

**VIABILIDADE TECNOLÓGICA DO USO DO
EXTRATO HIDROSSOLÚVEL DE SOJA NA
FABRICAÇÃO DE IOGURTE**

GIOVANA MARIA PEREIRA ASSUMPCÃO

2008

GIOVANA MARIA PEREIRA ASSUMPCÃO

**VIABILIDADE TECNOLÓGICA DO USO DO EXTRATO
HIDROSSOLÚVEL DE SOJA NA FABRICAÇÃO DE IOGURTE**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Ciência dos Alimentos, para a obtenção do título de “Mestre”.

Orientador

Prof. Dr. Luiz Ronaldo de Abreu

LAVRAS
MINAS GERAIS – BRASIL
2008

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca Central da UFLA**

Assumpção, Giovana Maria Pereira.

Viabilidade Tecnológica do uso do extrato hidrossolúvel de soja na
fabricação de iogurte / Giovana Maria Pereira Assumpção. – Lavras :
UFLA, 2008.

116 p. : il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2008.

Orientador: Luiz Ronaldo de Abreu.

Bibliografia.

1. Teste de diferença do controle. 2. Aceitabilidade. 3. Sabor. 4. Lactose. I.
Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 637.127

GIOVANA MARIA PEREIRA ASSUMPÇÃO

**VIABILIDADE TECNOLÓGICA DO USO DO EXTRATO
HIDROSSOLÚVEL DE SOJA NA FABRICAÇÃO DE IOGURTE**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Ciência dos Alimentos, para a obtenção do título de “Mestre”.

APROVADA em 4 de julho de 2008

Profa. Dra. Adelir Aparecida Saczk UFLA

Profa. Dra. Sandra Maria Pinto UFLA

Profa. Dra. Maria de Fátima Piccolo Barcelos UFLA

Prof. Luiz Ronaldo de Abreu
UFLA
(Orientador)

LAVRAS
MINAS GERAIS – BRASIL

Aos meus queridos pais, J3sus e Gecy,
pelo exemplo de vida e pelo amor dedicado a nossa fam3lia.

OFEREÇO

Aos meus pais, J3sus e Gecy; aos meus irm3os Maria Alice e Marcelo; aos meus
sobrinhos, Violeta, Tamires, Artur, Bruna e Marcela; ao meu esposo,
Alexandrino e aos meus cunhados, Fernando e Meire.
A voc3s que fazem a minha vida mais feliz, **DEDICO**.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida. Por me conduzir, guardar e me iluminar em todos os momentos, com a Sua infinita bondade e sabedoria.

À Escola Agrotécnica Federal de Barbacena, pela oportunidade de realização do Mestrado.

À Universidade Federal de Lavras e ao Departamento de Ciência dos Alimentos, pela possibilidade de execução deste trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes), pela concessão da bolsa de estudos.

À Gemacom, pela disponibilização dos ingredientes, extrato hidrossolúvel de soja e o preparado de morango, e também pelo apoio técnico, por meio do Sr. Rodrigo Stéfani.

Ao meu orientador, Professor Luiz Ronaldo de Abreu, pela confiança, pelos ensinamentos, pelas orientações e pela amizade.

À Professora Ana Carla Marques Pinheiro, pela amizade, por toda a contribuição na realização do trabalho de análise sensorial, pela disponibilidade, paciência e competência com que conduziu esta etapa.

À Professora Sandra Maria Pinto, pelas orientações e amizade.

A minha grande amiga e comadre, Gilma pela força, incentivo e otimismo em todos os momentos e também pelo seu exemplo de luta.

À Sueli, grande amiga, pela acolhida em Lavras, pelo carinho, por toda a ajuda e disponibilidade em todos os momentos.

À amiga Gracinha, pelo carinho, companheirismo e ajuda em todos os momentos em que precisei.

A Creuza, pela amizade, carinho, confiança e por toda valiosa ajuda em todas as etapas deste trabalho.

Às laboratoristas Tina, Sandra, Cidinha e Creuza, por todo o apoio.

A Bel, pela valiosa ajuda nas análises microbiológicas, pela sua dedicação, seriedade, compromisso e competência.

A Camila (BH,) pela atenção e ajuda nas análises microbiológicas.

A Tatiana Nunes e Gracinha, pela ajuda nas análises de viscosidade.

Aos colegas Hemerson e Andréa, pelo apoio e incentivo durante todo o curso.

A todos que participaram das análises sensoriais.

Ao Daniel (aluno de Doutorado do Departamento de Zootecnia), pela valiosa ajuda na liofilização das amostras de iogurte.

Aos colegas do curso, pela convivência, incentivo e alegrias compartilhadas.

Aos meus familiares, pelo apoio e carinho em todos os momentos.

Ao meu esposo, Alexandrino, pelo amor, paciência e apoio.

E a Deus por todos.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO GERAL	i
GENERAL ABSTRACT	iii
1 Introdução Geral	1
2 Referencial Teórico.....	3
2.1 O iogurte	3
2.2 Processo fermentativo.....	4
2.3 Benefícios do consumo do iogurte.....	6
2.4 A soja	8
2.5 Características nutricionais, sensoriais e funcionais da soja.....	8
2.6 O extrato hidrossolúvel de soja.....	15
2.7 A combinação soja x iogurte	16
3 Referências Bibliográficas	22
CAPÍTULO 1: Estudo sensorial de iogurte de morango com extrato hidrossolúvel de soja.....	30
1 Resumo	31
2 Abstract.....	32
3 Introdução	33
4 Material e Métodos	35
4.1 Etapa I - Teste de ordenação de preferência	37
4.1.1 Análise estatística	38
4.2 Etapa II - Teste de diferença do controle	38
4.2.1 Teste de diferença do controle	40
4.2.2 Análise estatística	42
4.3 Etapa III - Teste de diferença do controle e teste de aceitação	42

4.4 Teste de aceitação	45
4.4.1 Análise estatística	47
4.4.2 Delineamento estatístico	47
5 Resultados e Discussão	48
5.1 Etapa 1: teste de ordenação de preferência	48
5.2 Etapa 2: Teste de diferença do controle	49
5.3 Etapa 3 - Teste de diferença do controle e teste de aceitação	51
6 Conclusões	54
7 Referências Bibliográficas	55
CAPÍTULO 2: Aspectos químicos, físicos, físico-químicos e microbiológicos de iogurtes de morango com diferentes concentrações de proteína do extrato hidrossolúvel de soja, armazenados, por 30 dias, a 4°C.	57
1 Resumo	58
2 Abstract	59
3 Introdução	60
4 Material e Métodos	62
4.1 Definição das concentrações de extrato hidrossolúvel de soja	62
4.2 Matéria-prima	62
4.3 Ingredientes	62
4.4 Análises	63
4.4.1 Análises físico-químicas do leite	63
4.4.2 Análises da composição-química do extrato hidrossolúvel de soja	64
4.5 Etapas de obtenção dos iogurtes	65
4.5.1 Preparo da cultura láctica	65
4.5.2 Cálculo das quantidades de extrato hidrossolúvel de soja a serem adicionadas aos iogurtes	65
4.5.3 Fabricação dos iogurtes	66
4.5.4 Parâmetros tecnológicos	68

4.6 Análises do iogurte no armazenamento	68
4.6.1 pH	68
4.6.2 Composição centesimal	68
4.6.3 Lactose	69
4.6.4 Determinação da cor	69
4.6.5 Determinação da viscosidade	69
4.6.6 Atividade de água	70
4.6.7 Perfil de aminoácidos (aminograma)	70
4.6.8 Determinação do escore químico de aminoácidos	71
4.6.9 Contagem de cocos e bacilos	71
4.6.9.1 Preparo das diluições	71
4.6.9.2 Preparo das lâminas	72
4.7 Delineamento estatístico	72
4.8 Análises estatísticas	72
5 Resultados e Discussão	74
5.1 Análises físico-químicas do leite	74
5.2 Análises químicas do EHS	75
5.3 Parâmetros tecnológicos	75
5.4 pH no período de armazenamento dos iogurtes	77
5.5 Umidade	79
5.6 Proteína	81
5.7 Gordura	82
5.8 Cinzas	84
5.9 Lactose	85
5.10 Cor	88
5.11 Viscosidade	90
5.12 Atividade de água	93
5.13 Perfil de aminoácidos	94

5.14 Contagem cocos e bacilos.....	97
6 Conclusões.....	103
7 Considerações Finais	104
8 Referências Bibliográficas.....	105
ANEXOS	111

RESUMO GERAL

ASSUMPÇÃO, Giovana Maria Pereira. **Viabilidade tecnológica do uso do extrato hidrossolúvel de soja na fabricação de iogurte**. 2008. 116 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.*

Este trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar, sob os aspectos sensoriais, físicos, químicos, físico-químicos e microbiológicos, a utilização de proteína do extrato hidrossolúvel de soja (EHS) na fabricação de iogurtes. Iogurtes com 0%, 10%, 20% e 30% de proteína do extrato hidrossolúvel de soja/proteína do leite foram avaliados pelo Teste de Ordenação de Preferência. A partir dos resultados deste teste, foram definidas oito concentrações, que foram avaliados pelo Teste de Diferença do Controle, identificando a(s) concentração(ões) que proporciona(m) menor diferença do iogurte controle em relação ao sabor. Fixou-se a maior concentração de proteína do extrato hidrossolúvel de soja/proteína do leite com menor grau de diferença de sabor em relação ao iogurte controle e variaram-se as concentrações de açúcar. Avaliou-se, então, pelo Teste de Diferença do Controle, o grau de diferença do sabor de soja entre esses iogurtes e o iogurte controle. Posteriormente, aplicou-se o Teste de Aceitação. O resultado do Teste de Preferência demonstrou que o iogurte com 10% de proteína do EHS/proteína do leite foi tão preferido quanto o iogurte controle e o iogurte com 20% foi tão preferido quanto o com 10% de proteína do EHS/proteína do leite, mas diferente do controle. A menor preferência foi para o iogurte com 30% de proteína de EHS/proteína do leite. Foram definidos os iogurtes com as concentrações 8%, 10%, 12%, 14%, 16%, 18%, 20% e 22% de proteína do EHS/proteína do leite e avaliados pelo Teste de Diferença do Controle. Identificou-se que as concentrações de 8%, 10% e 12% de proteína do extrato hidrossolúvel de soja/proteína do leite possibilitaram menor diferença do iogurte controle (sem proteína do EHS), em relação ao sabor. Dando continuidade ao trabalho, fixou-se 12% de proteína do EHS/proteína do leite, variando-se concentrações de açúcar (10%, 11% e 12%), que foram avaliadas pelo Teste de Diferença do Controle. Houve diferença entre o iogurte controle e aqueles com diferentes concentrações de açúcar. Os mesmos iogurtes foram avaliados pelo Teste de Aceitação. O aumento da concentração do açúcar não melhora a aceitabilidade dos iogurtes com proteína do EHS/proteína do leite em relação ao controle (sem EHS). O extrato hidrossolúvel de soja diminui a aceitação do iogurte. Sob os aspectos físicos, químicos, físico-químicos e

*Comitê de Orientação: Luiz Ronaldo de Abreu - UFLA (Orientador), Sandra Maria Pinto – UFLA e Ana Carla Marques Pinheiro - UFLA

microbiológicos, foram avaliados os iogurtes de morango com 8%, 10% e 12% de proteína do EHS/proteína do leite mais o iogurte controle (sem EHS), armazenados por 30 dias, a 4°C. Estes tratamentos foram definidos pelo resultado do Teste de Diferença do Controle que mostrou que esses iogurtes apresentam menor diferença de sabor de soja em relação ao iogurte controle. Os maiores valores de proteínas, cinzas, gordura e viscosidade foram obtidos no tratamento com 12% de proteína de EHS/proteína do leite. Maior umidade foi observada no tratamento com 8% de proteína de EHS/proteína do leite. O aminoácido lisina foi limitante nos iogurtes com proteína do EHS. Os valores de pH, lactose e viscosidade sofreram influência isolada do tempo de armazenamento. A viscosidade foi melhorada em relação ao iogurte controle. A atividade de água não foi influenciada pelos tratamentos e pelo tempo de armazenagem. Em relação à cor, maiores valores da coordenada b* foram observados nos tratamentos com 10% e 12% de proteína do EHS/proteína do leite. Entre todos os tratamentos e em todos os períodos de armazenamento, foram registradas maiores contagens de cocos em relação aos bacilos. O uso do EHS na fabricação do iogurte não inibiu o crescimento e o desenvolvimento dos microrganismos da cultura láctica. Pôde-se estabelecer 30 dias como tempo ideal para a conservação dos iogurtes estudados, considerando-se os parâmetros avaliados neste trabalho.

GENERAL ABSTRACT

ASSUMPCÃO, Giovana Maria Pereira. **Technological viability of the use of soybean hydro soluble extract in yogurt manufacturing.** 2008. 116 p. Dissertation (Master in Food Science) – Federal University of Lavras, Lavras, MG, Brasil.*

This work was carried out with the objective of evaluating, under the sensorial, physical, physicochemical and microbiological aspects, the use of soybean hydro soluble extract (SHSE) protein in yogurt manufacturing. Yogurts with 0%, 10%, 20% and 30% of soybean hydro soluble extract protein/milk protein were evaluated by the Preference Ranking Test. From the results of this test, eight concentrations were defined, which were evaluated by the Difference Test of the Control, identifying the concentrations (s) which provided less difference from the control yogurt concerning flavor properties. The highest protein concentration of the soybean hydro soluble extract protein/milk protein with lowest degree of difference of flavor relative to the control yogurt was set and the sugar concentrations were determined. Then flavor difference degree of soybean flavor among these yogurts and the control yogurt was evaluated, by the Control Difference Test. Afterwards, the Acceptance Test was applied. The result of the Preference Test showed that the yogurt with 10% of protein of SHSE/milk protein was as preferred as the control yogurt and the yogurt with 20% was as preferred as the one with 10% of protein of SHSE/milk protein, but different from the control. The least preference was observed for the yogurt with 30% of SHSE protein/milk protein. The yogurts with the concentrations of 8%, 10%, 12%, 14%, 16%, 18%, 20% and 22% SHSE/milk protein were evaluated by the Control Difference Test. It was identified that the concentrations of 8%, 10% and 12% of SHSE protein/milk protein enabled less difference of the control yogurt (without SHSE protein) in relation to flavor. Giving continuity to the work, 12% of SHSE protein/milk protein was set, ranging the sugar concentrations (10%, 11% and 12%), which were evaluated by the Control Difference Test. There was difference between the control yogurt and those with different sugar concentrations. The same yogurts were evaluated by the Acceptance Test. The increase of the sugar concentration does not improve the acceptability of the yogurts with SHSE protein/milk protein relative to the control (without SHSE). Soybean hydro soluble extract decreased the acceptance of the yogurt. Under the physical, chemical, physicochemical and

*Guidance committee: Luiz Ronaldo de Abreu - UFLA (Adviser), Sandra Maria Pinto – UFLA and Ana Carla Marques Pinheiro-UFLA

microbiological aspects, the strawberry yogurts with 8%, 10% and 12% of SHSE proteins/milk protein plus the control yogurt (without SHSE), stored for 30 days at 4°C were evaluated. These treatments were defined by the result of the Control Difference Test which showed that those yogurts presented less difference of soybean flavor relative to the control yogurt. The highest values of proteins, ashes, fat and viscosity were obtained in the treatment with 12% of SHSE protein/milk protein. Higher moisture was found in the treatment with 8% of SHSE protein/milk protein. The aminoacid lysine was limiting in the yogurts with SHSE protein. The values of pH, lactose and viscosity underwent isolated influence from storage time. Viscosity was improved relative to the control yogurt. Water activity was not influenced by the treatments and by storage time. In relation to color, greater values of coordinate b* were found in the treatments with 10% and 12% of SHSE protein/milk protein. Among all the treatments and in all the storage periods, higher counts of cocci relative to bacilli were recorded. The use of SHSE in yogurt manufacturing did not inhibit the growth and development of microorganisms of the lactic acid culture. 30 days could be established as the ideal period of shelf life of the studied yogurts, taking into account the parameters evaluated in this work.

1 INTRODUÇÃO GERAL

Vários tipos de produtos podem ser obtidos pela fermentação do leite. Dentre eles, o iogurte se destaca por ser o mais produzido e consumido em todo o mundo.

O Padrão de Identidade e Qualidade (PIQ) de leites fermentados (Resolução nº. 5/2000-MAPA) define iogurte como sendo o produto obtido pela fermentação láctica do leite, cuja fermentação se realiza com cultivos protossimbóticos de *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgaricus*. A estes podem-se adicionar, de forma complementar, outras bactérias ácido-lácticas que, por sua atividade, contribuem para a determinação das características do produto final (Brasil, 2000).

O iogurte é, nutricionalmente, melhor que a matéria-prima que o originou, pois os microrganismos utilizados na fermentação do leite na fabricação do iogurte fermentam a lactose, diminuindo a sua concentração e podendo trazer benefícios às pessoas intolerantes a este açúcar característico do leite. Os lactobacilos hidrolisam parcialmente as proteínas aumentando seu valor biológico. Além disso, há uma lipólise parcial e a geração de certas vitaminas.

Para a indústria de laticínios, o iogurte apresenta grande interesse econômico, pois permite lucros consideráveis devido ao seu baixo custo de produção e considerável preço de comercialização. Soma-se a isso o fato de que aditivos diversos são utilizados, o que lhe confere melhoria do sabor e do aroma, tornando-o atrativo, principalmente para as crianças – muitas das quais não gostam de tomar o leite – e consomem iogurte pelo seu “flavor”, mais do que por outro fator.

Muitos aditivos empregados promovem também a prevenção de alguns defeitos do iogurte, como dessoramento, baixa consistência, textura defeituosa,

etc. Dentre esses, o extrato hidrossolúvel de soja se apresenta como um dos mais promissores e que merece ser mais profundamente investigado pelo seu alto valor protéico e, principalmente, pelo seu aspecto tecnológico.

Aspectos tecnológicos do emprego do extrato hidrossolúvel de soja na fabricação do iogurte necessitam ser ainda melhor elucidados, destacando-se a influência deste no processo fermentativo: na relação de cocos e bacilos e na geração de compostos intermediários que influenciam a formação de odores e de sabores estranhos.

Apesar da magnitude da produção anual brasileira da soja, tornando-a econômica e socialmente importante, assim como suas características nutricionais e o seu potencial tecnológico, existem limitações principalmente pelos povos ocidentais na sua utilização como alimento devido ao seu sabor, tornando-se necessário o desenvolvimento de novas tecnologias para contornar esse problema. Neste contexto, o presente trabalho foi realizado com os seguintes objetivos:

- objetivo geral:

. avaliar, sob os aspectos sensoriais, tecnológicos e nutricionais, o uso do extrato hidrossolúvel de soja (EHS) na fabricação do iogurte;

- objetivos específicos:

⇒ identificar o máximo incremento de proteína de EHS utilizado como ingrediente na fabricação do iogurte que confere a menor diferença em relação ao sabor comparado ao iogurte controle;

⇒ avaliar o efeito de diferentes teores de açúcar na aceitação do iogurte com EHS em relação ao iogurte controle (sem EHS) e

⇒ avaliar as características físicas (viscosidade, cor e atividade de água), químicas (umidade, proteína, gordura, cinzas, lactose e o perfil de aminoácidos), físico-químicas (pH e acidez), microbiológicas (relação de cocos e bacilos) e de iogurtes elaborados com diferentes concentrações de proteína do EHS.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 O iogurte

A acidificação é um dos métodos mais antigos de preservação do leite e tem sido utilizada em várias partes do mundo, originando vários produtos. O leite fermentado surgiu na Mesopotâmia, há cerca de 5000 a.C. Desde então, o consumo em diferentes formas tem persistido, sendo o iogurte o mais conhecido e o mais consumido.

Originário, provavelmente, do Oriente Médio, a evolução deste produto fermentado ao longo dos anos pode ser atribuída às habilidades culinárias dos povos nômades daquela parte do mundo (Tamime & Robinson, 1991). O termo iogurte é derivado da palavra “jugurt”, porém, recebe diferentes denominações de acordo com as regiões do mundo, como na Bulgária, onde é chamado de “yaourt”, destacando-se como importante alimento da dieta, com características de sabor e aroma agradáveis e de grande digestibilidade (Salado & Andrade, 1989).

A base científica da relação entre os efeitos benéficos do iogurte e a promoção foi lançada por Elief Metchnikoff, no começo do século XIX, que relacionou saúde com grande consumo de leite ácido, por parte de populações búlgaras. Este fato influenciou de forma significativa a difusão do produto em vários países da Europa (Tamime, 1997).

A produção, em escala comercial, dos leites fermentados, principalmente do iogurte, teve início somente após a Segunda Guerra Mundial, mas o aumento do consumo aconteceu somente a partir da década de 1960, devido às melhorias nas técnicas de processamento, reconhecimento da qualidade nutritiva e de suas funções terapêuticas.

No Brasil, o iogurte foi introduzido, na década de 1930, por imigrantes europeus (Tamine & Robinson, 1985) e o aumento do consumo começou em 1970 e continuou com uma taxa excepcional de crescimento. Nas últimas três décadas foi registrado um aumento de oito vezes o volume de vendas, o que pode estar relacionado à imagem positiva de alimento saudável e nutritivo com propriedades terapêuticas, associado às propriedades sensoriais. Também contribuíram as constantes sofisticações tecnológicas, dando origem a novos produtos, cujos fabricantes preocupam-se em atender aos interesses dos consumidores por produtos diferenciados que mantenham suas características originais preservadas.

2.2 Processo fermentativo

A fermentação do leite na fabricação do iogurte se dá por meio da ação de duas bactérias, *Streptococcus thermophilus* e do *Lactobacillus delbrueckii subs. bulgaricus* sobre a lactose. A associação destes dois microrganismos é benéfica, embora não dispensável, para as duas espécies e se dá por meio de uma cooperação, conhecida também como protocooperação. Esta interação positiva é facilmente evidenciada quando se compara a produção de ácido láctico em culturas puras e mistas das duas espécies. A quantidade de ácido produzida é superior à soma da acidez produzida por cada uma das culturas puras, esta cooperação se manifesta também pela redução do tempo de latência, por uma maior resistência a concentrações elevadas de sacarose e também pelo aumento da viscosidade do produto final. Esta estimulação dentro da cultura se explica pelas exigências diferentes em fatores de crescimento dos dois microrganismos (Roissart & Luquet, 1994).

O *Lactobacillus delbrueckii subs. bulgaricus* é capaz de hidrolisar a caseína em aminoácidos essenciais (valina, histidina e leucina) que estimulam o crescimento do *Streptococcus thermophilus*. Este, por sua vez, consome o

oxigênio remanescente, produz ácido láctico e ácido fórmico, reduzindo o pH do meio a patamares ótimos de crescimento para o *Lactobacillus* subs. *bulgaricus*. O ácido láctico resultante da fermentação contribui para a desestabilização da micela de caseína, provocando sua coagulação no ponto isoelétrico (pH 4,6-4,7) e conduzindo à formação de um gel, o iogurte.

Durante o processo de fermentação, ocorre, além da produção de ácido láctico como produto principal, diacetil, acetoínas, ácido acético e acetaldeído, sendo este último o principal composto aromático ligado à formação do sabor e aroma peculiares do iogurte. Este composto é produzido, principalmente, pelo *Lactobacillus delbrueckii* subs. *Bulgaricus*, sendo a glicose o principal precursor, respondendo por mais de 90% do acetaldeído produzido. Citrato e L-treonina também são consideradas importantes na formação do acetaldeído, além de compostos como o diacetil e o etanol (Ott et al., 2000).

O *Streptococcus thermophilus* produz uma pequena quantidade de acetaldeído, que é considerada sem importância para o “flavor”. Pinto & Abreu (2001) avaliaram a produção de acetaldeído em leites fermentados elaborados com culturas puras de *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus* e cultura mista dos dois microrganismos. Estes autores observaram que a maior produção de acetaldeído, em 6 horas de incubação, foi obtida em produtos elaborados com cultura pura de *Streptococcus thermophilus*, seguida do produto elaborado com cultura mista e pelo produto elaborado com cultura pura de *Lactobacillus bulgaricus*. Este fato está relacionado às condições do meio favoráveis aos estreptococos, que mantiveram a população destes elevada, enquanto os lactobacilos iniciaram seu crescimento após algumas horas, já no período de armazenamento, quando o meio passou a lhe ser favorável. Entretanto, após 24 horas de armazenamento a 4°C, a produção de acetaldeído em produtos elaborados com a cultura pura de *Lactobacillus bulgaricus* ultrapassou a produção deste composto aromático em produtos elaborados com

cultura pura de *Streptococcus thermophilus* e pela cultura mista. Isso confirma que o *Lactobacillus bulgaricus* é o principal produtor de acetaldeído, embora essa produção iniciar-se mais tarde do que para o *Streptococcus thermophilus*.

