazil: levels, distribution, and estimated intake. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 5987-5993, 2002.

- GINN, P. W.; HOSKEN, R. W.; COLE, S. J.; ASHTON, J. F. Physicochemical and sensory evaluation of selected australian UHT processed soy beverages. **Food Australia**, v. 50, n. 7, p. 347-351, july, 1998.
- GÓES-FAVONI, S. P.; BELÉIA, A. D. P.; CARRÃO-PANIZZII, M.; SIMÃO, A. S. Tratamento hidrotérmico e a atividade da β -glucosidase em soja [*Glycine Max* (L) Merril]. In: Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 18., 2002, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: UFRGS, 2002. 1 CD-ROM.
- GRIESHOP, C. M.; FAHEY JR., G. C. Comparison of quality characteristics of soybeans from Brazil, China, and the United States. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, p. 2669-2673, 2001.
- GREAVES, K. A.; PARKS, J. S.; WILLIAMS, J. K.; WAGNER, J. D. Intact dietary soy protein, but not adding an isoflavone-rich soy extract to casein, improves plasma lipids in ovariectomized cynomolgus monkeys. **The Journal of Nutrition**, v. 129, n. 8, p. 1585-1592, 1999.
- HA, E. Y. W.; MORR, C. V.; SEO, A. Isoflavone aglucones and volatile organic compounds in soybeans; effects of soaking treatments. **Journal of Food Science**, v. 57, n. 2, p. 414-436, 1992.
- HAN, K. K.; KATI, L. M.; HAIDAR, M. A.; GIRÃO, M. J. B. C.; BARACAT, E. C.; YIM, D. K.; CARRÃO-PANIZZII, M. C. Efeito de isoflavonas sobre os sintomas da síndrome de climatério. In: Simpósio Brasileiro sobre os Benefícios da Soja para a Saúde Humana, 1., 2001, Londrina. **Anais...** Londrina: Embrapa Soja, out., 2001.
- HERMAN, C.; ADLERCREUTZ, T.; GOLDIN, B. R.; GORBACH, S. L.; HOCKERSTEDT, K. A. V.; WATANABE, S.; HAMALAINEN, E. K.; MARKKANEN, M. H.; MAKELA, T. H.; WAHALA, K. T.; HASE, T. A.; FOTSIS, T. Soybean phytoestrogen intake and cancer risk. **The Journal of Nutrition**, v. 125, n. 3 (suppl.), p. 757-770, 1995.
- HOU, J.; YU, R.; CHOU, C. Changes in some components of soymilk during fermentation with bifidobacteria. **Food Research International**, v. 33, p. 393-397, 2000.
- HUHN, S.; PINHEIRO, A. J. R. Efeito do íon cúprico no sabor do leite de soja. **Revista Ceres**, v. 27, n. 150, p. 145-154, 1980.
- HYMOWITZ, T.; COLLINS, F. I.; PACZNER, J.; WALKER, W. M. Relationship between the content of oil protein, and sugar in soybean seed. **Agron. J.**, v. 64, p. 613-616, 1972.
- IDA, E. I.; SILVA, R. S. F. da; RAO, C. S. Oligossacarídeos da soja: problemas e soluções. **Arquivos em Biologia e Tecnologia**, v. 24, n. 4, p. 461-467, 1981.

IWUOHA, C. I. ; UMUNNAKWE, K. E. Chemical, physical and sensory characteristics of soymilk as affect by processing method, temperature and duration of storage. **Food Chemistry**, v. 59, n. 30, p. 373-379, 1997.

JACKSON, C. J. C.; DINI, J. P.; LAVANDIER, C.; RUPASINGHE, H. P. V.; FAULKNER, H.; POYSA, V.; BUZZELL, D.; DeGRANDIS, S. Effects of processing on the content and composition of isoflavones during manufacturing of soy beverage and tofu. **Process Biochemistry**, n. 37, p. 1117-1123, 2002.

JOHNSON, L. A.; HOOVER, W. J.; DEYOE, C. W.; ERICKSON, L. E.; JOHNSON, W. H.; SCHWENKE, J. R. Modeling the kinetics of heat inactivation of trypsin inhibitors during steam-infusion cooking of soymilk. **Transactions of the ASAE**, p. 1326-1329, 1980.

KAYA, A.; BELIBAGH, K. B. Rheology of solid gaziantep pekmez. **Journal of Food Engeneering**, v. 54, p. 221-226, 2002.

KENNEDY, A. R. The evidence for soybean products as cancer preventive agents. **The Journal of Nutrition**, v. 125, n. 3 (suppl.), p. 733-743, 1995.

KIM, W. J.; KIM, N. M.; KIM, D. H. Some factors affecting the viscometric characteristics of soy milk . **Korean Journal of Food Science and Technology**, v. 16, n. 4, p. 423-428, 1984.

KRITCHEVSKY, D. Dietary protein, cholesterol and atherosclerosis: a review of the early history. **The Journal of Nutrition**, v. 125, n. 3 (suppl.), p. 589-593, 1995.

KUDOU, S.; FLEURY, Y.; WELTI, D.; MAGNOLATO, D.; UCHIDA, T.; KITAMURA, K.; OKUBO, K. Malonyl isoflavone glycosides in soybeans seeds (*Glycine max*, Merrill). **Agriculture and Biological Chemistry**, v. 55, n. 9, p. 2227-2233, 1991.

KWOK, K. C.; NIRANJAN, K. Effect of thermal processing on soymilk. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 30, p. 263-295, 1995.

KWOK, K. C.; MACDOUGALL, D. B.; NIRANJAN, K. Reaction kinetics of heat-induced colour changes in soymilk. **Journal of Food Engeneering**, v. 40, n. 1/2, p. 15-20, apr/may, 1999.

LAM-SÁNCHEZ, A. Production and nutritive value of soybeans. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v. 28, n. 2, p. 155-168, 1978.

LIU, K. **Soybeans: chemistry, technology and utilization**. New York: Chapman & Hall, 1999. 532p.

MATSUURA, M.; OBATA, A. β -glucosidases from soybeans hydrolyse daidzin and genistin. **Journal of Food Science**, v. 58, n. 1, p. 144-147, 1993.

MATSUURA, M.; OBATA, A.; FUKUSHIMA, D. Objectionable flavor of soy milk developed during the soaking of soybeans and its control. **Journal of Food Science**, v. 54, n. 3, p. 602-605, 1989.

MESSINA, M.; MESSINA, V.; SETCHELL, K. D. R. **The simple soybean and your health**. New York: Avery Publishing Group, 1994. 260p.

MIYA, E. E.; PUPO, L. M.; CHAIB, M. A.; ANGELUCCI, E.; TANGO, J. S.; FIGUEIREDO, I. B.; TOSELLO, Y. **Estudo sensorial de sabor do leite de soja**. Boletim do Instituto de Tecnologia de Alimentos, Campinas, n. 42, p. 43-54, jun, 1975.

MNKENI, A. P.; NYARUHUCHA, C. N. M. Acceptability and keeping quality of soymilk in Tanzania. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 46, p. 175-180, 1994.

MORAES, R. M. de **Montagem e avaliação de um equipamento para desodorização de "leite de soja" por arraste de vapor superaquecido**. 2002. 51p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2002.

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

MORETTI, R. H. Soy milk developments in Latin America. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 58, n. 3, p. 521-522, mar., 1981.

MULLER, H. G. **Introduccion a la reologia de los alimentos**. Zaragoza: Ed. Acribia, 1973. 174 p.

MURPHY, P. A. Phytoestrogen content of processed soybean products. **Food Technology**, p. 60-64, jan., 1982.

MURPHY, P. A.; SONG, T.; BUSEMAN, G.; BARUA, K.; BEECHER, G. R.; TRAINER, D.; HOLDEN, J. Isoflavones in retail and institutional soy foods. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, n. 47, p. 2697-2704, 1999.

NAIM, M.; GESTETNER, B.; ZILKAH, S.; BIRK, Y.; BONDI, A. Soybean isoflavones. Characterization, determination, and antifungal activity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 22, n. 5, p. 806-810, 1974.

NAKAMURA, Y.; TSUJI, S.; TONOGAI, Y. Determination of the levels of isoflavonoids in soybeans and soy-derived foods and estimation of isoflavonoids in the Japanese daily intake. **Journal of AOAC International**, v. 83, n. 3, p. 635-650, 2000.

NELSON, A. I.; STEINBERG, M. P.; WEI, L. S. Illinois process for preparation of soymilk. **Journal of Food Science**, v. 41, p. 57-61, 1976.

NSOFOR, L. M.; OSUJI, C. M. Stability, rheology and chemical properties of soymilk concentrates developed from sprouted soybeans. **Journal of Food Science and Technology**, v. 34, n. 1, p. 33-40, 1997.

OGUNTUNDE, A. O.; AKINTOYE, O. A. Measurement and comparison of density, specific heat and viscosity of cow's milk and soymilk. **Journal of Food Engineering**, v. 13, n. 3, p. 221-230, 1991.

PARK, Y. K.; AGUIAR, C. L.; ALENCAR, S. M.; SCAMPARINI, A. R. P. Biotransformação de isoflavonas de soja. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, n. 20, p. 12-14, maio/junho, 2001.

PARK, Y. K.; AGUIAR, C. L.; ALENCAR, S. M.; MASCARENHAS, H. A. A.; SCAMPARINI, A. R. P. Conversão de malonil- β -glicosil isoflavonas em isoflavonas glicosiladas presentes em alguns cultivares de soja brasileira. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 22, n. 2, p. 130-135, maio-ago, 2002.

PENNA, A. L. B.; SIVIERI, K.; OLIVEIRA, M. N. Relation between quality and rheological properties of latic beverages. **Journal of Food Engineering**, v. 49, p. 7-13, 2001.

PINO, L. M.; REGITANO-d'ARCE, M. A. B.; SPOTO, M. H. F. Obtenção de leite de soja aromatizado artificialmente de grãos aquecidos em forno de microondas. In: Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 18., 2002, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: UFRGS, 2002. 1 CD-ROM.

POYSA, V.; WOODROW, L. Stability of soybean seed composition and its effect on soymilk and tofu yield and quality. **Food Research International**, v. 35, p. 337-345, 2002.

PROTEIN TECHNOLOGIES INTERNATIONAL. Isolated Soy Protein Product – FXP HO159. Especificações técnicas do produto. 2002.

RACKIS, J. J.; HONIG, D. H.; SESSA, D. J.; STEGGERDA, F. R. Flavor and flatulence factors in soybean protein products. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 18, n. 6, p. 977-982, 1970.

RAVELO, J. N. B.; SÁNCHEZ, J. L. R. Contenido de genisteína y genistina em productos de soja. **Alimentaria**, p. 53-57, dic., 2001.

REDDY, P. V.; MITAL, B. K. Physical and chemical characteristics of soy milk. **Journal of Food Science and Technology**, v. 29, n. 3, p. 193-194, 1992.

ROSARIO, R. R. Del; MALDO, O. M. Studies on soybean milk processing. **NSDB Technology Journal**, p. 61-67, oct/dec, 1979.

RUSTOM, I. Y. S.; LÓPEZ-LEINA, M. M.; NAIR, B. M. UHT sterilized peanut beverages: kinetics of physicochemical changes during storage and shelf-life prediction modeling. **Journal of Food Science**, v. 61, n. 1, p. 198-203, 1996.

SANTOS, C. J. C dos **Teor de isoflavonas e atividade de β -glicosidase em grãos de soja (*Glycine max* (L.) Merrill)**. 1993. 51p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1993.

SAS Institute. Cary: SAS user's guide - statistics. 1993.

SAXENA, S.; SINGH, G. Suitability of new soybeans cultivars in the production of soy milk. **Journal of Food Science and Technology**, v. 34, n. 2, p. 150-152, 1997.

SHERKAT, F.; NILSSON, M.; ENG, J.; HADJIS, M. Effects of processing on the isoflavones content of soy and soy-bovine milk products. **Food Australia**, v. 53, n. 7, p. 264-266, jul., 2001.

SIKKA, K. C.; GUPTA, A. K.; SINGH, R.; GUPTA, D. P. Comparative nutritive value, amino acid content, chemical composition and digestibility in vitro of vegetable – and grain – type soybean. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 26, n. 2, p. 312-316, mar/apr, 1978.

SILVA, C. R.; SILVA, H. C.; BRAGA, G. L; BIANCHI, M de L. P. Níveis de oligossacarídeos em “leites” de soja. **Revista de Ciências Farmacêuticas**, n. 10, p. 129-137, 1988.

SILVA, F. C.; WANG, S. H.; FERNANDES, S. M.; ASCHERI, J. L. R.; CABRAL, L. C. Propriedades reológicas y sensoriales de bebidas reconstituídas a base de extracto hidrosoluble de arroz y soya. **Alimentaria**, p. 67-72, sept., 1998.

SILVA JUNIOR, S. I.; DEMONTE, A. Avaliação da qualidade nutricional da proteína do “leite de soja” e do leite integral em pó. Ensaio experimental e discussão metodológica. **Alimentos e Nutrição**, n. 8, p. 105-120, 1997.

SOUZA, G. de; VALLE, J. L. E. do; MORENO, I. Efeitos dos componentes da soja e seus derivados na alimentação humana. **Boletim SBCTA**, v. 34, n. 2, p. 61-69, jul./dez., 2000.

SOYMILK – new processing, packaging expand markets. **JAOCs**, v. 16, n. 12, p. 1784-1798, dec., 1984.

SPACKMAN, D. C.; STEIN, W. H.; MOORE, S. Automatic recording apparatus for use in the chromatography of amino acids. **Analytical Chemistry**, v. 30, n.7, p.1190-1206, jul., 1958.

STATISTICA for Windows – Release 5.0 A. Tulsa: Statsoft Inc., 1995.

- STONE, H.; SIDEL, J. **Sensory evaluation practices**. Academic Press: New York, 1993. 338p.
- STRYER, L. **Bioquímica**. 4 ed., Rio de Janeiro:Guanabara Koogan, 1996. 1000p.
- TANGO, J. S.; SANTOS, L. C. dos; TURATTI, J. M.; MORI, E. E. M.; SHIROSE, I.; YOTSUYANAGI, K. Caracterização de algumas cultivares de soja para produção de extrato protéico. **Boletim do ITAL**, v. 21, n. 2, p. 157-182, 1984.
- TOMOMATSU, H. Health effects of oligosaccharides. **Food Technology**, v. 48, n. 10, p. 61-65, oct., 1994.
- TRINDADE, C. S. F.; SILVA, E. C.; FREITAS, S.; COURI, S. Comportamiento reológico de los yogurts de soya homogeneizados y no homogeneizados. **Alimentaria**, p. 69-73, sept., 1997.
- TSUKAMOTO, C.; KAWASAKI, Y.; IWASAKI, T.; OKUBO, K. Process of glycosides removal tofu production and evaluation of its marketability. **International Conference Soybean Processing and Utilization**, China, 25-29 jun., 1990.
- TSUKAMOTO, C.; SHIMADA, S.; IGITA, K.; KUDOU, S.; KOKUBUN, M.; OKUBO, K.; KITAMURA, K. Factors affecting isoflavone content in soybean seeds: changes in isoflavones, saponins, and composition of fatty acids at different temperatures during seed development. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 43, p. 1184-1192, 1995.
- TURATTI, J. M.; SALLES, A. M.; SANTOS, L. C. dos; MORI, E. E. M.; FIGUEIREDO, I. B. Estudos preliminares com cultivares de soja para produção de leite. **Boletim do ITAL**, v. 16, n. 3, p. 289-305, jul./set., 1979.
- VIDAL-VALVERDE, C.; FRIAS, J.; VALVERDE, S. Changes in the carbohydrate composition of legumes after soaking and cooking. **Journal of the American Dietetic Association**. v. 93 n. 5, p. 547-550, may, 1993.
- WAKELING, I. N.; MACFIE, H. J. H. Designing consumer trials balanced for first and higher orders of carry-over effect when only a subset of k samples from t may be tested. **Food Quality and Preference**, v. 6, p. 229-308, 1995.
- WANG, S. **Tratamento do grão de soja com radiação de microondas e seus efeitos no sabor, extração e algumas propriedades nutricionais do leite de soja**. 1986. 138p. Tese (Doutorado) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1986.
- WANG, B.; XIONG, Y. L.; WANG, C. Physicochemical and sensory characteristics of flavored soymilk during refrigeration storage. **Journal of Food Quality**, v. 24, p. 513-526, 2001.

WANG, C.; MA, Q.; PAGADALA, S.; SHERRARD, M. S.; KRISHNAN, P. G. Changes of isoflavones during processing of soy protein isolates. **JAOCS**, v. 75, n. 3, p. 337-341, 1998.

WANG, H. J.; MURPHY, P. A. Isoflavone composition of american and japanese soybeans in iowa: effects of variety, crop year, and location. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 42, p. 1674-1677, 1994(a).

WANG, H. J.; MURPHY, P. A. Isoflavone content in commercial soybean foods. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 42, p. 1666-1673, 1994(b).

WANG, H. J.; MURPHY, P. A. Mass balance study of isoflavones during soybean processing. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 44, p. 2377-2383, 1996.

WEINGARTNER, K. E.; NELSON, A. I.; ERDMAN JR., J. W. Effects of calcium addition on stability and sensory properties of soy beverage. **Journal of Food Science**, v. 48, p. 256-258, 1983.

WILKENS, W. F.; MATTICK, L. R.; HAND, D. B. Effect of processing method on oxidative off-flavor of soybean milk. **Food Technology**, v. 21, n. 12, p. 1630-1633, 1967.

WOLF, W. J. Soybean proteins, their functional, chemical, and physical properties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 18, n. 6, p. 969-976, 1970.

WOLF, W. J. Purification and properties of the proteins. In: SMITH, A. K. e CIRCLE, S. J., **Soybeans: chemistry and technology**. Westport: AVI, v. 1, chap. 4, p. 93-143, 1972.

WONG, W. W.; O'BRIAN SMITH, E.; STUFF, J. E.; HACHEY, D. L.; HEIRD, W. C.; POWNELL, H. J. Cholesterol-lowering effect of soy protein in normocholesterolemic and hypercholesterolemic men. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 68, n. 6 (suppl.), p. 1385-1389, 1998.

YANES, M.; DURÁN, L.; COSTELL, E. Effect of hydrocolloid type and concentration on flow behaviour and sensory properties of milk beverages model systems. **Food Hydrocolloids**, v. 16, p. 605-611, 2002.

ZARKADAS, C. G.; HARVEY, Z. Y.; VOLDENG, H. D.; MINERO-AMADOR, A. Assessment of the protein quality of a new high-protein soybean cultivar by amino acid analysis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 41, p. 616-623, 1993.

CAPÍTULO 3

Formulação de bebida funcional à base de extrato de soja e polpa de pêssegos

1. Introdução

A constatação científica de que a soja, além do reconhecido valor nutricional, é um alimento funcional, aumentou o interesse pelo consumo dos grãos desta leguminosa por parte da população ocidental, onde sua utilização, até recentemente, esteve restrita aos descendentes de orientais, aos vegetarianos e às crianças com intolerância à lactose ou alergia ao leite bovino (Liu, 1999). Inúmeras pesquisas têm evidenciado os efeitos da soja sobre várias doenças crônicas como câncer de cólon, mama e próstata, no controle dos sintomas e na prevenção das doenças decorrentes da síndrome de climatério e na prevenção de doenças cardiovasculares (Han et al, 2001; Greaves *et al.*, 1999; Kennedy, 1995; Messina *et al.*, 1994), contribuindo para sua popularização. Entretanto, alguns fatores ainda limitam a aceitação da soja em grão e da maioria dos produtos dela derivados, entre eles os compostos causadores de flatulência e o aroma e sabor característicos.

As tecnologias desenvolvidas e aplicadas para minimizar as características consideradas indesejáveis até o momento, não têm garantido um aumento de aceitação significativa no consumo que possa garantir os efeitos benéficos associados a esta leguminosa (Moraes, 2002; Liu, 1999; Wang, 1986; Weingartner *et al.*, 1983; Ashraf e Snider, 1981; Huhn e Pinheiro, 1980; Nelson *et al.*, 1976; Miya *et al.*, 1975; Mustakas *et al.*, 1969; Wilkens *et al.*, 1967). Além disso, muitas das substâncias responsáveis pelas características indesejáveis são também responsáveis pelas propriedades de saúde da soja que a caracterizam como um alimento funcional, como é o caso dos oligossacarídeos, responsáveis pelo aumento da flatulência, mas relacionados à proliferação de bactérias bífidas, e das isoflavonas, responsáveis pelo sabor amargo e adstringente dos produtos derivados de soja, mas associadas à prevenção de doenças hormônio-dependentes.

Tentativas de introdução da soja na alimentação humana na forma pura, transformada e/ou associada a outros ingredientes vêm sendo feitas há bastante tempo.

O extrato de soja, também conhecido como “leite de soja”, é um dos produtos derivados da soja mais difundidos e vêm ganhando espaço no mercado pela versatilidade na sua utilização direta ou em formulações de outros produtos. Embora inúmeras tecnologias tenham logrado êxito na obtenção de extratos com melhores características sensoriais, foi constatado que sua aceitação é bastante aumentada quando se associa o extrato a aditivos e/ou ingredientes que conferem características de sabor e aroma diferentes daqueles inerentes ao extrato de soja na forma pura (Casé *et al.*, 2002; Pino *et al.*, 2002; Tashima e Cardello, 2002; Espinosa *et al.* 2000; Ginn *et al.*, 1998; Wang *et al.*, 1997; Chauhan *et al.*, 1993; Ferreira e Shirose, 1976).

A mistura de extrato de soja com frutas tem sido muito pesquisada e alcançado ótimos resultados em termos de aceitação pelos consumidores, cujo julgamento é determinante na ampliação e diversificação da produção deste tipo de bebida (Chauhan *et al.*, 1998; Vieira *et al.*, 1994; Rosário *et al.*, 1985; Soymilk, 1984). O consumo mundial de bebidas de soja está estimado em 2 bilhões de litros por ano, com previsão de duplicação até o ano de 2004 (Innovation, 2001). No Brasil, embora ainda não se disponha de dados numéricos, o mercado de bebidas com apelo para a saúde, destacando-se as que utilizam a soja como ingrediente principal, ampliou-se muito, impulsionado pela mudança de hábitos dos consumidores, que hoje estão cada vez mais preocupados em buscar o seu bem-estar através de uma boa alimentação. Esse comportamento transformou este segmento que está bastante diversificado, oferecendo inúmeros produtos na linha saúde incluindo formulações que associam extrato de soja e frutas (Datamark, 2003a,b).

As bebidas à base de extrato de soja e frutas disponíveis comercialmente no mercado nacional fornecem uma quantidade de proteína de soja relativamente baixa, de 0,6 a 1,4%. Tal parâmetro está vinculado às dificuldades tecnológicas associadas com a produção da bebida, como a estabilização e aos aspectos sensoriais negativos da soja, notadamente quando se trabalha com percentuais protéicos mais elevados. Embora seu consumo seja interessante do ponto de vista de introdução da soja na alimentação cotidiana, o baixo percentual de extrato de soja até o momento utilizado nas formulações pode restringir a ação destas bebidas como alimento funcional.

Este trabalho visou a formulação e estabilização de uma bebida funcional, a partir de extrato de soja de boa aceitação e polpa de pêssegos, com teor protéico de soja mais elevado daquele encontrado em bebidas similares no mercado.

2. Material e métodos

2.1. Matérias-primas utilizadas

Extrato de grãos de soja escolhido no Capítulo 2.

Polpa congelada de pêssegos da cultivar Aurora, cedida pela indústria De Marchi Produtos Congelados (Jundiaí – SP).

2.2. Elaboração da bebida à base de extrato de soja e polpa de pêssegos

A elaboração da bebida seguiu o fluxograma apresentado na Figura 1, em que se adicionou polpa de pêssegos ao extrato de soja (com 3% de proteína) até atingir-se a concentração protéica da bebida definida no planejamento experimental fatorial completo (Tabela 1) descrito a seguir. A mistura foi estabilizada com pectina cítrica (CP Kelco Brasil S.A.), calculando-se a quantidade necessária em função do teor protéico final de cada bebida.

As diferentes combinações de extrato de soja, polpa de pêssegos, açúcar (sacarose comercial) e estabilizante, estabelecidas no planejamento experimental fatorial completo (abaixo), deram origem a 18 formulações da bebida. Às mesmas foi adicionado 0,03% de aroma de pêssego idêntico ao natural (Duas Rodas Industrial Ltda.), 0,025% de corante urucum, 40ppm de conservador do tipo parabenos e ácido cítrico, até atingir-se pH 4,0.

As bebidas, após pasteurização a 80-85°C por aproximadamente 20 segundos, foram acondicionadas à quente em garrafas de poliéster (PET) com capacidade de 250mL, resfriadas até 4°C e mantidas sob refrigeração (4°C).

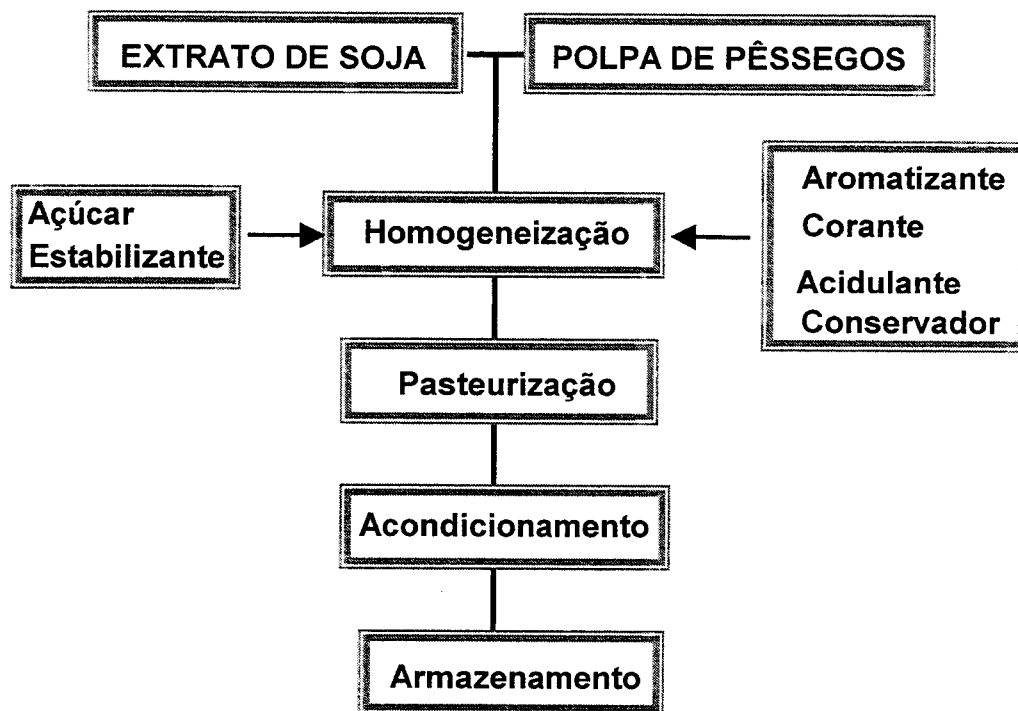


Figura 1. Fluxograma de obtenção de bebida à base de extrato de soja e polpa de pêssegos.

