

**Universidade de São Paulo  
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

**Utilização de diferentes substratos e culturas lácteas comerciais  
empregadas na produção de bebidas lácteas**

**Marina Chagas Dias**

Dissertação apresentada para obtenção do título  
de Mestre em Ciências, Área de concentração: Ciência  
e Tecnologia de Alimentos

Piracicaba  
2008

# **Livros Grátis**

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

Milhares de livros grátis para download.

Marina Chagas Dias  
Engenheiro de Alimentos

**Utilização de diferentes substratos e culturas lácteas comerciais empregadas na  
produção de bebidas lácteas**

Orientador:  
Prof. Dr. **JORGE HORII**

Dissertação apresentada para obtenção  
do título de Mestre em Ciências. Área de  
concentração: Ciência e Tecnologia de  
Alimentos

Piracicaba  
2008

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - ESALQ/USP**

Dias, Marina Chagas

Utilização de diferentes substratos e culturas lácteas comerciais empregadas na produção de bebidas lácteas / Marina Chagas Dias. - - Piracicaba, 2008.  
67 p. : il.

Dissertação (Mestrado) - - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2008.  
Bibliografia.

1. Bactérias lácticas 2. Bebidas 3. Fermentação láctica 4. Leite – Produtos derivados  
Probióticos 6. Soja – Produtos derivados I. Título

CDD 637.146  
D541u

**“Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor”**

**DEDICO**

*Aos meus pais, Maria e Tadeu  
e ao meu irmão Thiago,*

*para que a distância que nos separa  
seja sempre a força que mantém  
os nossos corações unidos.*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

A Deus por olhar por mim durante toda minha vida e iluminar meu caminho em todos os momentos.

Aos professores Dr. Jorge Horii e Dra. Taís Helena Lacerda que me deram a oportunidade de desenvolver esse trabalho e acima de tudo repartiram comigo um pouco de seus conhecimentos sob todos os aspectos.

A Universidade Metodista de Piracicaba – UNIMEP, sob a pessoa da professora Dr. Tais Helena Lacerda, pela permissão do uso do equipamento de fermentação e materiais utilizados nesse trabalho.

Aos funcionários do Laboratório de Alimentos (UNIMEP) Claudemir e Zenaide e ao amigo de universidade Bruno pela ajuda, ensinamentos e dicas no trabalho laboratorial.

Aos meus amigos da pós-graduação Isis, Paula, Cristiane, Ana Claudia, Ingridy, Ligiane, André, Ricardo, pela amizade, companheirismo e ajuda em vários momentos da minha vida.

## SUMÁRIO

RESUMO.....	7
ABSTRACT .....	9
LISTA DE FIGURAS .....	11
LISTA DE TABELAS .....	13
1 INTRODUÇÃO.....	15
2 OBJETIVO .....	17
2.1 Objetivo Geral.....	17
2.2 Objetivos Específicos .....	17
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	18
3.1 Alimentação e Leites Fermentados .....	18
3.2 Bebidas Lácteas .....	20
3.2.1 Matérias-primas para Bebidas Lácteas .....	21
3.2.1.1 Leite Desnatado / Leite Reconstituído.....	22
3.2.1.2 Soro de Queijo .....	22
3.2.1.3 Soja e Derivados .....	24
3.2.2 Cultura Láctea .....	28
3.2.3 Processo de Elaboração das Bebidas Lácteas .....	32
3.2.4 Qualidade da Bebida Láctea .....	36
4 MATERIAL E MÉTODOS .....	37
4.1 Material.....	37
4.2 Condução Experimental .....	38
4.3 Modelagem.....	39
4.4 Métodos Analíticos e Microbiológicos para o Monitoramento da Fermentação	
40	
4.4.1 Acidez Titulável.....	40
4.4.2 Determinação de pH.....	41
4.4.3 Análises Microbiológicas .....	41
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	42
5.1 Cinética do Processo Fermentativo Empregando Cultura Tradicional.....	42

5.2	Cinética do Processo Fermentativo empregando Cultura Contendo Organismos Probióticos .....	49
6	CONCLUSÕES.....	59
	REFERÊNCIAS.....	61



## RESUMO

### Utilização de diferentes substratos e culturas lácteas comerciais empregadas na produção de bebidas lácteas

Estudou-se a cinética do processo de produção de bebidas lácteas por fermentação mantida a 42°C em sistema descontínuo. As bebidas foram preparadas a partir de uma base láctea de leite desnatado e soro de queijo doce e com substituição parcial realizada com extrato solúvel de soja em pó, utilizando 2 culturas lácticas comerciais, representadas pela cultura tradicional, *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* e pela cultura contendo organismos probióticos, *S. thermophilus*, *L. bulgaricus*, *Bifidobacterium* e *Lactobacillus acidophilus*. O processo foi monitorado pelas análises de pH - uso de pHmetro digital (GEHAKA, PG1000) - , acidez (g ácido láctico/L) - titulação com solução de NaOH 0,1N, usando como indicador a solução de fenolftaleína 1,0% - e pelas contagens microbiológicas, sendo realizadas do início da fermentação (t=0) até o pH próximo a 4,6. Para a contagem de bactérias lácticas totais, lactobacilos, estreptococos e organismos probióticos foram empregados os meios Agar MRS, Agar MRS acidificado com 0,05% de HCl-L-cisteína, Agar M17 e Agar MRS adicionado de 0,3% de extrato de bile, respectivamente. As alíquotas, retiradas do processo fermentativo foram diluídas em água peptonada 0,1%. Inoculou-se 1mL da diluição em meio fundido e em seguida as placas foram homogeneizadas e submetidas à incubação em jarras herméticas, na temperatura de 42°C, por 48 horas, utilizando-se um produtor de microaerofilia (Anaerobac – Probac do Brasil). As velocidades instantâneas de produção de ácido láctico (g/L/h) e de crescimento celular (UFC/L/h) foram obtidas a partir do Modelo de Sinclair e Cantero (1990). A bebida, produzida com substrato contendo somente base láctea e cultura tradicional (Trat.1), foi a que necessitou de maior tempo (3h30) para que o pH se aproximasse de 4,6, sendo que quando empregou-se cultura contendo organismos probióticos, (Trat. 3), o tempo necessário para atingir esse pH foi de 3h. Na substituição parcial de sólidos pelo extrato solúvel de soja, representado pelas bebidas obtidas pelos tratamentos 2 e 4, verificou-se a necessidade de 3h e 2h30min respectivamente, para o pH aproximar de 4,6. Em relação à acidez expressa em g ácido láctico/L, várias bebidas não atingiram o valor estabelecido pelo padrão de identidade de bebidas lácteas (BRASIL, 2005 a), variando entre todos os tratamentos. Percebeu-se ainda que o tempo para atingir o valor máximo das velocidades instantâneas de crescimento das bactérias lácticas e estreptococos atingiram 3h, independente do substrato utilizado na fermentação, enquanto, empregando a cultura probiótica, a velocidade máxima de crescimento de bactérias lácticas (dX/dt) ocorreu em 2h no tratamento com base láctea (Trat. 3) e 1h na bebida com substituição parcial da base láctea (Trat. 4). As máximas velocidades instantâneas relativas às culturas de estreptococos nos tratamento 3 e 4 ocorreram em 3 e 1h respectivamente. Quanto aos dX/dt máximos referente ao crescimento de lactobacilos verificou-se a necessidade de 2h e 1h respectivamente, enquanto para os organismos probióticos foi de 2h, em substrato base láctea e 1h quando do emprego de substrato com substituição parcial da base láctea por extrato de soja.

Palavras-chave: Bebida láctea; Soro de queijo; Extrato solúvel de soja; Culturas lácteas comerciais; Estudo cinético do processo fermentativo

## ABSTRACT

### Use of different commercial milk cultures and substrates employed in production of dairy drinks

It was studied the kinetics from production of milk drinks by fermentation maintained at 42 ° C in a batch system. The drinks were prepared from a base of skimmed milk and whey sweet cheese with a partial replacement performed with soluble extract of soybean powder, and the employment of 2 lactic commercial crops, represented by the traditional culture, containing *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* and the probiotic culture, containing *S. thermophilus*, *L. bulgaricus*, *Bifidobacterium e Lactobacillus acidophilus*. The process was monitored by the analysis of pH - digital pHmetro (GEHAKA, PG1000), acidity (g lactic acid / L) - titration with 0.1 N NaOH solution, using as an indicator of phenolphthalein solution 1.0% and the total counts of organisms. Being held at the beginning of fermentation (t = 0) until the pH near the pH 4.6. For lactic total count of bacteria, lactobacilli, streptococci and probiotic organisms were employed MRS Agar, Agar MRS acidified with 0.05% HCl-L-cysteine, M17 and Agar Agar MRS added of 0.3% of extract of bile, respectively. The aliquots withdrawn from the fermentation process were diluted in water peptone 0.1%. Inoculated up 1mL of dilution in means and then mixed up the plates that were then subjected to incubation in hermetic jars in temperature of 42°C for 48 hours using a producer of microaerophilic (Anaerobac – Probac do Brasil). The speeds of instant production of lactic acid (g/L/h) and cellular growth (CFU/L/h) were obtained from the model of Sinclair and Cantero (1990). The drink, produced with only basic substrate containing milk and traditional culture (Trat.1) was that needed more time (3:30) to the pH of 4.6 approaches, and that when the employment of culture containing probiotic organisms, even with substrate (Trat. 3), the time needed was 3h. When the partial replacement of the solid soluble extract of soybean, represented by drinks obtained by treatments 2 and 4, there is a need for 3 and 2:30 respectively, to bring the pH of 4.6. As the acidity in g lactic acid / L, it was found that several drinks not reached the value set by standard of identity for milk drinks (BRASIL, 2005 a) ranging from all treatments. It was noticed that the time to achieve the maximum speeds of instant speed of growth of lactic acid bacteria streptococci and reached its peak in 3h, independent of the substrate used in fermentation, while employing the probiotic culture, it was found that the maximum speed of growth of lactic acid bacteria occurred in 2h in treatment based milk (Trat. 3) and in 1h drink with a partial replacement of basic milk (Trat. 4). The maximum speeds instant on the cultures of Streptococci treatment in 3 and 4 occurred in 3 and 1 h respectively. For dX / dt maximum for the growth of lactobacilli there is a need to 1h and 2h respectively, while the bodies of probiotics was 2h, when the employment base substrate of milk and 1am when the employment of substrate with a partial replacement of the database by extract soya milk.

Keywords: Drink milk; Serum of cheese; Soluble extract of soybean, Milk commercial crops; Kinetic study of the fermentation process

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Fluxograma de produção de bebida láctea .....	33
Figura 2 – Acompanhamento do pH e acidez na bebida láctea (Trat. 1) .....	43
Figura 3 – Velocidade instantânea de produção de ácido láctico na bebida láctea (Trat. 1) .....	44
Figura 4 – Log da UFC de bactérias lácticas totais e estreptococos/mL na bebida láctea (Trat. 1).....	45
Figura 5 – Velocidade instantânea de crescimento de bactérias lácticas totais e estreptococos (Trat.1) .....	45
Figura 6 – Acompanhamento do pH e acidez (g/L) na bebida láctea (Trat. 2).....	46
Figura 7 – Velocidade instantânea de produção de ácido láctico na bebida láctea (Trat. 2) .....	47
Figura 8 – Log da UFC de bactérias lácticas totais e estreptococos/mL na bebida láctea (Trat. 2).....	48
Figura 9 – Velocidade instantânea de crescimento de bactérias lácticas totais e estreptococos (Trat. 2) .....	48
Figura 10 – Acompanhamento do pH e acidez na bebida láctea com base láctea (Trat. 3).....	49
Figura 11 – Velocidade instantânea de produção de ácido láctico na bebida láctea com base láctea (Trat. 3) .....	50
Figura 12 – Log da UFC de bactérias lácticas totais, estreptococos, lactobacilos e organismos probióticos /mL na bebida láctea (Trat. 3).....	51
Figura 13 – Velocidade instantânea de crescimento de bactérias lácticas totais, estreptococos, lactobacilos e organismos probióticos na bebida láctea com base láctea (Trat. 3).....	53
Figura 14 – Acompanhamento do pH e acidez na bebida láctea com base láctea e extrato solúvel de soja (Trat. 4).....	54
Figura 15 – Velocidade instantânea de produção de ácido láctico na bebida láctea com base láctea e extrato solúvel de soja (Trat. 4).....	55

Figura 16 – Log da UFC de bactérias lácticas totais, estreptococos, lactobacilos e organismos probióticos/mL na bebida láctea com base láctea e extrato solúvel de soja (Trat. 4).....	56
Figura 17 – Velocidade instantânea de crescimento de bactérias lácticas totais e estreptococos, lactobacilos e organismos probióticos na bebida láctea com base láctea e extrato solúvel de soja (Trat. 4).....	57
Figura 18 – Comparativo de acidez final para os diferentes tratamentos.....	58
Figura 19 – Comparativo de velocidade instantânea máxima para os diferentes tratamentos .....	58

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Constituintes, ações no organismo e fontes nos alimentos funcionais .....	20
Tabela 2 – Parâmetros microbiológicos para bebidas lácteas fermentadas .....	37
Tabela 3 – Descrições dos tratamentos de fermentação .....	39
Tabela 4 – pH, acidez (g/L) e velocidade instantânea de produção de ácido láctico (g/L/h) na bebida láctea (Trat.1).....	43
Tabela 5 – Log da UFC de bactérias lácticas totais e estreptococos/mL na bebida láctea com base láctea (Trat. 1).....	44
Tabela 6 – Velocidade instantânea de crescimento de bactérias lácticas totais e estreptococos (Trat.1) .....	45
Tabela 7– pH, acidez (g/L) e velocidade instantânea de produção de ácido láctico (g/L/h) na bebida láctea (Trat. 2).....	46
Tabela 8 – Log da UFC de bactérias lácticas totais e estreptococos/mL na bebida láctea (Trat. 2).....	47
Tabela 9 – Velocidade instantânea de crescimento de bactérias lácticas totais e estreptococos (Trat. 2) .....	48
Tabela 10 – pH, acidez (g/L) e velocidade instantânea de produção de ácido láctico (g/L/h) na bebida láctea (Trat. 3).....	49
Tabela 11 – Log da UFC de bactérias lácticas totais, estreptococos, lactobacilos e organismos probióticos/mL na bebida láctea (Trat. 3).....	51
Tabela 12 – Velocidade instantânea de crescimento de bactérias lácticas totais, estreptococos, lactobacilo e organismos probióticos na bebida (Trat. 3) .....	52
Tabela 13 – pH, acidez (g/L) e velocidade instantânea de produção de ácido láctico (g/L/h) na bebida láctea com base láctea e extrato solúvel de soja (Trat. 4) .....	54
Tabela 14 – Crescimento de bactérias lácticas totais, estreptococos, lactobacilos e organismos probióticos na bebida láctea com base láctea e extrato solúvel de soja (Trat. 4) .....	55

Tabela 15 – Velocidades instantâneas de crescimento de bactérias lácticas totais e estreptococos, lactobacilos e organismos probióticos na bebida láctea com base láctea e extrato solúvel de soja (Trat. 4).....	57
---	----



## 1 INTRODUÇÃO

A busca por produtos saudáveis não é recente, mas talvez nunca se tenha investido tanto no lançamento e divulgação de alimentos funcionais como nos últimos anos. Produtos fermentados a base de leite são considerados alternativas para os consumidores que buscam estilo de vida saudável, considerado de alto valor nutritivo, de sabor fresco e textura agradável (TEBALDI, 2005).

Muitos métodos são utilizados com o intuito de promover a preservação de alimentos, dentre eles a acidificação do leite por fermentação, que teve como principal função e objetivo promover a conservação do produto original. Atualmente o objetivo do método é o da obtenção do produto final, o leite fermentado, destacando-se o mais conhecido o iogurte, produto de textura e “flavor” muito apreciados, fonte protéica e que assume um importante significado comercial (LEE: SALMINEM, 1995; SABOYA; OETTERER; OLIVEIRA, 1997).

