

PERFIL ANTIOXIDANTE DE PREPARAÇÕES DIETÉTICAS À BASE DE KEFIR

Camila Xavier Alves¹

Joanna de Ângelis da Costa Barros²

Ana Vlândia Bandeira Moreira³

Célia Regina Barbosa de Araújo⁴

Resumo

A indústria alimentícia busca alimentos mais saudáveis, como os alimentos funcionais. O trabalho avaliou o perfil antioxidante de preparações à base de kefir. Foram elaboradas seis preparações dietéticas à base de kefir fermentada tanto em leite de vaca como em extrato de soja e acrescidas de azeite, linhaça e farelo de trigo. A análise da atividade antioxidante das amostras foi utilizado o sistema beta-caroteno/ácido linoléico. Nos resultados obtidos as preparações com melhor atividade antioxidante foram: kefir de leite de vaca com azeite e linhaça a 200uL e 100uL e o kefir de extrato de soja com azeite e linhaça a 200uL e 100uL. Com estes resultados é possível concluir que a dietética é uma ferramenta importante para a aplicação de ingredientes funcionais.

Palavras chaves: *kefir; antioxidantes; alimentos funcionais*

Abstract

The food industry seeking healthier foods, such as functional foods. The study proposed to evaluate the profile of antioxidant preparations of kefir. Six dietary preparations were prepared on the basis of both kefir fermented cow's milk and in soy extract and added olive oil, flaxseed and wheat bran. The analysis of the antioxidant activity of samples was used beta-caroteno/ácido linoleic system. Results in preparations with better antioxidant activity were: cow's milk kefir with olive oil and flaxseed to 200uL and 100uL kefir and soymilk with olive oil and flaxseed to 200uL and 100uL. With these results we conclude that the diet is an important tool for the application of functional ingredients.

Keywords: *Kefir; Antioxidants; functional foods*

¹Nutricionista. E-mail: camila_xavieralves@yahoo.com.br

²Nutricionista do Hospital Maria Alices Fernandes. E-mail: joannabarros@yahoo.com.br

³Professora Doutora do curso de Nutrição da UFV. Home Page: www.ufv.br

⁴Professora do curso de Nutrição da FARN. E-mail: celianut@hotmail.com.

INTRODUÇÃO

O crescente mercado dos produtos naturais, aliado ao interesse dos consumidores na prevenção de doenças, tem pressionado a indústria alimentícia na busca por produtos mais saudáveis e direcionado pesquisas nesse sentido. Neste contexto, os alimentos funcionais ganharam destaque pelos efeitos benéficos que promovem à saúde (ANJO, 2004 apud GALVÃO, SILVA, MOREIRA e SOUSA, 2008).

O conceito de alimento funcional é, até certo ponto, novo. Ele tem variados alcances em diferentes países e uma vasta nomenclatura: nutracêuticos, alimentos de desenho, alimentos para uso médico, alimento para uso saudável, entre outras (COLLI, SARDINHA e FILISITETTI, 2005). Na última década, inúmeros estudos científicos comprovaram a importância desses alimentos para a saúde das pessoas. Esses alimentos são ricos em componentes ativos, com a capacidade de prevenir e, em muitos casos, até mesmo controlar doenças crônico-degenerativa (GENOVESE e LAJOLO, 2001; MORAIS e SILVA, 2000 apud SUSSANA, 2005).

Entre os alimentos funcionais mais investigados destacam-se a soja, o tomate, os peixes, óleos como os de peixe, a linhaça, as crucíferas (brócolis, couve de bruxelas e repolho), o alho e a cebola, as frutas cítricas, o chá verde, as uvas, o vinho tinto, os cereais como a aveia, os probióticos, entre outros (SALGADO et al, 2001). Estes alimentos são detentores de algumas propriedades, como antioxidante, imunológicas, anticarcinogênicas e preventivas para doenças cardiovasculares. Entretanto, vários alimentos não possuem ação comprovada cientificamente, dada a sua variedade da oferta e a quantidade de etapas de avaliação para que determinado componente tenha seu efeito comprovado (COLLI, SARDINHA e FILISITETTI, 2005), como por exemplo alguns probióticos.

O termo probiótico deve ser usado para designar preparações ou produtos que contêm microrganismos viáveis definidos e em quantidade adequada, que alteram a microbiota própria das mucosas por implantação ou colonização de um sistema do hospedeiro, e que produzem efeitos benéficos em sua saúde (COPOLLA e TURNES, 2004). Como exemplos de alimentos conhecidos como probióticos tem-se alguns tipos de iogurte e leites fermentados, como o kéfir, sendo que adicionados a ingredientes como linhaça e azeite, pode apresentar inclusive, atividade antioxidante. Não foi ainda

comprovado o mecanismo de ação desses probióticos, mas há fortes evidências de que eles podem, por exemplo, inibir a proliferação de organismos patogênicos, ou competir por nutrientes ou ainda, produzir compostos como citocinas e ácido butírico (COLLI, SARDINHA e FILISITETTI, 2005).

Dessa forma, o presente trabalho visa determinar “*in vitro*” a atividade antioxidante de preparações dietéticas à base de Kefir elaborados com antioxidantes naturais, para subsidiar discussões sobre sua provável aplicação na indústria de alimentos bem como sua utilização para fins dietoterápicos

MATERIAL E MÉTODOS

Foram elaborados seis tipos de preparações dietéticas à base de Kefir: kefir com azeite; kefir com azeite e linhaça; kefir com azeite; linhaça e farelo de trigo; kefir de soja com azeite; kefir de soja com linhaça e farelo de trigo; e kefir de soja com azeite e linhaça. Os materiais utilizados na elaboração dessas preparações dietéticas foram constituídos por grãos de Kefir, leite integral de vaca, extrato de soja, farelo de trigo, farinha de linhaça e azeite, dependendo de cada formulação.

Os grãos de kefir foram obtidos através de cultura da própria pesquisadora, na qual conseguiram os mesmo através de doações, os demais ingredientes foram adquiridos comercialmente, em uma rede de supermercados da cidade de Natal- RN.

As preparações das amostras foram realizadas no Laboratório de Técnica Dietética do Departamento de Nutrição da Universidade Federal do Rio Grande do Norte, seguindo o fluxograma de produção apresentado na Figura 1.

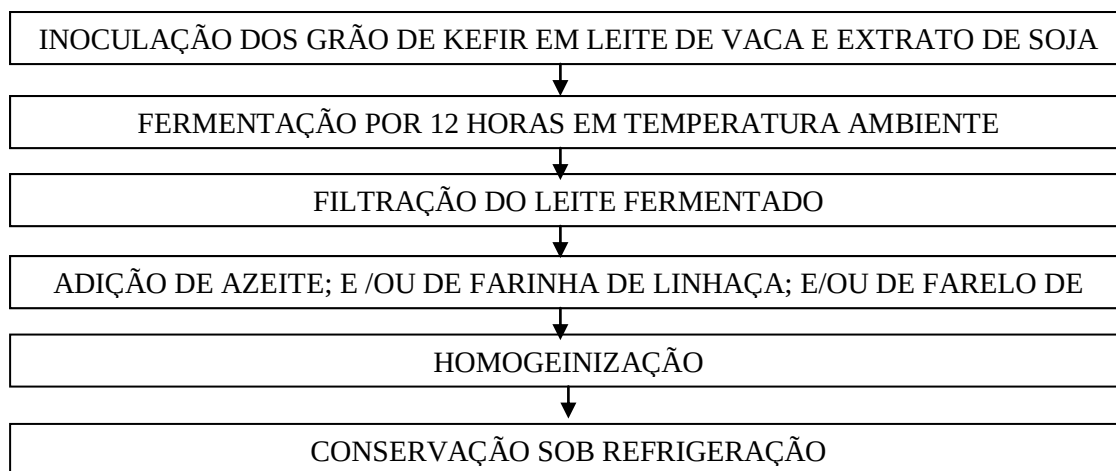


FIGURA 1: Fluxograma da elaboração das preparações à base de kefir.