2.3. Planejamento experimental

Para obter-se uma bebida à base de soja e polpa de pêssegos com teor protéico superior ao de bebidas similares existentes no mercado e que satisfizesse aos consumidores, elaborou-se diferentes formulações da mesma com base no delineamento experimental fatorial 2^3 completo, com 4 pontos centrais e 6 pontos axiais (Box e Draper, 1998) baseado na Metodologia de Superfície de Resposta (Barros Neto *et al.*, 1995). Proteína, açúcar e estabilizante foram as variáveis independentes estudadas na elaboração da bebida; estabelecidas em níveis codificados: $-\alpha$, -1 , 0 , $+1$, $+\alpha$. Os níveis codificados e decodificados das variáveis independentes e o planejamento completo estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Delineamento experimental fatorial completo 2^3 , composto por 3 variáveis independentes em 2 níveis, com 4 repetições no ponto central (C), para formulação de bebida à base de extrato protéico de soja e polpa de pêssegos

Formulação	Níveis Codificados			Níveis Reais		
	P	E	A	P	E	A
1	- 1	- 1	- 1	1,5	0,12	8,0
2	+ 1	- 1	- 1	2,5	0,12	8,0
3	- 1	+ 1	- 1	1,5	0,16	8,0
4	+ 1	+ 1	- 1	2,5	0,16	8,0
5	- 1	- 1	+ 1	1,5	0,12	12,0
6	+ 1	- 1	+ 1	2,5	0,12	12,0
7	- 1	+ 1	+ 1	1,5	0,16	12,0
8	+ 1	+ 1	+ 1	2,5	0,16	12,0
9	- α	0	0	1,2	0,14	10,0
10	+ α	0	0	2,8	0,14	10,0
11	0	- α	0	2	0,11	10,0
12	0	+ α	0	2	0,17	10,0
13	0	0	- α	2	0,14	6,6
14	0	0	+ α	2	0,14	13,4
15 (C)	0	0	0	2	0,14	10,0
16 (C)	0	0	0	2	0,14	10,0
17 (C)	0	0	0	2	0,14	10,0
18 (C)	0	0	0	2	0,14	10,0

P : % de proteína obtida da mistura extrato de soja (com 3% de proteína) e polpa de pêssegos;

E : % de estabilizante calculado sobre o teor de proteína da bebida;

A : % de açúcar calculado sobre o volume total de bebida;

(C) : ponto central;

+ - α : pontos axiais.

2.4. Determinações físicas, químicas e físico-químicas

No extrato de soja, na polpa de pêssegos e na bebida final foram determinados, em sextuplicata, conforme metodologias descritas na *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC) (AOAC, 1995): sólidos totais (AOAC nº92523), proteínas (AOAC nº99120), lipídios (AOAC nº90502), cinzas (AOAC nº94546). No extrato de soja foi determinado fibra bruta (AOAC nº7061), e na polpa de pêssegos e na bebida final, fibra dietética (AOAC nº.98529/96052). Os carboidratos foram calculados por diferença (carboidratos = 100 – umidade – proteínas – lipídios – cinzas – fibras). Na polpa de pêssegos e na bebida final foram determinados também teor de ácido ascórbico (AOAC

nº 43051) e sólidos solúveis, pH e acidez conforme metodologias específicas descritas na AOAC (1995).

Nas 18 bebidas formuladas determinou-se sólidos solúveis, pH e acidez conforme metodologias descritas na AOAC (1995); cor e viscosidade, segundo metodologias descritas no Capítulo 2.

No extrato de soja e na bebida final foram determinados ainda: açúcares (sacarose, rafinose e estaquiose), aminoácidos totais e isoflavonas, segundo metodologias descritas no Capítulo 2.

Os resultados das determinações físico-químicas das bebidas formuladas segundo o planejamento experimental fatorial completo apresentado, foram avaliados segundo a Metodologia de Superfície de Resposta utilizando-se o programa Statistica versão 5.0 (Statistica, 1995).

Os resultados das demais determinações físico-químicas foram compilados e analisados pelo programa Statistica versão 5.0 (Statistica, 1995), utilizando-se análise de variância (ANOVA), teste F e aplicando-se o teste de Tukey ($p \leq 0,05$) para comparação dos resultados médios das amostras. Os parâmetros reológicos foram analisados por métodos estatísticos quantitativos, obtendo-se as equações de regressão.

2.5. Avaliação sensorial

As bebidas formuladas com extrato de soja e polpa de pêssegos foram avaliadas sensorialmente através de método afetivo, realizado mediante a aplicação de teste de aceitação, considerando-se os atributos cor, aroma, sabor, textura e impressão global.

As amostras foram apresentadas a 45 provadores não treinados, com idade entre 20 e 45 anos, pertencentes à comunidade acadêmica da Universidade Estadual

de Campinas, recrutados através de questionário no qual indicavam se consumiam bebidas à base de extrato de soja com suco de frutas e/ou se não rejeitavam este produto. Os provadores manifestaram sua opinião em relação aos atributos escolhidos, para cada amostra, utilizando escala não estruturada de 9 centímetros (Stone e Sidel, 1993). As amostras foram servidas à temperatura de $4\pm 2^{\circ}\text{C}$, em copos incolores e transparentes devidamente codificados (3 algarismos) e oferecidas aos provadores de forma monádica, segundo um delineamento de blocos completos casualizados (Wakeling e MacFie, 1995).

Os dados sensoriais foram avaliados segundo a Metodologia de Superfície de Resposta, utilizando-se o programa Statistica versão 5.0 (Statistica, 1995), para verificar o efeito das variáveis independentes (proteína, açúcar e estabilizante) sobre a aceitabilidade das bebidas de soja e polpa de pêssegos, ao nível de significância de 95%.

3. Resultados e discussão

Na Tabela 2 são apresentadas as médias dos resultados das determinações de sólidos solúveis, acidez, cor e viscosidade das bebidas formuladas com extrato de soja e polpa de pêssegos, conforme planejamento experimental fatorial completo.

Tabela 2. Valores de sólidos solúveis, acidez, luminosidade (L^*) e das coordenadas de cromaticidade (a^* e b^*) e viscosidade aparente das bebidas formuladas com extrato de soja e polpa de pêssegos, conforme planejamento experimental fatorial completo (2^3)

Formulação	Níveis reais			Sólidos solúveis (°Brix)	Acidez (% ác cítrico)	L^*	a^*	b^*	Viscosidade (cP)	
	P	E	A						a 4°C	a 25°C
1	1,5	0,12	8,0	13,60	0,3966	65,80	6,76	30,12	120,38	64,20
2	2,5	0,12	8,0	13,05	0,3968	72,59	3,77	21,14	19,02	10,72
3	1,5	0,16	8,0	16,90	0,4703	66,60	6,44	28,46	91,24	58,29
4	2,5	0,16	8,0	11,70	0,349	73,33	3,99	21,62	30,21	15,81
5	1,5	0,12	12,0	20,80	0,3733	65,84	6,73	30,34	110,67	71,38
6	2,5	0,12	12,0	15,60	0,4644	72,69	2,78	22,09	21,37	11,04
7	1,5	0,16	12,0	18,85	0,4576	65,60	6,00	28,24	90,81	45,62
8	2,5	0,16	12,0	13,05	0,3162	71,37	3,14	22,12	46,04	21,12
9	1,2	0,14	10,0	18,20	0,6231	63,48	7,20	29,08	149,52	94,61
10	2,8	0,14	10,0	13,08	0,3283	72,28	2,41	18,14	12,52	7,75
11	2	0,11	10,0	16,90	0,3983	68,93	5,39	25,36	40,13	22,38
12	2	0,17	10,0	13,20	0,3282	67,33	5,52	26,43	77,30	38,01
13	2	0,14	6,6	13,05	0,4515	70,02	5,25	26,12	38,74	25,36
14	2	0,14	13,4	13,70	0,338	66,90	4,85	26,41	70,12	32,87
15 (C)	2	0,14	10,0	15,50	0,4086	68,12	5,18	25,50	43,08	27,39
16 (C)	2	0,14	10,0	15,60	0,3771	68,20	5,40	25,08	44,35	27,63
17 (C)	2	0,14	10,0	15,60	0,4015	68,72	5,16	26,08	43,93	27,63
18 (C)	2	0,14	10,0	15,70	0,3599	67,90	5,56	26,61	43,93	27,08

P : % de proteína obtida da mistura extrato de soja (com 3% de proteína) e polpa de pêssegos;

E : % de estabilizante calculado sobre o teor de proteína da bebida;

A : % de açúcar calculado sobre o volume total de bebida;

(C) : ponto central;

Obs.: os valores correspondem à média de 4 repetições.

As formulações 1, 3, 5, 7, 9, 12 e 14 apresentaram os maiores valores para viscosidade nas duas temperaturas de estudo. Observando-se a Tabela 2, à exceção da formulação de número 12, na qual adicionou-se o máximo de estabilizante (correspondente a 0,17%) e da formulação 14, com o máximo de açúcar (13,4%), as

demais se assemelharam em relação ao baixo teor protéico e, conseqüentemente, maior teor de polpa de pêssegos. A menor viscosidade associada a maiores teores de extrato de soja em formulações também foi constatada por Cardoso *et al.* (2001) e Silva *et al.* (1998). De acordo com Oguntunde e Akintoye (1991), a viscosidade se relaciona proporcionalmente ao teor de sólidos totais e à composição em proteínas, lipídios e fibras da bebida.

O conhecimento dos parâmetros reológicos é de fundamental importância na caracterização tecnológica e sensorial do produto final, bem como para o planejamento e otimização de equipamentos e processos (Muller, 1973).

Na Tabela 3 são mostrados os efeitos estimados dos fatores lineares e quadráticos e das interações das variáveis independentes (% de proteína, % de estabilizante e % de açúcar) sobre o teor de sólidos solúveis, acidez, cor e viscosidade das bebidas formuladas com extrato de soja e polpa de pêssegos.

Tabela 3. Estimativa dos efeitos sobre os parâmetros físico-químicos das bebidas formuladas com extrato de soja e polpa de pêssegos, conforme planejamento experimental fatorial completo (2^3)

Fatores	Sólidos solúveis	Acidez	L*	a*	b*	Viscosidade (cP)	
	(°Brix)	(% ác cítrico)				a 4°C	a 25°C
Proteína (L)	-3,7138	-0,0977	5,9951	-2,9736	-7,1153	-77,1540	-47,8683
Proteína (Q)	0,3791	0,0587	0,2146	-0,4276	-1,4335	26,3966	16,7336
Estabilizante (L)	-1,2847	-0,0228	-0,3970	-0,0368	-0,2124	7,2304	1,4332
Estabilizante (Q)	-0,0379	-0,0208	0,3915	0,0319	0,1819	10,6312	1,8991
Açúcar (L)	2,0710	-0,0281	-1,1814	-0,4368	0,2837	8,9061	1,8702
Açúcar (Q)	-1,2221	0,0014	0,6246	-0,2544	0,4434	7,5993	1,1352
Prot. (L) x Estab. (L)	-1,3125	-0,0885	-0,2850	0,4075	1,0675	21,2150	11,7100
Prot. (L) x Açúcar (L)	-1,3125	0,0177	-0,2250	-0,3425	0,3625	7,0800	2,7800
Estab. (L) x Açúcar (L)	-1,6125	-0,0224	-0,7750	-0,0675	-0,2225	5,6900	-3,7150

Valores em negrito são significativos ao nível de 95% de confiança ($p \leq 0,05$);

(L) : termo linear;

(Q) : termo quadrático.

Na Tabela 3 observa-se que o maior efeito sobre os parâmetros avaliados deveu-se ao teor de proteína da bebida (termo linear) indicando que bebidas formuladas com percentuais maiores de extrato de soja apresentam menores valores de sólidos solúveis, acidez, cor vermelha (+a*), cor amarela (+b*) e viscosidade. Além de incrementar estas características, a adição de polpa de pêssegos ao extrato de soja em concentrações crescentes, resultou em bebidas mais escuras (menores valores de L*).

A viscosidade dependeu do percentual de estabilizante adicionado à bebida e do percentual de proteína da mesma, demonstrado pela interação significativa ($p \leq 0,05$) entre os 2 fatores (Tabela 3). Destes, o percentual de proteína de soja foi o parâmetro mais importante com efeito significativo ($p \leq 0,05$), mas de sinal negativo, resultando numa redução de até 77 e 48% na resposta, às temperaturas de 4 e 25°C, respectivamente, quando se formulou bebidas de soja e polpa de pêssegos com teores de proteína variando entre 1,5 e 2,5%.

Na Tabela 4 estão apresentados os parâmetros reológicos determinados pelo modelo da “Lei de Potência” para as bebidas à base de extrato de soja e polpa de pêssegos.

Tabela 4. Parâmetros reológicos das bebidas formuladas com extrato de soja e polpa de pêssegos, conforme planejamento experimental fatorial completo (2^3), a 4 e 25°C, segundo o modelo da “Lei de Potência”

Formulação	Níveis reais			Coeficiente de consistência (K)		Índice de comportamento do fluxo (n)		Coeficiente de correlação (R^2)	
	P	E	A	4°C	25°C	4°C	25°C	4°C	25°C
1	1,5	0,12	8,0	140,2	52,4	0,48	0,57	0,99	0,99
2	2,5	0,12	8,0	4,58	2,14	0,81	0,83	0,99	0,99
3	1,5	0,16	8,0	73,4	40,9	0,58	0,59	0,99	0,98
4	2,5	0,16	8,0	7,25	3,30	0,81	0,84	0,99	0,99
5	1,5	0,12	12,0	104,0	65,5	0,53	0,53	0,99	0,99
6	2,5	0,12	12,0	4,43	1,86	0,82	0,85	0,99	0,99
7	1,5	0,16	12,0	57,0	31,6	0,61	0,62	0,98	0,99
8	2,5	0,16	12,0	10,9	4,73	0,77	0,81	0,99	0,99
9	1,2	0,14	10,0	157,1	80,4	0,48	0,52	0,99	0,99
10	2,8	0,14	10,0	3,35	0,81	0,85	0,94	0,99	0,99
11	2	0,11	10,0	16,7	7,97	0,67	0,73	0,99	0,99
12	2	0,17	10,0	46,0	28,4	0,61	0,59	0,99	0,98
13	2	0,14	6,6	10,2	5,68	0,75	0,76	0,99	0,99
14	2	0,14	13,4	42,6	23,9	0,62	0,61	0,99	0,98
15 (C)	2	0,14	10,0	19,3	9,24	0,70	0,75	0,99	0,99
16 (C)	2	0,14	10,0	18,4	7,66	0,71	0,78	0,99	0,99
17 (C)	2	0,14	10,0	26,7	8,64	0,67	0,76	0,99	0,99
18 (C)	2	0,14	10,0	19,3	7,47	0,72	0,78	0,99	0,99

P : % de proteína obtida da mistura extrato de soja (com 3% de proteína) e polpa de pêssegos;

E : % de estabilizante calculado sobre o teor de proteína da bebida;

A : % de açúcar calculado sobre o volume total de bebida;

(C) : ponto central;

Obs.: os valores correspondem à média de 2 repetições.

A Figura 2 corresponde à relação entre a viscosidade aparente e a taxa de deformação das bebidas formuladas com extrato de soja e polpa de pêssegos, determinada às temperaturas de 4 e 25°C.

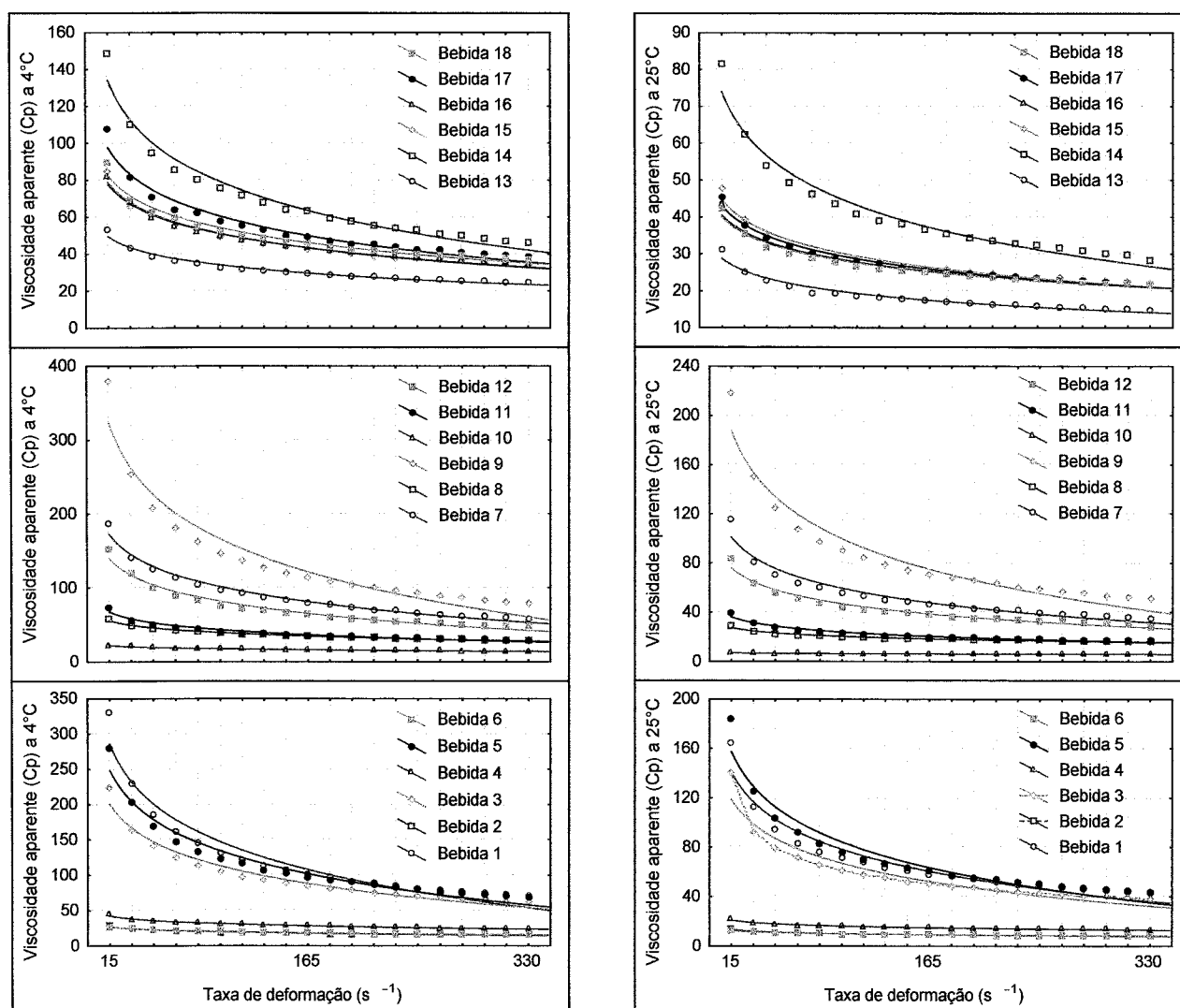


Figura 2. Relação entre viscosidade aparente e taxa de deformação das bebidas formuladas com extrato de soja e polpa de pêssegos, nas temperaturas de 4 e 25°C.

Verifica-se na Tabela 4 que o coeficiente de consistência (K) diminuiu com o aumento do teor de extrato de soja. O resultado inverso foi observado no índice de comportamento do fluxo (n). Segundo Otero *et al.* (1998), a presença de polissacarídeos e agentes espessantes ou estabilizantes aumenta o índice de consistência. Embora não tenha sido o escopo deste trabalho, este aspecto deve ser considerado, particularmente no dimensionamento de tubulações e equipamentos envolvidos com a elaboração deste tipo de bebidas, bem como na definição dos parâmetros que relacionam tempo e temperatura de processamento (Forster e Ferrier,

1979). Sensorialmente os índices de consistência e comportamento do fluxo estão relacionados com a propriedade de resistência ao escoamento, detectada pelos consumidores através de receptores mecânicos e táteis, definindo a viscosidade do produto (Campos *et al.*, 1989).

O índice de comportamento do fluxo ($n < 1$) (Tabela 4) e o decréscimo observado na viscosidade aparente, em função do aumento da taxa de deformação (Figura 2), sugerem que as bebidas elaboradas com extrato de soja e polpa de pêssegos sejam fluidos não-newtonianos com comportamento pseudoplástico (Muller, 1973). Em concordância com Urbanski *et al.* (1982) e Nsofor e Osuji (1997), pode-se constatar que o aumento do teor protéico (e consequente redução no teor de sólidos) na formulação da bebida, dos níveis codificados -1 para +1, correspondentes a 1,5 a 2,5%, faz com que reduza este comportamento ($n > 0,8$).

A caracterização reológica de um alimento depende de uma série de fatores associados, destacando-se o tipo e concentração dos ingredientes envolvidos na sua formulação e o tipo de ligações químicas e/ou físicas entre as moléculas e da estabilidade destas ligações (Buffo e Reineccius, 2002).

Verifica-se pela Figura 2 que a viscosidade aparente das bebidas formuladas com extrato de soja e polpa de pêssegos foi influenciada pela temperatura, diminuindo quando a mesma passou de 4 para 25°C, o que concorda com o estudo de Forster e Ferrier (1979). Este parâmetro é importante do ponto de vista de recomendação de consumo do produto a temperatura de refrigeração e/ou a temperatura ambiente, podendo influenciar na sua aceitabilidade.

Na Tabela 5 são apresentadas as médias das notas dos provadores em relação à aceitação das bebidas formuladas com extrato de soja e polpa de pêssegos, conforme planejamento experimental fatorial completo.

Tabela 5. Avaliação sensorial (teste afetivo de aceitação) das bebidas formuladas com extrato de soja e polpa de pêssegos, conforme planejamento experimental fatorial completo (2^3)

Formulação	Níveis reais			Cor	Aroma	Sabor	Textura	Impressão global
	P	E	A					
1	1,5	0,12	8	6,77	6,23	4,95	5,49	5,56
2	2,5	0,12	8,0	5,73	5,99	5,07	5,57	5,44
3	1,5	0,16	8,0	6,97	6,67	5,19	6,04	5,72
4	2,5	0,16	8,0	6,05	6,03	5,27	6,4	5,46
5	1,5	0,12	12,0	6,77	6,37	4,88	5,47	5,39
6	2,5	0,12	12,0	5,85	6,01	6,05	5,45	6,16
7	1,5	0,16	12,0	6,92	6,22	6,01	6,51	6,11
8	2,5	0,16	12,0	6,28	6,25	5,63	5,75	5,56
9	1,2	0,14	10,0	6,75	6,58	5,51	5,87	5,54
10	2,8	0,14	10,0	5,94	5,92	5,04	4,99	5,57
11	2	0,11	10,0	7,03	6,21	6,09	5,48	6,34
12	2	0,17	10,0	6,8	6,52	6,32	5,3	5,94
13	2	0,14	6,6	6,75	6,22	5,6	6,17	5,85
14	2	0,14	13,4	6,95	6,55	5,69	5,97	5,85
15 (C)	2	0,14	10,0	7,17	6,23	6,08	6,42	6,48
16 (C)	2	0,14	10,0	7,14	6,25	6,27	6,48	6,51
17 (C)	2	0,14	10,0	7,07	6,26	6,37	6,54	6,59
18 (C)	2	0,14	10,0	7,16	6,27	6,3	6,49	6,54

P : % de proteína obtida da mistura extrato de soja (com 3% de proteína) e polpa de pêssegos;

E : % de estabilizante calculado sobre o teor de proteína da bebida;

A : % de açúcar calculado sobre o volume total de bebida;

(C) : ponto central;

Obs.: os valores para cada atributo correspondem à média das notas de 45 provadores indicadas numa escala não estruturada de 9cm.

Na Tabela 6 estão mostradas a estimativa dos efeitos lineares, quadráticos e a interação dos fatores: percentagem de proteína, de estabilizante e de açúcar sobre os atributos cor, aroma, sabor, textura e impressão global utilizados na análise sensorial como indicadores de aceitação das bebidas de soja e polpa de pêssegos.

Tabela 6. Estimativa dos efeitos lineares, quadráticos e interação dos fatores sobre os parâmetros sensoriais das bebidas formuladas com extrato de soja e polpa de pêssegos

Fatores	Cor	Aroma	Sabor	Textura	Impressão Global
Proteína (L)	-0,7149	-0,3397	0,0292	-0,2665	-0,0160
Proteína (Q)	-0,6709	-0,0524	-0,8201	-0,6330	-0,7464
Estabilizante (L)	0,1044	0,1598	0,2251	0,3540	-0,0546
Estabilizante (Q)	-0,2680	0,0289	-0,1627	-0,6614	-0,3330
Açúcar (L)	-0,0932	0,0710	0,3282	-0,0961	0,1523
Açúcar (Q)	-0,3139	0,0430	-0,5585	-0,1805	-0,5379
Prot. (L) x Estab. (L)	0,1000	-0,0025	-0,3975	-0,1150	-0,3650
Prot. (L) x Açúcar (L)	0,1000	0,1375	0,1475	-0,3050	0,1500
Estab. (L) x Açúcar (L)	0,0150	-0,0975	0,0675	-0,0100	-0,0150

Valores em negrito são significativos ao nível de 95% de confiança ($p \leq 0,05$);

(L) : termo linear;

(Q) : termo quadrático.

Observa-se que o parâmetro quadrático do fator proteína teve efeito negativo significativo ($p \leq 0,05$) sobre a aceitabilidade da bebida, considerando todos os atributos avaliados, ou seja, um aumento excessivo na sua concentração, pode diminuir a aceitação do produto com relação à cor, aroma, sabor, textura e impressão global. O percentual de proteína condiciona diferentes concentrações de extrato de soja o que influi diretamente sobre as características sensoriais do produto. Assim, a partir de um determinado ponto, quanto maior a concentração de proteína _ ao que corresponde a mais extrato de soja e menos polpa de pêssegos _ menor a aceitação da bebida pelos consumidores.

Da mesma forma, o parâmetro quadrático da variável independente açúcar teve efeito negativo significativo ($p \leq 0,05$) sobre os atributos sensoriais avaliados, à exceção do aroma. Este comportamento indica que percentuais crescentes de açúcar, dentro da faixa estudada, aumentariam a aceitação da bebida em termos de cor, sabor, textura e impressão global, mas um aumento excessivo na concentração deste ingrediente poderia diminuir esta resposta.

O percentual de estabilizante mostrou efeito linear positivo significativo ($p \leq 0,05$) sobre os atributos sensoriais, com exceção da impressão global. Assim, o aumento da sua concentração de -1 para +1 (níveis codificados), que corresponde a um aumento de 0,12 para 0,16%, aumenta a aceitação da bebida com relação àqueles atributos, dentro da faixa estudada. É aceitável que um aumento excessivo no teor de estabilizante na bebida tenha diminuído sua aceitação, principalmente em relação à textura e impressão global _ demonstrado pelo efeito quadrático negativo significativo ($p \leq 0,05$) _ considerando que este ingrediente aumenta marcadamente a viscosidade do produto.

Em termos absolutos, o percentual de proteína foi o fator determinante da aceitação da bebida em relação ao aroma, sabor e impressão global, possivelmente devido à rejeição que muitos dos provadores ainda pudessem ter ao aroma e sabor de soja. O efeito relacionado ao teor de açúcar, bastante elevado nos atributos sabor, textura e impressão global, indica que este ingrediente é importante na formulação de bebidas de soja e que, em concentração adequada, da mesma forma que a adição de estabilizante, aumenta a aceitabilidade com relação a estes atributos sensoriais. Yanes *et al.* (2002), Wang *et al.* (2001) e Courregelongue *et al.* (1999) verificaram que a adição destes ingredientes ao extrato de soja mascara o sabor de feijão e a adstringência do extrato de soja, aumentando sua aceitação.

