



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO  
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS DOMÉSTICAS  
PROGRAMA DE PÓS – GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E  
TECNOLOGIA DE ALIMENTOS



**DESENVOLVIMENTO DE BEBIDA LÁCTEA FERMENTADA SABOR  
PITANGA (*Eugenia uniflora* L.) COM CARACTERÍSTICA PROBIÓTICA E  
SIMBIÓTICA**

Recife  
2015

TALITA DOS ANJOS FERREIRA

**DESENVOLVIMENTO DE BEBIDA LÁCTEA FERMENTADA SABOR  
PITANGA (*Eugenia uniflora* L.) COM CARACTERÍSTICA PROBIÓTICA E  
SIMBIÓTICA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como requisito para obtenção do Grau de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

**ORIENTADORA:** Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Celiane Gomes Maia da Silva

**CO-ORIENTADORA:** Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Silvana Magalhães Salgado

Recife  
2015

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO  
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS DOMÉSTICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE  
ALIMENTOS

**DESENVOLVIMENTO DE BEBIDA LÁCTEA FERMENTADA SABOR  
PITANGA (*Eugenia uniflora* L.) COM CARACTERÍSTICA PROBIÓTICA E  
SIMBIÓTICA**

**Por** Talita dos Anjos Ferreira

Esta dissertação foi julgada para obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos e aprovada em 26/02/2015 pelo Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimento em sua forma final.

Banca Examinadora:

---

Profa. Dra. Celiane Gomes Maia da Silva (Orientadora e Presidente da banca)  
Departamento de Ciências Domésticas/ UFRPE

---

Profa. Dra. Samara Alvachian Cardoso Andrade (Membro examinador)  
Departamento de Engenharia Química/ UFPE

---

Profa. Dra. Silvana Magalhães Salgado (Membro examinador)  
Departamento de Nutrição/ UFPE

## DEDICATÓRIA

Dedico,  
À Deus, por ter me dado força nessa jornada,  
A minha mãe Maria, pelo apoio e carinho.

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço à Deus, por me conceder o dom da vida e estar sempre ao meu lado.

A minha mãe Maria, pelo amor, carinho, confiança e apoio dado. Sem ela não seria possível chegar até aqui. Amo você!!!

Ao Flavio Costa por estar ao meu lado me apoiando e mostrando o caminho a seguir. Amo você!!!

As irmãs Adriana, Ana Claudia, Fernanda, Tatiana e Taynara pela amizade.

À minha madrinha Sônia Alencar, por toda ajuda e apoio prestado. Adoro você.

À Professora Dr<sup>a</sup>. Celiane Gomes Maia da Silva, pelo exemplo profissional, apoio, confiança, paciência, carinho, além da orientação e da amizade.

À Professora Dr<sup>a</sup>. Silvana Magalhães Salgado pela co-orientação e apoio dado para a realização da pesquisa.

À Professora Dr<sup>a</sup>. Samara Andrade pela paciência e a grande colaboração na estatística.

As meninas do mestrado Rafaela, Michelle, Rosa, Rita, Mariana, Fabiana, Tatiana, Hellen e Jô pela amizade e por sempre me ajudarem. Adoro vocês.

À Ana Engracia, para muitos a secretaria, mas para mim um anjo-amigo que sempre me apoiou. Você é mais que especial.

À Jaqueline Ferreira, técnica do Departamento, pela amizade e atenção dada nesses anos.

Ao Vivaldo, Alexandre e Carlinhos, técnicos do LEAAL, por toda ajuda e boa vontade na realização das análises.

Aos funcionários e colegas do departamento de Ciências Domésticas da UFRPE.

À CAPES pela bolsa concedida.

Enfim, agradeço a todas as pessoas que se dispuseram a me ajudar, meu muito obrigada.

## RESUMO

O desenvolvimento de novos produtos alimentícios tem sido influenciado por fatores como demanda dos consumidores por novas tendências em alimentos, praticidade, sabor, facilidade de conservação e a necessidade de ingerir alimentos saudáveis que, além de nutrirem, promovam bem-estar e saúde, como os chamados alimentos funcionais. Desta forma, objetivou-se desenvolver diferentes formulações de bebida láctea fermentada sabor pitanga, elaboradas com culturas probióticas e fruto-oligossacarídeos (FOS), avaliando sua aceitação sensorial e, por conseguinte, suas características físico-químicas, microbiológicas e estabilidade das formulações selecionadas, durante o armazenamento refrigerado. Foram elaboradas quatro formulações de bebidas lácteas sabor pitanga sendo duas contendo 40% de soro de leite (uma adicionada de FOS e outra não), e outras duas contendo 20% de soro de leite (uma adicionada de FOS e outra não). As formulações foram fermentadas com culturas probióticas e adicionadas de polpa de pitanga (3%), sendo após o processamento armazenadas sob refrigeração para posteriores análises. As bebidas lácteas foram submetidas ao teste de aceitação sensorial e intenção de compra. As formulações 1 (20% de soro lácteo e 4% de FOS) e 3 (20% de soro lácteo e sem adição de FOS) foram selecionadas por apresentarem os maiores índices de aceitabilidade pelos avaliadores e melhores médias para os atributos sabor, aroma, consistência, avaliação global e intenção de compra. Estas formulações foram submetidas à análise de composição centesimal e avaliação da estabilidade quanto ao pH, acidez e contagem de bactérias ácido láctico nos tempos 0, 7, 14, 21 e 28 dias de estocagem refrigerada. As formulações apresentaram boa estabilidade quanto ao pH, acidez e atendeu a contagem mínima de  $10^8$  UFC para bactérias ácido láctico, se considerado 100ml do produto. Deste modo, a bebida láctea fermentada sabor pitanga elaborada nas condições deste estudo apresentou-se como um produto viável tecnologicamente e com potencial de produção pela indústria de produtos lácteos funcionais.

**Palavra-chave:** soro de leite, alimentos funcionais, fruto-oligossacarídeos

## ABSTRACT

The development of new food products has been influenced by factors such as consumer demand for new trends in food, convenience, taste, ease of maintenance and the need to eat healthy foods, and nurture, promote well-being and health, as called functional foods. Thus, the objective of this study was to develop formulations of fermented dairy drink flavored with cherry fruit and prepared with probiotic cultures and fructooligosaccharides (FOS), for better acceptability and and thus verify its physical-chemical, microbiological and long shelf life. Four milk beverage formulations were prepared with two cherry fruit containing 40% whey (one added with FOS and one not), and two containing 20% whey (one added with FOS and the other not). The formulations were fermented with probiotic cultures and added cherry pulp (3%) and stored under refrigeration after processing for further analysis. The milk drinks were subjected to sensory acceptance testing and buying intention. They Formulations 1 (20% whey and 4% FOS) and 3 (20% whey and without FOS) were selected for the present greater acceptance rates by the evaluators and the best means for the attributes flavor, aroma, consistency, overall assessment and purchase intent. These formulations were subjected to chemical composition analysis and evaluation of pH stability, acidity, bacterial count of lactic acid at 0, 7, 14, 21 and 28 days of refrigerated storage. The formulations showed good stability for pH, acidity and has met the minimum score of  $10^8$  CFU for lactic acid bacteria, is considered 100ml product. Thus, the fermented dairy drink flavor cherry prepared under the conditions of this study was presented as a technologically viable product and production potential for functional dairy industry.

**Keyword:** whey, functional foods, fructooligosaccharides

## **LISTA DE FIGURAS**

### **Introdução**

**Figura 1** - Mercado de produtos funcionais e/ou enriquecidos.

**Figura 2** - Estrutura química básica de sacarose (GF) e os frutanos GF<sub>n</sub> e F<sub>n</sub>.

G = unidade glucosil; F = unidade frutosil; n = número de unidades frutosil ligada ( $n \geq 2$ ).

### **Artigo**

**Figura 1** – Percentual de Intenção de compra de bebida láctea fermentada sabor pitanga B1.

**Figura 2** - Percentual de Intenção de compra de bebida láctea fermentada sabor pitanga B2.

**Figura 3** - Percentual de Intenção de compra de bebida láctea fermentada sabor pitanga B3.

**Figura 4** - Percentual de Intenção de compra de bebida láctea fermentada sabor pitanga B4.

**Figura 5** - Acidez Titulável de bebidas lácteas fermentadas sabor pitanga com característica simbiótica e com característica probiótica armazenada a 4°C.

**Figura 6** - pH de bebidas lácteas fermentadas sabor pitanga com característica simbiótica e com característica probiótica armazenada a 4°C.

## **LISTA DE TABELAS**

### **Introdução**

**Tabela 1.** Composição química do soro doce e do soro ácido.

**Tabela 2.** Composição média de aminoácidos por grama de proteína do soro de leite.

**Tabela 3.** Produtos lácteos desenvolvidos e sua alegação funcional.

**Tabela 4.** Composição da pitanga conforme a Tabela Brasileira de Composição de Alimentos.

### **Artigo**

**Tabela 1.** Formulações das bebidas lácteas elaboradas.

**Tabela 2.** Médias para os atributos sensoriais avaliados pelo teste de aceitação de bebidas lácteas fermentadas sabor pitanga.

**Tabela 3.** Índice de aceitabilidade para as diferentes formulações de bebidas lácteas fermentadas sabor pitanga.

**Tabela 4.** Composição centesimal de formulações de bebidas lácteas fermentadas com característica simbiótica e com característica probiótica.

**Tabela 5.** Contagens de bactérias lácticas (na base 10 UFC/mL) de bebidas lácteas fermentadas sabor pitanga com característica simbiótica e com característica probiótica armazenada por 28 dias a 4°C.

## SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO .....	12
2.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	14
2.1	Bebidas Láctea.....	14
2.2	Características tecnológicas e nutricionais do soro de leite.....	15
2.2.2	Impacto ambiental - O soro como agente poluidor .....	19
2.2.3	A utilização do soro na indústria de alimentos.....	20
2.2.4	Aspectos funcionais do soro de leite .....	21
2.3	Alimentos e produtos funcionais: o futuro promissor dos lácteos ....	22
2.3.2	Probióticos.....	26
2.3.3	Prebióticos.....	30
2.4	Legislação de alimentos funcionais .....	34
2.5	Pitanga.....	35
3.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	38
4.	OBJETIVOS .....	533
4.1	Objetivo geral .....	533
4.2	Objetivos específicos.....	533
5.	RESULTADOS .....	544
5.1	ARTIGO: DESENVOLVIMENTO DE BEBIDA LÁCTEA FERMENTADA SABOR PITANGA ( <i>Eugenia uniflora</i> L.) COM CARACTERÍSTICA PROBIÓTICA E SIMBIÓTICA .....	544
	RESUMO .....	555
1.	INTRODUÇÃO .....	566
2.	MATERIAL E MÉTODOS .....	58
2.1.	Desenvolvimento do produto .....	58
2.1.1.	Material.....	59
2.2.	Análise sensorial.....	60
2.2.1	Teste de aceitação .....	60
2.3.	Análises físico-químicas.....	62
2.4.	Análises microbiológicas.....	622
2.5.	Estabilidade das formulações de bebida láctea .....	633
2.6.	Análise estatística .....	633
3.	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	644

3.1. Análise Sensorial.....	644
3.2. Análises Físicas- Químicas .....	677
3.2.1. Composição centesimal .....	677
3.3.Estabilidade das bebidas durante a vida de prateleira .....	7070
4. CONCLUSÃO.....	744
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	755
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	800
ANEXO.....	81

## 1. INTRODUÇÃO

O surgimento de novas tecnologias e o desenvolvimento de novos produtos tem sido influenciado por fatores como demanda dos consumidores por novas tendências em alimentos, praticidade, sabor, facilidade de conservação e a necessidade de ingerir alimentos saudáveis que, além de nutrirem, promovam bem-estar e saúde como os chamados alimentos funcionais (IKEDA, 2010; STALINO, 2012).

Além desses fatores existe também uma grande preocupação em aproveitar os resíduos de alimentos, como por exemplo, o soro de leite, que vem sendo explorado com mais intensidade nos diferentes segmentos do setor alimentar brasileiro e mundial em função da grande variedade de matéria-prima disponível (NIRO, 2011).

O soro de leite fluido é um resíduo de alto valor biológico e baixo valor comercial que causa um grande impacto ambiental se descartado sem tratamento (MATOS, 2009). Dessa forma, o reaproveitamento do soro líquido, além de contribuir para a melhoria do meio ambiente, pode proporcionar ganhos às indústrias. Dentre as várias formas de aproveitamento do soro na indústria de laticínios está em sua utilização na formulação de novos produtos a partir de sua aplicação na forma líquida, como por exemplo, para fabricação de bebida láctea (OLIVEIRA, 2006).

Bebida láctea é o produto lácteo resultante da mistura do leite (*in natura*, pasteurizado, esterilizado, UHT, reconstituído, concentrado, em pó, integral, semidesnatado, parcialmente desnatado e desnatado) e soro de leite (líquido, concentrado ou em pó) adicionado ou não de produtos ou substâncias alimentícias, gordura vegetal, leites fermentados, fermentos lácteos selecionados e outros produtos lácteos. A base láctea deve apresentar pelo menos 51 % (m/m) do total de ingredientes do produto (BRASIL, 2005).

Uma nova tendência é a fabricação de bebidas lácteas e outros leites fermentados alegados a propriedades funcionais. No grupo de alimentos funcionais destacam-se os probióticos que são micro-organismos vivos que quando ingeridos em uma concentração adequada atuam trazendo uma série de benefícios ao organismo; os prebióticos que são ingredientes não digeríveis que afetam benéficamente o hospedeiro pelo estímulo seletivo de uma ou mais

bactérias no cólon; e os simbióticos que são alimentos que contém simultaneamente micro-organismos probióticos e ingredientes prebióticos, que em sinergia vão beneficiar a saúde do consumidor (FAO/WHO, 2001; GIBSON e ROBERFROID, 1995; SCHREZENMEIR, 2001).

A elaboração de uma bebida láctea com a adição de culturas probióticas e ingredientes prebióticos, além de ser um produto funcional, é uma alternativa para o aproveitamento do soro gerado nas indústrias. A adição de polpas ou sucos de frutas a essas bebidas é essencial para uma boa aceitação, onde além de agregar valor nutricional é um dos fatores que gera um produto com sabor agradável.

Dessa forma, este estudo teve como objetivo elaborar bebidas lácteas fermentadas probiótica e simbiótica, sabor pitanga, utilizando-se micro-organismos probióticos e fruto-oligossacarídeo (FOS) como prebiótico, e avaliar suas características físico-químicas, microbiológicas e vida de prateleira.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Bebidas Láctea

Segundo o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade (RTIQ), é considerada bebida láctea “o produto lácteo resultante da mistura do leite (*in natura*, pasteurizado, esterilizado, UHT, reconstituído, concentrado, em pó, integral, semidesnatado, parcialmente desnatado e desnatado) e soro de leite (líquido, concentrado ou em pó) adicionado ou não de produtos ou substâncias alimentícias, gordura vegetal, leites fermentados, fermentos lácteos selecionados e outros produtos lácteos. A base láctea deve apresentar pelo menos 51 % (m/m) do total de ingredientes do produto” (BRASIL, 2005).

Essa mesma legislação classifica ainda as bebidas lácteas em pasteurizadas, esterilizadas ou UHT, fermentadas ou não fermentadas, com ou sem adição, de acordo com o tratamento térmico, fermentação e adição de outras substâncias alimentícias respectivamente (BRASIL, 2005).

Bebida láctea fermentada é o produto anteriormente descrito, porém, fermentado mediante a ação de cultivo de micro-organismos específicos e/ou adicionado de leite(s) fermentado(s) e que não poderá ser submetido a tratamento térmico após a fermentação. A contagem total de bactérias lácticas viáveis deve ser no mínimo de  $10^6$  UFC/g (unidades formadoras de colônia por grama) no produto final (BRASIL, 2005).

O termo bebida láctea tem sentido amplo e pode englobar diferentes produtos feitos a partir de leite e soro de leite. Vale ressaltar que iogurte e bebida láctea são produtos diferentes, mas muitas vezes são confundidos por grande parte dos consumidores. O iogurte deve ser elaborado obrigatoriamente a partir de cultivos de *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* spp. *bulgaricus*, enquanto que a bebida láctea é o produto obtido a partir de leite ou derivados, onde a base láctea represente pelo menos 51 % (m/m) do total de ingredientes do produto (LEGLER, 2007).

A produção de bebidas lácteas constitui uma forma racional do aproveitamento do soro de leite. Dentre as mais comercializadas destacam-se as bebidas lácteas fermentadas com características sensoriais semelhantes ao

iogurte e as bebidas lácteas não fermentadas. (CAPITANI et al., 2005; PFLANZER et al., 2010).

A tendência no aumento do consumo dessas bebidas é caracterizada por ser um produto que possui baixa viscosidade, é suave e refrescante, além de apresentar um preço acessível ao consumidor fazendo parte de um mercado bastante promissor. Essas bebidas com característica funcional têm recebido atenção considerável devido ao potencial de crescimento no mercado, pois além de sensorialmente agradáveis, possuem um valor nutritivo altamente elevado (PFLANZER et al., 2010; ZULUETA et al., 2007).

Dessa forma a procura do consumidor brasileiro por produtos mais saudáveis, inovadores e seguros conduz a um crescimento da indústria de bebidas lácteas e a um aumento no consumo desse tipo de produto, fazendo com que o mesmo aumente sua popularidade (ACHANTA et al., 2007).

## **2.2 Características tecnológicas e nutricionais do soro de leite**

O soro de leite é um subproduto da indústria de queijo e caseína e pode ser obtido em laboratório ou na indústria por três processos principais: a) pelo processo de coagulação enzimática (enzima quimosina), resultando no coágulo de caseínas (matéria-prima para a produção de queijos) e no “soro doce”; b) precipitação ácida no pH isoelétrico, resultando na caseína isoelétrica, que é transformada em caseinatos e no “soro ácido”; c) separação física das micelas de caseína por microfiltração, obtendo-se um concentrado de micelas e as proteínas do soro, na forma de concentrado ou isolado proteico (MAUBOIS et al., 2001; ZINSLY et al., 2001).

