



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA**

**CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS**

**DEPARTAMENTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DOS ALIMENTOS**

**WILLIAM ARTHUR PHILIP LOUIS NAIDOO TERROSO DE MENDONÇA BRANDÃO**

**ELABORAÇÃO DE UMA BEBIDA FERMENTADA SIMBIÓTICA DE SORO LÁCTEO**

**FLORIANÓPOLIS-SC  
2007**

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

**WILLIAM ARTHUR PHILIP LOUIS NAIDOO TERROSO DE MENDONÇA BRANDÃO**

**ELABORAÇÃO DE UMA BEBIDA FERMENTADA SIMBIÓTICA DE SORO LÁCTEO**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciências dos Alimentos do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Santa Catarina, como requisito final à obtenção do título de Mestre em Ciência dos Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Honório Domingos Benedet.

**FLORIANÓPOLIS-SC**  
**2007**

# **ELABORAÇÃO DE UMA BEBIDA FERMENTADA SIMBIÓTICA DE SORO LÁCTEO**

**WILLIAM ARTHUR PHILIP LOUIS NAIDOO TERROSO DE MENDONÇA BRANDÃO**

Dissertação aprovada como requisito final para a obtenção do título de Mestre no Programa de Pós-graduação em Ciência dos Alimentos do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Santa Catarina, pela Comissão formada por:

---

Prof. Dr. Honório Domingos Benedet

---

Prof<sup>a</sup>. Dra. Evanilda Teixeira

---

Prof<sup>a</sup>. Dra. Marly Sayuri Katsuda

---

Prof<sup>a</sup>. Dra. Elane Schwinden Prudêncio

Florianópolis, 21 de novembro de 2007.

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, pela oportunidade da vida;

Aos meus pais, Carlos Filipi e Saraspathy, pelo grande amor, apoio e dedicação ao longo dos anos, pela luta recente a favor da minha melhora, e por não me deixar desacreditar, pois sempre há uma solução quando achamos que não há possibilidades;

Ao meu irmão Henry, pela dedicação;

A minha esposa, Diviane, e minha filha, Tainah, pela dedicação e incentivo para a conclusão deste;

Ao meu orientador, Prof. Dr. Honório Domingos Benedet, pela amizade, constante orientação e correção desta dissertação e pelo empenho dedicado a conclusão deste trabalho;

Aos ortopedistas, Dr. Marcelo Toshiyuki Tanaka, Dr. Marcio Ryo Izuka e Walter Hamilton de Castro Targa, e ao neurocirurgião Aramis Pedro Teixeira pelo excelente trabalho que desempenharam para a minha melhora;

Ao Corpo de Bombeiros de Foz do Iguaçu, pela dedicação e por fazerem todo o possível pelo meu socorro;

Ao meu amigo, Prof. Dr. Carlos Alberto Mucelin, pelo carinho, sinceridade e incentivo constantes;

Ao meu padrinho, Cláudio Vieira de Souza, e família, pelo apoio, carinho e incentivo;

Ao Sérgio, professores e demais funcionários do Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos – UFSC.

## RESUMO

Elaborou-se bebida com soro de leite a 7% de extrato seco total e açúcar (5% p/v) fermentada por *Lactobacillus acidophilus* variando-se a quantidade de inóculo utilizada (1% e 2%) e de fibra prebiótica (0%, 2% e 4%) num total de 6 tratamentos. No final da fermentação adicionou-se polpa de salada de frutas (10% p/v) e determinou-se a acidez em ácido láctico (°Dornic), pH, umidade, gordura, resíduo mineral fixo, proteína, lactose e contagem de microrganismos probióticos nos tempos 0,7,14,21 e 28 dias de estocagem a 6°C. Os diferentes percentuais de inóculo e inulina utilizados nos 6 tratamentos, podem ser a causa da diferença significativa (p-valor<0,05) ocorrida entre os mesmos quanto aos valores de pH. Com relação ao percentual de umidade, houve diferença significativa somente entre os tratamentos com quantidades diferentes de fibra prebiótica. A quantidade de gordura apresentou diferença significativa apenas nos tratamentos em que não foi utilizada a fibra prebiótica. Já, com relação aos carboidratos totais nos tratamentos 1 e 4, em que esta não foi utilizada, não houve diferença significativa. Por outro lado, os valores de resíduo mineral fixo e extrato seco total foram significativamente diferentes quando ocorreu o aumento do percentual de fibra prebiótica, pois alteraram a quantidade de sólidos totais dos tratamentos. O resultado da análise microbiológica de qualidade da bebida fermentada resultante dos diversos tratamentos demonstrou que a mesma segue os limites preconizados pela legislação vigente de leites fermentados ou cultivados. Os seis tratamentos apresentaram diferença significativa entre si quanto à contagem de *Lactobacillus acidophilus* que inicialmente foi de 10,160 log UFC/mL a 10,700 log UFC/mL. Dentre as duas variáveis utilizadas (inóculo e inulina) para diferir os seis tratamentos; quando a quantidade de inóculo foi maior ocorreu crescimento significativamente maior do microrganismo probiótico. Após 28 dias, a contagem de *Lactobacillus acidophilus* nos seis tratamentos decresceu (7,330 log a 8,493 log UFC/mL), porém permaneceu superior a contagem mínima de 7 log UFC/mL. Com exceção do Tratamento 6, todos os ensaios apresentaram índice superior a 70% de aceitabilidade para os atributos de cor, sabor, aroma e consistência. Embora as bebidas resultantes dos seis Tratamentos tenham apresentado ótimos resultados físico-químicos, sensoriais e microbiológicos, a obtida do Tratamento hum foi a que apresentou os melhores requisitos para ser produzida em escala industrial.

**Palavras-chave:** Leite Fermentado, Soro de Leite, Probióticos, *Lactobacillus acidophilus*.

## ABSTRACT

The development of a fermented drink occurred diversifying the quantities of *Lactobacillus acidophilus* inoculum (1% and 2%) and prebiotic fiber (0%, 2% e 4%), using 7% of total dry extract of whey and 5% p/v of saccharose, completing 6 Treatments. After the fermentation, 10% p/v of fruit salad pulp was added and the acidity through lactic acid (°Dornic), pH, humidity, fat content, ashes content, protein content, lactose content and probiotic cell counting were determined at 6 °C of storage during the period of 0,7,14,21 and 28 days. Possibly the different percents of inoculum and inulin (prebiotic fiber) were responsible for the significant differences which occurred among the 6 Treatments (p-value<0,05) considering the pH data. The humidity percent demonstrated significant differences only between the samples with different amounts of prebiotic fiber. Therefore the fat content presented significant differences between the samples which were and not were added with inulin. The Treatments 01 and 04 which were not added with inulin, showed up no significant differences for total carbohydrates. It was observed that when the quantity of prebiotic fiber was high, significant differences between the values for ashes content and total dry extract occurred cause they altered the quantity of total solids of all the Treatments. The 6 Treatments demonstrated significant differences considering the *Lactobacillus acidophilus* counting, which initially were 10,700 log UFC/mL to 10,160 log UFC/mL. Between both the variables (inoculum and inulin) utilized to differentiate the 6 Treatments, it was observed that when the quantity of inoculum increased, the growth of the probiotic microorganism also was significantly higher. After 28 days the *Lactobacillus acidophilus* counting in the 6 Treatments decreased (7,330 log a 8,493 log UFC/mL), therefore they were above the minimum counting of 7 log UFC/mL. All the samples demonstrated 70% of acceptability for the attributes of colour, flavor, aroma and consistency, with the exception of the Treatment 06. The acceptability test, physicochemical and microbiological results of the 6 Treatments were good, but the lacteal drink resultant from the Treatment one pointed up the best requisites to be produced in an industrial plant dimension.

Key words: Fermented milk, Whey, Probiotics, *Lactobacillus acidophilus*.

## LISTA DE QUADROS

QUADRO 1. Principais bactérias probióticas e seus produtos de metabolismo.....	23
QUADRO 2. Funcionalidades de bactérias probióticas avaliadas na espécie humana.....	25
QUADRO 3. Valores referentes à acidez e pH durante a fermentação.....	43
QUADRO 4. Valores referentes à acidez e pH durante a estocagem.....	44
QUADRO 5. Valores referentes às determinações físico-químicas das bebidas fermentadas saborizadas obtidas dos diversos tratamentos.....	46
QUADRO 6. Resultado dos atributos de cor, sabor, aroma e consistência.....	53



## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. Estrutura química da inulina.....	32
FIGURA 2. Contagem de <i>Lactobacillus acidophilus</i> nos 6 tratamentos durante a estocagem.....	51
FIGURA 3. Resultado referente à aceitabilidade dos tratamentos.....	54

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1. Constituintes do soro de leite em pó.....	18
TABELA 2. Resultado das determinações físico-químicas do soro de leite reconstituído a 7% de extrato seco total.....	41
TABELA 3. Resultados das análises microbiológicas da qualidade da bebida fermentada saborizada.....	48
TABELA 4. Contagem microbiológica de <i>Lactobacillus acidophilus</i> durante a estocagem à temperatura de 6°C.....	49

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	11
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	13
2.1 Geral.....	13
2.2 Específicos.....	13
<b>3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	14
3.1 Alimentos funcionais.....	14
3.2 Soro de leite.....	16
3.2.1 Proteínas do soro.....	19
3.3 Probióticos.....	21
3.3.1 Bifidobactérias.....	26
3.3.2 Lactobacilos.....	27
3.4 Prebióticos.....	29
3.4.1 Inulina.....	31
3.5 Análise sensorial.....	32
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	35
4.1 Material.....	35
4.2 Métodos.....	35
4.2.1 Elaboração da bebida fermentada.....	35
4.2.2 Delineamento estatístico.....	37
4.2.3 Análises físico-químicas.....	37
4.2.4 Análise microbiológica.....	38
4.2.5 Análise sensorial.....	39
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	41
5.1 Análise físico-química.....	41
5.1.1 Composição centesimal do soro de leite reconstituído.....	41
5.1.2 Evolução dos parâmetros de acidez e pH durante a fermentação.....	42
5.1.3 Evolução dos parâmetros de acidez e pH durante a estocagem do produto final.....	44
5.1.4 Resultado das análises físico-químicas dos tratamentos de soro de leite fermentado saborizado.....	46

<b>5.2</b>	Análises microbiológicas.....	48
<b>5.2.1</b>	Análise da qualidade microbiológica .....	48
<b>5.2.2</b>	Contagem de microrganismos probióticos.....	49
<b>5.2.3</b>	Confirmação bioquímica do microrganismo probiótico.....	52
<b>5.3</b>	Análise sensorial.....	52
<b>5.3.1</b>	Teste de Escala Hedônica de nove pontos.....	52
<b>5.3.2</b>	Índice de aceitabilidade das amostras.....	53
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	56
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	57
ANEXO A-	Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Santa Catarina.....	67
ANEXO B-	Fotos referentes à contagem de <i>Lactobacillus Acidophilus</i> no primeiro dia de armazenamento dos seis tratamentos em estudo.....	68
ANEXO C-	Ficha de Avaliação do Teste de Aceitação - Escala Hedônica.....	69

## 1.INTRODUÇÃO

A cadeia agro-industrial de leite no Brasil é considerada uma das mais importantes, pois o segmento da indústria nacional é amplo e diversificado, estando presente empresas de laticínios de vários portes, desde pequenas fábricas que captam um reduzido volume de leite, até as multinacionais e cooperativas centrais, que processam centenas de milhares de litros (MACHADO; FREIRE; SILVA, 2000).

Em 1999, o estado do Paraná utilizava 4,8 % do soro na produção de bebida láctea, e 19,6% para produção de soro de leite em pó, o que correspondia a 24,4 %, restando ainda 198,4 milhões de litros que não eram aproveitados para a produção alimentícia (SCHERNER, 2003).

Entretanto, considerando-se o grande número de empresas que lançam seus efluentes sem nenhum tipo de tratamento nos cursos d'água, a contribuição destas indústrias em termos de poluição hídrica é bastante significativa. O problema agrava-se quando consideramos que a maioria destas empresas não possui funcionários treinados para lidar com as mudanças necessárias à implementação de tecnologias limpas e com a operação de sistemas de tratamento de efluentes (MACHADO; FREIRE; SILVA, 2000). O custo para transportar este produto que contém 94 % de água para ração animal torna-se inviável (VIEIRA,1999), além da sua sensibilidade à fermentação e ao limite de consumo de cada animal (NEVES,1993). Quando descartado, provoca uma poluição ambiental de elevada significância por ser um resíduo com alta concentração de matéria orgânica, o que provoca uma rápida alteração pelos microrganismos, possuindo uma elevada Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO),

variando de 30.000 mg/ L a 60.000 mg/ L (SIQUEIRA et al., 2002). O Brasil produz 3,5 milhões de toneladas de soro de queijo por ano (MACIEL et al., 2003), alcançando cerca de 120 milhões de toneladas/ano no cenário mundial (FONTAN et al., 2003).

Os consumidores estão cada vez mais preocupados com a saúde e qualidade de vida e em busca de soluções para restabelecerem o bem-estar físico e mental, entendendo que a dieta esteja diretamente ligada a essa intenção ( PASSOS e PARK, 2003).

Os alimentos prebióticos são alguns tipos de fibras alimentares, ou seja, carboidratos não digeríveis, que possuem uma configuração molecular que os torna resistentes à ação de enzima. Exemplos de prebióticos eficientes e comercialmente disponíveis são: frutooligossacarídeos (FOS), inulina e galactooligossacarídeos (TUOHY et al., 2003; FUCHS et al., 2005; HAULY; FUCHS ; FERREIRA, 2005).

Segundo Coppola (2004), atualmente probiótico é definido como sendo suplemento alimentar microbiano vivo, que afeta de forma benéfica seu receptor, através da melhoria do balanço da microbiota intestinal'. O conceito de simbióticos resulta da combinação de probióticos e prebióticos (RASTALL; MAITIN, 2002; TUOHY et al., 2003; HOLZAPFEL e SCHILLENGER, 2002).)

Diante deste contexto o objetivo do presente trabalho foi desenvolver uma bebida fermentada simbiótica, visando atender às expectativas de consumidores quanto à saúde, nutrição e funcionalidade bem como o aproveitamento industrial do soro evitando o seu descarte inadequado no meio ambiente.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 Geral**

Elaborar e avaliar uma bebida de soro de leite e inulina, fermentada por *Lactobacillus acidophilus*.