Mesmo com evidências, algumas cientificamente comprovadas, de que o consumo de soja e dos produtos dela derivados traz inúmeros efeitos benéficos à saúde, a maior aceitação destes produtos nos locais onde eles não são habitualmente consumidos tem estado associada à mistura com outros ingredientes e/ou aditivos que mascaram as características sensoriais que lhes são próprias, especialmente o sabor e aroma de “feijão”, o amargor e a adstringência (Casé *et al.*, 2002; Chauhan *et al.*, 1998; Wang, 1997; Vieira, 1994; Chauhan *et al.*, 1993; Rosário *et al.* 1985; Sousa *et al.*, 1981; Ferreira e Shirose, 1976). Entretanto, como pôde-se constatar neste estudo, a adição de polpa de fruta aumentou a aceitação da bebida até um determinado ponto, ou seja, a bebida mais aceita não corresponde a valores mínimos de extrato de soja e máximos

de polpa de pêssegos e sim a valores intermediários, o mesmo ocorrendo com os teores de açúcar e de estabilizante. Resultados semelhantes foram obtidos por Espinosa *et al.* (2000), Chauhan *et al.* (1998) e Rosário *et al.* (1985).

Na Tabela 7 estão apresentados os modelos de regressão e os coeficientes de determinação para os atributos cor, aroma, sabor, textura e impressão global das bebidas formuladas com extrato de soja e polpa de pêssegos.

Tabela 7. Modelos de regressão e coeficientes de determinação (R^2) para os parâmetros sensoriais da bebida à base de extrato de soja e polpa de pêssegos

Modelo de Regressão	R^2
Cor = $7,1475 - 0,3575P + 0,0522E + 0,0466A - 0,3354P^2 - 0,1340E^2 - 0,1569A^2$	0,86
Aroma = $6,2737 - 0,1699P + 0,0799E + 0,0355A - 0,0292P^2 + 0,0185A^2 + 0,0687P.A - 0,0487E.A$	0,77
Sabor = $6,1816 + 0,1125E + 0,1641A - 0,3930P^2 - 0,2622A^2 - 0,1987P.E$	0,74
Textura = $6,4701 - 0,1333P + 0,1770E - 0,0480A - 0,3165P^2 - 0,3307E^2 - 0,0903A^2 - 0,0575P.E - 0,1525P.A$	0,75
Impressão Global = $6,5364 + 0,0761A - 0,3732P^2 - 0,1665E^2 - 0,2689A^2 - 0,1825P.E + 0,075P.A$	0,87

P : proteína;

E : estabilizante;

A : açúcar;

R^2 : coeficiente de determinação.

Conforme Tabela 7, os coeficientes de determinação (R^2) foram todos superiores a 0,74, significando que os modelos de regressão explicam pelo menos 74% da variação dos dados observados. Conforme Khuri e Cornell (1996) o R^2 mede a proporção da variação total da resposta que é explicada pelo modelo; desse modo, quanto maior o R^2 (mais próximo de 1), melhor o modelo. Contudo, o ajuste de um modelo envolvendo medidas de aceitação de consumidores pode apresentar reconhecidas dificuldades em função da variabilidade das respostas. Neste caso, coeficientes de determinação maiores do que 0,20 são considerados aceitáveis por

alguns autores e são indicadores de tendência (Villarreal et al, 1999; Ressurreccion, 1998). Baseado nestas premissas, os coeficientes de determinação obtidos para os modelos neste estudo, cujas variáveis dependentes são medidas sensoriais, são considerados satisfatórios.

Nas Tabelas 1 a 5 do Apêndice são apresentados os resultados das análises de variância (ANOVA), excluindo-se os fatores não significativos ($p \leq 0,05$) para todas as variáveis estudadas. Em todos os casos, a regressão foi significativa (F calculado $> F$ tabelado), porém, à exceção do atributo sabor, a falta de ajuste também foi significativa, o que se contrapõe à premissa de que a variação explicada pelo modelo é significativamente maior que a variação não explicada. Neste caso, Henika (1972) sugere que se o quadrado médio para o erro experimental expressar valores extremamente baixos os testes de significância para a falta de ajuste devem ser considerados irrelevantes. Assim, considerando-se que as médias nos pontos centrais foram muito próximas e que o erro puro foi baixo (razões para a falta de ajuste ter sido alta), os modelos são considerados adequados.

A adequação dos modelos de regressão também pôde ser evidenciada com base nos desvios entre os valores estimados e os reais. Os resultados bastante baixos obtidos no cálculo dos desvios (Tabela 6 do Apêndice) indicam que os valores observados estão próximos do esperado.

Com base nos modelos gerados foram construídas superfícies de contorno para a aceitação da cor, aroma, sabor, textura e impressão global da bebida formulada com extrato protéico de soja e polpa de pêssegos, as quais estão apresentadas na Figura 3.

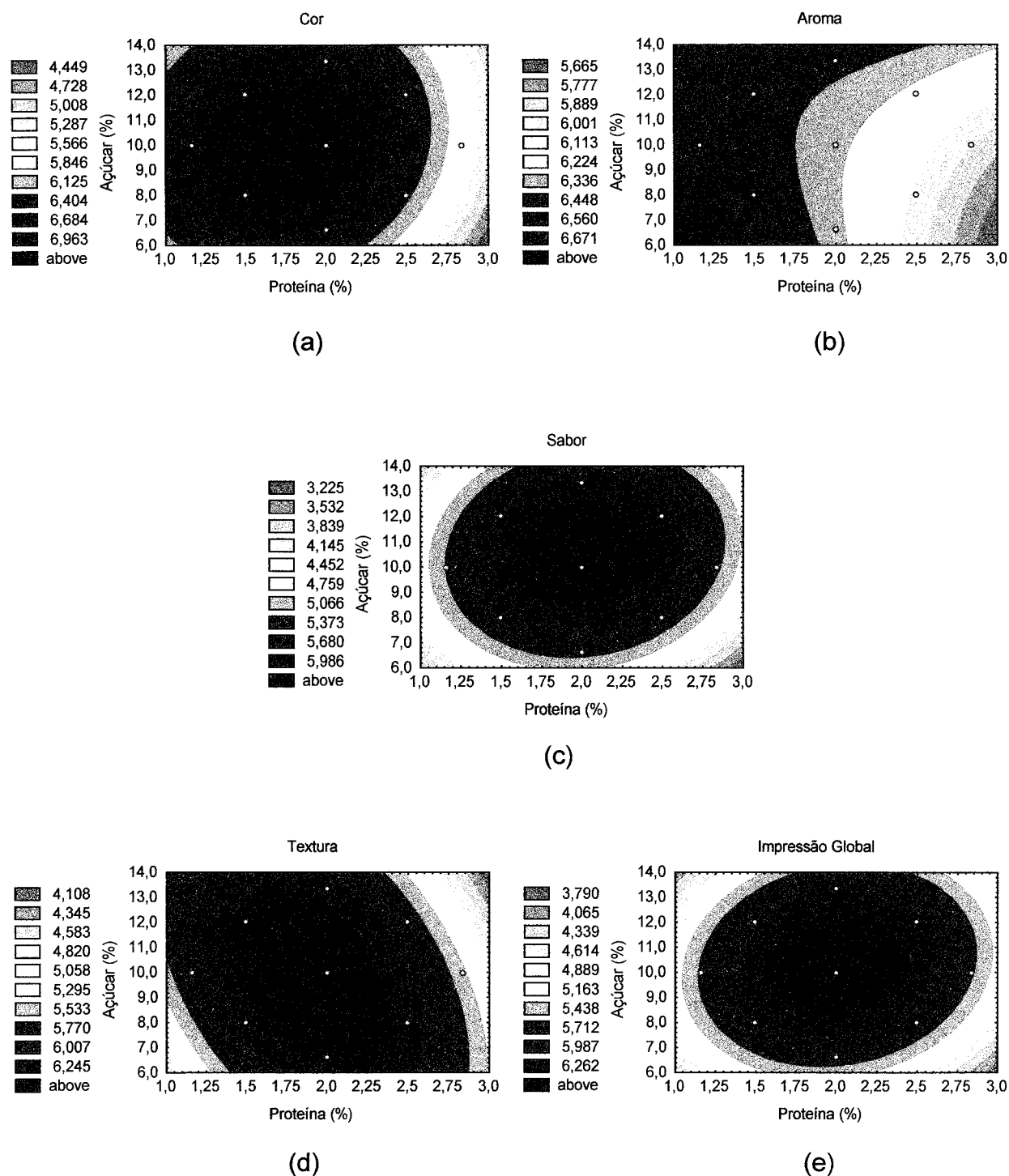


Figura 3. Superfícies de contorno referentes às respostas sensoriais dos atributos: cor (a), aroma (b), sabor (c), textura (d) e impressão global (e), em função de diferentes concentrações de proteína de soja e açúcar e 0,14% de estabilizante, utilizados na formulação de bebida à base de extrato de soja e polpa de pêssegos.

Verifica-se pela Figura 3 que as maiores notas quanto à aceitação da bebida em termos de cor, sabor, textura e impressão global estão na faixa compreendida entre os valores de mínimo (-1) e máximo (+1) estabelecida para teor de proteína e de açúcar, que correspondeu à variação de 1,5 a 2,5% e de 8 a 12%, respectivamente, mantendo-se o teor de estabilizante fixo no ponto central (0,14%).

Evidencia-se que quanto menor a quantidade de polpa de fruta _ e conseqüentemente mais extrato de soja _ menor foi a aceitação da bebida em termos de aroma. Porém, este atributo, como a cor, pode ser modificado adicionando-se concentrações de aromatizante (ou corante) que correspondam às características da fruta que está sendo utilizada na formulação.

Considerando-se a área de maior aceitação da bebida para os atributos avaliados em torno do ponto central e levando-se em conta o objetivo principal deste trabalho (obter uma bebida aceitável e com teor protéico superior a de bebidas similares existentes no mercado, a qual associe o valor nutritivo e as propriedades de saúde da soja), escolheu-se a formulação que correspondeu a 10% de açúcar, 2% de proteína e 0,14% de estabilizante para a caracterização e estudos posteriores. A bebida formulada com estes parâmetros pode ser visualizada na Figura 4.

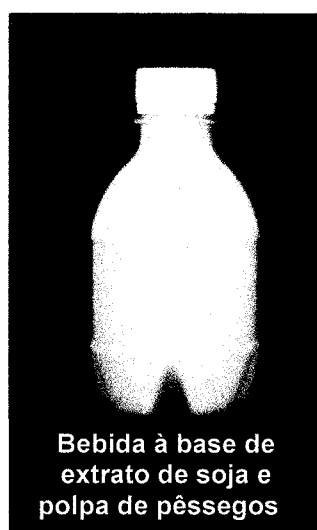


Figura 4. Bebida formulada com extrato de grãos de soja (2% de proteína) e polpa de pêssegos, 10% de açúcar e 0,14% de estabilizante.

Na Tabela 8 é apresentada a composição físico-química da bebida à base de extrato de soja e polpa de pêssegos mais aceita sensorialmente, e das matérias-primas que lhe deram origem (extrato de grãos de soja e polpa de pêssegos).

Tabela 8. Composição físico-química do extrato obtido dos grãos de soja, da polpa de pêssegos e da bebida formulada com a mistura de ambos

Determinação	Extrato de grãos de soja	Polpa de pêssegos	Bebida de soja e polpa de pêssegos
Sólidos totais (%)	5,88 ± 0,01 ^a	11,42 ± 0,08 ^b	19,35 ± 0,01 ^c
Proteínas (%)	3,03 ± 0,02 ^a	0,85 ± 0,01 ^b	2,23 ± 0,01 ^c
Lipídios (%)	0,89 ± 0,02 ^a	0,04 ± 0,00 ^b	0,61 ± 0,00 ^c
Cinzas (%)	0,23 ± 0,01 ^a	0,49 ± 0,01 ^b	1,31 ± 0,00 ^c
Fibra total (%)	0,07 ± 0,00	1,41 ± 0,01	1,15 ± 0,00
Fibra solúvel (%)	nr	1,23 ± 0,01	0,62 ± 0,01
Fibra insolúvel (%)	nr	0,18 ± 0,01	0,53 ± 0,01
Açúcares totais (% glicose)	nr	7,31 ± 0,06	nr
Açúcares redutores (% glicose)	nr	2,62 ± 0,13	nr
Sacarose (%)	0,12 ± 0,00	nr	13,18 ± 0,00
Rafinose (%)	0,012 ± 0,00	nr	0,016 ± 0,00
Estaquiase (%)	0,064 ± 0,00	nr	0,047 ± 0,00
Outros carboidratos (%) [*]	1,46	0,0	0,8
Sólidos solúveis (°Brix)	5,29 ± 0,01 ^a	10,30 ± 0,03 ^b	15,60 ± 0,00 ^c
pH	6,60 ± 0,08 ^a	4,05 ± 0,14 ^b	4,04 ± 0,00 ^b
Acidez (% em ácido cítrico)	0,06 ± 0,00 ^a	0,47 ± 0,01 ^b	0,40 ± 0,00 ^b
Ácido ascórbico (mg/100mL)	nd	40,07 ± 0,92 ^a	11,06 ± 0,54 ^b

^{*} Calculado por diferença (Outros carboidratos = 100 – umidade – proteínas – lipídios – cinzas – fibra total – sacarose – rafinose – estaquiase, onde umidade = 100 – sólidos totais);

nr : não realizado;

nd : não detectado;

Os valores correspondem à média de 2 (açúcares e fibras) e 6 repetições (demais determinações) ± estimativa de desvio padrão;

Médias em uma mesma linha que possuem letras distintas diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Pêssegos da cultivar Aurora, embora sejam classificados como de mesa, têm sido utilizados na fabricação de polpa, para fins industriais, devido à sua boa disponibilidade no mercado e por apresentar características interessantes do ponto de vista sensorial, como sabor doce, baixa acidez e coloração amarela intensa (Medeiros e Raseira, 1998). Não foram encontrados na literatura dados relativos à composição

físico-química desta cultivar. Contudo, a caracterização da polpa (Tabela 8) acompanhou os valores médios abordados por Franco (1986) para pêssegos.

A comparação da composição aproximada do extrato obtido de grãos de soja com a polpa de pêssegos (Tabela 8) mostra que o extrato é uma excelente fonte de proteína e gordura, enquanto a polpa é fonte de açúcares, fibras e ácido ascórbico. Produtos obtidos da mistura de soja com frutas mostram-se uma excelente alternativa de aproveitamento e utilização destas matérias-primas pois origina alimentos com valor nutritivo agregado e com características sensoriais sensivelmente melhoradas, além das propriedades de saúde inerentes (Chauhan, 1998).

A bebida formulada (Tabela 8) apresentou todos os constituintes identificados no extrato de soja e na polpa de pêssegos com teores proporcionalmente correspondentes às matérias-primas que a originaram, considerados os teores de cinzas, fibras e açúcares provenientes da adição de sacarose e estabilizante.

Os oligossacarídeos presentes no extrato mantiveram-se na bebida. Estes açúcares, considerado o aspecto negativo de flatulência pela ingestão de produtos de soja (Ida *et al.*, 1981; Rackis *et al.*, 1970), atualmente, têm sido assinalados como positivos pela associação com o aumento das bactérias bifidogênicas no intestino, das quais podem resultar inúmeros benefícios fisiológicos, como a redução da microbiota nociva, ação como fibra dietética, atividade anticarcinogênica e redução dos níveis séricos de lipídeos (Cummins e MacFarlane, 2002; Marteau e Boutron-Ruault, 2002; Gibson *et al.*, 1994; Mitsuoka, 1978). De acordo com Tomomatsu (1994) a dose diária efetiva de oligossacarídeos da soja na forma pura para estes efeitos benéficos é de 2g. Entretanto, os resultados da estimulação das bifidobactérias por diferentes doses de oligossacarídeos ainda não são conclusivos, devido às inúmeras variáveis envolvidas, bem como a complexidade das reações passíveis de ocorrerem no intestino humano, juntamente com a microbiota residente no cólon, cujo comportamento pode ser diferente na utilização destes e de outros açúcares e de outras substâncias ingeridas (Nitschke e Umbelino, 2002; Tamine *et al.*, 1995; Gibson *et al.*, 1994; Modler, 1994).

O perfil de aminoácidos do extrato elaborado com grãos de soja e da bebida formulada a partir deste extrato e polpa de pêssegos é mostrado na Tabela 9.

Tabela 9. Composição em aminoácidos do extrato obtido de grãos de soja e da bebida formulada com este extrato e polpa de pêssegos

Aminoácidos (g/16g de nitrogênio)	Extrato de grãos de soja	Bebida de soja e polpa de pêssegos
Essenciais		
Fenilalanina e tirosina	4,89 e 2,77	4,55 e 1,82
Isoleucina	3,81	3,64
Leucina	7,00	6,17
Lisina	5,78	5,16
Metionina e cistina	1,01 e 1,36	0,20 e 0,81
Treonina	3,31	2,93
Triptofano	nd	nd
Valina	3,97	3,84
Não essenciais		
Ác. Aspartico	10,32	13,66
Ac. Glutâmico	18,03	17,70
Alanina	3,95	4,05
Arginina	4,82	5,16
Glicina	3,92	3,44
Histidina	2,21	1,92
Prolina	4,61	5,46
Serina	4,37	4,65
Amônia	1,13	1,92

nd : não detectado.

Conforme Tabela 9, a bebida apresentou menor teor de aminoácidos essenciais e maior de não-essenciais, comparativamente ao extrato de soja. Dentre as perdas observadas, destaca-se a redução no teor de metionina, considerado um aminoácido limitante na soja (Liu, 1999; Moraes e Silva, 1996; Wang, 1986; Turatti *et al.*, 1979; Lam-Sánchez, 1978; Sikka *et al.*, 1978) e que pode ser degradado em função do tratamento térmico (Chauhan *et al.*, 1998). Por outro lado, a adição de polpa de pêssegos promoveu um ligeiro incremento nos percentuais de ácido aspártico, alanina e serina, aminoácidos predominantes nesta fruta (Fuchs *et al.*, 1992).

Comparando-se com o padrão da FAO (FAO, 1973), à exceção dos aminoácidos aromáticos (fenilalanina e tirosina) que superam o padrão estabelecido, e dos sulfurados que são limitantes, os demais aminoácidos essenciais avaliados na bebida corresponderam de 73 a 91% do padrão. No extrato, os aminoácidos sulfurados, somados a treonina e valina corresponderam, respectivamente, a 68, 83 e 79% do padrão da FAO.

Muitos dos efeitos benéficos relacionados à soja na prevenção e manutenção da saúde têm sido atribuídos aos fitoquímicos biologicamente ativos, principalmente as isoflavonas, em razão de sua atividade estrogênica, antioxidante, anti-hemolítica, antitumoral, antifúngica e bactericida (Halbe *et al.*, 1999; Miyazawa *et al.*, 1999; Sadowska-Krowicka *et al.*, 1998; Knight e Éden, 1996; Wu *et al.*, 1992; Naim *et al.*, 1974). Ênfase tem sido dada a relação entre a ingestão destes compostos e a baixa incidência de alguns tipos de câncer, doenças cardiovasculares e sintomas da pós-menopausa (Chang *et al.*, 2000; Anthony *et al.*, 1997; Wilcox e Blumenthal, 1995).

Tabela 10. Teor de isoflavonas do extrato obtido de grãos de soja e da bebida formulada com este extrato e polpa de pêssegos

Isoflavonas (mg/100g de amostra seca)	Extrato de grãos de soja	Bebida de soja e polpa de pêssegos
Daidzina	53,02 ± 0,35	8,96 ± 0,13
Genistina	95,79 ± 0,32	15,80 ± 0,01
Malonil-daidzina	24,42 ± 0,15	1,90 ± 0,05
Malonil-genistina	44,75 ± 0,25	13,90 ± 0,01
Daidzeína	3,12 ± 0,04	1,30 ± 0,01
Genisteína	4,55 ± 0,01	2,50 ± 0,01
Teor total de isoflavonas	225,65	44,36

Os valores correspondem à média de 2 repetições ± estimativa de desvio padrão.

Observa-se na Tabela 10 que a bebida apresentou teor de isoflavonas em torno de 5 vezes menor que o extrato, contudo, quando a relação foi feita em função do teor protéico, verificou-se que praticamente não existem diferenças. Alguns autores têm

relacionado as isoflavonas associadamente às proteínas de soja (Genovese e Lajolo, 2002; Wang e Murphy, 1996; Murphy, 1982).

A distribuição das frações de isoflavonas apresentou diferença marcante entre o extrato e a bebida. A relação β -glicosídeos:malonil-glicosídeos:agliconas passou de aproximadamente 66:31:3 no extrato de soja para 56:35:9 na bebida. Embora estudos realizados indiquem uma grande variabilidade no conteúdo e distribuição das isoflavonas entre os diferentes produtos oriundos da soja (Nakamura *et al.*, 2000; Franke *et al.*, 1999; Wang e Murphy, 1994), na literatura consultada não foram encontrados resultados relativos às modificações de isoflavonas do extrato de soja quando o mesmo é utilizado na elaboração de bebidas. Verifica-se que a fração aglicona aumentou, provavelmente pela hidrólise dos β -glicosídeos em função do tratamento térmico como tem sido relatado na literatura (Barnes *et al.*, 1994; Wang e Murphy, 1994). O ligeiro aumento da fração malonil-glicosídica verificado na bebida pode ser atribuído à variabilidade inerente ao método analítico. Entretanto, em face da complexidade da formulação da bebida, deve-se considerar também provável rearranjo das moléculas de isoflavonas e/ou a ocorrência de reações químicas com outras substâncias.

A concentração final de genisteína na bebida (em base seca) não foi muito inferior ao encontrado no extrato de soja que lhe deu origem. Comparativamente às outras isoflavonas determinadas, essa relação foi menor. Este comportamento e aquele observado nas frações, sugerem uma revisão no método analítico aplicado na determinação de isoflavonas em produtos derivados de soja, bem como a influência da solubilidade específica de cada fração na sua determinação.

De acordo com os resultados obtidos, a quantidade de isoflavonas totais presentes na bebida à base de extrato de soja e polpa de pêssegos foi de 85,8mg/L, valor muito superior àquele presente em bebidas similares disponíveis no mercado de 22,2mg/L (Genovese e Lajolo, 2002). Considerada a variabilidade inerente às matérias-primas utilizadas nas respectivas formulações, a diferença marcante verificada no teor

de isoflavonas confirma a hipótese sugerida por Genovese e Lajolo (2002), Wang e Murphy (1996) e Murphy (1982), de que estes compostos estão associados ao teor protéico de 2,23%, para a bebida elaborada neste estudo (Tabela 8), e de 0,6%, na bebida comercial analisada por aqueles autores.

Pelos resultados apresentados, fica evidenciado que bebidas formuladas com extrato de soja e polpa de pêssegos (ou outras frutas), em percentuais protéicos mais elevados, são importantes fontes de isoflavonas na dieta, associando incremento na aceitação sensorial. O consumo de 250mL da bebida formulada neste estudo, correspondendo a 21,5mg de isoflavonas, estando próxima da ingestão média diária de japoneses estimada por Nakamura (2000) em 27,8mg,

4. Conclusões

As bebidas formuladas com extrato de soja e polpa de pêssegos, açúcar e estabilizante, diferenciaram-se marcadamente quanto aos parâmetros físico-químicos sólidos solúveis, acidez, cor e viscosidade, sendo a faixa de teores de proteína de soja estudada (1,5 a 2,5%) predominante em relação às demais variáveis (açúcar e estabilizante).

Dos parâmetros físico-químicos estudados, a viscosidade aparente das bebidas foi o mais influenciado, em ordem decrescente, pelas variáveis percentual de proteína de soja, estabilizante e açúcar. O aumento da temperatura de 4 para 25°C diminuiu a viscosidade aparente.

As variáveis estudadas mostraram efeito significativo ($p \leq 0,05$) sobre a aceitabilidade da bebida. O percentual de proteína de soja utilizado na formulação foi o fator determinante da aceitação, considerando os atributos cor, aroma, sabor, textura e impressão global. O percentual de estabilizante teve maior efeito sobre os atributos textura e impressão global, enquanto que o percentual de açúcar foi mais efetivo em relação ao sabor e à impressão global das bebidas.

A maior aceitabilidade sensorial dentre as bebidas formuladas, foi pela bebida formulada com extrato de soja contendo 2% de proteína, polpa de pêssegos, 10% de açúcar e 0,14% de estabilizante, correspondente ao ponto central do planejamento experimental fatorial completo.

A bebida mais aceita sensorialmente manteve todos os constituintes da composição físico-química da matéria-prima original (extrato de soja e polpa de pêssegos), mantendo, proporcionalmente, os teores de oligossacarídeos e de isoflavonas. Esta bebida foi escolhida para continuidade dos estudos relativamente à verificação da sua utilização como alimento funcional.

5. Referências bibliográficas

ANTHONY, M. S.; CLARKSON, T.B.; BULLOCK, B. C.; WAGNER, J. D. Soy protein versus soy phitoestrogens in the prevention of diet-induced coronary artery atherosclerosis of male cynomolgus monkeys. **Arteriocler. Thromb. Vasc. Biol.**, v. 17, p. 2524-2531, 1997.

ASHRAF, H-R. L.; SNYDER, H. E. Influence of ethanolic soaking of soybeans on flavor and lipoxygenase activity of soymilk. **Journal of Food Science**, v. 46, p. 1201-1204, 1981.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALITYCAL CHEMISTS (A.O.A.C.) . **Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 12 ed. Washington: Horwitz, W., 1995.

BARNES, S.; KIRK, M.; COWARD, L. Isoflavones and their conjugates in soy foods: extraction conditions and analysis by HPLC – mass spectrometry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 42, p. 2466-2474, 1994.

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

BOX, G. P.; DRAPER, N. R. **Empirical model-building and response surfaces**. New York: J. Wiley & Sons, 1998. 669p.

BUFFO, R. A.; REINECCIUS, G. A. Modeling the rheology of concentrated beverage emulsions. **Journal of Food Engeneering**, v. 51, p. 267-272, 2002.

CAMPOS, S. D. S.; GONÇALVES, J. R.; MORI, E. E. M.; GASPARETTO, C. A. **Reologia e textura de alimentos**. Campinas: ITAL, 1989. 84p.

CARDOSO, F.; IÑIGUEZ, C.; NUÑEZ DE VILLAVICENCIO, M. Elaboración de una leche fermentada com mezcla de leches de búfala y de soja. **Alimentaria**, p. 63-66, 2001.

CASÉ, F. V.; DELIZA, R.; ROSHENTAL, A.; WAKELING, I. Avaliação da aceitação pelo consumidor de “leite” de soja enriquecido com cálcio. In: Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 18., 2002, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: UFRGS, 2002. 1 CD-ROM.

CHANG, H. C.; CHURCHWELL, M. I.; DELCLOS, K. B.; NEWBOLD, N. N.; DOERGE, D. R.; Mass spectrometric determination of genistein tissue distribution in diet-exposed sprague-dawley rats. **Journal of Nutrition**, v. 130, p. 1963-1970, 2000.

CHAUHAN, S.K.; JOSHI, V.K.; LAL, B.B. Apricot-soy fruit-bar : a new protein-enriched product. **Journal of Food Science and Technology**, v. 30, n. 6, p.457-458, 1993.

CHAUHAN, S.K.; SINGH, J. D.; TOMAR, N. S. Nutritional changes in soymilk subjected to different physical and chemical treatments. **Journal of Food Science and Technology**, v. 35, n. 3, p. 271-273, 1998.

COURREGELONGUE, S.; SCHLICH, P.; NOBLE, A. C. Using repeated ingestion to determine the effect of sweetness, viscosity and oilness on temporal perception of soymilk adstringency. **Food Quality and Preference**, v. 10, p. 273-279, 1999.