Para a formação do ácido láctico nos leites fermentados, são adicionados à matéria-prima, bactérias como *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*. Também se fala na adição de microrganismos probióticos, os microrganismos vivos capazes de melhorar o equilíbrio microbiano intestinal produzindo efeitos benéficos à saúde do indivíduo, de acordo com Resolução RDC ANVISA n.º 2 de 7/01/2002 (VIANA, 1987; DAVE; SHAH, 1997; ALMEIDA; BONASSI; ROÇA, 2001; FRANCO; LANDGRAF, 2004; OSTLIE; TREIMO; NARVHUS, 2005; TEBALDI, 2005).

*Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium* são exemplos de bactérias que possuem este perfil (CORTHER, 2005). O benefício à saúde pode estar vinculado ao aumento do metabolismo de lactose, a atividade antimicrobiana e anticarcinogênica, a proteção contra distúrbios gastrintestinais, a propriedades anticolesteromias, a manutenção do balanço gastrintestinal, a atividade e a estimulação da resposta imune (SABOYA; OETTERER; OLIVEIRA, 1997; SCALABRINI et al, 1998; CHOU; HOU, 2000; AWAISHEH; HADDADIN; ROBINSON, 2005; DOLEYRES; LACROIX, 2005; MADUREIRA et al, 2005).

Com o aumento da procura por alimentos saudáveis, a soja, já aceita há milhares de anos no Oriente, vem sendo muito estudada e melhor aproveitada. Conhecida por possuir proteínas de qualidade, também possui em sua constituição isoflavonas (CHOU; HOU, 2000; TSANGALIS; SHAH, 2004; EMBRAPA SOJA, 2006c; STELLA, 2006 b).

Um número cada vez maior de produtos alimentícios que contêm proteína de soja leva a um aumento imensurável de uma nova geração de ingredientes à base destas proteínas para desenvolver produtos de sabor agradável e nutritivos.

Para melhor aceitação da soja, esta é utilizada em sua forma industrializada como, por exemplo, o extrato solúvel de soja (RODRIGUES; GOZZO; MORETTI, 2003). O uso “médico” da soja está relacionado à prevenção de doenças crônicas, do câncer, das doenças cardiovasculares, da tensão pré-menstrual (TPM), do climatério (menopausa), da osteoporose, à ação como antioxidante e o uso como fonte protéica para dietas enterais (RODRIGUES; GOZZO; MORETTI, 2003; FELIX, 2005; TEBALDI, 2005; EMBRAPA SOJA, 2006b; SANTOS, 2006).

Aliado à soja, o soro de queijo também entra como uma das mais importantes matérias-primas já que cerca de 20% das proteínas do leite estão presentes no soro e contém em média 1,0% de proteína de alto valor nutricional, 0,5% de lactose, 0,7% de sais minerais, 0,3% de gordura e 0,00012% de riboflavina (ABREU, 1999; SILVA, 2000; TEIXEIRA, 2002; CARVALHO, 2006).

A utilização de soro de queijo na elaboração de bebidas lácteas constitui-se numa forma de aproveitamento de seu excelente valor nutritivo. Como destacam Almeida, Bonassi e Roça (2001), o consumo dessas bebidas fermentadas que se caracterizam por apresentar baixa viscosidade tem aumentado de maneira notável. Em nosso país, a produção de bebidas lácteas tem alcançado aumento considerável.

O projeto tem por objetivo verificar a influência de diferentes substratos frente as culturas comerciais, tradicionais e contendo organismos probióticos na cinética da fermentação do processo de elaboração de bebidas lácteas e procurar demonstrar as melhores condições para a produção das mesmas, através dos cálculos das velocidades instantâneas de produção de ácido e de crescimento celular.

## 2 OBJETIVO

### 2.1 Objetivo Geral

Avaliar a influência de diferentes substratos no processo fermentativo empregado para a produção de bebidas lácteas e das culturas lácticas comerciais, tradicional e contendo organismos probióticos.

### 2.2 Objetivos Específicos

- ✓ Desenvolver bebidas lácteas fermentadas empregando em suas formulações diferentes substratos, representados por leite desnatado e soro de queijo (bebida branca, segundo BRASIL, 2005 a); e leite desnatado, soro de queijo e extrato solúvel de soja.
- ✓ Verificar a influência dos substratos frente às culturas comerciais: tradicional composta por *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*, e cultura contendo organismos probióticos composta por *S. thermophilus*, *L. bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium sp*;
- ✓ Monitorar o processo fermentativo através do controle de temperatura (42°C), pH, acidez expressa em g/L e crescimento de bactérias lácticas totais, estreptococos, lactobacilos e organismos probióticos; e
- ✓ Definir as melhores condições operacionais para a produção de bebidas lácteas a partir do estabelecimento dos parâmetros cinéticos de fermentação, isto é, a partir das velocidades instantâneas de produção de ácido láctico (g/L/h) e das velocidades instantâneas de crescimento celular (UFC/L/h), empregando modelo de Sinclair e Cantero (1990).

### **3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

#### **3.1 Alimentação e Leites Fermentados**

Alimentos saudáveis têm sido considerados fundamentais na alimentação humana e esta consciência tem se tornado mundial. Quando os consumidores procuram melhores hábitos alimentares são encorajados pela mídia pela procura de pílulas, cápsulas ou bebidas como forma de suplementos (AWAISHEH; HADDADIN; ROBINSON, 2005).

No Brasil, o aumento da expectativa de vida e o crescente aparecimento de doenças crônicas como obesidade, hipertensão, diabetes, câncer entre outras tem levado à preocupação com os hábitos alimentares, seja por parte da população como de órgãos públicos (STELLA, 2006 a).

O consumo de leites fermentados está associado a benefícios a saúde, sendo considerado de alto valor nutritivo, por ser rico em cálcio, proteínas e vitaminas e para as crianças para seu bom desenvolvimento. De sabor fresco quando adicionado de polpa de frutas e aromas e de textura agradável (DAVE; SHAH, 1997; TEBALDI, 2005).

As bebidas lácteas com baixo grau de acidez, são as que se adaptam melhor ao paladar brasileiro e foram responsáveis pelo crescimento de cerca de 17% no mercado de iogurtes em 2005, tendo movimentado cerca de R\$ 2 bilhões neste segmento (AZEVEDO, 2006; TEIXEIRA, 2002).

A fermentação láctea constitui uma das formas mais antigas de conservação de produtos oriundos da agricultura ou da indústria agroalimentar, estando principalmente relacionada com a obtenção de produtos como queijo, iogurte, bebidas lácteas, manteiga, entre outros (SABOYA; OETTERER; OLIVEIRA, 1997).

Para Teixeira (2002), apresentam-se como alternativa de comercialização, por possuir vantagem de serem pasteurizadas, permitindo que a validade do produto seja de 30 dias, tornando-o mais competitivo e de melhor desempenho no mercado, em embalagens diversificadas, oferecendo ao consumidor maior variedade de opções. A

preservação do leite é conseguida pela obtenção da bebida láctea, assim como em outros alimentos, cujas matérias primas são conservadas pela adição de microrganismos, como uma alternativa de conservação, atenuando a preocupação com microrganismos patógenos psicrotóxicos e deteriorantes.

Os produtos lácteos fermentados, adicionados ou não de probióticos e/ou prebióticos, têm ocupado a maior atenção por parte de pesquisadores e da indústria de laticínios (LEE; SALMINEM, 1995; HELANDER; WRIGHT; MATTILA-SANDHOLM, 1997; JELEN; LUTZ, 1998).

A Agência de Vigilância Sanitária (ANVISA), define como Alimentos Funcionais ou Nutracêuticos, como sendo aqueles alimentos que produzem efeitos metabólicos ou fisiológicos através da atuação de um nutriente ou não nutriente no crescimento, desenvolvimento, manutenção e em outras funções normais do organismo humano. Esse termo foi traduzido da expressão "Foods for Specified Health Use" (FOSHU) desenvolvida em 1991 para essa categoria de alimentos.

Na Resolução da ANVISA n.º 18, de 30/04/1999 (BRASIL, 1999), o alimento ou ingrediente que alegar propriedades funcionais ou de saúde pode, além de fornecer funções nutricionais básicas, quando se tratar de nutriente, produzir também efeitos metabólicos e ou fisiológicos e ou efeitos benéficos à saúde, devendo ser seguro para consumo sem supervisão médica.

Essas propriedades podem ser provenientes de constituintes normais do alimento ou pela adição de ingredientes que modifiquem suas propriedades originais. São apresentados na Tabela 1, alguns compostos presentes nos alimentos funcionais e seus respectivos benefícios à saúde (STELLA, 2006 a).

Tabela 1 – Constituintes, ações no organismo e fontes nos alimentos funcionais

<b>Compostos</b>	<b>Ações no organismo</b>	<b>Fontes alimentares</b>
Isoflavonas	Redução dos níveis de colesterol sanguíneo e do risco de doenças cardiovasculares	Soja
Próbióticos	Ajudam no equilíbrio da flora intestinal e inibem o crescimento de microrganismos patogênicos	logurtes, leite fermentado

FONTE: STELLA (2006 a)

### 3.2 Bebidas Lácteas

O Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Bebida Láctea (BRASIL, 2005 a) define bebida láctea como “o produto obtido, a partir da mistura do leite (*in natura*, pasteurizado, esterilizado, UHT, reconstituído, concentrado, em pó, integral, semidesnatado ou parcialmente desnatado e desnatado) e soro de leite (líquido concentrado ou em pó), fermentado mediante a ação de cultivo de microrganismos específicos e/ou adicionado de leite(s) fermentado(s) e que não poderá ser submetido a tratamento térmico após a fermentação”. A base láctea representa pelo menos 51% (cinquenta e um por cento) massa/massa (m/m) do total de ingredientes do produto.

A contagem total de bactérias lácticas viáveis deve ser no mínimo de  $10^6$  UFC/g, no produto final, para o(s) cultivo(s) láctico(s) específico(s) empregado(s), durante todo o prazo de validade (BRASIL, 2005 a). No caso da bebida branca, que só contém leite e soro, o teor de proteína, após a divulgação da Instrução Normativa n.º 16 de 23/08/2005, não pode ser inferior a 1,7g/100 g do produto, sendo elaboradas com, no mínimo, 45% de leite *in natura*.

O tipo de bebida láctea varia de acordo com os produtos alimentícios que podem ser ou não adicionados ao leite e soro, entre eles polpa de frutas, gordura vegetal ou aromas. O novo Regulamento exige que o produto contenha pelo menos 51% de base láctea.

### 3.2.1 Matérias-primas para Bebidas Lácteas

Na elaboração da bebida láctea fermentada faz-se a fermentação da base láctea com cultura denominada láctica tradicional para iogurte, constituída de *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* (VIANA, 1987; DAVE; SHAH, 1997; ALMEIDA; BONASSI; ROÇA, 2001; FRANCO; LANDGRAF, 2004; TEBALDI, 2005).

Embora esta microflora descoberta como sendo benéfica à saúde e nutrição humana têm-se enfatizado o foco sobre o uso de *Lactobacillus acidophilus* e bifidobactérias na fermentação do leite adicionados ou não de outros produtos. Estes microrganismos estão presentes na cultura probiótica e possuem habilidade para tolerância a ácido e bile que permite sua adesão no trato intestinal, proporcionando o controle da flora intestinal, mantendo a saúde e prevenindo doenças (DAVE; SHAH, 1997; OSTLIE; TREIMO; NARVHUS, 2005).

A base láctea serve como fonte de nutrientes e energia para a multiplicação celular e conseqüente produção de ácido láctico. Constituída de leite, em suas diferentes formas, de acordo com o Padrão de Identidade e Qualidade de Bebidas Lácteas, e de soro de leite. Deve representar pelo menos 51% do total de ingredientes do produto (BRASIL, 2005 a).

Na fabricação, é prática comum a adição de leite em pó desnatado à base composta de leite fluído e soro de leite. Essa adição tem como principal objetivo aumentar o conteúdo de sólidos, melhorando as propriedades de corpo e textura do produto final. A adição de estabilizantes como hidrocolóides e caseinato de sódio é feita visando à melhoria da consistência e redução da sinerese.

O uso de soro de queijo vem como participante no fornecimento de nutrientes e energia, auxiliando também no melhoramento da textura, baixa sinerese e melhor índice protéico do produto final (VIANA, 1987; TEBALDI, 2005).

### **3.2.1.1 Leite Desnatado / Leite Reconstituído**

O leite desnatado é aquele que se encontra praticamente sem gordura podendo ser obtido dos leites tipo B ou tipo C. Esta característica de “desnatado” deve ser expressa no rótulo do produto (OLIVEIRA, 2006). O leite reconstituído é o produto resultante da dissolução em água do leite em pó ou concentrado, com adição ou não de gordura láctea, observado o teor gorduroso fixado para o respectivo tipo, homogeneizado ou não, e pasteurizado (BRASIL, 1985).

Admite-se a mistura do leite reconstituído ao leite "in natura", desde que antes da mistura o leite reconstituído atenda aos padrões de extrato seco desengordurado fixados. Exige-se, ainda, que o leite "in natura" a ser usado no processo atenda aos padrões estabelecidos para o leite tipo C, inclusive índice crioscópico ou crioscopia, ou seja, a medida do ponto de congelamento do leite ou da depressão do ponto de congelamento do leite em relação ao da água. O ponto de congelamento máximo do leite aceito pela legislação brasileira é  $-0,512\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Como essa é uma das características físicas mais constantes do leite, é usada para detectar adulteração do leite com água. Quando se adiciona água ao leite, o ponto de congelamento aumenta em direção ao ponto de congelamento da água ( $0^{\circ}\text{C}$ ) (BRASIL, 1985; EMBRAPA, 2006).

### **3.2.1.2 Soro de Queijo**

O soro de queijo é um subproduto da fabricação de queijos (BRONSTEIN; MONTE ALEGRE, 1998; ANDRADE; MARTINS, 2002; MADUREIRA et al, 2005). É um líquido opaco, amarelo-esverdeado, que contém cerca de 55% dos sólidos existentes no leite integral original (ANDRADE; MARTINS, 2002). Cada 100 mL de soro de queijo contém em média 29,6 kcal e cada 100 g de soro de queijo contém em média: glicídios 5,76g; proteínas 0,84g; lipídios 0,36g; cálcio 105mg; fósforo 97mg; ferro 0,10mg. Pode-se considerar que o soro de queijo contém em média 1,0% de proteína de alto valor nutricional, 0,5% de lactose, 0,7% de sais minerais, 0,3% de gordura e 0,00012% de riboflavina (CARVALHO, 2006).



Cerca de 20% das proteínas do leite estão presentes no soro. São aquelas que foram desnaturadas pelo calor, pelo pH e as que são resultado da proteólise das caseínas. As principais proteínas são a  $\alpha$ -lactalbumina e a  $\beta$ -lactoglobulina, compondo de 70 a 80% das proteínas presentes. A soralbumina, imunoglobulinas, proteose-peptonas, lactoferrina, transferrina e enzimas também são encontradas. Elas são estáveis em pH 7,0 com até 8% de sólidos totais (ABREU, 1999; SILVA, 2000; TEIXEIRA, 2002).

Existem dois tipos de soro de queijo, o soro doce e o soro ácido. Sua composição e classificação dependem do processo tecnológico realizado na obtenção do soro em questão. Quando obtido a partir da coagulação enzimática da caseína, é denominado soro doce de queijo/ soro de queijo doce. Queijos como tipo Minas frescal, Mussarela, Prato e Cheddar são exemplos de queijos produzidos pela coagulação enzimática que têm como subproduto o tipo de soro doce.

Quando o soro é obtido da coagulação ácida, é denominado soro ácido de queijo/ soro de queijo ácido. Esse soro pode ser obtido da fabricação de requeijão e queijo *cottage* (TEIXEIRA, 2002).

A composição do soro de queijo é dependente do tipo de queijo do qual foi obtido, da composição inicial do leite e da tecnologia empregada na fabricação do queijo (ABREU, 1999; SILVA, 2000).

As diferenças na composição dos dois tipos de soro são limitadas à porcentagem de sais, lactose e pH encontrados. O soro ácido possui em sua composição 0,8% de sais, 4,5% de lactose e pH variando entre 4,5 e 4,8; já o soro doce possui 0,5% de sais, 5,0% de lactose e pH variando entre 5,8 e 6,5 (TEIXEIRA, 2002).