Para o processo de elaboração dos produtos, tanto o leite de vaca, como o extrato de soja foram inoculados com as colônias de kefir e fermentaram por 12 horas à temperatura ambiente (28°C), em seguida, os grãos de kefir foram removidos por filtração utilizando uma peneira plástica e resfriado a 10°C. O leite fermentado obtido foi utilizado - se para a elaboração das diferentes preparações. Posteriormente, esse leite foi homogeneizado e adicionados o azeite, o farelo de trigo e a farinha de linhaça. As diferentes formulações foram elaboradas de acordo com as Tabelas 1 e 2, com base em quantidades consideradas aceitáveis.

Tabela 1: Formulações das preparações dietéticas à base de kéfir fermentado em leite de vaca.

Preparações dietéticas	Kefir com azeite	Kefir com azeite e linhaça	Kefir com azeite, linhaça e farelo de trigo
Ingredientes			
Leite Fermentado (mL)	50	50	50
Azeite (gotas)	3	3	3
Farelo de Trigo (g)	-	-	3,0
Farinha de Linhaça (g)	-	3,0	-

Tabela 2: Formulações das preparações dietéticas à base de kéfir fermentado em extrato de soja.

Preparações dietéticas	Kefir de soja com azeite	Kefir de soja com azeite e linhaça	Kefir de soja com azeite, linhaça e farelo de trigo
Ingredientes			
Leite Fermentado (mL)	50	50	50
Azeite (gotas)	3	3	3
Farelo de Trigo (g)	-	-	3,0
Farinha de Linhaça (g)	-	3,0	-

Os extratos foram preparados no laboratório de Análise de Alimentos do Departamento de Nutrição da UFRN.

Para obtenção dos extratos foram pesados 20 gramas de cada coquetel e diluído em diferentes proporções (1:10 e 1:20); homogeneizados por 1 hora e em seguida centrifugados. Os sobrenadantes obtidos foram armazenados em frascos âmbar e refrigerados para as análises de atividade antioxidante.

O método utilizado para a determinação da atividade antioxidante foi o sistema beta-caroteno/ácido linoléico, desenvolvido por Marco (1968), modificado por Miller (1971) e adaptado por Moreira e Mancini-Filho (2003).

Inicialmente foi produzido um sistema a partir de 40µL de ácido linoléico, 14 gotas de *Tween 20* (emulsificante), 50µl de β-caroteno (20mg/mL de clorofórmio), e 1ml de clorofórmio, o qual foi evaporado. Posteriormente, foi adicionada água destilada tratada com borbulhamento de oxigênio durante 30 minutos, até uma diluição, cuja densidade ótica estivesse entre 0,6 e 0,7, num comprimento de onda de 470nm, em espectrofotômetro (Spectrophotometer Digital UV – VIS Colemam 395 - D). Em seguida, volumes de 100 e 200 µL dos extratos foram adicionados ao sistema, o qual foi mantido a 50°C e monitorado com leituras espectrofotométricas a cada 15 minutos durante duas horas. Todas as determinações foram realizadas em duplicata e acompanhadas por um controle sem adição de extrato.

As percentagens de inibição da oxidação foram calculadas a partir do decaimento da densidade ótica (DO) do controle (DO inicial – D.O final) considerando como 100% de oxidação. Assim, a queda na leitura da DO das amostras das preparações dietéticas a base de kefir, correlacionando-se com o controle estabelece a percentagem de inibição da oxidação, subtraindo-se a percentagem de oxidação de cada extrato de 100% (Figura 2).

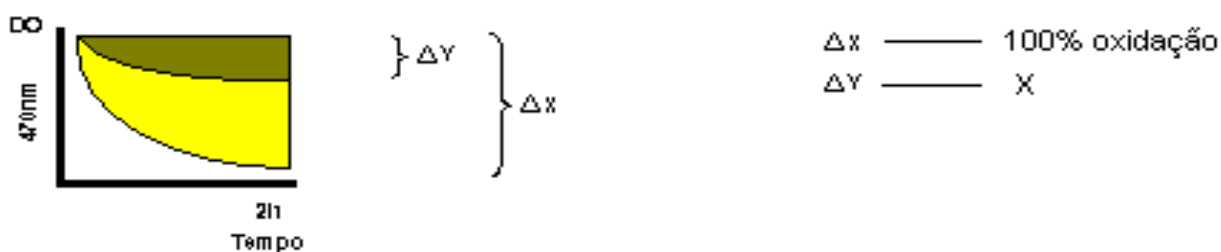


Figura 2: Modelo para o cálculo de porcentagem de inibição da oxidação (MOREIRA; MACINI-FILHO, 2003).

A eficiência da atividade antioxidante dos extratos foi estimada pelo método das tangentes descrito por Yanishlieva e Marinova (1997) e modificado por Moreira e Mancini-Filho (2003) em duas partes das curvas cinéticas que foram obtidas na realização da atividade antioxidante em sistema β -caroteno/ ácido linoléico das amostras de kefir (Figura 3).

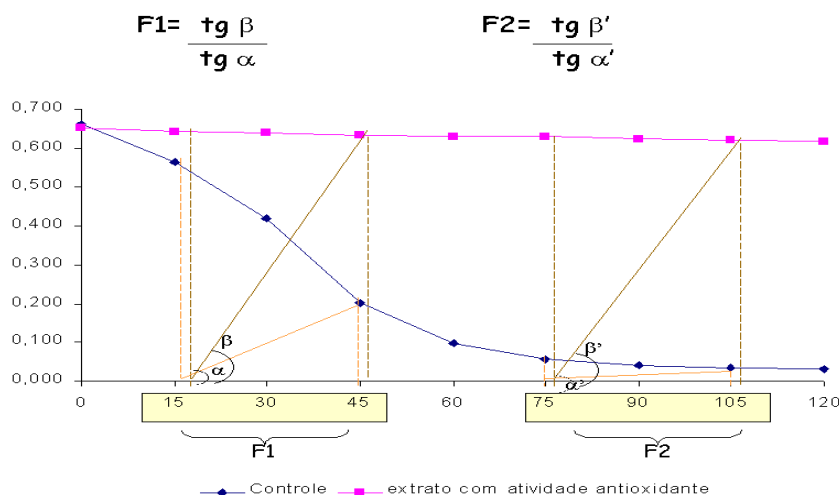


Figura 3: Esquema para demonstração das curvas para a obtenção dos fatores F1 e F2, (MOREIRA e MANCINI – FILHO, 2003)

Na primeira parte da curva (entre 15 e 45 minutos, após o início da reação), é medida a eficiência do antioxidante de bloquear a reação em cadeia através da interação com os radicais peróxidos. Essa eficiência é medida pela relação entre as tangentes das curvas cinéticas das amostras (meio de reação mais o extrato) e o controle sem antioxidante, sendo os valores obtidos denominados fator 1 (F_1):

$$F_1 = \frac{\text{tangente}_{\text{extrato}}}{\text{tangente}_{\text{controle}}}$$

Na segunda parte da curva (entre 75 e 105 min) é medida a possibilidade do antioxidante participar de outras reações (degradação de peróxidos) durante o processo oxidativo. Essa medida é obtida pela relação entre as tangentes das curvas cinéticas das amostras (meio de reação mais o extrato) e o controle sem antioxidantes. Os valores encontrados foram denominados de fator 2 (F_2):

$$F = \frac{\text{tangent}}{\text{tangent}}$$

Dessa forma, pode-se concluir que os antioxidantes foram divididos em duas classes: os com atividade enzimática e os sem essa atividade. Na primeira, estarão os compostos capazes de bloquear a iniciação da oxidação, ou seja, as enzimas que removem as espécies reativas ao oxigênio. Na segunda classe, estão moléculas que interagem com as espécies radicalares e são consumidas durante a reação. Nesta classificação, incluem-se os antioxidantes naturais e sintéticos como os compostos fenólicos (MOREIRA e MANCINI-FILHO, 2004).

