

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ  
DEPARTAMENTO ACADÊMICO DE ALIMENTOS  
CURSO SUPERIOR DE TECNOLOGIA EM ALIMENTOS**

**FERNANDA RITA**

**INFLUÊNCIA DA COMPOSIÇÃO DA MATRIZ ALIMENTAR NA  
VIABILIDADE DO *Lactobacillus acidophilus* La-5 EM SOBREMESA  
DE SOJA AERADA SIMBIÓTICA**

**TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO**

**PONTA GROSSA**

**2014**

**FERNANDA RITA**

**INFLUÊNCIA DA COMPOSIÇÃO DA MATRIZ ALIMENTAR NA  
VIABILIDADE DO *Lactobacillus acidophilus* La-5 EM SOBREMESA  
DE SOJA AERADA SIMBIÓTICA**

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado como requisito parcial à  
obtenção do título de Tecnólogo em  
Alimentos, do Departamento de  
Alimentos, da Universidade Tecnológica  
Federal do Paraná.

Orientador: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup>. Maria Carolina de  
Oliveira Ribeiro

**PONTA GROSSA**

**2014**



Ministério da Educação  
**Universidade Tecnológica Federal do Paraná**  
Campus Ponta Grossa

Departamento Acadêmico de Alimentos  
Curso Superior de Tecnologia em Alimentos



---

## TERMO DE APROVAÇÃO

INFLUÊNCIA DA COMPOSIÇÃO DA MATRIZ ALIMENTAR NA VIABILIDADE DO  
*Lactobacillus acidophilus* La-5 EM SOBREMESA DE SOJA AERADA SIMBIÓTICA

por

FERNANDA RITA

Este Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) foi apresentado em cinco de fevereiro de 2014 como requisito parcial para a obtenção do título de em Alimentos. A candidata foi arguida pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho aprovado.

---

Maria Carolina de Oliveira Ribeiro  
Prof.(a) Orientador(a)

---

Denise Milleo Almeida  
Membro titular

---

Cibele Pereira Kopruszynski  
Membro titular

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente aos meus pais, por todo amor e apoio oferecido durante esta jornada. Sem vocês nada teria sido possível. Nada será capaz de mensurar a grandeza do meu amor por vocês e o quanto agradeço por, mesmo estando longe, sempre se fizeram presentes, me dando forças, me ouvindo, me fazendo sorrir. Meu mais sincero agradecimento. Amo vocês incondicionalmente.

A minha avó, em memória.

A todos meus professores que fizeram da minha vida acadêmica uma construção do saber. Em especial, a minha orientadora Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria Carolina de Oliveira Ribeiro, pela sabedoria com que me guiou nesta trajetória.

Às minhas novas amigas concebidas na faculdade. Que elas durem tanto quanto foram intensas.

A meu namorado e amigo, que nos últimos tempos acompanhou toda minha ansiedade e angústia. É muito bom ter você ao meu lado.

Enfim, a todos os que por algum motivo contribuíram para a realização desta pesquisa.

## RESUMO

RITA, Fernanda. **Influência da composição da matriz alimentar na viabilidade do *Lactobacillus acidophilus* La-5 em sobremesa de soja aerada simbiótica.** 2014. 50 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Tecnologia em Alimentos) da - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Ponta Grossa, 2014.

A composição da matriz alimentar, cujo micro-organismo é submetido, influencia de forma significativa na sua viabilidade celular. A adição de proteína na matriz alimentar contribui para que o micro-organismo seja protegido de influências do meio, que possam diminuir a viabilidade celular. Portanto, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito da composição da matriz alimentar, na viabilidade do *Lactobacillus acidophilus* La-5, durante o período de vida de prateleira. Três formulações, com diferentes teores de proteína, foram produzidas: Formulação 1 (F1), com 5,53%, a Formulação 2 (F2) com 9,33% e a Formulação 3 (F3) com 11,92%. A sobremesa foi avaliada quanto a viabilidade celular, textura, acidez total, durante 28 dias em intervalos de 7 dias. Os resultados, para a viabilidade celular da cultura, permaneceram, ao longo das análises, dentro dos parâmetros preconizados pela legislação, sendo caracterizado como produto probiótico. Quanto ao perfil de textura as amostras não apresentaram diferença significativa ( $p < 0,05$ ) ao longo dos dias de armazenamento para a mesma formulação, porém entre as diferentes formulações, percebeu-se diferença significativa ( $p < 0,05$ ). Na análise de acidez, as três formulações apresentaram diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre si, sendo que, para a mesma formulação em diferentes dias de análises, somente a formulação 3 não apresentou diferença significativa ( $p < 0,05$ ). As concentrações de proteína na matriz alimentar, influenciaram na evolução da viabilidade, assim como foram fator limitante para a determinação de textura e acidez total.

**Palavras-chave:** Probiótico. Viabilidade. *Lactobacillus acidophilus* La-5. Proteína. Sobremesa de soja aerada.

## ABSTRACT

RITA, Fernanda. Influence of the food matrix's composition on the viability of *Lactobacillus acidophilus* La-5 in symbiotic aerated soy dessert. 2014. 50 p. Completion Coursework (Food Technology) - Federal Technology University - Parana. Ponta Grossa, 2014.

The food matrix's composition, in which the microorganism goes through, significantly influences its cell viability. Protein addition to the food matrix contributes to protect the microorganisms from external influences that can diminish the cell viability. Therefore, the objective of this paper was to assess the effects of protein amounts in symbiotic aerated soy dessert, in *Lactobacillus acidophilus* La-5 viability, in its lifetime on the shelves. Three formulations, with different protein amounts, were produced: formulation 1(F1) with 5.53%, formulation 2(F2) with 9.93% and formulation 3(F3) 11.92%. The dessert was evaluated for cell viability, texture, acidity, during 28 days at intervals of 7 days. The results, to cell viability of the culture, stayed, through the analysis, inside the law parameters recommended by legislation, characterized as a probiotic product. The texture profile of the samples do not show any major differences ( $p < 0.05$ ) through the storage days to the same formulation, but between the formulations, there is a noticeable difference ( $p < 0.05$ ). In the acidity analysis, the three formulations show noticeable difference ( $p < 0.05$ ) between themselves, being that, the same formulation in three different days of analysis, only formulation 3 did not present noticeable difference ( $p < 0.05$ ). The protein concentration of food matrix, influenced evolution of viability, thereby was limiting factor for the determination of texture and acidity.

**Keywords:** Probiotic. Cell viability. *Lactobacillus acidophilus* La-5. Protein. Aerated soya dessert.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1 - Fluxograma das etapas do processo produtivo da sobremesa com soja aerada, potencialmente simbiótica .....27
- Figura 2 – Roteiro ilustrado do protocolo utilizado para avaliação da população celular na sobremesa .....28
- Figura 3 - Evolução da viabilidade celular do *Lb. acidophilus* La-5 durante período de armazenamento refrigerado. ....34

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Composição das formulações das sobremesas de soja aeradas.....	26
Tabela 2 – Quantificação de proteínas em sobremesa de soja aerada. ....	30
Tabela 3 – Viabilidade celular do <i>Lb. acidophilus</i> La-5 obtidas para a sobremesa aerada simbiótica, nas três formulações armazenadas por 28 dias sob refrigeração. ....	31
Tabela 4 – Valores de firmeza, coesividade e elasticidade para as formulações de sobremesa aerada, armazenadas sob refrigeração. ....	36
Tabela 5 – Valores de acidez total titulável para as formulações 1, 2, 3 de sobremesa aerada, armazenadas sob refrigeração por 28 dias. ....	39

## LISTA DE SIGLAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
Aw	Atividade de Água
BAL	Bactérias Ácido Lácticas
CPS	Concentrado Proteico de Soro
EHS	Extrato Hidrossolúvel de Soja
F1	Formulação 1
F2	Formulação 2
F3	Formulação 3
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations
FOS	Fruto-Oligossacarídeos
GOS	Galacto-Oligossacarídeos
GP	Grau de Polimerização
GRAS	Generally Recognised as Safe
MRS	Man Rogosa Sharpe
TGI	Trato Gastrointestinal
UFC	Unidades Formadoras de Colônias
WHO	World Health Organization

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>10</b>
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>13</b>
2.1 PROBIÓTICOS .....	13
2.1.1 Gênero <i>Lactobacillus</i> .....	14
2.2 PREBIÓTICOS.....	16
2.3 ALIMENTOS SIMBIÓTICOS .....	17
2.4 INGREDIENTES ALIMENTARES COM PROPRIEDADES FUNCIONAIS.....	18
2.4.1 Inulina e Oligofrutose.....	18
2.4.2 Concentrado proteico de soro de leite (CPS) .....	18
2.4.3 Extrato Hidrossolúvel de Soja (EHS).....	20
2.5 APLICAÇÃO DE PROBIÓTICOS E PREBIÓTICOS EM MATRIZES ALIMENTARES .....	21
<b>3 OBJETIVOS.....</b>	<b>23</b>
3.1 OBJETIVO GERAL .....	23
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	23
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>24</b>
4.1 MATERIAIS.....	24
4.2 MÉTODOS .....	24
4.2.1 Cultura Láctica .....	24
4.2.1.1 Reativação da cultura láctica .....	24
4.2.2 Método microbiológico para contagem celular .....	24
4.2.3 Preparo da cultura láctica.....	25
4.2.4 Obtenção da sobremesa de soja aerada simbiótica.....	25
4.2.5 Avaliação das características da sobremesa .....	28
4.2.6 Determinação da viabilidade celular da cultura na sobremesa .....	28
4.2.7 Características físico químicas .....	29
4.2.8 Análise Estatística .....	29
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÕES .....</b>	<b>30</b>
5.1 TEOR DE PROTEÍNA DAS SOBREMESAS.....	30
5.2 DETERMINAÇÃO DA VIABILIDADE CELULAR DA CULTURA NA SOBREMESA .....	31
5.3 PERFIL DE TEXTURA DA SOBREMESA AERADA SIMBIÓTICA .....	35
5.4 DETERMINAÇÃO DA ACIDEZ TOTAL TITULÁVEL.....	39
<b>6 CONCLUSÃO.....</b>	<b>41</b>
<b>7 REFERÊNCIAS.....</b>	<b>42</b>
<b>ANEXO A - Laudo Determinação da Concentração de Proteínas.....</b>	<b>49</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A demanda por alimentos que proporcionem uma melhor qualidade de vida e bem estar à população tem se intensificado recentemente. Este aumento está relacionado às frequentes ocorrências de doenças crônico-degenerativas e a uma crescente conscientização das pessoas com relação aos seus hábitos alimentares. Os alimentos deixaram de ser unicamente uma forma de manutenção de vida, ganhando importância no que se refere aos benefícios à saúde dos consumidores (SOUZA, 2010).