### **2.2 Específicos**

Elaborar bebida fermentada por *Lactobacillus acidophilus* a partir de soro de leite e inulina e, avaliar durante o armazenamento, a influência destas duas variáveis sobre os parâmetros de acidez, pH e a sobrevivência do microrganismo probiótico em estudo;

Avaliar os aspectos físico-químicos e a aceitabilidade da bebida elaborada.

### **3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

#### **3.1 Alimentos funcionais**

O termo “alimentos funcionais” foi inicialmente definido no Japão, em meados da década de 80, como alimentos similares em aparência aos alimentos convencionais, usados como parte de uma dieta normal, e que demonstram benefícios fisiológicos e/ou reduzem o risco de doenças crônicas, além de suas funções básicas nutricionais. O consumo regular de alimentos funcionais pode, potencialmente, reduzir as chances de ocorrência de certos cânceres, doenças do coração, osteoporose, problemas intestinais e muitos outros problemas de saúde (BRANDÃO, 2002).

O caráter funcional pode ser atribuído a uma qualidade inerente à matéria-prima ou uma característica implementada através de tecnologias de processamento inovadoras ou a adição de ingredientes promotores da saúde como os probióticos à matriz alimentar, sendo que as indústrias estão se esforçando para ofertar novos produtos com este foco ao mercado consumidor emergente (BISTROM e NORDSTROM, 2002).

Segundo Kimura (2002) os alimentos funcionais constituem a prioridade de pesquisa em todo o mundo, com a finalidade de elucidar as propriedades e demonstrar os efeitos benéficos destes produtos na promoção da saúde e do bem-estar. Os consumidores da moderna indústria de alimentos e bebidas não mais se satisfazem com produtos cuja única função seja atender as necessidades básicas de sobrevivência e passam cada vez mais a buscar alimentos com valor agregado (GALVÃO, 2002).



O avanço tecnológico no setor de produtos alimentícios industrializados, bem como o acesso a novos conhecimentos científicos, tem promovido mudanças nos conceitos de nutrição. Os alimentos, antes consumidos apenas para sobrevivência humana, passaram a ser consumidos em virtude da qualidade. Atualmente, os alimentos funcionais vêm conquistando mercado pelos seus efeitos benéficos para a saúde humana e pela possibilidade de atender adequadamente o binômio “alimentação-saúde”. Quando ingeridos devem exercer no organismo uma função específica, que permita a regulação de algum processo corporal concreto como: aumento dos mecanismos biológicos de defesa; controle das condições físicas e mentais e retardo dos processos de envelhecimento (SOUZA; MAIA, 2003; MENRAD, 2003).

Historicamente, o estado nutricional de populações que vivem em países desenvolvidos é afetado por hábitos inadequados, como o consumo excessivo de gorduras, principalmente saturadas, elevada ingestão de açúcares e diminuição considerável do consumo de amido, fibras, vitaminas e sais minerais, que podem ser causadores da elevada incidência de doenças crônico-degenerativas nesses países (DE ANGELIS, 2002). Os alimentos funcionais são semelhantes em aparência aos convencionais, consumidos como parte da dieta usual, capazes de produzir efeitos metabólicos e/ou fisiológicos úteis pra a manutenção de uma boa saúde física e mental, podendo auxiliar na redução do perigo destas doenças crônico-degenerativas (PORTUGAL et al., 2001).

Os alimentos funcionais movimentam anualmente cerca de US\$ 230 bilhões no mercado mundial, com um crescimento estimado de 15%-20% ao ano. (PORTUGAL et al., 2001).

O mercado internacional de alimentos funcionais movimentou cerca de 27,8 bilhões de US\$ em 1998; 31,6 bilhões em 1999. Só nos EUA o mercado de alimentos funcionais foi de cerca de 17 bilhões em 2001 (BRANDÃO, 2002). O mercado global de Alimentos Funcionais está estimado em US\$ 33 bilhões, representando uma forte tendência no mercado (MENRAD, 2003).

As indústrias lácteas apresentam grande possibilidade de crescimento neste mercado, especialmente no segmento de leites fermentados, com o uso de culturas probióticas e de substâncias funcionais (PORTUGAL et al., 2001).

Produtos contendo probióticos constituem um significativo grupo do setor de alimentos funcionais. Infelizmente as bactérias probióticas desenvolvem-se fracamente no leite e são necessários meios de estimular o seu crescimento numa perspectiva de obtenção de produtos lácteos probióticos (GAUDREAU; CHAMPAGNE; JELEN, 2005).

### **3.2 Soro de leite**

O soro de leite é um subproduto de indústrias lácteas, sendo um líquido de cor amarela, que se separa da coalhada durante a fabricação de queijos. Representa cerca de 90% do peso do leite. O “soro doce” contém cerca de 6,4 % de extrato seco, isto é, representa a metade da matéria seca do leite, 4,8 % de lactose, 0,73 % de proteínas, 0,05 % de gordura, 0,5 % de minerais, 0,05 % de ácido láctico e densidade de 1,024 g/L à 15°C. Para o “soro ácido”, tem-se: 6,5 % de extrato seco, 4,9 % de lactose, 0,73 % de proteínas, 0,04 % de gordura, 0,8 % de minerais, 0,40 % de ácido láctico e densidade de

1,028 g/L à 15°C. O soro é um alimento importante que durante muito tempo foi considerado resíduo de indústrias sem nenhuma utilidade e descartado inadequadamente no meio ambiente (SCOTT, 1991; RANHOTRA et al., 1997).

Quando este é processado, pode-se produzir soro em pó, ricota, bebida láctea, concentrado protéico, entre outros (BRANDÃO, 1994). Siqueira et al., (2002) cita ainda a produção de proteínas do soro, queijo, lactose, ácido lático, álcool e vinagre.

Os fabricantes empregam uma série de técnicas diferentes incluindo ultrafiltração, cristalização, precipitação, osmose reversa e outros métodos de separação física para criar produtos do soro de acordo com especificações precisas fornecidas pelo usuário final (MING, 2002).

O soro de leite em pó contém em média de 12 a 14% de proteínas, 60 a 75 % de lactose, minerais de 1 a 22 % e gordura entre 1,0 a 1,5%. Devido a sua composição (TABELA 1), este é muitas vezes utilizado para substituir os sólidos do leite (SCHERNER, 2003).

O soro é um ingrediente nutritivo, portanto indicado para dietas incompletas e inadequadas. Contém aminoácidos essenciais que são facilmente digeridos, sendo também rico em vitaminas como tiamina, riboflavina, ácido pantotênico, e vitaminas B<sub>6</sub> e B<sub>12</sub> (FERREIRA, 1999).

Segundo Hugunin (1999), quando se utiliza soro em pó desmineralizado ou concentrado protéico de soro em iogurte, obtém-se um produto de excelente sabor, sendo que a concentração de ácido lático, acetaldeído e diacetil, que são compostos associados ao *flavor* característico do iogurte, é igual ou mais alta em amostras de iogurte no qual se utilizou concentrado protéico de soro para substituir parcialmente os sólidos de leite desnatado. Ming (2002) ressalta que em produtos como pudins e

iogurtes, as propriedades de retenção de água ajudam a produzir uma textura mais viscosa e a controlar a separação de fases, o que é comprovado quando compara-se o iogurte adicionado de concentrado protéico de soro (que apresenta menor sinerése) com o produzido com o leite em pó desnatado.

**Tabela 1:** Constituintes do soro de leite em pó.

<b>Componente</b>	<b>Soro doce em pó</b>	<b>Soro com teor reduzido de lactose</b>	<b>Soro em pó desmineralizado</b>
Lactose (g)	73	56	80
Proteína (g)	12	23	13
Lipídios (g)	1	2	2
Minerais (g)	8	15	1.2
Umidade (g)	4.5	4.5	3.8
Calorias (Kcal)	384	329	381
Colesterol (mg)	22	57	31
Cálcio (mg)	594	352	80
Ferro (mg)	0.6	-	-
Sódio (mg)	876	2.495	24
Fósforo (g)	810	1.150	180
Potássio (mg)	2.118	4.400	-
Riboflavina(mg)	2.2	-	-
Vitamina A (IU)	64	40	20
Vitamina C (mg)	3	-	-

**Fonte: DALLAS (1999)**

Na produção de sorvetes, é possível substituir de 15 a 20 % de sólidos de leite desnatado por soro, sendo que se o mesmo for desmineralizado, o grau de substituição pode aumentar para 30 a 40 %. Por ter a habilidade de reter e ressaltar sabores e cores, o soro de queijo é utilizado em uma variedade de chocolates, bombons e coberturas. Já sua propriedade de emulsificação auxilia na estabilização de cremes e espumas tais como o merengue e recheios cremosos a base de leite (DALLAS,1999; SIQUEIRA et al., 2002).

Nos Estados Unidos as indústrias de processamento de queijo adicionam os sólidos do soro de leite em suas formulações de queijos processados. Os níveis permitidos para adição podem ser limitados, devido à cristalização da lactose, mudanças na textura e escurecimento durante a cocção. Os minerais, as proteínas do soro e o soro de leite deslactosado podem realçar o sabor do queijo, bem como de algumas carnes e embutidos. Em produtos de panificação o soro doce tem substituído em grande escala o leite em pó desnatado na maioria das formulações (MING, 2002).

A fermentação do soro, dependendo dos microrganismos utilizados, pode produzir diversos componentes diferentes, sendo que dentre as substancias possíveis encontram-se a proteína “single-cell”, o ácido láctico, o álcool etílico, a riboflavina (vitamina B2), metano, lactase, bebidas lácteas fermentadas, entre outros ( BRANDÃO, 1994).

### **3.2.1 Proteínas do Soro**

A  $\beta$ -lactoglobulina representa aproximadamente 50 % do teor total de proteína de soro de leite bovino. Esta proteína liga-se ao cálcio e zinco e sua seqüência apresenta homologia seqüencial parcial com determinadas proteínas capazes de ligar retinol. A cadeia de  $\beta$ -lactoglobulina possui vários pontos de ligação para minerais, vitaminas lipossolúveis e lipídios. Estes pontos de ligação podem ser usados para incorporar compostos lipofílicos desejáveis, como tocoferol e vitamina A em produtos com baixo teor de gordura (MING, 2002).

A albumina sérica e as imunoglobulinas são consideradas proteínas menores ou secundárias por estarem presentes em quantidade muito pequena. Essas proteínas reforçam a imunidade passiva de crianças e outros consumidores (MING, 2002).

A lactoferrina e a lactoperoxidase são duas outras proteínas do soro. A lactoferrina é uma proteína capaz de ligar e transportar ferro e promove a absorção do ferro, sem provocar constipação em crianças pequenas, como ocorre com os suplementos inorgânicos de ferro, ela ainda tem efeito antioxidante, fortalece o sistema imunológico e efeitos anticancerígenos. A lactoferrina também é uma substância imunomoduladora e é o principal fator da resistência a doenças não específicas das glândulas mamárias. Mais importante ainda, é que depois que a lactoferrina libera o ferro deixa-o disponível para ser absorvido pelo organismo, e a proteína pode passar a ligar o ferro livre presente no trato digestivo. Esta capacidade de ligar o ferro inibe o desenvolvimento da microbióta indesejável e promove a atividade da microbióta desejável no trato intestinal mediante a inibição de enterobactérias patogênicas. A lactoferricina é um peptídeo básico derivado da lactoferrina que protege o organismo contra o crescimento e a ploriferação de microrganismos intestinais patogênicos (ARCHIBALD, 2003).

Muitos componentes do soro possuem atividades biológicas, que podem ser aproveitadas com grandes vantagens em produtos nutracêuticos ou antimicrobianos, sobretudo substâncias resultantes da degradação e digestão das proteínas, definidas como peptídeos bioativos, tais como a xorfina, os fosfopeptídeos e os imunopeptídeos. Estes peptídeos liberados durante a digestão intestinal das proteínas de soro, podem estar envolvidos na regulação da entrada de nutrientes e influenciar o metabolismo pós-pandrial através da estimulação de hormônios (MING, 2002).

### **3.3 Probióticos**

Segundo Gomes e Malcata (1995) “A palavra probiótico vinda do grego, significa para a vida e seria um microrganismo que estimula o crescimento de outro”. Durante os últimos vinte anos, houve um grande aumento nas vendas mundiais de produtos inoculados contendo bactérias probióticas (OSTLIE; TREIMO; NARVHUS, 2005). A tendência atual é o desenvolvimento de novos leites fermentados que contenham microrganismos denominados probióticos (KOURKOUTAS *et al.*, 2005).

Fuller (1999) concluiu que probiótico seria “suplemento contendo microrganismos vivos que beneficiariam o organismo animal promovendo um balanço microbiano intestinal”. Os microrganismos associados à este balanço são os *Lactobacillus* e as Bifidobactérias (OSTLIE; TREIMO; NARVHUS, 2005).

Probióticos são definidos como uma suplementação dietética de bactérias benéficas como os *Lactobacillus* e as Bifidobactérias (TANNOCK, 1995; FULLER e

GIBSON, 1997; MACFARLANE e CUMMINGS, 1999; ROLFE, 2000; SANDERS, 2000; DUNNE, 2001; ISHIBASHI e YAMAZAKI, 2001; MARTEAU *et al.*, 2001), sendo consumidos com este propósito.

Segundo Gibson e Fuller (2000), para um microrganismo probiótico garantir efetividade, várias condições devem ser atendidas: não apresentar variação genética; ser estável; apresentar resistência ao ambiente ácido do estômago e a sais biliares; ter capacidade de proliferação, afinidade e sobrevivência no intestino; produzir metabólitos; fazer a modulação da atividade metabólica; a imunomodulação, além de ser seguro ou *Generally Regarded as Safe* (GRAS).

A possibilidade de que o consumo de microrganismos vivos nos produtos lácteos fermentados pudesse manter o equilíbrio entre bactérias patogênicas e não patogênicas, fez com que as bactérias ácido-láticas passassem a serem estudadas em relação a seus possíveis efeitos probióticos (SAAVEDRA, 2000).

Segundo Ferreira (2003), os benefícios nutricionais dos probióticos têm sido mostrados em estudos baseados em produtos de leite fermentado com Lactobacilos e Bifidobactérias. Esses produtos contêm bons componentes químicos dependendo do tipo de leite utilizado (normalmente vaca, cabra ou ovelha), do tipo de microrganismo adicionado, e do tipo de processamento empregado (Quadro 1).