No Brasil, o volume estimado de queijo produzido em 2004 foi de 23.475,694 milhões de litros (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, 2006), o que corresponde à produção de aproximadamente 21.128 milhões de litros de soro. Segundo Almeida, Bonassi e Roça (2001) este subproduto representa de 85 – 90% do volume de leite utilizado na fabricação de queijos.

Em média, cada tonelada de soro não tratado despejado por dia no sistema de tratamento de esgoto equivale à poluição diária de cerca de 470 pessoas (ANDRADE; MARTINS, 2002). A demanda bioquímica de oxigênio (DBO) fica entre 30 a 60.g de O<sub>2</sub>/L, dependendo do processo utilizado na elaboração do queijo (SILVA, 2000; ANDRADE; MARTINS, 2002).

As aplicações do soro na área alimentícia são inúmeras, englobando as indústrias de lácteos, carnes, misturas secas (para condimentar), panificação, chocolate, aperitivos e bebidas, entre outras. O soro lácteo vem enriquecendo a composição de bolachas e bolos, bem como de alimentos próprios para consumidores com problemas de hipersensibilidade, além de servir como suplemento para a dieta de esportistas. A literatura médica também aponta sua utilização para aumentar ou reter a massa muscular de pacientes com HIV, ajudando ainda a fortalecer o sistema imune (SUGIMOTO, 2005).

O uso do soro de queijo em formulações alimentícias além de diminuir o problema ambiental, já que a eliminação deste em cursos d'água causa grande impacto ambiental é uma importante reserva de proteína, sendo assim uma fonte nutritiva (CARVALHO, 2006).

### **3.2.1.3 Soja e Derivados**

A soja (*Glycine max* (L.) Merrill) é um grão nativo do sudoeste da Ásia pertencente à família Fabaceae, ou das leguminosas. Rica em proteínas, lipídeos, fibras, algumas vitaminas e minerais, contendo também fito-hormônios, as isoflavonas ou isoflavonóides (CHOU; HOU, 2000; TSANGALIS; SHAH, 2004; EMBRAPA SOJA, 2006c; STELLA, 2006 b).

No Oriente a soja tem sido aceita como alimento a milhares de anos e era também considerado remédio. O mundo ocidental teve contato com a soja somente neste século, adaptando-se aos produtos que podem ser obtidos a partir da soja, como óleos farinhas, farelos desengordurado, concentrados, isolados, texturizados entre outros. Estes diferentes produtos puderam ser desenvolvidos com o crescimento e

melhoramento tecnológico. Anteriormente a essa tecnologia, a soja era utilizada somente para silagem e somente por volta de 1920 a soja começou a se estabelecer como produto comercial (VIANA, 1987).

Foi introduzida no Brasil em 1882 e vinda dos Estados Unidos. Seu primeiro registro de cultivo foi em 1914, porém adquirindo importância econômica em 1941. Foi a partir da década de 1960, impulsionada pela política de subsídios ao trigo, visando auto-suficiência, que a soja se estabeleceu como cultura economicamente importante para o Brasil (EMBRAPA SOJA, 2006c).

O Brasil é o segundo maior produtor mundial de soja, com 23,8% do total produzido em 2004, perdendo somente para os Estados Unidos que produz 41,5% da soja mundial, segundo os dados da produção mundial 2004 - FAO/FAOSTAT descritos no atlas sócio econômico Rio Grande do Sul (2006).

Segundo o IBGE *apud* Atlas Sócio Econômico Rio Grande Do Sul (2006), o Brasil produziu em 2003, 51.919.440 toneladas de soja representada por uma área cultivada de 18.527.544 hectares. Em 2004, o Brasil foi o segundo maior produtor mundial de soja, com produção de 50 milhões de toneladas ou 25% da safra mundial, estimada em 200 milhões de toneladas (EMBRAPA SOJA, 2006 a).

A partir da soja pode-se ter uma fonte abundante e barata de proteínas e calorias. Quando comparadas a fontes vegetais, a soja é o melhor grão com proteínas de qualidade. No entanto, a soja possui um sabor descrito como de feijão cru e oligossacarídeos indigestíveis como a estaquiose e a rafinose, que são comumente associados a desconforto estomacal e flatulência, limitando assim seu consumo e o consumo de produtos preparados diretamente com o grão de soja (CHOU; HOU, 2000; TSANGALIS; SHAH, 2004).

Para a diminuição destes carboidratos, pode-se realizar a fermentação. Nessa fermentação os microrganismos irão utilizar a rafinose e a estaquiose como fonte de energia resultando num produto de melhor digestibilidade e aceitabilidade.

O sabor típico de soja crua e de feijão cru aparece por ação de enzimas lipoxigenase ou lipoxidase ao se quebrarem os grãos que liberam hexanal e pentanal.

O gosto amargo aparece devido à proteólise e deterioração oxidativa que liberam aminoácidos. Entre os principais compostos que são produzidos durante às diversas degradações, estão aldeídos, acetais, ésteres, compostos sulfurados, hidrocarbonetos, cetonas, álcool 1-pentilfurano, ácido hexanóico, gama-nanolactona e o hexanal (TSANGALIS; SHAH, 2004; MORAES et al, 2006).

A soja é rica em proteínas, possui isoflavonas e ácidos graxos insaturados que têm ação na prevenção de doenças crônico-degenerativas. Também é uma excelente fonte de minerais como ferro, potássio, fósforo, cálcio e vitaminas do complexo B (EMBRAPA SOJA, 2006b).

Seus grãos são utilizados principalmente para a extração do óleo vegetal e a torta formada neste processo, incluída em rações para dietas animais. Porém, outros produtos obtidos a partir da soja são empregados em indústrias alimentícias como melhoradores tecnológicos, (RODRIGUES; GOZZO; MORETTI, 2003) e nutricionais (EMBRAPA SOJA, 2006b).

O extrato de soja é um produto protéico de origem vegetal definido como alimento obtido a partir de partes protéicas de espécie(s) vegetal(is), no caso a soja, podendo ser apresentados em grânulo, pó, líquido, ou outras formas com exceção daquelas não convencionais para alimentos. Deve apresentar em sua composição o teor de proteína em base seca (N x 6,25) de no mínimo 40,0% (g/100 g) seguindo o Regulamento Técnico para Produtos Protéicos de Origem Vegetal emitido pela ANVISA na Resolução RDC n.º 268, de 22/09/2005 (BRASIL, 2005 b). O padrão microbiológico segue a Resolução emitida pela ANVISA RDC nº 12, de 02/01/2001 (BRASIL, 2001) que aprova o Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos. Segundo essa resolução a tolerância indicativa para coliformes a 45°C são de 10 UFC/ml; de *B. cereus* são de  $5 \times 10^2$  UFC/ml; e para *Salmonella sp* ausência em 25g.

O extrato de soja é rico em proteínas de qualidade, não contém colesterol ou lactose e somente pequenas quantidades de ácidos graxos saturados e pode ser utilizado por pessoas lactase-deficientes.

É um meio adequado para o crescimento de bactérias lácticas por conter substâncias como rafinose, estaquiase, aminoácidos e proteínas, estimulantes ao crescimento microbiano. Haully, Fuchs e Prudêncio-Ferreira (2005), relataram que o extrato de soja é um excelente veículo para bifidobactérias por possuir proteínas que protegem esses microorganismos contra a ação dos sais biliares ao passarem pelo trato digestivo favorecendo a colonização intestinal.

Muita pesquisa na área médica tem sido realizada por todo o mundo, tendo sido comprovados os benefícios que a soja traz a saúde, dentre eles está a prevenção de doenças crônicas (EMBRAPA SOJA, 2006b), a prevenção do câncer, doenças cardiovasculares, tensão pré-menstrual (TPM), climatério (menopausa), osteoporose, à ação como antioxidante e ao uso da soja como fonte protéica para dietas enterais, benefícios que são citados por alguns autores (RODRIGUES; GOZZO; MORETTI, 2003; FELIX, 2005; TEBALDI, 2005; EMBRAPA SOJA, 2006b; SANTOS, 2006).

Apesar de muitas delas ainda não serem conclusivas tem-se os benefícios da soja conferidos à presença das isoflavonas, genisteína e daidzeína (AGUIAR, 2004). As isoflavonas presentes na soja são dadas como basicamente três: a genisteína, a daidzeína, e a glicitina. Estes tipos podem se apresentar de quatro formas diferentes: glicosiladas, acetilglicosiladas, malonilglicosiladas, e na forma estrutural não conjugada, aglicona (ESTEVEZ; MONTEIRO, 2001; SANTOS, 2006).

Nos produtos fermentados devido à ação de glicosidases bacterianas predominam não só a genisteína, mas também a daidzeína (ESTEVEZ; MONTEIRO, 2001), nestes produtos existe maior quantidade de agliconas tendo sua presença e concentração dependentes da temperatura durante o processamento e dos demais procedimentos aplicados. A fermentação diminui a quantidade de isoflavonas; em produtos não-fermentados a concentração de isoflavonas pode ser de duas a três vezes maior que em produtos fermentados, com predominância dos  $\beta$ -glicosídeos (GÓES-FAVONI et al., 2004).

### 3.2.2 Cultura Láctea

Os microrganismos utilizados nos produtos lácteos fermentados devem ser de origem controlada, com propriedades cuidadosamente investigadas. As culturas lácticas são utilizadas para aumentar a vida-de-prateleira do leite, pois produzem componentes metabólicos de baixo peso molecular como ácidos (ácido láctico, ácido propiônico), álcoois, dióxido de carbono, diacetil, peróxido de hidrogênio e substâncias antagonísticas (HELANDER; WRIGHT; MATTILA-SANDHOLM, 1997).

Os mesmos autores e Rodas et al. (2001), apontam que muitos destes metabólitos possuem atividade sobre outras espécies, exercendo efeito inibitório nas bactérias Gram-negativas responsáveis pela deterioração e contaminação do produto. São diferentes culturas de microrganismos utilizadas no preparo de iogurtes, leites fermentados, entre outros, onde os microrganismos permanecem vivos no produto e auxiliam na digestão, na reconstituição da flora intestinal e na absorção de proteínas, carboidratos e cálcio presentes no leite.

Ferreira, 2003 *apud* Tebaldi (2005) classifica as bactérias lácticas como fenótipos comuns, Gram-positivos, quase sempre catalase negativos, presentes na forma de cocos ou bacilos, imóveis ou apresentando motilidade em raras ocasiões, não esporogênicas e fermentadoras de açúcares, produzindo como principal composto o ácido láctico (bactérias homofermentativas) ou podendo produzir outros compostos além do ácido láctico, como ácido acético, etanol e CO<sub>2</sub>.

A base utilizada para a produção de bebidas lácteas são fermentos compostos de *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* e *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus*. Existe uma relação simbiótica entre estas bactérias. O *Lactobacillus bulgaricus* na fermentação libera aminoácidos e peptídeos provenientes da proteína do leite, estes compostos estimulam o crescimento do *Streptococcus thermophilus* que libera ácido fórmico e CO<sub>2</sub> ao crescer, proporcionando um melhor desenvolvimento do *Lactobacillus bulgaricus* (MARTIN, 2002; OLIVEIRA; DAMIN, 2003).

O crescimento é conjugado. O *Streptococcus thermophilus* cresce primeiro atingindo tempo máximo em 2 horas, favorecido pela acidez do leite (menor que 20°D).

Neste ponto a relação da quantidade entre os dois microrganismos é de 3 a 4:1. Com o meio propício ao se atingir aproximadamente 46°D o *Lactobacillus bulgaricus* inicia o crescimento atingindo população máxima em torno de 3,5 horas. Neste ponto a relação final volta a ser de 1:1 (AQUARONE; LIMA; BORZANI, 1983; ABREU, 1999).

Os *Lactobacillus* apresentam a forma de bacilos retos ou curvos, podendo estar isolados ou em cadeias. Gram-positivos, não formador de esporos, geralmente imóveis e catalase negativos. Seu crescimento é facilitado quando o ambiente em que se encontra é rico em CO<sub>2</sub>. As bactérias pertencentes a este gênero podem ser homofermentativas ou heterofermentativas (FRANCO; LANDGRAF, 2004).

O *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* se apresenta em cadeias longas, com crescimento ótimo em temperaturas de 45°C podendo chegar a 50°C. Ele também pode se desenvolver em temperaturas de 15°C, produzindo ácido láctico (homofermentativo obrigatório) e vitaminas como a niacina, ácido fólico, B<sub>6</sub> e B<sub>12</sub> (SABOYA; OETERER; OLIVEIRA, 1997; MARTIN, 2002). São produtores de ácido láctico D(-). São microaerófilos crescendo na superfície de meios sólidos estimulados por anaerobiose ou pressão reduzida de O<sub>2</sub> (BRONW, 2001).

Os *Streptococcus* são células esféricas, Gram-positivas, que aparecem aos pares ou em cadeias e são aeróbios facultativos. São principalmente homofermentativos utilizando a glicose para a produção de ácido láctico (FRANCO; LANDGRAF, 2004). O *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus* aparece em cadeias curtas e seu crescimento é entre 37 e 45°C. Martin (2002) ainda cita a temperatura ideal para o desenvolvimento da cultura láctea de 42°C. São produtores de ácido láctico L(+) a partir da lactose do leite (BRONW, 2001).

Estudo realizado por Viana (1987), demonstrou que esta combinação tradicional de microrganismos pode não ser ideal na fermentação de matérias-primas nas quais os produtos de soja estejam inclusos, pois algumas cepas de *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus* são capazes de decompor hidroperóxidos em n-pentanal afetando negativamente o flavor do produto.

O crescimento de vendas de culturas probióticas em produtos alimentícios vem aumentando ao longo de 20 anos (OSTLIE; TREIMO; NARVHUS, 2005). Hoje em dia seu maior uso ocorre em produtos como iogurtes, leites, fermentados, sorvetes, produtos farmacêuticos, produtos fermentados a partir da soja e queijos probióticos (DOLEYRES; LACROIX, 2005; MADUREIRA et al, 2005; OSTLIE; TREIMO; NARVHUS, 2005).

O futuro aponta para o uso de probióticos, associados ou não a cultura tradicional, quer como agentes biotecnológicos, ou seja, que melhoram as características do produto tradicional, por reduzir a pós-acidificação do iogurte e leites fermentados, fato evidenciado pela ação de *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium* sp; quer como agentes terapêuticos, ou seja, microrganismos que promovem efeitos benéficos nos indivíduos que os ingerem (THAMER; PENNA, 2005).

No Brasil, a definição de probiótico foi publicada no Diário oficial da União (DOU) em 19 de janeiro de 2002, por meio da Resolução RDC ANVISA n.º 2 de 07/01/2002 (BRASIL, 2002), estabelecendo da seguinte forma: “microrganismos vivos capazes de melhorar o equilíbrio microbiano intestinal, produzindo efeitos benéficos à saúde do indivíduo”.

O termo probiótico se refere a produtos preparados que contenham microrganismos viáveis e definidos em número suficiente para alterar a microflora existente no consumidor, assim como, exercer um efeito benéfico no mesmo (DOLEYRES; LACROIX, 2005).

Bactérias probióticas são Gram-positivas e incluídas basicamente em dois gêneros, *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* (CORTHER, 2005), que segundo Gomes e Malcata (1999) são ditos:

- *Lactobacillus*: os mais utilizados são para uso como aditivos dietéticos, destacando-se os *L. acidophilus*, *L. rhamnosus*, e *L. casei* e;
- *Bifidobacterium*: atualmente inclui 30 espécies, 10 de origem humana, 17 de origem animal, 2 de águas residuárias e 1 de leite fermentado, esta última



apresenta boa tolerância ao oxigênio, ao contrário das outras do mesmo gênero.

Esta separação se dá devido à presença de uma enzima específica, a frutose-6-fosfato fosfocetolase, presente somente na bifidobactéria (DOLEYRES; LACROIX, 2005).

O gênero *Lactobacillus* é composto por 56 espécies oficialmente reconhecidas. O mais comum, *L. acidophilus*, é um bacilo Gram-positivo com pontas arredondadas, que se encontra na forma de células livres, aos pares ou em cadeias curtas. Sua multiplicação e crescimento são ótimos em temperaturas entre 35-40 °C e valores de pH entre 5,5-6,0, podendo crescer a 45°C, e tolerar em termos de acidez do meio, variações entre 0,3 e 1,9%(V/V) de acidez titulável (GOMES; MALCATA, 1999).