Para análise estatística foi criado um banco de dados utilizando-se o software Microsoft Excel versão 5.0 e o software PRISM GRAPHPAD para o tratamento estatístico. Os resultados foram apresentados por meio de médias $\pm$ desvios padrões. As variações detectadas foram avaliadas através da análise de variância (ANOVA). Para a comparação entre as médias obtidas das amostras foi utilizado o teste *t student* para amostras.

RESULTADOS E DISCURSSÃO:

Os danos oxidativos, induzidos nas células e tecidos têm sido relacionados, de acordo com Bianchi e Antunes (1999) com a etiologia de várias doenças, incluindo doenças degenerativas tais como as cardiopatias, aterosclerose e doenças pulmonares. Todas as preparações estudadas apresentaram atividade antioxidante, exceto o kefir em leite de vaca com azeite a 100uL, como demonstrado na Figura 4. Dessa forma, pode - se dizer que as preparações que demonstraram boa atividade provavelmente apresentam capacidade de proteger os sistemas biológicos contra os efeitos deletérios ou reações que levam a oxidação de macromoléculas ou de estruturas celulares.

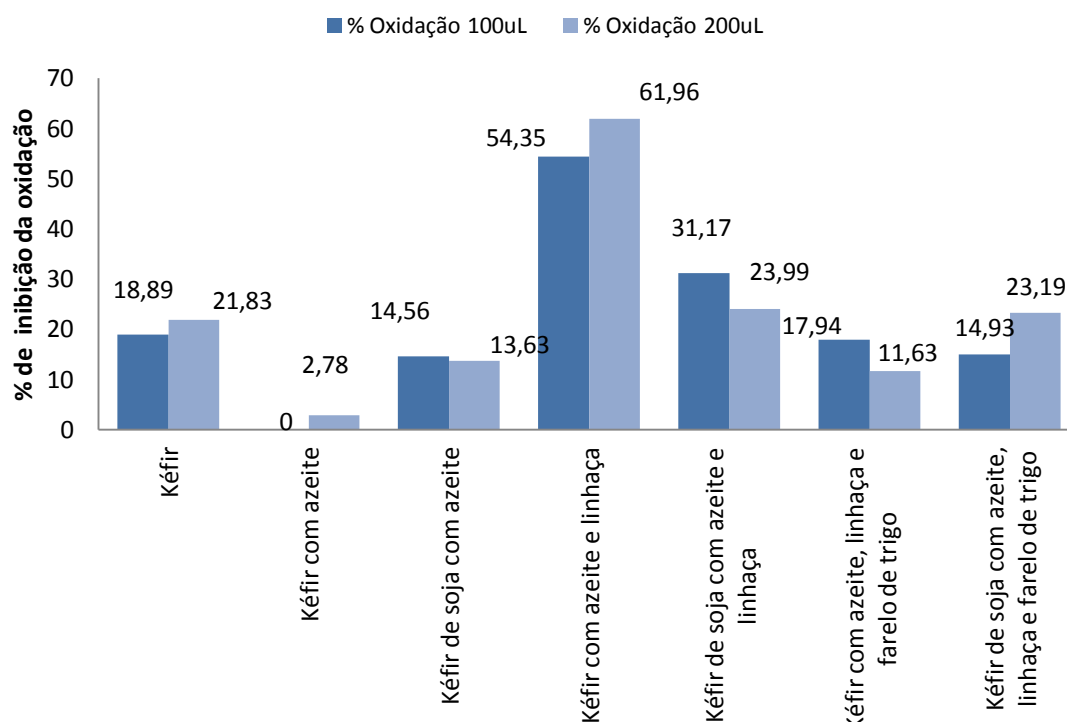


FIGURA 4: Percentual de inibição da oxidação dos extratos das preparações nos volumes de 100 e 200 μ L.

De acordo com a Figura 4 pode-se observar que todas as preparações de kefir acrescidas apenas de azeite, ou de azeite, linhaça e farelo de trigo, apresentaram menor potencial antioxidante. A baixa atividade do kefir com azeite, inclusive a do kefir em leite de vaca pode ser justificado, devido aos óleos comestíveis, no caso o azeite, conterem uma grande quantidade de ácidos graxos insaturados, como o oléico, o linoléico e o linolênico que são facilmente oxidados, pois estes se destacam mais facilmente da fração lipídica e o número de insaturações nas moléculas correspondentes é um fator decisivo para a velocidade da reação (SOUZA et al, 2006). Além de uma dificuldade de solubilidade do azeite em meio aquoso.

Dentre as preparações dietéticas estudadas a base de kefir houve mais destaque para a que foi fermentada em leite de vaca e em seguida acrescida de linhaça e azeite, apresentado um percentual de inibição de oxidação de 61,96% a um volume de 200uL e de 54,35% a 100uL, como demonstrado na figura 5. A utilização de compostos antioxidantes encontrados na dieta ou mesmo sintéticos é um dos mecanismos de defesa

contra os radicais livres que podem ser empregados nas indústrias de alimentos, bebidas e entre outros (BIANCHI e ANTUNES, 1999).

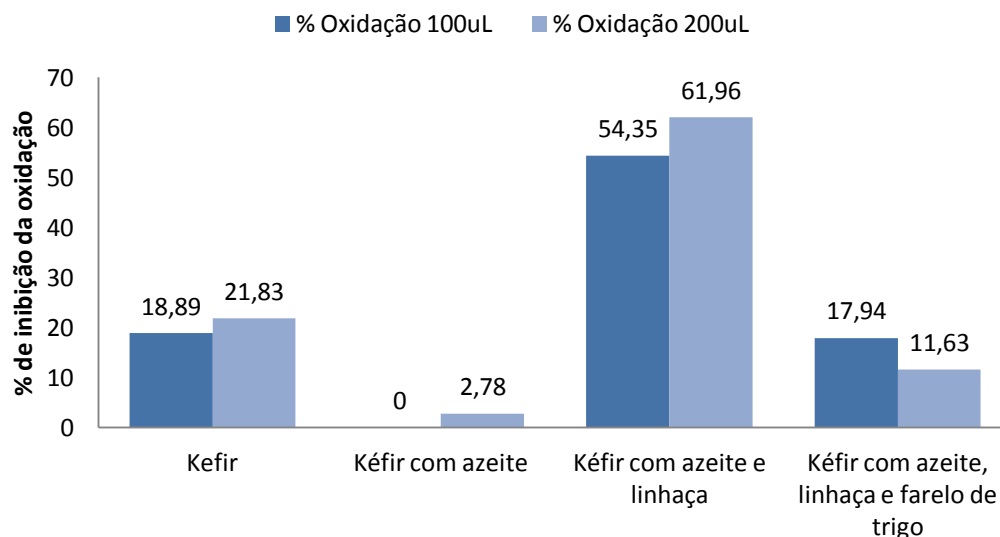


FIGURA 5: Percentual de inibição da oxidação dos extratos de kefir em leite de vaca das preparações nos volumes de 100 e 200 μ L.

Esses dados indicaram que o kefir apresentou propriedade antioxidante, possivelmente devido aos compostos fenólicos presentes em sementes de linhaça, os quais possuem propriedades antioxidantes.