Para Fuller (1999) os probióticos são caracterizados por diminuir o nível residual de lactose e aumentar a disponibilidade de aminoácidos livres, além de certas vitaminas, em comparação com os leites não fermentados. Os leites fermentados por esses microrganismos contêm maior quantidade do isômero L(+) ácido láctico (que é mais facilmente metabolizado pelos seres humanos), do que D(-) ácido láctico (que é menos metabolizado).



**Quadro 1** - Principais bactérias probióticas e seus produtos de metabolismo.

Espécies	Produto de metabolismo
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	L(+) lactato, acetato
<i>Bifidobacterium breve</i>	L(+) lactato, acetato
<i>Bifidobacterium bifidum</i>	L(+) lactato, acetato
<i>Bifidobacterium infantis</i>	L(+) lactato, acetato
<i>Bifidobacterium longum</i>	L(+) lactato, acetato
<i>Enterococcus faecium</i>	L(+) lactato
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	DL lactato
<i>Lactobacillus casei</i>	L(+) lactato
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	L(+) lactato
<i>Lactobacillus reuterii</i>	DL lactato, CO <sub>2</sub>

Fonte: Ferreira, 2003

Os probióticos podem ser componentes de alimentos industrializados presentes no mercado, como leites fermentados, iogurte, ou podem ser encontrados na forma de pó ou cápsulas. Os leites fermentados são os principais exemplos de fonte de probióticos. Mas é preciso manter uma espécie de ritual de ingestão diária destas substâncias para que os efeitos desejados se comprovem (LOPES, 2006).

Com a finalidade de manter-se a confiança nos produtos probióticos, faz-se mister a comprovação da sobrevivência bacteriana em produtos alimentícios durante a sua vida de prateleira específica (OSTLIE; TREIMO; NARVHUS, 2005).

Para receber a nomenclatura de "alimento probiótico", os leites fermentados e iogurtes devem conter, no mínimo,  $10^7$  células viáveis por grama ou mL do produto. Por outro lado, a dose terapêutica mínima exigida é de  $10^5$  células viáveis por grama ou mL

do produto (STANTON *et al.*, 2001). Para exercer um efeito positivo sobre a saúde, os microrganismos precisam ser viáveis, ativos e abundantes na concentração de no mínimo  $10^6$  UFC  $g^{-1}$  no produto ao longo da vida de prateleira especificada (OSTLIE; HELLAND e NARVHUS, 2003), de forma a proporcionar uma dose diária de  $10^{10}$  UFC/g de bactérias viáveis (SAMONA E ROBINSON, 1991; LEE E SALMINEN, 1995; VINDEROLA; BAILO; REINHEIMER, 2000, *apud* OSTLIE; TREIMO; NARVHUS, 2005).

A maioria dos *Lactobacillus* probióticos nos alimentos destinados aos humanos são suplementados com formas altamente concentradas apresentando mais do que  $10^{10}$  UFC/g (COEURET; GUEGUEN; VERNOUX, 2004).

Quando ingerido, os produtos carregados por bactérias probióticas promovem a modulação da população microbiana do trato intestinal do homem, possivelmente modificando o metabolismo de colesterol entre o hospedeiro e a microbiota intestinal (FULLER, 1999). Assim, as bactérias probióticas são encontradas distribuídas em regiões específicas do trato intestinal, de acordo com as condições de cada região, como disponibilidade de nutrientes, pH, potencial redox, fatores químicos e físicos. Em função disso, os *Lactobacillus sp.* colonizam o intestino delgado, enquanto as Bifidobactérias colonizam o intestino grosso (HOLZAPFEL *et al.*, 1998).

Bactérias probióticas são mais efetivas na promoção da saúde, quando alcançam o intestino delgado e grosso sem apresentarem perda na viabilidade (OHASHI; UMESAKI; USHIDA, 2004). O Quadro 2 vem a demonstrar a funcionalidade das bactérias probióticas.

A ingestão de iogurte feito com leite fermentado com *Lactobacillus bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus* tem demonstrado melhorar a digestão da lactose em indivíduos com lactase não persistente (VESA *et al.*, 1996). Esse efeito benéfico do

iogurte com probióticos é devido principalmente à presença da enzima  $\beta$ -galactosidase, que digere a lactose no iogurte (VESA *et al.*,1996; VESA; MARTEAU; KORPELA, 2000).

**Quadro 2** – Funcionalidades de bactérias probióticas avaliadas na espécie humana.

FUNÇÃO	ESPÉCIES PROBIÓTICAS
Equilíbrio da microbióta intestinal	<i>L. acidophilus, L. casei, B. bifidum</i>
Estímulo do sistema imune	<i>L. acidophilus, L. casei, L. rhamnosus</i>
Redução das enzimas fecais	<i>L. acidophilus, L. casei, L. gasseri</i>
Ação antitumorigênica	<i>L. acidophilus, B. bifidum, B. longum,</i>
Prevenção da diarreia dos viajantes	<i>L. acidophilus + B. bifidum</i>
Prevenção da diarreia pseudomembrosa ( <i>Clostridium difficile</i> )	<i>L. rhamnosus</i>
Prevenção de vários tipos de diarreia devido a antibioticoterapia, quimioterapia	<i>L. rhamnosus, L. acidophilus, B. bifidum</i>
Diminuição do colesterol sérico	<i>L. acidophilus</i>

Fonte: Ziemer e Gibson (1998) apud Ferreira (2003)

Embora Ferreira (1999) considere que o *Lactobacillus delbrueckii ssp bulgaricus* e o *Streptococcus salivarius ssp. thermophilus* atuem apenas como culturas bioajustadoras de pH, geralmente empregadas na fabricação de produtos lácteos fermentados junto a microrganismos probióticos, para estas atingirem uma acidez segura no período aceitável, uma revisão recente propôs que as preparações frescas do iogurte que contêm o *Lactobacillus delbrueckii ssp bulgaricus* e o *Streptococcus salivarius ssp. thermophilus* poderiam ser consideradas produtos probióticos porque conferem benefícios comprovados a saúde do hospedeiro (GUARNER *et al.*, 2005). Mater (2005) em recente estudo envolvendo 13 indivíduos comprovou que a ingestão de iogurte fresco durante 2 a 3 semanas proporciona contagens de bactérias lácticas superiores a  $10^4$  ufc/g nas fezes destes indivíduos, o que sugere que as bactérias do iogurte, quando em alta concentração, vencem a acidez do trato gastrintestinal e colonizam o intestino humano, promovendo efeitos probióticos no hospedeiro.

### **3.3.1 Bifidobactérias**

Foram primeiramente isoladas e descritas em 1899-1900 por Tisser, que a descreveu como formas alongadas, não produtoras de gás, anaeróbicas com morfologia *Bifid*, presente nas primeiras fezes dos recém-nascidos, então chamadas de *Bacillus bifidus*. Bifidobactérias são geralmente caracterizadas por serem gram positivas, apresentarem forma não esporulada, não motilidade e catalase negativa

anaeróbica. Possuem várias formas incluindo: curta, curva alongada, bastonetes alongados e formas alongadas bifurcadas em formato Y.

Atualmente 30 espécies são incluídas no gênero *Bifidobacterium*, sendo 10 de origem humana (cáries dentais, intestinal e vagina), 17 do trato intestinal de animais ruminantes e 1 da fermentação do leite. São organismos sacarolíticos, produtores de ácido acético e láctico (SGORBATI et al, 1995).

Além da glicose, todas as bifidobactérias de origem humana podem utilizar galactose, lactose e usualmente a frutose como fontes de carbono (KRZEWINSKI et al., 1996).

Em um estudo, 29 espécies de Bifidobactérias de origem humana e animal demonstraram boa habilidade de fermentar carboidratos complexos. Os substratos fermentados por esse grande número de espécies foram D-galactosamina, D-glucosamina, amilosa e amilopectina (CROCIANI et al., 1994).

O pH ótimo de crescimento dessa espécie situa-se entre 6-7, no qual não se observa crescimento no pH inferior a 4,5 e superior a 8,5. A temperatura ótima de crescimento é de 37-41°C. A lista de propriedades identificada das bifidobactérias não inclui que a *Bifidobacterium lactis* apresenta tolerância ao oxigênio, como foi identificado recentemente (MEILE et al., 1997).

### **3.3.2 Lactobacilos**

Em 1990, Moro foi o primeiro a isolar espécies alongadas anaeróbicas facultativas de fezes de recém-nascidos, a qual denominou *Bacillus acidophilus*, como sendo um nome genérico para *Lactobacillus intestinalis*. Lactobacilos são geralmente caracterizados como gram positivos, não formadores de esporos e não flagelados, possuindo forma de cocos. Eles são aerotolerantes ou anaeróbicos e estritamente fermentativos. A glicose é fermentada resultando em ácido láctico no caso homofermentativo, ou originando ácido láctico, gás carbônico, ácido acético e etanol no caso heterofermentativo. Atualmente 56 espécies do gênero *Lactobacillus* são conhecidos. Destes microrganismos, os mais comumente utilizados para uso alimentar são as espécies de *Lactobacillus acidophilus* (HAMMES; VOGEL, 1995).

Os Lactobacilos são distribuídos em vários nichos ecológicos e habitam o trato gastrointestinal e o trato genital, constituindo importante parte da microbiota dos homens e animais superiores. Seu crescimento é afetado por vários fatores ambientais, como: pH, tensão de oxigênio, nível de substrato disponível, presença de secreções e interações com outros microrganismos (simbiose). Possuem crescimento otimizado na faixa de temperatura de 35-40°C e pH 5,5 a 6,0, tendo como única fonte de energia os carboidratos. Eles são raramente associados com infecções gastrointestinais e extraintestinais e as espécies empregadas tecnologicamente são consideradas não patogênicas e seguras. Possuem, portanto, reputação de promotores de saúde, especialmente no trato gastrointestinal humano e genitourinário (SALMINEN; ISOLAURI, 1996).

Os lactobacilos possuem propriedades potencialmente probióticas, favorecendo beneficemente o organismo humano. Em razão deste fato, *L. Acidophilus*, *L. Delbrueckii* ssp *bulgaricus* e *L. Casei* têm sido amplamente utilizados pelos laticínios para a

produção de leites fermentados e outros derivados lácteos (PENNA, 2002). Os Lactobacilos situam-se entre as bactérias mais comumente utilizadas como probióticos na alimentação animal e humana (COEURET; GUEGUEN; VERNOUX, 2004).

As condições básicas para que as cepas de lactobacilos sejam consideradas probióticas incluem o fato de que devam ser substâncias reconhecidas como seguras (*GRAS-generally recognized as safe*), tolerantes ao ácido e á bile, aderentes ao epitélio intestinal dos hospedeiros e apresentar atividade antagônica contra bactérias patogênicas (LIN *et al.*, 2006).

### **3.4 Prebióticos**

Segundo Almeida e Pastore, (2001), prebiótico, é uma substância não digerível que beneficia o hospedeiro por estimular seletivamente o crescimento e/ou atividade das bactérias resistentes no cólon intestinal.

Os prebióticos são semelhantes às fibras dietéticas que estimulam o crescimento ou a atividade das bifidobactérias no cólon, favorecendo assim um equilíbrio adequado do ecossistema intestinal. Por exemplo, a polioliogfrutose e a inulina aumentam significativamente o número de bifidobactérias (SOUZA; MAIA, 2003).

Vários estudos têm demonstrado a contribuição dos prebióticos no aumento da viabilidade dos microrganismos presentes no cólon. Para Gibson e Fuller (2000), prebióticos são componentes alimentares não digeríveis, que estimulam a atividade bifidogênica, ou seja, o crescimento e/ou ação de algumas bactérias presentes no

intestino. Os prebióticos abrangem as frutanas, que incluem a inulina natural, inulina hidrolisada enzimaticamente ou oligofrutose e frutooligossacarídeos sintéticos, além de galactooligossacarídeos, lactulose, isomaltoligossacarídeo, xiloligossacarídeos, gentiooligossacarídeos.

Os simbióticos proporcionam a ação conjunta de prebióticos e probióticos, podendo ser classificados como componentes dietéticos funcionais que podem aumentar a sobrevivência dos probióticos durante a passagem pelo trato digestivo superior, pelo fato de seu substrato específico estar disponível para fermentação (GIBSON e ROBERFROID, 1995).

No interior do nosso intestino existem 500 espécies de microrganismos vivos, onde coexistem bactérias nocivas e benéficas ao organismo hospedeiro. É importante promover um ambiente favorável ao aumento de microrganismos benéficos, efeito este propiciado por ingredientes prebióticos (USHIJIMA, 2001).

A maioria dos oligossacarídeos podem ser produzidos industrialmente por processos enzimáticos. São obtidos a partir de açúcares simples, como lactose, sacarose, ou formados por hidrólise controlada de polissacarídeos como amido e inulina (USHIJIMA, 2001).

Entre os oligossacarídeos de ocorrência natural, os frutooligossacarídeos (FOS) são os principais compostos reconhecidos e utilizados em alimentos aos quais atribuem-se propriedades prebióticas. Os FOS estão presentes como compostos de reserva energética em mais de 36 mil espécies de vegetais, muitos destes, utilizados na alimentação humana (NITSHCKE; UMBELINO, 2002).

Os FOS não são degradados pela maioria dos processos térmicos da indústria de alimentos, como por exemplo, a pasteurização. São considerados isentos de



calorias podendo ser utilizados em alimentos para diabéticos e alimentos de baixo valor calórico. Não são cariogênicos, ou seja, não são metabolizados por *S. mutans*, evitando a formação de ácidos e  $\beta$ -glucanos responsáveis pelo desenvolvimento das cáries (NITSHCKE; UMBELINO, 2002).