Existe uma diferença entre os dois tipos de soros que podem ser obtidos. O soro doce possui uma grande aplicação na área de alimentos e contém uma maior quantidade de peptídeos e aminoácidos livres, por ser resultado da ação da enzima sobre a caseína (TULLIO, 2007). O soro ácido é pouco empregado, apresenta um maior teor de ácido láctico, cálcio, fósforo e pelo seu forte sabor ácido é menos aceito pelos consumidores (VIEIRA, 2006).

O soro de leite corresponde a aproximadamente 85-95% do volume de leite utilizado na fabricação de queijos. É um líquido de cor amarelo-

esverdeado, com sabor ligeiramente ácido ou doce e que apresenta um elevado valor nutricional, contendo aproximadamente 55% do total dos nutrientes presentes no leite. Contêm grandes quantidades de água e lactose e baixos valores de proteínas e lipídeos residuais, além de conter concentrações significativas de minerais inorgânicos como cálcio, magnésio, citrato e fosfato (CALDEIRA et al., 2010; BALDASSO, 2008; CUNHA et al., 2008).

A composição química do soro varia dependendo da variedade de queijo produzido, dos processos tecnológicos empregados e do tipo de leite utilizado na produção de queijo ou de caseína (OLIVEIRA, 2009; ZIEGLER e SGARBIERI, 2009). A Tabela 1 apresenta a composição química do soro doce e do soro ácido.

**Tabela 1.** Composição química do soro doce e do soro ácido.

<b>Componente (%)</b>	<b>Soro doce</b>	<b>Soro ácido</b>
Proteína	0,8	0,7
Lactose	4,9	4,4
Minerais	0,5	0,8
Gordura	0,2	0,04
Água	93,0	93,5

Fonte: ORDÓÑEZ, 2005.

A proteína é o componente do soro mais valorizado pela indústria de alimentos devida suas importantes propriedades funcionais. A fração de proteínas contém aproximadamente 50 % de  $\beta$ -lactoglobulina, 25% de  $\alpha$ -lactoalbumina e 25% de outras frações proteicas incluindo imunoglobulinas (10-15%), albumina do soro bovino (5-6%), caseínas solúveis (1-2%), e proteínas em menores quantidades (<0.5%) como lactoferrina, lactolina, glicoproteína, transferrina de sangue e enzimas (HARPER, 1994; VENTURINI FILHO, 2010).

A composição de aminoácidos presentes nas proteínas do soro do leite ultrapassa os níveis de todos os aminoácidos essenciais da proteína de referência da Food and Agriculture Organization (FAO), caracterizando-as assim como proteínas de alto valor biológico e de boa digestibilidade (VENTURINI FILHO, 2010). A composição média dos aminoácidos presentes por grama de proteína do soro de leite está descrita na Tabela 2.

As proteínas do soro de leite por serem altamente digeríveis e rapidamente absorvidas pelo organismo estimulam a síntese de proteínas sanguíneas e teciduais a tal ponto que alguns pesquisadores as classificam como proteínas de metabolização rápida (*Fast Metabolizing Proteins*), sendo, portanto, muito adequadas para situações de estresse metabólico em que a reposição de proteínas no organismo se torna emergencial (SGARBIERI, 2004).

Além da importância de suas proteínas, o soro apresenta também um alto teor de cálcio e de peptídeos bioativos. Pode-se atribuir por isso uma grande aplicabilidade no esporte, com possíveis efeitos sobre a síntese proteica muscular esquelética, redução de gordura corporal, modulação da adiposidade e melhora no desempenho físico (HARAGUCHI et al., 2006).

Dessa forma, a utilização do soro no desenvolvimento de novos produtos apresenta uma importante vantagem, por possuir importantes propriedades funcionais e por ser fonte de nutrientes lácteos principalmente cálcio e proteínas de elevado valor nutricional.

**Tabela 2.** Composição média de aminoácidos por grama de proteína do soro de leite.

<b>Aminoácido</b>	<b>Quantidade (mg/g)</b>
Alanina	4,9
Arginina	2,4
Asparagina	3,8
Ácido Aspártico	10,7
Cisteína	1,7
Glutamina	3,4
Ácido Glutâmico	15,4
Glicina	1,7
Prolina	4,2
Serina	3,9
Tirosina	3,4
Histidina	1,7
Isoleucina	4,7
Leucina	11,8
Lisina	9,5
Metionina	3,1
Fenilalanina	3,0
Treonina	4,6
Triptofano	1,3
Valina	4,7

Fonte: HARAGUCHI, et al., 2006.

### **2.2.2 Impacto ambiental - O soro como agente poluidor**

Um dos maiores problemas relacionados à fabricação de queijos é o grande volume de soro produzido diariamente que é de aproximadamente 9 litros a cada quilo de queijo produzido. Por possuir diversos nutrientes e substâncias orgânicas, representadas principalmente pela lactose e proteínas, o soro de leite apresenta um alto valor de Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO) (CHAVES et al., 2010; OLIVEIRA, 2006).

A DBO é a maneira utilizada para determinar a quantidade de matéria orgânica presente em águas residuais. Ela mede a quantidade de oxigênio necessária para estabilizar biologicamente a matéria orgânica presente em uma amostra após um determinado tempo. Desta forma, quanto maior a DBO, maior será a necessidade de oxigênio dissolvido na água para neutralizar biologicamente a matéria orgânica residual, ou seja, a DBO é diretamente proporcional ao potencial poluidor de um resíduo ou substância (OLIVEIRA, 2006).

Dessa forma, o soro necessita de ser tratado antes de ser eliminado no meio ambiente, caso contrário o mesmo passa a ser uma fonte de poluição com um poder poluente cerca de 100 vezes maior que o esgoto doméstico. Uma fábrica com produção média de 10.000 L de soro por dia polui o que equivale a uma população de 5.000 habitantes (BALDASSO, 2008).

No Brasil alguns laticínios ainda descartam o soro de leite nos rios, o que é considerado crime previsto por lei e também uma solução ineficaz. O descarte do soro diretamente no solo conduz a sérios problemas ambientais como comprometimento da estrutura físico-química do solo, diminuição do rendimento das colheitas e destruição da fauna e da flora (CALDEIRA et al., 2010; MOREIRA et al., 2010).

A utilização ou eliminação do soro de leite ainda é um dos principais problemas encontrados na indústria de laticínios, especialmente para os pequenos que não possuem meios econômicos ou tecnologia disponível para o reprocessamento deste resíduo (KOLLER et al., 2008).

### 2.2.3 A utilização do soro na indústria de alimentos

Apesar de ser considerado um subproduto, o soro de leite não deixa de ter sua importância na indústria de alimentos levando em conta o seu volume produzido e também seu valor nutricional (BALDASSO, 2008).

A produção de soro de leite apresentou um grande aumento nas últimas décadas juntamente com a produção de queijo. Em média em todo mundo, o volume de soro de leite está crescendo a uma taxa de 42% ao ano (SMITHERS, 2008).

Segundo a Associação Brasileira das Indústrias de Queijo (ABIQ), o Brasil produziu um total aproximado de 900 mil toneladas de queijo no último ano, o que gera em média 6,2 milhões de toneladas de soro (ABIQ, 2013).

Muitas pesquisas estão sendo feitas sobre a utilização do soro de leite, as quais visam além da redução da poluição ambiental ocasionada pela sua presença no solo, a sua introdução na dieta humana (CASTRO, 2007).

Atualmente esse subproduto está sendo transformado em um produto com alto valor agregado para a indústria de laticínios e queijos. Isso se deve ao desenvolvimento de novas tecnologias que utilizam o soro de leite em pó e frações de soro como ingredientes na elaboração de produtos alimentícios, tanto para consumo humano quanto animal. Ingredientes lácteos à base de soro podem substituir com eficiência e baixo custo os sólidos do leite e dar origem a novas fórmulas para produção de diversos alimentos (NIROZAVAREZE et al., 2010).

Além do uso do soro (*in natura* ou em pó), é possível utilizar também suas proteínas em formulações na produção de queijos e correlatos, concentrados proteico de soro (CPS), alimentos infantis, produtos dietéticos tanto para ganho como perda de peso, sopas, sucos enriquecidos com proteínas, molhos, iogurtes, chocolates, sorvetes, entre outros (VENTURINI FILHO, 2010).

A utilização de soro do leite na elaboração de bebidas lácteas constitui um modo racional de aproveitamento desse produto secundário que, além das características nutricionais é capaz de conferir propriedades tecnológicas desejáveis, podendo ser elas processadas de diversas maneiras e em diversos

sabores, fazendo parte de um mercado bastante promissor (NIRO, 2011; PFLANZER et al., 2010).

No Brasil, a produção de bebidas lácteas é uma das principais formas de aproveitamento do soro, mas mesmo assim, apenas 15% do total de soro produzido é utilizado para este fim, sendo então muito importante o desenvolvimento de novos produtos e novas tecnologias a fim de mudar essa realidade. (CAPITANI et al., 2005).

#### **2.2.4 Aspectos funcionais do soro de leite**

As propriedades funcionais do soro do leite e de seus componentes específicos ainda estão sendo descobertas, sendo alvo de inúmeros estudos nos últimos anos em razão do elevado valor biológico de seus peptídeos e aminoácidos essenciais, os quais os seres humanos não são capazes de sintetizar. Diversos estudos vêm sendo realizados com as proteínas presentes no intuito de testar os benefícios à saúde, sendo que são necessárias ainda mais pesquisas para sua completa elucidação (ALMEIDA et al, 2013).

As principais propriedades funcionais estudadas até o momento estão relacionadas às proteínas presentes, que se inicia com o seu potencial imunomodulador. As imunoglobulinas presentes no leite permanecem quase que integralmente no soro e continuam a desempenhar diversas funções importantes não somente no sistema gastrointestinal, mas sistemicamente em todo o organismo (BOUNOUS, 1982).

Além do aumento da capacidade imunomoduladora, estudos realizados em diferentes modelos experimentais (animais, humanos e células *in vitro*), utilizando a proteína do soro do leite, têm comprovado sua eficácia como ação antibacteriana e antiviral, ação anticancerígena, aumento no combate a infecções e processos inflamatórios, ação no sistema cardiovascular, entre outros (SGARBIERI; PACHECO, 1999; PACHECO et al., 2005).

O alto teor de aminoácidos essenciais presente nas proteínas do soro, afeta os processos metabólicos da regulação energética, de forma a favorecer o controle e a redução da gordura corporal. Segundo pesquisa realizada foi constatado que as dietas que apresentam maior relação proteína/carboidrato

são mais eficientes para o controle da glicemia e da insulina pós-prandial, situação que favorece a redução da gordura corporal e a preservação da massa muscular durante a perda de peso (OLIVEIRA et al., 2012).

Nos últimos anos um grande avanço tem ocorrido na área da nutrição esportiva com base em princípios fisiológicos e bioquímicos. De acordo com estudos realizados, uma alimentação especial pode promover melhor saúde e otimizar os benefícios do treinamento. O exercício físico possui profundo efeito no metabolismo das proteínas, no consumo de O<sub>2</sub> acima dos níveis de repouso, no transporte de aminoácidos e de glicose, bem como na concentração de lactato muscular (SGARBIERI, 2005). O estresse oxidativo produzido durante a atividade física contribui para o desenvolvimento da fadiga muscular de atletas, diminuindo o desempenho físico. Dessa forma, por ser considerada uma excelente fonte de proteínas e proporcionar ótima retenção de nitrogênio, o soro do leite tem sido inserido na alimentação de atletas (HARAGUCHI et al., 2006).

Além de todas as funções descritas o soro do leite também é considerado “o soro da memória” pelo fato desse subproduto concentrar componentes que atuam sobre os neurônios na formação de suas redes e das sinapses (FÉLIX, 2009).

O conhecimento sobre os mecanismos de ação fisiológica das proteínas do soro de leite é ainda incompleto, e pouco se conhece sobre as funções e os benefícios de componentes menores (natureza proteica ou não proteica) presentes no soro e recuperados em maior ou menor proporção nos isolados proteicos (SGARBIERI, 2004).

### **2.3 Alimentos e produtos funcionais: o futuro promissor dos lácteos**

O mercado de alimentos funcionais aumentou significativamente na última década. No Brasil, esse mercado apresenta um crescimento anual de 20% ao ano, sendo que o mercado mundial deve crescer 38% até o ano 2017 (COSTA, 2010; MADUREIRA, 2012). Esse crescimento está relacionado a vários fatores ligados a saúde, estilo de vida, nível de informação dos consumidores e mercado altamente competitivo, sendo dessa forma, alvo de

pesquisas que conseqüentemente ganha grande espaço na indústria de alimentos (GRANATO et al., 2010; RODRIGUES et al., 2011; SIRÓ et al., 2008).

O termo alimentos funcionais foi inicialmente proposto no Japão em meados do século 80, devido ao aumento da população de idosos e a constante preocupação do governo e das pessoas em prevenir doenças as crônicas degenerativas. Esse termo obteve status legal em 1991, sendo descrito como FOSHU (Foods for Specific Health Use), e, desde então, elaborou-se um processo de regulamentação específica para a aprovação de alimentos funcionais. Até julho de 2002, aproximadamente 300 produtos já tinham obtido a licença FOSHU identificada através de um selo de aprovação do ministério da saúde e bem-estar japonês na embalagem do alimento (HASLER, 1998; HASLER, 2002; ARAI et al., 2008).

Um produto funcional pode estar disponível sobre diversas formas como: alimentos infantis, leites fermentados e outros produtos lácteos, preparações farmacêuticas, cápsulas ou tabletes, sobremesas à base de leite, leite em pó destinado a recém-nascidos, sorvetes, sorvetes de iogurte, queijos, produtos em pó para serem dissolvidos em bebidas frias, alimentos de origem vegetal fermentados e maionese (CHR. HANSEN, 2008; OLIVEIRA et al., 2002; SAARELA et al., 2000; STANTON et al., 1998; STANTON et al., 2003).

Os alimentos lácteos são naturalmente ricos em nutrientes e podem ser utilizados além de suprir as necessidades nutricionais específicas para uma finalidade funcional (FERREIRA, 2012). A Tabela 3 apresenta alguns produtos lácteos desenvolvidos e sua alegação funcional.

**Tabela 3** – Produtos lácteos desenvolvidos e sua alegação funcional.

EMPRESA	PRODUTO LÁCTEO E ALEGAÇÃO FUNCIONAL
Nestlé	“LC1” - logurte com <i>Lactobacillus johnsonii</i> , que sobrevive ao TGI. O produto melhora a saúde imunológica e reduz desordens intestinais como diarreias, gastrite e úlceras pépticas.
Danone	“Actimel” - logurte que contém <i>Lactobacillus casei</i> que auxilia nas defesas naturais do corpo e ajuda a mantê-lo na melhor forma.
Lifeway Foods Inc.	“Basic Plus” – Bebida a base de kefir (leite fermentado que contém bactérias probióticas) contendo colostro de leite com componentes imunológicos.
Stonyfield Farm	“YoSelf e YoBab” – logurte semidesnatado simbiótico que contém seis culturas probióticas ( <i>Lactobacillus bulgaricus</i> , <i>Streptococcus thermophilus</i> , <i>Bifidobacterium bifidum</i> , <i>Lactobacillus casei</i> e <i>Lactobacillus reuteri</i> ) e um prebiótico, a inulina. É vendido em pacotes de seis embalagens de 112g, e é comercializado com o objetivo de aumentar a absorção de cálcio, uma pequena contribuição para a garantia da saúde das mulheres.
Evolus	“Evolus” – leite fermentado com <i>Lactobacillus helveticus</i> LBK- 16H, ajuda a reduzir a pressão sanguínea. A fermentação produz um tripeptídeo bioativo (valina-prolinaprolina) que inibe a transformação da Angiotensina I (um decapeptídeo) em Angiotensina II (um octapeptídeo) que é um vasoconstritor muito potente que aumenta a pressão sanguínea.
Balance Bar Company	“Total Balance” – Bebida láctea com proteína de soja com menos de 230 calorias e 22 vitaminas e minerais.
Laterria Montello	Queijo fresco probiótico contendo <i>Lactobacillus casei</i> que “ajuda a aliviar o stress”.

Fonte: IFIC – 2007/2008

Hoje em dia ainda não existe uma definição internacionalmente aceita sobre alimentos funcionais (SILVEIRA et al., 2009), porém, existem algumas definições como a proposta pela European Consensus on Scientific Concepts of Functional Foods, onde um alimento pode ser considerado funcional se for demonstrado o seu efeito em uma ou mais funções alvo do organismo (HENSON et al., 2008).

Os alimentos funcionais podem ser considerados, portanto, todos os alimentos e bebidas que, quando consumidos na alimentação cotidiana trazem benefícios fisiológicos específicos pela presença de substâncias fisiologicamente saudáveis (SILVA et al., 2009).

Não são aprovadas alegações de funcionalidade para ingredientes ou componentes dos alimentos, e sim para o produto final que tenha esses ingredientes ou componentes. As alegações aprovadas relacionam a propriedade funcional e/ou de saúde de um nutriente ou não nutriente do alimento. No entanto, a comprovação da eficácia da alegação deve ser realizada caso a caso, considerando a formulação e as características do alimento (ANVISA, 2008).

Se os alimentos funcionais continuarão tendo avanços, isso dependerá de vários fatores incluindo sua efetividade, segurança e qualidade, bem como a forma como os benefícios desses alimentos são comunicados aos consumidores. No entanto, eles devem ser vistos como parte de uma dieta saudável e não como "mágicos" para melhorar a saúde e reduzir os riscos de doenças (ARAÚJO, 2007; FERREIRA, 2012; STALINO, 2012; VIALTA et al., 2010).

A indústria de lácteos deve trabalhar para aumentar sua competitividade no mercado de alimentos funcionais em um mercado consumidor cada vez mais exigente. As oportunidades existem tanto para produtos lácteos, com adição ou não de ingredientes funcionais de origem não láctea, quanto para ingredientes lácteos funcionais adicionados em outros tipos de produtos alimentares. Dessa forma, o crescimento dos alimentos lácteos funcionais cria oportunidades e desafios para profissionais da saúde e da indústria de alimentos.

### 2.3.2 Probióticos

Os alimentos adicionados de culturas probióticas apresentaram nos últimos anos consideráveis avanços no mercado de alimentos funcionais. O interesse crescente dos consumidores por alimentos probióticos, justifica-se pela grande divulgação de estudos que apontam o consumo regular destes micro-organismos a efeitos benéficos sobre a saúde humana (FERREIRA, 2012).