De fato, a literatura aponta a semente de linhaça como o alimento mais rico em lignana, destacando-se por sua elevada concentração o diglicosídeo secoisolariciresinol (“secoisolariciresinol diglucoside”-SDG) e em menor concentração, matairesinol e piroresinol. Estas substâncias são convertidas, no colon sendo compostos capazes de inibir a peroxidação do ácido linoléico *in vitro* (GONVALVES e IBRAHIM, 2006). Dessa forma, pode - se dizer que esses componentes auxiliaram na capacidade antioxidante da bebida do kefir com azeite e linhaça.

Foi observado também que posteriormente ao kefir com azeite e linhaça, a bebida que apresentou melhor resultado foi a do kefir fermentado em leite de vaca sem adição de nenhum ingrediente, com um percentual de inibição da oxidação de 21,83% (200uL), seguido do kefir com azeite, linhaça e farelo de trigo com 17,94% (100uL) e por último o kefir com azeite com 2,78% (200uL). Estudos têm mostrado a importância funcional apresentada por preparações feitas a base de leite de vaca. PACHECO e SGARBIERE (2005) relatam que as proteínas do soro de leite como

soroalbumina, α -lactalbumina e β -lactoglobulina, ingeridas em determinadas concentrações, estimulam o sistema imunológico, produzindo efeitos benéficos, no sentido de retardar o estabelecimento precoce de várias doenças degenerativas e infecciosas. O mecanismo de ação fisiológica das proteínas do soro de leite parece ocorrer através do estímulo à síntese de glutathione, um tripeptídeo (γ -glutamil-cisteinil-glicina) presente no sangue e demais tecidos, com um forte poder redutor e antioxidante. Atua na desintoxicação das células e dos tecidos, neutralizando xenobióticos e radicais livres, particularmente radicais livres derivados do oxigênio.

Esses valores da atividade antioxidante de preparações a base de kefir fermentado em leite de vaca, possibilitaram a elaboração de curvas cinéticas dos extratos das amostras, representadas pelas Figuras 6, 7, 8, 9 que mostram o decaimento da absorbância (diferença entre as leituras t_0 e t_{120}) à medida que o β -caroteno é oxidado pelos produtos e/ ou subprodutos da oxidação do ácido linoléico. A eficiência do antioxidante é inversamente proporcional à oxidação do β -caroteno, sendo demonstrada através das curvas cinéticas que se apresentam como uma extensão do tempo de indução.

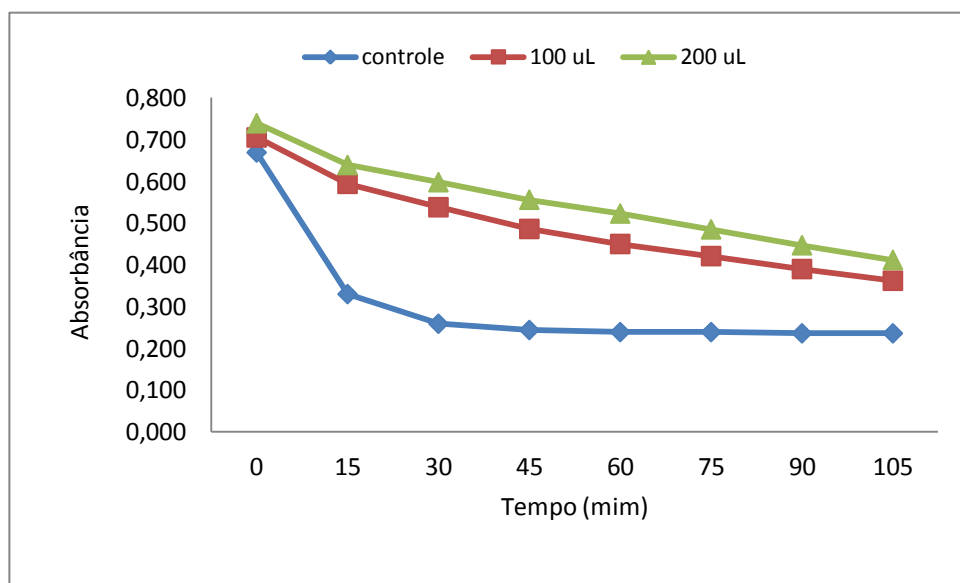


Figura 6. Curvas cinéticas da amostra do extrato do kefir em volumes de 100 e 200µL obtidas pela inibição da oxidação do sistema β -caroteno/ ácido linoléico.

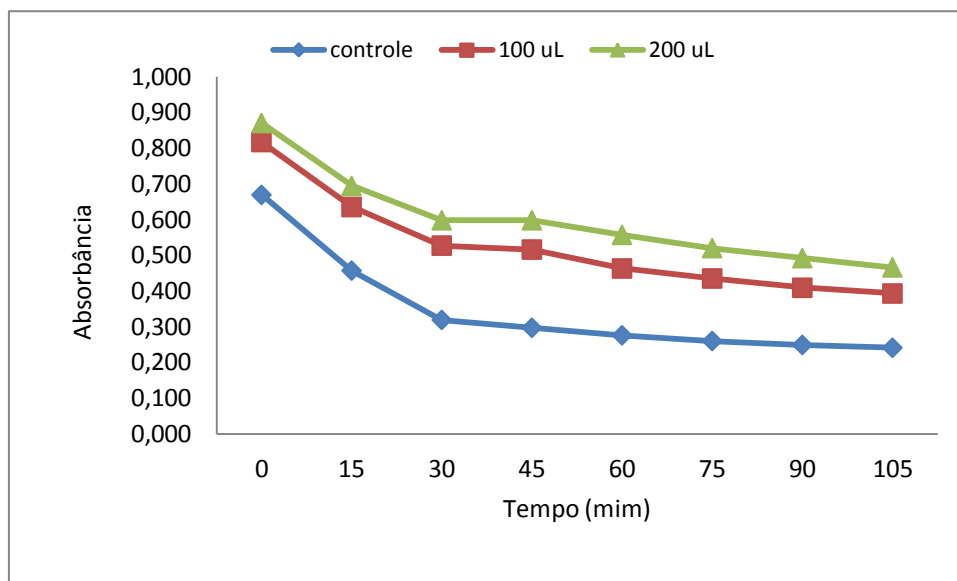


Figura 7. Curvas cinéticas da amostra do extrato do kefir com azeite em volumes de 100 e 200 μ L obtidas pela inibição da oxidação do sistema beta-caroteno/ ácido linoléico.

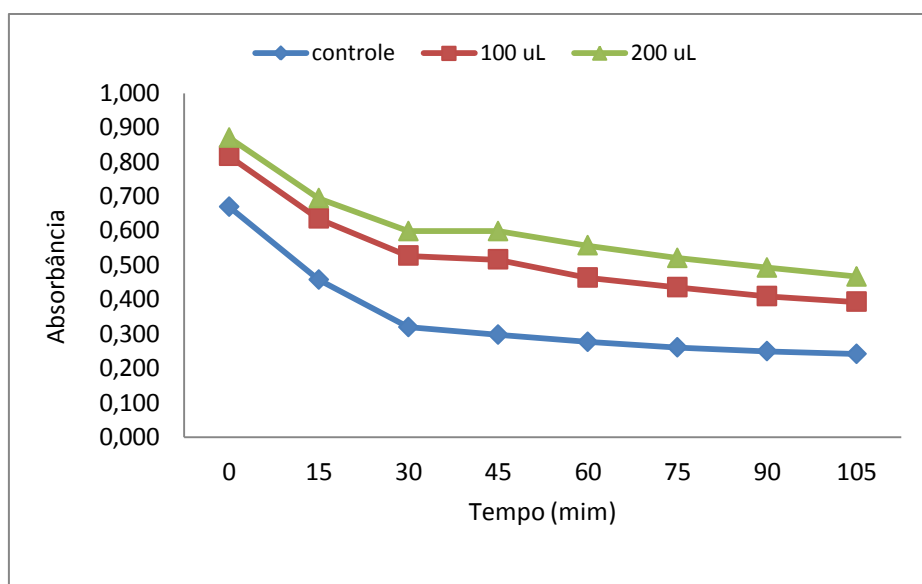


Figura 8. Curvas cinéticas da amostra do extrato do kefir com azeite e linhaça em volumes de 100 e 200 μ L obtidas pela inibição da oxidação do sistema beta-caroteno/ ácido linoléico.