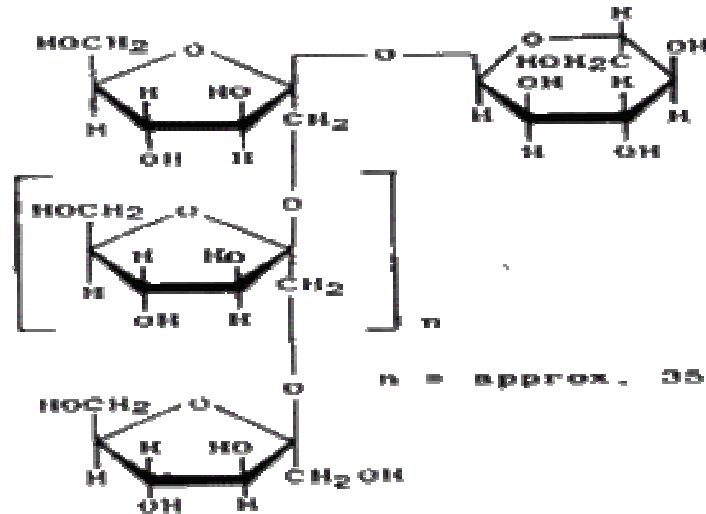
### 3.4.1 Inulina

A inulina é um tipo de açúcar (frutooligossacarídeo-FOS) que não é digerido pelo estômago e, por isso, não acarreta em calorias quando é ingerida. Além disso, a substância serve como alimento e fortalece as bifidobactérias (bactérias encontradas no intestino e que fazem parte da flora intestinal) e, com isso, ajuda na regulação das funções digestivas. Por fim, estudos indicam que seu consumo ajuda no controle dos níveis de colesterol no organismo (NITSCHKE et al., 2002).

Em altas concentrações (15-25 % em água) a inulina tem propriedades de gel e, quando submetido a misturas sob alta agitação, forma gel estável ou creme que pode ser facilmente incorporado em alimentos para substituir a gordura (NEVEN, 2001).

A inulina é formada por uma mistura heterogênea de polímeros de frutose amplamente distribuída na natureza como composto de reserva dos vegetais. As unidades de frutose são geralmente unidas por ligações do tipo  $\beta$  -2-1. A molécula de inulina também pode ter uma pequena incidência de ramificações, dependendo da planta de origem. No caso da inulina de chicória são encontradas de 1 a 2 % de

ramificações do tipo  $\beta$  -2-6. A Figura 1 mostra a estrutura química da inulina (NITSHCKE; UMBELINO, 2002). De acordo com Silva (1996), a inulina é solúvel em água, apresentando solubilidade dependente da temperatura. A 10 °C, a solubilidade é de 6%, ao passo que a 90 °C aumenta para aproximadamente 35%.



**Figura 1.** Estrutura química da inulina. Fonte: NITSHCKE; UMBELINO, (2002).

### 3.5 Análise sensorial

No mercado, o êxito de venda de produtos se manifesta pelo processo contínuo de compra e consumo, que não só dependem das características intrínsecas ao alimento, bem como de outros fatores extrínsecos (COSTELL, 1999). Assim, pode-se

vender não só qualidade nutricional, como características de embalagens e conveniências e, sobretudo, características sensoriais (MUÑOZ, 1999).

Análise sensorial, segundo a Associação Brasileira de Normas Técnicas-ABNT, é a disciplina científica usada para evocar, medir, analisar e interpretar reações às características dos alimentos e materiais como são percebidas pelos sentidos da visão, olfato, gosto, tato e audição (FERREIRA et al., 2000).

O consumidor espera que um alimento seja nutritivo, saudável, seguro, gostoso e que tenha odor e aparência agradáveis. Seguro, nutritivo e saudável são atributos que podem ser expressos e medidos através de análises físico-químicas e microbiológicas. Entretanto, gostoso e agradável são atributos subjetivos e que são definidos pela avaliação sensorial, sendo avaliados pelos órgãos dos sentidos, pela audição, olfato, tato, visão e pelo paladar (PEREIRA e AMARAL, 1997).

Testes sensoriais têm sido conduzidos desde a existência de seres humanos, avaliando o gosto ou desgosto de alimentos, água e tudo o que possa ser utilizado e consumido (MEILGAARD; CIVILLE; CARR, 1999). Na escala hedônica, o provador expressa sua aceitação pelo produto, seguindo uma escala previamente estabelecida que varia gradativamente, com base nos atributos gosta e desgosta (CHAVES e SPROESSER, 2002). O programa de controle de qualidade para estes produtos é implementado através de testes sensoriais (GERIGK apud MUÑOZ, CIVILLE e CARR, 1992).

A aceitabilidade do consumidor em relação aos produtos é influenciada por uma variedade de características. Entre estas podemos citar a sua funcionalidade, características sensoriais, conveniência, segurança, custo e assim por diante. Para muitos destes produtos, características sensoriais como sabor, fragrância e

propriedades de textura, apresentam um importante papel na sua aceitabilidade (MUÑOZ; CIVILLE; CARR, 1992).

A análise sensorial é efetiva no controle de qualidade de produtos alimentícios, prevendo a aceitação ou rejeição destes produtos pelo público consumidor, definindo o seu sucesso ou insucesso mercadológico (FERREIRA *et al.*, 2000).

## **4. MATERIAL E MÉTODOS**

### **4.1 Material**

O soro de leite em pó proveniente de coagulação enzimática foi fornecido pela Empresa ALIBRA Ingredientes Ltda de Marechal Cândido Rondon–PR.

A inulina foi cedida pela Empresa Orafti.

Foi utilizado fermento probiótico liofilizado concentrado de uso direto (DIRECT VAT SET) adquirido da SACCO DO BRASIL composto por *Lactobacillus acidophilus*.

A polpa de salada de frutas foi doada pela empresa GEMACOM, localizada no município de Juiz de Fora (MG).

Para a contagem de microrganismos probióticos, foi utilizado o meio Lactobacillus MRS Agar da marca HiMedia Laboratories Pvt. Ltd.

### **4.2 Métodos**

#### **4.2.1 Elaboração da bebida fermentada**

O trabalho foi dividido em três etapas: a primeira etapa compreendeu a fermentação do soro, variando-se a quantidade de inóculo utilizada (1% e 2%) e de fibra prebiótica (0%, 2% e 4%). Esta etapa foi realizada com o intuito principal de se

avaliar a melhor maneira tecnológica de se fermentar o soro de leite reconstituído a 7% de extrato seco total, de modo a obter a maior viabilidade do microrganismo probiótico. O soro de leite em pó foi reconstituído em água, conforme o experimento, totalizando aproximadamente 7% de sólidos totais, com açúcar (5 % p/v) sob agitação constante e vigorosa, e nos tratamentos necessários foi colocado diferentes percentuais de inulina. Esta mistura foi aquecida até 85°C e mantida por 20 minutos em banho termostatizado. A mistura foi resfriada em banho de água e gelo até atingir 37°C, para receber a cultura láctica probiótica em condições assépticas. O produto foi incubado a 37°C, e o tempo de fermentação da bebida láctea foi calculado a partir do início da inoculação, até obter-se o valor em acidez próximo a 60º Dornic. Terminada a fermentação, foi feito resfriamento inicial até 20°C, aproximadamente, e a quebra do coágulo durante 30 segundos por agitação manual, seguida por resfriamento final em banho de água e gelo. Foi então adicionada polpa de salada de frutas (10 % p/v). A bebida foi embalada em copos plásticos e armazenada em refrigerador à temperatura de 6°C aproximadamente.

A segunda etapa foi referente à avaliação química, físico-química e microbiológica. Foram realizadas análises de acidez em ácido láctico (ºDornic), pH (através do equipamento WTW modelo pH 330i/ set), umidade, gordura, resíduo mineral fixo, proteína, lactose, contagem de microrganismos probióticos e análises microbiológicas da qualidade requeridas pela legislação vigente (BRASIL, 2000). As análises físico-químicas após a fermentação foram realizadas em triplicatas. As análises microbiológicas do microrganismo probiótico em estudo foram realizadas em triplicatas e nos tempos 0,7,14,21 e 28 dias de estocagem.

A terceira etapa consistiu na avaliação sensorial pelo consumidor final, com a intenção de verificar a aceitabilidade do novo produto utilizando o teste de escala hedônica de nove pontos.

Procedimentos para o consentimento livre e informado foram providenciados e a pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Santa Catarina (ANEXO A), sob projeto nº 380/05

#### **4.2.2 Delineamento estatístico**

O experimento envolveu 2 fatores: A (quantidade de fermento) e B (% de Inulina) com 2 e 3 níveis respectivamente e 3 repetições (CALADO e MONTGOMERY, 2003). Os tratamentos foram abordados estatisticamente mediante análise de variância (teste F) e comparações múltiplas de Tukey, utilizando um nível de significância de 5%.

#### **4.2.3 Análises físico-químicas**

Foram realizadas as análises físico-químicas do soro doce reconstituído, e da bebida fermentada simbiótica saborizada. As determinações de acidez em ácido láctico (°Dornic), pH, gordura, resíduo mineral fixo pela incineração da amostra a 550°C,

proteína e lactose, foram realizadas em triplicata na bebida após a fermentação pelos métodos descritos pela AOAC (1999).

#### **4.2.4 Análise microbiológica**

Foi realizada a análise microbiológica de qualidade na bebida elaborada segundo a legislação vigente (BRASIL, 2000), com contagem de coliformes a 45°C e a 35°C utilizando o método de Número Mais Provável (NMP/mL) e contagem de bolores e leveduras por plaqueamento em superfície. A contagem de microrganismos probióticos foi realizada em triplicata utilizando o *Lactobacillus* MRS Agar, recomendado pelo grupo E-104 da International Dairy Federation, International Standards Organization e Association of Official Analytical Chemists (IDF/ISO/AOAC GROUP E-104, 1995). Foram feitas as diluições decimais seriadas, em que 25 mL de amostra e transferidos de forma asséptica para um frasco de Erlenmeyer estéril contendo 225 mL de água destilada peptonada a 0,1% v/v. Essa solução foi então homogeneizada e em seguida foram feitas as diluições subseqüentes. As amostras foram diluídas em água salina peptonada (0,9% v/v salina, 0,1% v/v peptona) e a contagem de microrganismos probióticos viáveis foi determinada no meio de cultura desidratado *Lactobacillus* MRS Agar da marca HiMedia Laboratories Pvt. Ltd, após incubação anaeróbica à 37°C durante 72 horas (INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION, 1995).



Foram realizados testes de confirmação bioquímica (catalase e coloração de Gram) conforme Silva (1997).

#### 4.2.5 Análise sensorial

A avaliação sensorial foi realizada em uma única etapa, após os testes físico-químicos e microbiológicos afim de garantir a segurança dos julgadores. Foi realizado o teste de escala hedônica de nove pontos (FARIA e YOTSUYANAGI, 2002), utilizando-se para codificação das amostras a tabela de números aleatórios, de acordo com Ferreira *et al.*, (2000). Para este teste, foram utilizados 50 julgadores não treinados do quadro de docentes e discentes com idade entre 19 e 50 anos do Curso Superior de Tecnologia em Alimentos da UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ (UTFPR) campus Medianeira. A interpretação estatística do teste foi realizada pela análise de variância (ANOVA), com teste de comparação de médias pelo Teste de *Tukey* ao nível de 5 % de significância (BARBETTA, 2004). O índice de aceitabilidade foi calculado segundo Monteiro (1984).

Foram utilizados seis tratamentos para a avaliação de preferência sendo:

T<sub>1</sub>= Bebida fermentada com 1% de fermento, sabor salada de frutas;

T<sub>2</sub>= Bebida fermentada com 1% de fermento, sabor salada de frutas e adicionada de 2% de inulina;

T<sub>3</sub>= Bebida fermentada com 1% de fermento, sabor salada de frutas e adicionada de 4% de inulina;

T<sub>4</sub>= Bebida fermentada com 2% de fermento, sabor salada de frutas;

T<sub>5</sub>= Bebida fermentada com 2% de fermento, sabor salada de frutas e adicionada de 2% de inulina;

T<sub>6</sub>= Bebida fermentada com 2% de fermento, sabor salada de frutas e adicionada de 4% de inulina.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Análise físico-química

#### 5.1.1 Composição centesimal do soro de leite reconstituído

O resultado da análise físico-química do soro de leite utilizado nas formulações está demonstrado na Tabela 2.

**Tabela 2** - Resultado das determinações físico-químicas do soro de leite reconstituído a 7% de extrato seco total.

<b>Parâmetros</b>	<b>Valores</b>
Acidez em ácido láctico (° Dornic)	13
pH	6,30
Densidade (g/mL)	1,024
Umidade (%)	93
Gordura (%)	0,20
Proteína (%)	1,36
Lactose (%)	5,34
Extrato seco total (%)	7,2
Extrato seco desengordurado (%)	7,0

Os valores obtidos estão em consonância com os dados de Dallas (1999) e Demarchi (2003). Por outro lado, o soro de leite reconstituído demonstrou ser menos ácido e possuir menor quantidade de sólidos não gordurosos do que o estabelecido pela Instrução Normativa nº 51 de 20 de outubro de 2002, (Brasil, 2002) para leite pasteurizado.

### **5.1.2 Evolução dos parâmetros de acidez e pH durante a fermentação**

A evolução dos parâmetros de acidez e pH durante a fermentação dos seis tratamentos estão no Quadro 3.

Os valores obtidos durante o tempo de fermentação mostram que quando o conteúdo de ácido láctico aumenta, os níveis de pH decrescem, fato que corresponde aos dados obtidos por pesquisadores como Lourens-Hattingh e Viljoen (2001). Quando comparado aos parâmetros da Instrução Normativa nº 5 de 13 de novembro de 2000 (BRASIL, 2000), para a fabricação de leite fermentado e cultivado, apenas o Tratamento 1 apresentou no final da fermentação, valores em consonância com a referida resolução (no mínimo 60º Dornic). Por outro lado, não há padrão de identidade e qualidade para bebidas fermentadas somente com soro de leite.

Observou-se que o tempo gasto com a fermentação é maior e a evolução da acidez (º Dornic) é mais lenta, em função da baixa velocidade de multiplicação das

culturas probióticas em relação às bactérias lácticas tradicionais, de acordo com Gomes e Malcata (1999).