Dentro desta nova tendência alimentar, se encontram os alimentos funcionais, sendo aqueles que, além de fonte de nutrientes essenciais, são capazes de promover benefícios fisiológicos específicos, devido à presença de ingredientes fisiologicamente saudáveis. Devem se caracterizar como um alimento ou um ingrediente convencional da dieta e demonstrar seus efeitos em quantidades usualmente consumidas (EUROPEAN COMMISSION CONCERTED ACTION ON FUNCTIONAL ON FOOD SCIENCE IN EUROPE, 1999).

No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), nas Resoluções nº 18 e 19 de 30 de abril de 1999, não definem alimento funcional, mas sim “alimento com alegação de propriedade” e/ou “alimento com alegação de propriedade de saúde” (BRASIL 1999). Esses alimentos possuem potencial para promover a saúde por mecanismos não previstos na nutrição convencional, devendo ser salientado que este efeito se restringe à promoção da saúde e não à cura de doenças (KOMATSU; BURITI; SAAD, 2008).

As diretrizes para este tipo de alimento permitem alegações relacionadas ao papel fisiológico no crescimento, desenvolvimento e funções normais do organismo e ainda, alegações sobre a manutenção geral da saúde e a redução de doenças, em caráter opcional (PADILHA, 2013).

A ANVISA divulgou uma lista de propriedades funcionais comprovadas, disponíveis para o consumo humano, sendo encontrados o ômega 3, o licopeno, a luteína, a zeaxantina, as fibras alimentares, a beta-glucana, a dextrina resistente, os fruto-oligossacarídeos, a goma guar parcialmente hidrolisada, a inulina, a lactulose, o polidextrose, o *psillium* ou *psyllium*, a quitosana, os fitoesteróis, os polióis (manitol, xilitol e sorbitol), os probióticos e a proteína de soja (BRASIL, 2008). Devem estar apresentados na forma de alimentos comuns, sendo consumidos em dietas

convencionais, porém demonstrar capacidade de regular algumas funções corporais de forma a auxiliar na proteção contra doenças como hipertensão, diabetes, câncer, osteoporose e coronariopatias (SOUZA; SOUZA NETO; MAIA, 2003; MORAES; COLLA, 2006).

O setor de lácteos, tradicionalmente disponibiliza mais opções de produtos probióticos e prebióticos, com destaque para iogurtes e leites fermentados, maionese, queijos, sucos de fruta e sobremesas. Neste contexto, há um aumento na procura por explorar a utilização desses ingredientes em produtos não lácteos. A diversidade de produtos pode estimular o consumo regular, ainda favorecendo grupos com restrições alimentares como, por exemplo, a intolerância à lactose.

Diversas pesquisas científicas estão sendo desenvolvidas utilizando produtos, muitos deles não lácteos, como matriz alimentícia para desenvolvimento de alimentos funcionais. Dentre esses alimentos, se destacam o extrato hidrossolúvel de soja, chocolates, alimentos de origem vegetal, fermentados, produtos cárneos, diferentes tipos de sucos e bebidas (RIBEIRO, 2012).

Desta forma, Matias (2001) ressalta que a demanda por alternativas ao leite vem aumentando. Sendo assim, a soja surge como substituto ideal para consumo, promovendo a saúde através de características nutricionais intrínsecas. Machado (2007) também declara que os produtos à base de soja exemplificam as características que buscam nos alimentos funcionais. Além de possuírem proteínas em quantidade e qualidade que melhoram os aspectos de funcionalidade dos alimentos, seu consumo regular contribui para diminuir os níveis de colesterol e triglicérides e previne certos tipos de câncer.

Dentre estas bactérias com potencial probiótico, está a espécie *Lactobacillus acidophilus* que, além dos benefícios em termos de nutrição e saúde, pode contribuir para melhorar o sabor do produto final produzindo uma acidificação reduzida durante a armazenagem pós-processamento (GOMES; MALCATA, 1999; BERNAL; 2004). A viabilidade das bactérias probióticas no produto alimentício apresenta uma característica fundamental, devendo alcançar e manter populações elevadas até o momento do consumo para que se observem os efeitos benéficos advindos da sua ingestão (PADILHA, 2013).

A viabilidade celular está relacionada diretamente com a composição da matriz alimentar a qual será submetida. Matrizes com ingredientes ricos em proteína contribuem de forma benéfica na multiplicação, servindo como fonte de nitrogênio,

amino-açúcares, ácido siálico e N-acetilgalactosamina, que podem ser fermentados pelos micro-organismos probióticos (SILVA, BOLINI, ANTUNES, 2004).

Desta forma, se faz necessário a realização de um maior número de pesquisas sobre as substâncias funcionais biologicamente ativas, a fim de que se determine com precisão os efeitos benéficos, níveis mínimos e máximos de ingestão com garantia de eficácia e ausência de risco de toxicidade, além da avaliação da possível ocorrência de efeitos colaterais no uso em períodos prolongados.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 PROBIÓTICOS

Dentre os alimentos com alegação de propriedades funcionais, se destacam os probióticos. O conceito de probiótico apresenta modificações com o passar dos anos (SANDERS, 2003), entretanto, a definição, atualmente aceita, foi proposta pela *Food and Agriculture Organization of the United Nations* (FAO) e *World Health Organization* (WHO), em 2001, como micro-organismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde do hospedeiro (WOHLGEMUTH; LOH; BLAUT, 2010).

Existem várias características desejáveis na seleção de linhagem probiótica, como a segurança (origem, patogenicidade, fatores de virulência), os critérios tecnológicos (apresentar viabilidade durante processamento e armazenamento, boa aceitabilidade sensorial, ter efeito antagonista frente à patógenos), os critérios funcionais (ser tolerante à presença e variações de acidez e a sais biliares, possuir capacidade de aderência ao epitélio intestinal do hospedeiro), assim como apresentar resistência frente às condições do sistema gastrointestinal (amilases da cavidade oral, baixo pH do estômago, secreções biliares e suco pancreático excretados na região duodenal) para poder colonizar temporariamente o intestino (HERNANDEZ-HERNANDEZ et al., 2012).

A Lista de Alegações de Propriedades Funcionais Aprovadas pela ANVISA define que a quantidade mínima viável para um produto probiótico apresentar a alegação de promoção de saúde, deve estar entre  $10^8$  a  $10^9$  Unidades Formadoras de Colônias (UFC), por porção diária do produto, o que equivale ao consumo de 100g de produto contendo  $10^6$  a  $10^7$  UFC/g (BRASIL, 2008).

Diversos benefícios têm sido atribuídos aos probióticos, entre eles o de propiciar o equilíbrio e estabilização da microbiota intestinal após o uso de antimicrobianos, promoção à resistência gastrointestinal à colonização por patógenos, produção de ácido acético e lático e de bacteriocinas, ocasionando à diminuição de patógenos, promoção da melhora do sistema imune, a redução de intolerância à lactose, a redução no nível do colesterol sérico e pressão sanguínea, a capacidade ativa de digestão, alívio da constipação, aumento de absorção de

minerais e produção de vitaminas (FULLER, 1989; LEVRI et al., 2005 ; SULLIVAN; NORD, 2005).

Dentre as espécies e gêneros consideradas potencialmente probióticas se destacam as bactérias ácido lácticas (BAL), em grande número de gêneros e espécies. No gênero *Lactobacillus*, estão representados os *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei shirota*, *Lactobacillus casei rhamnosus*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus casei defensis* e *Lactococcus lactis* (BRASIL, 2008). Além dos *Lactobacillus*, outros micro-organismos têm sido utilizados comercialmente, principalmente na produção de queijos e na fermentação de leite ou outras matérias-primas, como o caso de *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium animalis* (incluindo a subespécie *B. lactis*), *Bifidobacterium longum* e *Enterococcus faecium* (BRASIL, 2008).

As BAL, entre as quais se encontra a gênero *Lactobacillus*, foram utilizadas para a conservação de alimentos mediante fermentação durante milhares de anos (OMGE, 2008). Segundo Machado (2007), as BAL podem também, além das atribuições nas características sensoriais de sabor e textura e o aumento do valor nutricional, serem usadas como bioconservadores devido à produção de bacteriocinas. São importantes na indústria alimentícia, pois são conservadores biológicos e não formam compostos indesejáveis durante sua degradação, exercendo função dupla, atuando como agentes fermentadores de alimentos, podendo também gerar efeitos benéficos à saúde

### 2.1.1 Gênero *Lactobacillus*

O gênero dos *Lactobacillus* faz parte do grupo de bactérias Gram-positivas, que se apresentam na forma de bacilos ou cocobacilos, não formadores de esporos, isolados ou em cadeias. São anaeróbios facultativos e ácido-tolerantes, com pH ótimo de crescimento entre 5,5 e 6,2 (PRADO, 2007). Produzem principalmente, ácido láctico e ácido acético com redução de pH, proporcionando um ambiente desfavorável a micro-organismos patogênicos (GOMES; MALCATA, 1999).