A definição atual internacionalmente aceita de probióticos é “micro-organismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas conferem benefícios à saúde do hospedeiro” (FAO/WHO, 2001). Uma importante condição para que haja o efeito benéfico destes micro-organismos sobre o organismo, é que estes devem proceder da mesma espécie, ou seja, para humanos se forem obtidos a partir do trato gastrointestinal (TGI) humano, ao passo que se for para uso animal, provenha de seu TGI (FERREIRA, 2012).

Para um produto probiótico apresentar a alegação de promoção de saúde, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) estabelece que a quantidade mínima viável do micro-organismo deva estar entre  $10^8$  a  $10^9$  Unidades Formadoras de Colônias (UFC) por porção do produto (ANVISA, 2008).

De acordo com a legislação brasileira (ANVISA, 2008), os micro-organismos que podem ser classificados como probióticos para alimentação humana são: *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* variedade *shirota*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus defens*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactococcus lactis*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium animalis*, *Bifidobacterium longum* e *Eterococcus faecium*.

A literatura descreve que a levedura *Saccharomyces cerevisiae* e algumas espécies de *Escherichia coli* e *Bacillus* spp. também tem sido utilizados (OMGE, 2008). Em menor escala *Enterococcus faecium* são empregadas como suplementos probióticos para alimentos, uma vez que essa espécie tem sido isolada de todas as porções do TG do ser humano saudável (FANI, 2011).

Para que um micro-organismo se caracterize com potencial probiótico e apresente reconhecimento como GRAS (*Generally Recognized as Safe*) deve-

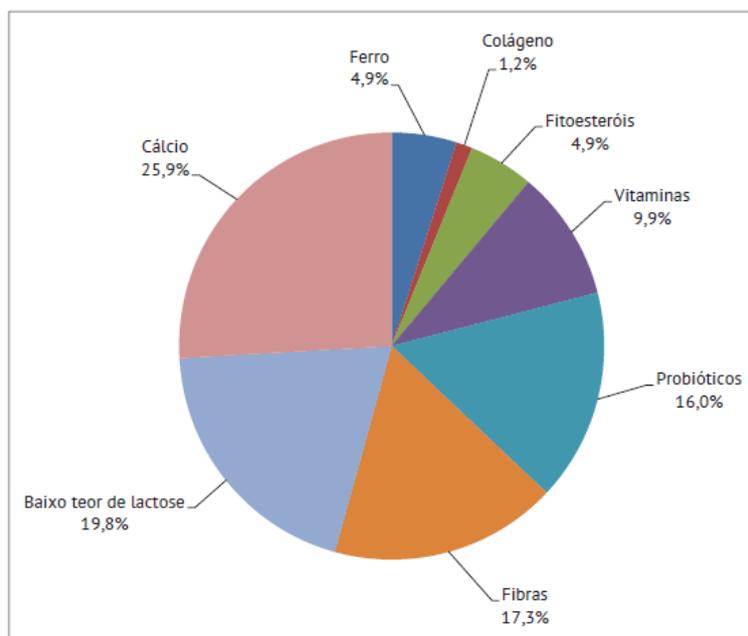
se avaliar seus aspectos taxonômicos, fenotípicos, genéticos, funcionais, tecnológicos e de segurança das estirpes selecionadas. Para tanto, esses micro-organismos devem atuar de forma eficaz no TGI, apresentando características como: origem humana quando destinado ao consumo humano; resistir ao suco gástrico, à bile e à lisozima; resistir às condições de processamento e armazenamento do produto; ter capacidade de se aderir ao epitélio intestinal; e apresentar concentração adequada no momento do consumo (FAO/OMS, 2006).

Além disso, esses micro-organismos devem apresentar alguns aspectos de segurança tais como: não apresentar histórico de associação com doenças ou desordens intestinais; não carrear genes plasmidiais de resistência a antibióticos; não promover a degradação da mucosa intestinal; não translocar ou induzir translocação de micro-organismos patogênicos para sítios extra intestinais; e possuir ausência de fatores de patogenicidade como a produção de hemolisina e gelatinase (FAO/WHO, 2001).

Dentre os benefícios do consumo de probióticos já estudados e comprovados estão: desenvolvimento e maturação do sistema imune; melhoria do funcionamento intestinal; redução do pH do intestino; tratamento e prevenção de diarreia por rotavírus; restabelecimento da microbiota intestinal normal após terapia por antibióticos; produção de vitaminas B (ácido fólico); redução de amônia e de outros componentes tóxicos; redução de colesterol; aumento da tolerância à lactose; prevenção ou tratamento de desordens intestinais; produção de substâncias antimicrobianas que agem sobre uma vasta gama de micro-organismos patogênicos tornando o ambiente desfavorável ao seu crescimento e desenvolvimento; prevenção da adesão de patógenos através da competição por sítios receptores; atuação na produção de anticorpos (IgA intestinal e sérica); redução da produção intestinal de citocinas pró-inflamatórias; aumento da produção intestinal de citocinas anti-inflamatórias; aumento da biodisponibilidade de certos nutrientes como ácidos graxos de cadeia curta, minerais e proteínas; promoção de efeitos benéficos sobre o metabolismo ósseo, entre outros (GIBSON e ROBERFROID 2008; PASCHOAL. et al., 2010; PICARD et al., 2005; SAAD et al., 2011).

A Figura 1 mostra o seguimento de alimentos funcionais e/ou enriquecidos e pode-se observar que os probióticos apresentam uma grande fatia do setor.

**Figura 1** - Mercado de produtos funcionais e/ou enriquecidos



Fonte: Scot Consultoria

A introdução de bactérias probióticas em produtos lácteos fermentados constitui uma alternativa tecnológica que atende às exigências do consumidor atual, cuja tendência é buscar produtos inovadores, diferenciados na textura, que promovam o bem-estar e tragam benefícios à saúde (ARAÚJO, 2007).

### **2.3.2.1 *Lactobacillus acidophilus***

*Lactobacillus acidophilus* são bactérias gram-positivas, não formadoras de esporos, homofermentativas, catalase-negativas e podem ser encontradas no TGI de humanos (KLEIN et al., 1998). As cepas pertencentes a essa espécie são as mais empregadas em iogurtes e outros leites fermentados probióticos, com seus efeitos benéficos bem caracterizados tanto em testes *in vitro* como *in vivo*, incluindo a manutenção do balanço da microbiota do TGI,

imunomodulação, exclusão de patógenos e alívio de sintomas de resfriado em crianças (COLLADO et al., 2007; GOH e KLAENHAMMER, 2010).

*Lactobacillus acidophilus* NCFM é uma bactéria presente no TGI de humanos e tem sido utilizada comercialmente há mais de 35 anos como cultura probiótica em suplementos dietéticos, leites, iogurtes e fórmulas infantis. Essa cepa é extremamente resistente às condições de baixo pH, possui a capacidade de sobreviver no TGI e capacidade de aderir às células da mucosa intestinal conforme verificado em teste in vitro, além de prevenir gastroenterites bacterianas, ajudar na digestão de lactose em indivíduos intolerantes a esse açúcar e atuar na modulação da resposta imune (SANDERS e KLAENHAMMER, 2001).

### **2.3.2.2 *Bifidobacterium bifidum***

As bifidobactérias são bactérias gram-positivas, não formadoras de esporos, anaeróbias e catalase-negativas (GOMES e MALCATA, 1999). São heterofermentativas, podendo produzir ácido lático, etanol, ácido acético e ácido fórmico através do metabolismo de carboidratos e, também, pequenas quantidades de dióxido de carbono e ácido succínico. Elas são capazes de modular a microbiota do TGI, principalmente na região do cólon, exercendo conseqüentemente efeitos benéficos à saúde do hospedeiro incluindo a inibição de micro-organismos patogênicos, produção de vitaminas, atividade anticarcinogênica e efeitos imunoestimulantes (JALILI et al., 2009).

As bifidobactérias têm sido largamente empregadas na indústria de produtos lácteos em mais de 70 produtos incluindo leites fermentados, queijos e sorvetes (SHAH, 2004).

*Bifidobacterium bifidum* é uma bactéria probiótica que foi originalmente isolada no TG de seres humanos. É um habitante específico do intestino grosso (especialmente no cólon), onde pode ser encontrado em altas concentrações (FRIEDMAN, 2005).

### **2.3.2.3 *Streptococcus thermophilus***

Algumas espécies do gênero *Streptococcus* spp. compreendem micro-organismos patogênicos letais para o ser humano, como por exemplo, *S. pneumoniae*, *S. pyogenes* e *S. agalactiae*. Entretanto, *S. thermophilus* é uma espécie considerada GRAS (HOLS et al., 2005).

Das 39 espécies do gênero *Streptococcus* spp. conhecidas, somente a espécie *Streptococcus thermophilus* é utilizada como cultura starter. O termo starter é empregado devido ao fato dessas bactérias iniciarem a produção de ácido no meio em que estão inseridas. A partir da fermentação da lactose, as culturas de *Streptococcus thermophilus* produzem substâncias como o ácido fórmico, ácido láctico e CO<sub>2</sub> (FOX et al., 2000; ZISU e SHAH, 2003).

Estudos já têm apontam *S. thermophilus* como sendo uma espécie probiótica em virtude do seu efeito de distribuição de lactase no intestino delgado, efeito este reconhecido como uma atividade probiótica (REID et al., 2003). Embora essa bactéria não sobreviva ao trânsito intestinal, alguns estudos já foram realizados comprovando a capacidade de resistência à passagem pelo TGI (DROUAULT et al, 2002; MATER et al., 2005).

### **2.3.3 Prebióticos**

Os prebióticos são componentes alimentares não digeríveis, que afetam benéficamente o hospedeiro por estimularem seletivamente a proliferação ou atividade de populações de bactérias desejáveis no cólon (GIBSON e ROBERFROID, 1995).

A atividade prebiótica é atribuída a alguns componentes de alimentos, particularmente oligossacarídeos e polissacarídeos não digeríveis capazes de resistir ao processo digestivo na parte superior do TGI. São hidrolisados e fermentados pela microbiota da parte inferior do TGI (cólon), estimulando a multiplicação e/ou atividade de um número limitado de bactérias benéficas. As bactérias do gênero *Bifidobacterium* spp. estão entre as bactérias presentes no intestino mais estimuladas pelos prebióticos (STEFE et al., 2008).

Para atuarem como funcionais, os prebióticos precisam ser quimicamente estáveis às técnicas de processamento de alimentos como: aplicação de calor, baixo pH, reações de Maillard, entre outras, visando manter a mesma atividade funcional pós-tratamento (HUEBNER et al., 2008).

Na aplicação de simbióticos em alimentos, o ideal é que o ingrediente prebiótico selecionado seja um substrato metabolizável pelo micro-organismo probiótico no intestino, o que possibilitaria um aumento na capacidade de sobrevivência do probiótico (FANI, 2011).

Simbióticos são alimentos que contem simultaneamente micro-organismos probióticos e ingredientes prebióticos, que em sinergia vão beneficiar a saúde do consumidor. A colonização de probióticos combinados com os prebióticos pode aumentar a ação dos primeiros no TGI. Sendo assim, tanto um produto com a combinação de FOS e bifidobactérias quanto outro contendo FOS e lactobacilos, por exemplo, encaixam-se na definição de produto simbiótico (SCHREZENMEIR, 2001).

Em geral, prebióticos e probióticos consumidos em um mesmo alimento possuem efeito sinérgico positivo quando se compara com a ingestão de prebióticos ou probióticos isoladamente (MOURA et al., 2012).

Em virtude dos efeitos benéficos produzidos pelos probióticos e prebióticos, tem havido um considerável interesse tanto por parte das indústrias como pelos pesquisadores em desenvolver produtos alimentícios que contenham estes micro-organismos juntamente com os ingredientes funcionais.

Os oligossacarídeos mais comumente estudados para a atividade prebiótica são os fruto-oligossacarídeos (FOS) e os galacto-oligossacarídeos (GOS), porém as características prebióticas também são encontradas em lactulose, oligossacarídeos de soja, lactossacarose, isomalto oligossacarídeos (IMO), xilo-oligossacarídeos (XOS) e palatinose (GIBSON et al., 2000). Outro importante prebiótico é o polissacarídeo inulina que juntamente com os FOS são agora considerados os prebióticos modelos (HERNANDEZ-HERNANDEZ et al., 2012; PATEL e GOYAL, 2012; ROBERFROID e SLAVIN, 2000).

A ANVISA atribui alegações e requisitos básicos às fibras alimentares, dextrina resistente, fruto-oligossacarídeo (FOS), inulina e lactulose. O órgão especifica que o consumo desses deve ser culminado a uma alimentação

equilibrada e a hábitos de vida saudáveis, para que assim possam realizar os efeitos desejáveis no organismo humano (ANVISA, 2008).

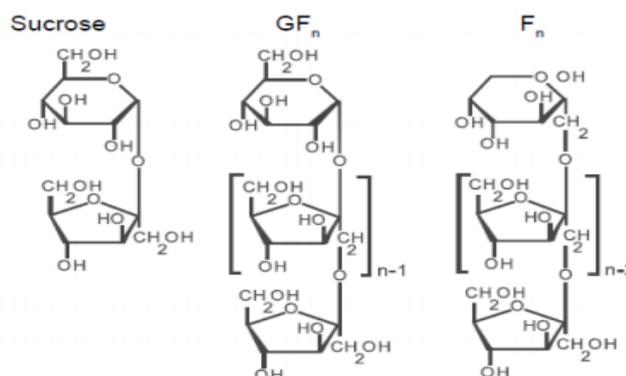
### 2.3.3.1 Fruto-oligossacarídeos (FOS)

Frutano é um termo genérico empregado para descrever todos os oligo ou polissacarídeos de origem vegetal, e refere-se a qualquer carboidrato em que uma ou mais ligações frutossil-frutose predominam dentre as ligações glicosídicas. Os frutanos são polímeros de frutose linear ou ramificada unidos por ligações  $\beta(2\rightarrow1)$  ou  $\beta(2\rightarrow6)$ , encontradas respectivamente na inulina e nos frutanos do tipo levanos (CARABIN e FLAMM, 1999).

Os frutanos do tipo inulina dividem-se em dois grupos gerais: a inulina e os compostos a ela relacionados (a oligofrutose e os FOS). A inulina, a oligofrutose e os FOS são entidades quimicamente similares, com as mesmas propriedades nutricionais. Essas semelhanças química e nutricional estão relacionadas à estrutura básica (ligações  $\beta 2\rightarrow1$ ) de unidades frutossil, bem como à sua via metabólica comum. A única diferença entre a inulina, a oligofrutose e os FOS é o grau de polimerização, ou seja, o número de unidades individuais de monossacarídeos que compõem a molécula (CARABIN e FLAMM, 1999; FANI, 2011). A Figura 2 apresenta a estrutura química de FOS e inulina.

**Figura 2** - Estrutura química básica de sacarose (GF) e os frutanos GF<sub>n</sub> e F<sub>n</sub>.

G = unidade glucosil; F = unidade frutossil; n = número de unidades frutossil ligada (n ≥ 2).



Fonte: MORRIS; MORRIS (2007).

Os FOS são os principais compostos prebióticos reconhecidos e utilizados em alimentos. Esses compostos descrevem a misturas de frutanos do tipo inulina de cadeia curta sintetizados a partir da sacarose. Os FOS consistem de moléculas de sacarose, compostas de duas ou três subunidades de frutose adicionais, adicionadas enzimaticamente através de ligação  $\beta(2\rightarrow1)$ , à subunidade frutose da sacarose. Estão presentes como compostos de reserva energética em mais de 36 mil espécies de vegetais, muitos dos quais utilizados na alimentação humana. As principais fontes de FOS incluem trigo, cebola, banana, alcachofra, alho e raízes de chicória (FANI, 2011).

Para que ocorra a fermentação dos FOS é necessária a presença de enzimas específicas. Bactérias do gênero *Bifidobacterium* spp. fermentam esse composto não digerível através da enzima chamada  $\beta$ -fructosidase, que associadas à células específicas, hidrolisam monômeros de frutose da extremidade não-redutora da cadeia de inulina ou de determinados açúcares em que o resíduo de frutose ocorre na posição  $\beta(2\rightarrow1)$ .(GOMIDES, 2006; BIEDRZYCKA; BIELECKA, 2004).

Os FOS apresentam cerca de um terço do poder adoçante da sacarose e maior solubilidade que a mesma. Eles não cristalizam, não precipitam, não deixam sensação de secura ou areia na boca. Portanto, possuem características que permitem sua aplicação tecnológica na fabricação de diversos tipos de alimentos, podendo ser utilizados em formulações para diabéticos, em formulações de sorvetes, sobremesas lácteas, iogurtes, produtos de panificação, barra de cereais, sucos, molhos, produtos de confeitaria e em produtos funcionais que promovam efeito nutricional adicional nas áreas de prebióticos e simbióticos (ZACARCHENCO et al., 2013).

Vários estudos investigaram os efeitos dos FOS no intestino humano. Em geral, a alimentação com FOS aumenta as concentrações de *Bifidobacterium* spp, *Lactobacillus* spp. e ácidos graxos de cadeia curta (SCFA) e diminui o pH, a concentração de *Clostridium* spp e *Bacteroides* spp. (AKALIN et al., 2004; CHO e FINOCCHIARO 2010; SANT'ANA, 2013).

Dessa forma, o consumo de prebióticos promove o estímulo do crescimento de bactérias específicas no cólon e estas intensificam o sistema imunológico do hospedeiro, promovem melhora na microbiota intestinal, previnem a diarreia ou a obstipação por alteração da microbiota colônica, além

de estarem relacionadas à redução do desenvolvimento de câncer, melhora dos níveis de lipídeos séricos, controle da tolerância à glicose e suprimento da produção de produtos de putrefação (STEFE, et al., 2008).

## **2.4 Legislação de alimentos funcionais**

As denominações das alegações funcionais ou “claims” e os critérios de aprovação variam de acordo com a regulamentação de cada país ou de blocos econômicos. O “Codex Alimentarius” e vários países seguem a tendência de disciplinar as alegações sobre as propriedades funcionais dos alimentos ou de seus componentes, como também a segurança com base em evidências científicas (STRINGHETA, 2007).