2.3 Benefícios do consumo do iogurte

O iogurte é um produto altamente nutritivo, rico em cálcio, proteínas e fósforo, magnésio e zinco. Seu valor nutritivo se assemelha ao da matéria-prima utilizada para a sua fabricação, acrescida dos nutrientes metabolizados pelas bactérias envolvidas no processo fermentativo (Tamine & Deeth, 1980). As condições de processamento, os tipos de microrganismos utilizados e a natureza da matéria-prima resultam em produtos fermentados com diferentes características de textura, sabor e composição. Durante a fermentação, ocorre uma hidrólise parcial da proteína, da gordura e da lactose do leite, tornando o produto facilmente digerível e considerado agente regulador das funções digestivas (Teixeira et al., 2000; Rodas et al., 2001).

O iogurte é uma forma segura de ingestão de cálcio e pode ser benéfico para as pessoas que apresentam má absorção da lactose, devido à redução deste açúcar, em média, de 20% a 30%.

A maior digestibilidade das proteínas do iogurte está relacionada a fatores como tratamento térmico mais intenso, estímulo da secreção das enzimas digestivas das glândulas salivares pelas partículas de proteínas coaguladas, homogeneização, quando utilizada, alta acidez e pela quebra das proteínas pelos lactobacilos. Em estudo comparativo entre a digestibilidade do leite e do iogurte, citado por Blumer (1989), 44% do leite é digerido em 3 horas e 96,5% do iogurte é digerido no mesmo período.

A ação dos microrganismos fermentadores leva ao aumento do teor de vitaminas do complexo B em leites fermentados, conforme observado por Ferreira (1997) que, ao comparar os valores destes compostos em leite *in natura*

e de leites fermentados, observou que os valores de niacina, ácido pantotênico, ácido fólico e vitamina B12 foram superiores nos diferentes tipos de produtos lácticos fermentados.

Outras propriedades também se relacionam aos iogurtes, como os efeitos inibitórios de agentes patógenos. A produção de ácidos orgânicos, como o ácido láctico na forma L (+) e ácido acético, produzidos pelo *Streptococcus thermophilus* e a concomitante redução do pH restringem o crescimento de microrganismos patogênicos e putrefativos ácido-sensíveis (Gomes & Malcata, 1999).

A relação benéfica da presença do *Lactobacillus bulgaricus* no iogurte tem sido reportada na literatura pela produção de antibióticos naturais contra *Salmonella*, *Shigella*, *Pseudomonas* e *Escherichia coli*, assim como a prevenção de diarreias enteropatogênicas associadas ao uso prolongado de antibióticos (Brandão, 1995). Fondén et al. (2000) afirmam que produtos lácteos fermentados com bactérias lácticas têm sido usados no tratamento de doenças do trato digestório, como intolerância à lactose, gastroenterites agudas, efeitos adversos da radioterapia, constipação e alergias alimentares, dentre outras. Efeitos anticarcinogênicos também podem ser atribuídos, conforme citado em estudo de LeMonique (1998), que pesquisou, na França, mulheres com câncer de mama e mulheres saudáveis e encontraram associação positiva entre o consumo de gordura e o risco de câncer de mama e associação negativa entre o uso freqüente de iogurte e o risco da doença. Estudos realizados em modelos experimentais sugerem que as bactérias lácticas podem influenciar os mecanismos ligados à carcinogênese, diminuindo o pH do lúmen intestinal e ativando o sistema imunológico (Meydani & Kiu Ha, 2000).

O papel da dieta no controle de níveis do colesterol sanguíneo tem sido aceito e pesquisadores sugerem que dietas suplementadas com iogurtes exerçam efeito redutor importante na aterosclerose de indivíduos hipocolesterolêmicos

(Saboya et al., 1997). Os mesmos pesquisadores observaram que os lactobacilos do iogurte causam desconjugação dos sais biliares no intestino delgado, causando conseqüente perda de ácidos biliares, não podendo ser reciclados. Devido a isso, o organismo usa mais colesterol para fabricar sais biliares, diminuindo o nível de colesterol sérico. Entretanto, o iogurte pode apresentar defeitos, como dessoragem e baixa consistência, dentre outros. Para corrigir ou minimizar esses defeitos, têm sido utilizados alguns ingredientes, sendo o extrato hidrossolúvel de soja (EHS) um dos que, além de melhorar o “corpo” do iogurte, pode contribuir também para o aumento de seu valor nutritivo.

2.4 A soja

A soja [*Glycine max* (L.) Merrill] é um produto agrícola que tem despertado grande interesse, em âmbito mundial, graças à versatilidade de aplicação de seus produtos na alimentação humana e animal e ao seu valor econômico nos mercados nacional e internacional.

O Brasil é o segundo maior produtor e o maior exportador de soja, que é cultivada em várias regiões do país. A principal região produtora é a Centro-Sul, com destaque para os estados do Mato Grosso e do Paraná. A safra 2007/2008 registrou produção de 58,1 milhões de toneladas (Companhia Nacional de Abastecimento – Conab, 2008). Isso faz com que o uso da soja integral ou de seus derivados, como ingredientes ou aditivos em produtos alimentícios em geral e lácteos em particular, dê a essa fabaceae utilizações nobres, elevando sua importância econômica, social e estratégica para o país.

2.5 Características nutricionais, sensoriais e funcionais da soja

A soja se destaca pela sua grande importância na alimentação humana, pela sua riqueza em proteínas (30% a 40%) e lipídios (15% a 25%). Suas proteínas são ricas em aminoácidos, como a arginina, leucina e lisina, com

deficiência observada para metionina e cisteína (Nielsen, 1995), além de ser fonte de minerais, vitaminas e fibras, e, ainda, quantidade reduzida de gordura saturada e ausência de colesterol. Os carboidratos presentes nos grãos representam cerca de 34% do seu peso, incluindo os oligossacarídeos, como rafinose e estaquiose, ambos com comprovado potencial prebiótico (Fuchs et al., 2005).

Entretanto, a soja possui fatores que limitam a sua utilização, devido, principalmente, à presença de fatores antinutricionais, alguns termolábeis e outros termorresistentes, como inibidores de enzimas digestivas, lectinas ou hemaglutininas; fatores causadores de flatulência relacionados à presença da rafinose e estaquiose e a presença da enzima lipoxigenase, que é responsável pelo aparecimento do sabor descrito como amargo ou adstringente.

Devido à importância desses fatores, pesquisas têm sido realizadas para a obtenção de cultivares mais adaptáveis à alimentação humana, abrangendo caracteres específicos, como sabor suave (Torres-Pearanda & Reitmeier, 2001), alto teor e melhor qualidade de proteínas (Moraes et al., 2006), reduzidos teores de inibidores de tripsina (Moraes, 2002) e o uso de tratamento térmico adequado na inativação do inibidor de tripsina e lectina. Tecnicamente, vários métodos têm sido usados para a redução do teor dos oligossacarídeos, no sentido de aumentar a aceitabilidade da soja na alimentação: o tratamento enzimático, a hidratação dos grãos, o cozimento, a fermentação e a germinação têm se apresentado como promissores.

Apesar do seu reconhecido potencial nutricional e funcional, a aceitação sensorial da soja é uma barreira para o seu uso na cultura ocidental, devido ao sabor e ao aroma desagradáveis ao paladar dos consumidores brasileiros, oriundos de compostos presentes no interior dos grãos e de outros formados durante o processamento. A presença da lipoxigenase nos produtos à base de soja pode resultar em aromas e sabor indesejáveis, devido à hidroperoxidação de

ácidos graxos e à interação com proteínas. Os compostos voláteis formados são responsáveis pelo sabor herbáceo ou de feijão cru (beany flavor). Entre estes os principais identificados por Moskowitz (1983) estão: aldeídos, acetais, ésteres, compostos sulfurados, hidrocarbonetos, cetonas, álcool 1-pentilfurano, ácido hexanóico, gama nanolactona e o hexanal, sendo este último o componente volátil que se forma em maior quantidade. A maioria destes compostos apresenta sabor desagradável, especialmente a etilvinilcetona, que apresenta sabor típico de soja crua (Moskowitz, 1983; Wilkens & Lins, 1970). De modo geral, aquecimento úmido ou vapor direto, utilizados em grãos de soja, são eficientes na inativação da lipoxigenase. Os compostos não voláteis são responsáveis pelo sabor amargo e adstringente, os quais são formados por deterioração oxidativa de aminoácidos e por hidrólise enzimática (Hsieh et al. 1982; Baldini et al., 1983).

As isoflavonas genistina e daidzina também têm sido responsabilizadas pelos sabores adstringentes e amargos dos produtos derivados da soja (Kitamura, 1995). O sabor amargo e adstringente advém de uma estrutura molecular complexa. É uma característica sensorial reconhecida primariamente por células gustativas, cujo mecanismo de percepção ainda não é bem compreendido (Lesschaeve & Noble, 2005). Sua descrição sensorial está associada com rugosidade e aspereza e sensação de boca seca e é quimicamente definida como componente de precipitado de proteínas. Fenóis hidrossolúveis de peso molecular entre 500 a 3.000 são considerados os responsáveis por esta precipitação protéica.

O fluxo salivar é um fator fisiológico que está relacionado à maior ou à menor capacidade de percepção do sabor amargo e da sensação de adstringência. Quanto maior o fluxo salivar, maior a percepção destas sensações, pois 23% da proteína salivar é rica em prolina, o qual tem forte afinidade por polifenóis adstringentes (Lesschaeve & Noble, 2005).

Sob o aspecto funcional, a soja tem se destacado à medida que atua no controle e na prevenção de doenças. Por definição, é considerado alimento funcional “o alimento ou ingrediente que além de exercer funções nutricionais básicas, quando se tratar de nutriente, produzir efeitos metabólicos e/ou fisiológicos e/ou efeitos benéficos à saúde, devendo ser seguro para consumo sem supervisão médica” (Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA, 1999).

As características químicas e nutricionais da soja a qualificam como um alimento funcional. Além da qualidade de sua proteína, a soja pode ser utilizada de forma preventiva e terapêutica no tratamento de doenças cardiovasculares, câncer, osteoporose e sintomas da menopausa (Hasler, 1998). Em experimentos com animais e humanos, tem sido verificado que a soja imprime vários benefícios à saúde, dentre eles a ação das suas proteínas na redução do nível de colesterol e triacilglicerol.

Vários mecanismos têm sido postulados na ação de substâncias ligadas à proteína, como aminoácidos, inibidores de tripsina, saponinas, ácido fítico, com a ação hipocolesterolêmica desta fabaceae. Torres et al. (2006) relacionou a administração de lisina com o efeito anticolesterolêmico da soja em animais, por meio da diminuição da proporção de insulina/glucagon que, quando alta, tem relação direta com o risco de doenças cardiovasculares. Os inibidores de tripsina e as saponinas têm sido relacionados com o aumento da síntese de ácidos biliares e redução do colesterol circulante (Miura et al., 2000). Em outro estudo, Erdman (2000) relacionou a propriedade quelante do ácido fítico em relação ao zinco, diminuindo sua absorção e aumentando a absorção do cobre, contribuindo para a ação hipocolesterolêmica.

Outra substância presente na soja que está relacionada à sua funcionalidade são as isoflavonas, compostos fenólicos pertencentes ao grupo dos flavonóides, cujos efeitos biológicos benéficos à saúde, tais como anti-

estrogênico, estrogênico, anticarcinogênico, antioxidante e hipocolesterolêmico, têm sido largamente estudados. Epidemiologistas em nutrição atribuíram a uma dieta rica em soja as melhores condições vasculares e ósseas de mulheres asiáticas, comparadas às mulheres ocidentais (Brouns, 2002). As isoflavonas da soja apresentam estrutura composta por dois anéis benzeno e um terceiro ligado ao carbono três. Podem existir, segundo Jackson et al. (2002), em quatro formas químicas:

- aglucona, sem o respectivo açúcar (daidzeína genisteína e gliciteína) (Figura 1A);

- β glicosídica, com uma glucose ligada ao anel benzeno (daidzina, genistina e glicitina) (7-O-glicosídios) (Figura 1B);

- nas formas conjugadas com grupos acetil (6''-O-acetildaidzina, 6''-O-acetilgenistina e 6''-O-acetilglicitina) e

- nas formas conjugadas com grupos malonil (6''-O-malonildaizina, 6''-O-malonilgenistina e 6''-O-malonilglicitina) (Figura 1B); assim, há 12 isômeros possíveis de isoflavonas.

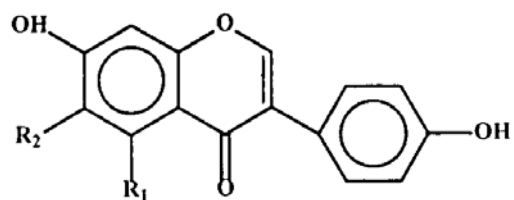
As formas agliconas são biologicamente ativas no corpo. Após a ingestão, as formas conjugadas das isoflavonas são hidrolisadas pelas β -glucosidases de bactérias intestinais, liberando as principais agliconas, daidzeína e genisteína (Setchell & Cassidy, 1999). Essas podem ser absorvidas e ou metabolizadas por bactérias intestinais.

Tem sido proposto que o metabolismo intestinal é essencial para a absorção e a biodisponibilidade das isoflavonas e que a capacidade potencial das isoflavonas em prevenir o câncer e outras doenças crônicas depende dessa biodisponibilidade (Ren et al., 2001). Estudos demonstram que as condições de processamento da soja alteram o teor e o perfil das isoflavonas (Fernandes et al., 2003; Wang et al., 2005; Wang & Murphy, 1996). Os tratamentos térmicos e os procedimentos aquosos são considerados significantes nesse aspecto. Em relação

à presença das isoflavonas e de suas formas em derivados da soja, estas dependem do tipo de produto e do processamento ao qual foi submetida.

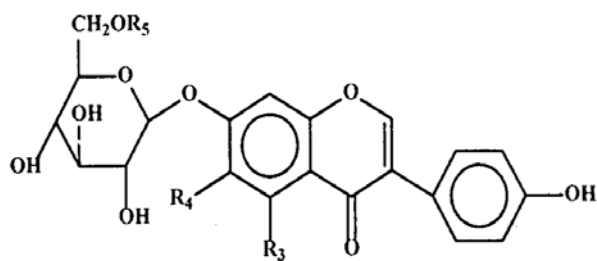
Rossi et al. (2004) quantificaram as isoflavonas nas diversas etapas do processamento de “iogurte” de soja fermentado com *E. faecium* e *L. jugurti*. e demonstraram que o processamento causou redução de 92% no teor total de isoflavonas em relação ao grão *in natura*. Ciabotti et al. (2006) observaram perdas ocorridas na composição de isoflavonas do tofu, comparadas com o grão de soja comum e ao grão de soja comum branqueado de 38% e 31%, respectivamente. Choi & Sohn (1997) encontraram níveis muito baixos de isoflavonas no “leite” de soja, como consequência das perdas na etapa de cozimento dos grãos. Na Figura 1 são apresentadas as estruturas químicas das isoflavonas.

Em derivados da soja não fermentados verificou-se que de 97% a 98% do conteúdo total de isoflavonas encontra-se na forma esterificada, e a distribuição entre essas formas varia de um produto para outro (Wang & Murphy, 1994b). Ao avaliar o perfil de isoflavonas em produto similar ao tofu com diferentes proporções de extrato de soja e soro, Ciabotti et al. (2007) verificou que as forma predominantes foram malonil-glicosídicas. Por outro lado, Fukutake (1996) e Wang & Murphy (1994a) observaram, em produtos fermentados de soja, tais como miso, tempeh e pasta de soja, a predominância das agliconas em relação às formas conjugadas, decorrente de uma quebra das ligações β -glicosil da sua forma glicosídica (genistina), por ação dos microrganismos durante o processo fermentativo. A adição de outras matérias-primas, que não contém isoflavonas em sua formulação, provoca a diluição destas, diminuindo sua concentração, o que foi observado por Fuchs et al. (2005), Goes-Favoni et al. (2004) e Lui et al. (2003).



1 A

Compostos	R ₁	R ₂
Daidzeína	H	H
Genisteína	OH	H
Glicitina	H	OCH ₃



1 B

Compostos	R ₃	R ₄
Daidzina	H	H
Glicitina	H	OC
Genistina	OH	H
6''-O-acetildaidzina	H	H
6''-O-acetilglicitina	H	OC
6''-O-acetilgenistina	OH	H
6''-O-malonildaidzina	H	H
6''-O-malonilglicitina	H	OC
6''-O-malonilgenistina	OH	H

FIGURA 1- (A) Isoflavona aglicona da soja e (B) isoflavona β glicosídica da soja.

Em face dessas características, os produtos derivados da soja, principalmente o extrato hidrossolúvel de soja (EHS), possui grandes potencialidades de utilização como ingredientes ou aditivos em diversos produtos lácteos. Busca-se com isso uma complementaridade entre as diversas características nutricionais e reológicas desses dois produtos, destacando-se a alta capacidade de retenção de água das proteínas da soja, característica esta extremamente importante em alguns produtos lácteos, principalmente no iogurte.

2.6 O extrato hidrossolúvel de soja

O extrato de soja, conhecido popularmente como “leite” de soja, é um dos derivados não fermentados, amplamente difundido na alimentação, principalmente dos povos orientais. Talvez tenha sido elaborado pela primeira vez, na China, durante o século II a.C., segundo relatos históricos. Desde então, passou a ser consumido naquele país e, com o decorrer do tempo expandiu-se pelo resto do mundo. Inicialmente, sua utilização limitava-se a pessoas com restrições alimentares de ordem fisiológica ou religiosa; posteriormente, os extratos comerciais de soja alcançaram penetração no mercado como fonte protéica barata para atender a populações carentes (Liu, 1999). O consumo da soja foi incrementado a partir de um novo olhar sobre esta fabaceae, que relacionou a sua utilização com a prevenção de algumas doenças e a sua aplicação de forma direta ou na elaboração de alguns produtos como iogurtes, sorvetes, análogos de leite condensado e em misturas com inúmeras outras matérias-primas, melhorando algumas propriedades tecnológicas.

Os extratos são obtidos, geralmente, dos grãos inteiros da soja. Os procedimentos básicos atuais para a obtenção dos extratos a partir dos grãos inteiros incluem o cozimento desses grãos decorticados, em solução de bicarbonato de sódio à ebulição, com a finalidade de amolecê-los e de inativar a lipoxigenase. Seguem-se lavagem e drenagem da água de cozimento e trituração

dos grãos cozidos em água em ebulição. O material desintegrado é centrifugado ou homogeneizado e, posteriormente, é realizado o processo de pasteurização.

O processamento da soja para a obtenção do extrato de soja tem sido estudado, objetivando-se avaliar os seus efeitos na qualidade desses produtos. Durante um ou mais estágios do processamento, a soja é submetida ao aquecimento. A intensidade do tratamento térmico pode interferir na solubilidade de suas proteínas, pela desnaturação irreversível da mesma (Rodrigues et al., 2003). Estas, se tornando insolúveis, tendem a se agregar e sedimentam-se rapidamente, produzindo textura indesejável em bebidas, por conferirem sensação de arenosidade à boca. Essas partículas podem, da mesma forma, afetar negativamente parâmetros reológicos do produto, como a viscosidade (Rustom et al., 1996).

O extrato pode ser obtido também da farinha ou do isolado protéico, o que permite eliminar algumas etapas do processamento, gerando, assim, alterações na suas composições químicas, sensoriais, nutricionais e nas propriedades reológicas, fato que pode ser relacionado também à variedade da soja utilizada (Rodrigues et al., 2003).

2.7 A combinação soja x iogurte

O crescimento da demanda por alimentos saudáveis está estimulando a inovação e o desenvolvimento de novos produtos. A busca pela melhora da aceitação tem sido a meta da indústria alimentícia, sobretudo no segmento de produtos prontos para o consumo. Novas tecnologias, associando os benefícios nutracêuticos da soja e seus derivados com elementos que possam lhe conferir melhores características sensoriais, têm sido desenvolvidas. Assim sendo, a combinação do iogurte e extrato de soja pode representar um diferencial nutritivo e funcional.

A soja é excelente fonte de proteínas de alto valor nutricional. Embora seja uma das melhores fontes protéicas de origem vegetal, é inferior aos produtos de origem animal, por apresentar deficiência em aminoácidos sulfurados, sendo a metionina o aminoácido limitante (Mendonça, 2006). Uma possível forma de se compensar esta deficiência seria o emprego da soja, em associação com o leite, na fabricação de derivados. Em contrapartida, a soja poderia contribuir para o aumento da isoleucina e da lisina, visto que este se apresenta em teores mais elevados em relação ao leite (Tabela 1).

TABELA 1 - Conteúdo de aminoácidos do leite de vaca, da soja e da proteína referência da FAO/WHO (1990), para crianças de 2 a 5 anos de idade.

Aminoácido	Leite de vaca	Soja	Padrão FAO/WHO 1990
Lisina	8,22	8,26	5,80
Triptofano	1,48	1,40	1,10
Treonina	3,97	3,90	3,40
Valina	5,29	5,30	3,50
Met + Cist	3,93	1,70	2,50
Isoleucina	4,50	6,00	2,80
Leucina	8,84	8,00	6,60
Histidina	3,36	3,28	1,90
Phe+Tyr	9,69	8,87	6,30

Fonte: Coelho (1986) e Sgarbieri (1996) com modificações.

Em relação aos teores de micronutrientes, como o cálcio, o extrato hidrossolúvel de soja não é tão bom provedor como o leite de vaca. A deficiência deste mineral, atuante na regulação dos batimentos cardíacos, pode acarretar perda da massa óssea, câibras e também irritabilidade, posto que é necessário na transmissão nervosa. (Casé et al., 2005). O enriquecimento do “leite” de soja com cálcio tem sido uma tarefa difícil, pois os sais desse mineral podem promover coagulação das proteínas desta fabaceae (Casé et al., 2005). Nesse sentido, a associação da soja com o iogurte é também vantajosa, pois, além de ser uma excelente fonte de cálcio, um outro grande benefício que o iogurte traz ao organismo é facilitar a absorção deste mineral.

Numerosas tentativas têm sido realizadas, visando melhorar a palatabilidade e a aceitabilidade da soja como alimento. A fermentação é considerada uma possibilidade de modificar as características de “flavor” e textura dos produtos da soja, tornando-os mais próximos ao gosto ocidental. A primeira tentativa de usar bactérias lácticas em produtos fermentados de soja foi feita em 1934, por Kellog, que obteve um produto tipo manteiga, usando *Lactobacillus acidophilus* (Kellog, 1934). Estudos demonstraram pequeno crescimento e produção de acidez do *Lactobacillus bulgaricus* em leite de soja pelo fato de este não utilizar a sacarose nem os galacto-oligosacarídeos presentes neste meio. Em contrapartida, maior produção de acidez foi registrada em leite de soja, utilizando-se o *Streptococcus thermophilus*. Em misturas que continham leite desnatado e até 70% de leite de soja, Yamanaka & Furukawa (1970) detectaram maior produção de acidez por *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus* e *Lactobacillus casei*.

As condições de processamento e de obtenção dos produtos derivados da soja podem afetar a produção de ácido pelas bactérias lácticas. Quando a soja é colocada de molho em água, parte dos carboidratos é perdida na água que é descartada e, quanto maior o tempo do molho, maior a perda, decrescendo a

produção de ácido pelas culturas lácticas. A extração de lipídios da soja também pode levar a perdas de fatores de crescimento para os microrganismos, fato verificado por Mital & Steikraus (1979). Em estudos conduzidos por Badenhop & Hackler (1970) ficou demonstrado que a soja, quando colocada de molho em uma solução de hidróxido de sódio (0,05N), resultava num “leite de soja” com pH alcalino (7,37) que não favorecia o crescimento das culturas lácticas. Um tratamento térmico empregado no “leite de soja”, com temperaturas entre 100°C a 120°C, por 5 a 60 minutos, melhorou consideravelmente a qualidade deste como substrato para a atividade de certas bactérias lácticas. Este fato é atribuído, por Angeles & Marth (1971), à expulsão dos compostos inibidores (hidrossulfetos e sulfurosos voláteis tóxicos) e à queda no potencial de oxirredução do meio.

O emprego de extrato e do isolado protéico de soja em iogurtes foi avaliado por Viana (1987), que obteve iogurtes com a substituição de 50% da proteína do leite por proteína de soja (isolado e extrato). Os resultados indicaram que a produção de acidez nos produtos com soja foi inferior à do produto convencional, porém, suficiente para promover a coagulação das misturas. Os teores de proteínas e gordura não diferiram do produto convencional, apesar de este último componente ter apresentado maior valor nos iogurtes com soja. No aspecto sensorial, foi destacada menor aceitação pelos produtos acrescidos de soja e a utilização da polpa de manga melhorou o sabor das amostras, mas não eliminou o gosto da soja. Foi observado também que a capacidade de retenção de água do isolado protéico decresceu com a queda do pH.