Dentre as BAL pertencentes ao gênero *Lactobacillus*, esta o *Lb. acidophilus*, o *Lb. delbrueckii* sub sp. *bulgaricus*, o *Lb. helveticus*, o *Lb. casei* sub sp. *paracasei*, o *Lb. fermentum*, o *Lb. reuteri*, o *Lb. johnsonii*, o *Lb. plantarum*, o *Lb. rhamnosus* e o

*Lb. salivarius* (COLLINS et al., 1998; LEE et al., 1999; SANDERS; KLAENHAMMER, 2001). A cepa *Lb. acidophilus* está provavelmente como a espécie mais estudada deste gênero (KLAENHAMMER et al., 2008; JAFEREI; EBRAHIMI, 2011).

*Lactobacillus sp.* está entre o mais empregado na produção de gêneros alimentícios probióticos (LEE, 2009). Estes micro-organismos podem ser encontrados em diversos *habitats* como alimentos, animais e humanos. Em humanos, estas bactérias colonizam a cavidade bucal, o trato gastrointestinal (TGI) e geniturinário (PAROLO, 2009) e estando distribuídos em nichos ecológicos no trato gastrintestinal e genital, constituindo parte importante da microbiota dos humanos e de animais superiores (CORRÊA, 2006).

Promovendo a saúde de TGI e geniturinário, estudos apontam que o *Lb. acidophilus* esta associado à melhoria dos sintomas de intolerância à lactose, controle de diarreia aguda e redução de sintomas de enterocolites necrozantes em recém-nascidos (KAILASAPATHY & CHIN, 2000; RERKSUPPAPHOL & RERKSUPPAHOL, 2010; MCFARLAND, 2010).

Os *Lb. acidophilus* pertencem ao grupo dos homofermentativos obrigatórios sendo descrito como um bacilo circular podendo aparecer em pares ou formando pequenas cadeias. Há uma ampla utilização do *Lb. acidophilus* em produtos lácteos fermentados e desperta interesse industrial e medicinal (DERAZ et al., 2007; AHMED et al., 2010) devido suas principais funções de proteção contra patógenos, auxílio na digestão da lactose, elevação no padrão nutricional dos alimentos, estimulação da resposta imune intestinal e regulação dos níveis de colesterol no organismo (FULLER, 1991; GILLILAND, 1990).

Para originar efeitos terapêuticos, a concentração mínima de células viáveis de *Lb. acidophilus* é de  $10^5$  log UFC/mL ou grama do produto (KURMANN; RASIC, 1988). De acordo com a composição do meio e a disponibilidade de nutrientes, o crescimento do *Lb. acidophilus* pode ser inibido no produto probiótico. As principais substâncias inibidoras do crescimento são os ácidos lácticos, acético e benzóico, além do peróxido de hidrogênio. (COLLINS; ARAMAKI, 1980; GILLILAND; SPECK, 1977).

As linhagens de *Lb. acidophilus* utilizadas em maior escala como probióticas são NCFM, La-1, La-2, LAC-4, La-5, DDS-1, SBT-2026, NCFB 1748, as quais têm evidenciado bom desempenho e propriedades tecnológicas favoráveis (ESCALANTE, 2001; SHAH, 2001). O *Lb. acidophilus* da linhagem La-5, segundo

Buriti (2008), representa um micro-organismo probiótico sendo o efeito benéfico reconhecido cientificamente. Mas se deve ressaltar que embora pertençam ao mesmo gênero, cada cepa possui características específicas, resultando em um comportamento diferencial entre si, por isto não deve ser generalizado para outras cepas da mesma espécie.

## 2.2 PREBIÓTICOS

A definição mais recente dos prebióticos os relaciona como ingredientes fermentados seletivamente, que promovem alterações específicas na composição e/ou atividade da microflora gastrointestinal, proporcionando bem estar e saúde do hospedeiro (ROBERFROID, 2007).

Alguns critérios foram estabelecidos para considerar um ingrediente alimentar como um prebiótico. Dentre estes estão, a resistência à acidez gástrica, não ser hidrolisado por enzimas humanas, não ser absorvido pelo TGI, fermentação pela microbiota intestinal e estímulo seletivo à multiplicação e/ou atividade dessas bactérias intestinais que contribuem para a saúde e bem-estar (SANTOS et al., 2011).

De acordo com a lista de alegações de propriedades funcionais aprovadas pela ANVISA (BRASIL, 2008), vários ingredientes alimentares têm sido propostos como potencialmente prebióticos, entretanto, evidências científicas para o cumprimento dos pré-requisitos necessários para atender a essa classificação só existem para quatro ingredientes, sendo a inulina, os fruto-oligossacarídeos (FOS), os galacto-oligossacarídeos (GOS) e a lactulose. Roberfroid (2007) defende que a inulina e os FOS são os únicos ingredientes que, atualmente, preenchem os critérios de classificação prebiótica.

Para um produto receber a alegação de função prebiótica deve conter inulina ou oligofrutose. É obrigatório que a porção do produto pronto para consumo forneça no mínimo 3 g para alimentos sólidos ou 1,5 g se o alimento for líquido, conforme a “Lista de alegações de propriedades funcionais aprovadas” (BRASIL, 2008).

O prebióticos possuem características benéficas à saúde. São capazes de interferir no equilíbrio populacional da microbiota intestinal, por serem ingredientes não digeríveis, oferecem proteção intestinal contra micro-organismos patogênicos,

produzem substratos energéticos para as células do epitélio intestinal, favorecem a absorção do cálcio, proporcionam aumento do peso fecal, reduzem o tempo de trânsito gastrointestinal e regulam os níveis de lipídeos séricos (PADILHA, 2013).

### 2.3 ALIMENTOS SIMBIÓTICOS

Os alimentos denominados como simbióticos são aqueles que oferecem uma combinação apropriada de agentes probióticos com ingredientes prebióticos (PADILHA, 2013). A interação entre o probiótico *in vivo* pode ser favorecida por uma adaptação de probiótico ao substrato prebiótico anteriormente ao seu consumo, ou seja, quando ambos estão inseridos no alimento, resultando em vantagens competitivas para a cultura probiótica, quando ingerida associada ao ingrediente prebiótico (SOUZA, 2010).

Existem duas abordagens propostas para os simbióticos. A primeira seria referente à complementaridade, em que o probiótico tem sido escolhido pelo efeito benéfico à saúde específico e o prebiótico independentemente escolhido para aumentar a concentração de micro-organismos benéficos da microbiota (PADILHA, 2013). A segunda relaciona a sinergia entre os elementos prebióticos e probióticos, que são selecionados especificamente para agirem mutuamente no organismo. A escolha do probiótico está relacionada ao efeito benéfico à saúde específica e o prebiótico selecionado para estimular sua atividade e multiplicação (KOLIDA & GIBSON, 2011).

Os simbióticos têm se apresentado mais efetivos que probióticos e prebióticos, de forma isolada, na melhoria da qualidade de vida de pacientes portadores de colite ulcerativa e câncer colorretal ou na microbiota intestinal (GRIMOUD et al., 2010). O consumo associado de prebióticos e probióticos selecionados apropriadamente pode refletir no aumento dos efeitos benéficos de cada um deles, uma vez que o estímulo de cepas probióticas conhecidas leva à escolha dos pares simbióticos, substrato-micro-organismo, (STEFE; ALVES; RIBEIRO, 2008).

## 2.4 INGREDIENTES ALIMENTARES COM PROPRIEDADES FUNCIONAIS

### 2.4.1 Inulina e Oligofrutose

Inulina e fruto-oligossacarídeos (FOS) vêm aumentando sua importância entre os ingredientes prebióticos, conquistando destaque nos estudos científicos, devido às suas características que possibilitam serem usados nas indústrias de alimentos como substitutos de gorduras e açúcares, reduzindo assim, o teor calórico, fazendo com que sua utilização na área tenha aumentado significativamente.

Quimicamente, os frutanos do tipo inulina são cadeias lineares de carboidratos, consistindo principalmente, de ligações  $\beta$  (2-1)-frutossil-frutose, podendo conter uma molécula inicial de  $\alpha$ -D-glicose. O grau de polimerização (GP) fica entre 2 a 60, com uma média igual a 12.

A oligofrutose, denominada de frutano de cadeia curta, resulta da hidrólise parcial da inulina, sendo que seu GP varia entre 2 a 7, com média de 4 unidades (SANTOS et al., 2011). Os termos oligofrutose e fruto-oligossacarídeos (FOS) são considerados sinônimos para todos os oligômeros lineares de frutanos unidos por ligações  $\beta$ -(2-1) com GP inferior a 10 (SAAD, 2006).

A oligofrutose pode ser utilizada como substituto de açúcar e a inulina como substituto de gordura como um meio de melhorar a textura, estabilizar espuma ou melhorar a sensação tátil bucal, através da formação de microcristais, quando misturada em água ou leite. Estes microcristais, mesmo sendo imperceptíveis na degustação, interagem formando uma textura finamente cremosa que promove, sensorialmente, semelhança à gordura (PIMENTEL; GARCIA; PRUDENCIO, 2012). Conseqüentemente, sendo empregada como substituto de gordura em pães e em produtos cárneos, lácteos, molhos, recheios, coberturas e sobremesas congeladas (NINESS, 1999).