A legislação brasileira não define alimento funcional. Ela define alegação de propriedade funcional e estabelece as diretrizes para sua utilização, bem como as condições de registro para os alimentos com alegação de propriedade funcional (ANVISA, 2008).

A legislação brasileira para alimentos funcionais é regulamentada pela ANVISA através das resoluções RDC nº 18 e 19 datadas de abril de 1999, da RDC nº 2 datada de janeiro de 2002 e da lista de alimentos com alegações de propriedades funcionais e ou de saúde, novos alimentos/ingredientes, substâncias bioativas e probióticos aprovada em julho de 2008. As alegações são aprovadas para o produto final que contenha os ingredientes ou componentes funcionais, com base em evidências científicas, analisadas caso a caso, considerando a formulação e as características do alimento. Busca-se essa padronização com o objetivo de melhorar a compreensão dos consumidores quanto às informações veiculadas nos rótulos dos alimentos (ANVISA, 1999a, 1999b, 2002, 2008).

Os alimentos que apresentarem em seus dizeres de rotulagem e ou material publicitário as alegações listadas na regulamentação da ANVISA, devem ser registrados na categoria de “Alimentos com Alegações de Propriedade Funcional e/ou de Saúde”. Assim, devem ter registro prévio à comercialização conforme Anexo II da Resolução RDC nº. 278/2005. O registro de alimentos com alegações e a avaliação de novas alegações serão

realizados mediante a comprovação científica da eficácia das mesmas, atendendo aos critérios estabelecidos nas Resoluções nº. 18/99 e 19/99. A eficácia da alegação no alimento deve ser avaliada caso a caso, tendo em vista que podem ocorrer variações na ação do nutriente ou não nutriente em função da matriz ou formulação do produto (ANVISA, 2008).

No caso de alimentos regulamentados pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), as empresas devem inicialmente protocolar na ANVISA a petição 403, referente à solicitação de Avaliação de Alimentos com Alegações de Propriedades Funcional e/ou de Saúde. A ANVISA enviará resposta da avaliação para a empresa, com cópia para a área competente do MAPA e a comprovação da eficácia da alegação deve ser realizada caso a caso, considerando a formulação e as características do alimento (ANVISA, 2008).

Os resultados de pesquisas científicas de Universidades são formas de suporte para as exigências de que um produto, alimento ou ingrediente seja regulamentado. Então, a união entre Universidade e indústria com as autoridades competentes na área que tange à saúde e segurança do consumidor podem garantir que os alimentos sejam regulamentados de acordo com suas atribuições.

## **2.5 Pitanga**

A pitanga (*Eugenia uniflora* L.) é um fruto tropical pertencente à família *Myrtaceae*. É uma fruta vermelha, suculenta, macia, doce ou agridoce, consumida in natura ou sob a forma de refrescos e sucos. Sua polpa processada entra na composição de sucos engarrafados, sorvetes, doces, licores, vinho e geleias (FURTADO et al., 2003; MALAN et al., 2011)

A pitangueira é uma planta frutífera nativa do Brasil, das regiões Sul e Sudeste, e que tem se adaptado favoravelmente às condições climáticas e edáficas da região Nordeste (MALAN et al., 2011).

Refere-se a uma árvore frutífera que mede cerca de 6-12 metros de altura, apresenta copa arredondada, destinada à recomposição de áreas degradadas de preservação permanente e cultivada em pomares domésticos, podendo ser utilizada em paisagismo. Floresce entre os meses de agosto e

novembro e os frutos amadurecem entre outubro e janeiro (LORENZI, 1998). Possui frutos do tipo drupa, extremamente perecível e pericarpo muito frágil, o que a torna sensível a danos pós-colheita (DONADIO et al., 2002).

O cultivo da pitangueira, principalmente no Estado de Pernambuco, vem crescendo a cada ano em razão da utilização dos frutos para o preparo de polpa, bem como para a elaboração de sorvetes, sucos, refrescos, geléias, licores e vinhos (BEZERRA et al., 2000).

No Brasil não são conhecidas variedades perfeitamente definidas de pitangueira, o que torna os plantios com baixa uniformidade genética, afetando conseqüentemente a quantidade e a qualidade da produção nacional de pitangas (LIMA et al., 2000).

A composição da pitanga conforme a Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO 2011) por 100g da parte comestível da fruta está descrita na Tabela 4.

**Tabela 4.** Composição da pitanga conforme a Tabela Brasileira de Composição de Alimentos.

<b>Componente</b>	<b>Pitanga</b>
Umidade (%)	88,3
Proteína (g)	0,9
Lipídeos (g)	0,2
Carboidratos (g)	10,2
Cinzas (g)	0,4
Cálcio (mg)	18
Fósforo (mg)	13
Vitamina C (mg)	24,9
Valor calórico (kcal)	41

Fonte: TACO, 2011.

O fruto da pitanga apresenta em média 77% de polpa e 23% de semente, é rico em cálcio, fósforo, antocianinas, flavonóides, carotenóides e vitamina C, indicando seu elevado poder antioxidante (SILVA, 2006). A presença de antocianinas aliada aos teores de flavonóis e carotenóides totais

fazem desse fruto uma fonte promissora de compostos antioxidantes (LIMA, MELO, LIMA, 2002).

Extratos das frutas da pitangueira também demonstraram ter alta atividade antimicrobiana contra *Escherichia coli*, *Streptococcus pyogenes*, *Providencia spp.*, *Proteus mirabilis*, *Shigella sonnei*, *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus spp. coagulase*, confirmando também a ausência de inibição de *Pseudomonas aeruginosa* (GONÇALVES et al., 2005).

Os agricultores utilizam a pitanga também pela versatilidade dos frutos que, além de serem utilizados na cosmetologia, fornecem geléias, doces, refrescos, sorvetes, licores e vinhos de qualidade apreciável (KORBES, 1995).

No mercado lácteo não existem produtos que utilizam a pitanga como ingrediente, possivelmente devido à baixa escala de produção e até mesmo o pouco conhecimento e consumo da fruta. Dessa forma esse estudo teve como finalidade de desenvolver uma bebida láctea fermentada probiótica e simbiótica utilizando-se a polpa de pitanga por apresentar excelentes condições para industrialização devido ao seu potencial antioxidante, aroma agradável e sabor exótico.

### 3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACHANTA, K.; ARYANA, K. J.; BOENEKE, C. A. Fat free plain set yogurts fortified with various minerals. **Food Science and Technology**, v. 40, p. 424 – 429, 2007.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Alimentos. Comissões de Assessoramento técnico-científico em alimentos funcionais e novos alimentos. Alimentos com alegações de propriedades funcionais e ou de saúde, novos alimentos/ingredientes, substâncias bioativas e probióticos.** Lista de alegações aprovadas em julho de 2008. Disponível em: [http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno\\_lista\\_alega.htm](http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno_lista_alega.htm). Acesso em: 20 nov. 2014.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Alimentos. Resolução RDC n.18, de 30 de abril de 1999a. **Aprova o Regulamento Técnico que estabelece as Diretrizes Básicas para Análise e comprovação de propriedades funcionais e ou de saúde alegadas em rotulagem de alimentos.** Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/>. Acesso em: 20 nov. 2014.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Alimentos. Resolução RDC n.19, de 30 de abril de 1999b. **Aprova o Regulamento Técnico de procedimentos para registro de alimento com alegação de propriedades funcionais e ou de saúde em sua rotulagem.** Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/>. Acesso em: 20 nov. 2014.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Alimentos. Resolução RDC n.2, de 7 de janeiro de 2002. **Aprova o Regulamento Técnico de substâncias bioativas e probióticos isolados com alegação de propriedades funcionais e ou de saúde.** Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/>. Acesso em: 20 nov. 2014.

ALMEIDA, C. C.; JÚNIOR, C. A. C.; SILVA, A. C. O. ALVARES, T. S. Proteína do soro do leite: composição e suas propriedades funcionais. **Enciclopédia biosfera**, v. 9, n.16, p. 1840-1854, 2013.

ARAI, S.; YASUOKA, A.; ABE, K. Functional food science and food for specified health use policy in Japan: state of art. **Current Opinion in Lipidology**, v. 19, n. 1, p. 69-73, 2008.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS DE QUEIJO. **Aproveitamento industrial do soro de queijo cresce em Minas Gerais**. Disponível em: [http://www.abiq.com.br/abiq\\_noticias\\_ler.asp?codigo=314&c%C3%B3digo\\_categoria=6&c%C3%B3digo\\_subcategoria=3%E.%20Acesso%20em:%2007/10/2013](http://www.abiq.com.br/abiq_noticias_ler.asp?codigo=314&c%C3%B3digo_categoria=6&c%C3%B3digo_subcategoria=3%E.%20Acesso%20em:%2007/10/2013). Acesso em: 15/11/2014.

BALDASSO, C. **Concentração, purificação e fracionamento das proteínas do soro lácteo através da tecnologia de separação por membranas**. Porto Alegre: UFRGS, 2008. 179p. Dissertação de mestrado em Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2008.

BALLUS, C. A.; KLAJN, V. M.; CUNHA, M. F.; OLIVEIRA, M. L.; FIORENTINI, A. M. Aspectos científicos e tecnológicos do emprego de culturas probióticas na elaboração de produtos lácteos fermentados: Revisão. **Ceppa**, v. 28, n. 1, p. 85-96, 2010.

BEZERRA, J. E. F.; SILVA JÚNIOR, J. F. da; LEDERMAN, I. E. **Pitanga (Eugenia uniflora L.)**. Jaboticabal: FUNEP, 2000. 30p. (Série Frutas Nativas, 1.)

BIEDRZYCKA, E.; BIELECKA, M. Prebiotic effectiveness of fructans of different degrees of polymerization. **Trends Food Science and Technology**, v. 15, p. 170-175, 2004.

BORGES V. C. **Alimentos funcionais: prebióticos, probióticos, fitoquímicos e simbióticos. Nutrição oral, enteral e parenteral na prática clínica**. 3. ed. São Paulo: Atheneu; 2000. p. 1495-50.

BOUNOUS G, Influence of dietary protein on the immune system of mice. **Journal of Nutrition**, v.1, n. 12, p. 1747-1755, 1982.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Instrução Normativa nº16, de 23 de agosto de 2005. **Aprova o regulamento técnico de identidade e qualidade de bebida láctea**. Brasília: Diário Oficial da República Federativa do Brasil / Poder Executivo, Seção 1, 24 ago./2005, p.7.

CALDEIRA, L. A. et al. Desenvolvimento de Bebida Láctea Sabor Morango Utilizando Diferentes Níveis de Iogurte e Soro Lácteo Obtidos com Leite de Búfala. **Ciência Rural, Santa Maria, Online**, 2010. Disponível: <<http://submission.scielo.br/index.php/cr/article/view/21361/3276> > Acesso em: 14/10/2014.

CAPITANI, C. D. et al. Recuperação de proteínas do soro de leite por meio de coacervação com polissacarídeo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 40, n. 11, p. 1123-1128, 2005.

CASTRO, F. P. de. **Efeito de Diferentes Proporções de Soro de Queijo e Oligofrutose na Contagem de Bactérias Probióticas, nas Características Físicas, Químicas e Sensoriais de Bebidas Lácteas Fermentadas**. Santa Catarina: UFSC, 2007. 126p. Dissertação de mestrado em Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, 2007.

CHAVES, K. F.; CALLEGARO, E. das D.; SILVA, V. R. O. Utilização do Soro de Leite nas Indústrias de Laticínios da Região de Rio Pomba – MG. In: **27º Congresso Nacional de Laticínios. Anais CNL (Congresso Nacional de Laticínios)**, 2010. Disponível em: < <http://cnlepamig.com.br/anais/poster.html> > Acesso em: 13/10/2014.

CHO S. S.; FINOCCHIARO, E. T. **Handbook of Prebiotics and Probiotics ingredients: Health benefits and food applications**. Boca Raton: CRC Press LLC, 2010. 435 p

CHR. HANSEN, Chr. Hansen lança culturas probióticas e culturas de fermentação para produtos não lácteos, notícia on line dia 02/04/2008, disponível na Internet via: W.URL: [http://w.chr-hansen.com.br/noticias/news\\_single/article/chr-hansen-lanca-culturas-probioticas-e-culturas-de-fermentacao-para-produtos-nao-lacteos.html](http://w.chr-hansen.com.br/noticias/news_single/article/chr-hansen-lanca-culturas-probioticas-e-culturas-de-fermentacao-para-produtos-nao-lacteos.html).

COLLADO, M. C.; MERILUOTO, J.; SALMINEN, S. Role of commercial probiotic strains against human pathogen adhesion to intestinal mucus. **Letters in Applied Microbiology**, v. 45, p. 454-460, 2007.

COSTA, N. M. B.; ROSA, C. de O. B. **Alimentos funcionais – componentes bioativos e efeitos fisiológicos**. Editora: Rubio, 2010.

CUNHA, T. M. et al. Avaliação Físico-Química, Microbiológica e Reológica de Bebida Láctea e Leite Fermentado Adicionados de Probióticos. **Ciências Agrárias**, v. 29, p. 103-116, 2008.

DONADIO, L. C.; MÔRO, F. V.; SERVIDONE, A. A. **Frutas brasileiras**. Jaboticabal Ed. Novos Talentos, 2002. 288p.

DROUVAULT, S.; ANBA, J.; CORTHER. G. *Streptococcus thermophilus* is able to produce a  $\beta$ -galactosidase active during its transit in the digestive tract of germ-free mice. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 68, n. 2, p. 938-941, 2002.

FANI, M. Probióticos, prebióticos e simbióticos. **Food Ingredients Brasil**, n. 17, p. 58- 65, 2011. Disponível em: < <http://www.revista-fi.com/materias/177.pdf> >. Acesso em 20/11/14.

FAO/WHO. . Food and Agricultural Organization of the United Nations / World Health Organization. **Probiotics in Food. Health and nutritional properties and guidelines for evaluation**. In: FAO Food and Nutrition paper 85, 2006. Acesso em: 20/11/2014

FAO/WHO. Food and Agricultural Organization of the United Nations / World Health Organization. **Health and Nutritional Properties of Probiotics**

**in Food including Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria. 2001.**

Disponível em:

FÉLIX, P. A. S. Secagem do soro do leite. **Leite e Derivados**, v. 18, n. 111, p.6, 2009.

FERREIRA, C. L. L. F. **Grupo de Bactérias Lácticas e Aplicação Tecnológica de Bactérias Probióticas**. In: Prebióticos e Probióticos – Atualização e Prospecção. Rio de Janeiro: Editora Rubio, 2012. 226p.

FOX, P. F.; GUINEE, T. P.; COGAN, T. M.; McSWEENEY, P. L. H. **Fundamentals of cheese science**. Gaithersburg: Aspen, 2000. 587p.

FRIEDMAN, G. Probiotic, prebiotic and comensal bacteria perspectives and clinical application in gastroenterology. **Gastroenterology Clinics of North America, Philadelphia**, v. 34, n. 3, p. 12-16, 2005.

FURTADO, B. F.; CORRÊA, P. C.; SILVA, F. S. Efeito do estágio de maturação no comportamento mecânico de frutos de pitanga (*Eugenia uniflora* L.). In: **Congresso Brasileiro de Engenharia Agrícola, 2003, Goiânia. Anais** Goiânia: SBEA, 2003. CD.

GIBSON, G. R.; OTTAWAY, D. R.; e RASTALL, R. A. **Prebiotics: new developments in functional foods**. Oxford: Chandos Publishing Limited, 108 p., 2000.

GIBSON, G.; ROBERFROID, M. Dietary modulation of the human colonic microbiota introducing the concept of prebiotics. **Journal of Nutrition**, v. 125, p. 1401-1412, 1995.

GIBSON, G.R.; ROBERFROID, M.B., eds. **Handbook of prebiotics**. Boca Raton: CRC Press, 2008. 485p.

GOH, Y. J.; KLAENHAMMER, T. R. Functional roles of aggregation-promoting-like factor in stress tolerance and adherence of *Lactobacillus acidophilus* NCFM. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 76, n. 15, p. 5005-5012, 2010.

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**, v. 10, p. 139-157, 1999.

GOMIDES, A. A. F. **Análise histológica e por imunofluorescência de órgãos de camundongos para detecção de *Klebsiella pneumoniae***. Viçosa: UFV, 2006. 58p. Dissertação de mestrado em Biologia celular e estrutural, Universidade Federal de Viçosa, 2006.

GONÇALVES, A.L.; FILHO, A.A.; MENEZES, H. Estudo comparativo da atividade antimicrobiana de extratos de algumas árvores nativas. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 72, n. 3, p. 353-358, 2005.

GRANATO, D.; BRANCO, G. F.; NAZZARO, F.; CRUZ, A. G.; FARIA, J. A. F. functional foods and nondairy probiotic food development: trends, concepts and products. **Comprehensive Reviews in food Science and Food Safety**, v. 9, n. 3, p. 291-302, 2010.

HARAGUCHI, F. K.; ABREU, W. C.; PAULA, H. Proteínas do soro do leite: composição, propriedades nutricionais, aplicações no esporte e benefícios para a saúde humana. **Revista de Nutrição**, v. 19, n. 4, p. 479-488, 2006.

HARPER, W. J. Whey proteins. **Food Technology New Zealand**. v. 19, n. 1, p. 21-28, 1994.

HASLER, C.M. Functional foods: benefits, concerns and challenges – a position paper from the american council on science and health. **Journal of Nutrition**, v. 132, p. 3772-3781, 2002

HASLER, C.M. Functional foods: their role in disease prevention and health promotion. **Food Technology**, v. 52, n. 11, p. 63-70, 1998.

HENSON, S.; MASAKURE, O.; CRANFIELD, J. The propensity for consumers to offset health risks through the use of functional foods and

nutraceuticals: the case of lycopene. **Food Quality and Preference**, v. 19, p. 395-406, 2008.

HERNANDEZ-HERNANDEZ, O.; MUTHAIYAN, A.; MORENO, F.J.; MONTILLA, A.; SANZ, M.L., RICKE, S.C. Effect of prebiotic carbohydrates on the growth and tolerance of *Lactobacillus*. **Food Microbiology**, v. 30, p. 355-361, 2012.

HOLETZ, F. B.; PESSINI, G. L.; SANCHES, N. R.; CORTEZ, D. A. G.; NAKAMURA, C. V.; FILHO, B. P. D. Screening of some plants used in the Brazilian folk medicine for treatment of infectious diseases. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 97, p.1027–1031, 2002.