Outra possível vantagem relacionada à combinação do iogurte e soja é a prevenção do defeito do dessoramento do iogurte. Textura e dessoramento do iogurte são dois fatores que influenciam fortemente a aceitação desse produto. A separação do soro não é apenas prejuízo para aparência visual, mas também um problema de corpo e de textura. É comum, na fabricação do iogurte tradicional, a

adição de leite em pó desnatado (2% a 4%), hidrocolóides e caseinatos ao leite fluido para aumentar o conteúdo de sólidos, melhorando as propriedades de corpo, textura e consistência, reduzindo-se a tendência de sinérese no produto final. Investigações sobre a substituição desses produtos por derivados protéicos de soja têm sido conduzidas e a sua contribuição está relacionada à propriedade hidrofílica das proteínas da soja, influenciada pela maior ou menor afinidade das moléculas de proteína pela água presente no alimento, podendo ser destacadas a solubilidade, a capacidade de retenção de água e a viscosidade. O comportamento reológico da soja reflete, principalmente, o comportamento de suas proteínas e de paredes celulares que, segundo Urbanski et al. (1982), são dois componentes que mostram valores mais altos de coeficiente de consistência e também de viscosidade. A viscosidade depende da concentração, do tamanho e da forma das moléculas em suspensão, das conformações que as mesmas adotam no solvente e das oscilações entre as ligações formadas. As frações protéicas da soja, β -conglícinina e glicinina mostram consideráveis diferenças funcionais no que se refere à habilidade de retenção de água, formação de gel, estabilidade e capacidade de emulsificação (Yamauchi et al., 1991).

Em geral, a fração 11S exibe melhor habilidade para a formação de gel, principalmente quando a subunidade A5A4B3 está ausente. Por outro lado, a fração 7S demonstra melhor capacidade de formar emulsão e de mantê-la estável. Ambas as frações 7S e 11S formam gel quando aquecidas. A fração 11S requer tratamento térmico mais intenso do que a fração 7S para a formação do gel. O gel formado pela fração 11S é mais rígido do que o formado pela fração 7S, tendo maior capacidade de retenção de água e valores de tensão maiores (Torrezan & Cristianini, 2005). A capacidade de formação do gel e o tipo do gel formado dependem da concentração da proteína, da temperatura, do pH, da formação e da ruptura das pontes dissulfídicas e das interações eletrostáticas e hidrofóbicas (Garcia et al., 1997). Além disso, os tipos de interações proteína-

proteína e proteína água diferem conforme as preparações de proteína de soja (Torrezan & Cristianini, 2005). É importante conhecer os fatores que influenciam as propriedades funcionais das proteínas da soja e sua dinâmica, pois permitem entender o comportamento dos seus derivados e a sua melhor utilização de acordo com as características que se buscam nos produtos nos quais são empregados.

3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução ANVISA n.º 18, de 30 abr. 1999. **Estabelece as diretrizes básicas para análise e comprovação de propriedades funcionais e ou de saúde alegadas em rotulagem de alimentos** Disponível em: <<http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?.id=109>>. Acesso em: 06 fev. 2008.

ANGELES, A.G.; MARTH, E.H. Growth and activity of lactic acid bacteria in soymilk: II. Heat treatment of soymilk and culture activity. **Journal Milk Food Technology**, Nova York, v. 34, n. 1, p. 63-68, 1971.

BADENHOP, A.F.; RACKLER, L.R. Effects of soaking soybeans in sodium hydroxide solution as pretreatment for soy milk production. **Cereal Science Today**, Saint Paul, v. 15, n. 1, p. 84-88, 1970.

BALDINI, V.L.S.; CAMPOS, S.D.S.; SREBERNICH, S.M. Sabor dos alimentos: os problemas e sua modificação. **Boletim do Instituto de Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 20, n. 4, p. 261-276, 1983.

BLUMER, E. **Iogurte**: obtenção e aspectos microbiológicos. Piracicaba: ESALQ-Departamento de Tecnologia Rural, 1989. 20 p.

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

BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Resolução n.º 5, de 13 de novembro de 2000. **Oficializa os padrões de identidade e qualidade de leites fermentados. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, p. 9, 27 nov. 2000. Seção 1.

BROUNS, F. Soya isoflavones: a new and promising ingredient for the health food sector. **Food Research International**, Netherlands, v. 35, n. 2/3, p. 187-193, 2002.

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

CHOI, Y.B.; SOHN, H.S. Recovery of isoflavones from soybean cooking water produced during soymilk manufacturing process. **Korean Journal Food Science Technology**, Korea, v. 29, n. 1, p. 522-526, 1997.

CIABOTTI, S.; BARCELOS, M.F.P.; MADARINO, J.M. Avaliações químicas e bioquímicas dos extratos e tofus de soja comum e soja livre de lipoxigenase. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 30, n. 5, p. 920-929, out. 2006.

CIABOTTI, S.; BARCELOS, M. F. P.; PINHEIRO, A. C. M.; CLEMENTE, P.; LIMA, M. A. C. Características sensoriais e físicas de extratos e tofus de soja comum processada termicamente e livre de lipoxigenase. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27, n. 3, p. 787-792, jul./set. 2007.

COELHO, D.T. **Utilização de fubá, soro de queijo e proteína de soja e peixe em massa alimentícia**. 1986. 120 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da safra brasileira-grãos-safra2007/2008-quarto levantamento-janeiro/2008**. 2008. Disponível em:
<http://www.conab.gov.br/conabweb/download/safra/estudo_safra.pdf>. Acesso em: 06 fev. 2008.

ERDMAN, J.W. Soy protein ad cardiovascular disease: a statemet for healthcare professioals from the Nutrition Comitte of the AHA. **Lipid and Lipoprotein Metabolism**, Illinois, v. 102, n. 20, p. 2555-2559, 2000.

FERNANDES, M.S.; WANG, S.H.; ASCHERI, J.L.R. Efeito da temperatura de extrusão na absorção de água, solubilidade e dispersibilidade da farinha pré-cozida de milho-soja (70:30). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 23, n. 2, p. 234-239, maio/ago. 2003.

FERREIRA, C.L.L.F. Valor nutritivo e bioterapêutico de leites fermentados. In: LERAYER, A. L.S.; SALVA, T.J.G. **Leites fermentados e bebidas lácteas: tecnologia e mercado**. Campinas: ITAL, 1997. cap. 1, p. 1-7.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION. World Health Organization. **Protein quality evaluation (Report of a joint FAO/WHO Expert Consulation)**. Roma, 1990. 138 p.

FONDÉN, R.; MOGENSEN, G.; TANAKA, R.; SALMINEN, S. Effect of culture-containing dairy products on intestinal microflora, human nutrition and health: current knowledge and future perspectives. **Bulletin FIL-IDF (Belgium) International Dairy Federation**, Bélgica, n. 352, p. 5-30, 2000.

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

FUKUTAKE, M. Quantification of genistein and daidzein in soybeans and soybean products. **Food Chemical Toxicology**, Tóquio, v. 34, n. 5, p. 457-461, 1996.

GARCIA, M.C.; TORRE, M.; MARIA, M.L.; LABORDA, F. Composition and characterization of soybean and related products. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v. 37, n. 4, p. 361-391, 1997.

GÓES-FAVONI, S. P.; BELÉIA, A. del. P.; CARRÃO PANIZZI, M.C.; MADARINO, J.M.G. Isoflavonas em produtos comerciais de soja. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 24, n. 4, p. 582-586, out./dez. 2004.

GOMES, A.M.P.; MALCATA, F.X. *Bifidobacterium* spp. and *Lactobacillus acidophilus*: biological, biochemical, technological and therapeutical properties relevant for use as probiotics. **Trends in Food Science & Technology**, Porto, v. 10, n. 4/5, p. 139-157, 1999.

HASLER, C.M. Functional foods: their role in disease prevention and health promotion. **Food Technology**, Urbana, v. 52, n. 11, p. 63-68, 1998.

HSIEH, O.A.L.; HUANG, A.S.S.; CHANG, S.S. Isolation and identification of objectionable volatile flavor compounds in defatted soybean flour. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 47, n. 1, p. 16-23, 1982.

JACKSON, C.J.C.; DINI, J.P.; LAVANDIER, C.; RUPASINGHE, H.P.V.; FAULKNER, H.; POYSA, V.; BUZZELO, D.; De GRADIS, S. Effects of processing on the content and composition of isoflavones during manufacturing of soy beverage and tofu. **Process Biochemistry**, London, v. 37, n. 10, p. 1117-1123, 2002.

KELLOG, J.H. Method of making acidophilus milk. **U.S. Patent**, Califórnia, v. 1, n. 4, p. 982-941, 1934.

KITAMURA, K. Genetic improvement of nutritional and food processing quality in soybean. **Japan Agriculture Research Quarterly**, Tokio, v. 29, n. 1, p. 1-8, 1995.

LEMONIQUE, G. Consumption of dairy produce and alcohol in case-control study of breast cancer. **Journal Cancer Institute**, Oxford, v. 77, n. 3, p. 633-636, 1998.

LESSCHAEVE, I.; NOBLE, A.C. Polyphenols: factors influencing their sensory properties and their effects on food and beverage preferences. **American Journal Clinical Nutrition**, Vichy, v. 81, suppl, p. 330S-335S, 2005.

LIU, K. **Soybeans**. Gaithersburg: Aspen Publishers, 1999. 532 p.

LUI, M. C.Y.; AGUIAR, C.L.; ALENCAR, S.M.; SCAMPARINI, A.R.P.; PARK, Y.K. Isoflavonas em isolados e concentrados protéicos de soja. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 23, suppl, p. 206-212, dez. 2003.

MENDONÇA, J.E. **Estudo da viabilidade sensorial do enriquecimento com ferro, de vários produtos derivados de soja e a quantificação de seus teores em isoflavonas**. 2006. 60 p. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição) – Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”. Faculdade de Ciências Farmacêuticas Campus de Araraquara, Araraquara, SP.

MEYDANI, S.N.; KIU HA, W. Immunologic effect of yogurt. **American Journal Clinical Nutrition**, Boston, v. 71, n. 4, p. 861-872, 2000.

MITAL, B.K.; STEIKRAUS, K.H. Fermentation of soymilk by lactic acid bacteria: a review. **Journal of Food Protection**, Texas, v. 42, n. 1, p. 895-99, 1979.

MIURA, E.M.Y.; BINOTTI, M.A.R.; CAMARGO, D.S. de; MIZUBUTI, I.Y.; IDA, E.I. Avaliação biológica de linhagem de soja com baixa atividade de inibidores de tripsina. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 29, n. 6, p. 1754-1758, 2000.

MORAES, R.M. A.; JOSÉ, I. C.; RAMOS, F.G.; BARROS, E.G.; MOREIRA, M. A. Caracterização bioquímica de linhagens de soja com alto teor de proteína. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 41, n. 5, p. 725-729, maio 2006.

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

MOSKOWITZ, H.R. **Product testing and sensory evaluation of foods-marketing and R & D approaches.** Westport: Food & Nutrition, 1983. 605 p.

NIELSEN, N.C.; JUNG, R.; NAM, Y.W.; BEAMAN, T.W.; OLIVEIRA, L.O.; BASSUNER, R. Synthesis and assembly of 11 S globulins. **Journal of Plant Physiology**, Columbia, v. 145, n. 5, p. 641-647, 1995.

OTT, A.; HUGRI, A.; BAUMGARTNER, M.; CHAINTREAU, A. Sensory investigation of yogurt flavor perception: mutual influence of volatiles and acidity. **Journal of the Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 48, n. 2, p. 441- 450, 2000.

PINTO, S. M.; ABREU, L. R. de. Geração de compostos de importância para o "flavor" do iogurte. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 56, n. 323, p. 36-43, 2001.

REN, M.Q.; KUHN, G.; WEGNER, J.; CHEN, J. Isoflavones, substances with multi-biological and clinical properties. **European Journal of Cancer**, Dummerstorf, v. 40, n. 4, p. 135-146, 2001.

RODAS, M.A.B.; RODRIGUES, R.M.M.S.; SAKUMA, H.; TAVARES, L.Z.; SGARBI, C. R.; LOPES, W. C. C. Caracterização físico-química e histológica e viabilidade de bactérias lácticas em iogurtes com frutas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 21, n. 3, p. 304-309, set./dez. 2001.

RODRIGUES, R.S.; GOZZO, A.M.; MORETTI, R.H. Comportamento reológico de extratos de grãos, farinha integral e isolado protéico de soja. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, Curitiba, v. 21, n. 2, p. 367-378, jul./dez. 2003.

ROISSART, H. de; LUQUET, F.M. **Bactéries lactiques: aspects fondamentaux et technologiques.** Saint George: Lorica, 1997. v. 2, 614 p.

ROSSI, E.A.; ROSIER, I.; DAMASO, A.R.; CARLOS, I.Z.; VENDRAMINI, R.C.; ABDALLA, D. S.P.; TALARICO, V.H.; MINTO, D.F. Determinação de isoflavonas nas diversas etapas do processamento do "iogurte" de soja. **Alimentação e Nutrição**, Araraquara, v. 5, n. 2, p. 93-99, 2004.

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**, Sweden, v. 61, n. 1, p. 198-203, 1996.

SABOYA, L.; OETTERER, M.; OLIVEIRA, A. Propriedades profiláticas e terapêuticas de leites fermentados: uma revisão. **Boletim Sociedade Brasileira Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 31, n. 2, p. 176-185, 1997.

SALADO, G.A.; ANDRADE, M.O. de. Processamento e qualidade nutricional do iogurte. **Boletim Cultural**, Bauru, v. 7, p. 1-35, 1989.

SETCHELL, K.D.R.; CASSIDY, A. Dietary isoflavones: biological effects and relevance to human health. **Journal of Nutrition**, Cincinnati, v. 129, n. 3, p. 758-765, 1999.

SGARBIERI, V.C. **Proteínas em alimentos protéicos**: propriedades, degradações, modificações. São Paulo: Livraria Varela, 1996. 517 p.

TAMINE, A.Y.; DEETH, H.C. Yogurt: technology and biochemistry. **Journal of Food Protection**, Austrália, v. 43, n. 12, p. 939-977, 1980.

TAMIME, A.Y. Qualidade de iogurte elaborado com substitutos de gordura. In: LERAYER, A.L.S.; SALVA, T.J.G. (Coord.). **Leites fermentados e bebidas lácticas**. Campinas: ITAL, 1997. p.11-32. Apostila.

TAMINE, A.Y.; ROBINSON, R.K. **Yogurt**: ciência y tecnologia. Zaragoza: Acribia, 1991. 368 p.

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

TEIXEIRA, A.C.P.; MOURTHÉ, K.; ALEXANDRE, D.P.; SOUZA, M.R.; PENNA, C.F.A.M. Qualidade do iogurte comercializado em Belo Horizonte. **Leite & Derivados**, São Paulo, v. 9, n. 51, p. 32-37, 2000.

TORRES, N.; TORRE-VILLALVAZO, I.; TOVAR, A.R. Regulation biochemistry lipid metabolism by soy protei and its implication in deseases mediated by lipid desorders. **The Journal Nutrition Biochemistry**, México, v. 17, n. 6, p. 365-373, June 2006.

TORRES-PENARANDA, A.V.; REITMEIR, C.A. Sensory descriptive analysis of soymilk. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 66, n. 2, p. 352-356, Mar./Apr. 2001.

TORREZAN, R.; CRISTIANINI, M. Efeito do tratamento térmico sob alta pressão sobre as propriedades funcionais da proteína de soja e interação proteína-polissacarídeo. **Boletim do Centro de Pesquisa em Processamento de Alimentos**, Curitiba, v. 23, n. 2, p. 201-220, jul./dez. 2005.

URBANSKY, 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**, Illinois, v. 47, n. 3, p. 1021-1022, 1982.

VIANA, A.M. **Utilização de derivados protéicos de soja em produtos lácteos fermentados**. 1987. 70 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

WANG, H.J.; MURPHY, P.A. Mass balance study of isoflavones during soybean processing. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 44, n. 8, p. 2377-2383, 1996.

WANG, H.L.; MURPHY, P.A. Isoflavone content in commercial soybean foods. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 42, n. 8, p. 1666-1667, Aug. 1994a.

WANG, H.; 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**, Washington, v. 42, n. 12, p. 1666-1673, 1994b.

WANG, S.H.; OLIVEIRA, M.F.; COSTA, P.S. Farinhas de trigo e soja pré-cozidas por extrusão para massas de pizza. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 40, n. 4, p. 389-395, abr. 2005.

WILKENS, W.F.; LINS, F.M. Gas chromatographic and mass spectral analyses of soybean milk volatiles. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 18, n. 3, p. 333-335, 1970.

YAMANAKA, Y.; FURUKAWA, N. Studies on utilization of soybean protein for food manufacturing: II. Influence of soymilk added to skim milk on the acidity and the hardness of curd produced by lactic bacteria for dairy use. **Journal Food Science Technology**, Japan, v. 17, n. 1, p. 456-461, 1970.

YAMAUCHI, F.; YAMAGISHI, T.; IWABUCHI, S. Molecular understanding of heat-induced phenomena of soybean protein. **Food Reviews International**, New York, v. 3, n. 7, p. 283-322, 1991.

CAPÍTULO 1

ESTUDO SENSORIAL DE IOGURTE DE MORANGO COM EXTRATO HIDROSSOLÚVEL DE SOJA

1 RESUMO

ASSUMPÇÃO, Giovana Maria Pereira. Estudo sensorial de iogurte de morango com extrato hidrossolúvel de soja. In: _____. **Viabilidade tecnológica do uso de extrato hidrossolúvel de soja na fabricação de iogurte**. 2008. cap. 1, p.30-56. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.*

Avaliou-se sensorialmente a utilização de proteína do extrato hidrossolúvel de soja (EHS) na fabricação de iogurtes. Iogurtes com 0%, 10%, 20% e 30% de proteína do EHS/proteína do leite foram avaliados pelo Teste de Ordenação de Preferência. A partir dos resultados deste teste foram definidas oito concentrações que foram avaliados pelo Teste de Diferença do Controle, identificando a(s) concentração(ões) que proporciona(m) menor diferença do iogurte controle em relação ao sabor. Fixou-se a maior concentração de proteína do EHS com menor grau de diferença de sabor em relação ao iogurte controle e variaram-se as concentrações de açúcar, avaliando-se, pelo Teste de Diferença do Controle, o grau de diferença do sabor de soja entre estes iogurtes e o iogurte controle; posteriormente aplicou-se o Teste de Aceitação. O resultado do Teste de Preferência mostrou que o iogurte com 10% de proteína do EHS/proteína do leite foi tão preferido quanto o iogurte controle e o iogurte com 20% foi tão preferido quanto o com 10% de proteína do EHS/proteína do leite, mas diferente do controle. A menor preferência foi para o iogurte com 30% de proteína de EHS/proteína do leite. Foram definidos os iogurtes com as concentrações 8%, 10%, 12%, 14%, 16%, 18%, 20% e 22% de proteína do EHS/proteína do leite e, avaliados pelo Teste de Diferença do Controle, identificou-se que 8%, 10% e 12% de proteína do extrato hidrossolúvel de soja/proteína do leite possibilitaram menor diferença do iogurte controle (sem proteína do EHS) em relação ao sabor. Dando continuidade ao trabalho, fixou-se 12% de proteína do EHS/proteína do leite, variando-se concentrações de açúcar (10%, 11% e 12%), que foram avaliadas pelo Teste de Diferença do Controle. Houve diferença entre o iogurte controle e aqueles com diferentes concentrações de açúcar. Os mesmos iogurtes foram avaliados pelo Teste de Aceitação. O aumento da concentração do açúcar não melhora a aceitabilidade dos iogurtes com proteína do EHS em relação ao controle (sem EHS). O extrato hidrossolúvel de soja diminui a aceitação do iogurte.

*Comitê Orientador: Luiz Ronaldo de Abreu - UFLA (Orientador), Sandra Maria Pinto – UFLA e Ana Carla Marques Pinheiro - UFLA

2 ABSTRACT

ASSUMPÇÃO, Giovana Maria Pereira. Sensorial study of soybean hydro soluble extract strawberry yogurt. In: _____. **Technological viability of the use of soybean hydro soluble extract in yogurt manufacturing**. 2008. chap. 1, p. 30-56. Dissertation (Master in Food Science) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.*

The use of soybean hydro soluble extract (SHSE) in yogurt manufacturing was evaluated sensorially. Yogurts with 0%, 10%, 20% and 30% of SHSE protein/milk protein were evaluated by the Preference Ranking Test. From the results of this test, eight concentrations were defined which were evaluated by the Control Difference Test, identifying the concentration(s) which provided least difference of the control yogurt relative to flavor. The highest concentration of SHSE protein with lowest degree of difference of flavor relative to control yogurt was set and sugar concentrations were ranged, evaluating by the Control Difference Test, the difference degree of soybean flavor between these yogurts and the control yogurt; afterwards, the Acceptance Test was applied. The result of the Preference Test showed that the yogurt with 10% of SHSE protein/milk protein was as preferred as the control yogurt and the yogurt with 20% was as preferred as the one with 10% of SHSE protein/milk protein, but different from the control. The lowest preference was for the yogurt with 30% of SHSE protein/milk protein. The yogurts with the concentrations 8%, 10%, 12%, 14%, 16%, 18%, 20% and 22% of SHSE protein/ milk protein evaluated by the Control Difference Test, identified that 8%, 10% and 12% of soybean hydro soluble extract/milk protein enabled less difference of the control yogurt (without SHSE protein) relative to flavor. Giving continuity to the work, 12% of SHSE protein/milk protein was set, varying sugar concentrations (10%, 11% and 12%), which were evaluated by the Difference Test of the Control. There was difference between the control yogurt and those with different sugar concentrations. The same yogurts were evaluated by the Acceptance Test. The increased sugar concentration does not improve the acceptability of the yogurts with SHSE protein in relation to the control (without SHSE). Soybean hydro soluble extract decreased yogurt acceptance.

*Guidance committee: Luiz Ronaldo de Abreu - UFLA (Adviser), Sandra Maria Pinto - UFLA and Ana Carla Marques Pinheiro - UFLA

3 INTRODUÇÃO

O iogurte, produto da fermentação láctica, está presente na dieta alimentar humana desde os tempos remotos, quando a fermentação era utilizada exclusivamente como forma de preservação do leite. O grande aumento da popularidade de leites fermentados, especialmente iogurte, se deve, em princípio, ao interesse das supostas propriedades benéficas à saúde (Tamine & Robinson, 1991).

A hidrólise parcial dos componentes do leite durante a fermentação torna o iogurte um produto facilmente digerível, destacando a taxa de lactose, mais reduzida em comparação com o leite que o originou, podendo, às vezes, ser utilizado por indivíduos com intolerância a este açúcar e tendência a hiperglicemia pós-prandial (Manzanares, 1996). Outras propriedades benéficas, como efeitos anticolesterolêmicos, anticarcinogênicos e inibitórios de agentes patógenos, também se relacionam ao iogurte. Somam-se a isso as propriedades sensoriais, como sabor e aroma agradáveis, que incentivam o consumo, principalmente por crianças, associadas com uma textura particular que combina consistência homogênea com moderada viscosidade.

Estudos recentes mostrando a relação entre dieta e saúde, somados ao crescente interesse de alguns indivíduos em consumir alimentos mais “saudáveis”, têm levado a indústria alimentícia ao desenvolvimento de novos produtos que atendam à qualidade nutricional e sensorial, utilizando ingredientes com propriedades funcionais que tenham aplicações comerciais.

Dentre esses ingredientes, a soja apresenta-se como uma alternativa nutricional e reologicamente viável. O seu emprego na fabricação de iogurtes pode representar uma combinação que promove características sensoriais, como a melhora da textura e a prevenção do desborramento, fatores esses que

influenciam fortemente a aceitação do iogurte. Entretanto, seu sabor adstringente, que foge dos padrões alimentares da população ocidental, dificulta o estabelecimento de seu consumo como um alimento de características sensoriais aceitáveis (Ciabotti, 2004).

O sabor da soja está relacionado, principalmente, à presença de substâncias específica, destacando-se a ação das enzimas lipoxigenase e lipoxidase quando os grãos são rompidos ou formados durante o processamento. Não obstante os problemas de sabor – para o consumidor ocidental - relacionados com a soja, torna-se extremamente interessante a busca de alternativas para a sua utilização como ingrediente em produtos lácteos em geral e iogurte em particular, pois existe uma complementaridade nutricional e reológica entre a soja e o leite.