### 2.4.2 Concentrado proteico de soro de leite (CPS)

Dentre os diferentes nutrientes adicionados a alimentos para melhorar a viabilidade de micro-organismos, além dos prebióticos, se destacam os

componentes derivados do leite, como o concentrado proteico de soro (CPS) (SOUZA,2010). Para Baldissera et al. (2011), o soro de leite é reconhecido como um dos mais versáteis co-produtos da indústria de alimentos e uma fonte útil de proteínas de alta qualidade nutricional e funcional.

Conforme Souza (2010), as proteínas compõem a estrutura dos alimentos e sua inclusão na matriz alimentar pode influenciar as características reológicas do alimento. Para a produção de novos alimentos, as propriedades bioativas e as funções tecnológicas do CPS podem ser simultaneamente importantes. Segundo Ribeiro (2012), todas as proteínas do soro podem resultar em peptídeos bioativos durante a digestão ao longo do TGI, pela ação de proteases digestivas ou microbianas, ou mesmo por enzimas de cultura *starter*.

O conjunto de proteínas do soro de leite bovino está representado pela  $\beta$ -lactoglobulina (ca. 35-55%),  $\alpha$ -lactoalbumina (ca.12-24%), albumina do soro bovino (ca. 5%), imunoglobulinas (ca.8-15%), peptídeos derivados da caseína e outras em menores proporções (RIBEIRO, 2012). Conforme Vidigal (2009), as proteínas são constituídas por partículas uniformes e esféricas, permitindo o deslizamento de uma partícula sobre as outras e oferece, durante a degustação, a sensação de cremosidade semelhante à da gordura.

As proteínas do soro são frequentemente utilizadas como ingredientes alimentares, devido ao seu alto valor nutritivo, por serem consideradas *Generally Recognised as Safe* (GRAS) (HUDSON et al., 2000). A  $\beta$ -lactoglobulina e a  $\alpha$ -lactoalbumina representam, aproximadamente, 70% das proteínas totais do soro e são responsáveis pela hidratação, geleificação e propriedades de emulsificação e formação de espuma dos ingredientes de proteínas do soro (SILVA; BOLINI; ANTUNES, 2004).

Quanto à aplicabilidade, o CPS é empregado em suplementação de alimentos contendo micro-organismos probióticos, interagindo de forma benéfica na sua multiplicação. Devido ao alto valor proteico, serve como fonte de nitrogênio, amino-açúcares, ácido siálico e N-acetilgalactosamina, que podem ser fermentados pelos micro-organismos probióticos. A proteína do soro possui, também, aplicações na indústria de laticínios, como em sorvetes, iogurtes, bebidas lácteas, cremes e queijos (SILVA, BOLINI, ANTUNES, 2004).

Além de auxiliarem na multiplicação e/ou manutenção da viabilidade de micro-organismo probióticos, quando adicionadas conjuntamente em alimentos,

proteínas do soro leite também podem auxiliar na estabilidade de alguns produtos, como produtos à base de emulsões. Uma variedade de proteínas do soro do leite é empregada como emulsificante em alimentos (Mc CLEMENTS, 2005). Sendo assim, esses compostos se apresentam como potenciais ingredientes para serem utilizados na fabricação de sobremesas aeradas simbióticas.

#### 2.4.3 Extrato Hidrossolúvel de Soja (EHS)

Há algum tempo a soja (*Glicine max*) vem aumentando seu consumo e despertando grande interesse por parte dos pesquisadores em decorrência da relação positiva entre o seu consumo e os efeitos benéficos à saúde (ROSSI et al., 2004). Segundo Moraes et al. (2009), a soja possui alta digestibilidade (92-100%), além de ser considerada uma excelente fonte proteica, com uma das melhores composições de aminoácidos essenciais entre as proteínas de origem vegetal. Compostos com ação antioxidante como tocoferóis, fosfolipídeos, aminoácidos livres e peptídeos de baixo peso molecular, constituem a soja. Suas principais características químicas e nutricionais a qualificam como alimento funcional. Além da alta qualidade de sua proteína, diversos estudos demonstram várias formas que esta pode ser utilizada na alimentação, por exemplo, na forma preventiva e terapêutica no tratamento de doenças cardiovasculares, câncer, osteoporose e sintomas de menopausas (RIBEIRO, 2012).

Seus derivados proporcionam excelentes possibilidades de utilização através das suas variadas formas na área de processamento de produtos alimentícios destinados ao consumo humano, com melhor valor nutritivo e custos reduzidos (MORAES et al., 2009). Os principais fatores limitantes ao consumo da soja, em grão ou de seus derivados, envolvem o sabor característico e a adstringência, já que em termos de aparência e valor nutritivo compara-se ao leite (MORAIS; SILVA, 1996).

A atividade biológica e o metabolismo das isoflavonas ingeridas na dieta dependem da forma química em que se apresentam. Após a ingestão, as formas malonil e acetil glicosídicas são metabolizadas a  $\beta$ -glicosídeos, as quais sofrem hidrólise pelas  $\beta$ -glicosidases, produzidas pelas bactérias intestinais, havendo a

liberação de glicose e agliconas (MORAES et al., 2009). Somente as formas agliconas ou seus produtos metabólicos são absorvidos pela barreira epitelial do intestino, a qual ocorre passivamente via micelas e, após a absorção, estas moléculas são incorporadas nos quilomícrons, que as transportam ao sistema linfático antes de entrar no sistema circulatório (ESTEVEZ; MONTEIRO, 2001; SILVA et al., 2009).

Além das isoflavonas, os oligossacarídeos presentes naturalmente na soja, como a estaquiose e rafinose, não são degradados pelas enzimas digestivas humanas. Estes carboidratos podem servir como substrato para micro-organismos no cólon, estimulando a multiplicação de bactérias benéficas e aumentando a produção de ácidos graxos de cadeia curta e a eliminação fecal de lipídios (BANG; CHIO; KIM, 2007).

De acordo com Machado (2007), estão sendo desenvolvidas pesquisas com micro-organismos no intuito de melhorar o sabor e aumentar a aceitabilidade do extrato de soja. Adicionalmente, Machado (2007) ainda ressalta que estudos comprovaram que o extrato de soja se apresenta como um substrato adequado para o crescimento e atividade de BAL, comumente utilizadas na preparação de produtos como iogurtes, queijos e bebidas e sobremesas.

## 2.5 APLICAÇÃO DE PROBIÓTICOS E PREBIÓTICOS EM MATRIZES ALIMENTARES

A matriz alimentar se apresenta como um fator determinante para a viabilidade e atividade do micro-organismo. Cada linhagem possui suas particularidades, sendo de extrema importância conhecer a sua vida útil no produto, desde o processo produtivo até o final de seu período de armazenamento (PADILHA, 2013).

Alguns fatores podem influenciar a multiplicação e a sobrevivência dos micro-organismos probióticos nos alimentos em consequência de sua alta sensibilidade às condições ambientais, que incluem: acidez, temperatura, valor de pH, concentrações e tipos de proteínas, interações entre as espécies, presença de oxigênio dissolvido, prática de inoculação, condições de estocagem e presença de substâncias inibidoras no meio (OLIVEIRA e DAMIN, 2003).

Segundo Machado (2007), as matrizes alimentícias, particularmente lácteas, tem sido objeto de estudos, como veículos promissores para micro-organismos probióticos, porém as derivadas de substitutivos lácteos, também representam matrizes potenciais para tais micro-organismos. O extrato de soja tem sido considerado adequado para o crescimento de BAL devido à presença de oligossacarídeos, aminoácidos e peptídeos. O objetivo em substituir as matrizes lácteas, está relacionado com as propriedades funcionais da soja e a possibilidade de consumo por um público mais abrangente, visto que existem muitas pessoas que sofrem efeitos adversos à componentes encontrados no leite.

A viabilidade dos micro-organismos probióticos deve-se estender desde o armazenamento, sobrevivendo às condições do TGI, principalmente na barreira gástrica. Além disso, a presença de ingredientes funcionais pode influenciar na viabilidade do probiótico durante o trânsito pelo trato gastrointestinal (PADILHA, 2013).

Para Vieira (2007), a aplicação dos derivados proteicos surge como uma alternativa para a indústria de alimentos. Sua aplicação não se deve somente às qualidades nutricionais, mas também às suas propriedades funcionais, que determinam as aplicações de produtos proteicos em formulações.

Desta forma as propriedades funcionais das proteínas de importância para a aplicação nos alimentos, além das sensoriais, são as hidrofílicas, intermoleculares e interfásicas, interferindo na viabilidade do micro-organismo de forma significativa, agindo como um agente microencapsulante e contribuindo para a interação matriz alimentar x micro-organismo (VIEIRA, 2007).

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a influência da composição da matriz alimentar na viabilidade do *Lactobacillus acidophilus* La-5 em sobremesa de soja aerada simbiótica, durante período de armazenamento sob refrigeração.

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Desenvolver formulação de sobremesa aerada à base de soja simbiótica, com diferentes concentrações de proteína;
- b) Caracterizar as formulações selecionadas quanto ao teor proteico;
- c) Acompanhar a viabilidade do micro-organismo *Lb. acidophilus* La-5 durante o armazenamento refrigerado por 28 dias;
- d) Avaliar as características físicas e químicas da sobremesa durante o período de armazenamento.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 MATERIAIS

Os materiais empregados no desenvolvimento da formulação eram de grau alimentar e foram adquiridos no comércio local, exceto os ingredientes: concentrado proteico de soro, oligofrutose e inulina obtidos por doação das empresas Alibra (Marechal Cândido Rondon, Brasil) e Beno-Orafti (Oreye, Bélgica), respectivamente.