HOLS, P.; HANCY, F.; FONTAINE, L.; GROSSIORD, B.; PROZZI, D.; LEBLOND-BOURGET, N.; DECARIS, B.; BOLOTIN, A.; DELORME, C.; EHRLICH, D.; GUÉDON, E.; MONNET, V.; RENAULT, P.; KLEEREBEZEM, M. New insights in the molecular biology and physiology of *Streptococcus thermophiles* revealed by comparative genomics. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 29, p. 453-463, 2005.

HUEBNER, J.; WEHLING, R. L.; PARKHURST, A.; HUTKINS, R. W. Effect of processing conditions on the prebiotic activity of commercial prebiotics. **International Dairy Journal**, v. 18, p. 287-293, 2008.

IKEDA, A. A.; MORAES A.; MESQUITA, G. Considerações sobre tendências e oportunidades dos alimentos funcionais. **Revista P&D em Engenharia de Produção**, v. 8, p. 40-56, 2010.

INTERNATIONAL FOOD INFORMATION COUNCIL (IFIC) Foundation. 2007 Consumer Attitudes toward Functional Foods/Foods for Health. Washington, D.C.: IFIC, 2007. <http://ific.org>.

INTERNATIONAL FOOD INFORMATION COUNCIL (IFIC) Foundation. 2008 Food & Health Survey. Consumer Attitudes toward Food, Nutrition & Health. Washington, D.C.: IFIC, 2008. <http://ific.org>

JALILI, H.; RAZAVI, S. H.; SAFARI, M.; MALCATA, F. X. Enhancement of growth rate and galactosidase activity, and variation in organic acid profile of *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 45, p. 469-476, 2009.

KLEIN, G.; PACK, A.; BONAPARTEL, C.; REUTER, G. Taxonomy and physiology of probiotic lactic acid bacteria. **International Journal of Food Microbiology**, v. 41, p. 103-125, 1998.

KOLLER, M.; BONA, R.; CHIELLINI, E.; FERNANDES, E.G.; HORVAT, P.; KUTSCHERA, C.; HESSE, P.; BRAUNEGG, G. Polyhydroxyalkanoate production from whey by *Pseudomonas hydrogenovora*. **Bioresource Tecnology**, v.99, p.4854-4863, 2008.

KORBES, V. C. **Plantas medicinais**. 48. ed. Francisco Beltrão: Associação de Estudos, Orientação e assistência Rural, 1995. 188p.

LEGLER, C.M.Z. **Produtos Lácteos: Comparação do Conhecimento e Consumo por Acadêmicos Ingressantes e Concluintes de um Curso de Nutrição de Faculdade Particular do Oeste do Paraná**. Paraná: FAG, 2007. 32p. Trabalho de Conclusão do Curso de Nutrição, Faculdade Assis Gurgacz, 2007.

LIMA, V. L. A. G.; MELO, E. A.; LIMA, L. S. et al. Caracterização físico-química e sensorial de pitanga roxa. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 22, n. 3, p. 382-385, 2000.

LIMA, V. L. A. G; MELO, E. A.; LIMA, D. E. S. Fenólicos e carotenóides totais em pitanga. **Scientia Agricola**, v. 59, n. 23, p.447- 450, 2002.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Nova Odessa, SP:Editora Plantarum, 1998. 352p.

MADUREIRA, D. Falta regra da ANVISA para vender alimentos funcionais. **Jornal valor estratégico**. 2012. Disponível em:

<http://www.abia.org.br/anexos2012/42ecee10-dd4e-4dd3af3b79829b816a31.pdf>. Acesso em: 25/11/14.

MALAN, F. S.; MORAES L. A. B.; WEST, C.; FERREIRA, N. J.; OLIVEIRA, A. L. Supercritical fluid extracts from the Brazilian cherry (*Eugenia uniflora* L.): Relationship between the extracted compounds and the characteristic flavour intensity of the fruit. **Food Chemistry**, v. 124, n. 1, p. 85-92, 2011.

MATER, D. D. G.; BRETIGNY, L.; FIRMESSSE, O.; FLORES, M. J.; MOGENET. A.; BRESSON, J. L.; CORTHER, G. *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* survive gastrointestinal transit of healthy volunteers consuming yogurt. **FEMS Microbiology Letters**, v. 250, p. 185-187, 2005.

MATOS, R. A. **Desenvolvimento e mapa de preferência externo de bebida láctea à base de soro e polpa de graviola (*Annona muricata*)**. Itapetinga: UESB, 2009. 79p. Dissertação de Mestrado em Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, 2009.

MAUBOIS, J. L.; FAUQUANT, J.; FAMELART, M. H.; CAUSSIN, F. Milk microfiltrate, a convenient starting material for fractionation of whey proteins and derivatives. **In: Proceedings of the 3<sup>rd</sup> International Whey Conference**; 2001; Munich. Chicago: American Dairy Products Institute; 2001. p.59-72.

MILK POINT. **Alimentos funcionais uma visão geral**. Disponível em: <http://www.milkpoint.com.br/cadeia-do-leite/leite-saude/alimentos-funcionais-uma-visao-geral-21210n.aspx>. Acesso em: 25/11/14.

MORAES, F. P.; COLLA, L. M. Alimentos funcionais e nutracêuticos: definições, legislação e benefícios à saúde. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 3, n. 2, p. 109- 122, 2006.

MOREIRA, R. W. M. et al. Avaliação Sensorial e Reológica de uma Bebida Achocolatada Elaborada a Partir de Extrato Hidrossolúvel de Soja e

Soro de Queijo. **Acta Scientiarum Technology**, v. 32, p. 435-438, 2010.

MOURA, N. A., *et al.* Protective effects of yacon (*Smallanthus sonchifolius*) intake on experimental colon carcinogenesis. **Food and Chemical Toxicology**, v. 50, p. 2902-2910, 2012.

NIRO A. L.. **Processamento do soro de leite, 2011**. Disponível em: <[http://www.geafiltration.com/Portuguese/mercados\\_aplicacoes/processamento\\_de\\_soro\\_de\\_leite.htm](http://www.geafiltration.com/Portuguese/mercados_aplicacoes/processamento_de_soro_de_leite.htm)>. Acessado em 20/11/14.

OLIVEIRA D. F.; BRAVO C. E. C.; TONIAL I. B. Soro de leite: Um subproduto valioso. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, n. 67, v.385, p. 64-71, 2012.

OLIVEIRA M. N. **Tecnologia de produtos lácteos funcionais**. Livro: Ed. Atheneu. São Paulo, 2009.

OLIVEIRA, M. N.; SIVIERI, K.; ALEGRO, J. H. A.; SAAD, S. M. I. Aspectos tecnológicos de alimentos funcionais contendo probióticos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 38, n. 1, p. 1-21, 2002.

OLIVEIRA, V. M. **Formulação de bebida láctea fermentada com diferentes concentrações de soro de queijo, enriquecida com ferro: caracterização físico-química, análises bacteriológicas e sensoriais**. Niterói: UFF, 2006. 78p. Dissertação de Mestrado em Medicina Veterinária, Universidade Federal Fluminense, 2006.

OMGE (Organização Mundial de Gastroenterologia). **Guias práticas: Probióticos e Prebióticos**, p.1-22, maio, 2008.

ORDÓÑEZ, J. A. **Tecnologia de alimentos: alimentos de origem animal**. Porto Alegre: Artmed, v. 2, 2005, 279p.

PACHECO, M. T. B.; DIAS, N. F. G.; BALDINI V. L. S.; TANIKAWA C.; SGARBIERI V. C. Propriedades funcionais de hidrolisados obtidos a partir de

concentrados proteicos de soro de leite. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 2, p. 333-338, 2005.

PASCHOAL, V.; NAVES, A.; FONSECA, A. **Nutrição Clínica Funcional: Dos princípios à prática Clínica**. 1a Ed. revisada. São Paulo: VP editora; 2010.

PATEL, S.; GOYAL, A. The current trends and future perspectives of prebiotics research: a review. **Biotech Humanas**, v. 2, p. 115–125, 2012.

PFLANZER, S. B. et al. Perfil sensorial e aceitação de bebida láctea achocolatada. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, p. 391-398, 2010.

PICARD, C.; FIORAMONTI, J.; FRANÇOIS, A.; ROBINSON, T.; NEANT, F.; MATUCHANSKY, C. Review article: bifidobacteria as probiotic agents – physiological effects and clinical benefits. **Alimentary Pharmacology and Therapeutics**, v. 22, p. 495-512, 2005.

REID, G.; SANDERS, M. E.; GASKINS, R.; GIBSON, G. R.; MERCENIER, A.; RASTALL, R.; ROBERFROID, M.; ROWLAND, I.; CHERBUT, C.; KLAENHAMMER, T. New scientific paradigms for probiotics and prebiotics. **Journal of Clinical Gastroenterology**, v. 37, n. 2, p. 105-118, 2003.

ROBERFROID, M.; SLAVIN, J. Nondigestible oligosaccharides. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 40, p. 461–480, 2000.

RODRIGUES, D.; ROCHA-SANTOS, T. A. P.; PEREIRA, C. I.; GOMES, A. M.; MALCATA, F. X.; FREITAS, A. C. The potential effect of FOS and inulin upon probiotic bacterium performance in curdled milk matrices. **LWT – Food Science and Technology**, v. 44, p. 100-108, 2011.

SAAD, S. M. I.; BEDANI, R.; MAMIZUKA, E. M. **Benefícios à saúde dos probióticos e prebióticos**. In: SAAD, S. M. I.; CRUZ, A. G.; FARIA, J. A. F., eds. *Probióticos e prebióticos em alimentos: fundamentos e aplicações tecnológicas*. São Paulo: Varela, 2011. cap. 2, p. 51-84.

SAARELA, M.; MOGENSEN, G.; FONDE, R.; MALTTO, J.; MATTILA-SANDHOLM, T. Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties. **Journal of Biotechnology**, v. 84, p. 197–215, 2000.

SANDERS, M. E.; KLAENHAMMER, T. R. Invited review: the scientific basis of *Lactobacillus acidophilus* NCFM functionality as a probiotic. **Journal of Dairy Science**, v. 84, p. 319-331, 2001.

SANT'ANA, M. S. L. **Efeito de um produto a base de yacon (*Smallanthus sonchifolius*) na modulação da constipação intestinal.** Viçosa: UFV, 2013. 116p. Tese de Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, 2013.

SCHREZENMEIR J, VRESE M. Probiotics, prebiotics and synbiotics - approaching a definition. The **American Journal of Clinical Nutrition** [periódico na internet], 2001.

SGARBIERI, V. C. Propriedades Fisiológicas-Funcionais das proteínas do soro de leite. **Revista de Nutrição**, v. 17, p. 397-409, 2004.

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

SGARBIERI, V. C. Revisão: Propriedades estruturais e físico-químicas das proteínas do leite. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 8, n. 1, p. 43-56, 2005.

SGARBIERI, V. C.; PACHECO, M. T. B., Revisão: Alimentos funcionais fisiológicos. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 2, n. 12, p. 7-19, 1999.

SHAH, N. P. Probiotics and prebiotics. **Agro Food Industry Hi-Tech**, v. 15, p. 1316, 2004.

SILVA, S. M. Pitanga. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 28, n.1, 2006.

SILVEIRA, T. F. V.; VIANNA, C. M. M.; MOSEGUI, G. B. G. Brazilian legislation for functional. Physis. **Revista de Saúde Coletiva**, v. 19, p. 1189-1202, 2009.

SIRÓ, I.; KAPOLNA, E.; KAPOLNA, B.; LUGASI, A. Functional food. Product development, marketing and consumer acceptance. **A review. Appetite**, v. 51, n. 3, p. 56-67, 2008.

SMITHERS, G.W. Whey and whey proteins – From ‘gutter-to-gold’. **International Dairy Journal**, v.18, p.685-704, 2008.

SOUZA, L. K. H.; OLIVEIRA, C. M. A.; FERRI, P. H.; et al. Antifungal properties of Brazilian cerrado plants. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 33, p. 247–249, 2002.

STANTON, C.; DESMOND, C.; COAKLEY, M.; COLLINS, J. K.; FITZGERALD, G.; ROSS, R. P. **Challenges facing development of probiotic-containing functional foods. Handbook of fermented functional foods.** Boca Raton: CRC Press, 2003. p. 27-58.

STANTON, C.; GARDINER, G.; LYNCH, P. B.; COLLINS, J. K.; FITZGERALD, G.; ROSS, R. P. Probiotic cheese. **International Dairy Journal**, v. 8, p. 491-496, 1998.

STEFÉ, C. A.; ALVES, M. A. R.; RIBEIRO, R. L. Probióticos, prebióticos e simbióticos – artigo de revisão. **Saúde e Ambiente em Revista**, v. 3, n. 1, p. 16-33, 2008.

STRINGHETA, P. C.; OLIVEIRA, T. T.; GOMES, R. C. Políticas de saúde e alegações de propriedades funcionais e de saúde para alimentos no Brasil. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 43 p. 181-194, 2007.

TACO, **Tabela Brasileira de Composição de Alimentos** – NEPA/ UNICAMP – Version II – 4. Ed. Campinas – SP: NEPA/ UNICAMP 2011, 161p.

TULLIO, L. T. **Isolamento e Caracterização do Glicomacropéptido do Soro de Leite**. Paraná: UFPR, 2007. 97p. Dissertação de mestrado em Tecnologia em Alimentos, Universidade Federal do Paraná, 2007.

VENTURINI FILHO, W. G. **Bebidas não alcoólicas: Ciência e Tecnologia**. v. 2. São Paulo: Editora Blucher, 2010.

VIALTA, et al. **Brasil Food Trends 2020**. Federação das Indústrias do Estado de São Paulo, Instituto de Tecnologia de alimentos. – São Paulo: FIESP/ITAL, 2010. 173p.

VIEIRA, A. A. M. T. **Estudo da Hidrólise enzimática do soro de queijo utilizando as lactases Lactozym e prozyn**. Uberlândia: UFU, 2006. 77p. Dissertação de mestrado em Engenharia Química, Universidade Federal de Uberlândia, 2006.

ZACARCHENCO, P. B.; GALLINA, D. A.; VAN DENDER, A. G. F.; MORENO, I. Prebióticos em produtos lácteos. **Leite e derivados**, p. 36-44, 2013.

ZAVAREZE, E. da R.; MORAES, K.S.; SALAS-MELLADO, M. de. L.M. Qualidade Tecnológica e Sensorial de Bolos Elaborados com Soro de Leite. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, p. 100-105, 2010.

ZIEGLER, F. L. F.; SGARBIERI, V. C. Caracterização químico-nutricional de um isolado proteico de soro de leite, um hidrolisado de colágeno bovino e misturas dos dois produtos. **Revista de Nutrição**, v. 22, n. 1, p. 61-70, 2009.

ZINSLY, P. F.; SGARBIERI, V. C.; PEREIRA DIAS, N. F. G.; JACOBUCCI, H. B.; PACHECO, M. T. B.; BALDINI, V. L. S. Produção piloto de concentrados de proteínas de leite bovino: composição e valor nutritivo. **Journal of Food and Technology**, v. 4, p. 1-8, 2001.

ZISU, B.; SHAH, N.P. Effects of pH, temperature, supplementation with whey protein concentrate, and adjunct cultures on the production of

exopolysaccharides by *Streptococcus thermophilus* 1275. **Journal of Dairy Science**, v. 86, p. 3405-3415, 2003.

ZULUETA, A. et al. Vitamin C, vitamin A, phenolic compounds and total antioxidant capacity of new fruit juice and skim milk mixture beverages marketed in Spain. **Food Chemistry**, v. 103, p. 1365-1374, 2007.

## **4. OBJETIVOS**

### **4.1 Objetivo geral**

Desenvolver bebida láctea fermentada, com característica probiótica e simbiótica, sabor pitanga.

### **4.2 Objetivos específicos**

- Selecionar as formulações com melhor desempenho quanto à avaliação sensorial;
- Caracterizar as formulações selecionadas quanto à avaliação físico-química e microbiológica;
- Avaliar a estabilidade das formulações selecionadas quanto a pós-acidificação e viabilidade das bactérias lácticas durante o período de estocagem.

## 5. RESULTADOS

**5.1 ARTIGO:** DESENVOLVIMENTO DE BEBIDA LÁCTEA FERMENTADA SABOR PITANGA (*Eugenia uniflora* L.) COM CARACTERÍSTICA PROBIÓTICA E SIMBIÓTICA

## RESUMO

O desenvolvimento de novos produtos alimentícios tem sido influenciado por fatores como demanda dos consumidores por novas tendências em alimentos, praticidade, sabor, facilidade de conservação e a necessidade de ingerir alimentos saudáveis que, além de nutrirem, promovam bem-estar e saúde, como os chamados alimentos funcionais. Desta forma, objetivou-se desenvolver diferentes formulações de bebida láctea fermentada sabor pitanga, elaboradas com culturas probióticas e fruto-oligossacarídeos (FOS), avaliando sua aceitação sensorial e, por conseguinte, suas características físico-químicas, microbiológicas e estabilidade das formulações selecionadas, durante o armazenamento refrigerado. Foram elaboradas quatro formulações de bebidas lácteas sabor pitanga sendo duas contendo 40% de soro de leite (uma adicionada de FOS e outra não), e outras duas contendo 20% de soro de leite (uma adicionada de FOS e outra não). As formulações foram fermentadas com culturas probióticas e adicionadas de polpa de pitanga (3%), sendo após o processamento armazenadas sob refrigeração para posteriores análises. As bebidas lácteas foram submetidas ao teste de aceitação sensorial e intenção de compra. As formulações 1 (20% de soro lácteo e 4% de FOS) e 3 (20% de soro lácteo e sem adição de FOS) foram selecionadas por apresentarem os maiores índices de aceitabilidade pelos avaliadores e melhores médias para os atributos sabor, aroma, consistência, avaliação global e intenção de compra. Estas formulações foram submetidas à análise de composição centesimal e avaliação da estabilidade quanto ao pH, acidez e contagem de bactérias ácido láctico nos tempos 0, 7, 14, 21 e 28 dias de estocagem refrigerada. As formulações apresentaram boa estabilidade quanto ao pH, acidez e atendeu a contagem mínima de  $10^8$  UFC para bactérias ácido láctico, se considerado 100ml do produto. Deste modo, a bebida láctea fermentada sabor pitanga elaborada nas condições deste estudo apresentou-se como um produto viável tecnologicamente e com potencial de produção pela indústria de produtos lácteos funcionais.