A complementação das proteínas de soja com as proteínas do leite pode produzir uma mistura econômica de excepcional valor nutricional, visto que as proteínas de origem animal apresentam perfil equilibrado de aminoácidos, complementando a deficiência dos aminoácidos sulfurados da soja, combinado ao baixo custo da proteína da soja, com a ampla aceitação dos produtos lácteos. Diante do exposto, este trabalho foi realizado com os objetivos de:

- avaliar o comportamento do consumidor em relação a diferentes concentrações de proteína do EHS/proteína do leite utilizado como ingrediente na elaboração de iogurte;
- identificar a concentração máxima de proteína do EHS/proteína do leite que proporciona o menor grau de diferença no sabor, em comparação ao controle (sem adição de EHS);
- verificar se o aumento na concentração de açúcar exerce influência na aceitação do produto.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi desenvolvido pelo Departamento de Ciência dos Alimentos da Universidade Federal de Lavras (DCA/UFLA), em Lavras, MG. A fabricação dos iogurtes foi realizada na Fábrica de Laticínio da Escola Agrotécnica Federal de Barbacena, em Barbacena, MG e no Laboratório de Análise Sensorial do DCA/UFLA.

O iogurte foi produzido seguindo metodologia tradicional descrita por Rodrigues (1998), apresentada na Figura 1, variando-se as concentrações de proteína de extrato hidrossolúvel de soja (EHS)/proteína do leite e de açúcar adicionados. O cálculo de todas as quantidades de EHS utilizadas baseou-se no teor de proteína do leite e do EHS, de acordo com o exemplo descrito abaixo:

- . teor de proteína do leite: 4,2%;
- . teor de proteína do extrato hidrossolúvel de soja: 47,95%.

Para a adição de 10% de EHS:

$$\begin{array}{l} 100 \% \quad 4,2 \text{ g de proteína} \\ 47,95 \% \quad x = \frac{4,2 \times 100}{47,95} = 8,75 \text{ g de EHS com } 47,95 \% \text{ de proteína.} \end{array}$$

O leite utilizado foi proveniente do rebanho bovino da Escola Agrotécnica Federal de Barbacena, após garantia de ausência de antibióticos e de baixa contagem de células somáticas.

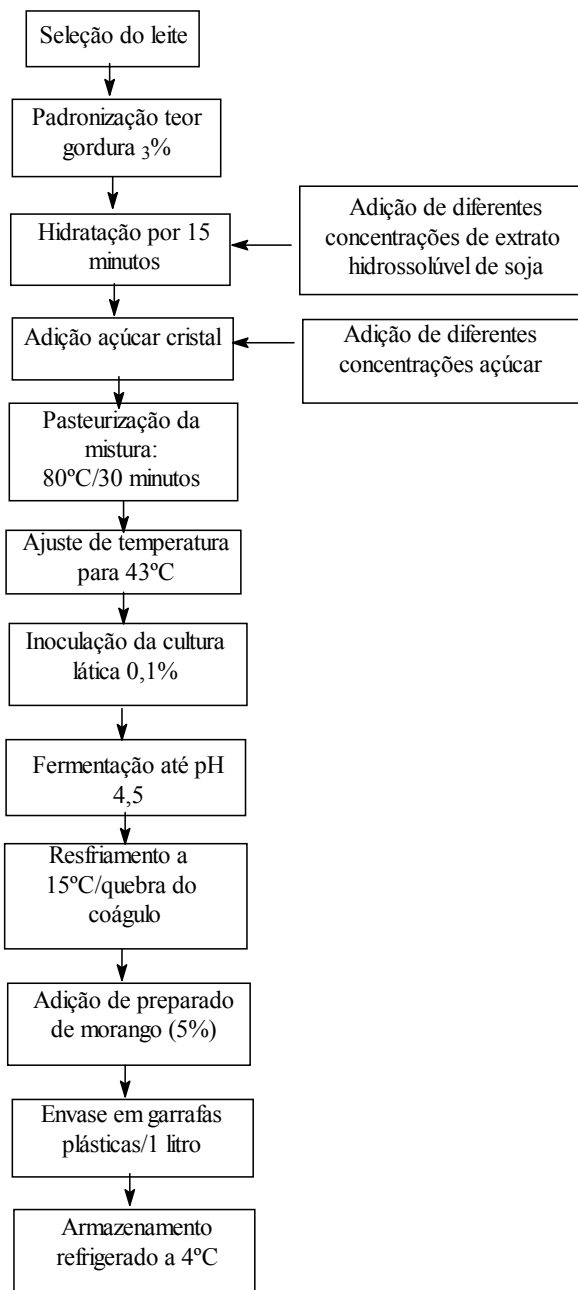


FIGURA 1- Fluxograma de fabricação dos iogurtes.

4.1 Etapa I - Teste de ordenação de preferência

Nesta etapa, foram fabricados iogurtes com 10%, 20% e 30% de proteína de EHS em relação à concentração de proteínas do leite original e o iogurte controle (sem EHS), conforme fluxograma apresentado na Figura 1, sendo cada iogurte correspondente a um tratamento.

O teste de ordenação de preferência (ordem decrescente) foi realizado segundo metodologia descrita por Minim (2006).

Três dias após a fabricação, os iogurtes foram oferecidos a 73 provadores não treinados, nas seguintes condições: em cabines individuais, sob luz vermelha, em copos descartáveis brancos, codificados com algarismos de 3 dígitos, em ordem balanceada de apresentação, com 30mL da amostra, em temperatura de, aproximadamente, 5°C. Foi servida água mineral, em temperatura ambiente, para que os provadores lavassem o palato, entre uma amostra e outra. Os resultados foram registrados em ficha apropriada (Figura 2).

Nome _____ data _____
Você está recebendo 4 amostras codificadas. Prove as amostras, da esquerda para a direita e numere de acordo com a sua preferência (da mais para a menos preferida).
351 585 663 712
_____ _____ _____ _____
Comentários _____

FIGURA 2 - Ficha utilizada no teste de ordenação de preferência dos iogurtes com 10%, 20% e 30% de proteína do EHS/proteína do leite e iogurte controle (sem proteína do EHS).

4.1.1 Análise estatística

Os resultados foram analisados por meio da tabela de Newell & MacFarlene (1987), com 5% de significância, comparando-se os totais de ordenação, segundo Minim (2006).

4.2 Etapa II - Teste de diferença do controle

Recrutamento e seleção dos provadores

Foram recrutados 34 provadores com experiência sensorial, levando-se em consideração o interesse, a disponibilidade e a familiaridade com produtos à base de soja.

Realizou-se, então, a seleção/treinamento dos 34 provadores, aplicando-se o teste triangular, segundo American Society for Testing and Materials – ASTM (1981, citado por Ciabotti et al., 2007). Os iogurtes para a seleção/treinamento foram elaborados conforme fluxograma apresentado na Figura 1, variando-se as concentrações de proteína do EHS/proteína do leite: 10%, 11%, 12%, 14%, 15% e 16%.

Os iogurtes foram agrupados em pares com diferentes concentrações, a saber:

Par nº 1 (diferença elevada): iogurtes com 10% (A) e 16% (B) de EHS.

Par nº 2 (diferença moderada): iogurtes com 11% (C) e 15% (D) de EHS.

Par nº 3 (diferença pequena): iogurtes com 12%(E) e 14%(F) de EHS.

De cada par, foram compostas combinações (tríades) de seqüências possíveis, respeitando-se os balanceamentos, conforme a Tabela 1.

TABELA 1 - Seqüência dos pares das amostras de iogurte utilizadas no teste triangular, para a seleção dos provadores.

Seqüências	Pares		
1	ABA	ABB	AAB
	BAB	BAA	BBA
2	CDC	CDD	CCD
	DCD	DCC	DDC
3	EFE	EFF	EEF
	FEF	FEE	FFE

A = 10%; B = 16%; C = 11%; D = 15%; E = 12%; F = 14%.

Cada provador compareceu à cabine quatro vezes por par de amostras, provando, conseqüentemente, quatro tríades por par, totalizando doze respostas.

As condições de realização do teste foram idênticas às empregadas na Etapa I e os resultados foram registrados em fichas apropriadas (Figura 3).

Nome: _____	Data: _____
<p>Por favor, prove as amostras codificadas de iogurte, da esquerda para a direita. Duas amostras são iguais e uma é diferente. Identifique com um círculo a amostra diferente em relação ao sabor.</p>	
<p>_____ _____ _____</p> <p>_____ _____ _____</p>	
Comentários _____	

FIGURA 3 - Ficha de avaliação utilizada no teste triangular de iogurtes com diferentes concentrações de proteína do EHS/proteína do leite, para a seleção e o treinamento de provadores.

Depois de computados os resultados, selecionaram-se os provadores que obtiveram $\geq 60\%$ de respostas corretas. Foram, então, selecionados/treinados 24 provadores.

4.2.1 Teste de diferença do controle

Após a seleção/treinamento dos provadores, foi aplicado o Teste de Diferença do Controle. Para a fabricação dos iogurtes empregados neste teste foi seguido o mesmo esquema apresentado na Figura 1, variando-se a quantidade de proteína de EHS/proteína do leite, nas concentrações de 8%, 10%, 12%, 14%, 16%, 18%, 20% e 22% e o iogurte controle (sem EHS). Essas concentrações foram definidas com base nos resultados do teste de ordenação de preferência.

As condições de realização do teste foram idênticas às empregadas na Etapa I. Cada provador realizou o teste em três sessões com intervalo de uma hora e meia, recebendo, em cada sessão, três amostras codificadas com algarismos de três dígitos e a amostra controle identificada com a letra “P” e presente em todas as sessões, sendo também codificada como um tratamento. As amostras foram apresentadas em ordem balanceada, segundo Macfie et al. (1989) (Tabela 2).

Os resultados foram registrados em fichas apropriadas (Figura 4).

TABELA 2 - Ordem de balanceamento das nove amostras de iogurtes empregadas no teste de diferença do controle da etapa II, segundo Macfie et al. (1989).

Provadores	Ordem das amostras								
	1 sessão			2 sessão			3 sessão		
1	8	2	4	9	7	1	5	3	6
2	7	4	3	8	5	2	6	9	1
3	6	5	1	3	9	7	2	4	8
4	5	3	6	7	1	4	9	8	2
5	4	8	7	2	3	9	5	1	6
6	2	9	8	1	4	6	7	5	3
7	1	6	9	5	2	3	8	7	4
8	3	7	5	4	6	8	1	2	9
9	9	1	2	6	8	5	4	3	7
10	9	2	1	8	6	4	5	7	3
11	8	4	2	7	9	3	1	5	6
12	5	6	3	1	7	9	4	2	8
13	1	9	6	2	5	8	3	4	7
14	2	8	9	4	1	7	6	3	5
15	7	3	4	5	8	6	2	1	9
16	4	7	8	3	2	5	9	6	1
17	6	1	5	9	3	2	7	8	4
18	3	5	7	6	4	1	8	9	2
19	7	8	6	3	1	9	5	2	4
20	1	6	5	7	4	8	2	3	9
21	3	9	8	2	7	4	6	5	1
22	5	1	4	6	2	7	9	8	3
23	9	2	3	4	8	5	7	1	6
24	4	5	2	1	9	6	3	7	8

1 = 0% de EHS, 2 = 8% EHS, 3 = 10% de EHS, 4 = 12% EHS, 5 = 14% de EHS, 6 = 16% de EHS, 7 = 18% de EHS, 8 = 20% de EHS, 9 = 22% de EHS. Todas as amostras com 10% de açúcar.

Nome:	Data:	
<p>Você está recebendo uma amostra padrão (P) e três amostras codificadas. Prove a amostra padrão e, em seguida, prove cada uma das amostras codificadas e avalie, na escala abaixo, o quanto cada amostra codificada difere, em termos de sabor, da amostra padrão.</p>		
	Amostra n°	Nota
0 nenhuma diferença do padrão P		
1		
2 ligeiramente diferente do padrão P	_____	_____
3	_____	_____
4 moderadamente diferente do padrão P	_____	_____
5	_____	_____
6 muito diferente do padrão P		
7		
8 extremamente diferente do Padrão P		
Comentários: _____		

FIGURA 4 - Ficha de avaliação utilizada no teste de diferença do controle de iogurtes com 8%, 10%, 12%, 14%, 16%, 18%, 20% e 22% de proteína do EHS/proteína do leite e o iogurte controle (sem EHS).

4.2.2 Análise estatística

Os resultados foram analisados por meio da análise de variância (ANOVA), segundo técnicas usuais do software Sisvar e as médias, por meio do teste de média de Tukey ($p < 0,05$).

4.3 Etapa III - Teste de diferença do controle e teste de aceitação

Recrutamento e seleção dos provadores

O recrutamento e a seleção/treinamento dos provadores foram realizados conforme metodologia empregada na Etapa II. Os iogurtes para a seleção/treinamento foram elaborados conforme fluxograma apresentado na

Figura 1, utilizando-se concentração fixa de 12% de proteína do EHS/proteína do leite. Essa concentração foi definida com base nos resultados do teste de diferença do controle aplicado na Etapa II e variaram-se as quantidades de açúcar, nas concentrações de 10%, 11% e 12%.

Após a seleção/treinamento dos provadores, foi aplicado o teste de diferença do controle para verificar se o aumento da doçura diminuiria a diferença, quanto ao sabor de soja, em relação ao iogurte controle. Os iogurtes para este teste foram elaborados conforme fluxograma apresentado na Figura 1, com a mesma concentração de proteína do EHS/proteína do leite e as mesmas concentrações de açúcar utilizadas no teste triangular desta Etapa III. Foi fabricado também o iogurte controle (sem adição de EHS).

As condições de realização do teste foram as mesmas empregadas na Etapa I, tendo cada provador recebido as quatro amostras codificadas em algarismos de três dígitos e a amostra controle identificada com a letra "P" e presente em todas as sessões, sendo também codificada como um tratamento. As amostras foram apresentadas, em duas sessões, em ordem balanceada, segundo Macfie et al. (1989) (Tabela 3).

TABELA 3 - Ordem de balanceamento das amostras de iogurtes empregadas no teste de diferença do controle da Etapa III, segundo Macfie et al. (1989).

Provedores	Ordem das amostras	
	1 sessão	2 sessão
1	4 3 2 1	2 3 4 1
2	3 1 4 2	3 1 2 4
3	2 4 1 3	4 2 1 3
4	1 2 3 4	1 4 3 2
5	4 1 3 2	4 3 1 2
6	1 2 4 3	3 2 4 1
7	3 4 2 1	2 1 3 4
8	2 3 1 4	1 4 2 3
9	4 1 2 3	3 2 4 1
10	3 2 1 4	2 1 3 4
11	2 4 3 1	1 4 2 3
12	1 3 4 2	4 3 1 2
13	2 1 4 3	4 3 2 1
14	1 3 2 4	2 4 1 3
15	4 2 3 1	1 2 3 4
16	3 4 1 2	3 1 4 2
17	4 2 1 3	4 3 2 1
18	2 3 4 1	3 1 4 2
19	1 4 3 2	2 4 1 3
20	3 1 2 4	1 2 3 4
21	1 2 3 4	4 1 3 2
22	2 4 1 3	1 2 4 3
23	3 1 4 2	3 4 2 1
24	4 3 2 1	2 3 1 4

1 = 0 % de EHS com 10% de açúcar, 2 = 10% de açúcar, 3 = 11% de açúcar, 4 = 12% de açúcar. As amostras 2%, 3% e 4% com 12% de EHS.

As respostas foram registradas em ficha apropriada.

Nome:	Data:	
Você está recebendo uma amostra controle (P) e quatro amostras codificadas. Prove a amostra padrão e, em seguida, prove cada uma das amostras codificadas e avalie, na escala abaixo, o quanto cada amostra codificada difere, em termos de sabor de soja, da amostra controle.		
0 Nenhuma diferença do padrão	Amostra n°	Nota
1 Diferença muito ligeira		
2 Diferença ligeira/moderada	_____	_____
3 Diferença moderada	_____	_____
4 Diferença moderada/grande	_____	_____
5 Diferença grande	_____	_____
6 Diferença muito grande	_____	_____
Comentários: _____		

FIGURA 5 - Ficha de avaliação utilizada no teste de diferença do controle de iogurtes com 12% de proteína do EHS/ proteína do leite e diferentes concentrações de açúcar (10%,11% e 12%).

4.4 Teste de aceitação

Nesta etapa foi realizado também um teste de aceitação para complementar os resultados do teste de diferença do controle, ou seja, caso fosse detectada diferença do sabor de soja entre os iogurtes com diferentes concentrações de açúcar, saber se esta diferença seria benéfica ou não para a aceitação do produto.

Os iogurtes para este teste foram elaborados conforme fluxograma apresentado na Figura 1, com a mesma concentração de proteína de

EHS/proteína do leite e as mesmas concentrações de açúcar utilizadas no teste triangular desta Etapa III. Foi fabricado também o iogurte controle (sem proteína do EHS).

As condições de realização do teste foram idênticas às empregadas na etapa I. Três dias após serem fabricados, os iogurtes foram oferecidos a 100 provadores não treinados. Cada provador recebeu quatro amostras codificadas com algarismos de três dígitos, em uma única sessão, respeitando-se o balanceamento. Os resultados foram registrados em ficha apropriada (Figura 6).

Nome: _____ Data: _____												
Você está recebendo 4 amostras codificadas. Por favor, prove cada amostra, começando da esquerda para a direita e avalie, na escala abaixo, sua opinião.												
9-gostei muitíssimo 8-gostei muito 7-gostei moderadamente 6-gostei ligeiramente 5-nem gostei / nem desgostei 4-desgostei ligeiramente 3-desgostei moderadamente 2-desgostei muito 1-desgostei muitíssimo	<table border="1" style="width: 100%; height: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="padding: 5px;">Amostras</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td style="text-align: center;">-----</td></tr> <tr><td style="text-align: center;">-----</td></tr> <tr><td style="text-align: center;">-----</td></tr> <tr><td style="text-align: center;">-----</td></tr> </tbody> </table>	Amostras	-----	-----	-----	-----	<table border="1" style="width: 100%; height: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="padding: 5px;">Nota</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td style="text-align: center;">-----</td></tr> <tr><td style="text-align: center;">-----</td></tr> <tr><td style="text-align: center;">-----</td></tr> <tr><td style="text-align: center;">-----</td></tr> </tbody> </table>	Nota	-----	-----	-----	-----
Amostras												

Nota												

Comentários _____												

FIGURA 6 - Ficha de avaliação utilizada no teste de aceitação de iogurtes com 12% de proteína do EHS/proteína do leite e diferentes concentrações de açúcar (10%, 11% e 12%).

4.4.1 Análise estatística

Os resultados do teste de diferença do controle e aceitação foram analisados por meio da análise de variância (ANOVA) e as médias, pelo teste de média de Dunnett ($p < 0,05$). As análises foram realizadas segundo técnicas usuais do software SISVAR (Ferreira, 2000).

4.4.2 Delineamento estatístico

O experimento foi conduzido em blocos completos balanceados.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Etapa 1: teste de ordenação de preferência

Os resultados da análise de ordenação de preferência dos consumidores estão apresentados na Tabela 4. Entre os iogurtes com proteína do EHS/proteína do leite, o fabricado com 10% não apresentou diferença ($p < 0,05$) em relação ao padrão e ao iogurte com 20% de proteína do EHS/proteína do leite. Porém, este último apresentou diferença em relação ao iogurte controle, sem adição de proteína do EHS. O iogurte com 30% de proteína do EHS/proteína do leite apresentou a menor preferência em relação aos demais. Embora meça a preferência do consumidor, este teste não indica se eles gostaram ou não do produto avaliado (Minim, 2006).

TABELA 4 - Totais de ordenação do teste de preferência do consumidor referente a iogurtes de morango com proteína do EHS/proteína do leite, nas concentrações 10%, 20% e 30% e iogurte controle (sem proteína do EHS).

Iogurtes	Médias dos totais de ordenação
0%	113 a
10%	153 a b
20%	178 b
30%	263 c

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si, pelo teste de comparação dos totais de ordenação ($p \leq 0,05$), pela tabela Newell & MacFarlene (1987).

Apesar das suas características nutricionais e funcionais já comprovadas, a soja ainda não é bem aceita pela população brasileira, em função da grande influência do seu sabor amargo e adstringente, que é freqüentemente percebido como atributo negativo. Benedet et al. (2002) avaliaram a aceitabilidade de um produto análogo ao queijo minas frescal elaborado com mistura de leite e extrato hidrossolúvel de soja e perceberam que a aceitação diminuiu à medida que se aumentou a concentração do extrato de soja. Em outro estudo realizado por Ciabotti (2007), foram avaliados, por meio do mapa de preferência, produtos similares ao tofu, com diferentes concentrações de extrato de soja e soro de leite com diferentes coagulantes. Os resultados mostraram que o atributo sabor foi relevante para a melhor classificação dos produtos com menor concentração de extrato de soja em relação ao outro com maior concentração. A preferência por estas características, além de questão individual, é um hábito e o reconhecimento desse segmento de mercado pode ser feito por meio de pesquisas quantitativas e qualitativas que ajudem a identificar os consumidores potenciais. Um estudo realizado por Behrens et al. (2004), avaliando o conhecimento dos produtos derivados da soja, mostrou que 70% dos entrevistados declararam nunca ter experimentado o iogurte de soja.

5.2 Etapa 2: Teste de diferença do controle

Os dados referentes ao teste de diferença do controle estão apresentados na Tabela 5. Por meio deste teste foi possível verificar se as amostras de iogurte com proteína do EHS diferiram significativamente da amostra controle (sem proteína do EHS) e quais concentrações apresentaram menor grau de diferença no sabor em relação ao iogurte controle.

De acordo com análise de variância, verifica-se diferença significativa ($p < 0,05$) entre, pelo menos, duas amostras. Dessa forma, realizou-se o teste de

média de Dunnett, o qual demonstrou haver diferença significativa ($p < 0,01$) entre os iogurtes com proteína do EHS em relação ao controle.

TABELA 5 - Valores médios das notas atribuídas pelos provadores aos iogurtes com diferentes concentrações de proteína do EHS e iogurte controle (sem proteína do EHS).

Tratamentos	Médias das notas
Controle (sem EHS)	1,1
10% de EHS	3,1*
8% de EHS	3,2 *
12% de EHS	3,1*
16% de EHS	3,7*
14% de EHS	3,8*
20% de EHS	5,4*
18% de EHS	5,4*
22% de EHS	5,9*

*Diferença significativa em relação ao controle ($p < 0,01$), pelo teste de Dunnett.

Quanto ao sabor, os tratamentos que proporcionaram menor grau de diferença em relação ao controle foram os iogurtes com 8%, 10% e 12% de proteína do EHS/proteína do leite. No geral, a maior concentração de proteína do EHS/proteína do leite com menor diferença de sabor em relação ao controle foi 12%. Assim, definiu-se dar continuidade ao trabalho fixando-se a concentração de 12% de proteína de EHS/proteína do leite. Observa-se também, por meio dos dados da Tabela 5, que, à medida que se aumentou a concentração de proteína do EHS/proteína do leite, aumentou a diferença em relação ao controle.

Em produtos derivados de soja, a adstringência e o sabor típicos da leguminosa são fatores que limitam a sua aceitação, pois são percebidos como atributos negativos (Carrão-Panizzi, 1999). Santana et al. (2006) avaliaram o perfil sensorial descritivo de três amostras de iogurte light, sabor pêssego, pela metodologia fundamentada na análise descritiva quantitativa em que apenas uma amostra foi adicionada de extrato de soja, sendo esta caracterizada pela maior intensidade dos atributos: gosto ácido, adstringência, textura farinácea e aroma artificial de pêssego.

5.3 Etapa 3 - Teste de diferença do controle e teste de aceitação

Nessa etapa foi fixada a concentração de 12% de proteína do EHS/proteína do leite, com variação da concentração de açúcar (10%, 11% e 12%).

Na Tabela 6 são apresentados os resultados do teste de diferença do controle, por meio do qual foi possível verificar que os provadores detectaram diferença entre o iogurte controle (sem EHS) e os tratamentos com 12% de proteína do EHS/proteína do leite adicionados de 10%, 11% e 12% de açúcar. Entretanto, o grau da diferença quanto ao sabor de soja não apresentou diferença significativa em relação ao controle, independente da concentração do açúcar.

Provavelmente, as variações nas concentrações de açúcar foram pequenas para causar diferença na percepção do sabor de soja ou, então, o açúcar, independente da concentração, não tenha efeito interativo minimizando o sabor da soja. A interação entre compostos presentes nos alimentos pode resultar em diferentes resultados na percepção dos sabores e dos odores dos mesmos. A influência de diferentes fontes protéicas e de suas concentrações na percepção sensorial de iogurtes foi avaliada por Saint-Eve et al. (2006). Os resultados mostraram que as notas olfativas foram menos intensas em iogurtes com maior concentração de caseinato e estes mesmos apresentaram a maior retenção de

compostos aromáticos, em comparação com os iogurtes adicionados de proteínas do soro.