Bifidobacterias são classificadas como microrganismos probióticos, Gram-positivos, não esporulados, anaeróbios, de tamanho variável, várias formas, comumente assumindo forma de “V” ou “Y”, heterofermentativos, que produzem ácidos acético e láctico na proporção molar de 3:2 a partir de 2 moles de hexose, sem produção de dióxido de carbono. Não crescem abaixo de 20°C e não são termorresistentes acima de 46°C; a temperatura ótima de crescimento para as espécies humanas é de 36 a 38°C, para aquelas isoladas de espécies animais a temperatura é um pouco mais alta variando entre 41 e 43°C. O pH ótimo de crescimento é entre 6,5 e 7,0, sendo que não há crescimento em pH menor que 5 e nem em pH maior que 8 (SOBOYA; OETTERER; OLIVEIRA, 1997; GOMES; MALCATA, 1999; TSANGALIS; SHAH, 2004; DOLEYRES; LACROIX, 2005).

Quando ingeridos em quantidade suficiente, os probióticos desenvolvem efeitos benéficos à saúde. De acordo com Shaw (2001) apud Pupin (2002) e Ostlie; Treimo; Narvhus (2005) para que se desenvolva o efeito benéfico dos probióticos é necessário que os mesmos estejam viáveis e disponíveis em concentrações superiores a 10<sup>6</sup> UFC/g, mesma concentração que deve possuir para estar dentro do padrão de identidade e qualidade de bebidas lácteas. Este valor deve ser alcançado para suprir uma “dose diária” de 10<sup>6</sup> - 10<sup>9</sup> bactérias viáveis. Oliveira e Damin (2003) recomendam o

consumo entre  $10^8$  e  $10^{11}$  UFC/dia dependendo do efeito benéfico que se deseja alcançar e da cepa empregada e viável no produto.

Cepas de *Lactobacillus acidophilus* estão presentes normalmente na parte final do intestino grosso. Nesta posição a célula libera ácido láctico e inibe o crescimento de patogênicos invasivos como *Salmonella* spp.. Ao contrário, *Bifidobacterium* spp. estão presentes no intestino delgado onde o ácido láctico produzido ajuda a inibir o crescimento de organismos indesejáveis como *Escherichia coli* ou *Cândida* spp. (AWAISHEH; HADDADIN; ROBINSON, 2005).

Outros benefícios também são citados por outros autores (SABOYA; OETTERER; OLIVEIRA, 1997; SCALABRINI et al, 1998; CHOU; HOU, 2000; DOLEYRES; LACROIX, 2005; MADUREIRA et al, 2005) como: aumento do metabolismo de lactose; atividade antimicrobiana; proteção contra distúrbios gastrintestinais; propriedades anticolesteromias; manutenção do balanço gastrintestinal; atividade anticarcinogênica e estimulação da resposta imune.

O estudo da influência das condições de cultura, como temperatura, pH, tipos de culturas, substratos, sobre as cinéticas de acidificação e, sobre os rendimentos da produção, permite a obtenção de informações interessantes sobre a fisiologia de cepas bacterianas utilizadas industrialmente, tanto cepas tradicionais quanto cepas classificadas como bifidobactérias. Portanto é interessante conhecer seus efeitos sobre a cinética de acidificação (OLIVEIRA; DAMIN, 2003).

### **3.2.3 Processo de Elaboração das Bebidas Lácteas**

O processo de fabricação da bebida láctea segue as operações básicas para a obtenção de iogurte. Os procedimentos adotados podem ser resumidos com o fluxograma apresentado na Figura 1 (AQUARONE; LIMA; BORZANI, 1983).

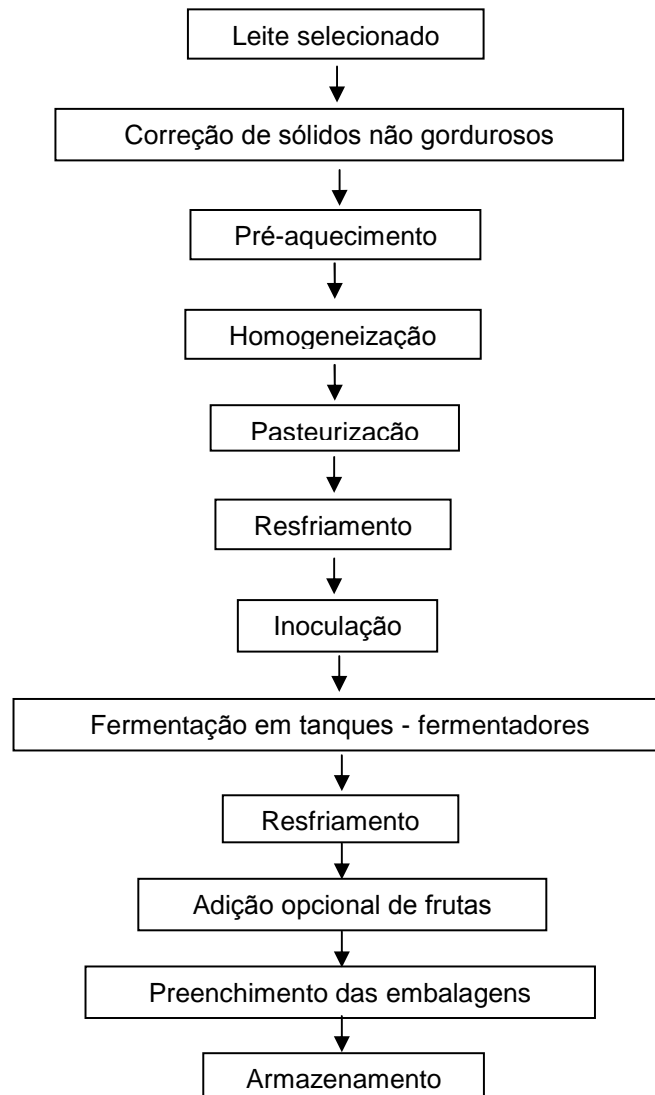


Figura 1 – Fluxograma de produção de bebida láctea

O leite selecionado deve ser de qualidade já que essa pode ser determinante na qualidade final do produto. Pode ser proveniente de várias espécies, sendo mais comumente elaborado de leite de vaca, e contendo teor de gordura variável de acordo com o mercado (AQUARONE; LIMA; BORZANI, 1983; ABREU, 1999).

O leite deve ser padronizado com o intuito de aumentar o valor nutritivo e melhorar as propriedades organolépticas como sabor, aroma e consistência do produto final. Essa padronização pode ser feita com leite em pó desnatado, soro de queijo,

produtos de soja entre outros. A padronização ainda pode ser feita pela evaporação, ltrafiltração e osmose reversa. Nesta etapa ainda podem ser adicionados estabilizantes e açúcar (SALADO; ANDRADE, 1989; ABREU, 1999).

O pré-aquecimento e a homogeneização visam melhorar a consistência do produto final assim como sua cremosidade, sabor e digestibilidade. Na etapa de homogeneização são utilizadas pressões entre 15 e 200 atmosferas (AQUARONE; LIMA; BORZANI, 1983).

A pasteurização é uma etapa indispensável que tem como objetivo eliminar patógenos, bacteriófagos e outros microrganismos capazes de competir com o fermento lácteo, o que favorece o crescimento dos microrganismos que serão inoculados. Também é promovida a redução do teor de oxigênio do meio. A desnaturação das proteínas do soro em níveis de 70 a 95% e sua complexação com a caseína tornam a massa mais lisa diminuindo a possibilidade de dessoramento. O tratamento térmico resulta em menos sinerese e mais firmeza do coágulo, sensibiliza as proteínas do soro e os íons cálcio, aumentando a coagulação. Isso devido a mudanças ultra-estruturais com a formação de filamentos de beta lactoglobulina desnaturada perpendiculares ligados às micelas de caseína. A digestibilidade é melhorada e produtos degradados estimulam o fermento. A pasteurização pode ser feita de várias formas, como em fogo direto, vapor indireto ou banho-maria. O binômio tempo temperatura pode variar entre 30 minutos a 80/83°C; 3,5 minutos a 90°C ou 1,5 minuto a 95°C (AQUARONE; LIMA; BORZANI, 1983; SALADO; ANDRADE, 1989; ABREU, 1999).

O resfriamento é realizado para que a temperatura do leite fique ideal para o recebimento do fermento. Essa temperatura é de geralmente 42 a 43°C, podendo variar de 40 a 45°C. O resfriamento pode ser feito com a retirada do aquecimento deixando-se passar água fria, ou com banho de gelo. Nesta etapa deve-se assegurar que seja mantida a assepsia evitando contaminações.

Após o resfriamento o fermento preparado anteriormente é adicionado em concentrações que variam de acordo com o fermento utilizado. Deve ser realizada uma homogeneização por poucos minutos antes da fermentação para que não se formem grumos.

A incubação ou fermentação deve ser realizada à temperatura constante entre 40 e 42°C. Com as condições todas acertadas a fermentação tem tempo médio de 3 a 4 horas.

Durante a fermentação ocorre o crescimento das culturas lácticas inoculadas. O crescimento é simbiótico como descrito anteriormente. A fermentação tem seu fim quando atingido o pH 4,6 (ponto isoelétrico da caseína) ou até que a acidez atinja de 85 a 90°D (AQUARONE; LIMA; BORZANI, 1983).

A formação do ácido láctico em produtos lácteos fermentados é desejável, pois este é um conservante natural que torna o produto biologicamente seguro, além de favorecer a digestibilidade dos componentes do leite. A contribuição nutricional dessa substância pode ser afetada pela sua forma isomérica L(+), D(-) ou DL, sendo a forma isomérica L(+) do ácido láctico completamente metabolizada por crianças, participando do processo respiratório ou da síntese de glicose ou glicogênio (SILVA, 2000; BRONW, 2001; TEIXEIRA, 2002).

As formas D(-) e DL são produzidas por microrganismos como *L. acidophilus*, *L. bulgaricus*. Bebidas lácteas produzidas por esses microrganismos devem ter seu uso restrito na alimentação de crianças com idade inferior a um ano, pois a ingestão de quantidades significativas desses produtos, nesse período, pode conduzir a acidez metabólica em razão da incapacidade do organismo em metabolizá-los levando ao acúmulo. Portanto, o uso de microrganismos como *L. casei*, *S. thermophilus* e *Bifidobacterium* são mais indicados por produzirem a forma L(+) (SILVA, 2000; TEIXEIRA, 2002).

O ácido láctico, produzido através da via metabólica dos microrganismos envolvidos ajuda na desestabilização das micelas de caseína promovendo a coagulação da caseína em pH 4,6 – 4,7 formando o gel característico do iogurte (BROWN, 2001).

O resfriamento subsequente à incubação se dá com a intenção de conter o crescimento da cultura inoculada. Este resfriamento pode interferir na consistência do produto final. Assim, se realizado antes do tempo correto, pode deixar o produto mole,

sem acidez, sabor e aroma característicos, e se realizado após o tempo correto o produto se torna muito ácido e com grandes chances de dessorar.

A adição de frutas, ou suco de frutas é opcional, dependendo do tipo de produto pretendido. Após esta adição realiza-se o acondicionamento em embalagens próprias para o produto e o mesmo é armazenado em temperatura próxima do congelamento entre 0 e 2°C (AQUARONE; LIMA; BORZANI, 1983; SALADO; ANDRADE, 1989; ABREU, 1999).

### **3.2.4 Qualidade da Bebida Láctea**

Para a avaliação da qualidade da bebida láctea utiliza-se parâmetros como determinação de acidez titulável, pH, composição centesimal, análise sensorial, exame microscópico, bactérias coliformes, considerações sobre aspectos legais, uniformidade quanto ao teste de vida de prateleira e de segurança (GURGEL, 1994).

Gurgel (1994) cita trabalhos onde se recomenda acidez titulável para o iogurte de 1,0 a 1,25% e pH de 3,7 a 3,8 com variações até 4,4.

Apesar de ocorrida a fermentação e conseqüente alteração da lactose assim como a adição de leite em pó e outras matérias-primas para a correção de sólidos a composição da bebida láctea é similar a do leite de origem, com pequenas alterações na quantidade de proteínas (MARTIN, 2002).

Dentro da análise sensorial um atributo importante para a aceitação do consumidor é a textura da bebida láctea. O iogurte convencional deve ter textura suave e corpo viscoso, sem apresentar fissuras (OLIVEIRA; DAMIN, 2003). Para a bebida láctea a textura se aproxima do iogurte batido ou homogêneo sendo uma massa com estrutura de gel (MARTIN, 2002).

O Regulamento Técnico para Bebida Láctea (BRASIL, 2005 a) preconiza que a contagem total de bactérias lácticas viáveis deve ser de no mínimo,  $10^6$  UFC/g, no produto final, para os cultivos lácticos específicos empregados, durante todo o prazo de

validade. Prevê também os parâmetros que devem ser obtidos para o grupo coliforme (coliforme a 30/35°C) e para coliformes fecais (coliforme 45°C) conforme a Tabela 2.

Tabela 2 – Parâmetros microbiológicos para bebidas lácteas fermentadas

Microrganismos	Critério de Aceitação	Situações	Método de Análise
Coliformes/mL (ou /g) (30/35°C)	n=5 c=2 m=10 M=100	4	Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003.
Coliformes/mL (ou /g) (45°C)	n=5 c=2 m<3 M=10	4	Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003.

n = número de diluições; c = número de tubos positivos; m = mínimo aceitável;

M = máximo aceitável

Fonte: BRASIL (2005 a).

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Material

Para o processamento da bebida láctea, as matérias-primas utilizadas foram adquirida comercialmente: leite em pó desnatado (Nestlé – Molico); soro de leite em pó (Germinal , aditivos para alimentos); extrato solúvel de soja (Vitta) e duas culturas lácteas comerciais (Christian Hansen), compostas por *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* e *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus* (Cultura Tipo “A”), e outra composta por *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus*, *Bifidobacterium* spp e *Lactobacillus acidophilus* (Cultura Tipo “B”).

As duas culturas comerciais utilizadas apresentavam-se na forma pura e liofilizadas em formas homogênea. Essas culturas são de uso direto e foram empregadas segundo a orientação do fabricante, que orienta no aquecimento da base láctea até 43°C, adição do conteúdo do envelope promovendo uma agitação para sua total dissolução e transporte do preparado para local onde deve ser mantido a temperatura entre 40 e 43°C.

Foram empregados meios de cultivo específicos para a contagem das colônias em placas.

Utilizou-se um fermentador com capacidade de 2 L, montado no laboratório de fermentação da Universidade Metodista de Piracicaba – UNIMEP, marca Marconi, acoplado a um banho-maria TECNAL modelo TE-184 com controle de temperatura a 42 °C ± 1 e a um agitador mecânico Marconi com velocidade de 10 Hz colocado ao centro do fermentador.

As análises de pH foram realizadas em pHmetro digital GEHAKA modelo PG 1000, com precisão de 0,1. As análises microbiológicas foram feitas em câmara de fluxo laminar, de forma que foi mantida a assepsia.

## **4.2 Condução Experimental**

O processamento foi iniciado pela reconstituição dos substratos a partir dos tratamentos propostos e descritos na Tabela 3. Em seguida, as culturas (Tipo “A” e Tipo “B”) foram adicionadas conforme a orientação do fabricante, descrita anteriormente.

A fermentação foi iniciada (tempo =0) e conduzida até atingir o pH próximo de 4,6. Durante a fermentação foram retiradas alíquotas de aproximadamente 20 mL em béqueres esterilizados e foram feitas análises de pH e acidez (a cada 30 min.) e subseqüentes diluições para as análises microbiológicas (a cada 60 min.).

Os tratamentos realizados, envolveram 2 tipos de substratos e 2 tipos de culturas comerciais, representando 4 bebidas lácteas que estão representadas na Tabela 3. O



teor de sólidos não gordurosos (SNG), foi de 12% e cada tratamento foi conduzido três vezes.