**Palavra-chave:** soro de leite, alimentos funcionais, fruto-oligossacarídeos

## 1. INTRODUÇÃO

Diversas substâncias presentes nos alimentos consideradas como funcionais apresentam vários efeitos benéficos à saúde, onde uma alimentação saudável é considerada um importante fator na prevenção para vários tipos de doenças. O mercado de alimentos funcionais aumenta significativamente devido a vários fatores relacionados com a saúde, estilo de vida, nível de informação dos consumidores e mercado altamente competitivo (GRANATO et al., 2010; SIRÓ et al., 2008).

Uma nova tendência é a fabricação de bebidas lácteas e outros leites fermentados alegados a propriedades funcionais. No grupo de alimentos funcionais destacam-se os probióticos que são micro-organismos vivos que quando ingeridos em uma concentração adequada atuam trazendo uma série de benefícios ao organismo; os prebióticos que são ingredientes não digeríveis que afetam benéficamente o hospedeiro pelo estímulo seletivo de uma ou mais bactérias no cólon; e os simbióticos que são alimentos que contém simultaneamente micro-organismos probióticos e ingredientes prebióticos, que em sinergia vão beneficiar a saúde do consumidor (FAO/WHO, 2001; GIBSON; ROBERFROID, 1995; SCHREZENMEIR, 2001).

Segundo o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade (RTIQ) (BRASIL, 2005), é considerada bebida láctea “o produto lácteo resultante da mistura do leite (*in natura*, pasteurizado, esterilizado, UHT, reconstituído, concentrado, em pó, integral, semidesnatado, parcialmente desnatado e desnatado) e soro de leite (líquido, concentrado ou em pó) adicionado ou não de produtos ou substâncias alimentícias, gordura vegetal, leites fermentados, fermentos lácteos selecionados e outros produtos lácteos. A base láctea deve apresentar pelo menos 51 % (m/m) do total de ingredientes do produto. Quando fermentada, esta deve ser submetida a fermentação mediante a ação de cultivo de micro-organismos específicos e/ou adicionado de leite(s) fermentado(s) e que não poderá ser submetido à tratamento térmico após a fermentação. A contagem total de bactérias lácticas viáveis deve ser no mínimo de  $10^6$  UFC/g (unidades formadoras de colônia por grama) no produto final.

O soro de leite, apesar de ser considerado um subproduto, apresenta grande importância na indústria de alimentos devido ao volume produzido e

também ao seu valor nutricional (BALDASSO, 2008). A produção de soro de leite apresentou um grande aumento nas últimas décadas juntamente com a produção de queijo. Em média, em todo mundo, o volume de soro de leite está crescendo a uma taxa de 42% ao ano (SMITHERS, 2008).

A utilização de soro do leite na elaboração de bebidas lácteas constitui um modo racional de aproveitamento desse produto secundário que, além das características nutricionais, é capaz de conferir propriedades tecnológicas desejáveis, podendo ser processadas de diversas maneiras e em diversos sabores, fazendo parte de um mercado bastante promissor (NIRO, 2011; PFLANZER et al., 2010).

No Brasil, cerca de 50% do soro não é aproveitado, gerando desperdícios nutricionais, financeiros e impactos ambientais relevantes, já que é um resíduo com alto teor orgânico (MAGALHÃES, 2011). A produção de bebida láctea é uma das principais formas de aproveitamento do soro.

As bebidas lácteas desenvolvidas são adicionadas de diversas frutas tropicais visando agregar valor e melhorar suas características sensoriais. Dentre as frutas tropicais cultivadas no Brasil, destaca-se a pitanga (*Eugenia uniflora* L.) por suas características relacionadas ao sabor, aroma e aparência. A pitangueira é uma planta frutífera nativa do Brasil, das regiões Sul e Sudeste, e que tem se adaptado favoravelmente às condições climáticas e edáficas da região Nordeste (MALAN et al., 2011). A pitanga é rica em cálcio, fósforo, antocianinas, flavonóides, carotenóides e vitamina C, indicando seu elevado poder antioxidante (SILVA, 2006).

Portanto, objetivou-se com este trabalho elaborar bebidas lácteas fermentadas com característica probiótica e simbiótica, sabor pitanga, utilizando-se micro-organismos probióticos e fruto-oligossacarídeo (FOS), e avaliar suas características físico-químicas, microbiológicas, sensoriais e avaliar a estabilidade das formulações selecionadas quanto à pós-acidificação e viabilidade das bactérias lácticas durante o período de estocagem.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1. Desenvolvimento do produto

#### 2.1.1. Material

As formulações das bebidas lácteas foram elaboradas no Laboratório de Técnica Dietética do Departamento de Ciências Domésticas da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE).

Para o presente estudo foram elaboradas quatro formulações de bebida láctea sendo duas com característica probiótica e duas com característica simbiótica. Foram seguidas as seguintes etapas: 1) Preparo do inóculo probiótico; 2) Obtenção do soro lácteo; 3) Obtenção e processamento da polpa de pitanga; 3) Elaboração das bebidas lácteas fermentadas.

O soro foi obtido pelo método enzimático utilizando leite de vaca pasteurizado integral com 3% de gordura e coalho líquido (HÁ-LA<sup>®</sup> Christian Hansen Ind. e Com. Ltda.), para possível coagulação e dessoramento. Posteriormente o soro foi acondicionado em recipientes de vidro previamente esterilizados e armazenado sob refrigeração (7 °C).

Frutos de pitanga foram obtidos através no mercado local Central de Abastecimento do Estado de Pernambuco (CEASA). No momento da aquisição os frutos foram acondicionados em sacos de polietileno próprios para alimentos e levado ao Laboratório onde foram processados, conforme item 2.1.2.

Para a formulação de bebida láctea probiótica foi utilizada uma cultura láctica probiótica (Bio Rich<sup>®</sup> Christian Hansen Ind. e Com. Ltda.), constituída de *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium bifidum* e *Streptococcus thermophilus*, foi obtida no comércio local. Para sua ativação foi utilizado leite em pó desnatado reconstituído (LDR) 10% (m/v) esterilizado e resfriado à 42°C para então adição do fermento lácteo seguido de incubação à 42±1°C por 4,5 horas, conformes instruções do fabricante.

Para as formulações com características simbióticas, além da cultura probiótica anteriormente descrita foi adicionado o prebiótico fruto-

oligossacarídeos (FOS) (SKL Pharma®). Foi utilizado açúcar cristal refinado para adoçar as bebidas lácteas.

### **2.1.2. Processamento da polpa de pitanga**

Para o processamento da polpa de pitanga os frutos foram primeiramente selecionados, lavados em água corrente e posteriormente sanitizados em solução com hipoclorito de sódio a 200ppm por 15 minutos, de acordo com os princípios adequados de produção de polpa. Após a higienização foi processado, no Laboratório de Processamento da Universidade Federal Rural de Pernambuco, em despoldadeira (Bobina Compacta), posteriormente foram submetidos ao tratamento térmico de 85°C por 10 minutos, armazenadas em embalagens de polietileno própria para alimentos e sob refrigeração.

### **2.1.3. Formulação das bebidas lácteas fermentadas**

Foram elaboradas quatro formulações de bebidas lácteas sendo duas contendo 40% de soro de leite (uma adicionada de 4% de FOS e outra não), e outras duas contendo 20% de soro de leite (uma adicionada de 4% de FOS e outra não). A Tabela 1 apresenta as formulações das bebidas lácteas elaboradas.

**Tabela 1.** Formulações das bebidas lácteas elaboradas.

Formulação	Composição
B1	20% de soro 4% de FOS
B2	40% de soro 4% de FOS
B3	20% de soro Sem FOS
B4	40% de soro Sem FOS

O preparo das bebidas lácteas foi iniciado com a pesagem dos constituintes secos: açúcar 8% (m/v), leite em pó desnatado reconstituído (LDR) 12% (m/v) e fruto-oligossacarídeo (FOS) 4% (m/v). Em seguida foi adicionado água destilada e o soro lácteo, com posterior homogeneização e pasteurização em banho térmico a 85°C por 15 minutos, seguindo de resfriamento a  $42 \pm 1^\circ\text{C}$  e inoculação da cultura probiótica 2% (v/v). A fermentação foi realizada em estufa a  $42 \pm 1^\circ\text{C}$  por 4 a 5 horas até o  $\text{pH} \pm 4,6$ , e passado esse período as bebidas foram resfriadas a aproximadamente 7°C. Em seguida o coágulo foi quebrado e adicionado da polpa de pitanga (3%) seguida de homogeneização. Logo após as bebidas elaboradas foram mantidas sob refrigeração ( $4 \pm 1^\circ\text{C}$ ) para posteriores análises.

## **2.2. Análise sensorial**

### **2.2.1 Teste de aceitação**

Para verificação das formulações mais aceitas, foi realizado o teste de aceitação sensorial realizado no Laboratório de Análise Sensorial do Departamento de Ciências Domésticas/Universidade Federal Rural de Pernambuco (DCD/UFRPE) (ANEXO 1).

As formulações de bebidas lácteas probióticas e simbióticas fermentadas foram submetidas ao teste afetivo de aceitabilidade utilizando um painel de provadores não treinados constituídos por 66 adultos de ambos os sexos em condições laboratoriais controladas (temperatura  $20\pm 2^{\circ}\text{C}$ , luz branca nas cabines individuais de prova). As amostras foram servidas aos provadores em uma temperatura refrigerada  $\pm 4^{\circ}\text{C}$ , em copos descartáveis de 50mL com tampas (Copobras, PB, Brasil), codificados com 3 dígitos, distribuídas aleatoriamente, foi distribuída água e bolacha para limpeza do palato.

Os atributos cor, aroma, consistência, sabor e aparência global foram avaliados utilizando-se a escala hedônica estruturada de 9 pontos, onde 9 representa “gostei extremamente” e 1 “desgostei extremamente” (MINIM, 2006).

Foi calculado o índice de aceitabilidade (IA) utilizando-se a fórmula a seguir, para cada um dos atributos avaliados (TEIXEIRA; MEINERT; BARBETTA, 1987), sendo consideradas aceitas as formulações que apresentaram IA igual ou superior a 70%.

$$\text{IA \%} = A \times 100/B$$

Onde:

A = nota média obtida para o produto;

B = nota máxima dada ao produto;

### **2.2.2. Intenção de compra**

A intenção de compra das quatro formulações de bebidas lácteas foram avaliadas por 66 adultos não treinados. O teste foi realizado sob condições controladas de temperatura ( $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ) e luz (branca) nas cabines individuais de prova). Para avaliar a atitude de intenção de compra, utilizou-se escala estrutura de cinco pontos, indo de 5, igual a “certamente compraria o produto”, até 1, igual a “jamais compraria” (MINIM, 2006)

### **2.3. Análises físico-químicas**

As bebidas lácteas com melhores resultados na avaliação sensorial foram selecionadas e submetidas à análises físico-químicas em triplicata. Foram determinadas as análises de acidez, pH, umidade, cinzas, proteínas, lipídios, carboidratos totais, açúcares totais, redutores e não redutores segundo os métodos da Association of Official Analytical Chemists (AOAC,2002).Estas análises foram realizadas Laboratório de Experimentação e Análises de Alimentos – Prof<sup>a</sup>. Nonete Barbosa Guerra, Departamento de Nutrição/Universidade Federal de Pernambuco (LEAAL/DN/UFPE).

### **2.4. Análises microbiológicas**

As bebidas selecionadas na avaliação sensorial foram analisadas quanto à quantificação das bactérias do ácido láctico, através do meio específico MRS de Man Rogosa Sharpe (MRS, Merck, Darmstad, Alemanha), seguida de incubação à 37 °C por 48 horas.

Para as análises, 25 g de cada amostra foram homogeneizadas em 225 mL (diluição  $10^{-1}$ ) de solução caldo MRS estéril. Foram realizadas em seguida diluições sucessivas de  $10^{-2}$  a  $10^{-8}$  em tubos com solução caldo MRS estéril. Alíquotas dessas diluições foram inoculadas em *Pour Plate* ágar MRS seguidas de incubação de acordo com as exigências de cada grupo. Os plaqueamentos foram realizados em duplicatas para cada diluição. Para contagem foram consideradas as placas que apresentaram contagem entre 25-250 colônias (AOAC, 2002).

#### **2.4.1. Quantificação de coliformes totais e *Escherichia coli***

Logo após o desenvolvimento das formulações foi realizada análises de coliformes totais em caldo Verde Brillhante a 35°C por 48 horas e *Escherichia coli* em caldo EC a 45°C por 48 horas (APHA, 2001), para avaliação de sua segurança microbiológica, segundo recomendação da RDC N° 12/2001 (BRASIL, 2001).

## **2.5. Estabilidade das formulações de bebida láctea**

As formulações de bebidas lácteas foram avaliadas após 0, 7, 14, 21 e 28 dias de fabricação quanto as variáveis pH e acidez titulável como já descrito no item 4.3. Foi realizada também a quantificação de bactérias do ácido lático nos mesmos períodos citados conforme descrito no item anterior.

## **2.6. Análise estatística**

As análises dos resultados foram realizadas de acordo com programa computacional Statistica for Windows 7.0 (STATSOFT, 2004), adotando-se nível de significância de 5% de probabilidade.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1. Análise Sensorial

Os resultados da análise sensorial para as diferentes formulações podem ser observados na Tabela 2.

Para os atributos cor e aroma não houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre as formulações e as médias das notas variaram entre “gostei ligeiramente” a “gostei moderadamente”, uma vez que não houve variação na concentração de polpa adicionada nas formulações.

Para os atributos sabor, consistência e avaliação global houve diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) entre as formulações e as médias das notas também variaram entre “gostei ligeiramente” a “gostei moderadamente”.

**Tabela 2.** Médias para os atributos sensoriais avaliados pelo teste de aceitação de bebidas lácteas fermentadas sabor pitanga.

Formulações	Atributos				
	Cor	Sabor	Aroma	Consistência	Avaliação global
B1	6,89±1,56 A	7,30±1,51A	6,80±1,68A	6,97±1,69AB	7,48±1,03A
B2	7,09±1,45A	7,03±1,74AB	6,56±1,75A	6,41±1,53B	6,86±1,61B
B3	7,04±1,47A	6,98±1,69AB	6,85±1,71A	7,41±1,59A	7,11±1,60AB
B4	6,83±1,48A	6,47±1,93B	6,65±1,77A	6,56±1,72B	6,70±1,62B

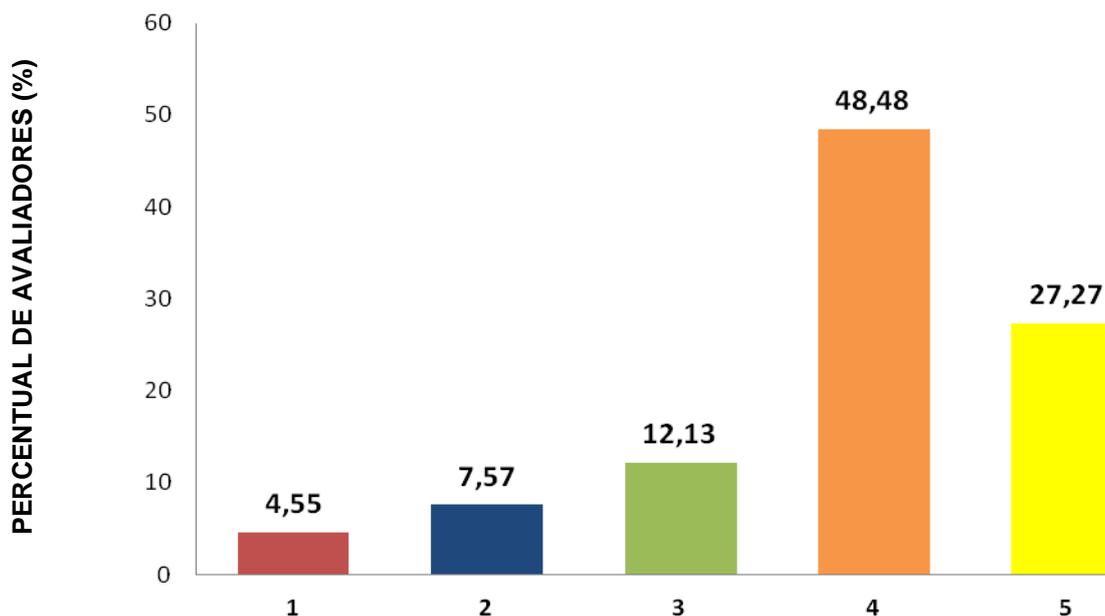
**B1:** 20% SORO E 4% FOS; **B2:** 40% SORO E 4% FOS; **B3:** 20% SORO E SEM FOS E **B4:** 40% SORO E SEM FOS. Médias seguidas de letras iguais na vertical não diferem significativamente ao nível de 5% pelo teste de Duncan.

A diferença na consistência está relacionada a uma maior adição de soro nas formulações B2 e B4, que obtiveram menores médias com relação a esse atributo, muito embora não tenha diferenciado de B1.

Quanto aos atributos sabor e avaliação global, a formulação que obteve maiores médias foi B1, adicionada de FOS e de menor quantidade de soro.