CUMMINGS, J. H.; MACFARLANE, G. T. Gastrointestinal effects of prebiotics. **British Journal of Nutrition**, v. 87, n. 2 (suppl.), p. 145-151, 2002.

DATAMARK. **Bebidas – consumo em alta**. 2003. Disponível em <<http://www.datamark.com.br>> Acesso em: 03 jan. 2003(a).

DATAMARK. **Bebidas - um brinde à saúde**. 2003. Disponível em <<http://www.datamark.com.br>> Acesso em: 03 jan. 2003(b).

ESPINOSA, B.; MARTÍNEZ, G.; GARCÍA, A.; PÉREZ, N. Jugo de fruta enriquecido con leche de soya. **Alimentaria**, p. 59-60, dez, 2000.

FERREIRA, V. L. P; SHIROSE, I. Estudo sobre a aromatização do leite de soja destinado à merenda escolar. **Boletim do Instituto de Tecnologia de Alimentos**, n. 44, p. 87-102, dez., 1976.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO) / WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Energy and protein requirements; report of a joint FAO/WHO**. Geneva, WHO, 1973. p. 62-64 (WHO Technical Report Series, 522; FAO Nutrition Meetings Report Series, 52).

FORSTER, L. L.; FERRIER, L. K. Viscometric characteristics of whole soybean milk. **Journal of Food Science**, v. 44, n. 2, p. 583-590, 1979.

FRANCO, G. **Tabela de composição de alimentos**. 7ed. Rio de Janeiro: Atheneu, 1986. 145p.

FRANKE, A. A.; HANKIN, J. H.; YU, M. C.; MASKARINEC, G.; LOW, S. H.; CUSTER, L. J. Isoflavone levels in soy foods consumed by multiethnic populations in Singapore and Hawaii. **Journal of Agricultural and Food Science**, v. 47, p. 977-986, 1999.

FUCHS, G.; SPRENGER, C.; WALTER, T. Components of peach pulp. **Fluessiges Obst.**, v. 59, n. 7, p. 422-423, 1992.

GENOVESE, M. I.; LAJOLO, F. M. Isoflavones in soy-based foods consumed in Brazil: levels, distribution, and estimated intake. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 5987-5993, 2002.

- GIBSON, G. R.; WILLIS, C. L.; LOO, J. V. Non-digestible oligosaccharides and bifidobacteria – implications for health. **International Sugar Journal**, v. 96, n. 1150, p. 381-387, 1994.
- GINN, P. W.; HOSKEN, R. W.; COLE, S. J.; ASHTON, J. F. Physicochemical and sensory evaluation of selected australian UHT processed soy beverages. **Food Australia**, v. 50, n. 7, p. 347-351, july, 1998.
- GREAVES, K. A.; PARKS, J. S.; WILLIAMS, J. K.; WAGNER, J. D. Intact dietary soy protein, but not adding an isoflavone-rich soy extract to casein, improves plasma lipids in ovariectomized cynomolgus monkeys. **Journal of Nutrition**, v. 129, n. 8, p. 1585-1592, 1999.
- HALBE, H. V.; CELESTINO, C. A.; LOPES, C. M. C.; HAYASHIDA, S. A. Y. Xenosestrógenos, fitoestrógenos e o receptor estrogênico subtipo beta. **Sinopse de Ginecologia e Obstetrícia**, v. 4, p. 90-93, 1999.
- HAN, K. K.; KATI, L. M.; HAIDAR, M. A.; GIRÃO, M. J. B. C.; BARACAT, E. C.; YIM, D. K.; CARRÃO-PANIZZI, M. C. Efeito de isoflavonas sobre os sintomas da síndrome de climatério. In: Simpósio Brasileiro sobre os Benefícios da Soja para a Saúde Humana, 1., 2001, Londrina. **Anais...** Londrina: Embrapa Soja, out., 2001.
- HENIKA, R. G. Simple and effective system for use wit response surface methodology. **Cereal Science Today**, v. 17, p. 309-312, 1972.
- HUHN , S.; PINHEIRO, A. J. R. Efeito do íon cúprico no sabor do leite de soja. **Revista Ceres**, v. 27, n. 150, p. 145-154, 1980.
- IDA, E. I.; SILVA, R. S. F. da; RAO, C. S. Oligossacarídeos da soja: problemas e soluções. **Arq. Biol. Tecnol.**, v. 24, n. 4, p. 461-467, 1981.
- INNOVATION – no stagnation new product strategies for the fuit juice industry. **Fruit Processing**, p. 457-459, nov, 2001.
- KENNEDY, A. R. The evidence for soybean products as cancer preventive agents. **The Journal of Nutrition**, v. 125, n. 3 (suppl.), p. 733-743, 1995.
- KHURI, A. I.; CORNELL, J. A. **Response surfaces: designs and analyses**. 2 ed., New York: Marcel Dekker, 1996.
- KNIGHT, D. C.; EDEN, J. A. A review of the clinical effects of phytoestrogens. **Obstet. Gynecol.**, v. 87, p. 897-904, 1996.
- LAM-SÁNCHEZ, A. Productoin and nutritive value of soybeans. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v. 28, n. 2, p. 155-168, 1978.

- LIU, K. **Soybeans: chemistry, technology and utilization**. New York: Chapman & Hall, 1999. 532p.
- MARTEAU, P.; BOUTRON-RUAULT, M. C. Nutritional advantages of probiotics and prebiotics. **British Journal of Nutrition**, v. 87, n. 2 (suppl.), p. 153-157, 2002.
- MEDEIROS, C. A. B.; RASEIRA, M. C. B. **A cultura do pessegueiro**. Brasília: EMBRAPA, 1998. 350p.
- MESSINA, M.; MESSINA, V.; SETCXHELL, K. D. R. **The simple soybean and your health**. New York: Avery Publishing Group, 1994. 260p.
- MITSUOKA, T. **Intestinal bacteria and health**. Japão: Harcourt Brace Jovanovich Japan, 1978. 208p.
- MODLER, H.W. Bifidogenic factors- sources metabolism and applications. **International Dairy Journal**, v.4, p.383 - 407, 1994.
- MORAES, R. M. de **Montagem e avaliação de um equipamento para desodorização de “leite de soja” por arraste de vapor superaquecido**. 2002. 51p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2002.
- MORAIS, A. A. C.; SILVA, A. L. **Soja - suas aplicações**. Rio de Janeiro: Editora Médica e Científica, 1996. 259p.
- MULLER, H. G. **Introduccion a la reologia de los alimentos**. Zaragoza, Acribia, 1973. 174 p.
- MURPHY, P. A. Phytoestrogen content of processed soybean products. **Food Technology**, p. 60-64, jan., 1982.
- MUSTAKAS, G. C.; ALBRECHT, W. J.; McGHEE, J. E.; BLACK, L. T.; BOOKWAKTER, G. N.; GRIFFIN JR., E. L. Lipoxidase deactivation to improve stability, odor and flavor of full-fat soy flours. **Journal of the American Oil Chemists’ Society**, v. 46, n. 11, p. 623-626, nov, 1969.
- MIYA, E. E.; PUPO, L. M.; CHAIB, M. A.; ANGELUCCI, E.; TANGO, J. S.; FIGUEIREDO, I. B.; TOSELLO, Y. Estudo sensorial de sabor do leite de soja. **Boletim do Instituto de Tecnologia de Alimentos**, n. 42, p. 43-54, jun., 1975.
- MIYAZAWA, M. Antimutagenic activity of isoflavones from soybean seeds (*Glycine max*, Merrill). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 47, p. 1346-1349, 1999.
- NAIM, M.; GESTETNER, B.; ZILKAH, S. *et al.* Soybean isoflavones. Characterization, determination and antifungal activity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 22, p. 806-810, 1974.

NAKAMURA, Y.; TSUJI, S.; TONOGAI, Y. Determination of the levels of isoflavonoids in soybeans and soy-derived foods and estimation of isoflavonoids in the Japanese daily intake. **Journal of AOAC International**, v. 83, n. 3, p. 635-650, 2000.

NELSON, A. I.; STEINBERG, M. P.; WEI, L. S. Illinois process for preparation of soymilk. **Journal of Food Science**, v. 41, p. 57-61, 1976.

NITSCHKE, M.; UMBELINO, D. C. Frutooligossacarídeos; novos ingredientes funcionais. **Boletim SBCTA**, v. 36, n. 1, p. 27-34, 2002.

NSOFOR, L. M.; OSUJI, C. M. Stability, rheology and chemical properties of soymilk concentrates developed from sprouted soybeans. **Journal of Food Science and Technology**, v. 34, n. 1, p. 33-40, 1997.

OGUNTUNDE, A. O.; AKINTOYE, O. A. Measurement and comparison of density, specific heat and viscosity of cow's milk and soymilk. **Journal of Food Engineering**, v. 13, n. 3, p. 221-230, 1991.

OTERO, M.; RODRIGUEZ, T.; CAMEJO, J.; HOMBRE, R. de; VALDÉS, C. Reología de las mezclas para helado de soja. **Alimentaria**, p. 87-88, 1998.

PINO, L. M.; REGITANO-D'ARCE, M. A. B.; SPOTO, M. H. F. Obtenção de leite de soja aromatizado artificialmente de grãos aquecidos em forno de microondas. In: Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 18., 2002, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: UFRGS, 2002. 1 CD-ROM.

RACKIS, J. J.; HONIG, D. H.; SESSA, D. J.; STEGGERDA, F. R. Flavor and flatulence factors in soybean protein products. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 18, n. 6, p. 977-982, 1970.

RESSURRECCION, A. V. A. **Consumer sensory testing for product development**. Gaithersbrug, Aspen Publishers, 1998.

ROSARIO, R. R. Del; MALDO, O. M.; MACIAS, A. N. Development of improved vegetable milk formulation. **Inst. Philippine Agriculturist**, v. 68, n. 1, p. 112-117, 1985.

SADOWSKA-KROWICKA, H. Genistein and gut inflammation: role of nitric oxide. **Proc. Soc. Exp. Biol. Med.**, v. 217, n. 3, p. 351-357, 1998.

SIKKA, K. C.; GUPTA, A. K.; SINGH, R.; GUPTA, D. P. Comparative nutritive value, amino acid content, chemical composition and digestibility in vitro of vegetable – and grain – type soybean. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 26, n. 2, p. 312-316, mar./apr., 1978.

SILVA, F. C.; WANG, S. H.; FERNANDES, S. M.; ASCHERI, J. L. R.; CABRAL, L. C. Propiedades reológicas y sensoriales de bebidas reconstituidas a base de extracto hidrosoluble de arroz y soja. **Alimentaria**, p. 67-72, sept., 1998.

SOUZA, G. de; SHIROSE, I.; VALLE, J. L. E. do; FERREIRA, V. L. P.; FIGUEIREDO, I. B. de Aceitabilidade do doce de leite pastoso misto de leite de vaca e extrato protéico líquido de soja. **Boletim do ITAL**, v. 18, n. 3, p. 395-411, jul./set., 1981.

SOYMILK – new processing, packaging expand markets. **JAOCs**, v. 16, n. 12, p. 1784-1798, dec., 1984.

STATISTICA for Windows – Release 5.0 A. Tulsa: Statsoft Inc., 1995.

STONE, H.; SIDEL, J. **Sensory evaluation practices**. New York: Academic Press, 1993. 338p.

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

TASHIMA, E. H.; CARDELLO, H. M. A. B. Extrato hidrossolúvel de soja (*Glycine max* L., Merrill) comercial adoçado com sacarose e com sucralose. In: Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 18., 2002, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: UFRGS, 2002. 1 CD-ROM.

TOMOMATSU, H. Health effects of oligosaccharides. **Food Technology**, p. 61-65, oct, 1994.

TURATTI, J. M.; SALLES, A. M.; SANTOS, L. C. dos; MORI, E. E. M.; FIGUEIREDO, I. B. Estudos preliminares com cultivares de soja para produção de leite. **Boletim do ITAL**, v. 16, n. 3, p. 289-305, jul./set., 1979.

URBANSKI, G. E.; WEI, L. S.; NELSON, A. I.; STEINBERG, M. P. Rheology and water imbibing of major fractions of soybean beverage. **Journal of Food Science**, v. 47, p. 1021-1022, 1982.

VIEIRA, L. C.; LOURENÇO JUNIOR, J. de B.; HÜHN, S; BRAGA, C. M. M.; SOARES, D. **Extrato hidrossolúvel de soja (leite de soja) com sabores de frutas da Amazônia**. Belém: EMBRAPA, 1994. 20p.

VILLARROEL, M.; UQUICHE, E.; URBULÚ, J. F. Caracterización sensorial de patê a base de descartes de pulpa de salmón utilizando la metodologia superficie de respuesta. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v. 49, n. 3, p. 265-270, 1999.

WANG, B.; XIONG, Y. L.; WANG, C. Physicochemical and sensory characteristics of flavored soymilk during refrigeration storage. **Journal of Food Quality**, v. 24, p. 513-526, 2001.

WANG, H. J.; MURPHY, P. A. Isoflavone content in commercial soybean foods. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 42, p. 1666-1673, 1994.

- WANG, H. J.; MURPHY, P. A. Mass balance study of isoflavones during soybean processing. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 44, p. 2377-2383, 1996.
- WANG, S. **Tratamento do grão de soja com radiação de microondas e seus efeitos no sabor, extração e algumas propriedades nutricionais do leite de soja**. 1986. 138p. Tese (Doutorado) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1986.
- WANG, S. H.; CABRAL, L. C.; FERNANDES, S. M. Bebida à base de extrato hidrossolúvel de arroz e soja. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 17, n. 2, p. 73-77, mai-ago, 1997.
- WEINGARTNER, K. E.; NELSON, A. I.; ERDMAN JR., J. W. Effects of calcium addition on stability and sensory properties of soy beverage. **Journal of Food Science**, v. 48, p. 256-258, 1983.
- WILCOX, J. N.; BLUMENTHAL, B. F. Thrombotic mechanisms in atherosclerosis: potential impact of soy proteins. **The Journal of Nutrition**, v. 125, n. 3 (suppl.), 631-638, 1995.
- WILKENS, W. F.; MATTICK, L. R.; HAND, D. B. Effect of processing method on oxidative off-flavor of soybean milk. **Food Technology**, v. 21, n. 12, p. 1630-1633, 1967.
- WU, E. S.; LOCH, J. T.; TODER, B. H. Flavones. Synthesis, biological activities, and conformational analysis of isoflavone derivatives and related compounds. **J. Med. Chem.**, v. 18, p. 3519-3525, 1992.
- YANES, M.; DURÁN, L.; COSTELL, E. Effect of hydrocolloid type and concentration on flow behaviour and sensory properties of milk beverages model systems. **Food Hydrocolloids**, v. 16, p. 605-611, 2002.

APÊNDICE

Tabela 1. Análise de variância do modelo ajustado para o atributo cor das bebidas elaboradas com extrato de soja e polpa de pêssegos

Fonte de variação	Soma Quadrática	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F calculado	F tabelado (5%)
Regressão	3,3678	6	0,5613	11,4551	3,09
Resíduo	0,5387	11	0,0490		
Falta de Ajuste	0,5325	8	0,0666	33,3000	8,85
Erro Puro	0,0061	3	0,0020		
Total	3,9065	17			

Valores em negrito apresentam-se significativos ao nível de 95% de confiança ($p \leq 0,05$).

Tabela 2. Análise de variância do modelo ajustado para o atributo aroma das bebidas elaboradas com extrato de soja e polpa de pêssegos

Fonte de variação	Soma Quadrática	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F calculado	F tabelado (5%)
Regressão	0,5743	7	0,0820	4,7953	3,14
Resíduo	0,1712	10	0,0171		
Falta de Ajuste	0,1703	7	0,0243	81,0000	8,89
Erro Puro	0,000875	3	0,0003		
Total	0,7454	17			

Valores em negrito apresentam-se significativos ao nível de 95% de confiança ($p \leq 0,05$).

Tabela 3. Análise de variância do modelo ajustado para o atributo sabor das bebidas elaboradas com extrato de soja e polpa de pêssegos

Fonte de variação	Soma Quadrática	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F calculado	F tabelado (5%)
Regressão	3,4150	5	0,6830	6,9622	3,11
Resíduo	1,1774	12	0,0981		
Falta de Ajuste	1,1313	9	0,1257	8,1623	8,81
Erro Puro	0,0461	3	0,0154		
Total	4,5924	17			

Valores em negrito apresentam-se significativos ao nível de 95% de confiança ($p \leq 0,05$).

Tabela 4. Análise de variância do modelo ajustado para o atributo textura das bebidas elaboradas com extrato de soja e polpa de pêssegos

Fonte de variação	Soma Quadrática	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F calculado	F tabelado (5%)
Regressão	3,1132	8	0,3891	3,4282	3,23
Resíduo	1,0211	9	0,1135		
Falta de Ajuste	1,0138	6	0,1690	70,4167	8,94
Erro Puro	0,0073	3	0,0024		
Total	4,1343	17			

Valores em negrito apresentam-se significativos ao nível de 95% de confiança ($p \leq 0,05$).

Tabela 5. Análise de variância do modelo ajustado para o atributo impressão global das bebidas elaboradas com extrato de soja e polpa de pêssegos

Fonte de variação	Soma Quadrática	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F calculado	F tabelado (5%)
Regressão	2,6764	6	0,4461	12,6733	3,09
Resíduo	0,3877	11	0,0352		
Falta de Ajuste	0,3811	8	0,0476	21,6364	8,85
Erro Puro	0,0066	3	0,0022		
Total	3,0642	17			

Valores em negrito apresentam-se significativos ao nível de 95% de confiança ($p \leq 0,05$).

Tabela 6. Desvios dos dados reais em relação aos calculados pelos modelos de regressão para os atributos sensoriais de bebida elaborada com extrato de soja e polpa de pêssegos

Formulação	Cor	Aroma	Sabor	Textura	Impressão Global
1	-0,15	-1,78	-2,04	-0,67	0,28
2	-0,15	2,11	-7,47	-1,98	-5,87
3	1,22	1,08	-9,32	0,73	-3,31
4	-1,98	-1,50	-0,12	7,51	1,21
5	-1,53	-0,03	-10,23	-4,86	-2,90
6	-5,27	-2,65	4,52	3,13	1,60
7	-0,84	-3,44	0,14	4,69	3,25
8	0,27	0,29	0,46	4,03	-2,45
9	-0,76	1,43	7,98	1,21	1,07
10	5,75	0,09	-0,60	-7,23	1,60
11	4,97	1,14	1,60	4,43	4,33
12	-0,83	1,72	-0,80	-10,05	-2,11
13	1,85	-4,44	7,79	-2,03	3,46
14	2,28	2,51	-0,46	-2,75	-0,92
15	0,31	-0,70	-1,67	-0,78	-0,87
16	-0,11	-0,38	1,41	0,15	-0,41
17	-1,10	-0,22	2,96	1,07	0,81
18	0,17	-0,06	1,88	0,31	0,06

CAPÍTULO 4

Avaliação de bebida à base de extrato de soja e polpa de pêssegos como alimento funcional

1. Introdução

O Brasil apresenta um grande potencial na área de alimentos funcionais considerando a disponibilidade e a diversidade de fontes naturais ainda inexploradas. A soja, cuja produção no país aumenta anualmente, é considerada uma das fontes de alimentos funcionais de maior relevância por apresentar componentes que, comprovadamente, contribuem para a melhoria da saúde humana, além dos fatores nutricionais inerentes.

Estudos epidemiológicos e clínicos têm mostrado que populações cuja dieta diária inclui soja e produtos derivados apresentam baixa incidência de alguns tipos de câncer e de doenças cardiovasculares quando comparadas a populações que consomem pequenas quantidades de proteína de soja (Messina *et al.*, 1994).

As propriedades antiolesterolêmica e antiaterogênica da soja têm sido relatadas por diversos autores (Maranhão, 2001; Njoku *et al.*, 1999; Goldberg *et al.*, 1982). Contudo, os mecanismos pelos quais a soja controla as concentrações lipídicas no sangue ainda não estão bem elucidados, bem como os componentes responsáveis por esta ação. Os principais mecanismos da soja propostos como envolvidos nos efeitos cardioprotetores incluem aumento da excreção de colesterol e ácidos biliares pelas fezes; alteração do metabolismo hepático, com aumento da atividade dos receptores hepáticos da lipoproteína de baixa densidade (LDL); e aumento na atividade da HMG-CoA redutase (hidroximetil glutaril coenzima A), induzindo a re-síntese do colesterol, associado com o incremento na taxa de excreção fecal de ácidos biliares e esteróides neutros (Waggle e Potter, 2000; Kurzer e Xu, 1997; Forsythe, 1995; Potter, 1995).

Os efeitos benéficos da soja têm sido atribuídos principalmente às isoflavonas. Evidências obtidas em estudos experimentais e *in vitro* indicam que as isoflavonas apresentam efeitos relevantes, diretos e indiretos, hormonais e não hormonais, para a prevenção das doenças cardiovasculares, influenciando na regulação dos receptores de LDL e/ou na inibição da síntese do colesterol endógeno e na formação de ateromas. As

isoflavonas genisteína e daidzeína apresentam atividade antioxidante, estrogênica e inibidora da agregação plaquetária. A genisteína inibe a adesividade celular, altera a atividade de fatores de crescimento e inibe a migração e proliferação de células musculares lisas que participam na formação da lesão aterosclerótica. Estes efeitos são mediados pela inibição de tirosina quinases, envolvidas em diversas vias de transdução celular. As isoflavonas também inibem a oxidação da LDL, principal componente lipídico encontrado nos ateromas (Jenkins *et al.*, 2000; Yamakoshi *et al.*, 2000; Schoene e Guidry, 1999; Kirk *et al.*, 1998; Nogowski *et al.*, 1998; Setchell, 1998; Tham *et al.*, 1998).

Alguns autores questionam a ação isolada das isoflavonas baseados nas quantidades mínimas destes compostos identificadas em alguns produtos de soja com efeito hipocolesterolêmico comprovado e postulam a existência de efeitos adicionais e/ou sinérgicos entre os diferentes compostos bioativos da soja, potencializando sua ação em modular respostas metabólicas. Outros componentes da soja como lipídeos, oligossacarídeos, minerais, fibras e principalmente proteínas, têm sido relacionados direta ou indiretamente à sua ação como alimento funcional (Clarkson, 2002; Tonstad *et al.*, 2002; Takatsuka *et al.*, 2000; Sirtori *et al.*, 1999; Potter, 1995; Raaij *et al.* 1981).

As constatações dos efeitos benéficos da soja culminaram com a recomendação da *Food and Drug Administration* (FDA, 1999) do uso de 25g por dia de proteína de soja, associado a uma dieta deficiente em gorduras saturadas e colesterol, para a obtenção do efeito de prevenção de doenças cardiovasculares. No entanto, este parâmetro não pode ser considerado definitivo em vista dos inúmeros resultados positivos obtidos com percentuais menores de proteína de soja no tratamento da hipercolesterolemia, principal fator envolvido nesta enfermidade.

O objetivo deste trabalho foi estudar a bebida formulada com extrato de soja e polpa de pêssegos quanto aos aspectos relacionados ao controle da hipercolesterolemia e ao desenvolvimento de lesões ateroscleróticas, associado aos efeitos sobre o crescimento de bactérias bifidogênicas do cólon, utilizando-se coelhos como modelo experimental.

2. Material e métodos

2.1. Bebida teste

Foi utilizada a bebida obtida no experimento anterior (Capítulo 3), formulada com extrato obtido de grãos de soja e polpa de pêssegos (2% de proteína de soja), 10% de açúcar (sacarose comercial) e 0,14% de estabilizante (pectina cítrica).

No decorrer do texto será utilizado o termo “bebida” para fazer referência à bebida testada.

Na Tabela 1 é apresentada a composição físico-química, o perfil de aminoácidos e de isoflavonas da bebida utilizada neste estudo.

Tabela 1. Composição físico-química, perfil de aminoácidos e de isoflavonas de bebida formulada com extrato obtido de grãos de soja e polpa de pêssegos

Determinação	Bebida de grãos de soja e polpa de pêssegos
Sólidos totais (%)	19,35 ± 0,01
Proteínas (%)	2,23 ± 0,01
Lipídeos (%)	0,61 ± 0,00
Cinzas (%)	1,31 ± 0,00
Fibra total (%)	1,15 ± 0,00
Fibra solúvel (%)	0,62 ± 0,01
Fibra insolúvel (%)	0,53 ± 0,01
Sacarose (%)	13,18 ± 0,00
Rafinose (%)	0,016 ± 0,00
Estaquiose (%)	0,047 ± 0,00
Outros carboidratos (%)*	0,8
Sólidos solúveis (°Brix)	15,60 ± 0,00
pH	4,04 ± 0,00
Acidez (% em ácido cítrico)	0,40 ± 0,00
Ácido ascórbico (mg/100mL)	11,06 ± 0,54
Aminoácidos (g/16g de nitrogênio)	
Essenciais	
Fenilalanina e tirosina	4,55 e 1,82
Isoleucina	3,64

Continuação da Tabela 1...

Determinação	Bebida de grãos de soja e polpa de pêssegos
Leucina	6,17
Lisina	5,16
Metionina e cistina	0,20 e 0,81
Treonina	2,93
Triptofano	nd
Valina	3,84
Não essenciais	
Ácido Aspártico	13,66
Ácido Glutâmico	17,70
Alanina	4,05
Arginina	5,16
Glicina	3,44
Histidina	1,92
Prolina	5,46
Serina	4,65
Amônia	1,92
Isoflavonas (mg/100g de amostra seca)	
Daidzina	8,96 ± 0,13
Genistina	15,80 ± 0,01
Malonil-daizina	1,90 ± 0,05
Malonil-genistina	13,90 ± 0,01
Daidzeína	1,30 ± 0,01
Genisteína	2,50 ± 0,01
Teor total de isoflavonas	44,36

* Calculado por diferença (Outros carboidratos = 100 – umidade – proteínas – lipídeos – cinzas – fibra total – sacarose – rafinose – estaquiose, onde umidade = 100 – sólidos totais);

nd : não detectado;

Os valores correspondem à média de 2 (açúcares, fibras, aminoácidos e isoflavonas) e 6 repetições (demais determinações) ± estimativa de desvio padrão.

2.2. Ensaio biológico

O estudo foi conduzido na Divisão de Farmacologia e Toxicologia do Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas da Universidade Estadual de Campinas (SP), utilizando-se 24 coelhos jovens (*Oryctolagus cuniculus*), machos, da raça Nova Zelândia, com pesos variando entre 2,0 e 2,5Kg, mantidos em gaiolas metálicas individuais durante todo o experimento.

O ensaio biológico foi executado num período de 225 dias, dividido em duas fases. A primeira fase (Fase 1) correspondeu a 105 dias de estudo, utilizando animais submetidos às seguintes dietas: com e sem indução de hipercolesterolemia e com e sem administração da bebida à base de extrato de soja e polpa de pêssegos. Na segunda fase (Fase 2) de 120 dias, procedeu-se à troca das dietas entre os animais remanescentes dos grupos induzidos à hipercolesterolemia (Fase 1).

Foram formados 4 ensaios para a Fase 1 com animais adaptados às condições ambientais de estudo por uma semana, os quais foram divididos aleatoriamente em 4 grupos de 6 coelhos cada, descritos abaixo:

- **Grupo A:** animais alimentados com 100g diárias de ração comercial (grupo controle);
- **Grupo B:** animais alimentados com 100g diárias de ração comercial enriquecida com 0,2% de colesterol;
- **Grupo C:** animais alimentados com 100g diárias de ração comercial e 50mL da bebida;
- **Grupo D:** animais alimentados com 100g diárias de ração comercial enriquecida com 0,2% de colesterol e 50mL da bebida.