A cepa de *Lb. acidophilus* La-5 foi doada pela empresa Christian Hansen (Valinhos, Brasil).

Os reagentes empregados eram de grau analítico e os meios de cultivo de padrão microbiológico.

### 4.2 MÉTODOS

#### 4.2.1 Cultura Láctica

##### 4.2.1.1 Reativação da cultura láctica

A cultura de *Lb. acidophilus* La-5 se encontrava armazenada sob congelamento ( $-18\pm 1^{\circ}\text{C}$ ) em leite fluído integral (Batavo, Carambeí, Brasil). Inicialmente a cultura foi reativada por duas vezes consecutivas na concentração de 2% (v/v) em caldo *Man Rogosa Sharpe* (MRS) (Himedia, Mumbai, Índia) durante aproximadamente 24 horas, a  $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ .

##### 4.2.2 Método microbiológico para contagem celular

Para determinação da viabilidade celular foi designado o método *drop plate* (SILVA et al., 2010), conhecido como plaqueamento em gotas, que consiste na deposição em quadrantes de gotas de 10 $\mu\text{L}$  da diluição de interesse na superfície seca do meio de cultura, dispostos na placa de Petri, em triplicatas. A população celular foi obtida de acordo com a Equação 1:

$$PC = \frac{NC \times 100}{D}$$

Onde:

PC – população celular (UFC.g<sup>-1</sup> ou UFC.mL<sup>-1</sup>);

NC – número de colônias contadas;

D – diluição em que foi realizada a contagem das colônias

#### 4.2.3 Preparo da cultura lática

No preparo da cultura lática, empregada na sobremesa, foi necessário a utilização do extrato hidrossolúvel de soja, produzido pela Unidade de Produção de Alimentos da Prefeitura Municipal de Ponta Grossa (Ponta Grossa, Brasil), sem aditivos químicos, suplementado com 0,5% (p/v) de glicose (Merck, Darmstadt, Alemanha) e submetido ao processo de esterilização a 121±1°C por 5 min, e resfriado à temperatura ambiente (25 ±1°C). A cultura de *Lb. acidophilus* La-5 foi adicionada na concentração de 3% (v/v), o que representou uma população celular de 11,37 log UFC.mL<sup>-1</sup>, sendo incubada a 37±1°C por 24 horas.

#### 4.2.4 Obtenção da sobremesa de soja aerada simbiótica

A sobremesa de soja aerada simbiótica foi elaborada a partir de adaptação do protocolo proposto por RIBEIRO (2012).

Os seguintes ingredientes comerciais foram utilizados na produção da sobremesa de soja aerada simbiótica: extrato de soja em pó (Jasmine, Curitiba, Brasil), creme à base de soja (20% de gordura, Batavo, Carambeí, Brasil) sacarose (União, Coopersucar União, Limeira), polpa integral de Maracujá ( Brasfrut, Feira de Santana, Bahia), inulina (Orafti HPX, Beneo – Orafti, Oreye, Bélgica), oligofrutose (Orafti P95, Beneo - Orafti) , agente emulsificante (Emustab, Duas Rodas, Jaraguá do Sul, Brasil), gelatina incolor em pó (Dr. Oetker, São Paulo, Brasil), xarope de glicose (Yoki, Paranaíba, Brasil), concentrado proteico de soro (80% proteína, Alibra, Marechal Cândido Rondon) e sorbato de potássio (Biotec, Pinhais, Brasil).

As formulações propostas para o desenvolvimento das sobremesas com diferentes concentrações proteicas estão apresentadas na Tabela 1.

**Tabela 1 – Composição das formulações das sobremesas de soja aeradas**

Ingredientes	Proporção (%) (p/p)		
	F1	F2	F3
Extrato hidrossolúvel de soja (EHS)	31,00	31,00	31,00
Polpa integral de maracujá	20,00	20,00	20,00
Creme de soja	19,20	16,00	12,00
Sacarose	13,00	10,00	8,00
Concentrado proteico de soro (CPS)	3,25	9,50	15,75
Cultura lática	3,00	3,00	3,00
Inulina	3,00	3,00	3,00
Oligofrutose	3,00	3,00	3,00
Agente emulsificante	2,00	2,00	2,00
Gelatina em pó	1,25	1,25	1,25
Xarope de milho	1,25	1,25	1,25
Sorbato de Potássio	0,07	0,07	0,07

**FONTE: Adaptado de RIBEIRO (2012)**

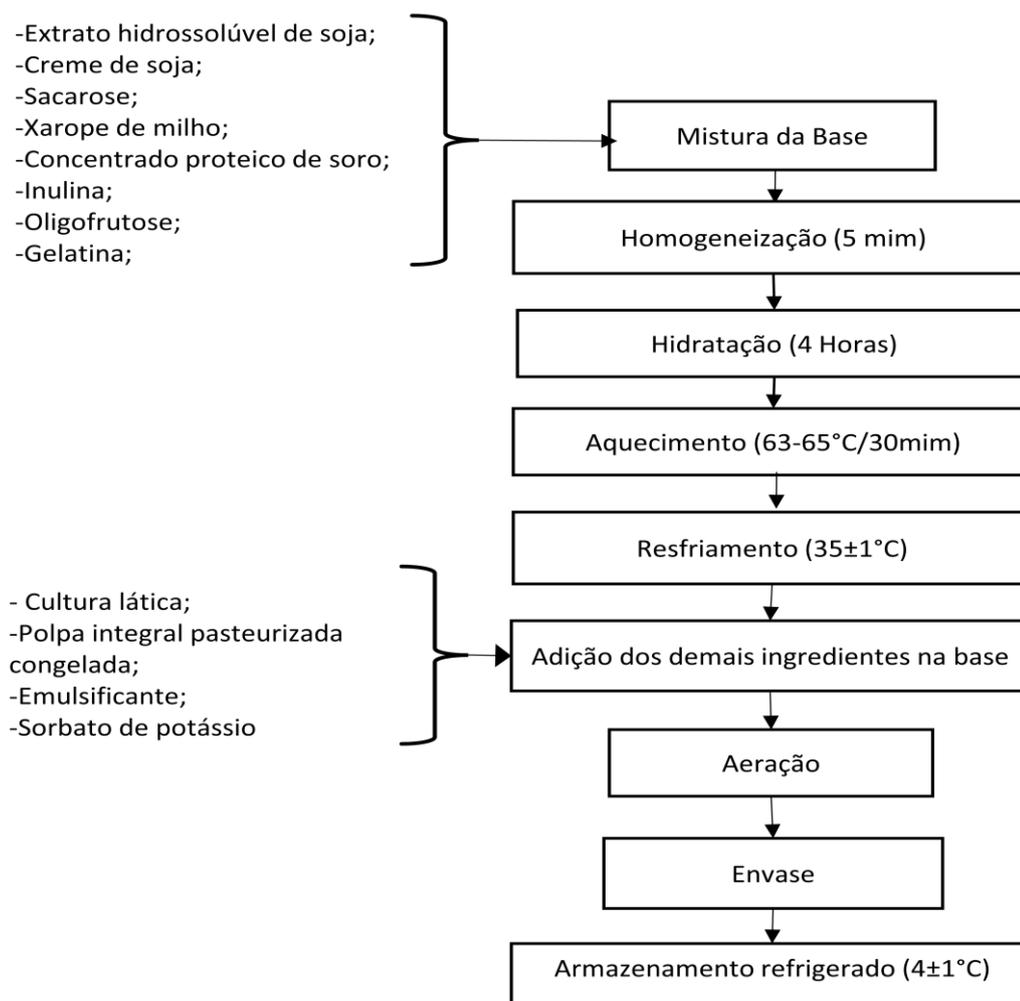
O presente trabalho compreendeu três ensaios distintos, no sentido de avaliar o percentual de proteína na viabilidade do micro-organismo, variando as proporções de CPS, creme de soja e sacarose, mas sempre totalizando em torno de 36% do total de sólidos das formulações. Assim, foram obtidas diferentes concentrações teóricas de proteínas resultando nas formulações F1 (5% de proteína), F2 (10% de proteína) e F3 (15% de proteína).

Conforme as formulações elaboradas, foi possível designar ao produto a alegação de função prebiótica, visto que, as 3 formulações atendem a quantidade mínima exigida pela ANVISA na lista de alegações de propriedades funcional aprovada (BRASIL,2008), de 3 g para alimentos sólido ou 1,5 g para alimentos líquidos.

Sendo o objeto de estudo deste trabalho uma sobremesa aerada simbiótica à base de soja, que não esta abordada de forma específica na Resolução RDC nº 359 de 23 de dezembro de 2003, que determina o “Regulamento técnico de porções de alimentos embalados para fins de rotulagem nutricional” (BRASIL, 2003a), foi

adotado o valor sugerido para consumo de sobremesas lácteas, de 120 g. Desta forma, as concentrações dos ingredientes nas formulações, foram definidos baseados nessa quantidade.

O fluxograma das etapas do processo produtivo da sobremesa de soja aerada potencialmente simbiótica está representado na Figura 1.