Tabela 3 – Descrições dos tratamentos de fermentação

Tratamento	Porcentagem de Substrato	Cultura inoculada
1	<b>Base Láctea</b>	Cultura tipo "A"
	Leite desnatado – 60% Soro de queijo – 40%	
2	<b>Substituição parcial da Base Láctea</b>	Cultura tipo "A"
	Leite desnatado – 60%	
	Soro de queijo – 20% Extrato solúvel de soja – 20%	
3	<b>Base Láctea</b>	Cultura tipo "B"
	Leite desnatado – 60% Soro de queijo – 40%	
4	<b>Substituição parcial da Base Láctea</b>	Cultura tipo "B"
	Leite desnatado – 60%	
	Soro de queijo – 20% Extrato solúvel de soja – 20%	

### 4.3 Modelagem

A partir dos resultados obtidos nas análises de acidez e contagem de microrganismos durante o processo fermentativo, determinou-se as velocidades instantâneas de produção de ácido láctico ( $dP/dt$ ) expressa em g/L/h, e de crescimento celular ( $dX/dt$ ) expressa em  $UFC \times 10^9/L/h$ , além da curva de crescimento microbiano, expressa em log UFC/h.

As determinações das velocidades instantâneas de produção de ácido láctico e das velocidades instantâneas de crescimento celular foram produzidas a partir das equações apresentadas por Sinclair e Cantero (1990):

$$dP/dt = [(\ln P_3 - \ln P_1) / (t_3 - t_1)] \times P_2 \quad \text{eq. (1)}$$

Onde:

$dP/dt$  = velocidade de produção de ácido láctico

$P_1$  = concentração de ácido láctico no tempo  $t_1$

$P_2$  = concentração de ácido láctico no tempo  $t_2$

$P_3$  = concentração de ácido láctico no tempo  $t_3$

$t$  = tempo de fermentação (h)

$$dX/dt = [(\ln X_3 - \ln X_1) / (t_3 - t_1)] \times X_2 \quad \text{eq. (2)}$$

Onde:

$dX/dt$  = velocidade de crescimento celular

$X_1$  = concentração de ácido láctico no tempo  $t_1$

$X_2$  = concentração de ácido láctico no tempo  $t_2$

$X_3$  = concentração de ácido láctico no tempo  $t_3$

$t$  = tempo de fermentação (h)

#### **4.4 Métodos Analíticos e Microbiológicos para o Monitoramento da Fermentação**

Durante o processo fermentativo foram colhidas amostras para determinação das análises de pH e de acidez titulável em intervalos de 30 minutos a partir da adição das culturas ( $t=0$ ). Todas as análises foram executadas no Laboratório de Microbiologia de Alimentos do Departamento de Engenharia de Alimentos da Universidade Metodista de Piracicaba - UNIMEP.

##### **4.4.1 Acidez Titulável**

A acidez, expressa em g ácido láctico/L, foi determinada através do método de titulação com solução de NaOH 0,1 N, usando como indicador a solução de fenolftaleína 1,0%, conforme metodologia descrita pela American Official Analytical Chemists - AOAC (1995).

#### 4.4.2 Determinação de pH

Realizou-se a determinação dos valores de pH em pHmetro digital PG 1000, Gehaka, calibrando-se o aparelho com soluções tampão (pH 4,0 e pH 7,0), segundo indicado na AOAC (1995) com intervalo de 30 minutos a partir de  $t=0$ .

#### 4.4.3 Análises Microbiológicas

As análises microbiológicas que representavam o crescimento dos microrganismos foram realizadas em intervalos de 1h a partir do início da fermentação ( $t=0$ ). A semeadura foi conduzida em placas seguindo-se o método “pour plate” com os meios:

- Meio Agar MRS, para contagem de bactérias lácticas totais (de MAN; ROGOSA; SHARPE, 1960);
- Meio Agar MRS acidificado com 0,05% de HCl-L-cisteína, para contagem seletiva de lactobacilos (SYKES; SKINNER, 1973);
- Meio Agar M17, para contagem seletiva de estreptococos (TERZAGHI; SANDINE, 1975);
- Meio Agar MRS adicionada de 0,3% de extrato de bile para a contagem dos microrganismos probióticos (IWATA; MORISHITA, 1989).

Primeiramente foi realizada a diluição seriada, conduzida com a adição asséptica de uma alíquota de 1mL de amostra, retirada nos tempos, em 9 mL de água peptonada 0,1%, constituindo assim a diluição  $10^{-1}$ . A partir dessa diluição pipetou-se, em condições de esterilidade, 1mL para outro tubo contendo 9mL de água peptonada 0,1%, previamente esterelizada, constituindo a diluição  $10^{-2}$ . O mesmo procedimento foi realizado para se alcançar as demais diluições. Essas diluições foram realizadas até obtenção de contagens entre 30 e 300 UFC/placa.

Após as diluições uma alíquota de 1mL da diluição foi inoculada ao meio utilizando-se da técnica “Pour Plate”, onde se pipeta assepticamente 1mL da diluição para uma placa de Petri estéril, e posteriormente, se adiciona o meio fundido e mantido a 45°C em estufa. Depois de acrescido o meio de cultura na placa, homogeneizava-se o meio de cultura com a alíquota da diluição através de movimentos de rotação da placa sobre a bancada de trabalho. Após a solidificação do meio de cultura, as placas foram incubadas em condição de anaerobiose, a 42°C por 48 horas, para o desenvolvimento das colônias. A condição de anaerobiose foi desenvolvida pela incubação das placas em jarras de anaerobiose adicionadas de Anaerobac (Probac do Brasil).

## **5 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **5.1 Cinética do Processo Fermentativo Empregando Cultura Tradicional**

Na Tabela 4 e Figura 2 pode-se verificar que houve a necessidade de 3h30min. para que a fermentação atingisse o pH próximo de 4,6 nas 3 repetições do processo empregando base láctea e cultura tradicional. No final da fermentação a acidez foi de 10,10; 7,20; e 9,40 g/L para as repetições R1, R2 e R3 respectivamente. Segundo o Padrão de Identidade e Qualidade das Bebidas Lácteas o limite para o valor da acidez é de 8 a 9 g/L (BRASIL, 2005 a), verificando-se que uma das bebidas superou o valor (R1) e outra não atingiu a acidez adequada (R2).

Tabela 4 – pH, acidez (g/L) e velocidade instantânea de produção de ácido láctico (g/L/h) na bebida láctea (Trat.1)

Tempo de Fermentação (h)	pH			P (g/L)			dP/dt (g/L/h)		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
0	6,45	6,44	6,42	2,5	2,4	2,6	-	-	-
30	6,44	6,41	6,42	2,5	2,4	2,6	0,10	0,10	0,19
60	6,40	6,41	6,40	2,6	2,5	2,8	0,56	0,47	0,49
90	6,25	6,29	6,32	3,1	2,9	3,1	0,74	0,89	0,86
120	6,01	6,02	6,08	3,3	3,4	3,7	1,83	1,49	1,54
150	5,40	5,60	5,56	5,4	4,5	4,7	4,85	2,63	3,85
180	4,95	5,08	4,99	8,1	6,1	8,4	5,07	2,87	5,82
210	4,51	4,60	4,57	10,1	7,2	9,4	4,46	2,39	2,11

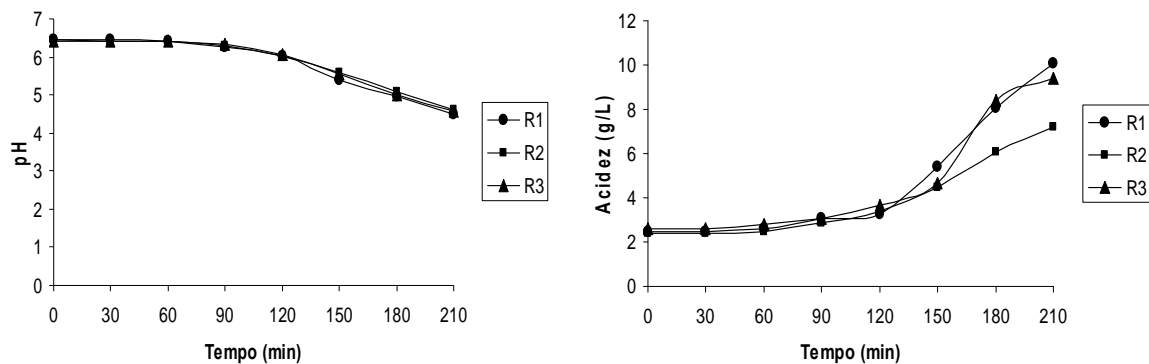


Figura 2 – Acompanhamento do pH e acidez na bebida láctea (Trat. 1)

Ainda observando os dados da Tabela 4 e Figura 3, a máxima velocidade instantânea de produção de ácido (g/L/h) ocorreu na terceira hora de fermentação, isto é, observando valores de 5,07; 2,87; 5,82 para as repetições R1, R2 e R3 respectivamente. Mesmo verificando que a R2 obteve um dP/dt inferior as repetições R1 e R3, constata-se que há a necessidade de 3h para que ocorra a máxima velocidade instantânea de produção de ácido.

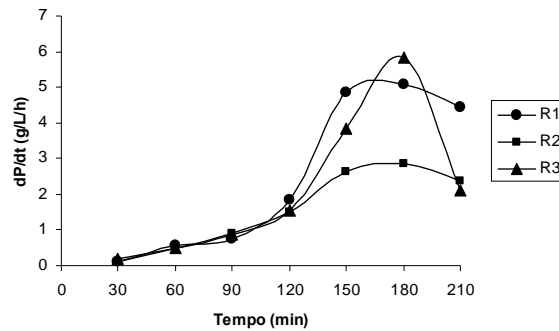


Figura 3 – Velocidade instantânea de produção de ácido láctico na bebida láctea (Trat. 1)

Na Tabela 5 e Figura 4 são apresentadas as contagens das bactérias lácticas totais e estreptococos expressos em log de UFC/mL. No tratamento empregando a cultura tradicional e base láctea, pode-se verificar que o crescimento máximo de bactérias lácticas foi atingido em 3h, condição similar observada quando realizada a contagem de estreptococos.

Tabela 5 – Log da UFC de bactérias lácticas totais e estreptococos/mL na bebida láctea com base láctea (Trat. 1)

Tempo de fermentação (h)	Bac. Lác. Totais - log UFC/ml			Estreptococos - log UFC/ml		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3
0	6,37	6,28	6,62	6,12	6,05	5,79
1	6,56	6,83	7,11	6,30	6,53	6,06
2	7,18	7,60	7,34	7,57	7,27	7,22
3	8,20	8,27	8,34	8,32	8,40	8,48

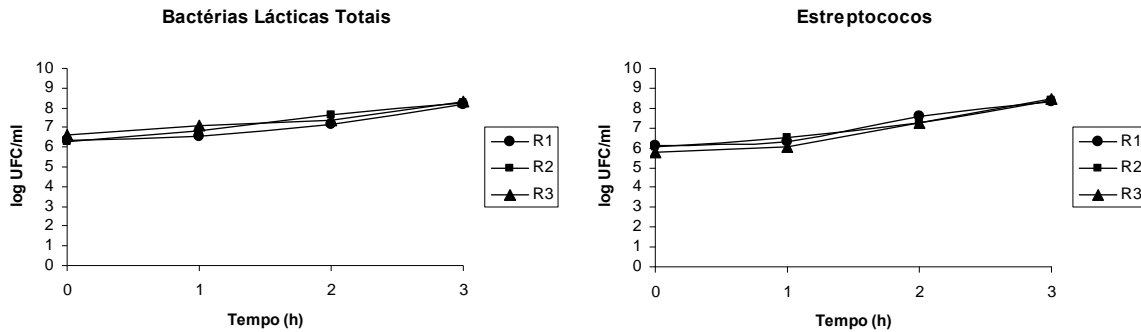


Figura 4 – Log da UFC de bactérias lácticas totais e estreptococos/mL na bebida láctea (Trat. 1)

Considerando a interrupção da fermentação após 3h30min, a última contagem de bactérias lácticas totais foi realizada na terceira hora de fermentação (Tab. 6 e Fig. 5). Onde a velocidade instantânea de crescimento celular atingiu o pico nas duas contagens. Os valores máximos de  $dP/dt$  e  $dX/dt$  para o tratamento 1 foram encontradas na terceira hora.

Tabela 6 – Velocidade instantânea de crescimento de bactérias lácticas totais e estreptococos (Trat.1)

Tempo de Fermentação (h)	Bac. Lác. Totais $dx/dt$ (UFC/L/h) $\times 10^9$			Estreptococos $dx/dt$ (UFC/L/h) $\times 10^9$		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3
0	-	-	-	-	-	-
1	3,36	10,21	10,76	3,29	4,78	1,88
2	28,69	66,47	31,12	86,28	40,47	45,98
3	366,59	285,86	506,57	364,6	654,08	870,13

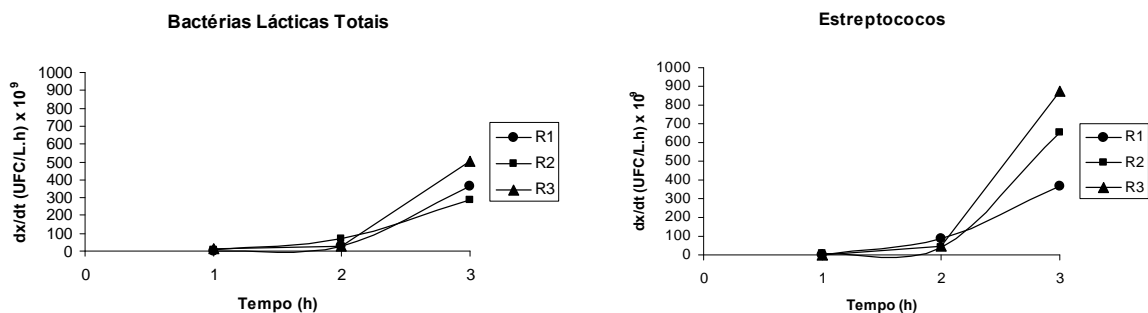


Figura 5 – Velocidade instantânea de crescimento de bactérias lácticas totais e estreptococos (Trat.1)

No tratamento 2 representado pela substituição parcial da base láctea pela incorporação de 20% dos sólidos não gordurosos (SNG), por extrato solúvel de soja foram necessários 3h para que o pH atingisse o valor próximo a 4,6, tempo esse 30 minutos inferior ao tratamento 1, que utilizou somente a base láctea. Considerando o padrão de identidade, segundo Regulamento Técnico, a acidez ultrapassou o valor limite de 8 a 9 g/L, na R2.

Tabela 7– pH, acidez (g/L) e velocidade instantânea de produção de ácido láctico (g/L/h) na bebida láctea (Trat. 2)

Tempo de Fermentação (h)	pH			P (g/L)			dP/dt (g/L/h)		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
0	6,69	6,68	6,67	2,4	2,7	2,0	-	-	-
30	6,68	6,67	6,68	2,4	2,8	2,2	0,10	0,10	0,31
60	6,65	6,63	6,66	2,5	2,8	2,3	0,29	0,19	0,47
90	6,34	6,49	6,51	2,7	3,0	2,7	1,20	2,03	1,21
120	5,79	5,9	5,95	3,9	5,5	3,6	3,66	4,97	2,99
150	5,05	5,06	5,17	6,9	7,4	6,2	5,46	4,57	5,68
180	4,62	4,63	4,65	8,6	10,2	9,0	3,79	6,55	6,71

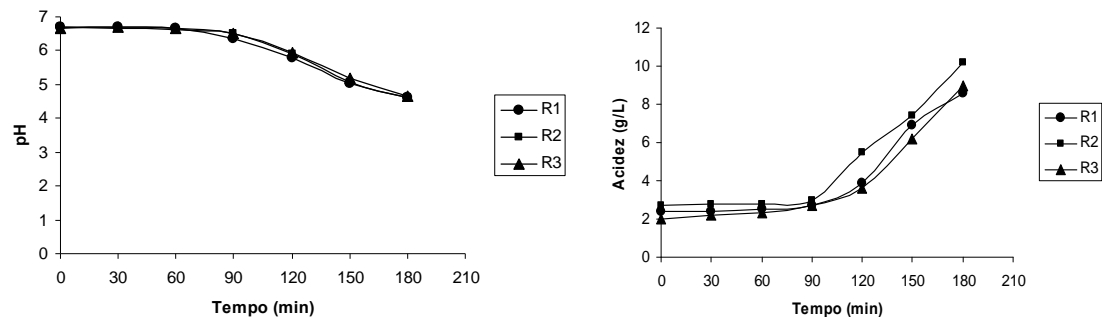


Figura 6 – Acompanhamento do pH e acidez (g/L) na bebida láctea (Trat. 2)

As máximas velocidades instantâneas de produção de ácido ocorreram na terceira hora para R2 e R3, com valores de 6,55 e 6,71 g/L/h respectivamente e 2h30min para a R1, com valor de 5,46 g/L/h (Tab. 7 e Fig. 7). Foram observados valores superiores nas máximas dP/dt do tratamento 2 quando comparado com o



tratamento 1, isto é, a utilização do solúvel de soja proporcionou mais rapidez a na liberação de ácido ao meio, conseguindo manter a acidez dentro dos Padrões de identidade do Regulamento Técnico das Bebidas Lácteas.