TABELA 6 - Médias das notas dos iogurtes com 12% de proteína do EHS/proteína do leite adicionados de 10%, 11% e 12% de açúcar e o iogurte controle no teste de diferença do controle.

Iogurtes	Médias das notas
Padrão	0,56
10%	2,85 *
11%	2,50 *
12%	2,75 *

*Diferença significativa em relação ao controle ($p < 0,05$), pelo teste de média de Dunnett

O teste de diferença do controle indica se as amostras são ou não diferentes do controle e se o grau de diferença deste caso existe, sem, entretanto, indicar se a diferença detectada é devido a alterações positivas ou negativas. Assim, em certos casos, deve-se correlacioná-lo com os resultados do teste de aceitação (Mendonça, 2006).

Segundo os resultados do teste de aceitação (Tabela 7), a aceitabilidade do iogurte controle (sem proteína do EHS) foi maior, estatisticamente, que os demais tratamentos e não se observou diferença ($p > 0,05$) entre os tratamentos 10%, 11% e 12% de açúcar, em relação à aceitabilidade do sabor. Esses resultados são concordantes com os obtidos no teste de diferença do controle.

TABELA 7 - Valores médios dos escores obtidos no teste de aceitação dos iogurtes com 12% de proteína do EHS/proteína do leite adicionados de 10%, 11% e 12% de açúcar e iogurte controle (sem adição de proteína do EHS).

Iogurtes	Médias dos escores
10%	6,67 a
12%	6,81 a
11%	6,97 a
Padrão	8,31 b

Médias seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente entre si, pelo Teste de Média de Tukey, a 5% de probabilidade.

Embora a aceitação do iogurte com proteína do EHS com diferentes concentrações de açúcar tenha sido menor que a do iogurte controle, os consumidores demonstraram atitude positiva em relação ao produto. Para estes os conceitos, na escala hedônica situaram entre gostei ligeiramente a gostei moderadamente e, para o iogurte controle, entre gostei muito e gostei extremamente.

Em estudo realizado por Ciabotti (2007), com um produto análogo ao tofu com diferentes concentrações de extrato de soja e soro, os maiores escores no teste de aceitabilidade foram atribuídos aos produtos com menores proporções de extrato de soja.

Os sabores descritos como amargo e adstringente são os principais fatores que limitam a aceitabilidade da soja nos países ocidentais. Mas, em estudo realizado com adolescentes avaliando a aceitabilidade de iogurte de soja com sabor morango e pêssego, Kinouchi et al. (2002) obtiveram boa nota nos testes afetivos, demonstrando ser viável incentivar o consumo desse produto, em uma população que não possui hábito de consumir soja.

6 CONCLUSÕES

Diante dos resultados dos testes sensoriais, pode-se afirmar que:

- 1 - entre os iogurtes com 10%, 20% e 30% de proteína do EHS/proteína do leite e o iogurte controle (sem proteína do EHS), o primeiro (10% de proteína do EHS/proteína do leite) foi tão preferido quanto o controle;
- 2 - a maior concentração de proteína do EHS/proteína do leite, que proporciona menor grau de diferença quanto ao sabor de soja em relação ao iogurte controle, foi 12%;
- 3 - o aumento na porcentagem de açúcar adicionada ao iogurte com 12% de proteína do EHS/proteína do leite não proporciona diminuição no grau de diferença com relação ao sabor, entre o iogurte com proteína do EHS e o iogurte controle;
- 4 - o consumidor não percebe diferença entre as concentrações de 10%, 11% e 12% de açúcar adicionado ao iogurte de morango com 12% de proteína do EHS/proteína do leite;
- 5 - a aceitação do iogurte com proteína do EHS diminuiu, independente da concentração de açúcar adicionada (10% 11% e 12%), porém, o consumidor apresenta atitude “positiva” em relação ao iogurte com proteína do EHS.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BEHRENS, J.H.; ROIG, S.M; DA SILVA, M.A.A.P. Atitude do consumidor em relação à soja e produtos derivados. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 24, n. 3, p. 431-439, jul./set. 2004.
- BENEDET, H.D.; CHARLAU, S.X.; TEIXEIRA, E. Desenvolvimento e caracterização de um análogo do queijo Minas Frescal pela mistura de leite e extrato hidrossolúvel de soja. **Alimentos e Nutrição**, São Paulo, v. 13, n.11, p. 11-22, 2002.
- CARRÃO-PANIZZI, M.C. 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. 1999.
- CIABOTTI, S. **Aspectos químicos, físico-químico e sensorial de extrato de soja e tofus obtidos dos cultivares de soja convencional e livre de lipoxigenase**. 2004. 122 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- CIABOTTI, S.; BARCELOS, M.F. P.; PINHEIRO, A.C.M.; CLEMENTE, P.; LIMA, M.A.C. Características sensoriais e físicas de extratos e tofus de soja comum processada termicamente e livre de lipoxigenase. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27, n. 3, p. 787-792, jul./set. 2007.
- CIABOTTI, S. **Desenvolvimento de um produto similar ao tofu com base na combinação do extrato de soja e soro de leite**. 2007. 168 p. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- FERREIRA, D.F. Análise estatística por meio do SISVAR para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos. **Anais ...** São Carlos: UFSCarlos, 2000. p. 255-258.
- KINOUCHI, F.L.; CARDELLO, H.M.B.; ROSSI, E.A.; TELAROLLI JÚNIOR, R. Aceitação do “iogurte” de soja entre adolescentes. **Alimentos e Nutrição**, São Paulo, v. 13, n. 1, p. 131-142, 2002.

MACFIE, H.J.; BRATCHELL, N.; GREENHOFF, K.; VALLIS, L.V. Designs to balance the effect of order of presentation and first-order carry-over effects in hall tests. **Journal of Sensory Studies**, Kingdon, v. 4, n. 2, p. 129-148, 1989.

MANZANARES, A. Lácteos de alto consumo em Latinoamérica. **Tecnología Láctea Latinoamericana**, Argentina, v. 5, n. 1, p. 31-39, 1996.

MENDONÇA, J.E. **Estudo da viabilidade sensorial do enriquecimento com ferro, de vários produtos derivados de soja e a quantificação de seus teores em isoflavonas**. 2006. 60 p. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”. Campus de Araraquara, Araraquara, SP.

MINIM, V.P.R. **Análise sensorial: estudo com consumidores**. Viçosa: UFV, 2006. 22 p.

NEWELL, G.J.; MACFARLANE, J.D. Expanded tables for multiples comparison procedures in the analyses of ranked data. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 52, n. 6, p. 1721-1725, 1987.

RODRIGUES, F.C. **Guia prático para elaboração de iogurte e bebida láctea: curso básico para iniciantes**. Juiz de Fora: Instituto de Laticínios Cândido Tostes/EPAMIG, 1998. 50 p.

SANTANA, L.R.R.; SANTOS, L.C.S.; ATALÍCIO, M.A.; MONDRAGON-BERNALS, O.L.; ELIAS, E.M.; SILVA, C.B.; ZEPKA, L.Q.; MARTINS, I.S.L.; VERNAZA, M.G.; CASTILLO-PIZARRO, C.; BOLINI, H.M.A. Perfil sensorial de iogurte *Light*, sabor pêssego. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 3, p. 619-625, jul./set. 2006.

SAINT-EVE, A.; LÉVY, C.; MARTIN, N.; SOUCHON, I. Influence of proteins on the perception of flavored stirred yogurts. **Journal of Dairy Science**, France, v. 89, n. 3, p. 922-933, 2006.

TAMINE, A.Y.; ROBINSON, R.K. **Yogurt: ciência y tecnologia**. Zaragoza: Acibia, 1991. 368 p.

CAPÍTULO 2

**ASPECTOS QUÍMICOS, FÍSICOS, FÍSICO-QUÍMICOS E
MICROBIOLÓGICOS DE IOGURTES DE MORANGO COM
DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE PROTEÍNA DO EXTRATO
HIDROSSOLÚVEL DE SOJA, ARMAZENADOS, POR 30 DIAS, A 4°C.**

1 RESUMO

ASSUMPÇÃO, Giovana Maria Pereira. Aspectos químicos, físicos, físico-químicos e microbiológicos de iogurtes de morango com diferentes concentrações de extrato hidrossolúvel de soja armazenados, por 30 dias, a 4°C. In: _____. **Viabilidade tecnológica do uso de extrato hidrossolúvel de soja na fabricação de iogurte**. 2008. cap. 2, p. 57-110. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG*

Este trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar os aspectos físicos, químicos, físico-químicos e microbiológicos de iogurtes de morango com 8%, 10% e 12% de proteína do EHS/proteína do leite mais o iogurte controle (sem EHS), armazenados, por 30 dias, a 4°C. Estes tratamentos foram definidos pelo resultado do teste de diferença do controle, que mostrou que estes apresentam menor diferença de sabor de soja em relação ao iogurte controle. Os maiores valores de proteínas, cinzas, gordura e viscosidade foram obtidos no tratamento com 12% de proteína de EHS/proteína do leite. Maior umidade foi observada no tratamento com 8% de proteína de EHS/proteína do leite. O aminoácido lisina foi limitante nos iogurtes com proteína do EHS. Os valores de pH, lactose e viscosidade sofreram influência isolada do tempo de armazenamento. A viscosidade foi melhorada em relação ao iogurte controle. A atividade de água não foi influenciada pelos tratamentos e pelo tempo de armazenagem. Em relação à cor, maiores valores da coordenada b* foram observados nos tratamentos com 10% e 12% de proteína do EHS/proteína do leite. Entre todos os tratamentos e em todos os períodos de armazenamento, foram registradas maiores contagens de cocos em relação aos bacilos. O uso do EHS na fabricação do iogurte não inibiu o crescimento e o desenvolvimento dos microrganismos da cultura láctica. Pode-se estabelecer o tempo de 30 dias como o ideal para a conservação dos iogurtes estudados, considerando os parâmetros avaliados neste trabalho.

*Comitê Orientador: Luiz Ronaldo de Abreu - UFLA (Orientador), Sandra Maria Pinto – UFLA e Ana Carla Marques Pinheiro – UFLA.

2 ABSTRACT

ASSUMPÇÃO, Giovana Maria Pereira. Chemical, physical, physicochemical aspects and microbiological of strawberry yogurts with different concentrations of soybean hydro soluble extract stored for 30 days at 4°C. In: _____. **Technological viability of the use of soybean hydro soluble extract in yogurt making**. 2008. chap. 2, p. 57-110. Dissertation (Master in Food Science) – Federal University of Lavras, Lavras, MG*

This work was conducted with the purpose of evaluating the physical, chemical, physicochemical and microbiological aspects of strawberry yogurts 8%, 10% and 12% of SHSE protein/milk protein plus the control yogurt (without SHSE), stored for 30 days at 4°C. These treatments were defined by the result of the Control Difference Test, which showed that these presented less difference of soybean flavor properties compared to control yogurt. The highest values of proteins, ashes, fat and viscosity were obtained in the treatment with 12% of SHSE protein/milk protein. Higher moisture was found in the treatment with 8% of SHSE protein/milk protein. The aminoacid lysine was limiting in the yogurts with SHSE protein. The values of pH, lactose and viscosity had isolated influence from storage time. Viscosity was improved compared to the control yogurt. Water activity was not influenced by the treatments and by storage time. In relation to color, higher values of coordinate b* were found in the treatments with 10% and 12% of SHSE protein/milk protein. Among all the treatments and in all the storage periods, higher counts of cocci in relation to the bacilli were recorded. Use of SHSE in yogurt making did not inhibit the growth and development of the microorganisms of the lactic acid culture. The 30 days' period can be established as the ideal for the shelf life of the studied yogurts, considering the parameters evaluated in this work.

*Guidance committee: Luiz Ronaldo de Abreu - UFLA (Adviser), Sandra Maria Pinto – UFLA and Ana Carla Marques Pinheiro – UFLA

3 INTRODUÇÃO

A demanda por novos produtos com adequadas características nutricionais, tecnológicas e sensoriais tem aumentado o interesse da indústria alimentícia pela utilização de diferentes processos e matérias-primas para a sua obtenção. Também procura-se utilizar ingredientes com propriedades funcionais que tenham aplicações comerciais, refletindo na melhora de características, como sabor e textura.

A soja tem se destacado cada vez mais, devido ao seu alto valor nutricional, como fonte de fitoquímicos, entre eles os flavonóides. Tem sido observada relação entre o consumo de soja e a redução dos riscos de doenças cardiovasculares, alguns tipos de câncer e osteoporose. Entretanto, a soja ainda é pouco utilizada na dieta do brasileiro, devido à atribuição de sabor e odores desagradáveis causados pela presença de compostos orgânicos nas sementes e à indução de flatulência gerada por oligossacarídeos, como rafinose e estaquiose. Todos esses fatores contribuem para que grande parte da soja seja utilizada em alimentação animal e para a extração do óleo (Silva et al., 2006).

Todavia, a soja e os seus derivados constituem matéria-prima com grande potencial para uso na indústria de alimento e a utilização apropriada de derivados proporciona alimentos menos calóricos, com elevado conteúdo de proteínas adequadas às necessidades nutricionais de indivíduos adultos, além da oferta de produtos mais baratos (Dhingra & Jood, 2001; McMIndes, 1991).

A adição de proteínas de soja aos alimentos industrializados apresenta diversas vantagens tecnológicas, como aumento de retenção de umidade, melhoria da textura, ligamento, coesão e rendimento final, retenção de atributos de qualidade em geral, maior teor protéico, cor agradável, maior vida de prateleira, melhor palatabilidade, melhor aparência e valor nutricional (Moraes

et al., 2006). As proteínas da soja possuem boas propriedades emulsificantes, que são importantes para a estabilidade de sistemas alimentares, como maioneses, sorvetes e derivados lácteos (Marquetti et al., 2001).

O iogurte é uma fonte de proteínas de alto valor biológico, de aminoácidos essenciais, de cálcio e de fósforo, sendo considerado um alimento saudável. A textura e o dessoramento do iogurte são dois fatores que influenciam fortemente a aceitação desse produto, ocorrendo forte preferência, por parte dos consumidores, por iogurtes homogêneos, lisos, sem sinérese. Prática comum à fabricação do iogurte tradicional é a adição de leite em pó desnatado ao leite fluido, estabilizantes como hidrocolóides e caseinatos de sódio para aumentar o conteúdo de sólidos, melhorando as propriedades de corpo e a textura do produto final (Wolfschoon-Pombo et al., 1983), visando à consistência do iogurte e à redução da sinérese.

A complementação das proteínas de soja com as proteínas do leite pode produzir uma mistura de excepcional valor nutricional, combinar o baixo custo da proteína da soja e a ampla aceitação dos produtos lácteos.

Diante do exposto, este trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar o efeito do uso de diferentes concentrações de proteína do extrato hidrossolúvel de soja/proteína do leite nos aspectos físicos, químicos, físico-químicos e microbiológicos em iogurtes sabor morango, armazenados, durante 30 dias, a 4°C.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi desenvolvido no Departamento de Ciência dos Alimentos da Universidade Federal de Lavras (DCA/UFLA), em Lavras, MG. As análises físico-químicas do leite e a fabricação dos iogurtes foram conduzidas no laboratório do Laticínio da Escola Agrotécnica Federal de Barbacena, em Barbacena, MG.

As análises químicas, físicas, físico-químicas e microbiológicas dos iogurtes foram realizadas nos laboratórios do DCA/UFLA. O aminograma foi realizado no Centro de Química de Proteínas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (USP), em Ribeirão Preto, SP.

4.1 Definição das concentrações de extrato hidrossolúvel de soja

Os resultados da análise sensorial apresentados no Capítulo 1 mostraram que 12% foi a concentração máxima de proteína do EHS/proteína do leite que proporcionou menor diferença de sabor em relação ao iogurte controle (sem EHS). Com base nesses resultados, foram selecionadas três concentrações para serem submetidas aos estudos posteriores: 8%, 10% e 12% de proteína do EHS/proteína do leite e o iogurte controle (sem proteína do EHS).

4.2 Matéria-prima

O leite utilizado foi proveniente do rebanho bovino da Escola Agrotécnica Federal de Barbacena.

4.3 Ingredientes

O extrato hidrossolúvel de soja e o preparado de morango foram fornecidos pela Gemacom Comércio e Serviços Ltda^R.

Foi utilizada a cultura láctica mista de *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* (Christian Hansen^R), cultivo termofílico liofilizado para iogurte (uso direto), sob a denominação comercial DVS YC-180, com as seguintes características:

- ⇒ aroma e pós-acidificação: baixos;
 - ⇒ viscosidade: alta;
 - ⇒ atividade acidificante: pH = 4,45 a 4,75, após 5 horas a 43°C.
- O açúcar cristal foi adquirido no comércio local de Barbacena.

4.4 Análises

4.4.1 Análises físico-químicas do leite

Para a seleção do leite foram realizadas as seguintes análises:

. **acidez titulável** - foi determinada por titulometria com solução de NaOH 0,1N, utilizando como indicador a fenolftaleína, sendo o resultado expresso em porcentagem de compostos com caráter ácido, como o ácido láctico (Association of Official Agricultural Chemists – AOAC, 1995);

. **pH** - foi determinado utilizando-se o método eletroanalítico (potenciométrico) em peagâmetro Tecnal^R Tec 3MP;

. **densidade a 15°C**: foi determinada pela medida direta, por meio do termolactodensímetro, segundo metodologia descrita na Instrução Normativa n° 68 (Brasil, 2006);

. **gordura** – foi determinada pelo método butirométrico de Gerber, segundo metodologia descrita pelo Instituto Adolfo Lutz – IAL (1985);

. **sólidos totais** - calculados pelo disco de Ackermann, utilizando-se os valores de densidade e porcentagem de gordura segundo a Instrução Normativa n° 68 (Brasil, 2006);

. **sólidos desengordurados** – foram determinados subtraindo-se o valor da gordura do valor do extrato seco total;

. **proteína bruta** - determinação do teor de nitrogênio por destilação em aparelho Microkjedahl (AOAC, 1995), utilizando-se o fator 6,38 para cálculo do teor de proteína bruta;

. **lactose** - determinada pelo método de Fheling, havendo redução dos íons cúpricos (solução de sulfato de cobre) a cuproso pela lactose (açúcar redutor) em meio alcalino, a quente. Para se conseguir a alcalinização do meio, empregou-se solução de hidróxido de sódio, adicionada de agente complexante (tartarato de potássio) que impede o consumo do cobre (II) para a formação de hidróxido cúprico (Pereira et al., 2001).

4.4.2 Análises da composição-química do extrato hidrossolúvel de soja

Umidade – foi determinada segundo a técnica gravimétrica, com o emprego do calor em estufa de ar forçado, à temperatura de 105°C, com verificações esporádicas até a obtenção de peso constante, segundo a AOAC (1995).

Proteína bruta - determinação do teor de nitrogênio por destilação em aparelho Microkjedahl (AOAC, 1995), empregando-se o fator 5,71 para cálculo do teor de proteína bruta.

Extrato etéreo – lipídios e substâncias lipossolúveis foram extraídos das amostras com solvente orgânico (éter etílico), utilizando-se o aparelho de extração Soxhlet, segundo método AOAC (1995).

Resíduo mineral fixo ou fração cinzas – foi determinado gravimetricamente, avaliando-se a perda de peso do material submetido à incineração, a 550°C, em mufla (AOAC, 1995).

Fração glicídica (extrato não nitrogenado) - foi calculada por diferença segundo a equação: % F.G. = 100 – (U + EE + P + F + C), sendo FG = fração glicídica (%); U = umidade (%); EE = (extrato etéreo (%); P = proteína (%); F = fibra bruta (%) e C = cinzas (%), considerando a matéria integral).

Valores calóricos - foram utilizados os fatores de conversão de Atwater: 4 kcal/g para proteínas, 4 kcal/g para carboidratos e 9 kcal/g para lipídios, conforme Wilson et al. (1982).

4.5 Etapas de obtenção dos iogurtes

4.5.1 Preparo da cultura láctica

O fermento de uso direto, cultura mista, liofilizado (embalagem de 50U) foi adicionado com 500 mL de leite esterilizado desnatado, com a temperatura ajustada para 5°C, em um liquidificador doméstico previamente esterilizado. A mistura foi batida até a completa dissolução do fermento. Em seguida, foi fracionada em recipientes de vidro previamente higienizados e sanificados, tampados e armazenados em freezer, a -18°C, até o momento do uso na fabricação dos iogurtes.

4.5.2 Cálculo das quantidades de extrato hidrossolúvel de soja a serem adicionadas aos iogurtes

As quantidades de EHS usadas na fabricação dos iogurtes foram calculadas considerando-se os teores de proteína do leite e do EHS, conforme o exemplo descrito abaixo:

- . teor de proteína do leite: 4,2%;
- . teor de proteína do extrato hidrossolúvel de soja: 47,95%.

Para a adição de 10% de proteína do EHS/proteína do leite:

$$\begin{array}{r} 100 \% \quad 4,2 \text{ g de proteína} \\ 47,95 \% \quad x = \frac{4,2 \times 100}{47,95} = 8,75 \text{ g de EHS com } 47,95 \% \text{ de proteína.} \end{array}$$

O mesmo cálculo foi adotado para as demais concentrações. As quantidades de EHS utilizadas em cada tratamento estão relacionadas na Tabela 1.

TABELA 1 - Quantidades de EHS com 47,95% de proteína utilizadas (g/L^{-1} leite) nos tratamentos.

Tratamentos	Quantidades (g) de EHS/L leite
1 (0% de EHS)	Sem adição
2 (8% de EHS)	7,0
3 (10% de EHS)	8,75
4 (12% de EHS)	10,5

4.5.3 Fabricação dos iogurtes

Os iogurtes foram fabricados conforme o fluxograma apresentado na Figura 1. Para todos os tratamentos foram seguidas, rigorosamente, a mesma técnica, variando somente a concentração do extrato de soja.

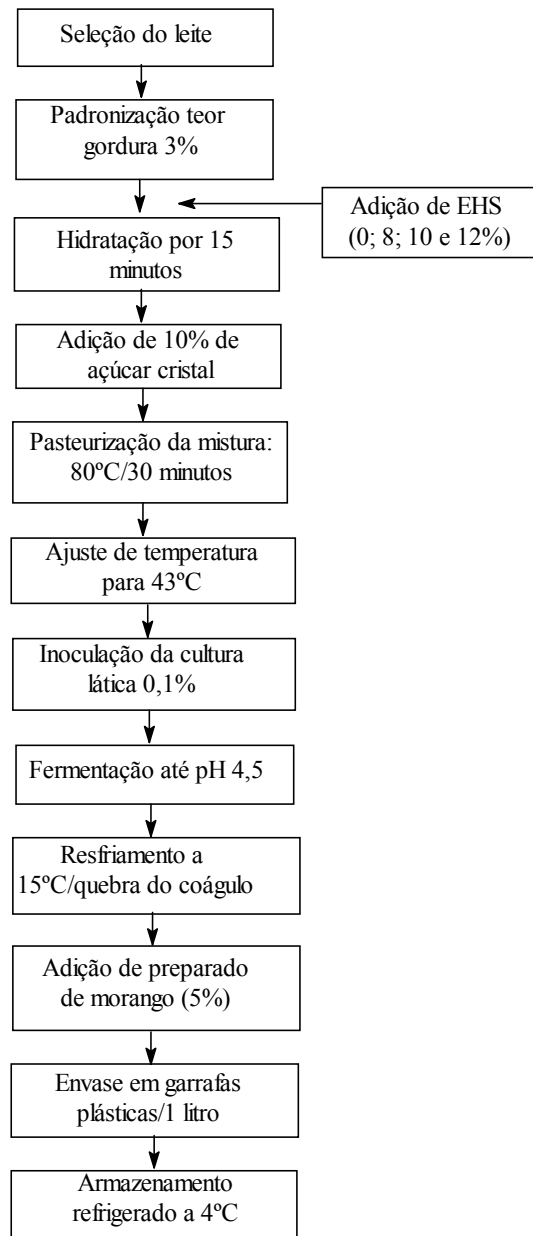


FIGURA 1 - Fluxograma de fabricação dos iogurtes com diferentes concentrações de proteína do EHS/proteína do leite (8%, 10% e 12%) e o iogurte controle (sem proteína do EHS).

4.5.4 Parâmetros tecnológicos

Foi adotado o pH 4,5 como indicador do ponto final dos iogurtes.

Tempo de fermentação - tempo necessário para os iogurtes atingirem o pH 4,5.

pH - determinado utilizando-se o método eletroanalítico (potenciométrico) em peagâmetro Tecnal Tec 3MP.

Acidez - pelo Método Dornic, expressa em porcentagem de ácido láctico.

4.6 Análises do iogurte no armazenamento

4.6.1 pH

O pH foi determinado utilizando-se o método eletroanalítico (potenciométrico) em peagâmetro Tecnal Tec 3MP. As análises foram feitas em triplicata e os resultados fornecidos por meio das médias das triplicatas.