**Quadro 3-**Valores referentes à acidez e pH durante a fermentação.

Tratamento		Tempo (horas)									
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	Acidez (°Dornic)	13	19	39	45	51	56	58	60	-	-
	pH	6,30	4,97	4,75	4,50	4,31	4,29	4,22	4,10	-	-
2	Acidez (°Dornic)	13	22	27	32	37	41	46	50	51	-
	pH	6,30	5,56	5,26	4,93	4,87	4,62	4,50	4,39	4,31	
3	Acidez (°Dornic)	13	19	25	31	36	42	46	50	54	59
	pH	6,30	5,46	5,09	4,86	4,62	4,51	4,42	4,36	4,31	4,29
4	Acidez (°Dornic)	13	16	23	26	30	33	39	46	48	50
	pH	6,30	5,92	5,59	5,36	5,12	5,00	4,88	4,75	4,71	4,50
5	Acidez (°Dornic)	13	17	22	25	27	34	39	43	47	50
	pH	6,30	5,88	5,49	5,17	4,90	4,85	4,81	4,76	4,52	4,48
6	Acidez (°Dornic)	13	16	21	26	28	33	37	41	46	48
	pH	6,30	5,83	5,47	5,15	4,98	4,87	4,65	4,51	4,47	4,41

Os valores de acidez e pH do Tratamento 1, Quando confrontados com os de Brasil (2000), demonstraram que esta formulação (com 1% de fermento e sem inulina) é provavelmente a mais viável tecnologicamente e economicamente para a produção em escala industrial.

### 5.1.3 Evolução dos parâmetros de acidez e pH durante a estocagem do produto final.

A evolução dos parâmetros de acidez e pH durante o período de armazenamento a 6°C dos seis Tratamentos estão no Quadro 4.

**Quadro 4** - Valores referentes à acidez e pH durante a estocagem.

Tratamento		Tempo (em dias)				
		início	7	14	21	28
1	Acidez (°Dornic)	60	70	73	77	79
	pH*	4,10±0.02	3,98±0.02	3,96±0.01	3,81±0.02	3,75±0.02
2	Acidez (°Dornic)	51	56	58	63	66
	pH*	4,31±0.01	3,87±0.02	3,81±0.01	3,67±0.01	3,62±0.01
3	Acidez (°Dornic)	59	61	64	69	71
	pH*	4,29±0.01	3,97±0.01	3,88±0.01	3,73±0.02	3,70±0.01
4	Acidez (°Dornic)	48	50	52	55	56
	pH*	4,50±0.02	4,15±0.01	4,09±0.02	4,00±0.01	3,88±0.01
5	Acidez (°Dornic)	50	52	54	55	57
	pH*	4,48±0.02	4,08±0.01	3,93±0.01	3,88±0.02	3,84±0.02
6	Acidez (°Dornic)	48	50	54	57	57
	pH*	4,41±0.02	4,19±0.02	3,97±0.02	3,82±0.02	3,80±0.01

\*referente a três repetições.

Observou-se que no período de armazenamento, os valores de pH para todos os tratamentos apresentaram-se em declínio e abaixo de 4,5, valor este desejável para a prevenção do crescimento de contaminantes patogênicos (MICANEL; HAYNES; PLAYNE, 1997) e também do ponto de vista sensorial, pois garante ao produto final um sabor suave (PEREIRA, 2002).

Segundo Gomes e Malcata (1999) probióticos como *Bifidobacterium* e o *Lactobacillus*, em particular, a espécie *Lactobacillus acidophilus*, além dos benefícios em termos de nutrição e de saúde que proporcionam, possuem a vantagem de promover acidificação reduzida ( $^{\circ}$  Dornic) durante a armazenagem pós-processamento, fato comprovado nos seis Tratamentos deste estudo. Para Dave e Shah (1997), este fato é importante, pois ajuda a manter a quantidade de bactérias probióticas na bebida.

Como se pode observar no Quadro 4, no final de vinte e oito dias de estocagem os valores de acidez ( $^{\circ}$  Dornic) e pH dos seis Tratamentos ficaram próximos do mínimo estabelecido pela Instrução Normativa nº 5 de 13 de novembro de 2000 (BRASIL, 2000) para leite cultivado ou fermentado que é de 60 $^{\circ}$  Dornic.

Os valores de pH obtidos neste estudo no início da estocagem, se assemelham aos resultados da formulação do leite acidófilo (pH 4,68) desenvolvido por Zacarchenco e Massaguer-Roig (2004), embora os valores de acidez tenha sido mais baixos do que aqueles obtidos pelos citados autores (77 $^{\circ}$  Dornic) fato este provavelmente relacionado à utilização somente de soro lácteo, ao contrário do estudo citado, que utilizou apenas leite de vaca, o que pode ter contribuído para uma melhor fermentação, aumentando a acidez da bebida.

### 5.1.4 Resultado da análise físico-química das bebidas fermentadas saborizadas obtidas dos seis tratamentos.

**Quadro 5** - Valores referentes às determinações físico-químicas das bebidas fermentadas saborizadas obtidas dos diversos tratamentos.

Parâmetro	Tratamento 1	Tratamento 2	Tratamento 3	Tratamento 4	Tratamento 5	Tratamento 6	Teste F
pH	4,100±0,0000 <sup>f</sup>	4,307±0,0058 <sup>d</sup>	4,290±0,0000 <sup>e</sup>	4,510±0,0100 <sup>a</sup>	4,477±0,0058 <sup>b</sup>	4,413±0,0058 <sup>c</sup>	P<0,0001
Umidade(%)	77,300±0,2500 <sup>a</sup>	75,500±0,3606 <sup>b</sup>	73,800±0,2000 <sup>c</sup>	77,600±0,2646 <sup>a</sup>	75,650±0,1323 <sup>b</sup>	73,600±0,2646 <sup>c</sup>	P<0,0001
Proteína(%)	0,890±0,0100 <sup>a</sup>	0,800±0,0700 <sup>a</sup>	0,820±0,0436 <sup>a</sup>	0,850±0,0265 <sup>a</sup>	0,840±0,0700 <sup>a</sup>	0,830±0,0721 <sup>a</sup>	P=0,4830
Gordura (%)	0,300± 0,0000 <sup>a</sup>	0,200±0,0000 <sup>b</sup>	0,200±0,0000 <sup>b</sup>	0,300±0,0000 <sup>a</sup>	0,200±0,0000 <sup>b</sup>	0,200±0,0000 <sup>b</sup>	P<0,0001
CH.Totais (%)	21,210±0,0000 <sup>f</sup>	22,940±0,0000 <sup>c</sup>	24,680±0,0000 <sup>b</sup>	21,020±0,0000 <sup>f</sup>	22,840±0,0000 <sup>d</sup>	24,830±0,0000 <sup>a</sup>	P<0,0001
Lactose (%)	5,340±0,0265 <sup>a</sup>	5,340±0,0624 <sup>a</sup>	5,250±0,0265 <sup>ab</sup>	5,150±0,0500 <sup>b</sup>	4,800±0,0458 <sup>c</sup>	5,150±0,0300 <sup>b</sup>	P<0,0001
Res.Min.fix(%)	0,300±0,0361 <sup>b</sup>	0,460±0,0173 <sup>a</sup>	0,500±0,0529 <sup>a</sup>	0,230±0,0656 <sup>b</sup>	0,470±0,0458 <sup>a</sup>	0,540±0,0557 <sup>a</sup>	P<0,0001
EST (%)	22,700±0,0436 <sup>c</sup>	24,400±0,2646 <sup>b</sup>	26,200±0,1732 <sup>a</sup>	22,400±0,1000 <sup>c</sup>	24,350±0,0458 <sup>b</sup>	26,400±0,0173 <sup>a</sup>	P<0,0001

Considerando-se os valores de pH, umidade, gordura, carboidratos totais, lactose, resíduo mineral fixo e extrato seco total (Quadro 5), observou-se que houve diferença significativa entre os tratamentos ( $p$ -valor<0,05). Não houve diferença significativa entre os 6 tratamentos apenas em relação ao teor de proteína ( $p$ -valor>0,05), pois segundo Klaver, Kingma e Weerkamp (1993), as bactérias probióticas se desenvolvem lentamente no leite e possuem baixa atividade proteolítica.

Os diferentes percentuais de inóculo e prebióticos utilizados em cada um dos 6 tratamentos, podem ser a causa da diferença significativa ocorrida nos valores de



pH. Todavia, quando comparados ao leite acidófilo produzido no estudo de Zacarchenco e Massaguer-Roig (2004), os valores são semelhantes (pH de 4,68).

Conforme esperado, houve diferença significativa ( $p$ -valor $<0,05$ ) no percentual de umidade somente entre os tratamentos com quantidades diferentes de fibra prebiótica, pois esta colabora na alteração do percentual de sólidos totais da bebida.

A quantidade de gordura apenas apresentou diferença significativa nos tratamentos em que não foi utilizada a fibra prebiótica. Quando comparado aos parâmetros da Instrução Normativa nº 5 de 13 de novembro de 2000 (BRASIL, 2000), a bebida fermentada do presente estudo é classificada como desnatada, por apresentar quantidades inferiores ao máximo de 0,5 % de matéria gorda láctea total.

A quantidade de carboidratos totais demonstrou corretamente que somente nos tratamentos em que não foi utilizada a fibra prebiótica (Tratamentos 1 e 4), não ocorreu diferença significativa ( $p$ -valor $<0,05$ ) entre os valores.

Para verificar se a variação da quantidade inicial de inóculo nos seis Tratamentos tinha influência no consumo de lactose pelo microrganismo probiótico, foi realizada a determinação de lactose pós-fermentação. Segundo Fuller (1999), os probióticos são caracterizados por diminuir o nível residual de lactose no produto final. Este fato foi comprovado na determinação realizada, demonstrando que quando se aumenta a quantidade de fermento probiótico inoculado, geralmente ocorre aumento no consumo de lactose pelos microrganismos inoculados.

As determinações de resíduo mineral fixo e extrato seco total comprovaram que os valores obtidos apenas foram diferentes significativamente ( $p$ -valor $<0,05$ ) quando ocorreu o aumento do percentual de inulina (fibra prebiótica), pois alteraram a quantidade de sólidos totais dos tratamentos.

## 5.2 Análise microbiológica

### 5.2.1 Análise da qualidade microbiológica

**Tabela 3** – Resultados das análises de qualidade microbiológica da bebida fermentada saborizada.

Microrganismos	Critério de aceitação	Tratamento 1	Tratamento 2	Tratamento 3	Tratamento 4	Tratamento 5	Tratamento 6
Coliformes a 35°C (NMP/mL)	$10^2$	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3
Coliformes a 45°C (NMP/mL)	$10^1$	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3
Bolores e Leveduras (UFC/mL)	$2 \times 10^2$	<10	$2 \times 10^1$	<10	<10	<10	<10

O resultado da análise das bebidas fermentadas saborizadas dos seis Tratamentos apresentado na Tabela 3, demonstra que o produto segue os limites preconizados para a qualidade microbiológica de leites fermentados ou cultivados, segundo a Resolução nº 5 de 13 de novembro de 2000 (BRASIL, 2000).

Observou-se que as contagens obtidas para coliformes a 35°C e 45°C (NMP/mL) e para bolores e leveduras (UFC/mL) ficaram abaixo dos padrões máximos aceitáveis estabelecidos pela Resolução nº 5 de 13 de novembro de 2000 (BRASIL, 2000) para leite fermentado ou cultivado, assegurando a segurança microbiológica do consumo das pelos julgadores durante a análise sensorial.

### 5.2.2 Contagem de microrganismos probióticos

**Tabela 4** - Contagem microbiológica de *Lactobacillus acidophilus* durante a estocagem à temperatura de 6°C.

	Tratamento1	Tratamento2	Tratamento3	Tratamento4	Tratamento5	Tratamento6	Test F
Tempo (dias)	(Log ufc/mL)	(Log ufc/mL)	(Log ufc/mL)	(Log ufc/mL)	(Log ufc/mL)	(Log ufc/mL)	
0	10,340±0,0400 <sup>c</sup>	10,507±0,0586 <sup>b</sup>	10,160±0,0458 <sup>d</sup>	10,650±0,0458 <sup>a</sup>	10,627±0,0252 <sup>a</sup>	10,700±0,0173 <sup>a</sup>	P<0,0001
7	10,287±0,0473 <sup>c</sup>	10,453±0,0208 <sup>b</sup>	10,083±0,0513 <sup>d</sup>	10,637±0,0416 <sup>a</sup>	10,587±0,0153 <sup>a</sup>	10,623±0,0252 <sup>a</sup>	P<0,0001
14	9,357±0,0981 <sup>b</sup>	10,010±0,6165 <sup>ab</sup>	9,833±0,2082 <sup>ab</sup>	10,353±0,1680 <sup>a</sup>	9,767±0,0751 <sup>ab</sup>	9,713±0,0981 <sup>ab</sup>	P=0,0204
21	8,900±0,0700 <sup>b</sup>	8,877±0,0850 <sup>b</sup>	9,543±0,0513 <sup>a</sup>	8,947±0,0153 <sup>b</sup>	8,763±0,1026 <sup>bc</sup>	8,600±0,0361 <sup>c</sup>	P<0,0001
28	7,360±0,1473 <sup>b</sup>	7,477±0,0503 <sup>b</sup>	8,493±0,1102 <sup>a</sup>	7,330±0,0985 <sup>b</sup>	8,267±0,2779 <sup>a</sup>	7,367±0,1069 <sup>b</sup>	P<0,0001

Pode-se observar que houve diferença significativa entre os tratamentos (p-valor<0,05), durante todo o período de armazenamento(Tabela 4).

Thamer e Penna (2005) elaboraram uma bebida fermentada com diferentes quantidades de soro, frutoligossacarídeos e açúcar, avaliando o crescimento de probióticos e suas características físico-químicas. As maiores contagens do microrganismo probiótico correspondeu ao tratamento que apresentou baixa acidez e elevado teor de sólidos, concordando com os Tratamentos 4, 5 e 6 do presente estudo, que apresentaram o maior crescimento inicial de *Lactobacillus acidophilus* por apresentarem baixa acidez.