Em todos os casos, o acesso à água era livre e a ração fornecida era própria para a espécie (DuCoelho, Rações Anhanguera, SP), com composição química aproximada, segundo o fabricante, de 12% de umidade, 17% de proteína, 2% de extrato etéreo, 12% de fibras e 12% de minerais, enriquecida com vitaminas.

A dieta hipercolesterolêmica foi preparada dissolvendo-se colesterol em pó (Dolder, Suíça) em etanol, à temperatura de 60°C, com a incorporação imediata à ração e evaporação do etanol.

A bebida foi administrada aos coelhos diariamente pela manhã, em torno das 8 horas, em potes de cerâmica, previamente ao fornecimento da ração, condicionando-se os animais ao consumo de 50mL da bebida para terem acesso à ração.

A Fase 2 correspondeu a 120 dias de estudo, seqüenciais à Fase 1 (sem interrupção). Nos primeiros 15 dias da Fase 2 ocorreu a adaptação dos animais para a dieta alterada, tendo-se compensado este período ao final do ensaio. Foram utilizados os animais remanescentes dos grupos B e D da Fase 1 (3 animais em cada grupo) procedendo-se à inversão das dietas entre eles; já as dietas dos animais restantes dos Grupos A e C foram mantidas, constituindo os grupos abaixo:

- **Grupo A:** animais alimentados com 100g diárias de ração comercial (grupo controle);
- **Grupo B:** animais alimentados com 100g diárias de ração comercial enriquecida com 0,2% de colesterol e 50mL da bebida, após dieta de 105 dias à base de ração comercial enriquecida com 0,2% de colesterol;
- **Grupo C:** animais alimentados com 100g diárias de ração comercial e 50mL da bebida;
- **Grupo D:** animais alimentados com 100g diárias de ração comercial enriquecida com 0,2% de colesterol, após dieta de 105 dias à base de ração comercial enriquecida com 0,2% de colesterol e 50mL da bebida.

2.3. Determinações bioquímicas

Foram realizadas as determinações de colesterol total, HDL-colesterol, triacilglicerídeos e glicose, segundo método enzimático-colorimétrico (Laborlab[®]), específico para cada item, no sangue dos animais estudados.

A coleta de sangue nos coelhos foi feita no início do estudo (controle basal) e quinzenalmente, durante os 105 dias (Fase 1) e 120 dias seqüenciais (Fase 2). O sangue foi coletado da veia marginal da orelha do animal, após jejum de 16 horas. O

local da punção era lavado, depilado, desinfetado com álcool, anestesiado com lidocaína em pomada, aplicando-se substância vasodilatadora (xilol) para facilitar o fluxo sanguíneo.

O sangue coletado de cada animal foi centrifugado a 302g por 15 minutos, à temperatura de 4°C, para a obtenção do soro a ser analisado.

A variação do peso corporal dos animais foi monitorada semanalmente.

2.4. Coleta da artéria aorta

Ao final da Fase 1 (105 dias), dois animais de cada grupo foram sacrificados para a retirada da artéria aorta e posterior determinação de colesterol (quantitativa) e de placas lipídicas (qualitativa). Para tal, os coelhos foram anestesiados intramuscularmente com uma mistura de 1,0mL/kg peso vivo de quetamina (Virbac, São Paulo) e 0,6mL/kg peso vivo de xilasina (Coopers, São Paulo). Após um tempo médio de espera de 5 minutos, procedeu-se ao corte da jugular do animal, seguido de esgotamento do sangue e abertura do tórax para retirada da aorta. Esta era retirada cuidadosamente, seccionada na porção torácica em 2 segmentos de aproximadamente 2cm de comprimento cada, e submetida à retirada do excesso de tecido adventício. O segmento superior da artéria foi utilizado na determinação planimétrica de placas lipídicas e, o segmento imediatamente inferior, na determinação cromatográfica de colesterol total.

2.5. Determinação planimétrica de placas lipídicas na artéria aorta

A determinação planimétrica de placas lipídicas foi feita segmentando-se a aorta longitudinalmente, expondo-se a parte interna dos vasos e fixando-os em solução de formol-cálcio (Formol 15%, CaCl 3%). Após 24h de fixação, foram lavados com solução tampão (PBS 0,05M, pH 7,4) e submetidos à coloração para lipídeos totais, utilizando-se corante *oil-red O*, na seguinte ordem de procedimentos: 1) lavagem em álcool

isopropílico 60%; 2) coloração em solução supersaturada de corante *oil-red O* em álcool isopropílico 60%; 3) lavagem em álcool isopropílico a 60%, por 3 vezes (5 minutos cada), para retirar o excesso de corante; 4) lavagem em solução tampão (PBS 0,05M, pH 7,4).

Os segmentos das aortas de coelhos submetidos à coloração de *oil-red O* foram montados em lâminas de vidro, em meio com glicerol tamponado, e fotografados em diapositivos, utilizando-se microscópio estereoscópico (SZ-PT/Olympus) com máquina fotográfica (PMC35DX/Olympus) acoplada. As imagens foram digitalizadas com câmera digital (Coolpix 950/Nikon) e transferidas para o computador, onde as áreas com placas lipídicas foram medidas e relacionadas percentualmente às áreas totais dos segmentos das aortas, através do programa Image-Pro Plus 4.1.0.0 (Media Cybernetics).

2.6. Determinação cromatográfica de colesterol total na aorta

A determinação do teor de colesterol total nos segmentos das aortas dos coelhos seguiu a metodologia descrita por Nogueira e Bragagnolo (2002). O colesterol foi extraído de 0,1 a 0,3g de artéria, pela adição de 4 mL de solução aquosa de KOH 50% e 6mL de álcool etílico, em banho-maria sob agitação à 40°C, até completa solubilização das amostras, mantendo-se, na seqüência, por mais 10 minutos a 60°C. Ao material resfriado foram acrescentados 5mL de água destilada e 10mL de hexano, seguido de agitação em vortex e separação das fases, repetindo-se esta operação por duas vezes. 10mL do extrato de hexano, adicionado de 0,504mg de solução de 6-cetocolesterol (utilizado como padrão interno), foram secos com N₂, dissolvidos em 1mL de fase móvel e analisados por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). As condições cromatográficas foram: coluna C₁₈ (100mm x 4,6mm x 4µm), acetonitrila:isopropanol (85:15) como fase móvel, vazão 2,0mL/min e detector UV-Visível a 210nm. A identificação do colesterol foi realizada através de comparação do tempo de retenção das amostras com o padrão interno.

2.7. Avaliação microbiológica nas fezes

A avaliação microbiológica compreendeu a enumeração de bifidobactérias nas fezes dos animais, conforme metodologia descrita por Gibson *et al.* (1994), utilizando-se o meio seletivo *Reinforced Clostridial Ágar* (Oxoid) acrescido das seguintes substâncias inibidoras de microrganismos competidores: iodoacetato (0,01205mg/L), ácido nalidíxico (0,02 mg/L), kanamicina (0,05 mg/L) e polimixina B sulfato (0,009 mg/L). O material de análise foi incubado em jarras herméticas com gerador para anaerobiose, por 72 horas a 37°C. Ao final deste período era feita a contagem das colônias diretamente nas placas com auxílio de contador de colônias.

As fezes dos animais para a avaliação microbiológica eram coletadas ao início (controle basal) e em intervalos de quinze dias durante 225 dias (Fases 1 e 2), através de telas de *nylon* colocadas sob as gaiolas. As fezes eram acondicionadas em recipientes estéreis e levadas imediatamente para análise microbiológica, mantendo-as sob refrigeração durante o transporte e o tempo de espera para inoculação (máximo 6 horas).

Para a confirmação da ocorrência das bifidobactérias nas fezes dos coelhos procedeu-se ao isolamento destes microrganismos utilizando as placas já inoculadas. Colônias foram transferidas das placas para o caldo *Lactobacilli* MRS (Difco) em tubos de ensaio e incubadas anaerobicamente a 37°C por 72h. Destes tubos, as colônias foram repicadas para o meio seletivo *Reinforced Clostridial Medium* (Oxoid) acrescido das substâncias inibidoras para microrganismos competidores (descritas anteriormente) e novamente incubadas nas mesmas condições.

As colônias isoladas foram colocadas em lâminas de vidro, sob coloração de Gram e fotografadas em microscópio (BX40/Olympus) com sistema de foto-micrografia (PMC35B/Olympus).

2.8. Análise estatística

A análise estatística dos resultados do ensaio biológico compreendeu o estudo do efeito de cada tratamento ao longo do tempo, pela aplicação do teste de Wilcoxon Signed Rank e as diferenças entre tratamentos verificadas pelo teste de Kruskal-Wallis (Conover, 1999); neste caso, quando constatadas diferenças significativas entre os grupos, procedeu-se à análise de comparação múltipla. Os dados foram analisados pelo programa SAS (SAS Institute, 1993) ao nível de significância estatística de 95%.

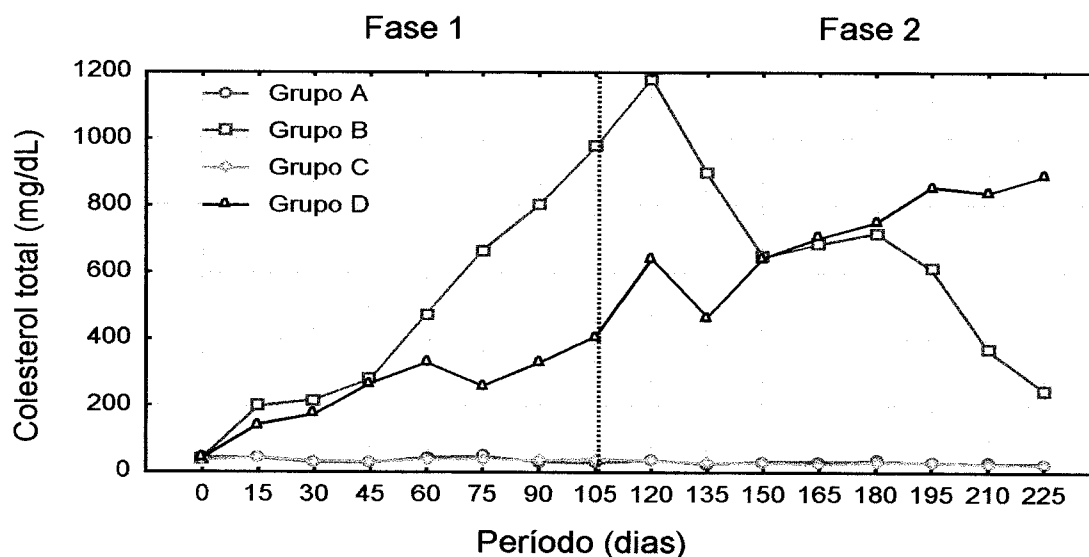
Como existia uma forte dependência das avaliações realizadas ao longo do tempo, não foram utilizados os valores das avaliações obtidos em cada quinzena para realização da comparação. Para cada unidade experimental (coelho) foi obtida a regressão linear do valor da variável de interesse, em função dos 8 momentos (datas) de análise da Fase 1. Com os valores dos coeficientes angulares calculados individualmente, obteve-se, então, o coeficiente angular médio para cada grupo, com os quais realizou-se os testes estatísticos.

O tamanho amostral (número de animais) em cada grupo ($n = 6$), permitiu a realização de análise estatística comparativa apenas dos resultados dos ensaios da Fase 1.

3. Resultados e discussão

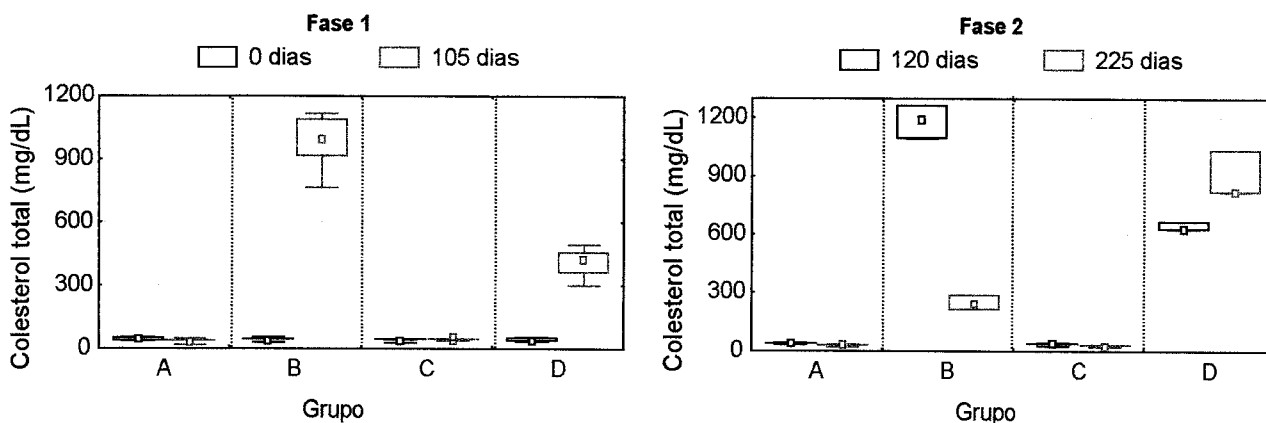
Nas Figuras 1 e 2 e Tabela 1 (Apêndice), Figuras 3 e 4 e Tabela 2 (Apêndice), Figuras 5 e 6 e Tabela 3 (Apêndice), Figuras 7 e 8 e Tabela 4 (Apêndice), Figuras 9 e 10 e Tabela 5 (Apêndice), Figuras 11 e 12 e Tabela 6 (Apêndice) são mostrados, respectivamente, o comportamento (Figuras) e os níveis (Tabelas do Apêndice) de colesterol total, HDL-colesterol, triacilglicerídeos e glicose sanguíneos, a evolução do peso corporal e a contagem de bifidobactérias nas fezes dos coelhos submetidos às diferentes dietas, durante 105 dias (Fase 1) e 120 dias (Fase 2), totalizando 225 dias de estudo. Os gráficos de linha representam as médias dos valores das variáveis estudadas para cada grupo, em cada quinzena, ao longo do ensaio. Os gráficos em *boxplot* representam a média, o desvio padrão e o percentil (75%) de cada grupo, ao início e ao final de cada fase (0 e 105 dias da Fase 1) (120 e 225 dias da Fase 2) .

Os resultados da Fase 2 referem-se à segunda etapa do experimento, onde foram trocadas as dietas dos coelhos remanescentes dos Grupos B e D da etapa anterior (Fase 1). Desta forma, buscou-se comprovar a eficácia da bebida formulada com extrato de soja e polpa de pêssegos no controle da hipercolesterolemia, submetendo-se animais tratados durante 105 dias com dieta à base de ração comercial e colesterol (0,2%), à mesma dieta suplementada com a bebida, em igual período. Da mesma forma, retirou-se a bebida da dieta daqueles animais que a consumiram durante 105 dias juntamente com ração e colesterol (0,2%).



Fase 1 e 2 / Grupo A (animais alimentados com 100g diárias de ração comercial); Fase 1 / Grupo B (animais alimentados com 100g diárias de ração comercial enriquecida com 0,2% de colesterol); Fase 2 / Grupo B (animais alimentados com 100g diárias de ração comercial enriquecida com 0,2% de colesterol e 50mL da bebida à base de extrato de soja e polpa de pêssegos); Fase 1 e 2 / Grupo C (animais alimentados com 100g diárias de ração comercial e 50mL da bebida à base de extrato de soja e polpa de pêssegos); Fase 1 / Grupo D (animais alimentados com 100g diárias de ração comercial enriquecida com 0,2% de colesterol e 50mL da bebida à base de extrato de soja e polpa de pêssegos); Fase 2 / Grupo D (animais alimentados com 100g diárias de ração comercial enriquecida com 0,2% de colesterol).

Figura 1. Comportamento dos níveis médios de colesterol total sanguíneo de coelhos, em função da dieta, durante 105 dias (Fases 1) e 120 dias (Fase 2).



Fase 1 e 2 / Grupo A (animais alimentados com 100g diárias de ração comercial); Fase 1 / Grupo B (animais alimentados com 100g diárias de ração comercial enriquecida com 0,2% de colesterol); Fase 2 / Grupo B (animais alimentados com 100g diárias de ração comercial enriquecida com 0,2% de colesterol e 50mL da bebida à base de extrato de soja e polpa de pêssegos); Fase 1 e 2 / Grupo C (animais alimentados com 100g diárias de ração comercial e 50mL da bebida à base de extrato de soja e polpa de pêssegos); Fase 1 / Grupo D (animais alimentados com 100g diárias de ração comercial enriquecida com 0,2% de colesterol e 50mL da bebida à base de extrato de soja e polpa de pêssegos); Fase 2 / Grupo D (animais alimentados com 100g diárias de ração comercial enriquecida com 0,2% de colesterol).

Figura 2. Boxplots para os valores médios de colesterol total sanguíneo dos coelhos, em função da dieta, a 0 e 105 dias (Fase 1) e aos 120 e 225 dias (Fase 2).

As Figuras 1 e 2 e Tabela 1 (Apêndice) mostram que os valores de colesterol total aumentaram ao longo do tempo nos animais dos grupos induzidos à hipercolesterolemia (B e D), enquanto que os grupos que não ingeriram colesterol (A e C), não mostraram variações marcantes.

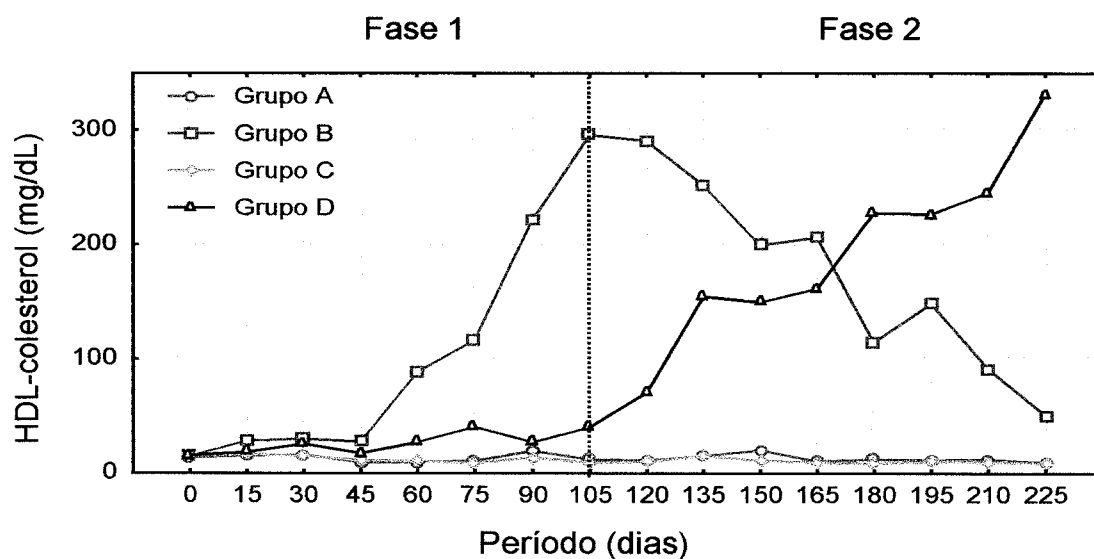
O teste de Wilcoxon Signed Rank mostrou que a variação ao longo dos 105 dias de avaliação (Fase 1) foi significativa ($p \leq 0,05$) para os tratamentos B e D com relação aos níveis médios de colesterol sérico dos coelhos. Os valores são positivos, indicando que os níveis de colesterol total sanguíneo dos animais submetidos às dietas hipercolesterolêmicas sem (Grupo B) e com a ingestão de bebida (Grupo D) aumentaram ao longo do tempo.

Na Fase 1, a partir de 60 dias, os valores médios para o Grupo B foram maiores do que os do Grupo D, evidenciando um menor incremento nos níveis séricos de colesterol total nos animais submetidos à dieta hipercolesterolêmica associada à bebida formulada com extrato de soja e polpa de pêssegos. O colesterol basal, em torno de 40mg/dL, passou para 977mg/dL (Grupo B) e para 408mg/dL (Grupo D), mostrando que a administração da bebida controlou em 58% os níveis de colesterol total induzidos pela dieta hipercolesterolêmica.

A avaliação estatística pelo teste de Kruskal-Wallis seguido da comparação múltipla entre os grupos durante os 105 dias (Fase 1), evidenciou que os animais alimentados com ração e colesterol (Grupo B) apresentaram níveis médios de colesterol total significativamente maiores ($p \leq 0,05$) do que todos os demais tratamentos. A ingestão de bebida juntamente com colesterol (Grupo D) resultou em níveis de colesterol total significativamente ($p \leq 0,05$) maior do que os dos Grupos A e C e menores do que os do Grupo D. Os Grupos A e C não diferiram estatisticamente entre si em relação ao nível médio de colesterol, indicando que a bebida não altera este parâmetro na ausência de hipercolesterolemia.

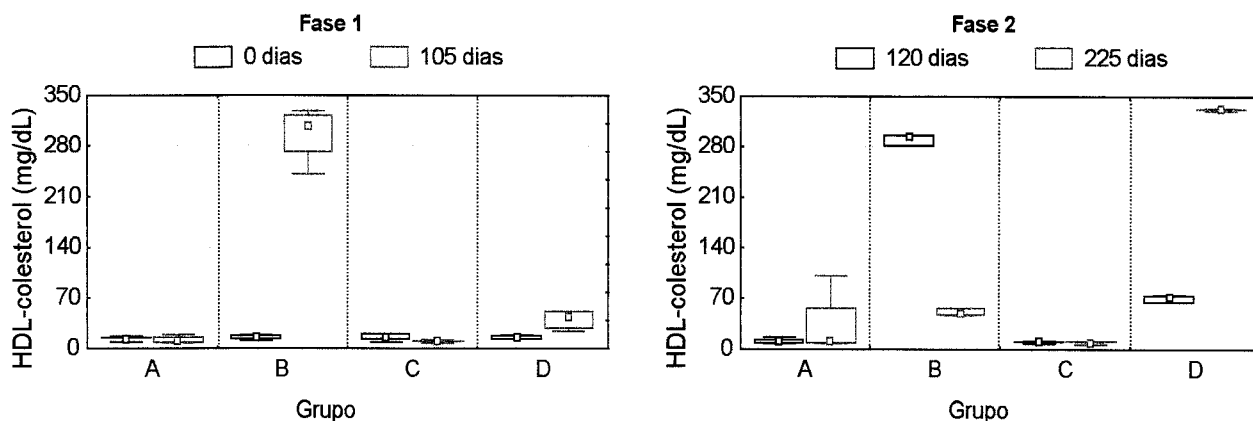
Na Fase 2, aos 45 dias da troca das dietas entre os animais dos Grupos B e D, os valores médios de colesterol para os tratamentos correspondentes se cruzaram, em função da inversão do comportamento ascendente do Grupo B e manutenção da tendência do Grupo D, indicando que a bebida foi efetiva no controle dos níveis séricos de colesterol total, mesmo quando os animais apresentavam níveis iniciais bastante elevados do mesmo. A redução média foi de 79,3% após 125 de uma dieta à base de ração e colesterol suplementada, com a bebida.

Os comportamentos apresentados, indicam que a ingestão da bebida evitou que o colesterol total sanguíneo aumentasse na mesma proporção daquele dos animais que não a ingeriram, além de evidenciar uma redução relativa nos níveis de colesterol, quando administrada a coelhos com hipercolesterolemia inicial severa. Alguns autores atribuem o efeito de redução do colesterol principalmente às isoflavonas da soja (Yamakoshi *et al.*, 2000; Greaves *et al.*, 1999; Anthony *et al.*, 1998). Outros a um conjunto de fatores inerentes ao grão que atuam sinergisticamente às proteínas no controle do mesmo (Sirtori *et al.*, 1999; Potter *et al.*, 1998; Steele, 1992).



Fase 1 e 2 / Grupo A (animais alimentados com 100g diárias de ração comercial); Fase 1 / Grupo B (animais alimentados com 100g diárias de ração comercial enriquecida com 0,2% de colesterol); Fase 2 / Grupo B (animais alimentados com 100g diárias de ração comercial enriquecida com 0,2% de colesterol e 50mL da bebida à base de extrato de soja e polpa de pêssegos); Fase 1 e 2 / Grupo C (animais alimentados com 100g diárias de ração comercial e 50mL da bebida à base de extrato de soja e polpa de pêssegos); Fase 1 / Grupo D (animais alimentados com 100g diárias de ração comercial enriquecida com 0,2% de colesterol e 50mL da bebida à base de extrato de soja e polpa de pêssegos); Fase 2 / Grupo D (animais alimentados com 100g diárias de ração comercial enriquecida com 0,2% de colesterol).

Figura 3. Comportamento dos níveis médios de HDL-colesterol sanguíneo de coelhos, em função da dieta, durante 105 dias (Fase 1) e 120 dias (Fase 2).



Fase 1 e 2 / Grupo A (animais alimentados com 100g diárias de ração comercial); Fase 1 / Grupo B (animais alimentados com 100g diárias de ração comercial enriquecida com 0,2% de colesterol); Fase 2 / Grupo B (animais alimentados com 100g diárias de ração comercial enriquecida com 0,2% de colesterol e 50mL da bebida à base de extrato de soja e polpa de pêssegos); Fase 1 e 2 / Grupo C (animais alimentados com 100g diárias de ração comercial e 50mL da bebida à base de extrato de soja e polpa de pêssegos); Fase 1 / Grupo D (animais alimentados com 100g diárias de ração comercial enriquecida com 0,2% de colesterol e 50mL da bebida à base de extrato de soja e polpa de pêssegos); Fase 2 / Grupo D (animais alimentados com 100g diárias de ração comercial enriquecida com 0,2% de colesterol).

Figura 4. Boxplots para os valores médios de HDL-colesterol sanguíneo dos coelhos, em função da dieta, a 0 e 105 dias (Fase 1) e aos 120 e 225 dias (Fase 2).

O comportamento da fração HDL para os Grupos B e D (hipercolesterolêmicos) mostrado nas Figuras 3 e 4 e Tabela 2 (Apêndice) é similar àquele observado para o colesterol total (Figuras 1 e 2 e Tabela 1 - A).