4.6.2 Composição centesimal

- **Umidade** - determinada pelo método gravimétrico, com emprego de calor, em que se determinou a perda de peso do material quando submetido ao aquecimento (105°C), até a obtenção de peso constante, segundo AOAC (1995).

- **Fração protéica** - obtida pela determinação da porcentagem de nitrogênio total da amostra, segundo método de Kjeldahl descrito pela AOAC (1995) e multiplicado pelo fator médio entre 6,25 e 6,38, de acordo com as proporções utilizadas de extrato de soja e leite.

- **Extrato etéreo** - determinado segundo o método da AOAC (1995) com modificações, utilizando-se as amostras liofilizadas.

- **Resíduo mineral fixo (cinzas)** - determinado pela incineração das amostras à temperatura de 550°C, segundo AOAC (1995).

Todas as análises foram realizadas em triplicata.

4.6.3 Lactose

A lactose foi determinada pelo método de Fheling, havendo redução dos íons cúpricos (solução de sulfato de cobre) a cuproso pela lactose (açúcar redutor) em meio alcalino, a quente. Para se conseguir a alcalinização do meio, empregou-se solução de hidróxido de sódio, adicionada de agente complexante (tartarato de potássio), que impede o consumo do cobre (II) para a formação de hidróxido cúprico (Pereira et al., 2001).

4.6.4 Determinação da cor

Valores L^* , h° e C^* - utilizou-se um colorímetro marca Minolta^R, modelo CR 400, com iluminante D_{65} e no sistema de cor CIEL*a*b*. As leituras dos valores L^* , a^* e b^* foram feitas sob a superfície do iogurte contido em uma placa da Petri. Estes dois últimos valores foram usados para calcular o h° (ângulo de tonalidade) e o C^* (cromaticidade), utilizando-se as seguintes fórmulas: $h^\circ = \tan^{-1}(b^*/a^*)$ e $C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$, respectivamente. As análises foram realizadas em triplicata.

A coordenada L^* representa quão clara ou escura é a amostra, com valores variando de 0 (totalmente preta) a 100 (totalmente branca); a coordenada a^* pode assumir valores de -80 a +100, em que os extremos correspondem ao verde e ao vermelho, respectivamente; a coordenada b^* , com a intensidade de azul ao amarelo, pode variar de -50 (totalmente azul) a +70 (totalmente amarelo). O centro é acromático; à medida que os valores de a^* e b^* aumentam e o ponto move-se para fora partindo do centro, a saturação da cor aumenta (Minolta, 1994 citado por Silva, 2007).

4.6.5 Determinação da viscosidade

Foram utilizados 500 mL de amostra de iogurte, à temperatura de 4°C, homogeneizadas e submetidas à análise de viscosidade em viscosímetro

Brookfield^R modelo RVT, utilizando splindle 5 e velocidade de 2,5 rpm. O intervalo entre as leituras foi de 30 segundos. Os resultados foram multiplicados pelo fator de conversão de (mP.s para centipoise) obtido da relação do n° do splindle e da velocidade empregada, de acordo com tabela que acompanha o equipamento correspondente e expressos em centipoise (cP).

4.6.6 Atividade de água

Os iogurtes foram submetidos à análise de atividade de água em aparelho da marca Aqualab^R modelo 3 TE, a 25°C.

4.6.7 Perfil de aminoácidos (aminograma)

Os aminogramas foram obtidos após hidrólises das amostras liofilizadas. Empregou-se a hidrólise ácida para quantificar alguns aminoácidos (lisina, histidina, arginina, ácido aspártico, treonina, serina, ácido glutâmico, prolina, glicina, alanina, cisteína, valina, metionina, isoleucina, leucina, tirosina e fenilalanina), com HCl 6N por 22 horas, à 110±1°C, de acordo com Spackman et al. (1958). Para a determinação do triptofano, empregou-se LiOH 4N, por 24 horas, a 110±1°C, segundo técnica descrita por Lucas & Sotelo (1980), por meio de cromatografia líquida em colunas de resina de troca catiônica em analisador de aminoácidos Nicolas V, que possui duas colunas de troca iônica, sendo uma longa, que separa aminoácidos ácidos e neutros, e uma curta, que separa aminoácidos básicos e triptofano. Alíquotas de 0,010 e 0,900 mL são aplicadas nas colunas de troca catiônica (Resina: PC 6A *Amino acid Analysis Resin Pierce*) e eluídas por diferença de pH e força iônica (coluna curta pH 5,28, coluna longa pH 3,25 e, posteriormente, 4,25) (Spackman et al., 1958). Após a separação cromatográfica, os aminoácidos eluídos da coluna reagem com ninidrina, à temperatura de, aproximadamente, 100°C e os produtos dessa reação são detectados colorimetricamente em dois comprimentos de onda: 440 nm para

Prolina (cubeta de 6mm de caminho óptico) e 570 nm para os demais aminoácidos (em cubeta de caminho óptico de 12mm). A identificação dos picos foi realizada com base nos tempos de retenção de cada resíduo.

4.6.8 Determinação do escore químico de aminoácidos

O escore químico de aminoácidos essenciais (EAE) foi determinado relacionando-se a concentração de cada um dos aminoácidos essenciais das frações protéicas em estudo, com os aminoácidos do padrão de referência da Food and Agriculture Organization. World Health Organization – FAO/WHO (1990), segundo Pellet & Young (1980), expresso por meio da seguinte equação:

$$\text{Escore químico} = \frac{\frac{\text{mg aminoácido essencial}}{\text{g proteína teste}}}{\frac{\text{mg aminoácido essencial}}{\text{g proteína referência}}} \times 100$$

4.6.9 Contagem de cocos e bacilos

A contagem de cocos e bacilos foi realizada utilizando-se a técnica de contagem direta ao microscópio (Meynell & Meynell, 1975), descrita a seguir.

4.6.9.1 Preparo das diluições

Uma alíquota de 1 mL de iogurte foi pipetada e adicionada ao tubo com 9mL de água peptonada (diluição 10^{-1}). A partir daí foram feitas diluições seriadas até 10^{-5} para todos os tratamentos e as diluições foram preparadas em triplicata. Todos os procedimentos foram realizados sob chama (bico de Bunsen).

4.6.9.2 Preparo das lâminas

Em cada lâmina para microscópio, depois de limpa e flambada, foi delimitada, em seu centro, uma área de 1cm^2 , com um lápis especial. Foi flambado novamente o outro lado da lâmina o qual foi usado para receber a alíquota. Com uma pipeta, uma alíquota de $0,01\text{mL}$ foi removida das diluições das amostras previamente preparadas e aplicadas sobre a superfície delimitada e espalhada com alça esterilizada. Após secagem, a lâmina foi submetida à lavagem por imersão com ciclohexano, por, aproximadamente, 10 segundos para a remoção da gordura e enxaguada com metanol pelo mesmo processo. Depois de seca, a lâmina foi corada pela técnica de coloração de Gram.

A contagem direta dos microrganismos (cocos e bacilos) foi em quatro campos, em microscópio trinocular acoplado à câmera de vídeo. Dentre todas as diluições, a de 10^{-3} foi a que proporcionou melhor leitura. O cálculo foi feito por meio da fórmula: média dos campos x fator do microscópio (450.000) x recíproca da diluição x fator de correção da diluição.

Todas as contagens foram feitas em triplicata. Os resultados foram expressos como contagem direta ao microscópio (CDM) por mL – CDM/mL.

4.7 Delineamento estatístico

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado (DIC), em fatorial dois fatores, 4×3 , sendo 4 concentrações de EHS e 3 tempos de armazenamento, com 3 repetições.

4.8 Análises estatísticas

As análises estatísticas das variáveis físicas, químicas e físico-químicas foram realizadas por meio do programa Sisvar (Ferreira, 2000). Após a análise de variância, observou-se o nível de significância do teste F. As médias de cada tempo foram submetidas à regressão polinomial, em que os modelos foram

selecionados de acordo com a significância do teste F de cada modelo e com o coeficiente de determinação. Os efeitos dos tratamentos foram comparados pelo teste F e, quando houve significância, foi utilizado o teste de média de Tukey, a 5% de probabilidade.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Análises físico-químicas do leite

Os valores médios de acidez, pH, densidade, gordura, extrato seco total e desengordurado e proteína do leite, utilizados para o processamento dos iogurtes, são apresentados na Tabela 2.

TABELA 2 - Valores médios de pH, acidez, densidade, gordura, sólidos totais, sólidos desengordurados, proteína e lactose do leite empregado na fabricação dos iogurtes.

Parâmetros físico-químicos	Valores	IN n. 51/2002*
Acidez (g ácido láctico/100mL)	0,17 g/100mL	0,14 a 0,18 g ácido láctico/100g
pH	6,58	-
Densidade relativa a 15/15°C g/mL	1,033 g/mL	1,028 a 1,034 g/mL
Gordura (g/100 g)	3,0 g/100 g	3,0 g/100 g
Sólidos totais (g/100 g)	12,11g/100 g	-
Sólidos desengordurados (g/100 g)	9,11g/100g	8,4 g/100 g
Proteína (g/100 g)	4,2 g/100g	2,9 g/100 g
Lactose (%)	4,4 %	-

* IN n.51/2002 (Instrução Normativa n.51) (Brasil, 2002).

De acordo com os resultados obtidos, observa-se que o leite utilizado na fabricação dos iogurtes atende aos padrões exigidos pela Instrução Normativa n.51/2002 (Brasil, 2002), caracterizando-o como matéria-prima de boa qualidade

físico-química, que atende aos padrões legais exigidos para a fabricação de iogurtes.

5.2 Análises químicas do EHS

Os resultados das análises químicas do EHS são apresentados na Tabela 3.

TABELA 3 - Valores médios da composição centesimal (%) do extrato hidrossolúvel de soja.

Umidade	Proteína	Lipídio	Cinza	Fibra	Fração glicídica
7,0	48,0	16,0	5,4	2,4	20,8

O valor protéico do EHS analisado atende ao regulamento técnico para produtos protéicos de origem vegetal da ANVISA-RDC-n.268, de 22/9/2005, que prevê 40%(g/100g) de proteína para extrato de soja em pó (Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA, 2005).

5.3 Parâmetros tecnológicos

Tempo de fermentação, pH e acidez dos iogurtes

Os valores de pH e de acidez para cada tratamento em 6 horas de fermentação estão apresentados na Tabela 4.

TABELA 4 - Valores médios de pH e acidez dos iogurtes com proteína do EHS e iogurte controle (sem adição de EHS), em 6 horas de fermentação.

Tratamentos	Valores de pH	Valores de acidez(°D)
0%(controle)	4,50	73°D
8% de EHS	4,50	72°D
10% de EHS	4,51	71°D
12% de EHS	4,51	71°D

O tempo de fermentação correspondeu ao tempo total de incubação das amostras em estufa a 42°C, até que o pH fosse reduzido a 4,5. O tempo de incubação necessário para atingir o pH estabelecido (pH= 4,5) não variou, ou seja, esse tempo foi de 6 horas para todos os tratamentos. Observa-se, ainda, que este tempo de fermentação relacionado ao tempo gasto quando se utiliza o fermento para uso direto está relativamente baixo, devido ao fato de a cultura já ter sido ativada quando da sua prévia diluição. Do ponto de vista prático, pode-se afirmar que o tempo de fermentação registrado neste estudo não excede o tempo normal observado nos processos tradicionais de fabricação, o que não inviabiliza a utilização de proteína do EHS. Os valores de pH e acidez atingidos pelos iogurtes, em 6 horas de fermentação, estão de acordo com os valores normais para iogurtes convencionais elaborados com a cultura para uso direto.

Viana (1987) obteve valor de pH de 4,38, em 4 horas de fermentação de leite adicionado de EHS com 40% de teor protéico e 1,5% de sacarose, utilizando os mesmos microrganismos da cultura lática deste trabalho.

5.4 pH no período de armazenamento dos iogurtes

O pH é um indicador importante na determinação das características de qualidade do iogurte relacionadas ao sabor e à formação da estrutura física da coalhada. Na avaliação dos iogurtes estocados a 4°C, por 30 dias, observou-se que o pH não foi interativamente influenciado pelos fatores tempo de armazenamento e tratamentos. Apenas houve efeito isolado do tempo de armazenamento conforme representado no gráfico da Figura 2.

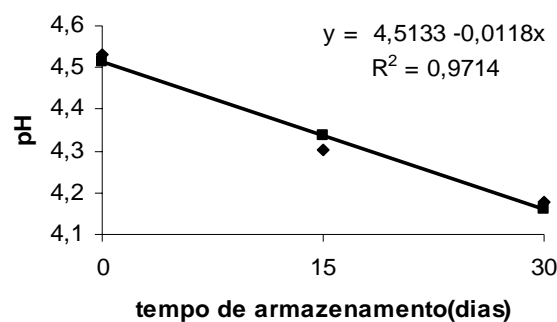


FIGURA 2 - Modelo de regressão para o pH em função do tempo de armazenamento a 4°C, em iogurtes com diferentes concentrações de proteína de EHS/proteína do leite.

Os valores de pH obtidos neste estudo, 4,5 a 4,14, apresentaram um decréscimo linear até o período final de estocagem. Valores próximos foram encontrados por Souza (1991) que, ao analisar iogurtes de leite de vaca adicionados de proteína de soja estocados a 5°C, por 30 dias, constatou variação do pH entre 4,4 e 4,14, até o final do armazenamento. Há, na literatura, uma controvérsia entre os autores quanto ao valor ideal de pH para o iogurte. Valores de pH entre 3,9 e 4,3 são citados por Tamine & Robinson (1991) como

ótimos para um produto de qualidade. São comuns valores entre 4,6 e 3,7 em iogurtes comerciais; já os valores entre 4,0 e 4,4 são considerados ideais para que o produto apresente o sabor equilibrado, segundo Souza (1991), porém, há uma concordância de que esse parâmetro é o melhor para expressar a acidez do iogurte, já que a acidez titulável é influenciada pelos teores de sólidos do leite. Contudo a acidez titulável é muito variável e influenciada pelo paladar do consumidor, conforme afirma Souza (1991). Comparado aos valores citados nos trabalhos acima, o valor do pH obtido neste estudo ao final do armazenamento é considerado ideal para a manutenção de suas características de sabor.

Os iogurtes estão sujeitos ao aumento da acidez e a conseqüentes decréscimo de pH durante a estocagem refrigerada, comumente chamada de pós-acidificação. Isso pode ser atribuído à persistente atividade metabólica das bactérias ácido-lácticas durante a estocagem refrigerada do produto. Os decréscimos de pH apresentados neste trabalho foram, em média, de 0,18, com 15 dias de armazenamento e de 0,34, no período final de estocagem. Estes valores são altos, de acordo com os citados por Oliveira (1997), que considera variações de pH, ao longo do tempo de estocagem, menores que 0,12, decréscimos menores e valores entre 0,14 e 0,32 decréscimos perceptíveis.

Estudos têm demonstrado que maior pós-acidificação ocorre na primeira semana de fabricação do iogurte, devido ao consumo pelas bactérias lácticas da lactose, na produção de ácido láctico e a alta atividade metabólica das mesmas a pH mais elevados.

Tem-se observado que o aumento do teor protéico de leites fermentados tem prevenido a pós-acidificação e aumentado a vida de prateleira, fato que Kailasapathy & Rybka (1997) e Rasic & Kurma (1978) atribuíram ao aumento da capacidade tamponante do iogurte e à inibição da degradação da lactose.

Os valores de pH podem influenciar também o aparecimento de defeito de dessoramento de iogurtes. Quando esses valores se encontram acima de 4,6,

favorece a separação do soro pela deficiência na formação da estrutura do gel e valores abaixo de 4,0 favorecem a contração do coágulo, devido à redução da hidratação das proteínas, provocando também a sinérese, conforme citou Brandão (1995). Não foi observada separação do soro nos iogurtes estudados em nenhum dos períodos de armazenagem avaliados. Esse comportamento pode estar relacionado ao fato de os mesmos terem permanecido fora da faixa considerada crítica para o aparecimento desse defeito.

O valor médio de pH obtido entre os tratamentos foi de 4,34. Em trabalhos semelhantes, valores um pouco acima foram encontrados. Estudos conduzidos com iogurtes de soja em diferentes formulações valores de pH entre 4,4 e 4,8 foram observados. O valor de pH referência adotado por Fuchs et al. (2005), em seu estudo com iogurte de soja suplementado com inulina e oligofrutose, foi de 4,6.

5.5 Umidade

Os valores de umidade não foram significativamente influenciados pelo tempo de armazenamento. O valor médio de umidade obtido no final do armazenamento foi de 79,22%. Valor menor foi obtido por Haully et al. (2005), ao analisar iogurtes de soja suplementados com frutooligossacarídeos armazenados por 28 dias. A diferença desses valores pode ser atribuída ao uso de inulina e oligofrutose, aumentando os sólidos dos iogurtes, conseqüentemente diminuindo a umidade. A umidade sofreu influência significativa isolada ($p < 0,05$) dos tratamentos, conforme apresentado na Tabela 5.

TABELA 5 - Valores médios de umidade dos iogurtes com proteína do EHS e iogurte controle (sem EHS).

Tratamentos	Umidade (%)
10% de EHS	78,88 b
12% de EHS	78,95 b
Controle (sem EHS)	79,17 b
8% de EHS	79,90 a

Médias seguidas de letra iguais na coluna não apresentam diferença significativa entre si, pelo teste de média de Tukey, a 5% de probabilidade.

O iogurte com 8% de proteína de EHS/proteína do leite foi o que apresentou a maior retenção de umidade, conseqüentemente com menor evaporação de água, comparado aos demais tratamentos. A propriedade funcional de absorção e de retenção de água, característica da proteína da soja, depende da afinidade da proteína pela água e esta pode ser influenciada, nos derivados da soja, pela forma de obtenção destes. De acordo com Cheftel et al. (1989a), numerosos tratamentos mecânicos podem desnaturar as proteínas pelas forças de cisalhamento que originam. A desnaturação protéica pode resultar em dissociação e desdobramento das moléculas, chegando-se à superfície as ligações peptídicas e de cadeias laterais polares antes inativas, que melhoram a absorção de água. Aminlari et al. (1997) constataram que o aumento da pressão de homogeneização reduz o tamanho das partículas do extrato de soja e Cabral et al. (1997) observaram que o aumento da pressão de homogeneização melhora a absorção de água pelo extrato de soja.

Observou-se, neste estudo, que, à medida que se aumentou a concentração de proteína do EHS nos iogurtes, a umidade diminuiu, ou seja, os iogurtes com maior concentração de proteína do EHS não foram capazes de reter mais umidade e a água foi mais facilmente evaporada. Diante desses resultados,

supõe-se que a absorção de água pela proteína da soja tenha relação com a concentração utilizada. A Resolução n° 5, de 13 de novembro de 2000, não contempla valores de umidade para iogurtes.

5.6 Proteína

A proteína dos iogurtes avaliada neste estudo sofreu efeito isolado apenas dos tratamentos e os valores médios são apresentados na Tabela 6.

TABELA 6 - Médias dos valores de proteína dos iogurtes com diferentes concentrações de proteína do extrato hidrossolúvel de soja (EHS)/proteína do leite e iogurte controle (sem EHS).

Tratamentos	Proteína (%)
Controle (sem proteína do EHS/proteína do leite)	4,0 d
8% de proteína do EHS/proteína do leite	4,49 c
10% de proteína do EHS/proteína do leite	4,64 b
12% de proteína do EHS/proteína do leite	4,69 a

Médias seguidas de letras diferentes diferem estatisticamente entre si ($p < 0,05$), pelo teste de média de Tukey.

Os valores de proteína dos iogurtes avaliados apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) entre si. Foi observado aumento nos teores de proteína à medida que aumentaram as proporções de proteína do EHS. O tratamento que apresentou maior valor médio de proteína foi o com 12% de proteína do extrato hidrossolúvel de soja/proteína do leite, fato atribuído ao alto teor protéico do EHS.

Resultado semelhante foi obtido por Ciabotti (2007). No desenvolvimento de um produto similar ao tofu, com diferentes concentrações

de extrato de soja e soro de leite, um aumento no teor de proteínas foi observado à medida que se aumentou a proporção de EHS. Alguns aspectos positivos do aumento do teor protéico avaliado neste estudo se relacionam com o reconhecido conteúdo significativo de aminoácidos essenciais da proteína da soja; seu valor funcional evidenciado no controle e na prevenção de doenças mediadas pelas alterações do metabolismo lipídico e sua funcionalidade tecnológica já reconhecida pela indústria de alimentos. Assim, o emprego do extrato hidrossolúvel de soja na fabricação dos iogurtes, além de agregar valor nutricional, poderá também caracterizá-lo como um produto funcional, mantendo suas características de corpo e textura.

O valor médio da proteína dos iogurtes, durante o período de armazenamento, foi de 4,45 g/100g.

5.7 Gordura

Verificou-se, neste estudo, que os valores de gordura foram influenciados isoladamente apenas pelos tratamentos. Na Tabela 7 são apresentados os valores médios de gordura dos iogurtes. Observa-se que os valores médios de gordura dos iogurtes com proteína do EHS foram maiores que do iogurte controle e que, à medida que se aumentou a concentração de proteína do EHS, aumentaram os valores deste composto.

TABELA 7 - Valores médios de gordura de iogurtes com diferentes concentrações de proteína do EHS e iogurte controle (sem proteína do EHS).

Tratamentos	Gordura (%)
Controle	2,27 d
8% de EHS	3,51 c
10% de EHS	3,90 b
12% de EHS	4,22 a

Médias seguidas de letras diferentes diferem entre si, pelo teste de média de Tukey, a 5% de probabilidade.

A gordura influencia favoravelmente a qualidade do iogurte; ela estabiliza a contração do gel protéico, previne a separação do soro no produto final e afeta as percepções sensoriais do produto, que apresenta textura mais macia e cremosa (Thomopoulos et al., 1993). O emprego do extrato hidrossolúvel de soja na formulação do iogurte pode contribuir para a melhoria dessas características, por ser esta fabaceae rica neste componente, além de ser fonte de substâncias de comprovada ação antioxidante, como os tocoferóis (Consejo Nacional de Coordinación de Políticas Sociales, 2002), presentes na fração lipídica da soja, também, rica em ácidos graxos essenciais, os poliinsaturados ácido linoléico 18:2 ($\Delta^{9,12}$) (ω -6) e o ácido linolênico 18:3 ($\Delta^{9,12,15}$) (ω -3), que exercem importantes papéis fisiológicos (Voss, 1994). Os iogurtes com proteína do EHS podem ser classificados como integrais, de acordo com o estabelecido pela legislação, que prevê valores de 3,0 a 5,9 g/100g.

O teor médio de gordura observado durante todo o período de armazenamento foi de 3,48 g/100g.

5.8 Cinzas

O fator tempo de armazenamento não influenciou significativamente os teores de cinzas dos iogurtes estudados; a média geral obtida neste estudo foi de 0,76%. O valor de cinzas para o iogurte não é estabelecido pela legislação brasileira. Esta variável foi influenciada isoladamente apenas pelos tratamentos, conforme resultados apresentados na Tabela 8.

TABELA 8 - Valores médios de cinzas de iogurtes com diferentes concentrações de proteína do EHS/proteína do leite e iogurte controle (sem proteína do EHS).

Tratamentos	Cinzas (%)
Controle (sem proteína do EHS)	0,56 d
8% de proteína do EHS/proteína do leite	0,73 c
10% de proteína do EHS/proteína do leite	0,83 b
12% de proteína do EHS/proteína do leite	0,91 a

Médias seguidas de letras diferentes diferem entre si, pelo teste de média de Tukey, a 5% de probabilidade.

Todos os tratamentos avaliados apresentaram diferença significativa entre si ($p < 0,05$), nos teores de cinzas. O maior valor foi obtido no tratamento com 12% de proteína do EHS/proteína do leite, devido à maior proporção do EHS e, conseqüentemente, maior concentração dos minerais da mesma. Observou-se que, à medida que se diminuiu a porcentagem de EHS, os valores das cinzas também diminuíram de forma significativa ($p < 0,05$) entre os tratamentos, ficando o menor valor com o iogurte controle. Todos os valores encontrados nos iogurtes com EHS foram superiores ao encontrado por Fuchs et al. (2005) em iogurte de soja suplementado com inulina e oligofrutose, que foi

de 0,40%, utilizando o extrato de soja contendo 6% de cinzas, contra 5,4% do extrato de soja utilizado neste estudo.

O aumento nos teores de cinza observados entre o menor e o maior valor nos tratamentos estudados foi de 38,46%, o que pode representar um maior teor em cálcio, fósforo, ferro, zinco e cobre que são os minerais presentes em maior quantidade na soja.

5.9 Lactose

O teor de lactose dos iogurtes foi influenciado isoladamente pelos fatores tempo de armazenamento e tratamentos. O gráfico da Figura 3 representa o comportamento deste açúcar durante o período de estocagem.