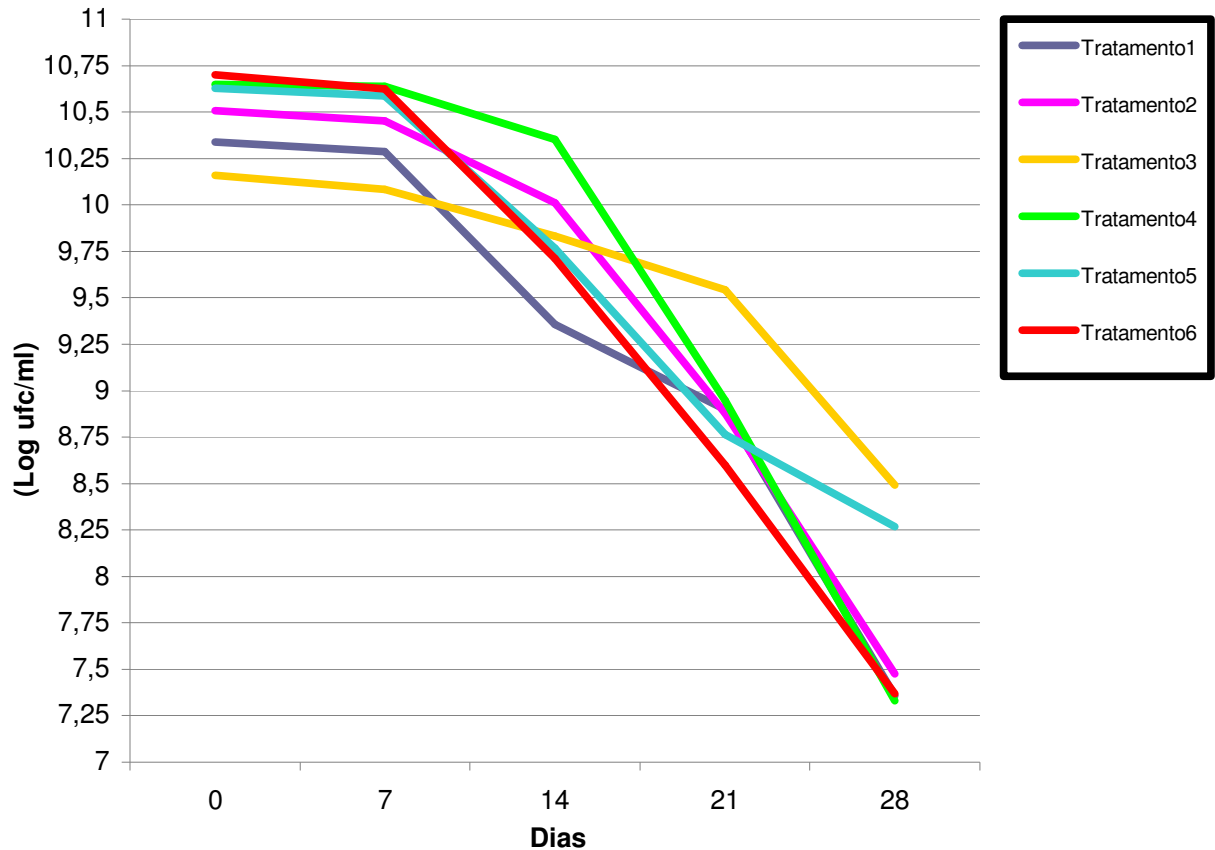
Dos vários estudos de sobrevivência dos microrganismos probióticos realizados por outros pesquisadores (GOMES; MALCATA, 1999), existe consenso geral de que produtos com acidez elevada (por exemplo, o iogurte) conduzem a maior perda de viabilidade de probióticos do que produtos com baixa acidez (° Dornic), fato este que

explica a elevada contagem de microrganismos probióticos ocorrido no presente estudo ao longo de 28 dias de estocagem.

Dentre as duas variáveis utilizadas (inóculo e fibras prebióticas), quando a quantidade de inóculo utilizada foi maior, ocorreu crescimento significativamente maior do microrganismo probiótico ( $p$ -valor $<0,05$ ). Por outro lado, o efeito prebiótico da inulina pode ter sido prejudicado pelo tratamento térmico prolongado utilizado na elaboração das bebidas fermentadas, pois Freitas e Jackix (2002) avaliaram a estabilidade da oligofrutose diante da pasteurização e armazenamento em suco misto de cenoura e laranja através da análise de cromatografia líquida, e observaram que houve perda de oligofrutose após a pasteurização do suco, variando de 42-64%, e que este oligossacarídeo foi hidrolisado em frutose devido à pasteurização e o efeito do pH.

De acordo com Jelen e Lutz (1998), a sobrevivência de bactérias probióticas no produto alimentício é fundamental, necessitando alcançar populações suficientemente elevadas (tipicamente acima de 7 log UFC/mL ou g) para ser de importância fisiológica ao consumidor, valor este alcançado nos seis Tratamentos do presente estudo. Quando comparado à contagem de bactérias lácticas totais do leite fermentado (7 log UFC/g), segundo a legislação (BRASIL, 2000), todos os Tratamentos superaram esta indicação, conforme mostra a Figura 2.

No leite acidófilo elaborado por Zacarchenco e Massaguer-Roig (2004), a contagem inicial de *Lactobacillus acidophilus* foi de 8,869 log UFC/mL. Neste estudo, os seis Tratamentos apresentaram valores maiores que o valor citado por estes no primeiro dia de armazenamento. No 21<sup>o</sup> dia de estocagem, a contagem do probiótico no referido leite acidófilo foi de 8,322 log UFC/mL, valor este também superado por todos os seis Tratamentos do presente estudo.



**Figura 2.** Contagem de *Lactobacillus acidophilus* nos 6 tratamentos durante a estocagem.

Após 28 dias de estocagem, a contagem de *Lactobacillus acidophilus* nos seis tratamentos decresceu conforme esperado, porem permaneceu superior a contagem mínima de 7 log UFC/mL, fato este que de acordo com Jelen Lutz (1998), torna-o um alimento probiótico durante todo este período.

### 5.2.3 Confirmação bioquímica do microrganismo probiótico

A confirmação bioquímica do *L. acidophilus* foi feita através de Coloração de Gram descrita por Silva (1997) e catalase. As cepas encontradas na coloração efetuada nos seis Tratamentos confirmaram a existência de *L. acidophilus*, onde os mesmos são caracterizados como Gram-positivos em forma de bacillus, uma vez que na elaboração da bebida fez-se somente a utilização deste microrganismo. A análise de catalase foi realizada confirmando serem catalase negativos.

## 5.3 Análise sensorial

### 5.3.1 Teste de Escala Hedônica de nove pontos

Os resultados do teste de análise sensorial mediante a utilização da escala hedônica de nove pontos, estão apresentados na Quadro 6. Através do tratamento estatístico dos dados, mediante a aplicação da análise de variância (ANOVA), observou-se que houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) para os atributos de cor e aroma e que não houve diferença ( $p > 0,05$ ) para os atributos de sabor e consistência.

Através dos resultados do Quadro 6, verificou-se que para os atributos cor, sabor e aroma, os Tratamentos 1 e 4 apresentaram-se entre as categorias *gostei*

*regularmente e gostei muito*, sendo que o atributo de consistência aproximou-se da categoria *gostei regularmente* para todas as amostras.

**Quadro 6.** Resultado dos atributos de cor, sabor, aroma e consistência.

Amostras	*Média de julgamentos dos atributos			
	Cor	Sabor	Aroma	Consistência
937 (T1)	7,54±1,46 <sup>a</sup>	7,34 ± 1,56 <sup>a</sup>	7,44±1,51 <sup>a</sup>	6,9 ± 1,73 <sup>a</sup>
246 (T2)	6,86±1,60 <sup>ab</sup>	6,76 ± 1,72 <sup>ab</sup>	6,68±1,65 <sup>bc</sup>	6,68±1,68 <sup>ab</sup>
358 (T3)	6,96±1,52 <sup>abcd</sup>	7,04 ± 1,61 <sup>abc</sup>	7,08 ± 1,35 <sup>adt</sup>	7 ± 1,61 <sup>abc</sup>
217 (T4)	7,54±1,47 <sup>abdf</sup>	7,16 ± 1,62 <sup>abcd</sup>	7,32±1,22 <sup>aeig</sup>	7 ± 1,47 <sup>abcd</sup>
425 (T5)	6,9±1,46 <sup>abdfh</sup>	7,04 ± 1,58 <sup>abcde</sup>	7,14±1,37 <sup>actgh</sup>	7,08±1,54 <sup>abcde</sup>
842 (T6)	5,84±2,31 <sup>bcegi</sup>	6,9 ± 1,85 <sup>abcde</sup>	7,02±1,57 <sup>actgh</sup>	6,9 ± 1,66 <sup>abcde</sup>
** DMS	0,72	0,76	0,60	0,60

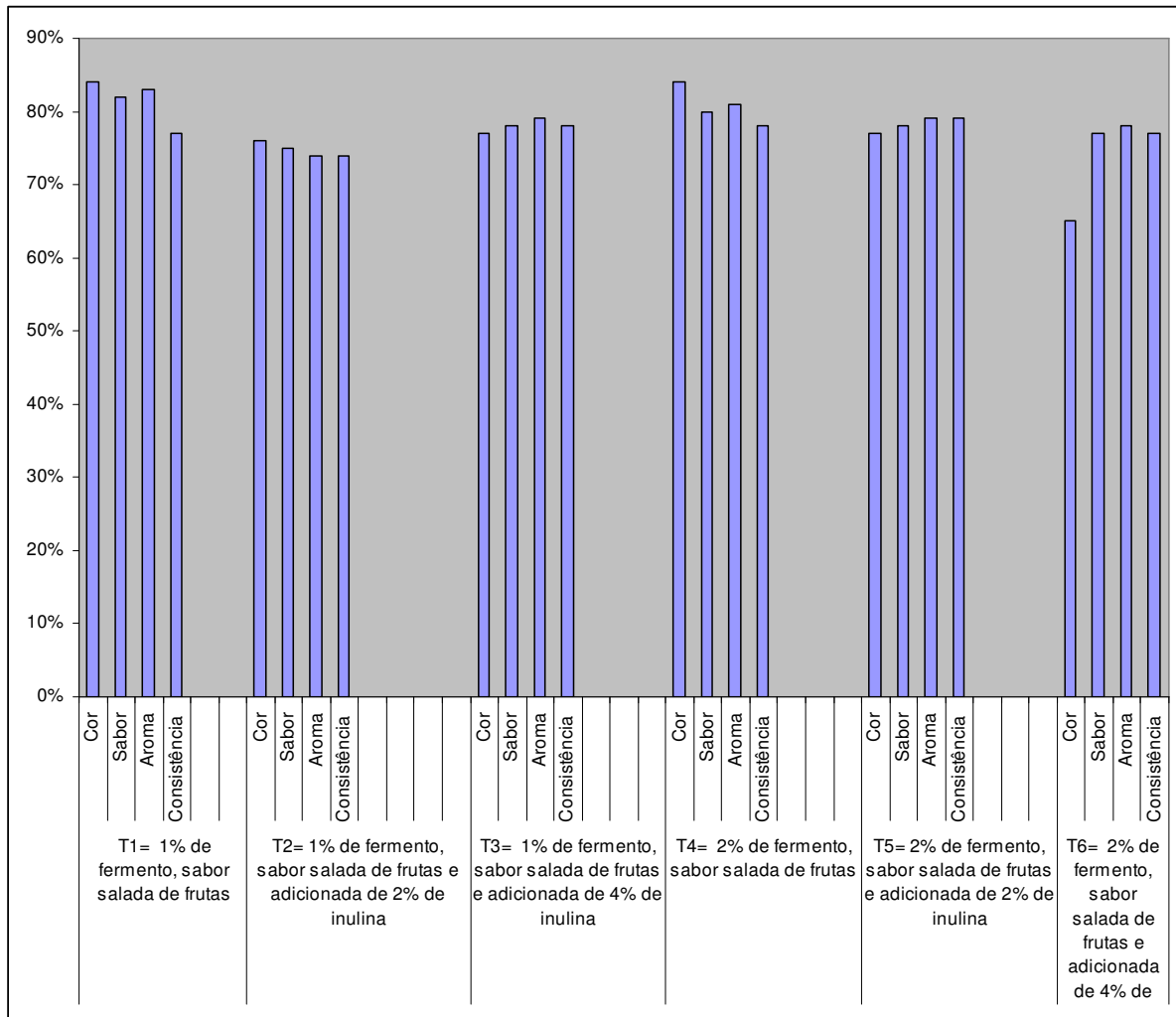
\*Média de 50 julgamentos. Escala Hedônica (9) gostei muitíssimo; (8) gostei muito; (7) gostei regularmente; (6) gostei ligeiramente; (5) nem gostei e nem desgostei; (4) desgostei ligeiramente; (3) desgostei regularmente; (2) desgostei muito; (1) desgostei muitíssimo.

\*\* D.M.S: Diferença Mínima Significativa pelo teste de média de Tukey, ao nível de significância de 5%.

<sup>a, b, c, d</sup> Marcas (média e desvio-padrão), seguidas da mesma letra (mesma coluna), não diferem entre si.

### 5.3.2 Índice de aceitabilidade das amostras

Observou-se que todos os Tratamentos (T1, T2, T3, T4, T5 e T6), apresentaram aceitabilidade acima de 70% para os atributos de sabor, aroma e consistência, considerado satisfatório (Figura 3) podendo ser bem aceito no mercado consumidor (TEIXEIRA; MEINERT; BARBETTA, 1987).



**Figura 3.** Resultado referente à aceitabilidade dos Tratamentos.

As amostras referentes aos Tratamentos T1 (bebida fermentada com 1% de fermento e sabor salada de frutas) e T4 (bebida fermentada com 2% de fermento e



sabor salada de frutas) apresentaram os maiores índices para os atributos de cor, sabor e aroma. A amostra correspondente ao Tratamento T6 apresentou o menor índice para o atributo de cor (65%), possivelmente devido à decantação da inulina antes do teste alterando a cor da bebida.

## 6.CONCLUSÃO

Com referência aos teores de inulina e inóculo nos diversos experimentos sobre a população de bactérias lácticas, apenas este último proporcionou um aumento significativo ( $p$ -valor $<0,05$ ) na população de *Lactobacillus acidophilus*.

A contagem total de probióticos nas seis formulações foi de 10,160 log a 10,700 log UFC/mL, no primeiro dia e 7,330 log a 8,493 log UFC/mL após 28 dias de estocagem, atendendo aos requisitos descritos na literatura, assim como os da legislação brasileira de bebidas lácteas (Brasil, 2000), que preconizam que todos os microrganismos produtores da fermentação láctica devem ser viáveis e estar presentes no produto em quantidades mínimas de 7 log UFC/mL.

Todos os Tratamentos apresentaram índice superior a 70% de aceitabilidade para os atributos de cor, sabor, aroma e consistência, exceto o Tratamento 6 que apresentou índice de 65% para o atributo cor.

Embora os seis Tratamentos tenham apresentado ótimos resultados microbiológicos, sensoriais e físico-químicos, a bebida fermentada do Tratamento hum foi a que apresentou os melhores requisitos para possivelmente ser produzida em escala industrial.