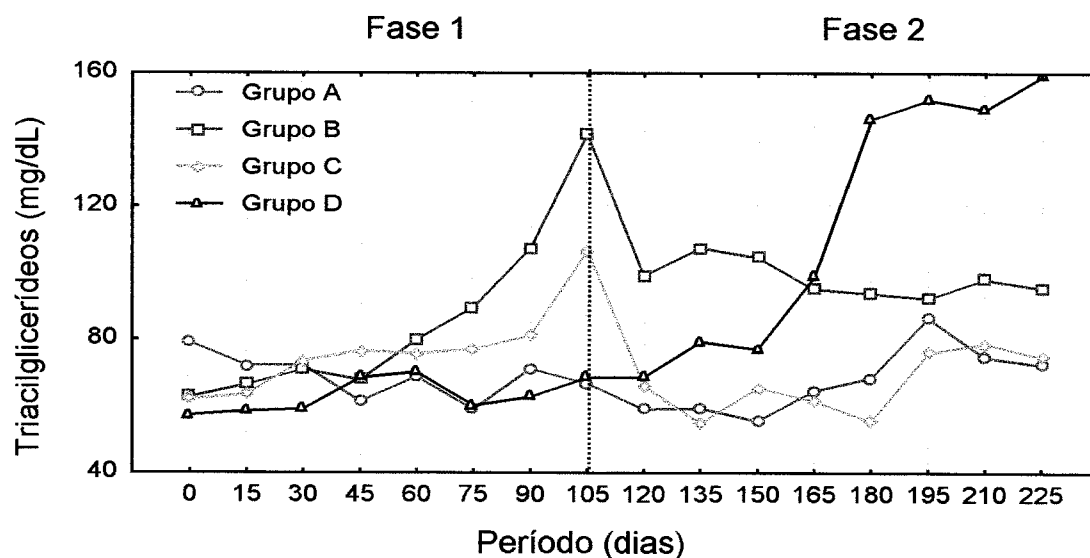
A variação dos níveis de HDL-colesterol, durante os 105 dias (Fase 1), foi estatisticamente significativa ($p \leq 0,05$, Teste Wilcoxon Signed Rank) para os tratamentos B, C e D. Os valores medianos dos coeficientes destes tratamentos (obtidos pelo teste), mostraram-se positivos para os Grupos B e D e negativo para o Grupo C, indicando que os níveis de HDL-colesterol aumentaram no tempo avaliado (105 dias) para os animais submetidos às dietas hipercolesterolêmicas (Grupos B e D) e diminuíram para os animais que ingeriram ração associada com a bebida de soja e polpa de pêssegos (Grupo C). Esta redução do HDL-colesterol endógeno, proporcionada pela ingestão da bebida, embora estatisticamente significativa ($p \leq 0,05$), não parece ser limitante quando observados os valores médios deste grupo na Tabela 2 (Apêndice) e comparativamente ao Grupo A. Os valores obtidos, em média, corresponderam a 60% do colesterol total naquele grupo, o que representa baixo risco de ocorrência de problemas cardíacos para estes animais.

Todos os grupos diferiram estatisticamente ($p \leq 0,05$, teste de Kruskal-Wallis) entre si na Fase 1. A comparação entre os grupos mostrou que os animais alimentados com ração e colesterol (Grupo B) apresentaram níveis médios de HDL-colesterol significativamente ($p \leq 0,05$) maior do que todos os demais tratamentos. A ingestão de bebida juntamente com colesterol (Grupo D) resultou em níveis de colesterol total significativamente maiores ($p \leq 0,05$) do que os dos Grupos A e C e menores do que os do Grupo B. Os Grupos A e C diferiram estatisticamente ($p \leq 0,05$) com relação aos níveis de HDL-colesterol, que se mostrou mais elevado nos animais do grupo controle (Grupo A).

A variabilidade das respostas e os desvios padrões elevados mostrados na Tabela 2 (Apêndice), sugerem que não haja influência efetiva da bebida sobre os níveis séricos de HDL-colesterol nos animais do Grupo C. Contudo, considerando-se a análise

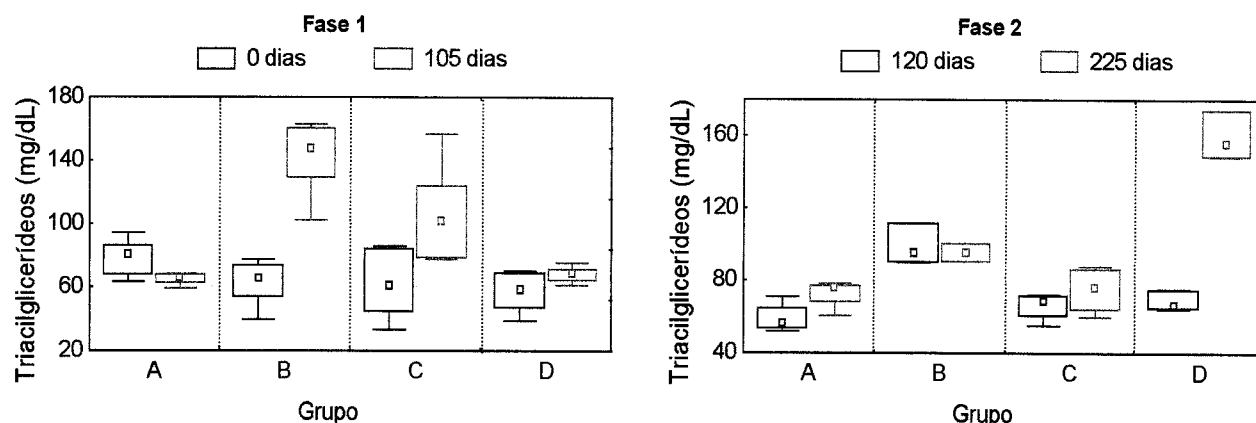
estatística realizada, a menor concentração de HDL-colesterol no sangue dos animais em que houve suplementação da bebida de soja com polpa de pêssegos em relação àqueles que ingeriram colesterol e ração, indica que a bebida reduziu o colesterol como um todo, não sendo seletiva para as diferentes frações de colesterol. Neste estudo não foram determinadas as demais frações de colesterol o que limita a interpretação dos resultados quanto ao comportamento do perfil lipídico sanguíneo como um todo. Embora a fração HDL seja considerada um fator de risco negativo para doenças coronarianas, de acordo com Nilausen e Meinertz, (1998), o efeito sobre os riscos cardiovasculares são particularmente favoráveis quando ambas as frações HDL e LDL-colesterol são afetadas.

Baseado nestas observações e nas inúmeras citações que sugerem a manutenção ou aumento dos níveis séricos de HDL-colesterol quando se administra produtos de soja (Blümel *et al.*, 2001; Blümel *et al.*, 2000; Romero *et al.*, 2000; Yamakoshi *et al.*, 2000; Yamakoshi *et al.*, 1999; Potter *et al.*, 1998), é prudente recomendar estudos específicos em base a bebida testada para confirmar seu efeito sobre os níveis de HDL-colesterol, correlacionando-os às demais frações de colesterol, notadamente a fração LDL.



Fase 1 e 2 / Grupo A (animais alimentados com 100g diárias de ração comercial); Fase 1 / Grupo B (animais alimentados com 100g diárias de ração comercial enriquecida com 0,2% de colesterol); Fase 2 / Grupo B (animais alimentados com 100g diárias de ração comercial enriquecida com 0,2% de colesterol e 50mL da bebida à base de extrato de soja e polpa de pêssegos); Fase 1 e 2 / Grupo C (animais alimentados com 100g diárias de ração comercial e 50mL da bebida à base de extrato de soja e polpa de pêssegos); Fase 1 / Grupo D (animais alimentados com 100g diárias de ração comercial enriquecida com 0,2% de colesterol e 50mL da bebida à base de extrato de soja e polpa de pêssegos); Fase 2 / Grupo D (animais alimentados com 100g diárias de ração comercial enriquecida com 0,2% de colesterol).

Figura 5. Comportamento dos níveis médios de triacilglicerídeos sanguíneo de coelhos, em função da dieta, durante 105 dias (Fase 1) e 120 dias (Fase 2).



Fase 1 e 2 / Grupo A (animais alimentados com 100g diárias de ração comercial); Fase 1 / Grupo B (animais alimentados com 100g diárias de ração comercial enriquecida com 0,2% de colesterol); Fase 2 / Grupo B (animais alimentados com 100g diárias de ração comercial enriquecida com 0,2% de colesterol e 50mL da bebida à base de extrato de soja e polpa de pêssegos); Fase 1 e 2 / Grupo C (animais alimentados com 100g diárias de ração comercial e 50mL da bebida à base de extrato de soja e polpa de pêssegos); Fase 1 / Grupo D (animais alimentados com 100g diárias de ração comercial enriquecida com 0,2% de colesterol e 50mL da bebida à base de extrato de soja e polpa de pêssegos); Fase 2 / Grupo D (animais alimentados com 100g diárias de ração comercial enriquecida com 0,2% de colesterol).

Figura 6. Boxplots para os valores médios de triacilglicerídeos sanguíneo dos coelhos, em função da dieta, a 0 e 105 dias (Fase 1) e aos 120 e 225 dias (Fase 2).

As Figuras 5 e 6 e Tabela 3 (Apêndice) mostram incremento dos valores de triacilglicerídeos séricos ao longo do tempo para os animais dos Grupos B, C e D (Fase 1), os quais receberam dieta composta por ração mais colesterol, ração suplementada com bebida, e ração com colesterol e bebida, respectivamente. O comportamento destes grupos ao longo do tempo foi significativo ($p \leq 0,05$, teste de Wilcoxon Signed Rank). Para os animais do Grupo A (controle), o valor mediano dos coeficientes obtido pelo teste foi significativo ($p \leq 0,05$) e negativo, indicando decréscimo dos níveis de triacilglicerídeos no período de 105 dias (Fase 1).

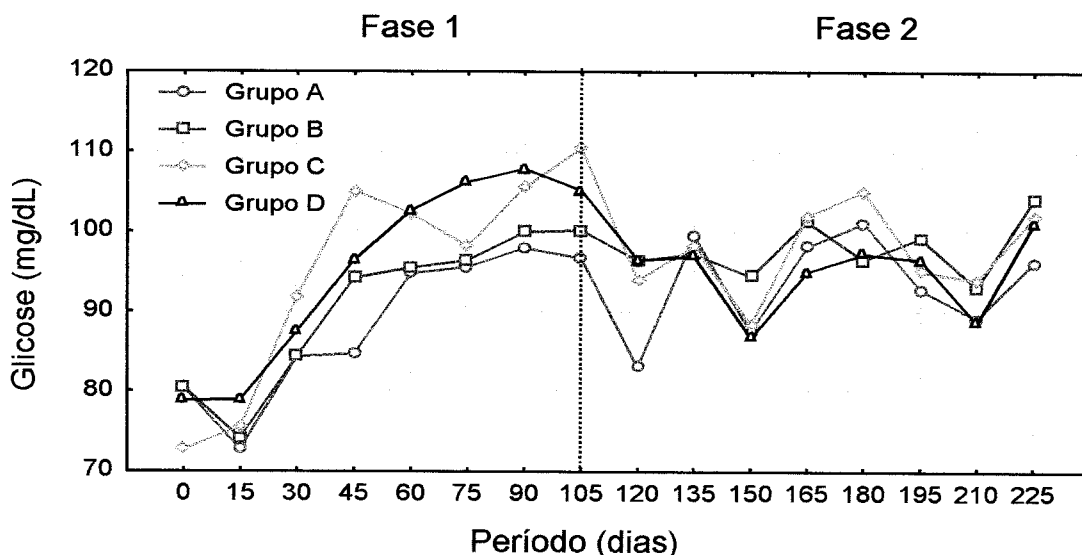
O comportamento dos animais do Grupo D, cuja dieta foi à base de ração, colesterol e bebida, indica que a bebida parece não ter permitido um aumento excessivo nos níveis de triacilglicerídeos, efeito não assegurado pelo comportamento verificado no Grupo C.

Pelo teste de Kruskal-Wallis e comparação múltipla, o nível médio de triacilglicerídeos, na Fase 1, foi significativamente maior ($p \leq 0,05$) nos animais do Grupo B (dieta hipercolesterolêmica sem bebida), seguido pelos do Grupo C, D e A.

Era esperado que a bebida não elevasse os níveis sanguíneos de triacilglicerídeos dos animais do Grupo C, mesmo considerando os açúcares e lipídeos da sua composição (Tabela 1 - Apêndice). Este comportamento não foi observado durante o período estudado (105 dias), exceto na última avaliação (Figura 5 – Fase 1). Dois aspectos devem ser ressaltados com relação a esta observação: o primeiro refere-se à grande variabilidade da resposta entre os animais que resultou em desvio padrão bastante alto, influenciando o resultado médio, como pode ser observado na Figura 6; o segundo aspecto refere-se à determinação analítica de triacilglicerídeos que apresentou particular dificuldade devido à exigência de tempos criteriosos de reação pré-estabelecidos pelo fabricante do *kit*, nitidamente influenciada pela temperatura ambiente. Dados da literatura obtidos por este método têm mostrado grande variabilidade (Demonty *et al.*, 2002; Blümel *et al.*, 2000).

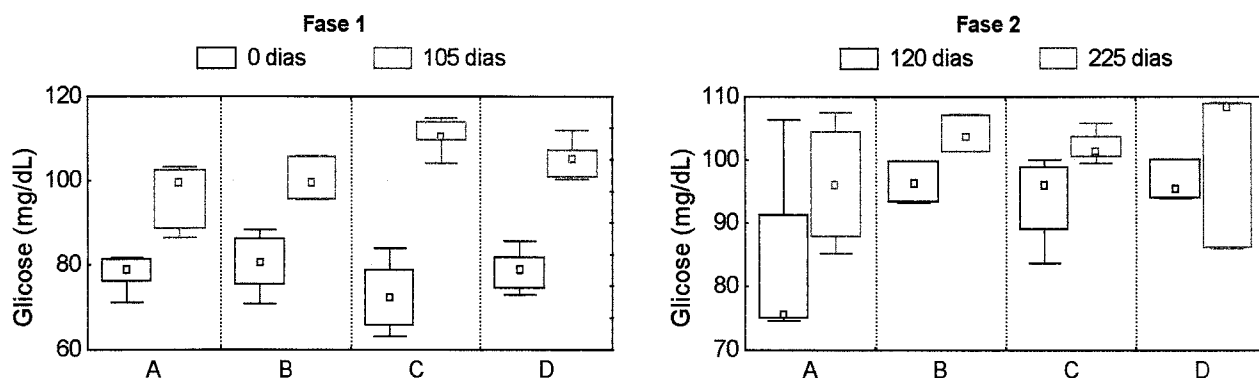
Com efeito, o comportamento médio dos animais do grupo que recebeu ração e bebida (Grupo C) observado na Fase 1 (Figuras 5 e 6 e Tabela 3 – Apêndice), não foi mantido na Fase 2, onde os desvios padrões foram menores, (Figura 6), indicando a possibilidade de ter havido problema de ordem analítica ou amostral naquele momento de estudo.

Observando-se o comportamento dos grupos na Fase 2, verifica-se que os níveis séricos de triacilglicerídeos aumentaram ao longo do tempo para o tratamento D, correspondente aos animais de cuja dieta hipercolesterolêmica foi suprimida a bebida. Por outro lado, a administração da bebida aos correspondentes animais tratados na Fase 1, evidenciou relativa redução nos níveis de triacilglicerídeos.



Fase 1 e 2 / Grupo A (animais alimentados com 100g diárias de ração comercial); Fase 1 / Grupo B (animais alimentados com 100g diárias de ração comercial enriquecida com 0,2% de colesterol); Fase 2 / Grupo B (animais alimentados com 100g diárias de ração comercial enriquecida com 0,2% de colesterol e 50mL da bebida à base de extrato de soja e polpa de pêssegos); Fase 1 e 2 / Grupo C (animais alimentados com 100g diárias de ração comercial e 50mL da bebida à base de extrato de soja e polpa de pêssegos); Fase 1 / Grupo D (animais alimentados com 100g diárias de ração comercial enriquecida com 0,2% de colesterol e 50mL da bebida à base de extrato de soja e polpa de pêssegos); Fase 2 / Grupo D (animais alimentados com 100g diárias de ração comercial enriquecida com 0,2% de colesterol).

Figura 7. Comportamento dos níveis médios de glicose sanguínea de coelhos, em função da dieta, durante 105 dias (Fase 1) e 120 dias (Fase 2).



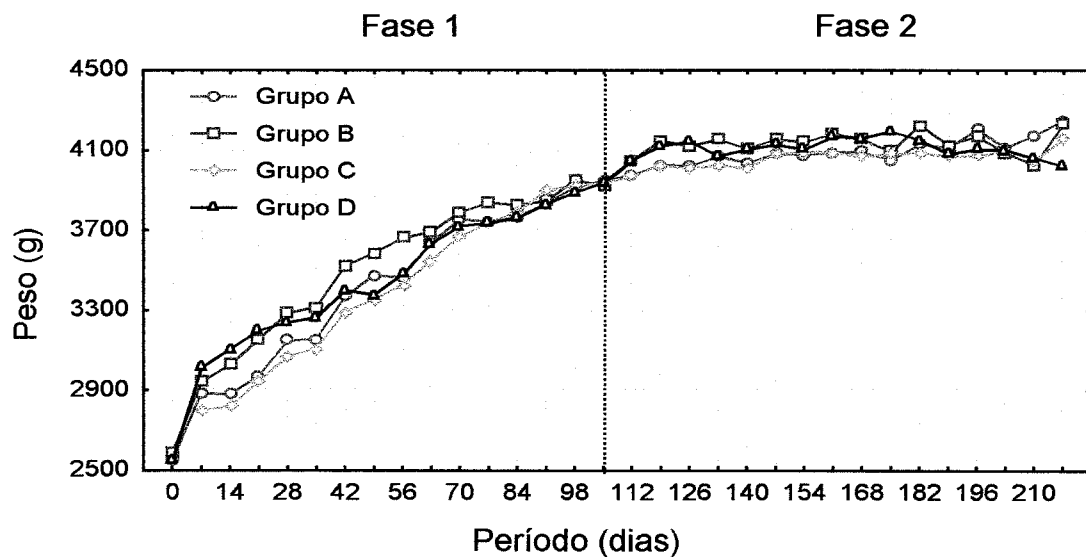
Fase 1 e 2 / Grupo A (animais alimentados com 100g diárias de ração comercial); Fase 1 / Grupo B (animais alimentados com 100g diárias de ração comercial enriquecida com 0,2% de colesterol); Fase 2 / Grupo B (animais alimentados com 100g diárias de ração comercial enriquecida com 0,2% de colesterol e 50mL da bebida à base de extrato de soja e polpa de pêssegos); Fase 1 e 2 / Grupo C (animais alimentados com 100g diárias de ração comercial e 50mL da bebida à base de extrato de soja e polpa de pêssegos); Fase 1 / Grupo D (animais alimentados com 100g diárias de ração comercial enriquecida com 0,2% de colesterol e 50mL da bebida à base de extrato de soja e polpa de pêssegos); Fase 2 / Grupo D (animais alimentados com 100g diárias de ração comercial enriquecida com 0,2% de colesterol).

Figura 8. Boxplots para os valores médios de glicose sanguínea dos coelhos, em função da dieta, a 0 e 105 dias (Fase 1) e aos 120 e 225 dias (Fase 2).

As Figuras 7 e 8 e a Tabela 4 (Apêndice), mostram que os níveis séricos de glicose aumentaram ao longo do tempo, em todos os grupos, embora os valores encontrados estivessem dentro da faixa esperada (Harkness e Wagner, 1993). Este incremento ao longo da Fase 1 foi significativo ($p \leq 0,05$, teste de Wilcoxon Sigend Rank). Aos 105 dias de ensaio (Fase 1), os níveis de glicose apresentados pelos animais que ingeriram a bebida (Grupos C e D) foram maiores que os dos animais que não a ingeriram (Grupos A e B), indicando que a bebida possivelmente aumentou esta resposta.

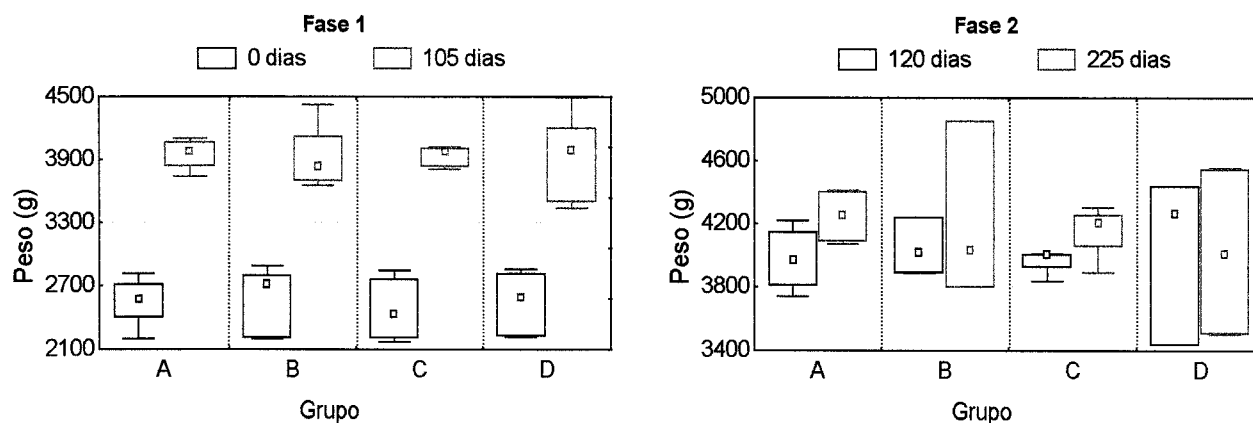
A ingestão de bebida aumentou significativamente ($p \leq 0,05$, teste de Kruskal-Wallis) os níveis de glicose na Fase 1. Os resultados médios dos Grupos C e D foram significativamente superiores ($p \leq 0,05$) aos dos Grupos A e B. Não foram verificadas diferenças significativas entre os animais tratados com a bebida (Grupos C e D) e os não tratados (Grupos A e B). A sacarose adicionada na formulação da bebida pode ter sido o fator responsável pelo aumento deste parâmetro.

A observação das Figuras 7 e 8 e Tabela 4 (Apêndice) com relação à Fase 2, entretanto, parece não demonstrar nenhuma tendência explícita com relação ao comportamento da glicose sanguínea nesta fase. O número muito baixo de animais utilizados na análise pode ter influenciado o comportamento médio, aumentando a variabilidade (Figura 8).



Fase 1 e 2 / Grupo A (animais alimentados com 100g diárias de ração comercial); Fase 1 / Grupo B (animais alimentados com 100g diárias de ração comercial enriquecida com 0,2% de colesterol); Fase 2 / Grupo B (animais alimentados com 100g diárias de ração comercial enriquecida com 0,2% de colesterol e 50mL da bebida à base de extrato de soja e polpa de pêssegos); Fase 1 e 2 / Grupo C (animais alimentados com 100g diárias de ração comercial e 50mL da bebida à base de extrato de soja e polpa de pêssegos); Fase 1 / Grupo D (animais alimentados com 100g diárias de ração comercial enriquecida com 0,2% de colesterol e 50mL da bebida à base de extrato de soja e polpa de pêssegos); Fase 2 / Grupo D (animais alimentados com 100g diárias de ração comercial enriquecida com 0,2% de colesterol).

Figura 9. Comportamento dos pesos médios dos coelhos, em função da dieta, durante 105 dias (Fase 1) e 120 dias (Fase 2).

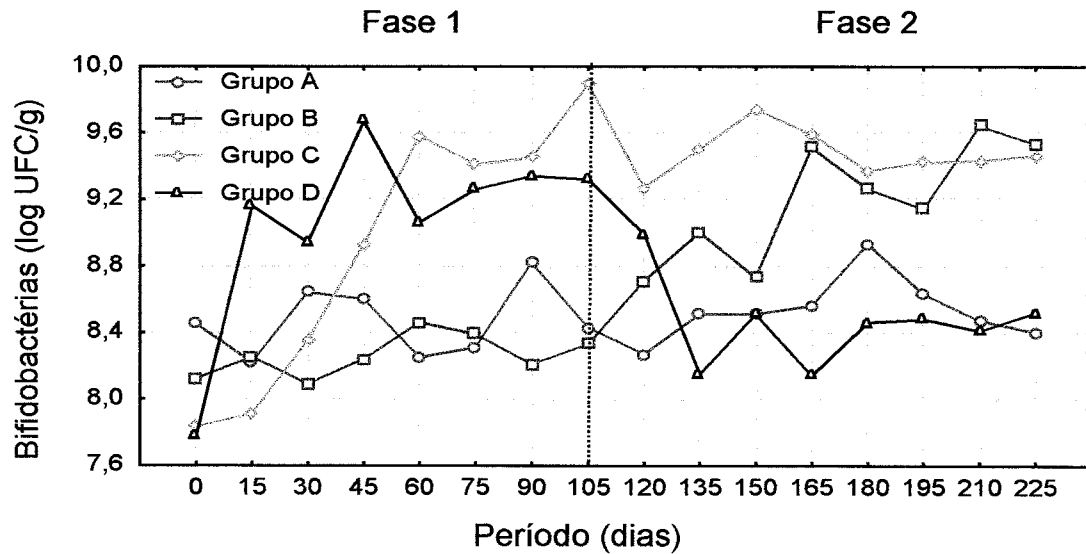


Fase 1 e 2 / Grupo A (animais alimentados com 100g diárias de ração comercial); Fase 1 / Grupo B (animais alimentados com 100g diárias de ração comercial enriquecida com 0,2% de colesterol); Fase 2 / Grupo B (animais alimentados com 100g diárias de ração comercial enriquecida com 0,2% de colesterol e 50mL da bebida à base de extrato de soja e polpa de pêssegos); Fase 1 e 2 / Grupo C (animais alimentados com 100g diárias de ração comercial e 50mL da bebida à base de extrato de soja e polpa de pêssegos); Fase 1 / Grupo D (animais alimentados com 100g diárias de ração comercial enriquecida com 0,2% de colesterol e 50mL da bebida à base de extrato de soja e polpa de pêssegos); Fase 2 / Grupo D (animais alimentados com 100g diárias de ração comercial enriquecida com 0,2% de colesterol).

Figura 6. Boxplots para os pesos médios dos coelhos, em função da dieta, a 0 e 105 dias (Fase 1) e aos 120 e 225 dias (Fase 2).

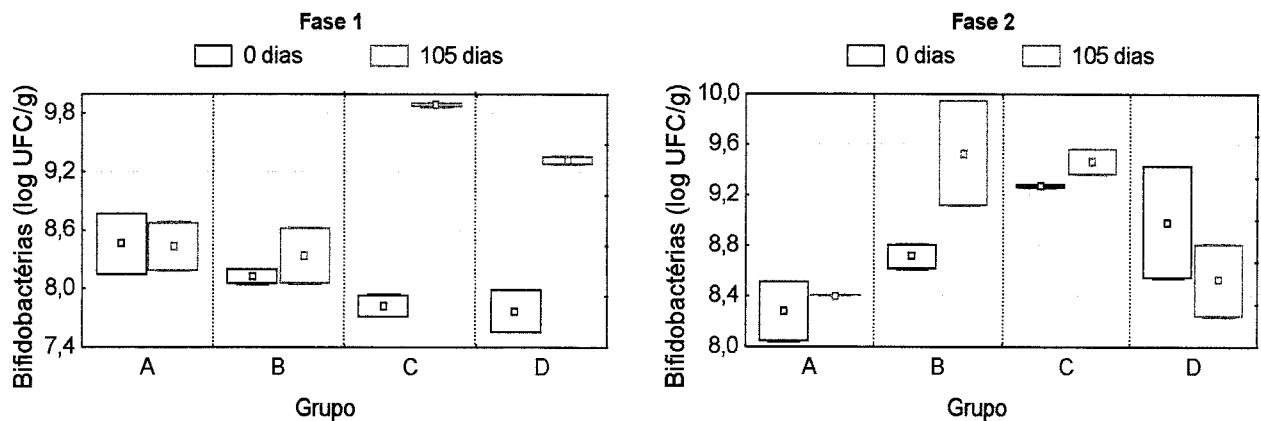
As Figuras 9 e 10 e a Tabela 5 (Apêndice) mostram o comportamento de incremento dos pesos dos coelhos ao longo do tempo para todos os tratamentos. Foram encontradas diferenças estatisticamente significativas ($p \leq 0,05$, Teste Wilcoxon Signed Rank) para todos os ensaios, em relação ao peso corpóreo dos coelhos submetidos às diferentes dietas na Fase 1.