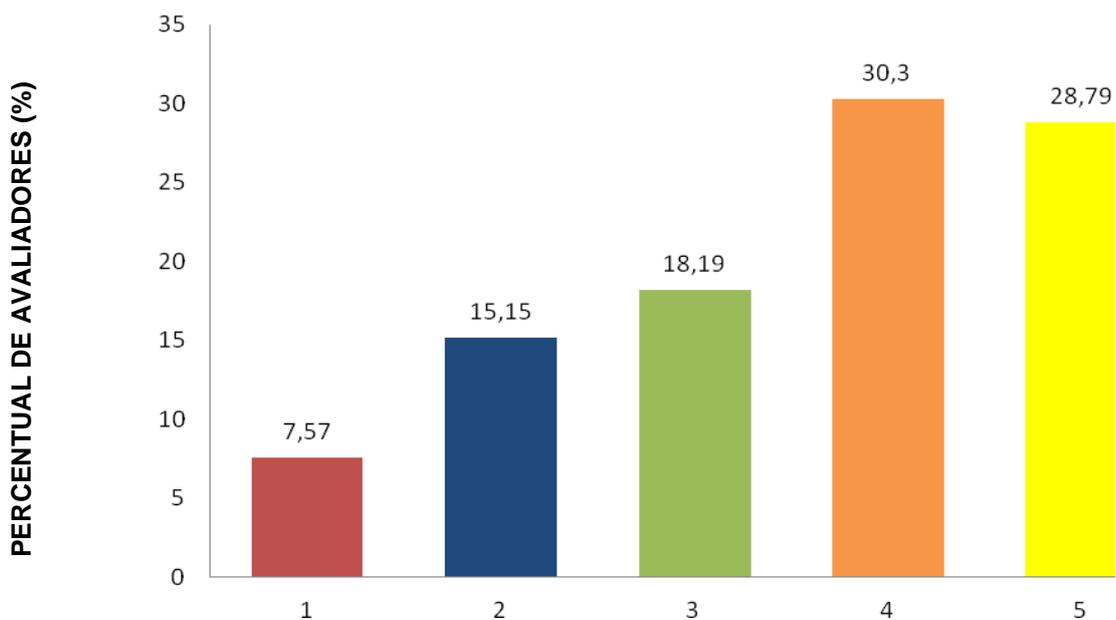
As figuras 1, 2, 3 e 4 apresentam o percentual obtido no teste de intenção de compra para cada uma das formulações.

**Figura 1** – Intenção de compra de bebida láctea fermentada sabor pitanga contendo 20% de soro e 4% de fruto-oligossacarídeo.



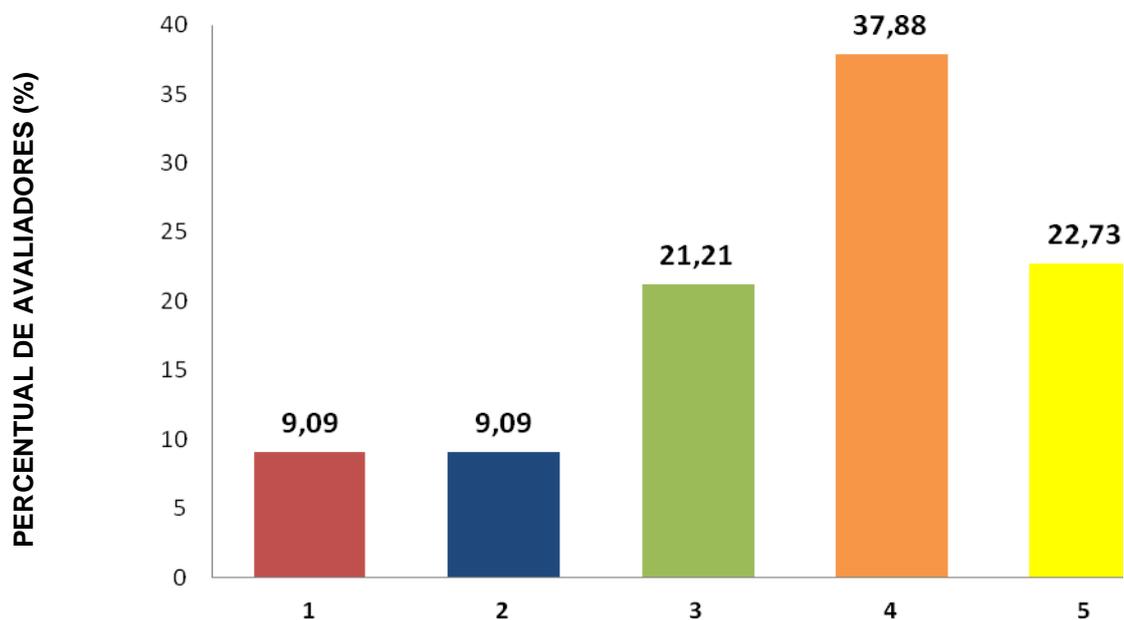
1-jamais compraria; 2- talvez não compraria; 3- talvez compraria, talvez não compraria; 4- talvez compraria e 5- certamente compraria.

**Figura 2** - Intenção de compra de bebida láctea fermentada sabor pitanga contendo 40% de soro e 4% de fruto-oligossacarídeo.



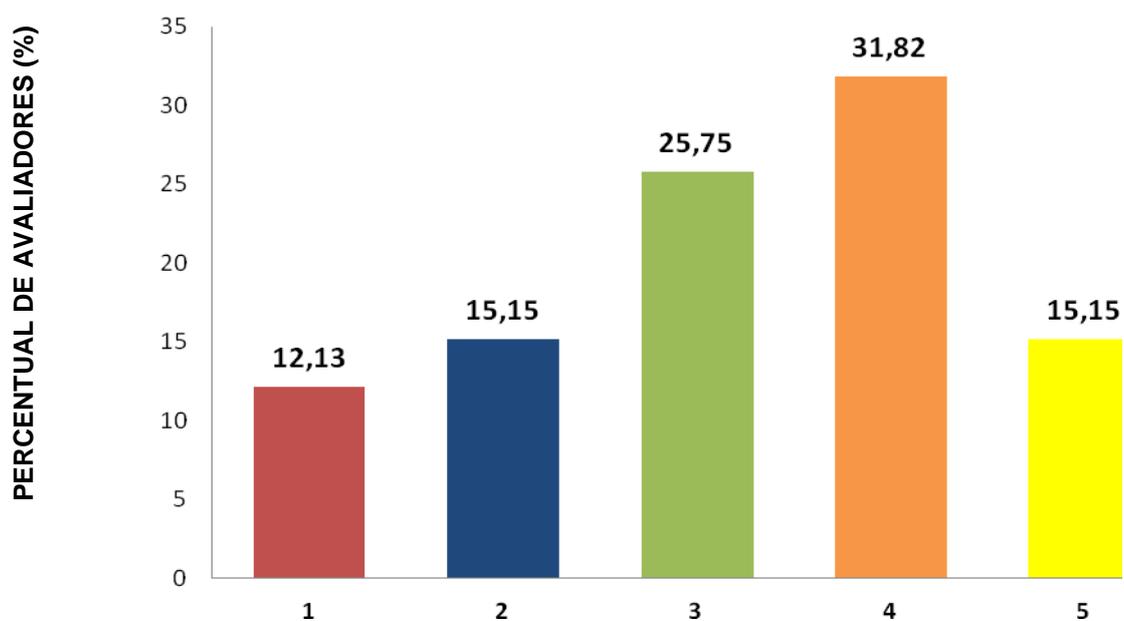
1-jamais compraria; 2- talvez não compraria; 3- talvez compraria, talvez não compraria; 4- talvez compraria e 5- certamente compraria.

**Figura 3** - Percentual de Intenção de compra de bebida láctea fermentada sabor pitanga contendo 20% soro e sem fruto-oligossacarídeo .



1-jamais compraria; 2- talvez não compraria; 3- talvez compraria, talvez não compraria; 4- talvez compraria e 5- certamente compraria.

**Figura 4** - Percentual de Intenção de compra de bebida láctea fermentada sabor pitanga contendo 40% de soro e sem fruto-oligossacarídeo.



1-jamais compraria; 2- talvez não compraria; 3- talvez compraria, talvez não compraria; 4- talvez compraria e 5- certamente compraria.

As formulações que apresentaram maior intenção de compra variando entre “certamente compraria” e “talvez compraria” foram as formulações B1 e B3.

Para que um produto seja sensorialmente aceito é necessário que se obtenha um Índice de aceitabilidade igual ou superior a 70%, segundo Teixeira et al. (1987). Observa-se na Tabela 2 que todas as formulações apresentaram aceitabilidade satisfatória.

**Tabela 3.** Índice de aceitabilidade para as diferentes formulações de bebidas lácteas fermentadas sabor pitanga.

Formulações	Índice de aceitabilidade das bebidas lácteas (%)				
	Cor	Sabor	Aroma	Consistência	Avaliação global
<b>B1</b>	76,60	78,45	74,58	75,08	78,62
<b>B2</b>	77,95	75,42	72,05	70,37	74,92
<b>B3</b>	78,11	76,26	75,76	80,98	78,45
<b>B4</b>	75,76	70,03	72,90	70,37	73,40

**B1:** 20% SORO E 4% FOS; **B2:** 40% SORO E 4% FOS; **B3:** 20% SORO E SEM FOS E **B4:** 40% SORO E SEM FOS.

As formulações B1 e B3 apresentaram os maiores índices de aceitabilidade pelos avaliadores para os atributos sabor, aroma, consistência e avaliação global, sendo selecionadas para avaliação físico-química, microbiológica e vida de prateleira.

## 3.2. Análises Físicas- Químicas

### 3.2.1. Composição centesimal

Os resultados obtidos quanto à composição centesimal das formulações B1 e B3 estão apresentados na Tabela 4.

**Tabela 4.** Composição centesimal de formulações de bebidas lácteas fermentadas com característica simbiótica e com característica probiótica.

<b>Análises</b>	<b>Formulação B1 Bebida Láctea com característica Simbiótica</b>	<b>Formulação B3 Bebida Láctea com característica Probiótica</b>
Umidade (g/100 g)	*82,37±**0,12 <sup>b</sup>	84,34±0,20 <sup>a</sup>
Proteínas (g/100 g)	3,01±0,03 <sup>a</sup>	2,97±0,06 <sup>a</sup>
Lipídeos (g/100 g)	0,00±0,00 <sup>a</sup>	0,00±0,00 <sup>a</sup>
Cinzas (g/100 g)	0,98±0,01 <sup>a</sup>	0,93±0,01 <sup>b</sup>
Carboidratos Totais (g/100 g)	13,72±0,07 <sup>a</sup>	11,77±0,06 <sup>b</sup>
Glicídios redutores em lactose (%)	4,11±0,01 <sup>a</sup>	3,51±0,04 <sup>b</sup>
Glicídios não redutores em sacarose (%)	8,48±0,39 <sup>a</sup>	7,49±0,23 <sup>b</sup>
VCT*** (Kcal)	66,90±0,71 <sup>a</sup>	59,14±0,14 <sup>b</sup>

Médias seguidas de letras iguais na horizontal não diferem significativamente ao nível de 5 % pelo teste “t” de student.

\*média; \*\*desvio padrão; \*\*\*Valor calórico total.

Quanto ao teor de umidade e cinzas houve diferença significativa entre as formulações. A formulação com característica simbiótica, por apresentar maior teor de sólidos totais, obteve menor teor de umidade e maior teor de cinzas comparada à formulação com característica probiótica. Thamer e Penna (2006) ao caracterizar bebidas lácteas fermentadas por probióticos e acrescidos de prebióticos encontraram valores de cinzas variando de 0,53% a 0,61%, inferiores ao encontrado nesta pesquisa. Cunha et al. (2008) em estudo avaliando as propriedades físico-químicas de bebidas lácteas, obtiveram

valores entre 80,56% a 81,91% valores menores ao encontrado nessa pesquisa.

Com relação ao teor de proteínas não houve diferença significativa entre as formulações. O teor de proteínas das formulações apresentaram-se em conformidade com o exigido pela legislação que é de no mínimo 1,0g/100ml para bebida láctea fermentada com adição de substâncias não lácteas (BRASIL, 2005). Oliveira et al. (2006) elaboraram três formulações de bebida láctea fermentada com diferentes concentrações de soro e enriquecida com ferro, e verificaram que a formulação com 30% de soro apresentou teor de proteína 2,02% e com 70% de soro apresentou menor teor 1,65%. No presente estudo o teor de proteína foi de 3,01% na formulação com FOS e 2,97 na formulação sem FOS, ambas com adição de 20% de soro de leite.

O teor de carboidratos foi de 13,72% para a bebida com característica simbiótica e 11,77% para bebida com característica probiótica, resultado semelhante ao encontrado por Gallina et al. (2012) ao caracterizar bebida obtida de um leite fermentado simbiótico, obteve 13,81% carboidrato total para bebida acrescida de FOS.

Segundo a resolução n °5 de 13 de novembro de 2000 (BRASIL 2000), as duas formulações se enquadram como desnatada por apresentarem teores de lipídeos entre 0 e 0,5%.

Quanto aos glicídios redutores em lactose e glicídios não redutores em sacarose houve diferença significativa entre as formulações, a formulação com FOS apresentou resultados superiores para ambos os glicídios. Jardim et al. (2012) ao desenvolver bebida láctea probiótica carbonatada encontraram valores de glicídios não redutores variando 7,41% a 7,83%, valores próximos aos entrados nesta pesquisa para a formulação sem adição de FOS.

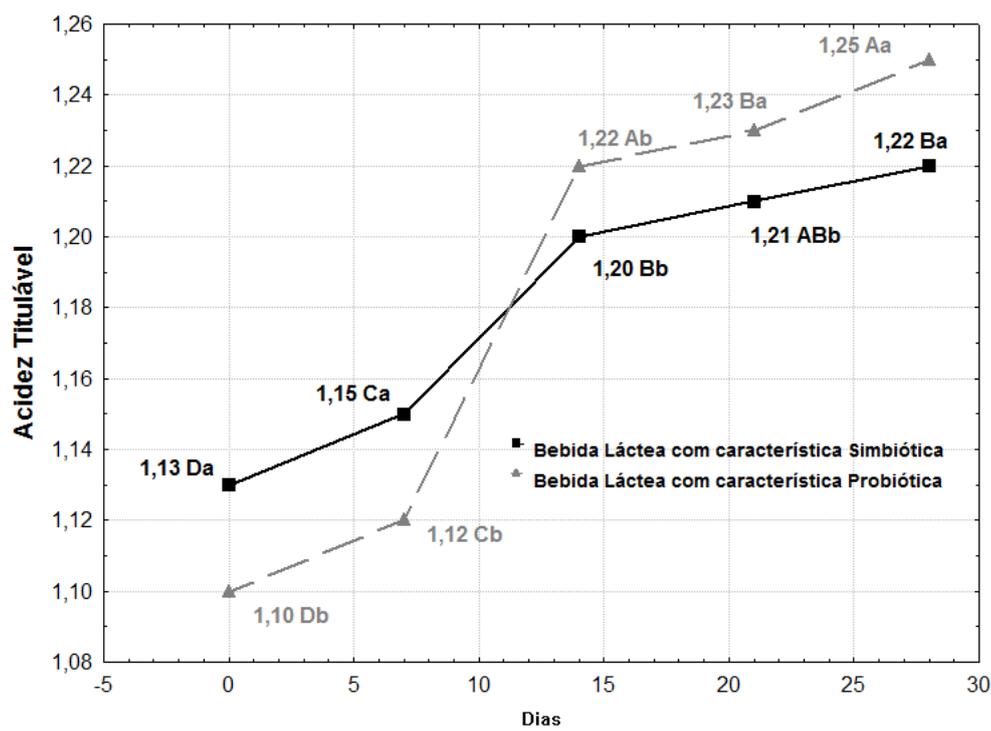
O Valor Calórico Total (VCT) houve diferença significativa entre as formulações, onde a formulação que contém o FOS 66,90 Kcal/g apresentou valor superior a formulação sem FOS 59,14 Kcal/g. Essa diferença pode ser atribuída ao FOS adicionado à formulação com maior valor calórico.

### 3.3. Estabilidade das bebidas durante a vida de prateleira

Um fator importante a ser considerado no armazenamento de produtos lácteos fermentados está associado a valores de pH e acidez titulável detectados ao longo do armazenamento, uma vez que valores muito baixos de pH ou muito elevados de acidez alteram características sensoriais do produto diminuindo sua aceitação.

Para o acompanhamento de vida de prateleira foram realizadas as análises de acidez, pH e bactérias lácticas ao longo de 28 dias após o processamento conforme as figuras que seguem (Figura 5 e 6).

**Figura 5** - Acidez Titulável de bebidas lácteas fermentadas sabor pitanga com característica simbiótica e com característica probiótica armazenada a 4°C.



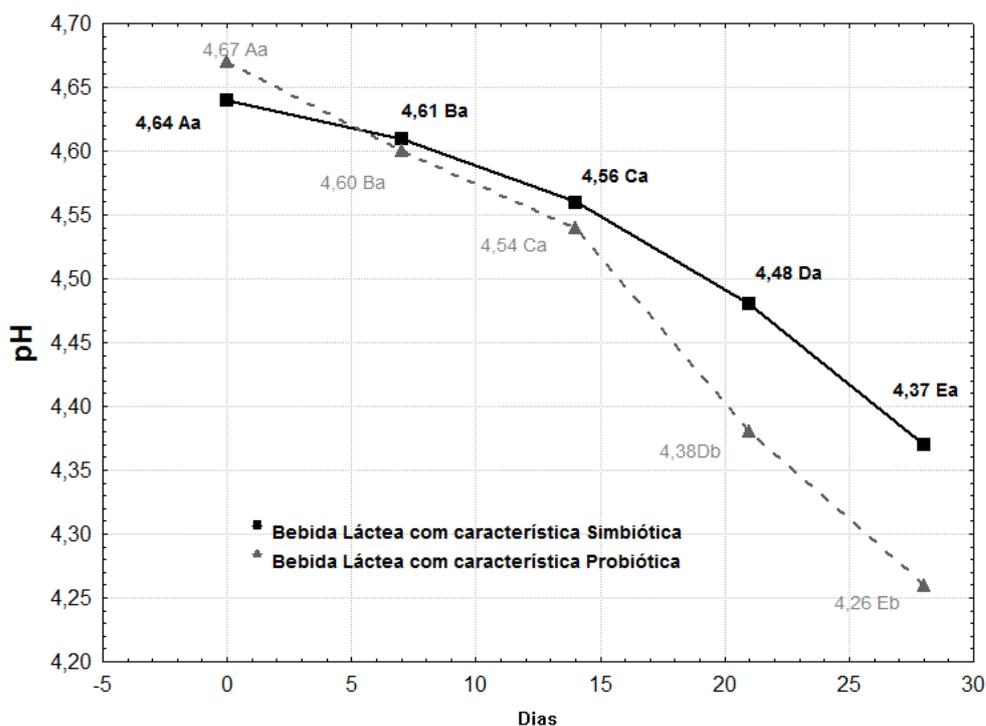
<sup>abc</sup> Médias seguidas de letras iguais no mesmo dia entre as bebidas, não diferem significativamente ao nível de 5% pelo teste "t" de student;  
<sup>ABC</sup> Médias seguidas de letras iguais na mesma bebida entre os dias não diferem significativamente ao nível de 5% pelo teste de Duncan.