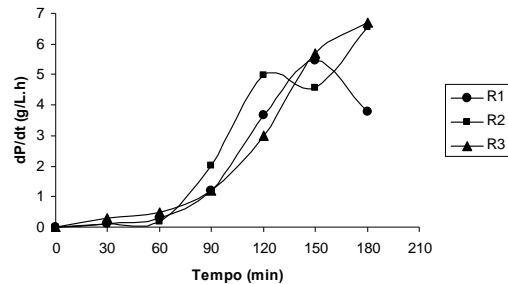


Figura 7 – Velocidade instantânea de produção de ácido láctico na bebida láctea (Trat. 2)

A última contagem de bactérias lácticas e estreptococos ocorreu após 3h, tempo necessário para que ocorresse a queda no pH e o mesmo se aproximasse do valor 4,6 (Tab. 8 e Fig. 8). Este tempo foi o ponto onde a velocidade instantânea de crescimento de bactérias lácticas totais e estreptococos atingiram os picos nas duas velocidades (Tab.9 e Fig. 9). Os valores máximos de  $dP/dt$  e  $dX/dt$  para o tratamento 2 foram de 3h para as R2 e R3, enquanto que a R1 o  $dP/dt$  foi de 2h30min.

Tabela 8 – Log da UFC de bactérias lácticas totais e estreptococos/mL na bebida láctea (Trat. 2)

Tempo de Fermentação (h)	Bac. Lác. Totais log UFC/mL			Estreptococos log UFC/mL		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3
0	6,46	6,60	5,83	6,944	6,301	6,380
1	6,94	6,95	6,72	6,672	6,431	6,431
2	8,00	7,97	7,72	8,037	7,892	7,740
3	8,76	9,13	8,41	8,732	8,654	8,408

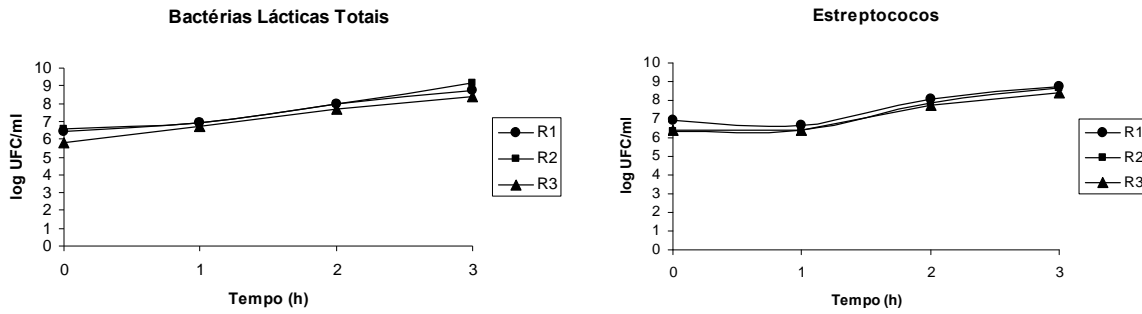


Figura 8 – Log da UFC de bactérias lácticas totais e estreptococos/mL na bebida láctea (Trat. 2)

Tabela 9 – Velocidade instantânea de crescimento de bactérias lácticas totais e estreptococos (Trat. 2)

Tempo de Fermentação (h)	Bac. Lác. Totais $dx/dt$ (UFC/L/h) $\times 10^9$			Estreptococos $dx/dt$ (UFC/L/h) $\times 10^9$		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3
0	-	-	-	-	-	-
1	15,58	14,00	11,31	5,91	4,95	4,23
2	208,54	233,51	101,71	258,55	199,61	125,18
3	992,07	3611,60	418,45	864,12	791,40	393,69

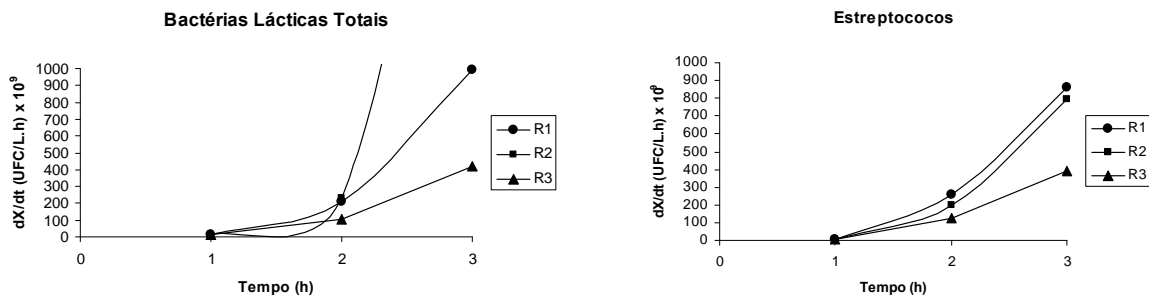


Figura 9 – Velocidade instantânea de crescimento de bactérias lácticas totais e estreptococos (Trat. 2)

## 5.2 Cinética do Processo Fermentativo empregando Cultura Contendo Organismos Probióticos

Na Tabela 10 e Figura 10 pode-se verificar a necessidade de 3h para que a bebida láctea com o emprego de cultura contendo organismos probióticos atingisse o pH próximo de 4,6, tempo esse reduzido em 30 minutos quando comparado com o mesmo substrato e utilizando-se a cultura tradicional (Trat. 1 - Tabela 4), para R1, R2 e R3. Considerando como padrão de acidez valores entre 8 a 9 g/L, todos os valores observados ficaram fora da faixa estabelecida pelo Regulamento Técnico (BRASIL, 2005 a), isto é, 7; 6,8; e 7,3 g/L para R1, R2 e R3 respectivamente, o que não ocorreu no emprego de cultura tradicional com o mesmo substrato.

Tabela 10 – pH, acidez (g/L) e velocidade instantânea de produção de ácido láctico (g/L/h) na bebida láctea (Trat. 3)

Tempo de Fermentação (h)	pH			P (g/L)			dP/dt (g/L/h)		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
0	6,55	6,6	6,5	1,8	1,7	1,8	-	-	-
30	6,31	6,41	6,22	2,0	1,9	2,1	0,74	0,57	0,93
60	6,15	6,2	6,01	2,6	2,3	2,8	1,53	1,34	1,66
90	5,6	5,75	5,52	3,6	3,4	3,8	3,01	3,20	3,02
120	5,14	5,28	5	6,0	5,9	6,2	3,64	3,64	3,61
150	4,76	4,88	4,7	6,6	6,3	6,8	1,02	0,89	1,11
180	4,58	4,68	4,51	7,0	6,8	7,3	0,82	1,04	1,04

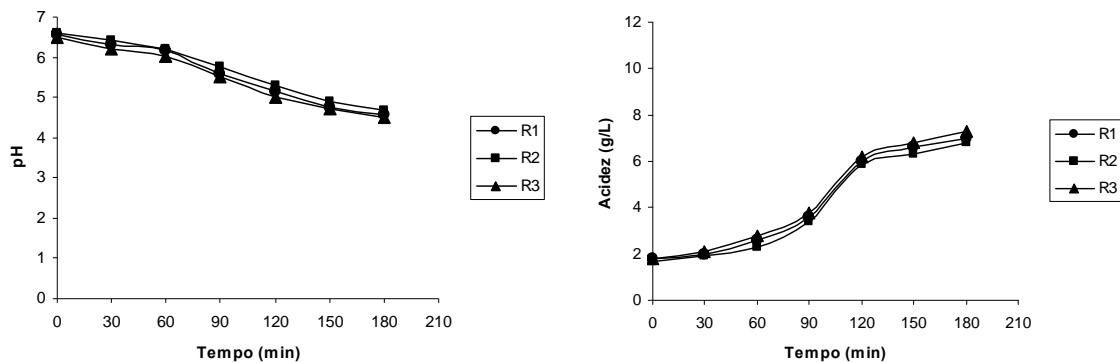


Figura 10 – Acompanhamento do pH e acidez na bebida láctea com base láctea (Trat. 3)

Observa-se ainda na Tabela 10 e Figura 11 que a máxima velocidade instantânea de produção de ácido ocorreu em 2h para as três repetições. Comparando-se com o tratamento com cultura tradicional e mesmo substrato (Trat. 1), o tratamento contendo organismos probióticos e base láctea (Trat. 3) atingiu a máxima velocidade instantânea de produção de ácido 1 hora antes.

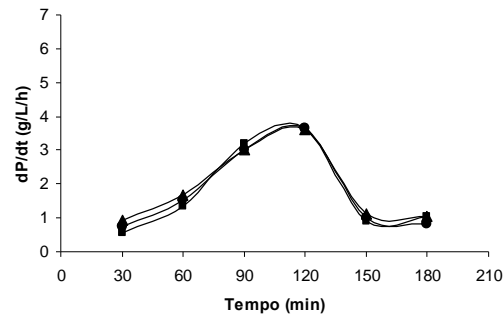


Figura 11 – Velocidade instantânea de produção de ácido láctico na bebida láctea com base láctea (Trat. 3)

O crescimento de bactérias lácticas, estreptococos, lactobacilos e organismos probióticos atingiu seu valor máximo após 3h de fermentação, tempo necessário para que ocorresse a queda no pH e o mesmo se aproximasse do valor 4,6 (Tab. 11 e Fig. 12). Os picos de velocidades instantâneas de crescimento desses mesmos organismos foram atingidos após 2h (Tabela 12 e Figura 13). Os valores máximos de  $dP/dt$  quando do emprego de cultura contendo microrganismos probióticos ocorreu após 3h, enquanto que os valores máximos de  $dX/dt$  para o tratamento 3 foram de 2h.

Tabela 11 – Log da UFC de bactérias lácticas totais, estreptococos, lactobacilos e organismos probióticos/mL na bebida láctea (Trat. 3)

Tempo de fermentação (h)	Bac. Lác. Totais - log UFC/ml			Estreptococos - log UFC/ml		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3
0	7,48	7,48	7,58	8,11	8,07	8,10
1	7,92	7,85	7,88	8,21	8,15	8,19
2	8,61	8,48	8,51	8,70	8,60	8,68
3	8,80	8,72	8,73	8,93	8,86	8,90
Tempo de fermentação (h)	Lactobacilos - log UF C/ml			Org. Probióticos - log UF C/ml		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3
0	7,31	7,23	7,32	7,24	7,15	7,22
1	7,46	7,41	8,48	7,48	7,45	7,46
2	8,33	8,25	8,34	8,37	8,30	8,34
3	8,58	8,48	8,60	8,41	8,36	9,37

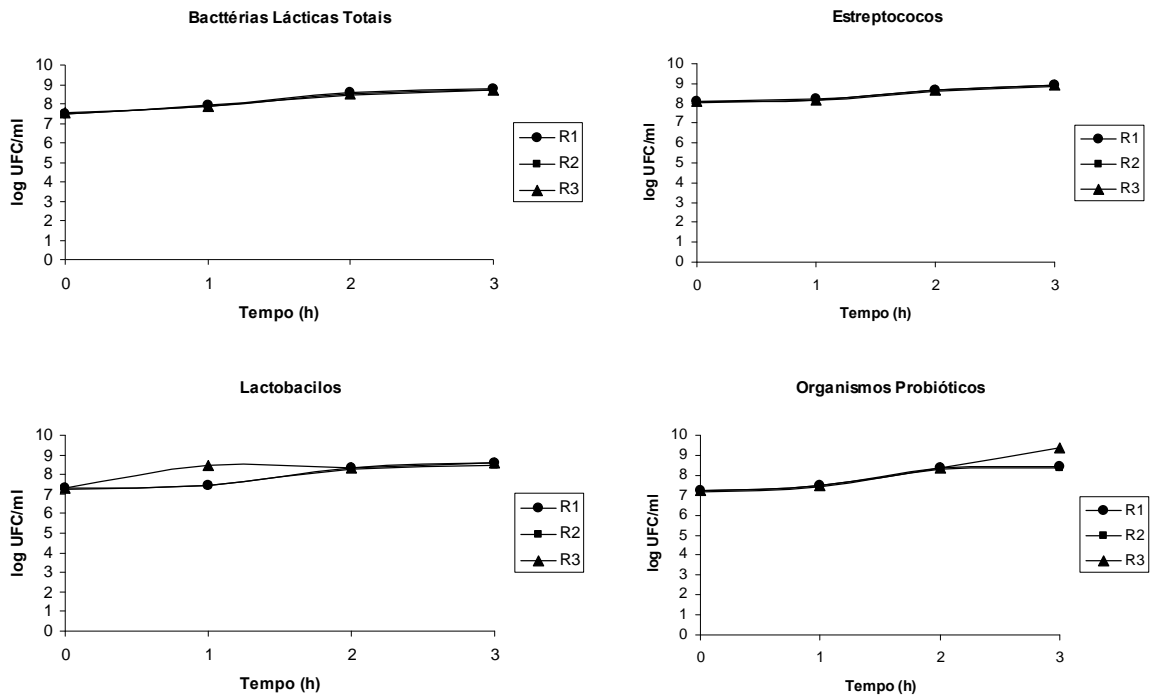


Figura 12 – Log da UFC de bactérias lácticas totais, estreptococos, lactobacilos e organismos probióticos /mL na bebida láctea (Trat. 3)

Tabela 12 – Velocidade instantânea de crescimento de bactérias lácticas totais, estreptococos, lactobacilo e organismos probióticos na bebida (Trat. 3)

Tempo de fermentação (h)	Bac. Lác. Totais $dX/dt$ (UFC/L/h) $\times 10^8$			Estreptococos $dX/dt$ (UFC/L/h) $\times 10^8$		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3
0	-	-	-	-	-	-
1	108,52	80,59	79,90	109,79	86,05	103,04
2	415,51	300,80	315,85	415,80	330,28	393,88
3	270,62	286,02	282,55	466,40	439,15	408,86

Tempo de fermentação (h)	Lactobacilos $dX/dt$ (UFC/L/h) $\times 10^8$			Org. Probióticos $dX/dt$ (UFC/L/h) $\times 10^8$		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3
0	-	-	-	-	-	-
1	34,013	30,331	352,366	39,09	37,30	37,47
2	274,011	218,699	31,645	255,90	211,64	484,37
3	219,974	156,600	239,135	24,08	31,00	5633,53

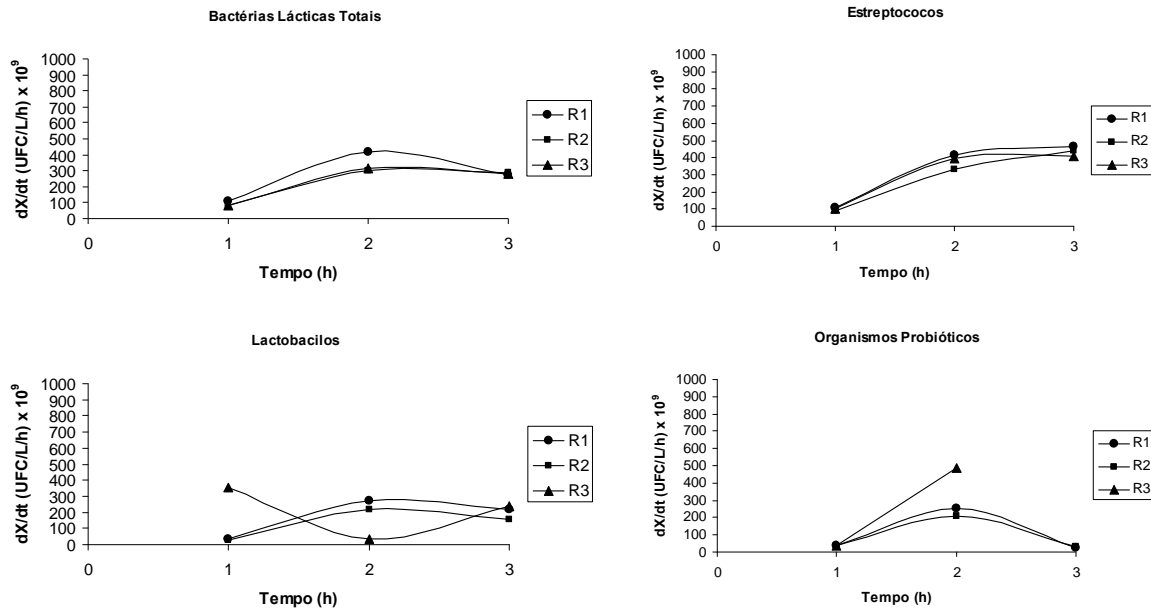


Figura 13 – Velocidade instantânea de crescimento de bactérias lácticas totais, estreptococos, lactobacilos e organismos probióticos na bebida láctea com base láctea (Trat. 3)

Na Tabela 13 e Figura 14 pode-se verificar a necessidade de 2h30min para que a bebida láctea com o emprego de probióticos atingisse o pH próximo de 4,6, tempo esse reduzido em 30 minutos quando comparado com o substrato contendo somente base láctea e utilizando mesma cultura (Trat. 3), para R1, R2 e R3. Considerando como padrão de acidez valores entre 8 a 9 g/L, os valores observados ficaram na faixa estabelecida pelo Regulamento Técnico, isto é, 8,4 e 8,6 para R1 e R3 respectivamente, o que não ocorreu com R2 que apresentou resultado de 7,8 g/L.