Os valores médios dos pesos permaneceram próximos ao longo do período (225 dias), indicando que as diferentes dietas não influenciaram nos pesos dos coelhos, ou influenciaram da mesma maneira. A administração da bebida à base de extrato de soja e polpa de pêssegos aos animais não interferiu significativamente ($p \leq 0,05$, teste de Kruskal-Wallis) no ganho de peso dos mesmos, comparativamente àqueles que não a consumiram. Tal comportamento foi mantido na Fase 2 onde, da mesma forma que o observado no comportamento dos níveis de glicose, o baixo número amostral parece ter aumentado a variabilidade média das observações (Figura 10).



Fase 1 e 2 / Grupo A (animais alimentados com 100g diárias de ração comercial); Fase 1 / Grupo B (animais alimentados com 100g diárias de ração comercial enriquecida com 0,2% de colesterol); Fase 2 / Grupo B (animais alimentados com 100g diárias de ração comercial enriquecida com 0,2% de colesterol e 50mL da bebida à base de extrato de soja e polpa de pêssegos); Fase 1 e 2 / Grupo C (animais alimentados com 100g diárias de ração comercial e 50mL da bebida à base de extrato de soja e polpa de pêssegos); Fase 1 / Grupo D (animais alimentados com 100g diárias de ração comercial enriquecida com 0,2% de colesterol e 50mL da bebida à base de extrato de soja e polpa de pêssegos); Fase 2 / Grupo D (animais alimentados com 100g diárias de ração comercial enriquecida com 0,2% de colesterol).

Figura 11. Comportamento da contagem de bifidobactérias nas fezes de coelhos, em função da dieta, durante 105 dias (Fase 1) e 120 dias (Fase 2).



Fase 1 e 2 / Grupo A (animais alimentados com 100g diárias de ração comercial); Fase 1 / Grupo B (animais alimentados com 100g diárias de ração comercial enriquecida com 0,2% de colesterol); Fase 2 / Grupo B (animais alimentados com 100g diárias de ração comercial enriquecida com 0,2% de colesterol e 50mL da bebida à base de extrato de soja e polpa de pêssegos); Fase 1 e 2 / Grupo C (animais alimentados com 100g diárias de ração comercial e 50mL da bebida à base de extrato de soja e polpa de pêssegos); Fase 1 / Grupo D (animais alimentados com 100g diárias de ração comercial enriquecida com 0,2% de colesterol e 50mL da bebida à base de extrato de soja e polpa de pêssegos); Fase 2 / Grupo D (animais alimentados com 100g diárias de ração comercial enriquecida com 0,2% de colesterol).

Figura 12. Boxplots para os valores médios de bifidobactérias nas fezes dos coelhos, em função da dieta, a 0 e 105 dias (Fase 1) e aos 120 e 225 dias (Fase 2).

As Figuras 11 e 12 e Tabela 6 (Apêndice), mostram que o número de unidades formadoras de colônias de bifidobactérias aumentou ao longo do tempo para os coelhos tratados com a bebida formulada com extrato de soja e polpa de pêssegos (Grupos C e D). Os coelhos não tratados com a bebida (Grupos A e B) não mostraram alterações marcantes na contagem destes microrganismos. O comportamento da Fase 2 confirmou a influência positiva da bebida no crescimento das bifidobactérias, demonstrado pela maior variabilidade, ao longo do tempo, nos coelhos tratados com as dietas acrescidas da bebida (Grupos B e C).

Até 30 dias (Fase 1), conforme Figura 11, não se observou diferença marcante no número de bifidobactérias entre os grupos estudados, que se mantiveram em 10^8 UFC/g. Após este período, houve alteração no comportamento desta resposta, com um aumento médio de um ciclo logarítmico até os 105 dias de tratamento para os grupos C e D, cujos animais ingeriram a bebida formulada com extrato de soja e polpa de pêssegos. Comportamento semelhante foi verificado por Freitas (2000) em hamsters alimentados com frutooligossacarídeos, utilizando a mesma técnica analítica descrita neste estudo. Microbiologicamente, este incremento pode ser considerado relevante pois significa um aumento de 10 vezes em relação à contagem inicial.

O aumento constatado na contagem de bifidobactérias deveu-se, provavelmente, aos açúcares da bebida (Tabela 1), destacando-se os oligossacarídeos naturalmente presentes na soja, que se mantiveram proporcionalmente na bebida e que, atuando como prébióticos, estimularam o crescimento desta flora no intestino (Loo, 1999).

Vários autores enumeram os benefícios à saúde resultante da ingestão de oligossacarídeos e conseqüente proliferação de bifidobactérias, como a atividade anticarcinogênica e a redução do colesterol sanguíneo (Cumings e MacFarlane, 2002; Marteau e Boutron-Ruault, 2002; Gibson *et al.*, 1994; Tomomatsu, 1994; Mitsuoka, 1978). A dose efetiva de oligossacarídeos para que ocorra o crescimento destes microrganismos ainda não está bem estabelecida pois outros fatores estão envolvidos, como a complexidade das reações que ocorrem no intestino e a microbiota residente no

cólon. Além disso, as bifidobactérias podem utilizar como substrato outros compostos, considerados fatores bifidogênicos porque não são metabolizados pelo hospedeiro e alcançam intactos o intestino, a exemplo das fibras (Gibson *et al.*, 1994; Modler, 1994). De acordo com Tamime *et al.* (1995), a utilização dos açúcares pelas bifidobactérias depende da espécie, a exemplo das *Bifidobacterium adolescentis*, *B. breve*, *B. infantis* e *B. longus* que utilizam muitos açúcares, como a sacarose, além de estaquiose e rafinose.

A ocorrência de bifidobactérias nas fezes dos coelhos foi confirmada pela verificação de algumas características inerentes a estes microrganismos.

As colônias apresentaram excelente crescimento em *Lactobacilli* MRS caldo, apresentando-se na forma de um precipitado floculento, em forma de cone, concentrado na porção mais ao fundo do tubo. Este comportamento foi descrito por Buchamm e Gibbons (1975) para bifidobactérias.

Pela observação das colônias em lâminas de vidro, mostrado na Figura 13, verificou-se a coloração roxa obtida pelo teste de Gram, indicativa de bactérias Gram-positivas, e o formato em bastonete bastante alongado, não esporulado e com bifurcação em “Y”, características típicas de bifidobactérias (Tamime *et al.*, 1995; Mitsuoka, 1978; Buchamm e Gibbons, 1975).

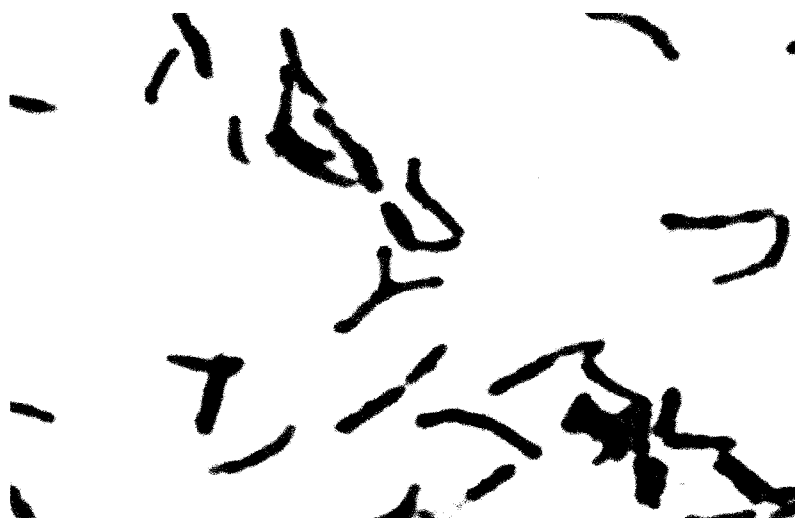
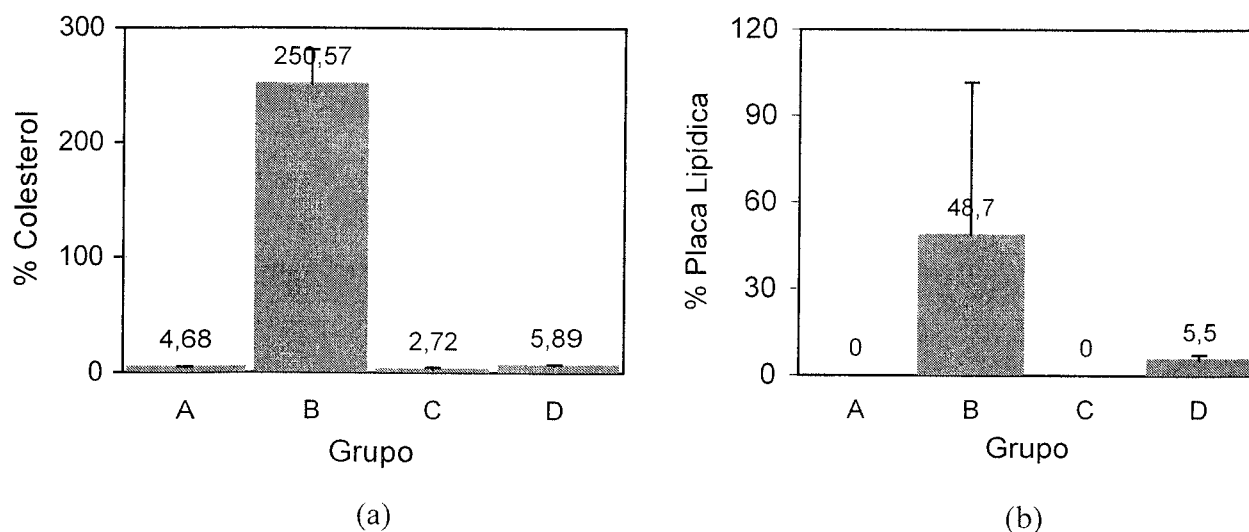


Figura 13. Bifidobactérias isoladas de fezes de coelhos.

A Figura 14 mostra o percentual médio de colesterol total e de placas lipídicas nas aortas torácicas dos coelhos submetidos a diferentes dietas, ao final da Fase 1 (105 dias).



Grupo A (animais alimentados com 100g diárias de ração); Grupo B (animais alimentados com 100g diárias de ração enriquecida com 0,2% de colesterol); Grupo C (animais alimentados com 100g diárias de ração e 50mL da bebida à base de extrato de soja e polpa de pêssegos); Grupo D (animais alimentados com 100g diárias de ração enriquecida com 0,2% de colesterol e 50mL da bebida à base de extrato de soja e polpa de pêssegos).

Figura 14. (a) % de colesterol e (b) % de placa lipídica (lesão aterosclerótica) na aorta torácica dos coelhos aos 105 dias de tratamento com diferentes dietas (Fase 1).

Observa-se pela Figura 14 (a) e (b) que os animais que não receberam dieta hipercolesterolêmica (Grupos A e C), apresentaram percentual baixo de colesterol total na aorta e ausência de placas lipídicas. Com relação aos coelhos submetidos à hipercolesterolemia, ficou evidenciado que aqueles tratados com a bebida formulada com extrato de soja e polpa de pêssegos (Grupo D) apresentaram percentual de colesterol e de placas lipídicas na artéria marcadamente reduzido. A relação entre o conteúdo de colesterol na aorta e a extensão da formação da placa, particularmente na aorta torácica, também foi constatada por Romero *et al.* (2000), segundo os quais o conteúdo de colesterol total nesta artéria é uma forma de avaliar indiretamente a severidade aterosclerótica em coelhos alimentados com colesterol.

As lesões ateroscleróticas, relacionadas às placas lipídicas das aortas dos coelhos estão mostradas na Figura 15, através da pigmentação vermelha mais intensa, onde visualiza-se que a ingestão da bebida não permitiu o acúmulo de placas gordurosas nas artérias.

O acúmulo de lipídeos mostrado na Figura 15 pode ser interpretado como placa aterosclerótica conforme Clubb *et al.* (2001) e Truskey *et al.* (1999). Estes autores demonstraram que em coelhos alimentados com colesterol, a hipercolesterolemia está associada com a evidência de injúrias, proliferação de células endoteliais e com o aumento na aorta das moléculas de adesão específicas para monócitos e leucócitos, cuja expressão precede o acúmulo de macrófagos à superfície endotelial. Esta seqüência de eventos ocorre em curto espaço de tempo e é invariavelmente precedida de um acúmulo inicial de lipídeos intra e extracelular na artéria.

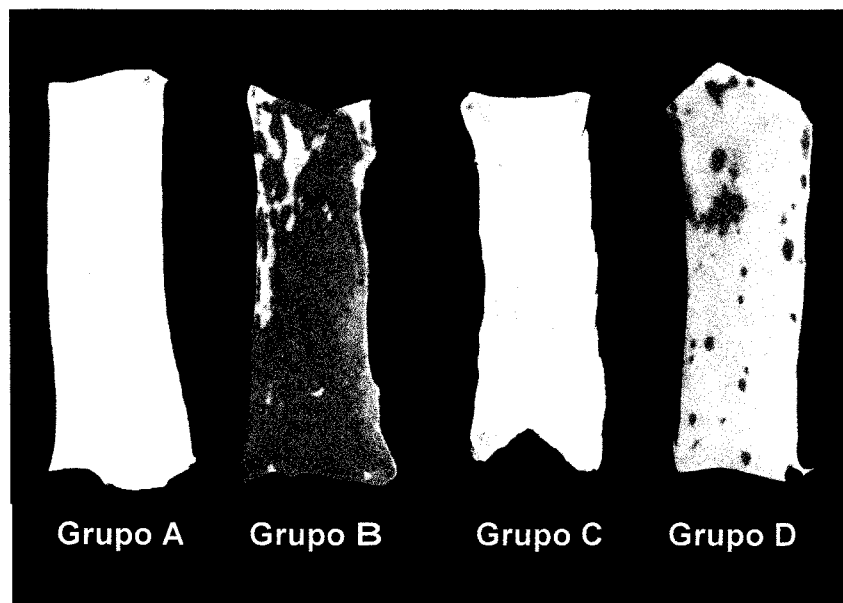
As placas lipídicas presentes nas artérias dos coelhos devem-se, provavelmente, ao acúmulo de colesterol, fornecido pela dieta e transportado pelo plasma, no interior da artéria (Lupu *et al.*, 1987). A disfunção endotelial na hipercolesterolemia tem sido relacionada a dois mecanismos principais: elevação das partículas de LDL no plasma e peroxidação dos ácidos graxos dos triacilglicerídeos e/ou fosfolípidos das LDL no interior da célula endotelial.

De acordo com Clubb *et al.* (2001) o acúmulo progressivo de lipídeos (extra e intracelulares) é importante no desenvolvimento precoce de lesões ateroscleróticas, sobre a superfície das quais ocorre acúmulo de leucócitos, monócitos e células espumosas, promovendo a conversão dos lipídeos de estria gordurosa a placa.

A hiperoxidação de lipídeos tem um papel crítico no desenvolvimento da aterosclerose pela promoção da manifestação e progressão da doença. Acredita-se que o oxigênio livre produza peróxidos de lipídeos no corpo e que a peroxidação lipídica esteja envolvida na modificação oxidativa da LDL e cause a formação da lesão aterosclerótica. Muitos dados suportam o papel proaterogênico da LDL oxidada, a qual, sendo reconhecida e fixada pelos receptores de macrófagos, converte-se às células espumosas carregadas de lipídeos encontradas nas placas ateroscleróticas (Yokota *et al.*, 1996).

A administração da bebida estudada interferiu favoravelmente, reduzindo a possibilidade de evolução da lesão aterosclerótica nos coelhos submetidos à dieta hipercolesterolêmica (Figura 15, Grupo D). A redução dos níveis séricos de colesterol total proporcionada pela bebida, mostrado nas Figuras 1 e 2 na Tabela 1 (Apêndice), é o fator provável relacionado a menor formação de placa aterosclerótica neste grupo de animais.

As isoflavonas da soja têm sido relacionadas ao controle do desenvolvimento da placa aterosclerótica através da inibição da adesão celular, alteração da atividade dos fatores de crescimento e inibição da proliferação das células envolvidas na formação da lesão, bem como pelas suas propriedades antioxidantes sobre a peroxidação do LDL, importante fator de risco na patogênese da aterosclerose (Waggle e Potter, 2000; Kirk *et al.*, 1998; Kanazawa *et al.*, 1995; Wilcox e Blumenthal, 1995).



Grupo A (animais alimentados com 100g diárias de ração); Grupo B (animais alimentados com 100g diárias de ração enriquecida com 0,2% de colesterol); Grupo C (animais alimentados com 100g diárias de ração e 50mL da bebida à base de extrato de soja e polpa de pêssegos); Grupo D (animais alimentados com 100g diárias de ração enriquecida com 0,2% de colesterol e 50mL da bebida à base de extrato de soja e polpa de pêssegos).

Figura 15. Fotografia das aortas torácicas dos coelhos, mostrando o acúmulo de placas lipídicas (coloração vermelho intenso), após 105 de tratamento (Fase 1).

Coelhos têm sido relatados como bons modelos para estudos de hiperlipidemia (Barnes e Weinberg, 2001; Damasceno *et al.*, 2000). De acordo com Finking e Hanke (1997) e Wilcox e Blumenthal (1995), quando estes animais são submetidos a uma dieta com no mínimo 0,5% de colesterol, desenvolvem predominantemente células espumosas enriquecidas de monócitos e macrófagos na íntima da artéria, comparadas às lesões humanas. Em coelhos recebendo menos do que 0,5% de colesterol, a lesão fibromuscular é mais proeminente, mostrando similar morfologia de placas ateromatosas avançadas de humanos. Grande quantidade de tecido fibroso, como o observado em placas de humanos, desenvolve-se em coelhos hipercolesterolêmicos, após injúria da parede arterial.

Considerando que a severidade da lesão aterosclerótica induzida pelo colesterol é proporcional à quantidade de colesterol consumida e é diferente entre as espécies (Clubb *et al.*, 2001), o resultado obtido neste estudo contribui para as afirmativas de que o consumo de alimentos com soja intervém positivamente no controle do risco de ocorrência de doenças cardiovasculares, entre outros aspectos de saúde.

A soja tem sido estudada em muitos aspectos relacionados à saúde, destacando-se o da prevenção de doenças cardiovasculares. Os resultados têm sido ainda conflitantes, sobretudo nos estudos com seres humanos, particularmente em indivíduos normocolesterolêmicos (Wong *et al.*, 1998; Sirtori *et al.*, 1995). Os mecanismos de ação, bem como os compostos associados a estes efeitos, têm gerado respostas não conclusivas. As suposições incluem mecanismos hormonais, regulação na absorção intestinal de colesterol e/ou excreção fecal de ácidos biliares e aumento da atividade dos receptores hepáticos de LDL (Giroux *et al.*, 1997; Carroll e Kurowska, 1995; Potter, 1995). Os compostos relacionados a esta ação incluem aminoácidos, saponinas, ácido fítico, minerais, oligossacarídeos e isoflavonas, atuando isolada ou conjuntamente (Tonstad *et al.*, 2002; Takatsuka *et al.*, 2000; Sirtori *et al.*, 1999; Potter, 1995; Raaij *et al.* 1981).

Os resultados ora apresentados mostram que a bebida formulada com extrato de soja e polpa de pêssegos influenciou os níveis séricos de colesterol total, HDL-colesterol, triacilglicerídeos e glicose em coelhos, bem como evitou a formação de placas lipídicas na aorta destes animais e estimulou o crescimento de bifidobactérias no cólon. O teor protéico utilizado na sua formulação (2% de proteína de soja), associado aos demais compostos inerentes aos grãos, como os oligossacarídeos e as fibras (cujo percentual foi aumentado pela incorporação de pectina como estabilizante), estiveram provavelmente envolvidos nestes resultados.

A complexidade da formulação da bebida não permite que se associe os efeitos observados a componentes específicos da mesma, podendo-se, contudo, inferir que o seu consumo diário traz efeitos benéficos à saúde relacionados aos aspectos

estudados. Os efeitos potenciais à saúde demonstrados por esta bebida, associados à qualidade tecnológica e sensorial alcançada, são uma justificativa para outros estudos experimentais e clínicos.

A introdução da soja na alimentação humana vem ganhando espaço através de diversidade de bebidas formuladas com esta matéria-prima. Mas o aumento da demanda depende, fundamentalmente, da disponibilização de produtos tecnologicamente compatíveis que preserve ao máximo a qualidade nutricional e sensorial das matérias-primas envolvidas na sua elaboração, para cuja alegação de alimento funcional, seja efetivamente comprovada.

4. Conclusões

A bebida formulada com extrato de soja (2% de proteína) e polpa de pêssegos, 10% de açúcar e 0,14% de estabilizante influenciou marcadamente os níveis séricos de colesterol total, HDL-colesterol, triacilglicerídeos e glicose em coelhos no período de 225 dias.

A concentração de colesterol total, da fração HDL e de triacilglicerídeos diminuiu sensivelmente, pela administração da bebida, nos animais hipercolesterolêmicos. Nos animais alimentados com dieta hipercolesterolêmica (0,2% de colesterol) a bebida controlou em 58% os níveis séricos de colesterol total no período de 105 dias. Tal comportamento foi comprovado quando a bebida foi fornecida aos animais com hipercolesterolemia avançada, durante 120 dias.

A bebida reduziu os níveis de HDL-colesterol e aumentou os níveis de triacilglicerídeos em coelhos normais (não hipercolesterolêmicos).

Os níveis de glicose séricos foram maiores nos animais cuja dieta incluía bebida, mas mantiveram-se dentro da faixa esperada para a espécie.

Não houve diferença de ganho de peso nos animais submetidos à dieta com suplementação da bebida em relação ao grupo controle.

A bebida à base de extrato de soja e polpa de pêssegos evitou a formação de placas lipídicas na aorta, num modelo de aterosclerose induzida pela dieta, em coelhos.

A contagem de bifidobactérias intestinais nos coelhos alimentados com a bebida mostrou aumento de um ciclo logarítmico nas unidades formadoras de colônias, influenciada basicamente pela sacarose, rafinose e estaquiose, contidas na dieta, considerado o teor de fibras.

As propriedades benéficas à saúde observadas na bebida, associados à qualidade tecnológica e sensorial alcançada, justificam outros estudos experimentais e clínicos, buscando, entre outros aspectos, verificar os efeitos específicos e/ou associados dos componentes da bebida.

5. Referências bibliográficas

ANTHONY, M. S.; CLARKSON, T. B.; WILLIAMS, J. K. Effects of soy isoflavones on atherosclerosis: potential mechanisms. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 68 (suppl.), p. 1390-1393, 1998.

BARNES, S. E.; WEINBERG, P. D. Strain-dependent differences in the pattern of aortic lipid deposition in cholesterol-fed rabbits. **Experimental and Molecular Pathology**, v. 71, p. 161-170, 2001.

BLÜMEL, J. E.; CASTELO-BRANCO, C.; GONZÁLEZ, P.; MOYANO, C.; ITURRIAGA, M.; VIDELA, L.; SANJUÁN, A.; CANO, A. Transdermal estrogens do not appear to modify the extent of lesional areas of aortic atherosclerosis in oophorectomized rabbits on a cholesterol-rich diet. **Atherosclerosis**, v. 148, p. 303-308, 2000.

BLÜMEL, J. E.; CASTELO-BRANCO, C.; SANJUÁN, A.; GONZÁLEZ, P.; MOYANO, C.; ITURRIAGA, T. M.; GONZALES, R.; ROMERO, S.; CANO, A. A simplified method to quantitate atherosclerosis in the rabbit aorta. **Maturitas**, v. 39, p. 265-271, 2001.

BUCHAMM, R. E.; GIBBONS, N. E. **Bergey's Manual of Determinative Bacteriology**, 8. ed., Baltimore: The Willians & Wilkins Company, 1975.

CARROLL, K. K.; KUROWSKA, E. M. Soy consumption and cholesterol reduction: review of animal and human studies. **The Journal of Nutrition**, v. 125, n. 3 (suppl.), p. 594-597, 1995.

CLARKSON, T. B. Soy, soy phytoestrogens and cardiovascular disease. **The Journal of Nutrition**, v. 132 (suppl.), p. 566-569, 2002.

CLUBB JR., F. J.; CERNY, J. L.; DEFERRARI, D. A.; BUTLER-AUCOIN, M. M.; WILLERSON, J. T.; BUJA, L. M. Development of atherosclerotic plaque with endothelial disruption in Watanabe heritable hyperlipidemic rabbit aortas. **Cardiovascular Pathology**, v. 9, p. 1-11, 2001.

CONOVER, W. J. **Practical nonparametric statistics**. Washington, John Wiley & Sons, 1999.

CUMMINGS, J. H.; MACFARLANE, G. T. Gastrointestinal effects of prebiotics. **British Journal of Nutrition**, v. 87, n. 2 (suppl.), p. 145-151, 2002.

DAMASCENO, N. R. T.; GOTO, H.; RODRIGUES, F. M. D.; DIAS, C. T. S.; OKAWABATA, F. S.; ABDALLA, D. S. P.; GIDLUND, M. Soy protein isolate reduces the oxidizability of LDL and the generation of oxidized LDL autoantibodies in rabbits with diet-induced atherosclerosis. **The Journal of Nutrition**, v. 130, p. 2641-2647, 2000.

DEMONTY, I.; LAMARCHE, B.; DESHAIRES, Y.; JACQUES, H. Role of isoflavones in the hypotriglyceridemic effect of soy protein in the rat. **Journal of Nutritional Biochemistry**, n. 13, p. 671-67, 2002.

FINKING, G.; HANKE, H. Nikolaj Nikolajewitsch Anitschkow (1885-1964) established the cholesterol-fed rabbit as a model for atherosclerosis research. **Atherosclerosis**, v. 135, p. 1-7, 1997.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (FDA). Food Labeling: health claims: soy protein and coronary heart disease. 21 CFR Part. 101. Fed. Regist. 64:57700-57733, 1999.

FORSYTHE, W. A. Soy protein, thyroid regulation and cholesterol metabolism. **The Journal of Nutrition**, v. 125, n. 3 (suppl.), p. 619-623, 1995.

FREITAS, D. de G. **Efeito da adição de pectina e frutooligossacarídeo como ingredientes funcionais no suco misto de cenoura e laranja**. 2000. 108p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2000.

GIBSON, G. R.; WILLIS, C. L.; LOO, J. V. Non-digestible oligosaccharides and bifidobacteria – implications for health. **International Sugar Journal**, v. 96, n. 1150, p. 381-387, 1994.

GIROUX, I.; LAVIGNE, C.; MOORJANI, S.; JACQUES, H. Simvastatin further enhances the hypocholesterolemic effect of soy protein in rabbits. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 16, n. 2, p. 166-174, 1997.

GOLDBERG, A. P.; LIM, A.; KOLAR, J. B.; GRUNDHAUSER, J. J.; STEINKE, F. H.; SCHONFELD, G. Soybean protein independently lowers plasma cholesterol levels in primary hypercholesterolemia. **Atherosclerosis**, v. 43, p. 355-368, 1982.

GREAVES, K. A.; PARKS, J. S.; WILLIAMS, J. K.; WAGNER, J. D. Intact dietary soy protein, but not adding an isoflavone-rich soy extract to casein, improves plasma lipids in ovariectomized cynomolgus monkeys. **The Journal of Nutrition**, v. 129, n. 8, p. 1585-1592, 1999.

HARKNESS, J.; WAGNER, J. **Biologia e clínica de coelhos e roedores**. São Paulo: Roca, 1993. 238p.

JENKINS, D. J. A.; KENDALL, C. W. C.; VIDGEN, E.; VUKSAN, V.; JACKSON, C. J.; AUGUSTIN, L. S. A.; LEE, B.; GARSETTI, M.; AGARWAL, S.; RAO, A. V.; CAGAMPANG, G. B.; FULGONI, V. Effect of soy-based breakfast cereal on blood lipids and oxidized low-density lipoprotein. **Metabolism**, v. 49, n. 11, p. 1496-1500, 2000.