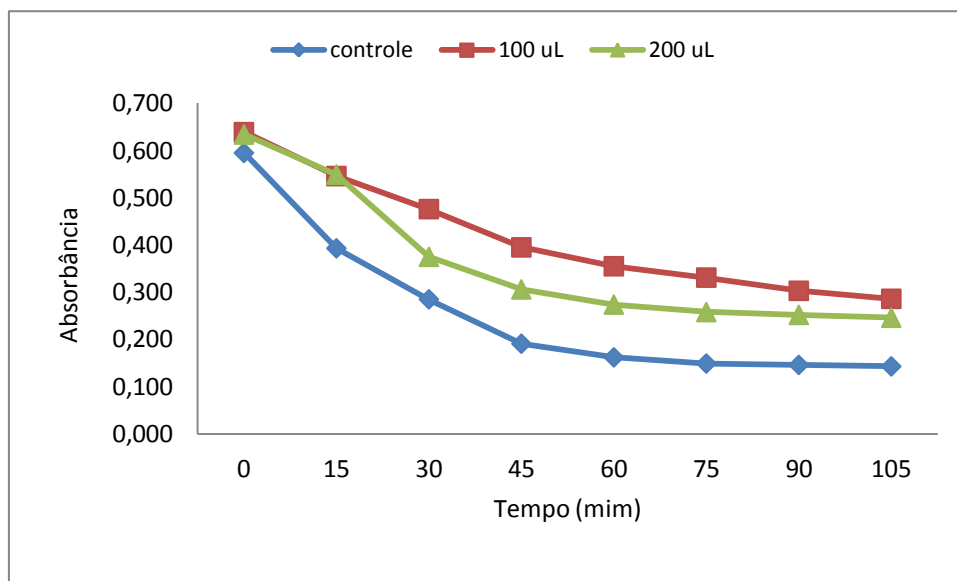


Figura 9. Curvas cinéticas da amostra do extrato do kefir com azeite, linhaça e farelo de trigo em volumes de 100 e 200µL obtidas pela inibição da oxidação do sistema beta-caroteno/ ácido linoléico.

Em contraste às substâncias fisiologicamente ativas encontradas no próprio leite, o efeito promotor a saúde dos produtos lácteos fermentados, como o kefir, se deve à atividade biológica de bactérias usadas na produção desses produtos ou de seus metabólitos, produzidos no processo fermentativo (PACHECO e SGARBIERE, 2005). Devido a este efeito protetor e efetiva atividade antioxidante, comprovada através dos resultados representados na Figura 5, principalmente quando adicionado de azeite e linhaça, pode-se afirmar que o kefir classifica-se como um alimento funcional, configurando assim a importância de se consumir cada vez mais esses alimento, uma vez que diversas investigações epidemiológicas (populacionais) e experimentais (*in vivo* -em animais e *in vitro*- em culturas de células) têm demonstrado que os antioxidantes podem diminuir o risco de diversos tipos de câncer (FERRARI e TORRES, 2002).

Nas preparações do kefir em extrato de soja, a preparação que obteve melhor resultado com relação à capacidade de inibição da oxidação também foi a do kefir com azeite e linhaça que apresentando 31,17% de inibição de oxidação em 100UL de extrato. (Figura 10)

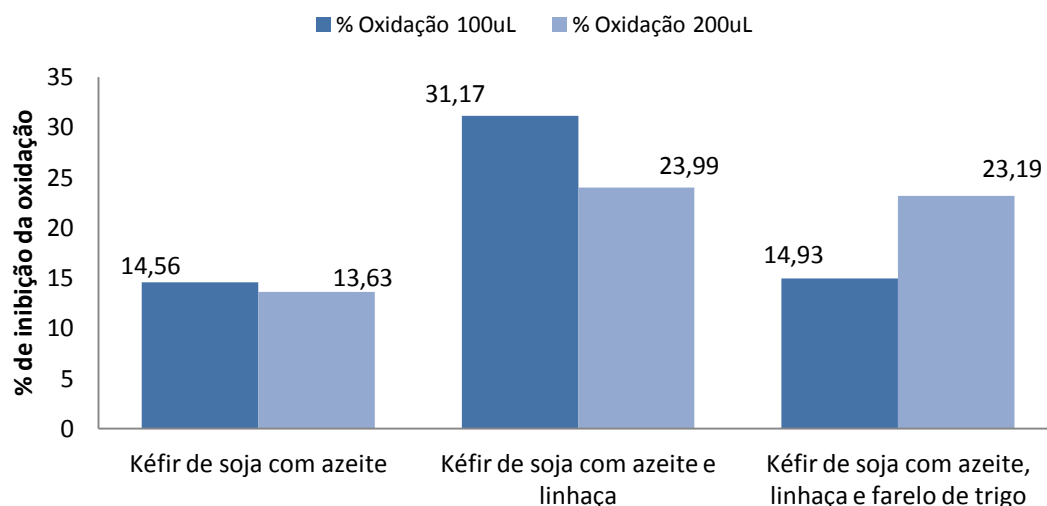


FIGURA 10: Percentual de inibição da oxidação dos extratos de kefir em extrato de soja das preparações nos volumes de 100 e 200 μ L.

Os fatores que podem justificar esses resultados seria a presença das isoflavonas encontradas no extrato de soja, associada aos composto fenólicos da linhaça. As isoflavonas apresentam atividade antioxidante devido a sua estrutura química, agindo como removedoras de radicais livres. As principais isoflavonas encontradas na soja e seus derivados são a daidzeína, a genisteína e a gliciteína, as quais se apresentam como várias formas de conjugados glicosídicos, dependendo da extensão do processamento ou fermentação (ESTEVE e MONTEIRO, 2001).

Segundo Esteve e Monteiro (2001) existem estudos em humanos, animais e sistemas de culturas de células que sugerem que as isoflavonas, especificamente a genisteína e a daidzeína desempenham um papel importante na prevenção de doenças crônicas tais como, osteoporose, doenças do coração, câncer e diabetes. Para as doenças do coração, as isoflavonas agem como antioxidantes, inibindo o processo trombótico e bloqueando a proliferação de células musculares lisas nas paredes das artérias. Os autores ainda complementaram citando um estudo epidemiológico o qual demonstra que nas populações que consomem dietas ricas em soja e seus produtos, a incidência de determinados tipos de câncer, como cólon, mama e próstata, principalmente é menor quando comparada com a incidência em populações que não consomem esses tipos de dietas (ESTEVE e MONTEIRO, 2001).

O azeite de oliva, também presente nesta preparação, possui como antioxidantes naturais, os tocoferóis e compostos fenólicos que são efetivos contra os processos oxidativos. A vitamina E (α -tocoferol) é reconhecida como a melhor bloqueadora de

radicais livres em membranas, (PACHECO e SGARBIERE, 2005) contribuindo para impedir a formação de placas ateroscleróticas. Além disso, o α -tocoferol contribui também para a conservação dos tecidos, retardando o envelhecimento, pois se sabe que os radicais livres de oxigênio, formados durante os processos de oxidação, alteram as membranas celulares e as lipoproteínas, sendo parcialmente responsáveis pela aterogênese (REIS e CORREIA, 1993; PERES, 1994; REIS, 1994).