Tabela 13 – pH, acidez (g/L) e velocidade instantânea de produção de ácido láctico (g/L/h) na bebida láctea com base láctea e extrato solúvel de soja (Trat. 4)

Tempo de fermentação (min)	pH			P (g/L)			dP/dt (g/L/h)		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
0	6,70	6,69	6,66	2,10	2,0	2,0	-	-	-
30	6,35	6,35	6,30	2,60	2,5	2,5	1,98	1,79	1,85
60	5,70	5,83	5,80	4,50	4,1	4,2	4,12	3,16	3,39
90	5,15	5,23	5,19	6,50	5,4	5,6	3,23	3,19	3,54
120	4,90	4,92	4,85	7,40	7,4	7,9	1,90	2,72	3,39
150	4,66	4,67	4,59	8,40	7,8	8,6	2,13	0,82	1,46

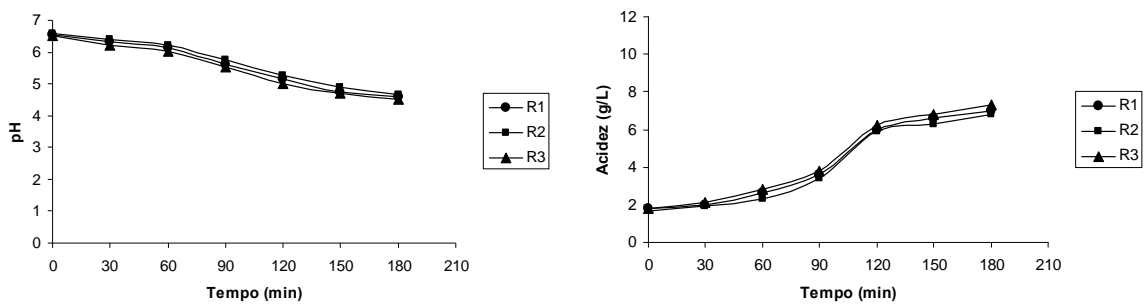


Figura 14 – Acompanhamento do pH e acidez na bebida láctea com base láctea e extrato solúvel de soja (Trat. 4)

Observa-se ainda na Tabela 13 e Figura 15 que a máxima velocidade instantânea de produção de ácido ocorreu em 1h30 para as três repetições, isto é, 3,23; 3,19 e 3,54 g/L/h para R1, R2 e R3 respectivamente. Comparando-se com o tratamento empregando-se cultura contendo organismos probióticos (Trat. 3), a incorporação de extrato solúvel de soja influenciou de modo a reduzir o tempo para atingir as máximas dP/dt.



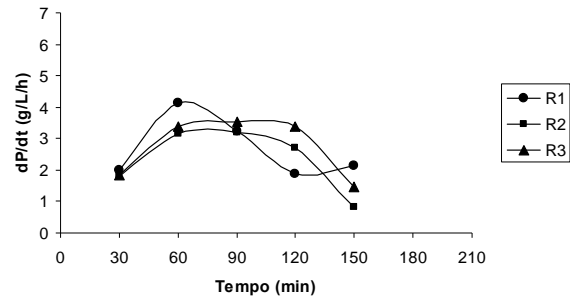


Figura 15 – Velocidade instantânea de produção de ácido láctico na bebida láctea com base láctea e extrato solúvel de soja (Trat. 4)

O crescimento de bactérias lácticas e organismos probióticos atingiu seu valor máximo após 1h quando do emprego de base láctea e extrato solúvel de soja com cultura contendo organismos probióticos. Neste mesmo tratamento, o crescimento de estreptococos e lactobacilos atingiu seu valor máximo após 2h de fermentação, tempo necessário para que ocorresse a queda no pH e o mesmo se aproximasse do valor 4,6 (Tab. 14 e Fig. 16).

Tabela 14 – Crescimento de bactérias lácticas totais, estreptococos, lactobacilos e organismos probióticos na bebida láctea com base láctea e extrato solúvel de soja (Trat. 4)

Tempo de fermentação (h)	Bac. Lác. Totais - log UFC/ml			Estreptococos - log UFC/ml		
	R 1	R2	R3	R 1	R2	R3
0	7,88	7,75	7,93	8,19	8,27	8,30
1	8,67	8,83	8,85	8,74	8,73	8,72
2	8,58	8,79	8,85	8,99	8,81	8,88

Tempo de fermentação (h)	Lactobacilos - log UFC/ml			Org. Probióticos - log UFC/ml		
	R 1	R2	R3	R 1	R2	R3
0	8,07	7,97	8,16	6,00	5,98	6,07
1	8,63	8,48	8,72	6,48	6,41	6,48
2	8,96	8,49	8,88	6,40	6,38	6,46

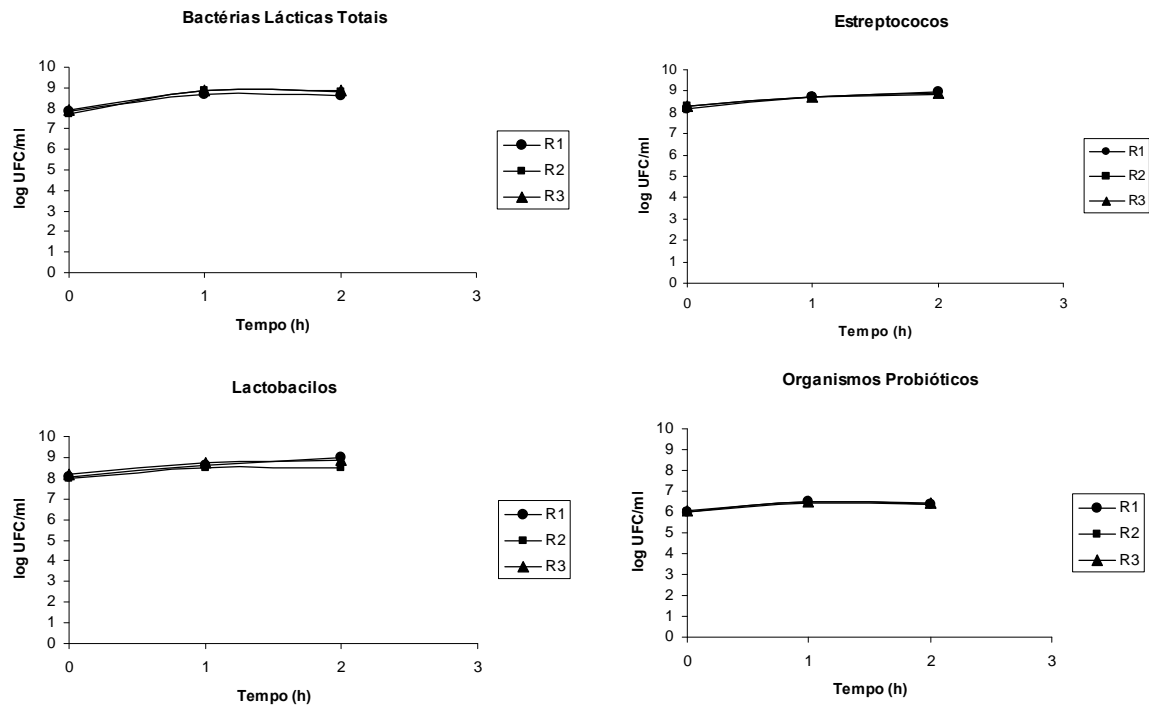


Figura 16 – Log da UFC de bactérias lácticas totais, estreptococos, lactobacilos e organismos probióticos/mL na bebida láctea com base láctea e extrato solúvel de soja (Trat. 4)

As velocidades instantâneas de crescimento de bactérias lácticas totais, estreptococos, lactobacilos e organismos probióticos atingiram os picos nas velocidades após 2h (Tab.15 e Fig. 17). Os valores máximos de  $dP/dt$  quando do emprego de cultura contendo organismos probióticos ocorreu após 3h, enquanto que os valores máximos de  $dX/dt$  para o tratamento 3 foram de 2h, demonstrando o crescimento anterior a produção de ácido láctico.

Tabela 15 – Velocidades instantâneas de crescimento de bactérias lácticas totais e estreptococos, lactobacilos e organismos probióticos na bebida láctea com base láctea e extrato solúvel de soja (Trat. 4)

Tempo de fermentação (h)	Bac. Lác. Totais $dX/dt(\text{UFC/L/h}) \times 10^9$			Estreptococos $dX/dt(\text{UFC/L/h}) \times 10^9$		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3
0	-	-	-	-	-	-
1	381,33	811,96	742,91	505,37	337,83	343,66
2	-80,77	-66,27	10,07	566,08	120,51	274,68

Tempo de fermentação (h)	Lactobacilos $dX/dt(\text{UFC/L/h}) \times 10^9$			Org. Probióticos $dX/dt(\text{UFC/L/h}) \times 10^9$		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3
0	-	-	-	-	-	-
1	441,54	174,07	427,27	1,37	1,19	1,35
2	699,74	10,16	274,68	-0,46	-0,18	-0,10

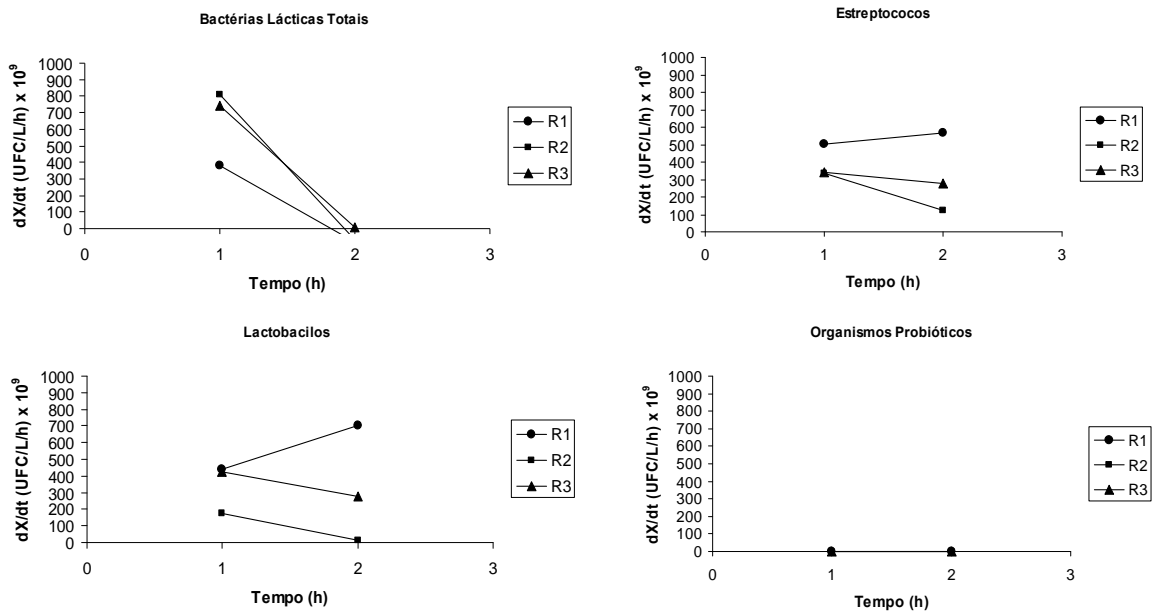


Figura 17 – Velocidade instantânea de crescimento de bactérias lácticas totais e estreptococos, lactobacilos e organismos probióticos na bebida láctea com base láctea e extrato solúvel de soja (Trat. 4)

As Figuras 18 e 19 comparam os quatro diferentes tratamentos. Na Figura 18 pode-se observar os tempos necessários para se atingir o pH próximo a 4,6 estabelecido para a interrupção do processo fermentativo e também a acidez final atingida em cada tratamento, com as respectivas repetições. A Figura 19 mostra as máximas velocidades instantâneas de produção de ácido dentro dos tempos para cada tratamento.

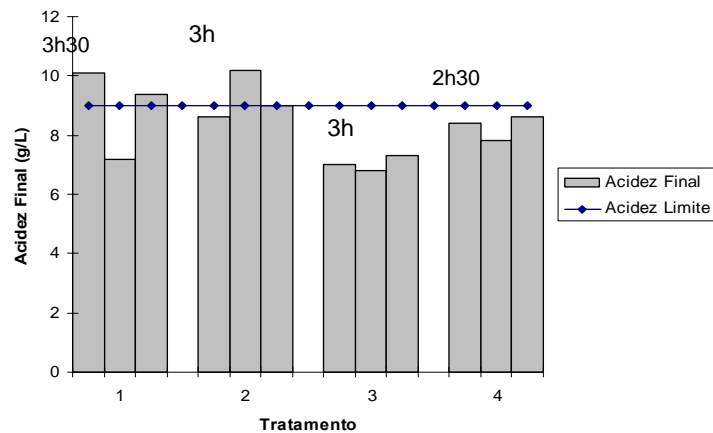


Figura 18 – Comparativo de acidez final para os diferentes tratamentos

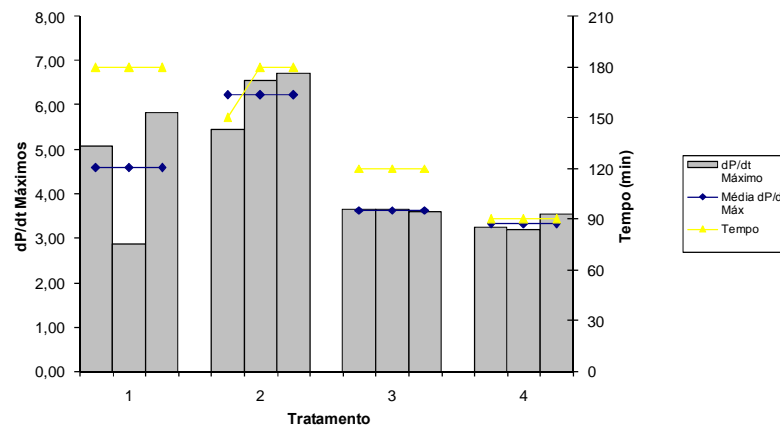


Figura 19 – Comparativo de velocidade instantânea máxima para os diferentes tratamentos

Dessa forma fica evidenciado as diferenças antes descritas causadas pela influências da substituição parcial da base láctea com extrato solúvel de soja e substituição para cultura contendo organismos probióticos.

## 6 CONCLUSÕES

O resultado final do processo fermentativo foi influenciado pelas culturas e bases lácteas empregadas.