- KANAZAWA, T.; OSANAI, T.; ZHANG, X. S.; UEMURA, T.; YIN, X. Z.; ONODERA, K.; OIKE, Y.; OHKUBO, K. Protective effects of soy protein on the peroxidizability of lipoproteins in cerebrovascular diseases. **The Journal of Nutrition**, v. 125, n. 3 (suppl.), p. 639-645, 1995.
- KIRK, E. A.; SUTHERLAND, P.; WANG, S. A.; CHAIT, A.; LEBOUF, R. C. Dietary isoflavones reduce plasma cholesterol and atherosclerosis in C57BL/6 mice but not LDL receptor-deficient mice. **The Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 128, p. 954-959, 1998.
- KURZER, M. S.; XU, X. Dietary phytoestrogens. **Annual Reviews in Nutrition**, v. 17, p. 353-381, 1997.
- LOO, J. V.; CUMMINGS, J.; DELZENNE, N.; ENGLYST, H.; FRANCK, A.; HOPKINS, M.; KOK, N.; MACFARLANE, G.; NEWTON, D.; QUIGLEY, M.; ROBERFROID, D. M.; VLIET, T.; HEUVEL, E. Functional food properties of non-digestible oligosaccharides a consensus report from the ENDO project (DGXII AIRII – CT94 – 1095). **British Journal of Nutrition**, v. 81, p. 1-12, jan., 1999.
- LUPU, F.; DANARICU, I.; SIMIONESCU, N. Development of intracellular lipid deposits in the lipid-laden cells of atherosclerosis lesions: a cytochemical and ultrastructural study. **Atherosclerosis**, v. 67, p. 127-142, 1987.
- MARANHÃO, M. F. Benefícios da soja para o coração e a saúde. In: Simpósio Brasileiro sobre os Benefícios da Soja para a Saúde Humana, 1., 2001, Londrina. **Anais...** Londrina: Embrapa Soja, out., 2001.
- MARTEAU, P.; BOUTRON-ROUULT, M. C. Nutritional advantages of probiotics and prebiotics. **British Journal of Nutrition**, v. 87, n. 2 (suppl.), p. 153-157, 2002.
- MESSINA, M. J.; PERSKY, V.; SETCHELL, K. D. R.; BARNES, S. Soy intake and cancer risk: a review of the in vitro and in vivo data. **Nutrition Cancer**, v. 21, p. 113-131, 1994.
- MITSUOKA, T. **Intestinal bacteria and health**. Japão: Harcourt Brace Jovanovich Japan, 1978. 208p.
- MODLER, H.W. Bifidogenic factors- sources metabolism and applications. **International Dairy Journal**, v.4, p.383 - 407, 1994.
- NILAUSEN, K.; MEINERTZ, H. Variable lipemic response to dietary soy protein in healthy, normolipemic men. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 68 (suppl.), p. 1380-1384, 1998.
- NJOKU, O. U.; NGANDU, F. T.; ALUMUNAH, E. O. Effect of soybean milk on rat serum lipid levels. **Journal of Food Science and Technology**, v. 36, n. 1, p. 55-57, 1999.

NOGOWISK, L.; MACKOVIK, P.; KANDULSKA, K.; SZKUDELSKI, T.; NOWAK, K. W. Genistein-induced changes in lipid metabolism of ovariectomized rats. **Annals of Nutrition & Metabolism**, v. 42, p. 360-366, 1998.

NOGUEIRA, G. C.; BRAGAGNOLO, N. Otimização da extração de colesterol em carne e quantificação por CLAE. In: Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 18., 2002, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: UFRGS, 2002. 1 CD-Rom.

POTTER, S. M. Overview of proposed mechanisms for the hypocholesterolemic effect of soy. **The Journal of Nutrition**, v. 125, n. 3 (suppl.), p. 606-611, 1995.

POTTER, S. M.; BAUM, J. A.; TENG-HONGYU; STILLMAN, R. J.; SHAY, N. F.; ERDMAN, J. W. Jr.; TENG-HY; MESSINA, M.; ERDMAN, J. W. Soy protein and isoflavones: their effects on blood lipids and bone density in postmenopausal women. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 68, n. 6, p. 1375-1379, 1998.

RAAIJ, J. M. A.; KATAN, M. B.; HAUTVAST, J. G. A. J.; HERMUS, R. J. J. Effects of casein versus soy protein diets on serum cholesterol and lipoproteins in young healthy volunteers. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 34, p. 1261-1271, jul., 1981.

ROMERO, F.; RODRIGUEZ-ITURBE, B.; PONS, H.; PARRA, G.; QUIROZ, Y.; RINCÓN, J.; GONZÁLEZ, L. Mycophenolate mofetil treatment reduces cholesterol-induced atherosclerosis in the rabbit. **Atherosclerosis**, v. 152, p. 127-133, 2000.

SAS Institute. Cary: SAS User's Guide - statistics. 1993.

SCHOENE, N. W.; GUIDRY, C. A. Dietary soy isoflavones inhibit activation of rat platelets. **Journal of Nutrition and Biochemistry**, v. 10, p. 421-426, 1999.

SETCHELL, K. Phytoestrogens: the biochemistry, physiology, and implications for human health of soy isoflavones. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 68 (suppl.), p. 1333-1346, 1998.

SIRTORI, C. R.; LOVATI, M. R.; MANZONI, C.; MONETTI, M.; PAZZUCCONI, F.; GATTI, E. Soy and cholesterol reduction: clinical experience. **The Journal of Nutrition**, v. 125, n. 3 (suppl.), p. 598-605, 1995.

SIRTORI, C. R.; PAZZUCCONI, F.; COLOMBO, L.; BATTISTIN, P.; BONDIOLI, A.; DESCHEEMAEEKER, K. Double-blind study of the addition of high-protein soya milk v. cows' milk to the patients with severe hypercholesterolaemia and resistance to or intolerance of statins. **British Journal of Nutrition**, v. 82, p. 91-96, 1999.

STEELE, M. G. The effect on serum cholesterol levels of substituting milk with a soya beverage. **Australian Journal of Nutrition and Dietetics**, v. 49, n. 1, p. 24-28, 1992.

TAKATSUKA, N.; NAGATA, C.; KURISU, Y.; INABA, S.; KAWAKAMI, N.; SHIMIZU, H. Hypocholesterolemic effect of soymilk supplementation with usual diet in premenopausal normolipidemic Japanese women. **Preventive Medicine**, v. 31, p. 308-314, 2000.

TAMIME, A. Y.; MARSHALL, M. E.; ROBISON, R. K. Microbiological and technological aspects of milks fermented by bifidobacteria. **Journal of Dairy Research**, v. 62, p. 151-187, 1995.

THAM, D. M.; GARDNER, C. D.; HASKELL, W. L. Potential health benefits of dietary phytoestrogens: a review of the clinical, epidemiological, and mechanistic evidence. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 83, p. 2223-2235, 1998.

TOMOMATSU, H. Health effects of oligosaccharides. **Food Technology**, v. 48, p. 61-65, 1994.

TONSTAD, S.; SMERUD, K.; HØIE, L. A comparison of the effects of 2 doses of soy protein on serum lipids, serum lipoproteins, and plasma total homocysteine in hypercholesterolemic subjects. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 76, p. 78-84, 2002.

TRUSKEY, G.; HERRMANN, R. A.; KAIT, J.; BARBER, K. M. Focal increases in vascular cell adhesion molecule-1 and intimal macrophages at atherosclerosis-susceptible sites in the rabbit aorta after short-term cholesterol feeding. **Arteriosclerosis Thrombosis Vascular Biology**, v. 19, p. 393-401, 1999.

WAGGLE, D. H.; POTTER, S. M. Soy protein and health. **Food Australia**, v. 52, n. 1,2, p. 31-36, jan./feb., 2000.

WILCOX, J. N.; BLUMENTHAL, B. F. Thrombotic mechanisms in atherosclerosis; potential impact of soy proteins. **The Journal of Nutrition**, v. 125, n. 3 (suppl.), p. 631-638, 1995.

WONG, W. W.; SMITH, E. O.; STUFF, J. E.; HACHEY, D. L.; HEIRD, W. C.; POWNELL, H. J. Cholesterol-lowering effect of soy protein in normocholesterolemic and hypercholesterolemic men. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 68 (suppl.), p. 1385-1389, 1998.

YAMAKOSHI, J.; KATAOKA, S.; KOGA, T.; ARIGA, T. Proanthocyanidin-rich extract from grape seeds attenuates the development of aortic atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits. **Atherosclerosis**, v. 142, p. 139-149, 1999.

YAMAKOSHI, J.; PISKULA, M. K.; IZUMI, T.; TOBE, K.; SAITO, M.; KATAOKA, S.; OBATA, A.; KIKUCHI, M. Isoflavone aglycone-rich extract without soy protein attenuates atherosclerosis development in cholesterol-fed rabbits. **The Journal of Nutrition**, v. 130, p. 1887-1893, 2000.

YOKOTA, T.; HATTORI, T.; OHISHI, H.; HASEGAWA, K.; WATANABE, K. The effect of antioxidant-containing fraction from fermented soybean food on atherosclerosis development in cholesterol-fed rabbits. **Lebensm. -Wiss. U.-Technol.**, v. 29, p. 751-755, 1996.

Apêndice

Tabela 1. Níveis séricos* de colesterol total (mg/dL) de coelhos tratados com diferentes dietas, durante 105 dias (Fase 1) e 120 dias (Fase 2)

Período (dias)	Grupo A	Grupo B	Grupo C	Grupo D
0	45 ± 8	40 ± 9	35 ± 5,5	42 ± 9
15	42 ± 10	197 ± 34	43 ± 4	143 ± 37
30	28 ± 4,5	217 ± 20	33 ± 8	174 ± 16
45	28 ± 6	279 ± 5	31 ± 21	267 ± 20
60	45 ± 13	474 ± 100	38 ± 5	329 ± 84
75	49 ± 11	665 ± 178	40 ± 5	259 ± 110
90	31 ± 9	801 ± 145	35 ± 3	329 ± 85
105	28 ± 10	977 ± 127,5	40 ± 5	408 ± 70
120	36 ± 5	1181 ± 84	35 ± 6	641 ± 22
135	25 ± 5	895 ± 75	27 ± 7	467 ± 42
150	32 ± 4	645 ± 121	30 ± 4,5	644 ± 134
165	32 ± 6	684 ± 31	24 ± 7,5	703 ± 113
180	34 ± 7	716 ± 20	31 ± 6	750 ± 5
195	29 ± 5	609 ± 53	30 ± 3	857 ± 201,5
210	27 ± 4	366 ± 88	25 ± 3	839 ± 119
225	26 ± 6	244 ± 35	22 ± 2	889 ± 125

* : os valores correspondem às médias ± estimativa de desvio padrão de colesterol total de 6 animais de cada grupo na Fase 1 (0 a 105 dias) e de 4 animais de cada grupo (A e C) e de 3 animais de cada grupo (B e D) na Fase 2 (120 a 225 dias);

Fase 1: correspondeu há 105 dias de estudo utilizando coelhos jovens, cujos pesos variaram entre 2,0 e 2,5kg;

Fase 2: correspondeu há 120 dias de estudo seqüenciais a Fase 1, com inversão da dieta dos Grupos B e D entre si;

Grupo A: animais alimentados com 100g diárias de ração comercial;

Grupo B: animais alimentados com 100g diárias de ração comercial enriquecida com 0,2% de colesterol na Fase 1, suplementada com 50mL da bebida à base de extrato de soja e polpa de pêssegos na Fase 2;

Grupo C: animais alimentados com 100g diárias de ração comercial e 50mL da bebida à base de extrato de soja e polpa de pêssegos;

Grupo D: animais alimentados com 100g diárias de ração comercial enriquecida com 0,2% de colesterol e 50mL da bebida à base de extrato de soja e polpa de pêssegos na Fase 1, suprimida a bebida na Fase 2.

Tabela 2. Níveis séricos* de HDL-colesterol (mg/dL) de coelhos tratados com diferentes dietas, durante 105 dias (Fase 1) e 120 dias (Fase 2)

Período (dias)	Grupo A	Grupo B	Grupo C	Grupo D
0	23 ± 3	35 ± 3	26 ± 4	26 ± 2
15	25 ± 6	38 ± 3,5	26 ± 3,5	29 ± 6
30	26 ± 5	40 ± 3	25 ± 3	24 ± 1
45	19,5 ± 1	37 ± 5	21 ± 3	27 ± 5
60	20 ± 2	88 ± 6	20 ± 2	37 ± 10
75	21 ± 0,7	116 ± 13	19 ± 1	50 ± 12
90	29 ± 5	222 ± 33	24 ± 2,5	37 ± 10
105	22 ± 5	296 ± 34	19 ± 2	50 ± 12
120	21 ± 4	290 ± 7	20 ± 1,5	70,5 ± 5
135	25 ± 4	252 ± 102	25 ± 4	154,5 ± 36
150	30 ± 6,5	199 ± 61	21 ± 3	149 ± 7
165	20 ± 2	206 ± 9	19 ± 2	161 ± 31
180	22 ± 2	114 ± 9	18 ± 0,7	227,5 ± 18
195	21 ± 2	148 ± 16	20 ± 1	226,5 ± 25
210	22 ± 2,5	91 ± 12	20 ± 1,5	245,5 ± 7
225	19 ± 1	50 ± 5	18 ± 2	332 ± 2

* : os valores correspondem às médias ± estimativa de desvio padrão de HDL-colesterol de 6 animais de cada grupo na Fase 1 (0 a 105 dias) e de 4 animais de cada grupo (A e C) e de 3 animais de cada grupo (B e D) na Fase 2 (120 a 225 dias);

Fase 1: correspondeu há 105 dias de estudo utilizando coelhos jovens, cujos pesos variaram entre 2,0 e 2,5kg;

Fase 2: correspondeu há 120 dias de estudo sequenciais a Fase 1, com inversão da dieta dos Grupos B e D entre si;

Grupo A: animais alimentados com 100g diárias de ração comercial;

Grupo B: animais alimentados com 100g diárias de ração comercial enriquecida com 0,2% de colesterol na Fase 1, suplementada com 50mL da bebida à base de extrato de soja e polpa de pêssegos na Fase 2;

Grupo C: animais alimentados com 100g diárias de ração comercial e 50mL da bebida à base de extrato de soja e polpa de pêssegos;

Grupo D: animais alimentados com 100g diárias de ração comercial enriquecida com 0,2% de colesterol e 50mL da bebida à base de extrato de soja e polpa de pêssegos na Fase 1, suprimida a bebida na Fase 2.

Tabela 3. Níveis séricos* de triacilglicerídeos (mg/dL) de coelhos tratados com diferentes dietas, durante 105 dias (Fase 1) e 120 dias (Fase 2)

Período (dias)	Grupo A	Grupo B	Grupo C	Grupo D
0	79 ± 12	62,5 ± 14	62 ± 21	57 ± 12
15	72 ± 21	66 ± 15	63 ± 8	58 ± 10
30	72 ± 16	71 ± 13	73 ± 13	59 ± 8
45	61 ± 19	68 ± 10,5	76 ± 10	68 ± 15
60	69 ± 17	80 ± 17	76 ± 20	70 ± 9,5
75	59 ± 8	90 ± 25	77 ± 18	60 ± 12
90	71 ± 4	107 ± 23	81 ± 6	63 ± 8,5
105	67 ± 7,5	142 ± 23	106,5 ± 30,5	68,5 ± 5
120	59 ± 8	99 ± 11	66 ± 8	68,5 ± 6
135	59 ± 2	107 ± 14	55 ± 4	79 ± 1
150	55 ± 5	104,5 ± 4	65 ± 3	77 ± 13
165	64,5 ± 10,5	95 ± 3	61 ± 8	99 ± 2
180	68 ± 3	94 ± 3	55 ± 3,5	146 ± 24
195	86 ± 3	92 ± 4	76 ± 4	152 ± 22
210	74,5 ± 9	98 ± 0,6	79 ± 9	149 ± 22
225	72 ± 8	95 ± 5	74,5 ± 13	159 ± 13

* : os valores correspondem às médias ± estimativa de desvio padrão de triacilglicerídeos de 6 animais de cada grupo na Fase 1 (0 a 105 dias) e de 4 animais de cada grupo (A e C) e de 3 animais de cada grupo (B e D) na Fase 2 (120 a 225 dias);

Fase 1: correspondeu há 105 dias de estudo utilizando coelhos jovens, cujos pesos variaram entre 2,0 e 2,5kg;

Fase 2: correspondeu há 120 dias de estudo seqüenciais a Fase 1, com inversão da dieta dos Grupos B e D entre si;

Grupo A: animais alimentados com 100g diárias de ração comercial;

Grupo B: animais alimentados com 100g diárias de ração comercial enriquecida com 0,2% de colesterol na Fase 1, suplementada com 50mL da bebida à base de extrato de soja e polpa de pêssegos na Fase 2;

Grupo C: animais alimentados com 100g diárias de ração comercial e 50mL da bebida à base de extrato de soja e polpa de pêssegos;

Grupo D: animais alimentados com 100g diárias de ração comercial enriquecida com 0,2% de colesterol e 50mL da bebida à base de extrato de soja e polpa de pêssegos na Fase 1, suprimida a bebida na Fase 2.

Tabela 4. Níveis séricos* de glicose (mg/dL) de coelhos tratados com diferentes dietas, durante 105 dias (Fase 1) e 120 dias (Fase 2)

Período (dias)	Grupo A	Grupo B	Grupo C	Grupo D
0	80 ± 8	80 ± 7	73 ± 8	79 ± 5
15	73 ± 6	74 ± 8,5	75,5 ± 7	79 ± 8
30	84 ± 10	84 ± 16	92 ± 12	88 ± 6,5
45	85 ± 12	94 ± 7	105 ± 7	96 ± 7
60	95 ± 10	95,5 ± 9	102 ± 6	103 ± 11
75	95,5 ± 5	96 ± 11	98 ± 5	106 ± 11
90	98 ± 8	100 ± 10	105,5 ± 9	108 ± 8
105	97 ± 7	100 ± 5	110 ± 4	105 ± 4
120	83 ± 15,5	96 ± 3	94 ± 7	96,5 ± 3
135	99,5 ± 11	97 ± 6	98 ± 6	97 ± 9
150	87,5 ± 7	94 ± 4	88 ± 6	87 ± 12
165	98 ± 2,5	101 ± 4	102 ± 6,5	95 ± 12
180	101 ± 7	96,5 ± 4	105 ± 5	97 ± 10
195	93 ± 5	99 ± 2,5	95 ± 5	96,5 ± 10
210	89 ± 11	93 ± 3	94 ± 5	89 ± 15
225	96 ± 10	104 ± 3	102 ± 3	101 ± 13

* : os valores correspondem às médias ± estimativa de desvio padrão de glicose de 6 animais de cada grupo na Fase 1 (0 a 105 dias) e de 4 animais de cada grupo (A e C) e de 3 animais de cada grupo (B e D) na Fase 2 (120 a 225 dias);

Fase 1: correspondeu há 105 dias de estudo utilizando coelhos jovens, cujos pesos variaram entre 2,0 e 2,5kg;

Fase 2: correspondeu há 120 dias de estudo seqüenciais a Fase 1, com inversão da dieta dos Grupos B e D entre si;

Grupo A: animais alimentados com 100g diárias de ração comercial;

Grupo B: animais alimentados com 100g diárias de ração comercial enriquecida com 0,2% de colesterol na Fase 1, suplementada com 50mL da bebida à base de extrato de soja e polpa de pêssegos na Fase 2;

Grupo C: animais alimentados com 100g diárias de ração comercial e 50mL da bebida à base de extrato de soja e polpa de pêssegos;

Grupo D: animais alimentados com 100g diárias de ração comercial enriquecida com 0,2% de colesterol e 50mL da bebida à base de extrato de soja e polpa de pêssegos na Fase 1, suprimida a bebida na Fase 2.

Tabela 5. Peso*(g) de coelhos tratados com diferentes dietas, durante 117 dias (Fase 1 e 2)

Período (dias)	Grupo A	Grupo B	Grupo C	Grupo D
0	2545 ± 222	2583 ± 305	2473 ± 289,39	2548 ± 288
7	2883 ± 209,5	2937 ± 383	2793 ± 302,63	3010 ± 334
14	2877 ± 248	3023 ± 432	2817 ± 282,25	3105 ± 420
21	2970 ± 225	3152 ± 411	2942 ± 257,40	3198 ± 353
28	3145 ± 175	3283 ± 314	3067 ± 162,81	3238 ± 416
35	3157 ± 193	3315 ± 340	3107 ± 201,06	3263 ± 390
42	3367 ± 164	3520 ± 299	3292 ± 199,44	3398 ± 365
49	3475 ± 183	3585 ± 285	3352 ± 162,41	3377 ± 334
56	3463 ± 124	3660 ± 305	3423 ± 141,94	3480 ± 342
63	3638 ± 217	3692 ± 305	3548 ± 149,19	3632 ± 355
70	3753 ± 142,5	3788 ± 328	3667 ± 178,74	3720 ± 404
77	3743 ± 162	3837 ± 256	3737 ± 193,04	3735 ± 321
84	3767 ± 145	3825 ± 223	3790 ± 162,23	3760 ± 332
91	3833 ± 146	3845 ± 291	3897 ± 181,07	3830 ± 380,5
98	3915 ± 152	3950 ± 297	3923 ± 178,18	3888 ± 396,5
105	3947 ± 142	3923 ± 292	3937 ± 91,36	3937 ± 407
112	3975 ± 212	4050 ± 177	3967,5 ± 85	4050 ± 535
119	4027,5 ± 174	4147 ± 231	4025 ± 173	4120 ± 493
126	4020 ± 171,5	4120 ± 250	4007,5 ± 149	4143 ± 482
133	4067,5 ± 153,5	4153 ± 240	4022,5 ± 92	4070 ± 495
140	4035 ± 179	4107 ± 361	4007,5 ± 84	4103 ± 487,5
147	4082,5 ± 188	4153 ± 340	4080 ± 145	4127 ± 520
154	4075 ± 159	4140 ± 410	4087,5 ± 161	4103 ± 527
161	4087,5 ± 166	4180 ± 382	4087,5 ± 217	4167 ± 502
168	4090 ± 163,5	4153 ± 400	4065 ± 153	4160 ± 525

Continuação da Tabela 5...

Período (dias)	Grupo A	Grupo B	Grupo C	Grupo D
175	4047,5 ± 162	4090 ± 445	4080 ± 151	4193 ± 571
182	4127,5 ± 132,5	4223 ± 425	4082,5 ± 156	4150 ± 578
189	4110 ± 175	4123 ± 447	4067,5 ± 146	4080 ± 518,5
196	4200 ± 167	4167 ± 482	4067,5 ± 132	4103 ± 475
203	4110 ± 156	4083 ± 405	4092,5 ± 70	4100 ± 527
210	4172,5 ± 229	4023 ± 480	4047,5 ± 119	4060 ± 541
217	4245 ± 185	4227 ± 552	4152,5 ± 180	4020 ± 525

* : os valores correspondem às médias ± estimativa de desvio padrão do peso de 6 animais de cada grupo na Fase 1 (0 a 105 dias) e de 4 animais de cada grupo (A e C) e de 3 animais de cada grupo (B e D) na Fase 2 (120 a 225 dias);

Fase 1: correspondeu há 105 dias de estudo utilizando coelhos jovens, cujos pesos variaram entre 2,0 e 2,5kg;

Fase 2: correspondeu há 120 dias de estudo seqüenciais a Fase 1, com inversão da dieta dos Grupos B e D entre si;

Grupo A: animais alimentados com 100g diárias de ração comercial;

Grupo B: animais alimentados com 100g diárias de ração comercial enriquecida com 0,2% de colesterol na Fase 1, suplementada com 50mL da bebida à base de extrato de soja e polpa de pêssegos na Fase 2;

Grupo C: animais alimentados com 100g diárias de ração comercial e 50mL da bebida à base de extrato de soja e polpa de pêssegos;

Grupo D: animais alimentados com 100g diárias de ração comercial enriquecida com 0,2% de colesterol e 50mL da bebida à base de extrato de soja e polpa de pêssegos na Fase 1, suprimida a bebida na Fase 2.

Tabela 6. Contagem de bifidobactérias* (log UFC/g) em fezes de coelhos tratados com diferentes dietas, durante 105 dias (Fase 1) e 120 dias (Fase 2)

Período (dias)	Grupo A	Grupo B	Grupo C	Grupo D
0	8,4 ± 0,4	8,1 ± 0,1	7,8 ± 0,2	7,8 ± 0,3
15	8,2 ± 0,15	8,2 ± 0,6	7,9 ± 0,9	9,2 ± 0,8
30	8,6 ± 0,2	8,1 ± 0,5	8,3 ± 0,4	8,9 ± 0,1
45	8,6 ± 0,2	8,2 ± 0,3	8,9 ± 0,2	9,7 ± 0,3
60	8,2 ± 0,15	8,5 ± 0,3	9,6 ± 0,06	9,1 ± 0,1
75	8,3 ± 0,04	8,4 ± 0,3	9,4 ± 0,6	9,3 ± 0,1
90	8,8 ± 0,2	8,2 ± 0,4	9,4 ± 0,05	9,3 ± 0,5
105	8,4 ± 0,4	8,3 ± 0,4	9,9 ± 0,03	9,3 ± 0,06
120	8,3 ± 0,3	8,7 ± 0,1	9,3 ± 0,02	9,0 ± 0,6
135	8,5 ± 0,5	9,0 ± 0,7	9,5 ± 0,2	8,1 ± 0,1
150	8,5 ± 0,3	8,7 ± 0,2	9,7 ± 0,1	8,5 ± 0,2
165	8,6 ± 0,1	9,5 ± 0,6	9,6 ± 0,2	8,1 ± 0,2
180	8,9 ± 0,04	9,3 ± 0,4	9,4 ± 0,01	8,5 ± 0,2
195	8,6 ± 0,2	9,1 ± 0,1	9,4 ± 0,4	8,5 ± 0,35
210	8,5 ± 0,1	9,6 ± 0,2	9,4 ± 0,1	8,4 ± 0,4
225	8,4 ± 0,0	9,5 ± 0,6	9,5 ± 0,1	8,5 ± 0,4

* : os valores correspondem às médias ± estimativa de desvio padrão da contagem de bifidobactérias nas fezes de 6 animais de cada grupo na Fase 1 (0 a 105 dias) e de 4 animais de cada grupo (A e C) e de 3 animais de cada grupo (B e D) na Fase 2 (120 a 225 dias);

Fase 1: correspondeu há 105 dias de estudo utilizando coelhos jovens, cujos pesos variaram entre 2,0 e 2,5kg;

Fase 2: correspondeu há 120 dias de estudo sequenciais a Fase 1, com inversão da dieta dos Grupos B e D entre si;

Grupo A: animais alimentados com 100g diárias de ração comercial;

Grupo B: animais alimentados com 100g diárias de ração comercial enriquecida com 0,2% de colesterol na Fase 1, suplementada com 50mL da bebida à base de extrato de soja e polpa de pêssegos na Fase 2;

Grupo C: animais alimentados com 100g diárias de ração comercial e 50mL da bebida à base de extrato de soja e polpa de pêssegos;

Grupo D: animais alimentados com 100g diárias de ração comercial enriquecida com 0,2% de colesterol e 50mL da bebida à base de extrato de soja e polpa de pêssegos na Fase 1, suprimida a bebida na Fase 2.