## REFERÊNCIAS

ALMEIDA, M. M. de; PASTORE, G. M. Galactooligossacarídeos: Produção e efeitos benéficos. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 35, n.1-2, p. 12-19, jan/dez. 2001.

AOAC-Association of Official Analytical Chemist. **Official Methods of Analysis of AOAC International**, 16 ed. USA: AOAC International, 1999.

ARCHIBALD, A. O que é proteína do soro? **Food Ingredient**, nº 22, p.118-122, jan./fev. 2003.

BARBETTA, P. A. **Estatística Aplicada às Ciências Sociais**. 5<sup>a</sup> ed. Florianópolis:UFSC, 2002.

BISTROM, M.; NORDSTROM, K. Identification of key success factors of functional dairy foods product development. **Trends in Food Science & Technology**, v.13, p.372-379, 2002.

BRANDÃO, S.C.C. SORO: um desafio para as fábricas de queijos. **Leite e Derivados**, São Paulo, nº 15, p.13-20, março/ abril. 1994.

BRANDÃO, S. C. C. Novas gerações de produtos lácteos funcionais. **Indústria de Laticínios**, p. 64-66, jan./fev. 2002.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. MAPA. Resolução nº 5 de 13/11/2000 – Padrão de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados, 2000.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. MAPA. Instrução normativa nº 51 de 20/09/2002 – Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Pasteurizado, 2002.

CALADO, V.; MONTGOMERY, D. C. **Planejamento de experimentos usando estatística**, Rio de Janeiro: E-Papers Serviços Editoriais, 2003.

CHAVES, J. B.; SPROESSER, R. L. **Práticas de Laboratório de Análise Sensorial de Alimentos e Bebidas**. Viçosa: UFV, 2002. 81p.

COPPOLA, M. M. Probióticos e resposta imune. **Revista Ciência Rural**, v.34, n. 4, p. 11297-1303, 2004.

COSTELL, E. Optimizacion de la calidad de los alimentos: Aspectos sensoriales. In: ALMEIDA, T. C. A., HOUGH, G., DAMÁSIO, M. H., DA SILVA, M. A. A. P. **Avanços em Análise Sensorial**. São Paulo: Varela, 1999. p.63-67.

CROCIANI, F.; ALESSANDRINI, A.; MUCCI, M. M. and BIAVATI, B. Degradation of complex carbohydrates by *Bifidobacterium* spp. **International Journal of Food Microbiology** n. 24, p.199-210, 1994.

COEURET, V.; GUEGUEN, M.;VERNOUX, J. P. Numbers and strains of lactobacilli in some probiotic products. **International Journal of Food Microbiology**, v.97, p. 147-156, 2004.

DALLAS, P. O uso de derivados do soro em aplicações de produtos de consumo. **Leites e Derivados**, São Paulo, ano VIII, n.46, p.48-50, maio/jun. 1999.

DAVE, R.I.; SHAH, N.P. Viability of yoghurt and probiotic bacteria in yoghurts made from commercial starter cultures. **International Dairy Journal**, n. 7, p. 31-41, 1997.

DE ANGELIS, R. C. Alimentos de origem vegetal são saudáveis: verdades e alguns questionamentos. **Nutrição em Pauta**, ano X, n. 57, p. 30-34, 2002.

DEMARCHI, F.R. Avaliação química e sensorial de bebida Láctea não fermentada com adição de suco de abacaxi. Curso Superior de Tecnologia em Alimentos. Medianeira, 2003.

DUNE, C. Adaptation of bacteria to the intestinal niche: probiotics and gut disorder. **Inflammation Bowel Disorders**, v.7, p.136-145, 2001.

FARIA, E. V., YOTSUYANAGI, K. **Técnicas de Análise Sensorial**, Campinas: ITAL/LAFISE, 2002. 116 p.

FERREIRA, V. L. ; ALMEIDA, T. C. A.; PERTINELLI, M. L. C. V.; SILVA, M. A. A. P.; CHAVES, J. B. P. Análise Sensorial. Testes discriminativos e afetivos. Manual-Série Qualidade. Campinas: PROFQUA/SBCTA, 2000. 127p.

FERREIRA, C. L. L. F. **Produtos Lácteos Fermentados, Aspectos Bioquímicos e Tecnológicos**, Viçosa-MG, 1999. 96 p.

FERREIRA, C. L. L. F. **Acidez em Leites e Produtos Lácteos: Aspectos Fundamentais**, Viçosa: UFV, 1999, 26 p.

FERREIRA, C. L. L. F. **Prebióticos e Probióticos: Atualização e Prospecção**, Viçosa-MG, v. 01, p. 26, 2003.

FONTAN, R. C. I.; MINIM, L. A.; BONOMO, R. C. F.; COIMBRA, J. S. R.; SARAIVA, S. H.; MINIM, V. P. R. Utilização de técnicas adsorptivas na purificação de proteínas do soro de queijo. **Revista do Instituto de Laticínios "Candido Tostes". Anais do XIX**

**Congresso Nacional de Laticínios.** Juiz de Fora-MG, v. 58, n. 333, p. 210-214, jun./ago. 2003.

FREITAS, D.D.G.C., JACKIX, M.N.H. Estabilidade de fruto-oligossacarídeos adicionado em suco misto de laranja e cenoura. In: XVIII CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 2002. **Anais...** Porto Alegre: XVIII Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 2002. p.1.819-1.823.

FUCHS, R.H.B.; BORSATO, D.; BONA, E.; HAULY, C. O. "logurte" de soja suplementado com oligofrutose e inulina. **Revista de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.25, n.1, 2005.

FULLER, R. Modulation of the intestinal microflora by probiotics. **Nestlé Nutrition Workshop Series**, v. 42, p. 33-45, 1999.

FULLER, R.; GIBSON, G.R.; Modification of the intestinal microflora using probiotics and prebiotics. **Scandinavian Journal of Gastroenterology**, v.32, Supl. 222, p.28-31, 1997.

GALVÃO, L. P. Inovando em produtos lácteos através de conceitos nutricionais. **Revista Indústria de Laticínios**, n. 40, p. 42-44, jul./ago. 2002.

GAUDREAU, H.; CHAMPAGNE, C.P.; JELEN, P. The use of crude cellular extracts of *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* 11842 to stimulate growth of a probiotic *Lactobacillus rhamnosus* culture in milk. **Enzyme and Microbial Technology**, n.36, p.83-90, 2005.

GIBSON, G. R.; FULLER, R. Aspects of *in vitro* and *in vivo* research approaches directed toward identifying probiotics and prebiotics for human use. **Journal of Nutrition**, p.391-395, 2000.

GIBSON, G. R.; ROBERFROID, M. B. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. **Journal of Nutrition**, p.125-126, 1995.

GOMES, A. M. P. F. X.; MALCATA, F. A. M. Incorporation and survival of *Bifidobacterium* sp. and *Lactobacillus acidophilus* strain Ki in cheese product. **Milk Dairy** n. 49, p.71-95, 1995.

GOMES, A.M.P., MALCATA, F.X. Agentes probióticos em alimentos: aspectos fisiológicos e terapêuticos, e aplicações tecnológicas. **Boletim de Biotecnologia Alimentar**, São Paulo, n. 64, p. 12-22, 1999.

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

GUARNER, F.; PERDIGON, G.; CORTIER, G.; SALMINEN, S.; KOLETZKO, B.; MORELLI, L. Should yogurt cultures be considered probiotic? **British Journal of Nutrition**, n. 93, p. 783–786, 2005.

HAMMES, W. P.; VOGEL, R. F. The genus *Lactobacillus* in the lactic acid bacteria, **The Genera of Lactic Acid Bacteria**, London, Blackie Academic, v. 2, p. 19-54, 1995.

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

HOLZAPFEL, W. H., HABERER, P.; SNEL, J.; SCHILLINGER, U.; HUISIN'TVELD, J. H. J. Overview of gut flora and probiotics. **International Journal of Food Microbiology**, v.41, p. 85-101, 1998.

HOLZAPFEL, W.H.; SCHILLENGER, U. Introduction to pre-and probiotics. **Food Research International**, v.35, p.109-116, 2002.

HUGUNIN, A. O uso de produto de soro em iogurtes e produtos lácteos fermentados. **Leite e Derivados**, São Paulo, ano IX, n. 49, p. 22-33, nov./dez. 1999.

IDF/ISO/AOAC GROUP E-104,1995. Detection and enumeration of *Lactobacillus acidophilus*. **Bulletin of the International Dairy Federation**, n.306, p. 23-33, 1995.

ISHIBASHI, N.; YAMAZAKI, S. Probiotics and safety. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.73, Supl. 425-470, 2001.

JELLEN, P.; LUTZ, S. Functional milk and dairy products. In: MAZZA, G., ed. **Functional foods: biochemical and processing aspects**. Lancaster: Technomic Publishing, 1998. p.357-381.

KIMURA, Y. O. Alimentos simbióticos: combinação de microrganismos probióticos com ingredientes prebióticos representa um nova oportunidade no desenvolvimento de produtos lácteos saudáveis. **Revista Indústria de Laticínios**, n. 40, p. 22-24, jul./ago. 2002.

KOURKOUTAS, Y.; XOLIAS, V.; KALLIS, M.; BEZIRTZOGLU, E.; KANELLAKI, M. *Lactobacillus casei* cell immobilization on fruit pieces for probiotic additive, fermented milk and lactic acid production. **Process Biochemistry**, v.40, p.411-416, 2005.

KLAVER, F.A.M.; KINGMA, F.; WEERKAMP, A.H. Growth and survival of bifidobacteria in milk. **Netherlands Milk Dairy Journal**. v. 47, p. 151-164. 1993.

KRZEWINSKI, F., BRASSART, C., GAVINI, F. and BOUQUELET, S. Characterization of the lactose transport system in the strain *Bifidobacterium bifidum* DSM20082, **Current Microbiology**, n. 32, p. 301-307, 1996.

Lin, W.H.; HWANG, C.F.; CHEN, L.W.; TSEN, H.Y. Viable counts, characteristic evaluation for commercial lactic acid bacteria products. **Food Microbiology**, v.23, p. 74-81, 2006.

LOPES, C. G. **Alimentos Funcionais**. Parte III, 4 de novembro de 2002. Disponível em: <http://www.acesa.com/viver/arquivo/nutricao/2002/11/04-Cristina>. Acesso em: 28 de maio de 2006.

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

MACFARLANE, G.T.; CUMMINGS, J. H. Probiotics and prebiotics: can regulating the activities of intestinal bacteria benefit health? **British Medicine Journal**, v.318, p.999-1003, 1999.

MACHADO, R. M. G.; FREIRE, V.H.; SILVA, P. C. Tratamento de efluentes em pequenas e médias indústrias de laticínios. **Revista Ação Ambiental**, p. 15-17, 2000.

MACIEL, J. F.; BONOMO, P.; NETO, B. A. M.; BARACHO, P. C.; SOUZA, M. R.; BONOMO, R. C. F.; SOUZA, A. O. Determinação de características físico-químicas de pão de forma elaborado com soro de queijo. **Revista do Instituto de Laticínios "Candido Tostes". Anais do XIX Congresso Nacional de Laticínios**, Juiz de Fora-MG, v. 58, n. 333, p. 44-49, jun./ago. 2003.

MARTEAU, R.P.; de VRESE, M.; CELLIER, C.J.; SCHREZENMEIR, J. Protection from gastrointestinal diseases with the use of probiotics. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.73, Supl. 430-436, 2001.

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

MEILE, L., LUDWIG, W., RUEGER, U., GUT, C.; KAUFMANN, P., DASEN, G.; WENGER, S.; TEUBER, M. *Bifidobacterium lactis* sp. a moderately oxygen tolerant species isolated from fermented milk. **Systematic and Applied Microbiology**, v. 20, p. 57-64, nov.1997.

MEILGAARD, M.; CIVILLE, G. V.; CARR, B. T. **Sensory Evaluation Techniques**, 3<sup>a</sup> ed, Washington: CRC Press, 1999, p. 387.

MENRAD, K. Market and marketing of functional food in Europe. **Journal of Food Engineering**, v.56, .181-188, 2003.

MICANEL, N.; HAYNES, I.N.; PLAYNE, M.J. Viability of probiotic cultures in commercial Australian yogurts. **Australian Journal of Dairy Technology**,v.50, n.2, p.51-57, 1997.

MING, P. Proteínas de Soro em Alimentos Funcionais. Ingredientes Inovadores Funcionais: Tendências. **US Dairy Export Council**, 2002.

MONTEIRO, C.L.B. **Técnicas de avaliação sensorial**. Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos (CEPPA). 2.ed. Curitiba: Universidade Federal do Paraná; 1984.

MUÑOZ, A.M.; CIVILLE, G. V.; CARR, B. T. **Sensory evaluation in quality control**. New York: Van Nostrand Reinhold, 1992. p. 240.

MUÑOZ, A. M. Análise sensorial en el control de calidad. In: ALMEIDA, T.C.A., HOUGH, G.; DAMÁSIO, M. H.; DA SILVA, M. A. A. P. **Avanços em Análise Sensorial**, São Paulo: Varela, p.63-67, 1999.

NEVEN, Erik. Inulina e oligofrutose-ingredientes multifuncionais para o desenvolvimentos de produtos lácteos. **Leite e Derivados**, ano XI, n. 61, p. 32 – 37, nov/dez. 2001.

NEVES, B. S. Elaboração de bebidas lácteas a base de soro. **Leite e Derivados**, São Paulo/SP, ano II, n. 10, p. 50-54, maio/ jun. 1993.

NITSCHKE, M.; UMBELINO, D. C. Frutooligossacarídeos: Novos Ingredientes Funcionais. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 36, n. 1, p.19-26, jan/jun. 2002.

OHASHI, Y.; UMESAKI, Y.; USHIDA, K. Transition of the probiotic bacteria, *Lactobacillus casei* strain Shirota, in the gastrointestinal tract of a pig. . **International Journal of Food Microbiology**, v.96, p.61-66, 2004.

OSTLIE, H.M.; HELLAND, M.H.; NARVHUS, J.A. Growth and metabolismo f selected strains of probiotic bactéria in milk. **International Journal of Food Microbiology**, n.87, p.17-27, 2003.