**Figura 1 - Fluxograma das etapas do processo produtivo da sobremesa com soja aerada, potencialmente simbiótica**  
Fonte: (RIBEIRO, 2012)

O processo de obtenção consistiu na mistura dos seguintes ingredientes para formação da base: extrato hidrossolúvel de soja (EHS), creme de soja, sacarose, inulina, oligofrutose, agente geleificante (gelatina incolor em pó), xarope de milho e CPS. Esta mistura, depois de homogeneizada por 5 min em liquidificador doméstico (Black & Decker, SB 40, Brasil) foi na sequência submetida à pasteurização lenta a 63-65 °C/30 min e resfriada até 35±1°C. A cultura láctica foi

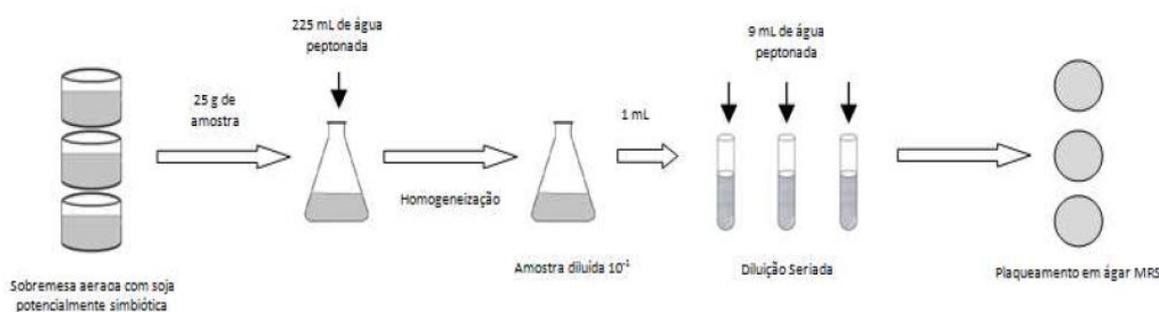
adicionada com o restante dos componentes da formulação como polpa integral pasteurizada congelada, agente emulsificante e sorbato de potássio, sendo em seguida realizada a etapa de aeração em batedeira doméstica (Arno, Planetária, Brasil) com aproximadamente 500 rpm durante 8 a 10 minutos. O envase foi realizado em embalagens de polipropileno (PP) de 100 mL, efetuado manualmente, na quantidade de 40 gramas, e seguido de armazenamento refrigerado a  $4\pm 1^{\circ}\text{C}$ .

#### 4.2.5 Avaliação das características da sobremesa

As características microbiológicas e físico-químicas da sobremesa foram analisadas nos períodos de 1, 7, 14, 21 e 28 dias de armazenamento refrigerado, exceto os parâmetros de proteína, que foram analisados somente nas amostras com 1 dia de armazenamento.

#### 4.2.6 Determinação da viabilidade celular da cultura na sobremesa

A determinação da viabilidade celular do *Lb. acidophilus* La-5, durante o período de armazenamento refrigerado para cada tratamento, foi realizada conforme ilustrado na Figura 2.



**Figura 2 – Roteiro ilustrado do protocolo utilizado para avaliação da população celular na sobremesa**

Fonte: (RIBEIRO, 2012)

De forma asséptica, foi coletada uma porção de 25g da sobremesa em sacos estéreis (Interscience, Ontatio, Canadá), sendo diluída em 225 mL de água peptonada a 0,1% (p/v) de peptona bacteriológica (Himedia) e submetida à

homogeneização por 1 minuto em triturador de tecidos e misturador *Stomacher* (MARCONI, MA 440, Brasil). O material resultante no processo de homogeneização foi submetido a diluições seriadas até  $10^{-14}$ , em 9 mL de água peptonada a 0,1% (p/v), seguido de plaqueamento em ágar MRS pelo método *drop plate* mantido incubado a  $37\pm 1^\circ\text{C}$  por 72 horas. Os resultados foram expressos em log Unidades Formadoras de Colônias por mL ou  $120\text{ g}^{-1}$ .

#### 4.2.7 Características físico químicas

O perfil de textura das sobremesas de soja aerada foi obtido em texturômetro Brookfield CT3 (Estados Unidos), equipado com cilindro de acrílico (*probe*) com 25 mm de diâmetro (TA11-1000). As determinações foram realizadas em amostras de 40 g de sobremesa de soja aerada, embalada individualmente em recipientes plásticos, mantidas a  $4\pm 1^\circ\text{C}$  por 1, 7, 14, 21, e 28 dias. Foi realizado teste a uma distância e velocidade de compressão de 20 mm e 1 mm/s, respectivamente. Os parâmetros de textura determinados foram firmeza, coesividade e elasticidade, e os resultados expressos para firmeza em Newton (N), coesividade (adimensional) e elasticidade em milímetros (mm).

A acidez total foi determinada por titulometria de acordo com IAL (2008) e expressa em grama por litro.

A determinação de proteínas foi realizada em laboratório externo (Fundação ABC, Castro, Brasil), utilizando método de Dumas, ISO 14891 (2002), (laudo em anexo).

#### 4.2.8 Análise Estatística

Foram realizadas estatísticas descritivas (médias e desvio padrão) para cada conjunto de dados obtidos nas análises. A análise de ANOVA e o pós-teste de *Tukey*, com erro de  $p < 0,05$  foram utilizados para detectar a existência de diferença significativa entre os tratamentos. Os dados foram analisados pelo programa SASM-AGRI, versão 8.2 (CANTERI et al., 2001).

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 5.1 TEOR DE PROTEÍNA DAS SOBREMESAS

Os resultados de quantificação de proteínas nas três formulações estão disponíveis na Tabela 2.

**Tabela 2 – Quantificação de proteínas em sobremesa de soja aerada.**

Determinação de proteína nas formulações de sobremesa	
Formulações	Proteínas (%)
F1	5,53±0,30 <sup>b</sup>
F2	9,33±0,10 <sup>a</sup>
F3	11,92±0,83 <sup>a</sup>

<sup>a,b</sup> letras minúsculas distintas na mesma coluna indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre os diferentes dias para uma mesma formulação de sobremesa aerada em uma mesma temperatura de armazenamento.

Para o presente trabalho, foi inicialmente estabelecido um valor teórico de 5, 10 e 15%, sendo calculado a partir dos teores proteicos dos ingredientes empregados na formulação, levando em consideração os dados fornecidos na rotulagem nutricional e tabelas de composição de alimentos. Desta forma, foram realizadas análises de determinação para conhecer o valor proteico real.

Os valores quantificados para proteínas foram semelhantes aos propostos teoricamente, para as F1 e F2. Entretanto, para a F3, que havia sido definida teoricamente como 15%, houve uma diminuição de 3,08% quando obtido o valor real. Estatisticamente, as F2 e F3 não apresentam diferença significativa ( $p < 0,05$ ).

As fontes de proteína das formulações estavam divididas entre o CPS (80%), o EHS (4,3%) e a gelatina (85%). A variação destes ingredientes nas formulações, ocasionou diferenças na viabilidade, textura e níveis de acidez total.

## 5.2 DETERMINAÇÃO DA VIABILIDADE CELULAR DA CULTURA NA SOBREMESA

Os dados de viabilidade do *Lb. acidophilus* La-5, nas formulações de sobremesa aerada simbiótica, ao longo do período de armazenamento, estão disponíveis na Tabela 3.

Como pode ser observado na Tabela 3, durante os 28 dias de armazenamento da sobremesa aerada, a viabilidade celular das três formulações variou, com diferença significativa ( $p < 0,05$ ) de 7,90 a 8,92 log UFC.  $120 \text{ g}^{-1}$  na F1, de 8,90 a 7,86 log UFC.  $120 \text{ g}^{-1}$  na F2 e para F3 de 8,40 a 9,33 log UFC.  $120 \text{ g}^{-1}$ .

**Tabela 3 – Viabilidade celular do *Lb. acidophilus* La-5 obtidas para a sobremesa aerada simbiótica, nas três formulações armazenadas por 28 dias sob refrigeração.**

Viabilidade celular <i>Lactobacillus acidophilus</i> La-5 (log de UFC. $120 \text{ g}^{-1}$ )			
Tempo (dias)	F1	F2	F3
1	7,90 <sup>Bb</sup> ±0,11	8,90 <sup>Aa</sup> ±0,26	8,40 <sup>Abc</sup> ±0,32
7	8,13 <sup>Ab</sup> ±0,19	8,06 <sup>Ab</sup> ±0,29	8,19 <sup>Ac</sup> ±0,21
14	8,26 <sup>Bb</sup> ±0,77	9,42 <sup>Aa</sup> ±0,12	8,78 <sup>Bbc</sup> ±0,40
21	8,92 <sup>Aa</sup> ±0,13	8,12 <sup>Ba</sup> ±0,12	8,05 <sup>Bc</sup> ±0,16
28	8,92 <sup>Ba</sup> ±0,13	7,86 <sup>Cb</sup> ±0,12	9,33 <sup>Aa</sup> ±0,27

<sup>A,B</sup> letras maiúsculas distintas na mesma linha indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre as diferentes formulações de sobremesa aerada para um mesmo dia de armazenamento.

<sup>a,b</sup> letras minúsculas distintas na mesma coluna indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre os diferentes dias para uma mesma formulação de sobremesa aerada em uma mesma temperatura de armazenamento.

Quando comparados os dias de armazenamento entre as formulações, foi observado que no primeiro dia de armazenamento houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre F1 com as F2 e F3. Para o 7º dia de armazenamento, as formulações não apresentaram diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre si. Ao atingir o 14º dia de armazenamento, a F2 apresentou diferença significativa ( $p < 0,05$ ) em relação às demais e com maior média populacional, 9,42 log UFC  $120 \text{ g}^{-1}$ . No 21º dia de armazenamento as amostras de F2 e F3 se mantiveram não apresentando diferenças estatísticas ( $p < 0,05$ ), mas registraram declínio em suas médias. Ao término do período de armazenamento (28 dias), a população celular obtida nas

amostras mostrou diferença estatística ( $p < 0,05$ ) para as três concentrações proteicas.