Segundo Souza (2006) a atividade antioxidante de compostos fenólicos, deve-se principalmente às suas propriedades redutoras e estrutura química. Estas características desempenham um papel importante na neutralização ou seqüestro de radicais livres e quelação de metais de transição, agindo tanto na etapa de iniciação como na propagação do processo oxidativo. Segundo o mesmo autor, os intermediários formados pela ação de antioxidantes fenólicos são relativamente estáveis, devido à ressonância do anel aromático presente na estrutura destas substâncias.

Dando continuidade a análise dos resultados foi possível observar que o kefir de soja com azeite, linhaça e farelo de trigo apresentou um percentual de inibição da oxidação de 23,19% (200uL de extrato) seguindo do kefir com azeite com 14,56% (100uL de extrato).

O fato da preparação contendo a linhaça ter apresentado um valor de inibição superior ao que só continha azeite, pode ser justificados pois alguns estudos apontam que fazem parte da composição dos grãos da linhaça, os ácidos fenólicos que agem como antioxidantes, antimicrobianos e anticancerígenos; os flavonóides os quais podem inibir a peroxidação lipídica, a agregação plaquetária, a permeabilidade, a fragilidade capilar e a atividade de determinados sistemas enzimáticos, como a lipoxigenase e o ácido fítico, que é a principal forma de armazenamento de fosfato das plantas. Embora em pequenas quantidades, essas substâncias também são consideradas importantes devido aos efeitos benéficos à saúde (MARQUES, 2008).

Como citado anteriormente os resultados da atividade antioxidante do presente trabalho possibilitou a elaboração de curvas cinéticas dos extratos das amostras. As curvas das preparações dietéticas a base de kefir com soja, representadas pelas Figuras 11, 12, 13, que mostram o decaimento da absorbância (diferença entre as leituras t_0 e t_{120}) à medida que o beta-caroteno é oxidado pelos produtos e/ ou subprodutos da oxidação do ácido linoléico.

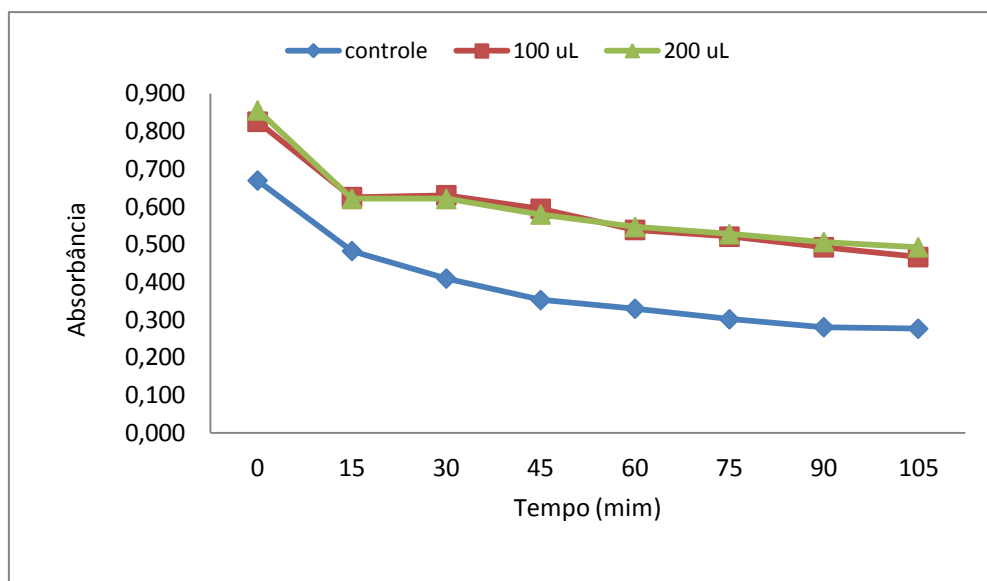


Figura 11. Curvas cinéticas da amostra do extrato do kefir de soja com azeite em volumes de 100 e 200 μ L obtidas pela inibição da oxidação do sistema beta-caroteno/ ácido linoléico.

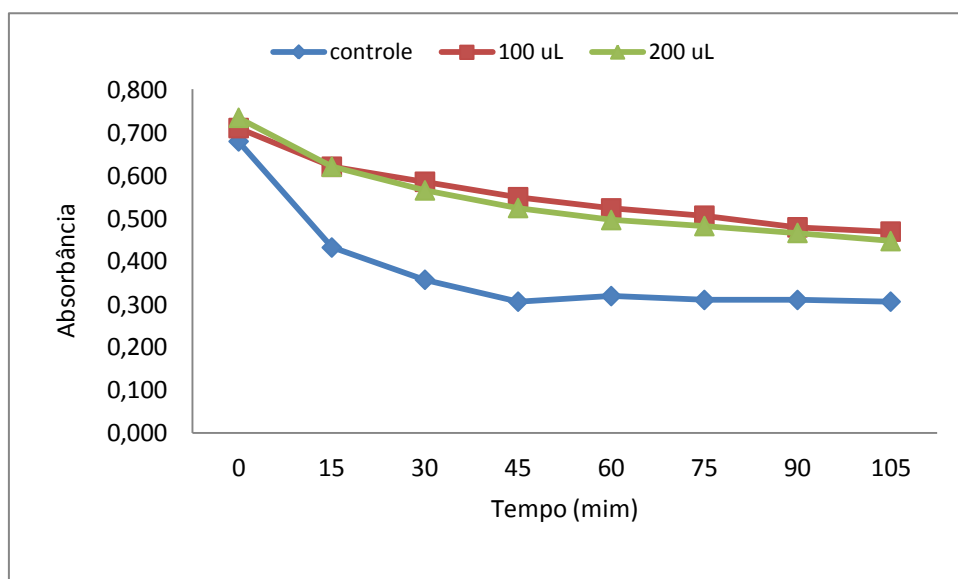


Figura 12. Curvas cinéticas da amostra do extrato do kefir de soja com azeite e linhaça em volumes de 100 e 200 μ L obtidas pela inibição da oxidação do sistema beta-caroteno/ ácido linoléico.

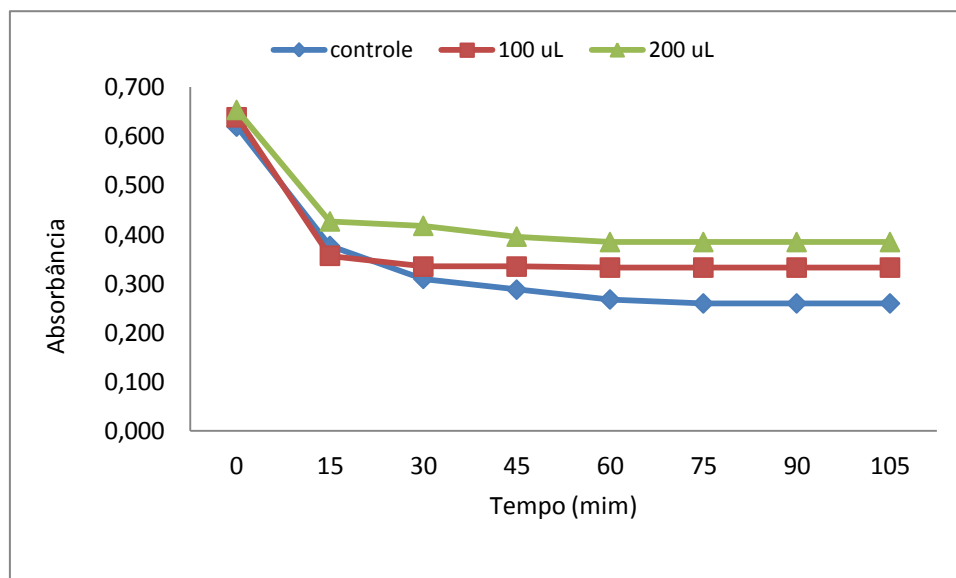


Figura 13. Curvas cinéticas da amostra do extrato do kefir de soja com azeite, linhaça e farelo de trigo em volumes de 100 e 200µL obtidas pela inibição da oxidação do sistema beta-caroteno/ ácido linoléico.