O tempo necessário para atingir o pH próximo a 4,6, valor estabelecido para a interrupção do processo fermentativo e também a acidez final atingida em cada tratamento, com as respectivas repetições, variaram de acordo com as culturas e substratos empregados.

Segundo o limite de acidez estabelecido pelo Padrão de Identidade das Bebidas Lácteas, indicado pelo valor de 9g de ácido láctico/L (BRASIL, 2005 a), foi demonstrado que os tratamentos que empregaram cultura probiótica não conseguiram atingir o valor de acidez obtida no emprego de cultura tradicional.

Constatou-se que dos 4 tratamentos, o que atingiu o pH 4,6 mais rápido, foi o que utilizou cultura contendo organismos probióticos e substituição parcial da base láctea por extrato solúvel de soja (Trat.4), 2h30min.; e o tratamento que necessitou de mais tempo para atingir o pH estabelecido no projeto foi o que empregou base láctea e cultura comercial tradicional (Trat. 1), 3h30min.. Esta diferença pode ser explicada através do relato de Haully, Fuchs e Prudêncio-Ferreira (2005) que apontam que o extrato solúvel de soja é um meio adequado para o crescimento de bactérias lácticas por conter substâncias como rafinose, estaquiase, aminoácidos e proteínas, estimulantes ao seu crescimento.

Ficou evidenciado que os tratamentos 3 e 4 (cultura contendo organismos probióticos), atingiram as máximas velocidades instantâneas de produção de ácido em menores tempos, quando comparados com a cultura tradicional (Trat. 1 e 2).

As velocidades instantâneas de crescimento das bactérias lácticas e estreptococos atingiram seu ponto máximo em 3h, independente do substrato utilizado na fermentação, enquanto que empregando a cultura probiótica, a velocidade máxima de crescimento de bactérias lácticas ocorreu em 2h no tratamento com base láctea (trat. 3) e 1h na bebida com substituição parcial da base láctea (trat. 4).

Os  $dX/dt$  máximos relativos às culturas de estreptococos nos trat. 3 e 4 ocorreram em 3 e 1h respectivamente. Quanto aos  $dX/dt$  máximos referentes ao crescimento de lactobacilos verificou-se a necessidade de 2h e 1h respectivamente, enquanto para os organismos probióticos foi de 2h, quando do emprego de substrato base láctea e 1h quando do emprego de substrato com substituição parcial da base láctea por extrato de soja.

## REFERÊNCIAS

ABREU, L.R. **Tecnologia de leite e derivados**. Lavras: UFLA/FAEPE, 1999. 215 p.

AGUIAR, C.L. de **Transformações física e bioquímica de isoflavonas conjugadas de soja (*Glycine max L.*) e o efeito na atividade biológica *in vitro***. 2004. 285 p. Tese (Doutorado em Ciências de Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2004.

ALMEIDA, K.E.; BONASSI, I.A.; ROÇA, R.O. Características físicas e químicas de bebidas lácteas fermentadas e preparadas com soro de queijo minas frescal. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 21, n. 2, p. 187-192, maio./ago., 2001.

AMERICAN OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. Arlington, 1995. 2v.

ANDRADE, R.L.P.de; MARTINS, J.F.P. Influência da adição da fécula de batata-doce (*Ipomoea batatas L.*) sobre a viscosidade do permeado de soro de queijo. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 22, n. 3, p. 249-253, set./dez. 2002.

AQUARONE, E.; LIMA, U.A.; BORZANI, W. **Alimentos e bebidas produzidos por fermentação**. São Paulo: Edgard Blücher, 1983. 227 p. (Biotecnologia, 5)

ATLAS SOCIO ECONÔMICO RIO GRANDE DO SUL **Soja**. Disponível em: <<http://www.scp.rs.gov.br/ATLAS/atlas.asp?menu=263>> Acesso em: 12 jun. 2006.

AZEVEDO S. Iogurte light quer conquistar consumidor que não faz dieta. **TerraViva**. Disponível em :< <http://www.terraviva.com.br/clique/iogurte.html>> Acesso em: 25 maio 2006.

AWAISHEH, S.S.; HADDADIN, M.S.Y.; ROBINSON, R.K. Incorporation of selected nutraceuticals and probiotic bacteria into a fermented milk. **International Dairy Journal**, Oxford, v. 15, n. 11, p. 1184-1190, 2005.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Leis, decretos, etc. **Portaria Nº 16**, de 30 de dezembro de 1985. Aprova as normas para elaboração de leite pasteurizado reconstituído. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=13796>> Acesso em: 25 mar. 2006 a.

\_\_\_\_\_. Regulamento técnico de identidade e qualidade de bebidas lácteas. **Diário Oficial**, Brasília, 24 ago. 2005, Seção I, p. 07. a.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. **Resolução nº 18**, de 30 de abril de 1999. Aprova o regulamento técnico que estabelece as diretrizes básicas para análise e comprovação de propriedades funcionais e ou de saúde alegadas em rotulagem de alimentos, constante do anexo desta portaria. Disponível em: < <http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=109&word=> > Acesso em: 3 abr. 2008.

\_\_\_\_\_. **Resolução RDC nº 12**, de 02 de janeiro de 2001. Aprova o Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Disponível em: < <http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=144&word=> > Acesso em: 3 abr. 2008.

\_\_\_\_\_. **Resolução RDC nº 2**, de 07 de janeiro de 2002. Aprova o Regulamento Técnico sobre Aditivos Aromatizantes", que consta como Anexo da presente Resolução. Disponível em: < <http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=1567&word=> > Acesso em: 3 abr. 2008.

\_\_\_\_\_. **Resolução RDC nº 268**, de 22 de setembro de 2005. Aprova o regulamento técnico para produtos protéicos de origem vegetal. Disponível em:< <http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=18827&word=> > Acesso em: 3 abr. 2008. b.

BRONSTEIN, V.; MONTE ALEGRE, R. Estudo dos parâmetros da ultrafiltração de permeado de soro de queijo fermentado por *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*. **Ciências e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 18, n. 1, p. 93-98, jan./abr. 1998.

BROWN, R.B. **Estudo da produção de iogurte batido por fermentação contínua**. 2001. 98 p. Tese (Doutorado em Engenharia) - Escola Politécnica, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2001.

CARVALHO, N.C. de **Adição de soro de leite bovino em preparações alimentares no combate à desnutrição**. 2006. Disponível em: <[http://www.universitas.edu.br/Projetos/RESUMO\\_PROJETO.doc](http://www.universitas.edu.br/Projetos/RESUMO_PROJETO.doc)> Acesso em: 25 ago. 2006.

CHOU C.C.; HOU, J.W. Growth of bifidobacteria in soymilk and their survival in the fermented soymilk drink during storage. **International Journal of Food Microbiology**. Oxford, v. 56, p. 113-121, 2000.

COMISSÃO NACIONAL DE NORMAS E PADRÕES PARA ALIMENTOS. Resolução CNNPA nº 14, de 28 de junho de 1978. **Diário Oficial**, Brasília, 28 jun. 1978. Disponível em: <[http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/14\\_78.htm](http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/14_78.htm)>. Acesso em: 14 ago. 2006.

CORTIER, G. Los beneficios de los probióticos para la salud. **Danone Nutritopics**. Disponível em:



[http://www.danonevitapole.com/\\_\\_\\_C1256BAB00538F63.nsf/OUV?ReadForm&URL=/\\_C1256BBB00480D64.nsf/0/DOC4D2A6ED6E8114C1256BAD00494D20?OpenDocument&LNG=SPA](http://www.danonevitapole.com/___C1256BAB00538F63.nsf/OUV?ReadForm&URL=/_C1256BBB00480D64.nsf/0/DOC4D2A6ED6E8114C1256BAD00494D20?OpenDocument&LNG=SPA). Acesso em: 06 set. 2005.

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

DAWSON B; TRAPP RG. **Bioestatística básica e clínica**. 3ª. Ed. São Paulo: McGraw-Hill, 2001.

DE MAN, J.D., ROGOSA, M., SHARPE, M.E. A medium for the cultivation of lactobacilli. **Journal of Applied Bacteriology**, Reading, v. 23, p.130-135,1960.

DOLEYRES, Y.; LACROIX, C. Technologies with free and immobilised cells for probiotic bifidobacteria production and protection. **International Dairy Journal**, Oxford, v. 15, p. 973-988, 2005.

EMBRAPA. **Informação tecnológica**. Disponível em:<  
<http://www.sct.embrapa.br/500p500r/Resposta.asp?CodigoProduto=&CodigoCapitulo=167&CodigoTopico=&CodigoPR=6718>> Acesso em: 09 jun. 2006.

EMBRAPA SOJA. **A soja**. Disponível em:  
<[http://www.cnpso.embrapa.br/index.php?op\\_page=22&cod\\_pai=16](http://www.cnpso.embrapa.br/index.php?op_page=22&cod_pai=16)> Acesso em: 13 jun. 2006 a.

\_\_\_\_\_. **A soja e a saúde humana**. Disponível em:  
<<http://www.cnpso.embrapa.br/html/sosaude.htm>> Acesso em: 13 jun. 2006 b.

\_\_\_\_\_. **A soja no Brasil**. Tecnologias de produção de soja – Região central do Brasil 2004. Disponível em: <<http://www.cnpso.embrapa.br/producaosoja/SojanoBrasil.htm>> Acesso em: 12 jun. 2006 c.

ESTEVES, E.A.; MONTEIRO, J.B.R. Efeitos benéficos das isoflavonas de soja em doenças crônicas. **Revista Nutrição**, Campinas, v.14, n.1, p. 43-52, jan./abr. 2001.

FELIX, M.A. **Análise química e sensorial dos grãos de soja (*Glycine Max (L.) Merril*) tostados por diferentes tratamentos**. 2005. 101 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2005.

FRANCO, B. D, G, de M.; LANDGRAF M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu. 2004. p. 10-11.

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

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

GURGEL, M. S. de C. C. do A. **Teor de tirosina como parâmetro de qualidade e avaliação das alterações físico-químicas do iogurte**. 1994. 83 p. Dissertação (Mestrado em Ciência) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1994.

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

HELANDER, I.M.; Von WRIGHT, A.; MATTILA-SANDHOLM, T.M. Potential of lactic acid bacteria and novel antimicrobials against Gram negative bacteria. **Trends in Food Science and Technology**, Amsterdam, v.8, n. 5, p. 146-150, 1997.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE **Produção brasileira de leite** – por unidade da Federação. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/>> Acesso em: 15 ago. 2006.

IWATW, M.; MORISHITA, T. The presence of plasmids in *Bifidobacterium breve*. **Letters in Applied Microbiology**, London, v.9, p.165-168, 1989.

JELLEN, P.; LUTZ, S. Functional milk and dairy products. In: MAZZA, G. (Ed.) **Functional foods - biochemical and processing aspects**. Saneaster: Technomic Pub, , 1998. p.357-380.

LEE, Y.K.; SALMINEN, S. The coming age of probiotics. **Trends in Food Science and Technology**, Amsterdam, v. 6, n. 7, p. 241-244, 1995.

LUI, M.C.Y. **Estudo do balanço de massa e do perfil de isflavonas no processamento de isolado e concentrados protéicos de soja**. 2004.146 p. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2004.

MADUREIRA, A.R; PEREIRA, C.I.; TRUSZKOWSKA, K.; GOMES, A.M.; PINTADO, M.E.; MALCATA, F.X. Survival of probiotic bacteria in whey cheese vector submitted to environmental conditions prevailing in the gastrointestinal tract. **International Dairy Journal**, Oxford, v. 15, p. 921-927, 2005.

MARTIN, A.F. **Armazenamento do iogurte comercial e o efeito na proporção das bactérias láctias**. 2002. 50 p. (Mestrado em Ciência) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2002.

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

OLIVEIRA, M.C.S. **Como diferenciar os diversos tipos de leite**. Disponível em: <<http://www.radiobras.gov.br/ct/materia.phtml?tipo=AR&materia=161974>> Acesso em: 28 maio 2006.

OLIVEIRA, M. N.; DAMIN, M. R Efeito do teor de sólidos e da concentração de sacarose na acidificação, firmeza e viabilidade de bactérias do iogurte e probióticas em leite fermentado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 23 suppl, n.1, p. 172-176, 2003.

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

PUPIN, A. M. Probióticos, prebióticos e simbióticos: aplicações em alimentos funcionais. **Alimentos funcionais e biotecnologia**. Campinas: ITAL, 2002. p. 133-145; p.190-193.

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

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

SABOYA, L.V.; OETTERER, M.; OLIVEIRA, A.J. Propriedades profiláticas e terapêuticas de leites fermentados – uma revisão. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 31, n. 2, jul./dez. 1997.

SALADO, G.A.; ANDRADE, M.O. **Processamento e qualidade nutricional do iogurte**. Bauru: Universidade do Sagrado Coração, 1989. 35 p. (Boletim Cultural, 7).

SANTOS, J.R.U. **Desenvolvimento de pão de queijo funcional pela incorporação de isolado protéico de soja e polidextrose**. Campinas, 2006. 279 p. Dissertação

(Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2006.

SCALABRINI, P; ROSSI, M.; SPETTOLI, P.; MATTEUZZI, D. Characterization of *Bifidobacterium* strains for use in soymilk fermentation. **International Journal of Food Microbiology**, Oxford, v. 39, p. 213-219, 1998.

SILVA, M.R.da **Efeito de uma bebida láctea fermentada e fortificada com ferro no estado nutricional de ferro em pré escolares**. 2000. 75 p. Tese (MAGISTER SCIENCE ) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2000.

SINCLAIR C. G.; CANTERO D. Fermentation modelling. In: MCNEIL B., HARVEY L.M. (Ed.) **Fermentation a Practical Approach**. New York: IRL PRESS; Oxford University Press, 1990. p. 65-112.

STELLA, R. Alimentos funcionais - solução para as doenças? **Cyber Diet** Disponível em: <[http://www1.uol.com.br/cyberdiet/colunas/010618\\_nut\\_alimentos\\_funcionais.htm](http://www1.uol.com.br/cyberdiet/colunas/010618_nut_alimentos_funcionais.htm)> Acesso em 6 jun. 2006 a.

\_\_\_\_\_. A soja é um alimento completo? **Cyber Diet** Disponível em: <[http://www1.uol.com.br/cyberdiet/colunas/010528\\_nut\\_soja.htm](http://www1.uol.com.br/cyberdiet/colunas/010528_nut_soja.htm)> Acesso em: 12 jun. 2006 b.

SUGIMOTO, L. Proteína hidrolisada de soro de queijo aumenta em até 2,6 vezes o desempenho físico. **Jornal Saúde**. Disponível em: [http://www.saudeemmovimento.com.br/reportagem/noticia\\_exibe.asp?cod\\_noticia=1565](http://www.saudeemmovimento.com.br/reportagem/noticia_exibe.asp?cod_noticia=1565) . Acesso em: 16 ago. 2005.

SYKES, G., SKINNER, F. A. Techniques for the isolation and characterization of Actinomyces and bifidobacterium species, report of a panel discussion. **Applied Bacteriology Symposium**, New York, v.2, p.327-333, 1973.

TEBALDI, V.M.R. **Elaboração de bebida láctea de soro de ricota e extrato solúvel de soja**. 2005. 79p. Dissertação (Magister Science) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2005.

TEIXEIRA, S.M.B **Elaboração de bebida láctea fermentada utilizando soro de ricota**. 2002. 63p. Dissertação (Magister Science) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2002.

TERZAGHI, B.E.; SANDINE, W.E.: Improved medium for lactic streptococci and their bacteriophages. - **Applied Microbiology**, Oxford, v. 29, p. 807-813, 1975.

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**, São Paulo, v.41, n. 3, p.393-400, jul./set. 2005.

TSANGALIS, D.; SHAH, N.P. Metabolism of oligosaccharides and aldehydes and production of organic acids in soymilk by probiotic bifidobacteria. **International Journal of Food Science and Technology**, Oxford, v. 39, n. 5, p. 541-544, 2004.

VIANA, A.M.L. **Utilização de derivados protéicos de soja em produtos lácteos fermentados**. 1986. 105p. Dissertação (Magister Science) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1987.

ZAR, J.H. **Biostatistical analysis**. New Jersey: Prentice Hall, 1999.663.

# 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](#)