OSTLIE, H.M.; TREIMO, J.; NARVHUS, J.A. Effect of temperature on growth andmetabolism of probiotic bacteria in milk. **International Dairy Journal**, v.15, p.989-997, 2005



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

PEREIRA, C. F. ; AMARAL, M. C. A aplicação da análise sensorial na indústria de alimentos. **Alimentos e Tecnologia**, São Paulo: Grupo Brasil Rio, v. 12, n. 72, 1997.

PEREIRA, M.A.G. Efeito do teor de lactose e do tipo de cultura no processo de acidificação e pós-acidificação de iogurte. Campinas: FEA/UNICAMP, 2002. [Dissertação de Mestrado].

PENNA, C. Lactobacillus acidophilus e a indústria de laticínios. **Revista Leite e Derivados**, nº 66, setembro/outubro 2002.

PORTUGUAL, J. A. B.; CASTRO, M. C. D.; SILVA, P. H. F.; SAVINO, A. C.; NEVES, B.S.; ARCURI, E. F. **O agronegócio do leite e os alimentos lácteos funcionais**. Juiz de Fora: EPAMIG/ILCT, 2001. 204 p.

RANHOTRA, G.S.; GELROTH, J.A.; LEINEN, S. D.; RAO, A. Bioavailability of calcium in a high calcium whey fraction. **Nutrition Research**, v.17, n. 11/12, p.1663- 1670, 1997.

RASTALL, R.; MAITIN, V. Probiotics and synbiotics: towards the next generation. **Current opinion in biotechnology**, v.13, p. 490-496, 2002.

ROLFE, R.D. The role of probiotic cultures in the control of gastrointestinal health. **Journal of Nutrition**, v.130, Supl. 396-420, 2000.

SAAVEDRA, J. M. Agentes probióticos: aplicações clínicas em lactentes e crianças. In: **Temas de Pediatria Nestlé**- Número Especial, 2000.

SALMINEM, S.; ISOLAURI, E.; SALMINEM, E. Clinical uses of probiotics for stabilizing the gut mucosal barrier: Successful strains and future challenges in Antonie van Leeuwenhoek, n. 70, p. 347-358, 1996.

SANDERS, M.E. Considerations for the use of probiotic bacteria to modulate human health. **Journal of Nutrition**, v.130, Supl.384-390, 2000.

SCHERNER, M. Estudo da influência de diferentes concentrações de extrato seco total sobre a fermentação do iogurte. Curso Superior de Tecnologia em Alimentos, UTFPR, Medianeira, 2003.

SCOTT, R. **Fabricacion de queso**. Zaragoza, ed. Acribia, 1991.

SGOBATI, B.; BIAVATI, B. & PALENZONA, D. The genus Bifidobacterium in The Lactic Acid Bacteria. **The Genera of Lactic Acid Bacteria**, London, v. 2, p. 279-306, Blackie Academic, 1995.

SILVA, R. F. Use of inulin as a natural texture modifier. **Cereal Foods World**, St. Paul, v. 41, n. 10, p.792-795, 1996.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N. F.A, **Manual de Métodos de análise microbiológica dos alimentos**, São Paulo: Varela, 1997

SIQUEIRA, I. M. C.; SOUZA, M. R.; CERQUEIRA, M. M. O. P.; GLÓRIA, M. B. A. Caracterização físico-química de quatro tipos de soro de queijo. **Revista do Instituto de Laticínios “Candido Tostes”**. **Anais do XIX Congresso Nacional de Laticínios**, Juiz de Fora-MG, v. 57, n. 327, p. 225-227, jun./ago. 2002.

SIQUEIRA, I. M. C.; SOUZA, M.; CERQUEIRA, M.; GLÓRIA, M. B. Importância e utilização dos derivados de soro de queijo. **Higiene Alimentar**, v. 16, n. 97, jun. 2002.

SOUZA, P. H. M.; SOUZA, N. M. A.; MAIA, G. A. Componentes Funcionais nos Alimentos. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia em Alimentos**, Campinas, v. 2, n. 37, p. 127-135, 2003.

Stanton, C.; Gardiner, G.; Meehan, H.; Collins, K.; Fitzgerald, G.; Lynch, P.B.; et al. Market potencial for probiotics. **American Journal of Clinical Nutrition**, n. 73, p.476-483, 2001.

THAMER, K. G., PENNA, A.L.B. Efeito do teor de soro, açúcar e de frutooligossacarídeos sobre a população de bactérias lácticas probióticas em bebidas fermentadas. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 41 n.3, São Paulo, jul/set. 2005.

TANNOCK, G. W. Role of probiotics. In: GIBSON, G.R.; MACFARLANE, G.T., Human colonic bacteria: role in Nutrition, Physiology and Pathology. London: CRC Press, 1995, p.257-271.

TEIXEIRA, E.; MEINERT, E.M.; BARBETTA, P. A. **Análise Sensorial de Alimentos**. Florianópolis: UFSC, 1987. 180 p.

TUOHY, K.M.; PROBERT, H.M.; SMEJKAL, C. W.; GIBSON, G.R. Using probiotics and prebiotics to improve gut health. **Therapeutic focus reviews**, v.8, n.15, p.692-700, 2003.

USHIJIMA, H. H. Oligossacarídeos e suas propriedades funcionais. **Indústria de Laticínios**, jul/ago. 2001.

VESA, T. H.; MARTEAU, P.; ZIDI, S.; BRIET, F.; POCHART, P.; RAMBAUD, J.C. Digestion and tolerance of lactose from yoghurt and different semi-solid fermented dairy products containing *Lactobacillus acidophilus* and bifidobacteria in lactose maldigesters—Is bacterial lactase important? **European Journal of Clinical Nutrition**, n. 50, p.730-733, 1996.

VESA, T. H.; MARTEAU, P.; KORPELA, R. Lactose intolerance. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 19, n. 90002, 165S-175S ,2000.

VIEIRA, Priscila. Secagem: uma alternativa rentável. **Leite e derivados**, São Paulo/SP, ano IX, n. 49, 1999.

ZACARCHENCO, P. B.; MASSAGUER-ROIG, S. Avaliação sensorial, microbiológica e de pós-acidificação durante a vida-de-prateleira de leites fermentados contendo *Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium longum* e *Lactobacillus acidophilus*. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.24, n.4, out/dez, 2004.

**ANEXOS**

**ANEXO A - Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da  
Universidade Federal de Santa Catarina**



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA COM SERES HUMANOS  
PARECER CONSUBSTANCIADO - PROJETO N ° 380/05**

**I – Identificação:380/05**

**Título do Projeto:** Elaboração de uma bebida simbiótica a partir de um soro lácteo

**Pesquisador Responsável:** Prof. Dr. Honório Domingos Benedet

**Pesquisador Principal:** William Artur Phillip Louis Naidoo Terroso de Mendonça Brandão

**Data Coleta dados:** fevereiro a março de 2006

**Local onde a pesquisa será conduzida:** Departamento de Ciências Agrárias – PG em ciências de alimentos - UFSC e Universidade Tecnológica Federal do Paraná – campus de medianeira (PR)

**II - Objetivos:**

- a) geral:** Desenvolver bebida fermentada simbiótica a partir de soro de leite com utilização de fermento liofilizado DVS com estirpes de microorganismos probióticos, inulina e saborizada com polpa de frutas. Avaliar sensorialmente o produto pelo consumidor final para verificar a aceitabilidade do novo produto utilizando testes de escala hedônica de sete pontos e o teste de comparação múltipla. Esta análise sensorial será feita por julgadores treinados e posteriormente por julgadores não – treinados.

**III - Sumário do Projeto :** Projeto de Dissertação de William A.P.L.N.T. de M. Brandão. Estudo em 3 etapas: a) definir 3 a 4 tratamentos com culturas lácteas diferentes; b) avaliação físico- química e microbiológica do produto lácteo nas suas diversas formas; c) avaliação sensorial quando será avaliada a aceitabilidade do produto por provadores não- treinados treinados (50) representando os consumidores finais.

**IV – Comentário:** TCLE menciona 100 probandos e o projeto define como amostra 50 probandos. Falta o nome do pesquisador principal na folha de rosto. Não há orçamento detalhado. Corrigir a palavra “consentimento” no TCLE. O TCLE deve ser INDIVIDUAL e não na forma de abaixo - assinado.

**Parecer final: Tendo sido atendidas as pendências, somos de parecer que este projeto seja aprovado**

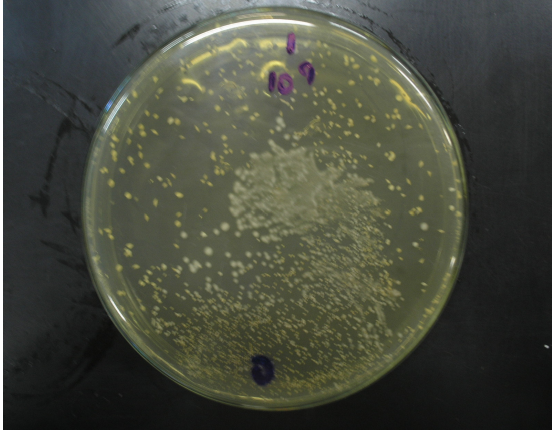
Aprovado *ad referendum* (x)

Florianópolis, 29 de junho de 2006.

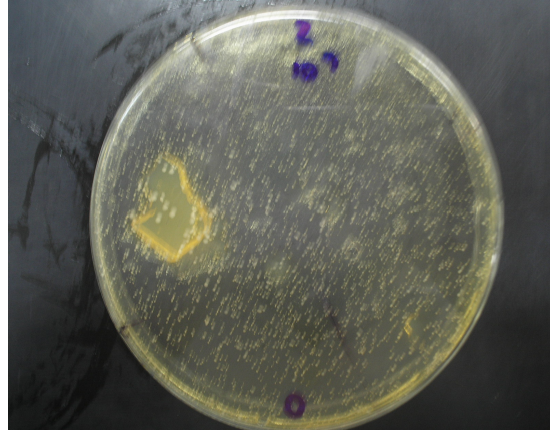
**Prof. Washington Portela de Souza**  
Coordenador em Exercício da Comissão  
de Ética Pesquisa - PRPe/UFSC.

Washington Portela de Souza  
Coordenador Cep/UFSC  
Fonte: CONEP/ANVS – Resoluções 196/96 e 251/97 do CNS.

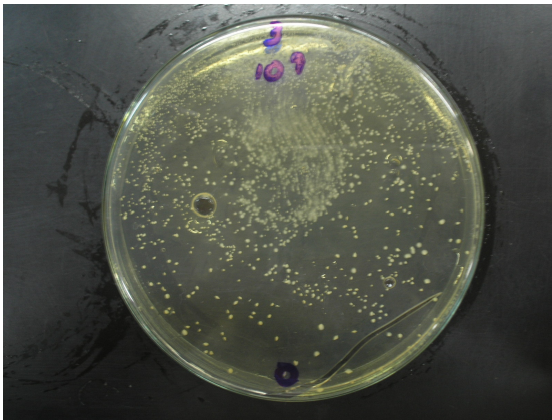
**ANEXO B** - fotos referentes à contagem de *Lactobacillus acidophilus* no primeiro dia de armazenamento dos seis tratamentos em estudo.



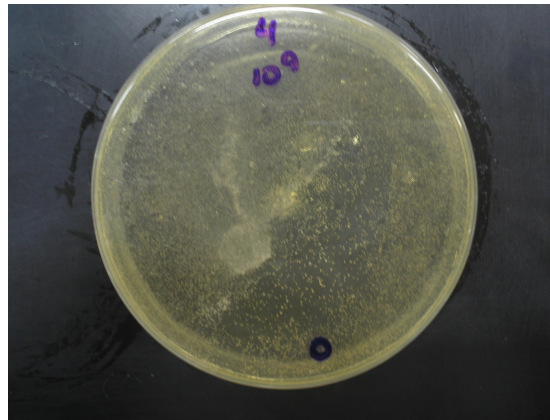
1 - Contagem do T1 (0 dia)



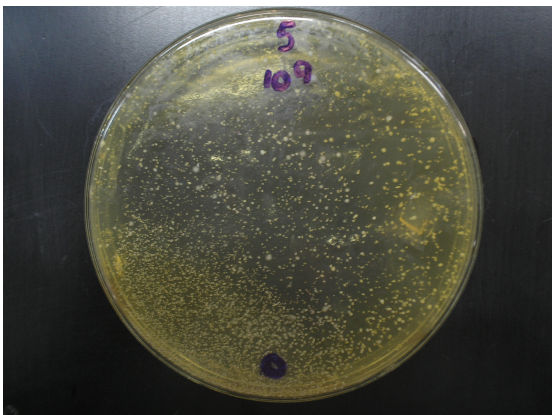
2 - Contagem do T2 (0 dia)



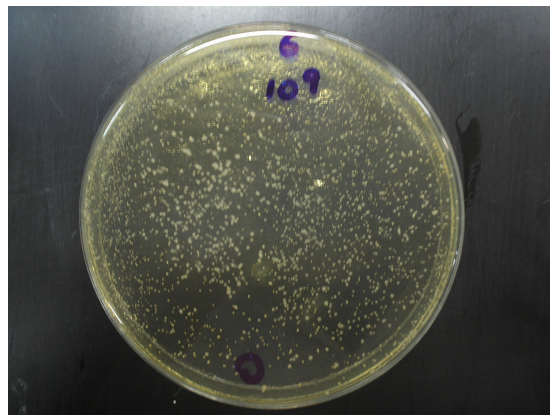
3 - Contagem do T3 (0 dia)



4 - Contagem do T4 (0 dia)



5 - Contagem do T5 (0 dia)



6 - Contagem do T6 (0 dia)

**ANEXO C - Ficha de Avaliação do Teste de Aceitação - Escala Hedônica****Teste de Escala Hedônica**

Nome:

Data:

**Instruções:** Deguste cuidadosamente cada uma das amostras e utilize a escala abaixo para expressar o quanto você gostou ou desgostou do produto.

- 1= desgostei muitíssimo
- 2= desgostei muito
- 3= desgostei regularmente
- 4= desgostei ligeiramente
- 5= indiferente
- 6= gostei ligeiramente
- 7= gostei regularmente
- 8= gostei muito
- 9= gostei muitíssimo

<b>AMOSTRA</b>	<b>COR</b>	<b>SABOR</b>	<b>AROMA</b>	<b>CONSISTÊNCIA</b>
<b>937</b>				
<b>246</b>				
<b>358</b>				
<b>217</b>				
<b>425</b>				

**Observações:** \_\_\_\_\_

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)



[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)