Todas as figuras representadas por curvas cinéticas, exceto a Figura 12 apresentaram valores de F1, inferiores a 1, o que, conforme Yanishlieva e Marinova (1997), representa a efetividade do antioxidante em bloquear as reações em cadeia, devido aos radicais peróxido, sugerindo que os extratos dessas preparações expressam atividade seqüestradora de radicais. Este parâmetro configura sua capacidade de interceptar os radicais livres gerados pelo metabolismo celular ou por fontes exógenas, impedindo o ataque sobre os lipídeos, os aminoácidos das proteínas, a dupla ligação dos ácidos graxos poliinsaturados e as bases do DNA, evitando a formação de lesões e perda da integridade celular (BIANCHI e ANTUNES, 1999).

Com relação à análise estatística observou-se que houve diferença estatisticamente significativa $p < 0,01$ quando se comparou o controle de todas as amostras com os volumes de 100µL e 200 µL. Isto significa dizer que os volumes utilizados apresentaram capacidade de inibir a oxidação de substratos, visto que obtiveram valores estatisticamente superiores aos do controle.

Na tabela 3, ao se comparar as absorbâncias obtidas dos extratos das preparações nos volumes de 200 µL dos mesmos extratos, observou-se que não houve diferença estatisticamente significativa ($p > 0,05$).

Estes dados corroboram com a ampla definição de antioxidante que é “qualquer substância que, presente em baixas concentrações quando comparada a do substrato oxidável, atrasa ou inibe a oxidação deste substrato de maneira eficaz” (SIES e STAHL, 1995). Fato este também comprovado pelo estudo realizado por Tikkanen et al, 1998, citado por ESTEVES e MONTEIRO, (2001), os quais relatam que a ingestão de pequenas quantidade antioxidantes derivados de soja, tais com a genisteína e a daidzeína, foram capazes de promover proteção contra modificações oxidativas da LDL. Marques (2008) afirma que mesmo em pequenas quantidades, compostos como os ácidos fenólicos apresentam propriedades antioxidantes, antimicrobianos e anticancerígenos.

Tabela 3. Comparação estatística entre as absorbância dos volumes utilizados nas preparações dietéticas a base de kefir.

Preparações dietéticas a base de kefir	Volumes	
	100uL	200uL
Kefir	0,356 ^a ± 0,022	0,352 ^{ab} ± 0,015
Kefir com azeite	0,437 ^a ± 0,009	0,420 ^a ± 0,012
Kefir de soja com azeite	0,368 ^{ab} ± 0,021	0,372 ^{ab} ± 0,004
Kefir com azeite e linhaça	0,202 ^{ab} ± 0,049	0,169 ^{ab} ± 0,007
Kefir de soja com azeite e linhaça	0,257 ^{ab} ± 0,011	0,284 ^a ± 0,020
Kefir com azeite, linhaça e farelo de trigo	0,371 ^{ab} ± 0,008	0,399 ^{ab} ± 0,029
Kefir de soja com azeite, linhaça e farelo de trigo	0,306 ^a ± 0,028	0,277 ^a ± 0,017

±desvio padrão com letras diferentes indicam diferenças significativas entre os volumes e com letras iguais indica que não houve diferença estatisticamente significativa (Teste de Student-Newman-Keuls, p<0,05).

Contudo é de extrema importância a continuidade deste tipo de estudo tanto *in vitro* quanto *in vivo*, para que possa servir de suporte para profissionais com atuação na terapêutica funcional e, dessa forma aplicá-las com segurança e efetividade, devendo-se atentar para o fato de que a eficiência dos antioxidantes derivados da dieta *depende* de sua biodisponibilidade e da ingestão de quantidades adequadas do nutriente na dieta para se atingir níveis tissulares compatíveis com uma proteção antioxidante eficiente. Assim, o uso de antioxidantes na prevenção e modulação das conseqüências patológicas dos radicais livres precisa da definição de doses e de protocolo de tratamento, sendo necessários mais estudos sobre o mecanismo de ação desses agentes antes da sua prescrição em larga escala.

CONCLUSÕES

Diante dos resultados apresentados foi possível concluir:

- Não houve diferença estatística entre as absorbância dos percentual de inibição dos volumes utilizados;
- O kefir com azeite e linhaça apresentou maior atividade antioxidante que as demais preparações, tanto no kefir preparado com leite de vaca quanto no preparado com soja;
- No estudo cinético observou-se que a maioria das preparações dietéticas elaboradas a base de kefir foram boas seqüestradoras de radicais livre com $F < 1$ na fase 1 da cadeia oxodativa.

Assim, diante de tais resultados é possível concluir que a dietética é uma ferramenta imprescindível para que consumidores possam ter escolhas mais seguras quanto à aplicação de ingredientes funcionais.

REFERÊNCIAS

AMAYA-FARFAN, J.; DOMENE, S. M. Á.; PADOVANI, R. M. DRI: Síntese comentada das novas propostas sobre recomendações nutricionais para antioxidantes. **Revista de Nutrição**. Campinas, v. 14, n. 1, p. 71-78, jan/abr., 2001.

ANGELIS, R. C.,. Novos conceitos em nutrição: Reflexões a respeito do elo dieta e saúde. **Arquivos de Gastroenterologia**. v. 38, n. 4 out./dez. 2001

ANJO, D.F.C. Alimentos funcionais em angiologia e cirurgia vascular. **Jornal Vascular Brasileiro**, v.3, n. 2. P. 145 – 154, 2004.

ANVISA, Agência Nacional de Vigilância sanitária. RDC nº 02 de 07 de janeiro de 2002. Dispõe sobre o regulamento técnico sobre Substancias Bioativas e Probióticos Isolados com Alegação de Propriedades Funcional e/ou de Saúde. **Diário Oficial da União**. Poder Executivo, de 03 de janeiro de 2002.

ARAÚJO, P. B. M. S; BRANDRÃO e Mariana H. CHAVES. Fenóis Totais e Atividade antioxidante de Cinco Plantas Medicinais. **Revista Química Nova**, v. 30, n. 2, p.351-355, 2007.

AUGUSTO, O.; *Radicais Livres: Bons, maus e naturais*, Oficina de Textos: São Paulo, 2006.

BARBOSA, A. C. L; HASSIMOTTO, N. M. A; LAJOLO, F. M.; GENOVESE, M. I. Teores de isoflavonas e capacidade antioxidante da soja e produtos derivados. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n.4, p. 921-926, out.-dez. 2006.

BERNARDI, E.; CALDEIRA, M. F.; NASCIMENTO, J. S. Identificação de fungos filamentosos em erva-mate (*ilex paraguariensis* st. hil.). **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v.72, n.4, p.489-493, out./dez., 2005.

BIANCHI, M. L. P.; ANTUNES, L. M. G. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. **Revista de Nutrição**. Campinas, v.12, n.2, p. 123-130, maio/ago., 1999.

COLLI, C.; SARDINHA, F.; FILISSETTI, T. M. C. C. **Alimentos Funcionais**. In: CUPARRI, LÍlian. Guia de Nutrição: Nutrição clínica no adulto. 2º ed. São Paulo: Ed. Manole, 2005. Cap 5, p.71 – 87.

COPPOLA, M. M; TURNES, C. G. Probióticos e resposta imune. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n.4, p. 1297 – 1303, jul/ago. 2004.

DEGÁSPARI, C. H.; WASZCZYNSKYJ, N. Propriedades Antioxidantes de Compostos Fenólicos. **Visão Acadêmica**, Curitiba, v. 5, n. 1, p. 33-40, Jan.- Jun./2004.