Os valores de acidez das duas formulações demonstraram aumento durante o período avaliado. Houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre as formulações durante os 28 dias. A acidez da formulação com FOS variou de

1,13 a 1,22 e da formulação sem FOS de 1,10 a 1,25. Kempka et al. (2008) ao formular bebida láctea fermentada sabor pêssego utilizando substratos alternativos e cultura probiótica, encontraram valor de acidez titulável em ácido láctico variando de 0,3 a 0,9 %, valores estes inferiores ao encontrado nesta pesquisa.

Durante a estocagem refrigerada de bebidas lácteas, pode haver um pequeno aumento da acidez titulável. Estas mudanças na acidez do produto ocorrem, em maior ou menor grau, dependendo da temperatura de refrigeração, do tempo de armazenamento e do poder de pós-acidificação das culturas utilizadas (GURGEL E OLIVEIRA, 1995).

**Figura 6** - pH de bebidas lácteas fermentadas sabor pitanga com característica simbiótica e com característica probiótica armazenada a 4°C.



<sup>abc</sup> Médias seguidas de letras iguais no mesmo dia entre as bebidas, não diferem significativamente ao nível de 5% pelo teste "t" de student;  
<sup>ABC</sup> Médias seguidas de letras iguais na mesma bebida entre os dias não diferem significativamente ao nível de 5% pelo teste de Duncan.

A faixa ideal de acidez para produtos lácteos fermentados deve ser entre 0,7 a 0,9%, sendo que os valores mais comuns encontram-se na faixa entre 0,7 e 1,25% (SOUZA, 1991; SILVA et al., 2012).

Houve diminuição do pH ao longo do período analisado nas duas formulações, não houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre as formulações até 14 dias. O pH da formulação com FOS variou de 4,64 a 4,37 e da formulação sem FOS de 4,67 a 4,26. Santo et al. (2010), estudando a influência da adição de polpa de açaí na melhoria do perfil de ácidos graxos e vida de prateleira de iogurtes probióticos observaram que após 28 dias de armazenamento, o pH variou de 4,20 a 4,33, sendo esses valores próximos ao encontrado nesta pesquisa para a formulação com característica probiótica.

Segundo MARTIM (2002) valores de pH entre 4,6 e 3,7 normalmente são encontrados nos produtos, mas valores entre 4,4 e 4,0 são considerados mais próximos do ideal, uma vez que o produto nesta faixa de pH não se apresenta excessivamente amargo ou ácido.

As análises microbiológicas não revelaram contaminação por micro-organismos dos grupos de coliformes e *Escherichia coli*, demonstrando boa qualidade higiênica sanitária durante as etapas de processamento.

As contagens de bactérias lácteas ao longo de 28 dias de armazenamento refrigerado estão apresentadas nas Tabelas 4.

**Tabela 5.** Contagens de bactérias lácticas ( $\text{LOG}_{10}$  UFC/ml) de bebidas lácteas fermentadas sabor pitanga com característica simbiótica e com característica probiótica armazenada por 28 dias a 4°C.

Tempo (dias)	Bebida Láctea com característica	Bebida Láctea com característica
	Simbiótica	Probiótica
0	9,11	8,45
7	7,90	8,44
14	8,06	8,06
21	9,20	9,06
28	9,18	9,19

Quanto à verificação do número de células viáveis de bactérias lácticas verificou-se, em média, contagens entre 7,90 e 9,20  $\text{log}_{10}$  UFC/ml. De acordo

com a legislação de produtos funcionais, para que o produto seja considerado funcional, ele deve apresentar até o final do seu prazo de validade entre  $10^8$  e  $10^9$  UFC/ml na porção diária, o que equivale ao consumo de 100g de produto contendo entre  $10^6$  e  $10^7$  UFC/ml de microrganismos probióticos (BRASIL, 2002). Os resultados obtidos apresentaram-se em conformidade com a referida legislação.

A viabilidade de micro-organismos probióticos como *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium* spp. em produtos lácteos depende de uma série de fatores como a cepa da bactéria utilizada, utilização de culturas “starter”, interação entre espécies presentes, tempo de fermentação, condições de armazenamento, disponibilidade de nutrientes, pós-acidificação durante o armazenamento, dentre outras (KAILASAPATHY; HARMSTORF; PHILLIPS, 2008; VINDEROLA; BAILO; REINHEIMER, 2000; VINDEROLA et al., 2000).

Observou-se na formulação com característica simbiótica uma redução de 2 LOG entre os tempos 0 e 7 dias de armazenamento. Esta variação pode ter ocorrido devido a adição de FOS levando a um período de adaptação maior da cultura láctea. A formulação sem adição de FOS não apresentou variação nas contagens entre os tempos 0 e 7.

A partir do tempo 14, foi observado (Tabela 4) um aumento nas contagens de bactérias lácticas em ambas as formulações, chegando a contagens de  $9 \log_{10}$  UFC/ml quando completados os 28 dias de vida de prateleira. A acidez não interferiu na redução da viabilidade probiótica. Dessa forma, verifica-se que a adição de FOS não foi um fator diferencial para o aumento das contagens de bactérias lácticas na bebida simbiótica.

Pereira et al. (2009) ao elaborar um bebida probiótica fermentada de extrato hidrossolúvel de soja com sabor de frutas, encontrou contagens de bactérias lácticas durante 21 dias de armazenamento variando de  $7,41 \log_{10}$  a  $8,30 \log_{10}$  UFC/ml, resultado este inferior ao encontrado nesta pesquisa.

#### **4. CONCLUSÃO**

As bebidas com 20% de soro com características simbióticas (B1) e probióticas (B3) foram as preferidas sensorialmente quanto aos atributos sabor, aroma, consistência, avaliação global e intenção de compra.

Com relação às análises físico-químicas e microbiológicas, as formulações selecionadas apresentaram-se dentro dos padrões estabelecidos para bebida láctea fermentada demonstrando boa qualidade higiênico-sanitária. Durante o armazenamento houve decréscimo de pH e aumento da acidez, sem contudo interferir na contagem de bactérias lácteas que permaneceram em  $9 \log_{10}$ UFC/ml, se considerado 100mL do produto.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Alimentos. Comissões de Assessoramento técnico-científico em alimentos funcionais e novos alimentos. **Alimentos com alegações de propriedades funcionais e ou de saúde, novos alimentos/ingredientes, substâncias bioativas e probióticos**. Lista de alegações aprovadas em julho de 2008. Disponível em: [http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno\\_lista\\_alega.htm](http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno_lista_alega.htm). Acesso em: 20 nov. 2014.

ASHWELL, M. **Conceptos sobre Alimentos Funcionales**. ILSI Europe Concise Monograph Series, ILSI Press 2005.

AOAC. Association of Official Analytical Chemists. **Official methods of analysis of AOAC international**. 17 ed., Washington, 2002.

APHA. American Public Health Association. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4 ed., Washington, 2001. 676p.

BORGES V. C. Alimentos funcionais: prebióticos, probióticos, fitoquímicos e simbióticos. **Nutrição oral, enteral e parenteral na prática clínica**. 3. ed. São Paulo: Atheneu; 2000. p. 1495-50.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Instrução Normativa nº16, de 23 de agosto de 2005. **Aprova o regulamento técnico de identidade e qualidade de bebida láctea**. Brasília: Diário Oficial da República Federativa do Brasil / Poder Executivo, Seção 1, 24 ago./2005, p.7.

BURITI, F. C. A. **Desenvolvimento de queijo fresco cremoso simbiótico**. São Paulo: USP, 2005. 86p. Dissertação de mestrado em Tecnologia Bioquímica - Farmacêutica, Universidade de São Paulo, 2005.

CASTRO, I. A. et al. Sensory evaluation of a milk formulation supplemented with n. 3 polyunsaturated fatty acids and soluble fibres. **Food Chemistry**, v. 85, n. 4, p. 503-512, 2004.

CUNHA, T.M.; CASTRO, F.P.; BARRETO,P.L.M.; BENEDET, H.D.; PRUDÊNCIO, E.S. Avaliação físico-química, microbiológica e reológica de bebida láctea e leite fermentado adicionados de probióticos. **Ciências Agrárias**, Londrina, v.29, n.1, p. 103-116, 2008.

DELZENNE, N.M. Oligosaccharides: state of the art. **Proceedings of Nutrition Society**, v. 62, p. 177-182, 2003.

FAO/WHO. Food and Agricultural Organization of the United Nations / World Health Organization. **Health and Nutritional Properties of Probiotics in Food including Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria**. 2001. Disponível em: <[http://www.who.int/foodsafety/publications/fs\\_management/en/probiotics.pdf?ua=1](http://www.who.int/foodsafety/publications/fs_management/en/probiotics.pdf?ua=1)>Acesso em: 20/11/2014.

FERREIRA, C. L. L. F. Grupo de Bactérias Lácticas e Aplicação Tecnológica de Bactérias Probióticas. In: **Prebióticos e Probióticos – Atualização e Prospecção**. Rio de Janeiro: Editora Rubio, 2012. 226p.

GALLINA, D. A.; ANTUNES, A. E. C.; AZUMBUJA-FERREIRA, N. C.; MENDONÇA, J. B.; NORBONA, R. A. Caracterização de bebida obtida a partir de leite fermentado simbiótico adicionado de polpa de goiaba e avaliação da viabilidade das bifidobactérias. **Revista Inst. Latic. Cândido Tostes**, n.386, p. 45-54, 2012.

GARCIA, F. R. C. **Avaliação do desempenho de um reator anaeróbio compartimentado no tratamento de soro de queijo**. São José do Rio Preto: UEP, 2009. 103p. Dissertação de mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos, Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho, 2009.

GRANATO, D.; BRANCO, G. F.; NAZZARO, F.; CRUZ, A. G.; FARIA, J. A. F. functional foods and nondairy probiotic food development: trends,

concepts and products. **Comprehensive Reviews in food Science and Food Safety**, v. 9, n. 3, p. 291-302, 2010.

GURGEL, M. S. C. C. A., OLIVEIRA, A. J. Avaliação das características físico-químicas do iogurte. **Leite & Derivados**, São Paulo, v. 4, n. 22, p. 38-43, 1995.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz. **Métodos Químicos e Físicos para análise de Alimentos**. 3 ed. São Paulo, 1985.

JARDIM, F. B. B.; SANTOS, E. N. F.; ROSSI, D. A.; MELO, R. T.; MIGUEL, D. P.; ROSSI, E. A.; SYLOS, C. M. Desenvolvimento de bebida láctea potencialmente probiótica carbonatada: características físico-químicas, microbiológica e sensoriais. **Alimentos e Nutrição**, v. 23, n. 2, p. 275 – 286, 2012.

KAILASAPATHY, K.; HARMSTORF, I.; PHILLIPS, M. Survival of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium animalis* ssp. *Lactis* in stirred fruit yogurts. **Food Science and Technology**, London, v.48, p.137 – 1322,2008.

KEMPKA, A. P.; KRÜGER, R. L.; VALDUGA, E.; LUCCIO, M. D.; TREICHEL, H.; CANSIAN, R.; OLIVEIRA, D. Formulação de bebida láctea fermentada sabor pêssego utilizando substratos alternativos e cultura probiótica. **Ciência Tecnol. Alimentos**, Campinas, v.28, p. 170 – 177, 2008.

MAGALHÃES, K.T. Comparative study of the biochemical changes and volatile compound formations during the production of novel whey-based kefir beverages and traditional milk kefir. **Food Chemistry**, v.126, p.249-253, 2011.

MALAN, F. S.; MORAES L. A. B.; WEST, C.; FERREIRA, N. J.; OLIVEIRA, A. L. Supercritical fluid extracts from the Brazilian cherry (*Eugenia uniflora* L.): Relationship between the extracted compounds and the characteristic flavour intensity of the fruit. **Food Chemistry**, v. 124, n. 1, p. 85-92, 2011.

MARTIN, A. F. **Armazenamento do iogurte comercial e o efeito na proporção das bactérias lácticas**. 2002. 50f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Escola Superior de Agricultura “Luis de Queiros” – Universidade de São Paulo, Piracicaba – São Paulo, 2002. Disponível em: <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/11/11141/tde-16072002-150013/publico/adriana.pdf>

MINIM, V. P. R. **Análise Sensorial: estudo com consumidores**. Viçosa, MG: Ed. UFV, 2006. 225 p.

MORAES, F. P.; COLLA, L. M. Alimentos funcionais e nutracêuticos: definições, legislação e benefícios à saúde. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 3, n. 2, p. 109- 122, 2006.

OLIVEIRA, V.M. **Formulação de bebida láctea fermentada com diferentes concentrações de soro de queijo, enriquecida com ferro: caracterização físico química, análises bacteriológicas e sensoriais**. 2006. 78f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Curso de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal Fluminense, RJ.

PEREIRA, M. O.; BAMPI, M.; RODRIGUES, F. T.; SANTA, O. R. D.; RIGO, M. Elaboração de uma bebida probiótica fermentada a partir de extrato hidrossolúvel de soja com sabor de frutas. **Ambiência - Revista do Setor de Ciências Agrárias e Ambientais**, v. 5, n. 3 ,p. 475-487, 2009.

SANTO, A. P. E.; SILVA, R. C.; SOARES, F. A. S. M., ANJOS, D.; GIOIELLI, L. A. ; OLIVEIRA, M. N. Açai pulp addition improves fatty acid profile and probiotic viability in yoghurt. **International Dairy Journal**, v. 20, p. 415 – 422, 2010.

SILVA, S. M. Pitanga. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 28, n.1, 2006.

SILVA, L. C.; MACHADO, T. B.; SILVEIRA, M. L.R.; ROSA, C. S.; BERTAGNOLLI, S. M. M. Aspectos microbiológicos, pH e acidez de iogurtes de produção caseira comparados aos industrializados da região de Santa Maria – RS. **Disc. Scientia. Série: Ciências da Saúde**, Santa Maria, v.13, n.1, p. 111-120, 2012.

SIRÓ, I.; KAPOLNA, E.; KAPOLNA, B.; LUGASI, A. Functional food. Product development, marketing and consumer acceptance. A review. **Appetite**, v. 51, n. 3, p. 56-67, 2008.

SOUZA, G. Fatores de qualidade de iogurte. **Coletânea do ITAL**, v. 21, n.1, p. 20-27, 1991.

STEFE, C. A.; ALVES, M. A. R.; RIBEIRO, R. L. Probióticos, prebióticos e simbióticos – artigo de revisão. **Saúde e Ambiente em Revista**, v. 3, n. 1, p. 16-33, 2008.

THAMER, K.G; PENNA, A.L.B. Caracterização de bebidas lácteas funcionais fermentadas por probióticos e acrescidas de prebiótico. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.26, n.3, p.589-595, 2006.

VINDEROLA, C. G. et al. Viability of probiotic (Bifidobacterium, Lactobacillus acidophilus and Lactobacillus casei) and non probiotic microflora in Argentinian fresco cheese. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 83, n.9, p. 1905- 1911, 2000.

VINDEROLA, C. G.; BAILO, N.; REINHEIMER, J. A.; Survival of probiotic in Argentina yogurts during refrigerate storage. **Food Research Internacional, Barking**, v. 33, p. 97 – 102, 2000.

## 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

- As formulações B1 e B3, com característica simbiótica e com característica probiótica, respectivamente, foram selecionadas por terem apresentado maiores índices de aceitabilidade e maiores médias quanto aos atributos sabor, aroma, consistência, avaliação global e intenção de compra;
- A composição centesimal das formulações selecionadas apresentou resultados em conformidade com a legislação brasileira;
- Os parâmetros microbiológicos de qualidade higiênico-sanitária foram atendidos satisfatoriamente;
- A viabilidade de bactérias do ácido láctico atendeu a exigência de contagem mínima de  $10^8$  UFC/ porção diária se considerado 100 ml do produto.

## ANEXO

Anexo 1- Ficha para análise sensorial de índice de aceitabilidade, intenção de compra e frequência de consumo de bebida láctea sabor pitanga

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO DEPARTAMENTO  
DE CIÊNCIAS DOMÉSTICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE  
ALIMENTOS**

Nome: \_\_\_\_\_ Idade: \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_  
Escolaridade: \_\_\_\_\_  
Email: \_\_\_\_\_ Fone/Celular: \_\_\_\_\_

### Teste de aceitação e intenção de compra de BEBIDA LÁCTEA FERMENTADA SABOR PITANGA

Você está recebendo 4 amostras diferentes codificadas de Bebida láctea sabor pitanga. Prove-as e escreva o valor da escala hedônica abaixo de 9 pontos que você considera correspondente à cada atributo da amostra, responda abaixo também as questões que seguem. Antes de cada avaliação, você deverá fazer uso da água e da bolacha para limpeza do palato.

- 9 – gostei extremamente
- 8 – gostei moderadamente
- 7 – gostei regularmente
- 6 – gostei ligeiramente
- 5 – nem gostei/nem desgostei
- 4 – desgostei ligeiramente
- 3 – desgostei regularmente
- 2 – desgostei moderadamente
- 1 – desgostei extremamente

Código da amostra	240	397	561	826
Cor				
Sabor				
Aroma				
Consistência				
Qualidade global				

**1) Qual é a sua frequência de consumo de produtos lácteos fermentados, como a bebida láctea?**

( ) menos de uma vez por semana      ( ) mais de uma vez por semana

**2) Você conhece os benefícios para a saúde associados com produtos lácteos fermentados?** ( ) Sim ( ) Não

Agora para as mesmas amostras analise em relação à intenção de compra, prove-as e escreva o valor da escala abaixo de 5 pontos que você considera correspondente à cada atributo da amostra codificada correspondente.

- 5 – Certamente compraria
- 4 – Talvez compraria
- 3 – Talvez compraria, talvez não compraria
- 2 – Talvez não compraria
- 1 – Jamais compraria

Amostra **240** (\_\_\_\_)  
Amostra **397** (\_\_\_\_)  
Amostra **561** (\_\_\_\_)  
Amostra **826** (\_\_\_\_)