Quando a viabilidade celular da mesma formulação foi comparada entre os dias de armazenamento, foi constatado que na F1 não houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os pontos 1, 14 e 28 dias, registrando aumento de 2,9 % na população celular, durante os dias de armazenamento. Para as amostras da F2 houve diminuição significativa ( $p < 0,05$ ) de 11,7% na população celular entre o 1º e 28º dia de armazenamento, fazendo com que o produto atingisse média de 7,86 log UFC 120 g<sup>-1</sup>. De maneira oscilante, a F3 aumentou em 0,93 ciclos logarítmicos a população celular ao final dos 28 dias de armazenamento, representando aumento de 11,7% na viabilidade celular.

Na F1, contendo em sua matriz 5,5% de proteína, para o primeiro dia de armazenamento, houve declínio da população inicial de 11,37 log para 7,90 log UFC 120 g<sup>-1</sup>, quando comparada ao inóculo. Ao longo do período de armazenamento, a viabilidade manteve em crescimento, se beneficiando da matriz alimentar do produto.

Para as amostras da F2, com teor proteico de 9,33%, houve uma diminuição de 2,47 ciclos de log entre a população do inóculo e a apresentada no primeiro dia de armazenamento. A viabilidade celular, durante o período de armazenamento, se manteve dentro dos parâmetros legais, embora entre o 1º, 7º, 14º e 21º dia de análises houve oscilações alternadas de crescimento e declínio da atividade microbiana, mantendo o comportamento de redução a partir do 21º até o 28º.

A F3, com 11,93% de proteína, se comportou de forma semelhante às demais formulações, apresentando as mesmas características de redução da população microbiana no primeiro dia de análise referente à inicial e também se mantendo entre os valores referencias para classificação de produto probiótico. Foi observado o comportamento oscilante durante o armazenamento, com aumento gradativo no último dia de análise, superando a população encontrada no início do período de armazenamento.

A redução apresentada em todas as formulações entre a população do inóculo e o tempo 1, está relacionada, segundo Souza (2010), aos danos que o micro-organismo sofreu em virtude dos processos aplicados à elaboração da sobremesa. Assim, este autor reforça a importância da suplementação com ingredientes que possam proteger o micro-organismo durante os processos

tecnológicos destinados à produção do alimento, bem como durante o seu armazenamento, agindo como cápsulas de proteção.

Os lactobacilos geralmente possuem exigências especiais de cultivo, pois muitas espécies requerem ambientes ricos em nutrientes. Eles não são especialmente proteolíticos ou lipolíticos, no entanto requerem aminoácidos, peptídeos e ácidos graxos para seu crescimento rápido (HUTKINS, 2006). Conforme Padilha (2013), a matriz láctea favorece essa multiplicação devido à disponibilidade desses nutrientes.

De acordo com Lorenz (2009), conforme a composição da matriz alimentar, o micro-organismo é submetido à microencapsulações, que os protegem aumentando a capacidade de tamponamento permitindo, então, liberar seu conteúdo em velocidade controlada, sob influência de condições específicas. Ainda Lorenz (2009), adverte que diversos materiais de origem natural, semi-sintética ou biodegradável, podem ser utilizados como matéria-prima na microencapsulação. Dentre estes, são citados a goma arábica, o alginato, a quitosana, a carragena, carboidratos, o amido, a maltodextrina, proteínas, os derivados de celulose e os polímeros derivados do ácido acrílico e metacrílico.

Para Ribeiro (2012), a viabilidade do micro-organismo está ligada à matriz alimentar que lhe será submetido, sendo influenciado pelos fatores que a compõem, como a acidez, concentração de açúcares,  $A_w$ , produção de peróxidos de hidrogênio, conteúdo de oxigênio, temperatura de armazenamento, conteúdo de gordura e concentração e tipo de proteína.

A F3 apresentou maior viabilidade ao final do armazenamento refrigerado, podendo, este resultado, estar associado à maior concentração de nitrogênio, justificada por ser a formulação com quantidade superior de CPS associado às proteínas do EHS e da gelatina. Adjunto, a inulina, ao longo do armazenamento, poderia ter impedido a morte de um maior número de células do *Lb. acidophilus* La-5. O CPS é um ingrediente constituído de peptídeos, que segundo BURITI (2008), podem ser mais bem aproveitados por parte do micro-organismo probiótico em comparação aos demais ingredientes adicionados à sobremesa. Assim, os nutrientes do CPS podem aumentar ainda mais a sobrevivência de bactérias probióticas de baixa atividade proteolítica, como o caso do *Lb. acidophilus* (PADILHA, 2013).

Resultados semelhantes foram obtidos por Buriti (2009), analisando diferentes formulações de sobremesas aeradas simbióticas, com baixo teor de gordura, elaboradas com o emprego da cultura probiótica de *Lb. acidophilus* La-5 e ingredientes prebióticos (inulina, oligofrutose e CPS).

A mistura de inulina e oligofrutose proporcionou um efeito desejável ao atenuar a queda na viabilidade. Dentro da matriz alimentar estes ingredientes se ligam à água e formam um gel de partículas cristalinas, que podem exercer efeito protetor como ingrediente prebiótico, melhorando a sobrevivência e atividade de bactérias probióticas, durante período de armazenamento. Padilha (2013) sugere o queijo *petit-suisse* como uma matriz propícia para veicular micro-organismos probióticos, pois durante a fermentação probiótica, os prebióticos servem de substrato para os probióticos, refletindo no aumento da estabilidade da viabilidade no período de armazenamento.

A evolução da população microbiana, durante o período de armazenamento refrigerado, pode ser observada na Figura 3.

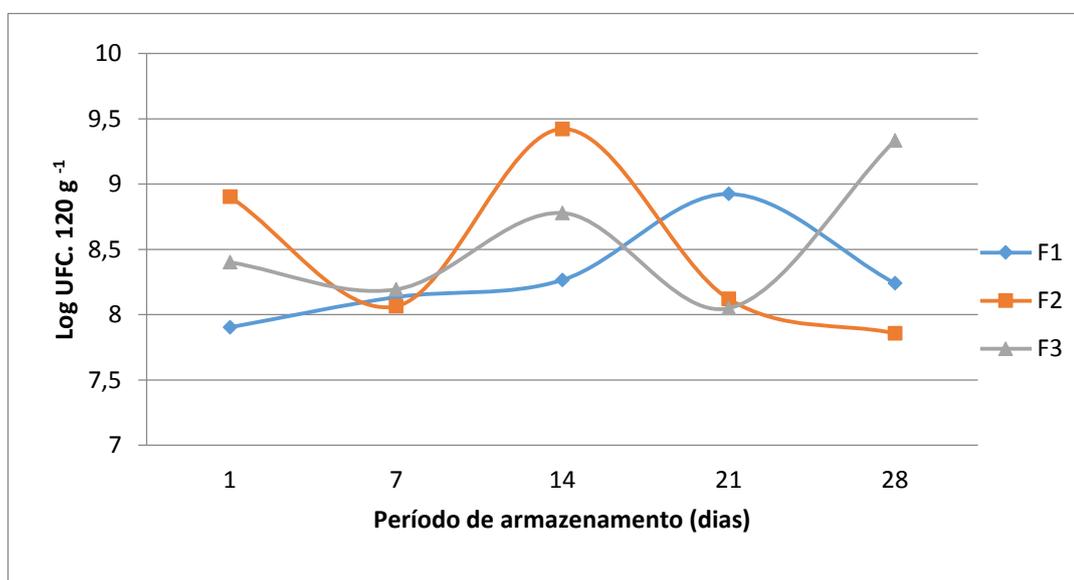


Figura 3 - Evolução da viabilidade celular do *Lb. acidophilus* La-5 durante período de armazenamento refrigerado.

As populações observadas para as três formulações se mantiveram ao longo do período de armazenamento dentro do valor preconizado na “Lista de alegações de propriedades funcional aprovadas da ANVISA” para um alimento probiótico, que é de ingestão mínima de  $10^8$  a  $10^9$  UFC. Apesar destes valores terem sido

alcançados somente nas F2 e F3 no primeiro dia, a população microbiana para os 7º, 14º, 21º e 28º dias aumentou gradativamente, para todas as formulações, se enquadrando aos padrões definidos pela legislação vigente de alimentos probióticos.

Ressaltando, também, que conforme a legislação brasileira, a sobremesa aerada, desenvolvida para este trabalho, se enquadra na definição de produto prebiótico, e nas formulações as concentrações de inulina (3%) e oligofrutose (3%) atenderam os valores mínimos pré determinados na lista de alegações de propriedade funcional aprovadas da ANVISA (BRASIL, 2008). Desta forma, a sobremesa aerada se caracteriza como um produto de caráter simbiótico.

A importância da matriz alimentar prebiótica pode ser verificada em estudos de Ribeiro (2012) relacionados à resistência do micro-organismo na passagem pelo TGI, onde demonstram que a presença de alimentos e ingredientes alimentícios melhora a viabilidade de micro-organismos, durante o trânsito gástrico. Esta cultura, associada de *Pediococcus acidilactici* B14 e *Lb. acidophilus* ATCC 4356, quando avaliada de forma isolada e sem matriz alimentar, apresentou redução na população celular. Mas, quando as culturas foram submetidas a condições gástricas com alimentos de alto conteúdo de gordura e a presença de certas proteínas e ingredientes prebióticos, que podem proteger as bactérias da acidez estomacal, notou-se aumento no desempenho da viabilidade celular.