DIAS Jr., C. F. **Kefir Brasil**. Disponível em: <http://br.groups.yahoo.com/group/fazendo_kefir/?yguid=137142592> Acesso em 15 de novembro de 2008.

ESTEVEES, E. A.; MONTEIRO, J. B. R. Efeitos Benéficos das Isoflavonas de Soja em Doenças Crônicas. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 14, n.1, p. 43-52, jan./abr., 2001

FERRARI, C. K. B.; TORRES, E. A. F. S. Novos compostos dietéticos com propriedades anticarcinogênicas. **Revista Brasileira de Cancerologia**. v. 48, n.3, p. 375-382., 2002.

FRANCESCHINI, S. C. C.; PRIORE, S. E.; EUCLYDES, Marilene Pinheiro. Necessidade e Recomendações de Nutrientes. In: CUPPARI, LÍLIAN. **Guia de Nutrição: Nutrição Clínica no Adulto**. 2º Ed. São Paulo: Ed. Manole, 2005. Cap.1, p.3 – 32.

GIADA, M. L. R.; FILHO, J. M. Importância dos Compostos Fenólicos da Dieta na Promoção da Saúde Humana. Publ. UEPG **Ciência, Biologia e Saúde**, Ponta Grossa, v.12, n. 4, p. 7-15, dez. 2006.

GONÇALVES, A. M. IBRAHIM, T. A influência do tratamento com semente de linhaça no desenvolvimento da aterosclerose. **Nutrição e Ciência** v.1 n. 2, dez. 2006.

LEITE, H. P.; SARNI, Roseli Saccardo. Radicais livres, anti-oxidantes e nutrição. **Revista Brasileira de Nutrição Clínica**; v.18, n. 2 p.87-94, 2003.

MALACRIDA, C. R.; MOTTA, S. da. Compostos Fenólicos Totais e Antocianinas em suco de uva. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**., Campinas, v.25, n.4, p.659-664, out.-dez. 2005.

MANACH, C., SCALBERT, A.; MORAND, C.; RÉMÉSY, C.; JIMENEZ, L.; **Am. Jornal Clínico Nutrição**. 2004, 79, 727.

MARQUES, A. C. Propriedades Funcionais da Linhaça (*Linum usitatissimum L.*) em Diferentes Condições de Preparo e de uso em Alimentos. 2008. 115f. **Dissertação – (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos)**, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria.

MAYES, P. A. Lipídios de Importância Fisiológica. In: Harper: **Bioquímica**. 7 ed. São Paulo: Atheneu, 1994. P. 142 – 154.

MORAES ,F. P.; COLLA, L. M. Alimentos Funcionais e Nutracêuticos: Definições, Legislação e Benefícios à Saúde. **Revista Eletrônica de Farmácia**, Passo Fundo, v. 3, n. 2, p. 109 – 122, out./Nov.2006.

MOREIRA, A. V. B. Avaliação da atividade antioxidante de sementes de mostarda (*Brassica alba* L.). São Paulo, 1999. **Dissertação - (Mestrado em Ciência dos Alimentos)**, Departamento de Nutrição, Universidade de São Paulo.

MOREIRA, A. V. B.; MANCINI FILHO, J. Efeito dos compostos fenólicos de especiarias sobre lípidos polinsaturados. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 39, n. 3, p. 130-133, 2003.

MOREIRA, A. V. B.; MANCINI FILHO, J. Influência dos compostos fenólicos de especiarias sobre a lipoperoxidação e o perfil lipídico de tecidos de ratos. **Revista. Nutrição**. Campinas out./dez. v.17 n.4. 2004

OLIVEIRA, M. N. de.; SIVIERI, K. S.; ALEGRO, J. H. A.; SAAD, S. M. I. Aspectos tecnológicos de alimentos funcionais contendo probióticos. **Revista Eletrônica de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, vol. 38, n. 1, jan./mar., 2002.

OOMAH, B.D.; MAZZA, G. Productos de linaza para la prevención de enfermedades. In: MAZZA, G. (Coord.). **Alimentos funcionales: aspectos bioquímicos y de procesado**, Zaragoza: Acribia, 2000. 457p.

PACHECO, M. T. B.; SGARBIERI, V. C.. Alimentos Funcionais. 2005.

PERES, E. - **Saber comer para melhor viver**. Lisboa: Editorial Caminho, S.A. 1994. 247 p.

POLLONIO, M. A. R. Alimentos Funcionais: As recentes tendências e os aspectos de segurança envolvidos no consumo. **Revista Higiene Alimentar**. v.14, n74, p.26-31. jul.2000.

REIS, L. - Alimentação-Aterosclerose. in Carmo, I., Sampaio, D., Galvão Teles, A. (ed.) - **Alimentação, Hábitos e Comportamentos**. Lisboa: Sociedade Portuguesa para o Estudo da Obesidade, 1994. 105 p.

REIS, L., Correia, F. - Gorduras alimentares e nutrição. **Endocrinologia, Metabolismo e Nutrição**. v.6 p. 399-406. 1993

ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L .F. T.; DONZELE, J. L. et al. **Tabelas brasileiras para suínos e aves: composição de alimentos e exigências nutricionais**. 2.ed. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2005. 186p

ROTHENBURG H. C.; PEREIRA F. M. **Avaliação dos Efeitos da Ingestão de Sementes de Linhaça (*Linum usitatissimum*) em Ratos wistar Fêmeas Hipercolesterolêmicos**.

SALGADO, J. M et al. Impacto dos Alimentos Funcionais para a saúde. **Nutrição em pauta**. São Paulo, ano IX, n 48, mai/junh. 2001.

SOUSA, C. M. de M.; ROCHA e SILVA, H.; VIERA-Jr, G. M.; AYRES, M. Cruz C.; COSTA, C.; Luis S. da.; ARAÚJO, D. S.; D. CAVALCANTE, L. C.; S. BARROS, Elcio Daniel.; M. Paulo Breitner de.; ARAÚJO, Marcela S. Brandão e CHAVES, Mariana H. Fenóis Totais e Atividade Antioxidante de Cinco Plantas Medicinais. **Química Nova**, Departamento de Química, Universidade Federal do Piauí, v. 30, n. 2, p. 351-355, 2007.

SOUZA, F. T.; MARGARITES, A. C; COLLA, L. M.; COSTA, J. A. V; BERTOLIN, T. E. Avaliação do Potencial Antioxidante da Ficocianina em Sistema Lipídico Óleo de Soja e Azeite de oliva. **Alimentação. Nutrição.**, Araraquara, v.17, n.3, p.275-279, jul./set. 2006.

SUASSUNA, C. E. T. Elaboração de uma bebida à base de soja (*Glycyne Max L*) aromatizada naturalmente com polpas de cajá, acerola, mangaba, graviola e umbu. 2005. 65f. **Trabalho de Conclusão de Curso** (Graduação em Nutrição) – Departamento de Nutrição, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal.

TELESI, M.; MACHADO, F. A.. A Influência do Exercício Físico e dos Sistemas Antioxidantes na Formação de Radicais Livres no Organismo Humano. **Revista Saúde e Biol.**, v. 3, n.1 pp.40-49, Jul-Dez, 2008.

TIEZE, H. W. **Kefir for pleasure, beauty and well-being**. PHREE Books, p. 90- 100. 1996.

PIMENTEL, I. C.; MAGNONI, C. D.; COSTA, R. P. Utilização do Azeite de Oliva na Prevenção e no Tratamento das Doenças Cardiovasculares. **Revista da Sociedade de Cardiologia do Estado de São Paulo**. v. 17, p.9-14, jan – mar. 2007.

YUAN, X.; WANG, J.; YAO, H. Antioxidant activity of feruloylated oligosaccharides from wheat bran. **Food Chemistry**, v.90, p.759-764, 2005.