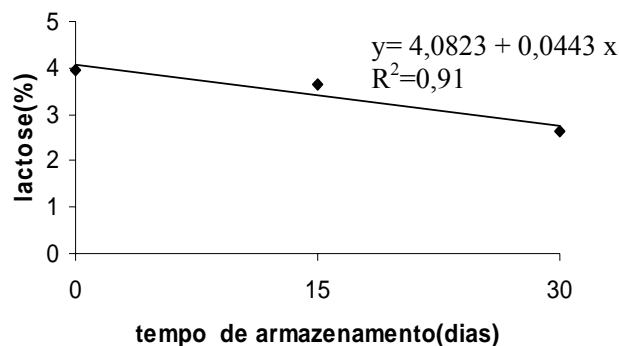


FIGURA 3 - Modelo de regressão para o teor de lactose, em função do tempo de armazenamento, em iogurtes com diferentes concentrações de proteína do EHS/proteína do leite.

Observa-se redução do valor da lactose até o final do período de armazenamento. Este comportamento pode ser atribuído à aptidão particular para a produção de ácido láctico a partir de lactose pelas bactérias lácticas

utilizadas neste estudo *Lactobacillus* e *Streptococcus*, adaptadas a metabolizá-la. O ácido láctico resultante da fermentação contribui para a desestabilização da micela de caseína, provocando sua coagulação no ponto isoelétrico (pH 4,6-4,7) e conduzindo à formação de um gel, o iogurte. Esta atividade metabólica persiste durante o resfriamento e a estocagem do produto a 4°C. O valor médio da redução do teor da lactose neste estudo foi de 32%, um pouco acima do encontrado na literatura que é de 30% durante a estocagem de iogurtes. Pereira (2002) observou uma redução no teor de lactose durante o armazenamento de iogurtes de 24%. Devido a essa hidrólise parcial da lactose, o iogurte é considerado um meio alternativo de se obter nutrientes do leite, sem expor-se aos problemas da má absorção desse açúcar.

Os teores médios de lactose dos diferentes tratamentos estudados estão apresentados na Tabela 9.

TABELA 9 - Valores médios de lactose de iogurtes com diferentes concentrações de proteína do EHS/proteína do leite e iogurte controle (sem proteína do EHS).

Tratamentos	Lactose (%)
12% de EHS	3,14 c
10% de EHS	3,23 c b
8%de EHS	3,58 b a
Controle (sem EHS)	3,72 a

Médias com letras diferentes na coluna diferem estatisticamente entre si ($p < 0,05$), pelo teste de média de Tukey.

Observa-se, pelos dados da Tabela 9, que as menores médias de lactose foram apresentados nos iogurtes com proteína do EHS e a maior média foi

observada no iogurte controle. O fato de o menor teor médio de lactose ter sido observado nos iogurtes com proteína do EHS leva a crer que algum fator presente na soja estimule a maior degradação deste açúcar pelas bactérias lácticas, por meio do estímulo do transporte da lactose para dentro da célula bacteriana ou pela maior produção da enzima lactase. A lactose não é usada diretamente no processo fermentativo pelas bactérias lácticas, pois é transformada, primeiramente, em glicose e galactose pela enzima lactase. Uma vez que a lactase é uma endoenzima, a lactose precisa entrar na célula bacteriana para ser degradada posteriormente (Longo, 2006).

Outro fato que deve ser ressaltado é a maior habilidade dos *Streptococcus thermophilus* em usar a sacarose, açúcar fermentável presente em maior concentração na soja, se comparado ao *Lactobacillus delbrueckii bulgaricus* (Mital et al., 1974). Esse fator pode ter contribuído para o maior desenvolvimento daquele microrganismo nos tratamentos com proteína do EHS e, daí, a maior hidrólise da lactose ter sido observada supondo-se uma maior quantidade de enzima produzida. Comparados ao leite, os iogurtes apresentaram redução nos teores de lactose de 30,2%, 28%, 20% e 17%, para os iogurtes com 12%, 10% e 8% de proteína de extrato de soja/proteína do leite e iogurte controle, respectivamente.

Em avaliação nos teores de lactose de leites fermentados comerciais, Ferronato et al. (2004) encontraram redução média de 30% deste açúcar em relação ao leite. Com isso, os autores indicaram que iogurtes e leites fermentados podem ser tolerados por pessoas que possuem má absorção de lactose, não pelos intolerantes. Neste estudo, só o iogurte com 12% de proteína de EHS/proteína do leite se encaixa nesta orientação, visto que a taxa de redução de lactose foi superior à encontrada pelos autores citados, para iogurtes comerciais.

5.10 Cor

Os valores de L^* não foram influenciados pelo tempo de armazenamento, nem pelos tratamentos. O parâmetro L^* indica a luminosidade e o comportamento apresentado pelos iogurtes neste estudo mostra que o EHS não provocou o escurecimento das amostras, se comparado ao iogurte tradicional. O valor médio observado para os iogurtes analisados foi de 73,23; valor próximo, 73,31, foi encontrado por Moraes (2004), ao avaliar diferentes marcas de iogurtes comerciais tradicionais.

As coordenadas de cromaticidade a^* e b^* não foram influenciadas pelo tempo de armazenamento e os valores médios apresentados foram de 14,07 e 3,66, respectivamente. Apenas a coordenada b^* , que vai da cor azul ao amarelo, foi influenciada isoladamente pelos tratamentos, conforme os valores apresentados na Tabela 10.

TABELA 10 - Valores médios da cor amarela (b^*), medida pelo sistema “CIELAB” dos iogurtes com diferentes concentrações de proteína do EHS/proteína do leite e iogurte controle (sem proteína do EHS).

Tratamentos	Cor amarela (b^*)
8% de EHS	2,79 b
Controle	2,91 b
10% de EHS	4,41 a
12% de EHS	4,56 a

Médias acompanhadas de letras diferentes diferem estatisticamente entre si ($p < 0,05$), pelo teste de média de Tukey.

A coordenada de cromaticidade b^* indica a direção da cor. Os valores de b^* foram positivos ($+b^*$), em direção ao amarelo.

De acordo com os valores apresentados na Tabela 10, a menor média da coordenada b^* , entre os iogurtes com proteína do EHS, foi observada no tratamento com 8% de proteína do EHS/proteína do leite. Este valor não diferiu estatisticamente ($p>0,05$) do iogurte controle (sem adição de proteína do EHS). As maiores médias foram observadas nos tratamentos com adição de 10% e 12% de proteína do EHS/proteína do leite, respectivamente e estes valores não diferiram estatisticamente ($p<0,05$) entre si. Este resultado mostra que houve um pequeno deslocamento da cor dos iogurtes em direção à cor amarela, característica desta fabaceae, em que a concentração da proteína do EHS foi maior, sem, contudo, depreciar a qualidade do produto, pois o aumento da cor amarela seria indesejável nos iogurtes avaliados.

A coloração amarelada da soja pode variar em função da cultivar utilizada (cor do hilo, cor do tegumento) (Lambrecht et al., 1996; Bhardwaj et al., 1999). Resultado semelhante foi obtido por Ciabotti (2007), ao avaliar a cor de produtos à base de extrato de soja e soro de leite. Os valores desta coordenada b^* foram maiores nos produtos com maior proporção de extrato de soja.

O ângulo Hue (h°), que é o ângulo da tonalidade que caracteriza uma cor (amarelo, vermelho, etc.), permitindo diferenciá-la. Neste estudo, este ângulo não sofreu influência significativa do tempo de armazenamento e dos tratamentos e o valor médio encontrado foi de 14,70, correspondendo à cor vermelha. O ângulo 0° é fixado no eixo horizontal com +a (vermelho), girando no sentido anti-horário, $h=90^\circ$ (amarelo), $h= 180^\circ$ (verde) e $h= 270^\circ$ (azul).

A cromaticidade- C^* (intensidade de uma cor) também não foi influenciada pelo tempo de armazenamento e nem pelos tratamentos e o valor médio obtido foi de 14,60. Quanto mais alto o valor de C^* , mais intensa a cor. O comportamento do ângulo h° , do Croma e da coordenada L^* está representado na Figura 4.

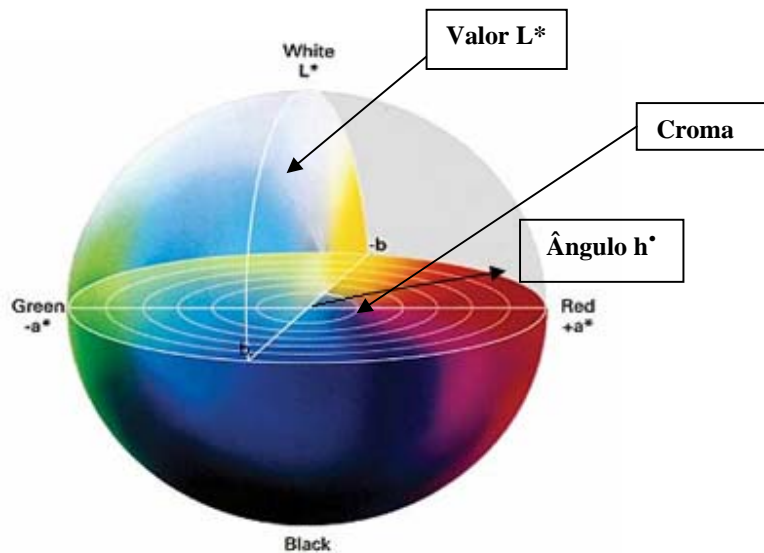


FIGURA 4 - Representação dos valores médios L^* e ângulo Hue(h°).

5.11 Viscosidade

As características de viscosidade e consistência de um produto podem determinar a aceitação ou não, por parte dos consumidores. Estas também são importantes durante o processamento, até mesmo na determinação de seus parâmetros. No iogurte, este parâmetro é considerado fundamental pelo consumidor, como característica de um produto de qualidade.

A análise de variância da viscosidade dos iogurtes mostrou que esta variável sofreu efeito isolado do tempo de armazenamento e dos tratamentos. O gráfico da Figura 5 representa o comportamento da viscosidade dos iogurtes durante o período de estocagem.

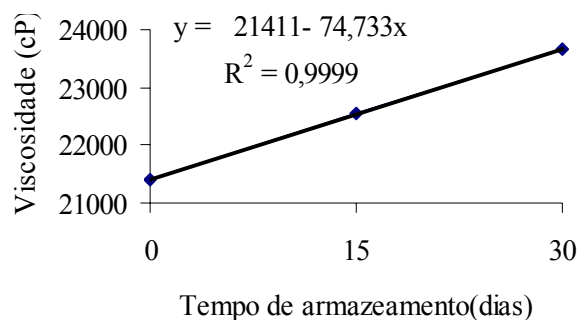


FIGURA 5 - Gráfico dos valores médios ajustados e equação de regressão da viscosidade de iogurtes com diferentes concentrações de proteína do EHS/proteína do leite.

Foi observado aumento da viscosidade dos iogurtes, relacionado ao tempo de armazenamento. Este comportamento dos iogurtes pode estar relacionado à atividade metabólica das bactérias lácticas, mesmo durante o armazenamento refrigerado, que sintetizam ácidos graxos de cadeia curta, vitaminas e exopolissacarídeos (EPS) (Shene & Bravo, 2006). Este último tem uma importante função como agente *bio-thickening* natural para melhorar a reologia do produto fermentado, como estabilizador físico e para reter água e limitar a sinérese (Duboc & Beat, 2001), conseqüentemente, aumentando a viscosidade. Evidencia-se também maior produção de EPS devido à relação de protocooperação estabelecida entre as duas bactérias empregadas na fabricação dos iogurtes (Roissart & Luquet, 1997).

Outro fator a ser considerado relaciona-se ao comportamento do pH dos iogurtes durante o período de armazenamento. Observou-se afastamento do pH da região do ponto isoelétrico das proteínas (4,6-4,5) com o tempo de armazenamento. Este comportamento, segundo Elizalde et al. (1996), aumenta a densidade de cargas da proteína, favorecendo as interações proteína-água,

resultando num aumento das propriedades de hidratação e contribuindo para o aumento da viscosidade durante o período de armazenamento.

Na Tabela 11 são mostrados os valores da viscosidade entre os tratamentos.

TABELA 11 - Valores médios de viscosidade de iogurtes com diferentes concentrações de proteína de EHS/proteína do leite.

Tratamentos	Viscosidade (cP)
Controle (sem EHS)	15761 d
8% de EHS	21950 c
10% de EHS	25133 b
12% de EHS	27281 a

Médias com letras diferentes na coluna diferem estatisticamente entre si ($p < 0,05$), pelo teste de média de Tukey.

Observou-se diferença significativa nos valores da viscosidade entre os iogurtes analisados. Todos os iogurtes com proteína de EHS apresentaram valores de viscosidade superiores, comparados ao iogurte controle. Este comportamento pode ser explicado, em parte, pelo fato de o EHS ter contribuído para a elevação do teor de sólidos totais do iogurte. O aumento da viscosidade foi observado à medida que se aumentou a concentração de proteína do EHS/proteína do leite. Quanto maior o conteúdo em sólidos da mistura destinado à elaboração do iogurte, maior a consistência e a viscosidade, propriedades físicas do iogurte de grande importância, ressaltadas por Tamine & Robinson (1991). Teles & Flôres (2007), ao avaliarem a influência da adição de espessantes e leite em pó na viscosidade de iogurte desnatado, obtiveram maiores valores de viscosidade nos iogurtes com maior teor desses sólidos.

Outra possível explicação está relacionada à viscosidade como uma das características reológicas dos extratos de soja, esta classificada como uma propriedade funcional hidrofílica das proteínas desta fabaceae, por isso dependente das interações proteína-água (Cheftel et al., 1989b). No processo de obtenção dos extratos de soja, ocorre desnaturação da proteína, promovida pelo tratamento térmico a que são submetidos, podendo provocar alteração na sua estrutura, como o desenrolamento da molécula protéica, expondo as cadeias laterais polares, fazendo com que as mesmas se tornem hidrofílicas. Conseqüentemente, vão absorver mais água, que é retida no final do processamento, contribuindo para o aumento da viscosidade do produto e a diminuição da sinérese. Destaca-se também o aumento da viscosidade, relacionado ao aumento da concentração protéica, devido às interações proteína-proteína (Cheftel et al., 1989b). Norteadas por estes fatores, pode-se inferir que o emprego de proteína do extrato hidrossolúvel de soja na fabricação de iogurtes pode representar uma alternativa na redução dos custos de fabricação dos mesmos por substituir ingredientes, como o leite em pó e ou espessantes empregados na fabricação de iogurtes tradicionais, com a função de melhorar a viscosidade e evitar a dessoragem.

5.12 Atividade de água

A atividade de água dos iogurtes analisados não sofreu efeito significativo do tempo de armazenamento nem dos tratamentos. O valor médio observado da a_w dos iogurtes foi de 0,99, considerada ideal para o crescimento de bactérias que, na maioria, ocorre a a_w superior a 0,90 (Carvalho, 1999). Dessa forma, as bactérias lácticas presentes na cultura utilizada na fabricação dos iogurtes são favorecidas pela presença de água numa forma disponível que garante seu crescimento e metabolismo, contribuindo para a manutenção das características desejáveis de sabor, aroma e textura dos iogurtes.

5.13 Perfil de aminoácidos

Os resultados da análise da composição em aminoácidos dos iogurtes estudados e os padrões da FAO/WHO (1990) estão apresentados na Tabela 12.

Comparando-se os resultados obtidos aos padrões de referência foi observado aumento no valor de todos os aminoácidos essenciais em todos os iogurtes com proteína do EHS, com exceção do aminoácido lisina, que sofreu redução.

Aumentos da tirosina e dos aromáticos (phe + tyr) foram verificados somente nos tratamentos com 8% e 10% de proteína do EHS/proteína do leite. Reduções nos teores de triptofano e sulfurados foram observadas em todos os tratamentos com proteína do EHS, mas, apesar deste comportamento, os teores desses aminoácidos se apresentaram em excesso às recomendações dos padrões da FAO/WHO (1990). Considerando que a metionina e a cisteína são aminoácidos limitantes na proteína da soja, constatou-se que o aminoácido limitante do extrato de soja utilizado neste estudo é lisina e não metionina, ao contrário do que aponta a literatura.

TABELA 12 - Teores de aminoácidos do iogurte controle (sem proteína do EHS), do iogurte com proteína do EHS, do EHS e os valores de referência da FAO/WHO (1990).

Aminoácidos Essenciais	Padrão FAO/WHO	Produtos – iogurtes e EHS				
	(mg aminoácidos/g proteína)	(mg aminoácidos/g proteína)				
	2- 5 anos	Controle		Com EHS		
	1990	EHS	0%	8%	10%	12%
Valina	35	48,5	51,12	58,77	57,22	54,08
Isoleucina	28	48,37	46,00	54,45	55,40	49,84
Leucina	66	73,60	94,00	92,48	97,18	95,44
Lisina	58	57,50	61,34	51,00	53,60	55,68
Metionina		13,53	23,51	21,60	22,70	22,26
Cisteína		11,90	8,17	7,77	5,44	6,36
Sulfurados (Met + cys)	25	25,43	31,68	29,37	28,14	28,62
Fenilalanina	-	53,40	49,07	53,58	50,86	47,72
Tirosina	-	35,33	37,38	44,07	41,78	37,11
Aromáticos (Phe + Tyr)	63	88,73	86,80	97,65	92,64	84,83
Treonina	34	42,94	16,41	50,12	49,04	41,35
Triptofano	11	16,41	29,65	21,60	18,16	25,45
Histidina	19	29,44	35,78	31,11	32,69	37,11
Não essenciais						
Arginina		82,08	38,35	39,75	46,32	46,55
Alanina		43,23	37,83	44,07	37,23	37,11
Ac. aspártico		120,55	91,00	92,48	89,91	86,95
Ac. glutâmico		172,05	175,86	147,79	164,39	170,73
Glicina		41,60	19,42	25,92	23,61	20,15
Prolina		110,27	102,24	108,90	101,72	101,80
Serina		51,87	55,21	54,45	52,67	51,96

Os resultados dos escores químicos das proteínas dos iogurtes estudados e do extrato de soja estão apresentados na Tabela 13.

TABELA 13 - Escore químico das proteínas dos iogurtes com diferentes concentrações de proteína do EHS/proteína do leite, tendo como referência a proteína padrão da FAO/WHO (1990).

Aminoácidos Essenciais	Padrão FAO/WHO (1990) (mg aminoácidos /g proteína)	Escore químico de aminoácidos (%)				
		Iogurtes /EHS				
		Controle	Com EHS		EHS	
		0%	8%	10%	12%	EHS
Valina	35	146	168	163	154	138
Isoleucina	28	164	194	197	178	172
Leucina	66	142	140	147	144	111
Lisina	58	106	88	92	96	99
Met + cys	25	127	117	112	114	101
Phe + Tyr	63	138	155	147	134	140
Treonina	34	126	147	144	121	125
Triptofano	11	269	196	165	231	149
Histidina	19	188	163	188	195	155

De acordo com os dados da Tabela 14, observa-se que o aminoácido lisina foi limitante em todos os iogurtes com proteína do EHS. Sabe-se que proteínas de leguminosas têm como fator limitante o teor de aminoácidos sulfurados. Os resultados obtidos no presente estudo podem ser explicados pelo fato da lisina apresentar, em sua estrutura, parte dos grupos α e ϵ -NH₂ livres que

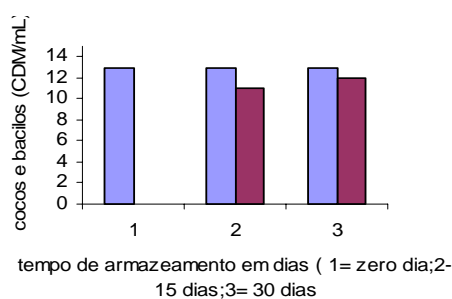
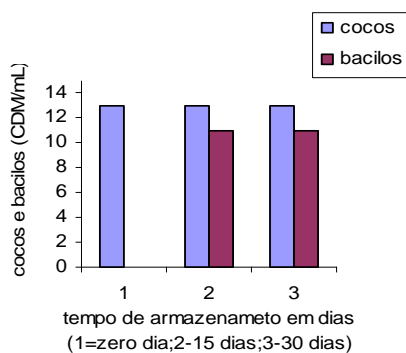
podem reagir com compostos naturais, como os açúcares redutores em produtos processados termicamente ou com os aldeídos provenientes da auto-oxidação de gorduras, durante o processamento ou a estocagem. Por essa razão, é mais relevante determinar o teor de lisina disponível ou biologicamente ativo (Araújo & Menezes, 2005).

Outra explicação para este resultado pode estar relacionada a possíveis alterações na composição protéica desta linhagem, resultante de melhoramento genético, conforme foi observado por Monteiro et al. (2004), ao trabalharem com farinhas obtidas de linhagens de soja com ausência de inibidor de tripsina Kunitz e das isoenzimas lipoxigenases. Apesar desse comportamento observado para o aminoácido lisina, foi obtida, neste estudo, em todos os iogurtes com proteína do EHS, maior relação entre os aminoácidos lisina/arginina, se comparados ao iogurte controle. Esta característica da proteína da soja pode levar à redução da secreção da insulina e glucagon, inibindo a lipogênese e contribuindo para a redução dos níveis de colesterol sérico (Jackson et al., 2001).

5.14 Contagem cocos e bacilos

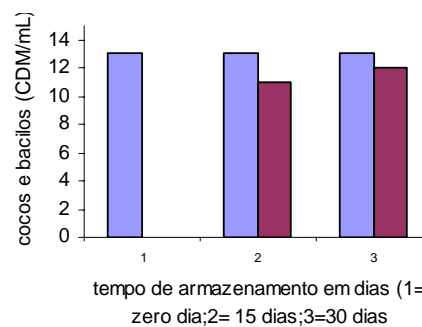
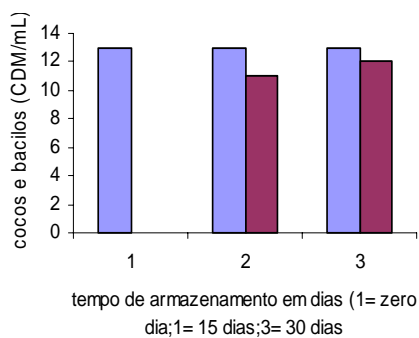
A contagem dos *Streptococos* e dos *Lactobacilos* dos iogurtes mostrou predomínio de cocos em relação aos bacilos durante o período de estocagem e entre os tratamentos, conforme os gráficos da Figura 6.

Este fato pode ser explicado sob alguns aspectos e entre esses se destaca a relação inicial entre os microrganismos da cultura láctica empregada na fabricação dos iogurtes, em que se tem o predomínio dos cocos em relação aos bacilos (Tabela 14).



A

B



C

D

FIGURA 6 - Gráficos representativos da contagem de cocos e bacilos dos iogurtes com diferentes concentrações de proteína EHS/proteína do leite. (A) iogurte controle, (B) iogurte com 8% de proteína do extrato de soja/proteína do leite, (C) iogurte com 10% de proteína do extrato de soja/proteína do leite, (D) iogurte com 12% de proteína do extrato de soja/proteína do leite, nos tempos 0, 15 e 30 dias de armazenamento.

TABELA 14 - Contagem de cocos e bacilos, realizada por meio do método de contagem direta ao microscópio (CDM/mL) da cultura lática empregada na fabricação dos iogurtes.

Cultura lática	
Cocos	Bacilos
$2,0 \times 10^{13}$	$2,4 \times 10^{12}$

Esta é uma tendência observada nas culturas láticas comerciais, cujo objetivo é aumentar a vida de prateleira dos iogurtes, pois, quando há predominância dos lactobacilos, os iogurtes apresentam maior pós-acidificação durante o período de estocagem. Esse desbalanceamento é necessário também, segundo Pinto (2001), pelo fato de a cadeia de transporte-comercialização não possuir, normalmente, um controle eficiente de temperatura.

Outro aspecto a ser discutido relaciona-se à dinâmica do pH dos iogurtes no período de armazenamento. No tempo zero de armazenamento, o pH dos iogurtes se encontrava mais alto em relação ao tempo máximo de armazenamento e foi observado um predomínio de cocos entre todos os tratamentos (Figura 9). Esse comportamento pode estar relacionado à habilidade dos cocos de se desenvolverem em pH mais alto, ficando os lactobacilos dependentes de condições do meio propiciadas pelos estreptococos, como abaixamento do pH, produção de fator de crescimento como o ácido fórmico, redução do oxigênio e redução do potencial de oxirredução para começar a se desenvolver. Este é um dos mecanismos que fazem parte da relação de protocooperação que é estabelecida entre os dois microrganismos que compõem a cultura lática.

Ainda nesse período, observou-se que o número de cocos foi maior no iogurte controle (sem adição de EHS), supondo-se que a condição de pH

favorável do meio não tenha sido suficiente para o igual desempenho dos microrganismos em todos os tratamentos.

A avaliação dos iogurtes com 15 dias de estocagem mostrou que os mesmos seguiram a tendência natural relacionada ao abaixamento do pH durante o armazenamento e o que se observou foi um crescimento dos bacilos em todos os iogurtes com EHS (Figura 9), sendo este maior em relação ao iogurte controle. Pode-se especular que, além da pH favorável, alguma substância presente na soja ou sintetizada pelos estreptococos a partir do EHS tenha favorecido este maior crescimento nos iogurtes com EHS. Os estreptococos possuem habilidade para desdobrar a sacarose presente na soja e os lactobacilos não a possuem, Mital et al. (1974), mas crescem bem em meio com adição de glicose (Wang et al., 1994). Assim, o desdobramento da sacarose pode ter contribuído para a maior quantidade deste composto (glicose) no meio, favorecendo o crescimento dos lactobacilos.

Mital et al. (1974) verificaram maior crescimento e produção de acidez e completo desaparecimento da sacarose quando o leite de soja foi fermentado pelo *Streptococcus thermophilus*. Segundo os autores, isto se deve à capacidade desse microrganismo de utilizar a sacarose, açúcar fermentável presente em maior concentração no meio.

Wang et al. (1994) avaliaram o crescimento e a produção de ácido pela combinação de diferentes culturas em leite de soja enriquecido com diferentes carboidratos. Estes autores observaram apreciável crescimento e produção de ácido da cultura composta de *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus bulgaricus* no meio fortificado com glicose ou glicose mais lactose.

Observou-se, ainda, diminuição dos cocos em relação ao tempo anterior, o que pode estar relacionado ao abaixamento do pH, dificultando o crescimento dos mesmos. Apesar disso, permaneceu o predomínio dos cocos em relação aos bacilos.

No tempo máximo de armazenamento avaliado, observou-se o mesmo comportamento do período anterior (Figura 9). O iogurte com 12% de proteína de extrato hidrossolúvel de soja/proteína do leite apresentou a maior contagem dos dois microrganismos, comparado aos demais tratamentos, o que pode ter ocorrido em função da maior quantidade de sacarose no meio, favorecendo a manutenção do número elevado de cocos neste tratamento. O uso de proteína do EHS aos iogurtes não interferiu no equilíbrio da cultura láctica, já que a contagem de cocos foi maior em relação aos bacilos na cultura láctica inicialmente inoculada. Esse é um fator positivo, visto que um crescimento excessivo dos lactobacilos poderia levar a uma pós-acidificação excessiva e indesejável nos iogurtes durante a estocagem. Verificou-se que a contagem de lactobacilos no iogurte com adição de 12% de proteína de extrato de soja/proteína do leite foi a mesma da cultura láctica empregada na fabricação dos iogurtes deste estudo.

Outro fator importante a se considerar é o efeito terapêutico atribuído ao iogurte pela presença dos lactobacilos. Para isso, um número mínimo destes devem estar presentes no produto final que, segundo Schillinger (1999), deve ser de 10^5 a 10^6 /g microrganismos para garantir esta característica. Nos iogurtes avaliados, todos os tratamentos com proteína de EHS apresentaram números de lactobacilos superiores aos citados pelo autor, em todos os períodos de armazenagem e nos tratamentos (Tabela 15).

TABELA 15 - Valores médios da contagem de cocos e bacilos de iogurtes: controle (sem proteína do EHS); 8%,10% e 12% de proteína de extrato hidrossolúvel de soja/proteína do leite, nos tempos 0, 15 e 30 dias de armazenamento, obtidos pelo método de contagem direta ao microscópio (CDM/mL).

Iogurtes	Tempo 0 cocos/bacilos	Tempo 15 dias cocos/bacilos	Tempo 30 dias cocos/bacilos
Controle	$5,4 \times 10^{13}/0$	$1,0 \times 10^{13} / 1,1 \times 10^{11}$	$1,0 \times 10^{13}/4,4 \times 10^{11}$
8% de EHS	$1,6 \times 10^{13}/0$	$1,5 \times 10^{13}/ 2,2 \times 10^{11}$	$1,3 \times 10^{13}/ 1,1 \times 10^{12}$
10% de EHS	$1,7 \times 10^{13}/0$	$1,5 \times 10^{13}/ 2,2 \times 10^{11}$	$1,4 \times 10^{13}/2,2 \times 10^{12}$
12% de EHS	$2,0 \times 10^{13}/0$	$1,9 \times 10^{13}/2, 2 \times 10^{11}$	$1,7 \times 10^{13}/ 2,4 \times 10^{12}$

6 CONCLUSÕES

→ O emprego de 8%, 10% e 12% de proteína do extrato de soja/proteína do leite como ingrediente na fabricação de iogurtes:

⇒ não interferiu no tempo de fermentação;

⇒ promoveu um incremento nos valores de proteína, gordura, cinzas, sendo maiores valores observados no tratamento com 12% de proteína do extrato hidrossolúvel de soja/proteína do leite;

⇒ não inibiu o crescimento e o desenvolvimento dos microrganismos da cultura láctica, nem provocou desequilíbrio entre os mesmos;

⇒ favoreceu a redução do teor de lactose, sendo os menores valores observados no iogurte com 12% de proteína do extrato hidrossolúvel de soja/proteína do leite;

⇒ melhorou a viscosidade dos iogurtes em relação ao iogurte controle.

→ Pôde-se estabelecer o tempo de 30 dias como o ideal para a armazenagem dos iogurtes com EHS, considerando seus aspectos químico, físico, físico-químico e a contagem de cocos e bacilos.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O emprego de proteína do EHS, como ingrediente na fabricação de iogurte, é, tecnológica, sensorial e nutricionalmente, viável, sendo importantes:

- o conhecimento das características da cultivar utilizada, bem como das condições de obtenção e processamento dos extratos para a sua melhor utilização de acordo com as características que se buscam no produto;

- o incentivo na formação do hábito de consumo da soja e a identificação do segmento de mercado de possíveis consumidores potenciais.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução RDC-n. 268, de 22 de setembro de 2005. **Aprova o regulamento técnico para produtos protéicos de origem vegetal. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 23 set. 2005.

AMINLARI, M.; FERRIER, L.K.; NELSON, A.I. Protein dispersibility of spray-dried whole soybean milk base: effect of processing variables. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 42, n. 4, p. 985-988, 1997.

ARAÚJO E.M.; MENEZES, H.C. Composição centesimal, lisina disponível e digestibilidade *in vitro* de proteínas de fórmulas para nutrição oral ou enteral. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, n. 4, p. 768-771, out./dez. 2005.

ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS. **Official methods of the Association of the Agricultural Chemists**. 16. ed. Washington, 1995. 115 p.

BHARDWAJ, H.L.; BHAGSARI, A.S.; JOSHI, J.M.; RAGAPPA, M.; SAPRA, V.T.; RAO, M.S.S. Yield and quality of soymilk and tofu made from soybean genotypes grown at four locations. **Crop Science**, Madison, v. 39, n. 2, p. 401-405, Mar./Apr. 1999.

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

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº. 68, de 12 de dezembro de 2006. **Oficializa os métodos analíticos oficiais físico-químicos para controle de leite e produtos lácteos. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**. Brasília, p. 8, 14 dez. 2006. Seção 1.

BRASIL. Ministério de Estado da Agricultura e do Abastecimento. Instrução Normativa nº. 51, de 18 de setembro de 2002. **Aprova os regulamentos técnicos de produção, identidade e qualidade do leite tipo A, do leite tipo B, do leite tipo C, do leite pasteurizado e do leite cru refrigerado e o regulamento técnico da coleta de leite cru refrigerado e seu transporte a granel.** *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*. Brasília, p. 13, 20 set. 2002. Seção 1.

CABRAL, L.C.; WANG, S.H.; ARAÚJO, F.B.; MAIA, L.H. Efeito da pressão de homogeneização nas propriedades funcionais do leite de soja em pó. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 17, n. 3, p. 286-290, set./dez. 1997.

CARVALHO, E.P. **Microbiologia de alimentos**. Lavras: UFLA/FAEPE, 1999. 76 p.

CHEFTEL, J.C.; CUQ, J.L.; LORRIENT, D. Las proteínas da soja. In: _____. **Proteínas alimentares**. Zaragoza: Acribia, 1989a. cap. 6, p. 275-276.

CHEFTEL, J.C.; CUQ, J.L.; LORRIENT, D. **Proteínas alimentarias**: bioquímica, propiedades funcionales, valor nutricional, modificaciones químicas. Zaragoza, Espana: Acribia, 1989b. 346 p.

CIABOTTI, S. **Desenvolvimento de um produto similar ao tofu com base na combinação do extrato de soja e soro de leite**. 2007. 168 p. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

CONSEJO NACIONAL DE COORDINACIÓN DE POLÍTICAS SOCIALES. **Consideraciones sobre la soja en la alimentación**. Buenos Aires, 2002. 17 p.

DHINGRA, S.; JOOD, S. Organoleptic and nutritional evaluation os wheat breads supplemented with soybean and bearley flour. **Food Chemistry**, Haryana, v. 77, n. 4, p. 479-488, 2001.

DUBOC, P.; BEAT, M. Applications of exopolysaccharides in the dairy industry. **International Dairy Journal**, Switzerland, v. 11, n. 10, p. 759-768, 2001.

ELIZALDE, B.E.; BARTHOLOMAI, G.B.; PILOSOF, A.M.R. The effect of pH on the relationship between hydrophilic/lipophilic characteristics and emulsification properties of soy proteins. **Food Science and Technology/Lebensmittel – Wissenschaft & Technologie**, Argentina, v. 29, n. 4, p. 334-339, 1996.

FERREIRA, D.F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos. **Anais...** São Carlos: UFSCar, 2000. p. 255-258.

FERRONATO, D.D.Z.; FARINÃ, L.O.; JORGE, A.S.; COSTA, M.C.D. Avaliação dos teores de lactose em iogurtes e leites fermentados produzidos no Paraná como subsídio para orientação nutricional de pacientes com intolerância à lactose. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 59, n. 339, p. 156-159, jul./ago. 2004.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION. World Health Organization. **Protein quality evaluation (Report of a joint FAO/WHO Expert Consultation)**. Roma, 1990. 138 p.

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

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

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. 3. ed. São Paulo: Imesp, 1985. v. 1, 533 p.

JACKSON, C.J.; DINI, J.P.; LAVANDIER, C.; RUPASINGHE, H.P.V.; FAULKNER, H.; POYSA, V.; BUZZEL, D.; De GRANDIS, S. Effects of processing on the content and composition of isoflavones during manufacturing of soy beverage and tofu. **Process Biochemistry**, London, v. 37, n. 10, p. 1117-1123, 2001.

KAILASAPATHY, K.; RYBKA, S.L. Acidophilus and bifidobacterium sp-their therapeutic potential and survival in yogurt. **Australia Journal of Dairy Technology**, Austrália, v. 52, n. 1, p. 28-35, abr. 1997.

LAMBRECHT, H.S.; NIELSEN, B.J.; LISKA, B.J.; NIELSE, N.C. Effect of soybean storage on tofu and soymilk production. **Journal of Food Quality**, Trumbull, v. 19, n. 3, p. 189-202, June 1996.

LONGO, G. **Influência da adição de lactase a produção de iogurtes**. 2006. 89 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR.

LUCAS, B.; SOTELO, A. Effect of different alkalies, temperatures and hydrolises times on tryptophan determination of pure protein and foods. **Analytical Biochemistry**, México, v. 109, n. 1, p. 192-197, 1980.

MARQUETTI, A.A.; PERES, R.S.; SOUZA NETTO, A.S. **Estudo da propriedade emulsificante de isolados protéicos obtidos de grãos de soja irradiados**. Campinas: UNICAMP-Departamento de Alimentos e Nutrição da Faculdade de Engenharia de Alimentos, 2001. Disponível em: <http://www.prp.unicamp.br/pibic/congrsso/xiii_congresso_painéis/023054.pdf>. Acesso: em 02 mar. 2008.

MCMINDES, M.K. Applications of isolated soy protein in low-fat meat products. **Food Technology**, Chicago, v. 45 n. 12, p. 61-64, 1991.

MEYNELL, G.G.; MEYNELL, E. **Theory and practice in experimental bacteriology**. 2. ed. London: Cambridge University, 1975. 120 p.

MITAL, B.K.; STEIKRAUS, K.H.; MAYLOR, H.B. Growth of lactic acid bacteria in soy mlk. **Journal of Food Science**, Nova York, v. 39, n. 5, p. 1018-1022, 1974.

MONTEIRO, M.R.P.; COSTA, N.M.B.; OLIVEIRA, M.G.A.; PIRES, C.V. Qualidade protéica de linhagens de soja com ausência do inibidor de tripsina e das isoenzimas lipoxigenases. **Revista da Nutrição**, Campinas, v. 17, n. 2, p. 195-205, 2004.

MORAES, R.M.; HAJ-ISA, N.M.A.; ALMEIDA, T.C.A.; MORETTI, R.H. Efeito da desodorização nas características sensoriais de extratos hidrossolúveis de soja obtidos por diferentes processos tecnológicos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 1, p. 46-51, jan./mar. 2006.

MORAES, P.C.B.T. **Avaliação de iogurtes líquidos comerciais sabor morango: estudo de consumidor e perfil sensorial**. 2004. 128 p. Dissertação. (Mestrado em Alimentos e Nutrição) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP.

OLIVEIRA, A.F.A. Qualidade e organização na produção de leites fermentados. In: LERAYER, A.L.S.; SALVA, T. J.G. **Leites fermentados e bebidas lácteas: tecnologia e mercado**. Campinas: ITAL, 1997. cap. 16, p. 1-14.

PELLET, P.L.; YOUNG, V.R. **Nutrition evaluation of protein food**. Tokyo: The United University, 1980. 153 p.

PEREIRA, D.B.; SILVA, P.H.F.; COSTA JUNIOR, L.C.G.; OLIVEIRA, L.L. **Físico-química do leite e derivados: métodos analíticos**. 2. ed. Juiz de Fora: EPAMIG-MG, 2001. 234 p.

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

PINTO, S.M. **Estudo de acetaldeído, diacetil e etanol em leites fermentados**. 2001. 87 p. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

RASIC, J. L.; KURMANN, J.A. **Yoghurt: scientific grounds technology, manufacture & preparation**. Copenhagen: Technical Dairy, 1978. 427 p.

ROISSART, H. de; LUQUET, F.M. **Bactéries lactiques: aspects fondamentaux et technologiques**. Saint George: Lorica, 1997. v. 2, 614 p.

SCHILLINGER, U. Isolation and identification of lactobacilli from novel-type probiotic and mild yoghurts and their stability during refrigerated storage. **Internacional of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 47, n. 1, p. 79-87, 1999.

SHENE, C.; BRAVO, S. Whey fermentation by *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* for exopolysaccharide production in continuous culture. **Enzyme and Microbial Technology**, Madrid, v. 38, n. 1/2, p. 1-7, 2006.

SILVA, M.S.; NAVES, M.M.V.; OLIVEIRA, R.B.; LEITE, O.S.M. Composição química e valor protéico do resíduo de soja em relação ao grão de soja. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 3, p. 571-576, jul./set. 2006.

SILVA, S.V. **Desenvolvimento de iogurte probiótico com prebiótico**. 2007. 106 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade de Santa Maria, Santa Maria, RS.

SOUZA, G. Fatores de qualidade do iogurte. **Coletânea do Instituto de Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 20, n. 1, p. 20-27, 1991.

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

TAMINE, A.Y.; ROBINSON, R.K. **Yogurt: ciência y tecnologia**. Zaragoza: Acribia, 1991. 368 p.

TELES, C.D.; FLÔRES, S.H. Influência da adição de espessantes e leite em pó nas características reológicas do iogurte desnatado. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, Curitiba, v. 25, n. 2, p. 247-258, jul./dez. 2007.

THOMOPOULOS, C.; TZIA, C.; MILKAS, D. Influence of processing of solids-fortified milk on coagulation time and quality properties of yogurt. **Milchwissenschaft**, Scotland, v. 48, n. 8, p. 426-430, 1993.

VIANA, A.M. **Utilização de derivados protéicos de soja em produtos lácteos fermentados**. 1987. 70 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

VOSS, A. Atualidades dietéticas: ácidos graxos ômega-3. **Abbott**, v. 1, n. 1, jul. 1994.

WANG, S.H.; MARINHO, C.S.; CARVALHO, E.P. Produção de iogurte de soja com diferentes associações de bactérias lácticas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 10, p. 1593-1601, out. 1994.

WILSON, E.D.; SANTOS, A.C.; VIEIRA, E.C. Energia. In: DUTRA-DE-OLIVEIRA, J.E.; SANTOS, A.C.; WILSON, E.D. **Nutrição básica**. São Paulo: Sarvier, 1982. p. 79-97.

WOLFSCHOON-POMBO, A.F.; GRANZINOLLI, G.G.M.; FERNANDES, R.M. Sólidos totais do leite, acidez, pH e viscosidade do iogurte. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 227, n. 37, p. 19-24, 1983.

ANEXOS

ANEXO A

		Página
TABELA 1A	Resumo da análise de variância para o Teste de Diferença do Controle de iogurtes com 24 provadores de iogurtes com 0; 8; 10; 12; 14; 16; 18; 20 e 22% de EHS,10% de açúcar.....	113
TABELA 2A	Resumo da análise de variância para o Teste de Diferença do Controle com 24 provadores de iogurtes com 10; 11 e 12% de açúcar e 12% de EHS.....	113
TABELA 3A	Resumo da análise de variância para Teste de Aceitação com 100 provadores, de iogurtes com 10; 11 e 12% de açúcar e 12% de EHS.....	113
TABELA 4A	Resumos das análises de variância para pH e proteína de iogurtes de morango com diferentes concentrações de extrato hidrossolúvel de soja.....	114
TABELA 5A	Resumos das análises de variância para cor: valor L* (luminosidade), b*(amarelo), a*(vermelho) de iogurtes de morango com diferentes concentrações de extrato hidrossolúvel de soja.....	114
TABELA 6A	Resumos das análises de variância para cor: cromaticidade (C*) e ângulo hue (h*) de iogurtes de morango com diferentes concentrações de extrato hidrossolúvel de soja.....	115
TABELA 7A	Resumos das análises de variância para lactose, viscosidade e aw (atividade de água) de iogurtes de	

	morango com diferentes concentrações de extrato hidrossolúvel de soja.....	115
TABELA 8A	Resumos das análises de variância para umidade, gordura e cinzas de iogurtes de morango com diferentes concentrações de extrato hidrossolúvel de soja.....	116
TABELA 9A	Valores médios da contagem de cocos e bacilos de iogurtes: controle (sem EHS); 8,10 e 12% de proteína de extrato hidrossolúvel de soja/proteína do leite os tempos 0;15 e 30 dias de armazenamento,realizada pelo método de Contagem Direta ao Microscópio (CDM/mL).....	116

TABELA 1A - Resumo da análise de variância para o teste de diferença do controle de iogurtes com 24 provadores de iogurtes com 0%, 8%, 10%, 12%, 14%, 16%, 18%, 20% e 22% de proteína do EHS/proteína do leite, 10% de açúcar.

Causas de variação	GL	Quadrados médios
		Teste de diferença do controle
Amostra	8	112,75 *
Provador	23	20,42 *
Erro	184	5,34
Média geral		
CV%		39,88

TABELA 2A - Resumo da análise de variância para o teste de diferença do controle com 24 provadores de iogurtes com 10%, 11% e 12% de açúcar e 12% de proteína do EHS/proteína do leite.

Causas de variação	GL	Quadrados médios
		Teste de diferença do controle
Amostra	3	55,06 **
Provador	23	2,89 **
Erro	165	1,11
Média geral		2,15
CV%		48,92

TABELA 3A - Resumo da análise de variância para teste de aceitação com 100 provadores, de iogurtes com 10%, 11% e 12% de açúcar e 12% de proteína do EHS/proteína do leite.

Causas de variação	GL	Quadrados médios
		Teste de aceitação
Amostra	3	57,25 **
Provador	99	4,59 **
Erro	297	1,65
Média geral		7,19
CV%		17,91

TABELA 4 A - Resumos das análises de variância para pH e proteína de iogurtes de morango com diferentes concentrações de proteína do EHS/proteína do leite

Causas de variação	GL	Quadrados médios	
		pH	Proteína
Tempo	2	0,385558**	0,00053 ns
Tratamento	3	0,010274 ns	0,898944**
Tempo x Tratamento	6	0,008099 ns	0,000005 ns
Erro	24	0,023294	0,000028
Média geral		4,3366667	4,4563889
CV%		3,52	0,12

*significativo, a 5% de probabilidade

**significativo, a 1% de probabilidade

ns- indica valores de teste de F não significativos.

TABELA 5A - Resumos das análises de variância para cor: valor L* (luminosidade), b*(amarelo), a*(vermelho) de iogurtes de morango com diferentes concentrações de proteína do EHS/proteína do leite.

Causas de variação	GL	Quadrados médios		
		L*	b*	a*
Tempo	2	4,345478 ns	0,210486 ns	5,507269 ns
Tratamento	3	0,427210 ns	8,128536**	3,858477 ns
Tempo x Tratamento	6	2,217417 ns	0,902642 ns	2,334632 ns
Erro	24	6,714656	0,446503	4,182392
Média geral		73,2363889	3,6697222	14,0719444
CV%		3,54	18,21	14,53

**significativo, a 1% de probabilidade

ns- indica valores de teste de F não significativos.

TABELA 6A - Resumos das análises de variância para cor: cromaticidade (C*) e ângulo hue (h*) de iogurtes de morango com diferentes concentrações de proteína do EHS/proteína do leite.

Causas de variação	GL	Quadrados médios	
		C*	h*
Tempo	2	5,424075 ns	8,440885 ns
Tratamento	3	1,413237 ns	0,335760 ns
Tempo x Tratamento	6	1,997120 ns	4,263945 ns
Erro	24	3,858972	5,839922
Média geral		14,6023025	14,7012842
CV%		13,45	16,44

ns indica valores de teste de F não significativos.

TABELA 7A - Resumos das análises de variância para lactose, viscosidade e aw (atividade de água) de iogurtes de morango com diferentes concentrações de proteína do EHS/proteína do leite.

Causas de variação	GL	Quadrados médios		
		Lactose	Viscosidade	Aw
Tempo	2	5,779258**	15080940,4**	0,000003 ns
Tratamento	3	0,669574**	22651162,3**	0,000002 ns
Tempo x Tratamento	6	0,104921ns	169861,9 ns	0,000001 ns
Erro	24	0,096164	342416,2	0,000001
Média geral		3,4150000	22531,5	0,990
CV%		9,08	1,30	0,10

**significativo, a 1% de probabilidade

ns indica valores de teste de F não significativos.

TABELA 8A - Resumos das análises de variância para umidade, gordura e cinzas de iogurtes de morango com diferentes concentrações de proteína do EHS/proteína do leite.

Causas de variação	GL	Quadrados médios		
		Umidade	Gordura	Cinzas
Tempo	2	0,113436 ns	0,027778 ns	0,000011ns
Tratamento	3	1,930952**	5,507711**	0,204381**
Tempo x Tratamento	6	0,18142 ns	0,027778 ns	0,000067ns
Erro	24	0,115411	0,078536	0,000208
Média geral		79,2272	3,4877778	0,7569
CV%		0,43	8,04	1,91

*significativo, a 5% de probabilidade

** significativo, a 1% de probabilidade

ns indica valores de teste de F não significativos.

TABELA 9 A - Valores médios da contagem de cocos e bacilos de iogurtes: controle (sem EHS), 8%, 10% e 12% de proteína do EHS/proteína do leite nos tempos 0, 15 e 30 dias de armazenamento, obtidos pelo método de contagem direta ao microscópio (CDM/mL).

Iogurtes	Tempo 0 cocos/bacilos	Tempo 15 dias cocos/bacilos	Tempo 30 dias cocos/bacilos
Controle	$5,4 \times 10^{13}/0$	$1,0 \times 10^{13} / 1,1 \times 10^{11}$	$1,0 \times 10^{13} / 4,4 \times 10^{11}$
8% de EHS	$1,6 \times 10^{13}/0$	$1,5 \times 10^{13} / 2,2 \times 10^{11}$	$1,3 \times 10^{13} / 1,1 \times 10^{12}$
10% de EHS	$1,7 \times 10^{13}/0$	$1,5 \times 10^{13} / 2,2 \times 10^{11}$	$1,4 \times 10^{13} / 2,2 \times 10^{12}$
12% de EHS	$2,0 \times 10^{13}/0$	$1,9 \times 10^{13} / 2,2 \times 10^{11}$	$1,7 \times 10^{13} / 2,4 \times 10^{12}$