Machado (2007) expõe que culturas probióticas com boas propriedades tecnológicas devem apresentar boa multiplicação, promover propriedades sensoriais adequadas no produto e ser estáveis e viáveis durante armazenamento. Desta forma, podem ser manipuladas e incorporadas em produtos alimentícios sem perder a viabilidade e a funcionalidade.

### 5.3 PERFIL DE TEXTURA DA SOBREMESA AERADA SIMBIÓTICA

Os valores obtidos de textura instrumental das sobremesas, ao longo dos períodos de armazenamento sob refrigeração estão expressos na Tabela 4.

**Tabela 4 – Valores de firmeza, coesividade e elasticidade para as formulações de sobremesa aerada, armazenadas sob refrigeração.**

Firmeza (N)			
Tempo (dias)	F1	F2	F3
1	3,53 <sup>Aa</sup> ±1,94	2,45 <sup>Aa</sup> ±0,14	3,21 <sup>Aa</sup> ±0,10
7	4,92 <sup>Aa</sup> ±0,17	2,43 <sup>Ba</sup> ±0,06	1,86 <sup>Cab</sup> ±0,08
14	4,49 <sup>Aa</sup> ±0,68	2,55 <sup>Ba</sup> ±0,30	1,96 <sup>Cab</sup> ±0,08
21	4,64 <sup>Aa</sup> ±0,14	2,61 <sup>Ba</sup> ±0,15	2,16 <sup>Bab</sup> ±0,25
28	4,64 <sup>Aa</sup> ±0,29	2,52 <sup>Ba</sup> ±0,12	1,80 <sup>Cb</sup> ±0,28

Coesividade			
Tempo (dias)	F1	F2	F3
1	0,40 <sup>Aa</sup> ±0,01	0,51 <sup>Aa</sup> ±0,03	0,50 <sup>Aa</sup> ±0,06
7	0,47 <sup>Aa</sup> ±0,01	0,46 <sup>Aa</sup> ±0,05	0,41 <sup>Aa</sup> ±0,04
14	0,43 <sup>Aab</sup> ±0,04	0,44 <sup>Aa</sup> ±0,06	0,37 <sup>Aa</sup> ±0,04
21	0,48 <sup>Aa</sup> ±0,02	0,35 <sup>Aa</sup> ±0,14	0,47 <sup>Aa</sup> ±0,16
28	0,47 <sup>Aa</sup> ±0,04	0,31 <sup>Aa</sup> ±0,16	0,37 <sup>Aa</sup> ±0,06

Elasticidade (mm)			
Tempo (dias)	F1	F2	F3
1	20,37 <sup>Aa</sup> ±0,06	19,13 <sup>Aa</sup> ±0,47	18,17 <sup>Aa</sup> ±3,92
7	20,70 <sup>Aa</sup> ±0,36	19,83 <sup>Aa</sup> ±0,32	14,17 <sup>Ba</sup> ±3,44
14	20,47 <sup>Aa</sup> ±0,38	20,57 <sup>Aa</sup> ±0,12	17,50 <sup>Aa</sup> ±2,81
21	19,87 <sup>Aa</sup> ±0,97	19,13 <sup>Aa</sup> ±1,53	20,50 <sup>Aa</sup> ±5,87
28	20,60 <sup>Aa</sup> ±0,10	14,70 <sup>Aa</sup> ±6,82	15,17 <sup>Aa</sup> ±2,25

<sup>A,B</sup> letras maiúsculas distintas na mesma linha indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre as diferentes formulações de sobremesa aerada para um mesmo dia e temperatura de armazenamento. <sup>a,b</sup> letras minúsculas distintas na mesma coluna indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre os diferentes dias para uma mesma formulação de sobremesa aerada em uma mesma temperatura de armazenamento.

Em relação aos parâmetros de textura utilizados, a firmeza consiste na força requerida para comprimir uma amostra (CARDARELLI et al., 2008). Conforme o período de armazenamento, os valores para firmeza foram alterados de forma significativa ( $p < 0,05$ ) para F2 e F3. A F1, com 31% de EHS, 3% de inulina, 3,25%

de CPS e 1,25% de gelatina, apresentou os valores mais altos para a firmeza, porém sem diferença significativa ( $p < 0,05$ ), entre os dias de análises. A F2, mantendo os padrões de quantidade de EHS, inulina e gelatina, variando a concentração de CPS para 9,5%, apresentou maior uniformidade ao longo do armazenamento, não apresentando diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre si, mas diferindo estatisticamente ( $p < 0,05$ ) entre as formulações durante todo o período de armazenamento. A formulação 3, adicionada de EHS, inulina e gelatina nas mesmas proporções das demais formulações, e com percentual de CPS (15,75%), registrou maior variância significativa ( $p < 0,05$ ) entre os dias de armazenamento. As F1 e F2 apresentaram aumento no parâmetro de firmeza de 32,3 % e 2,8% respectivamente, e a F3 obteve uma redução de 43,9% ao final dos 28 dias de armazenamento.

Dentre as formulações, foi observada uma tendência a valores inferiores em F3, entretanto, somente no primeiro dia não apresentou diferença significativa ( $p < 0,05$ ). Durante o período de armazenamento, foi observado um aumento dos valores deste parâmetro em F1 e F2, que segundo Ribeiro (2012) pode estar relacionado à desidratação superficial da sobremesa, ocorrida durante o armazenamento refrigerado. Cardarelli et al. (2008), observa variação dos valores de firmeza para *mousse* simbiótico de chocolate, para 28 dias de armazenamento refrigerado e sugere que este aumento está ligado a uma interação entre os ingredientes da formulação durante o tempo de armazenamento.

Buriti (2008) expõe que o CPS é utilizado em alimentos por suas propriedades tecnológicas que contribuem como agente emulsificante, estabilizante e modificadores de textura, espessantes e/ou agentes de aeração. A diferença entre as concentrações de CPS conferiu a F1 maior firmeza, sendo a formulação com menor aeração, formando uma massa compacta. As demais formulações apresentaram textura porosa, porque quanto maior a adição de CPS, mais aerada a sobremesa será, refletindo nas diferenças significativas entre as formulações.

A estabilidade da firmeza durante o período de armazenamento é desejável, confirmando que o produto, após algumas semanas de armazenamento, continua com características semelhantes ao recém-fabricado. Além disso, a estabilidade é muito desejada para manter as características sensoriais do início ao fim da vida de prateleira do produto (MURUYAMA et al., 2006). As F1 e F2 apresentaram estabilidade em suas amostras e, após 28 dias de armazenamento, registraram

valores semelhantes aos observados ao do primeiro dia de análise, conforme apresentada na Tabela 4.

De acordo com Matias (2011), as proteínas da soja conseguem formar uma rede de gel, devido à alta concentração de glicina e  $\beta$ -conglucina, que formam gel sob a ação de enzimas, refletindo diretamente na textura. Para Lim et al. (2008), o que determina a firmeza não é a quantidade de proteína, mas a forma como a proteína interage com os outros componentes estruturais para formar a microestrutura do produto.

Padilha (2013) define coesividade como a força utilizada para deformar o produto, antes mesmo de ser perfurado ou sofrer ruptura. Ao longo do período de armazenamento, como demonstrados na Tabela 4, as amostras não apresentaram diferenças significativas entre si. Observou-se um declínio progressivo para F2 e F3 ao longo do 28 dias de armazenamento, porém não divergindo estatisticamente, enquanto F1 obteve aumento no 7º dia, seguido de queda e novamente aumento.

Os parâmetros de coesividade encontrados no presente trabalho são semelhantes aos apresentados por Buriti, Castro e Saad (2010) em *mousse* de goiaba probiótico e simbiótico refrigerado, onde observaram valores de coesividade próximos a 0,45. Entretanto, não houve variações significativas ( $p < 0,05$ ) durante o armazenamento. A inulina, segundo Padilha (2013), pode agir como um estabilizante devido à sua capacidade hidrofílica, promovendo a formação de uma rede mais coesa e um gel mais estável, como as concentrações de inulina foram as mesmas para as formulações, pode justificar a similaridade dos resultados a este fato.

Em relação à elasticidade, que consiste no grau de retorno do produto para sua forma original, após sofrer deformação (FOX et al., 2000), os valores apresentados na Tabela 4, para este parâmetro, foram similares entre as três formulações. A F1 apresentou maior uniformidade nos resultados mantendo o equilíbrio entre o primeiro e último dia de armazenamento. As demais formulações variaram sua média ao longo do período de armazenamento, porém não apresentam diferença significativa ( $p < 0,05$ ).

#### 5.4 DETERMINAÇÃO DA ACIDEZ TOTAL TITULÁVEL

Os valores obtidos para acidez total titulável das sobremesas, ao longo dos períodos de armazenamento sob refrigeração estão expressos na Tabela 5.

**Tabela 5 – Valores de acidez total titulável para as formulações 1, 2, 3 de sobremesa aerada, armazenadas sob refrigeração por 28 dias.**

Acidez total em sobremesa aerada (g.L <sup>-1</sup> )			
Tempo (dias)	F1	F2	F3
1	1,29 <sup>Ca</sup> ±0,01	1,42 <sup>Ba</sup> ±0,02	1,59 <sup>Aa</sup> ±0,04
7	1,19 <sup>Ca</sup> ±0,08	1,43 <sup>Ba</sup> ±0,04	1,62 <sup>Aa</sup> ±0,03
14	1,26 <sup>Ba</sup> ±0,10	1,48 <sup>Aa</sup> ±0,07	1,66 <sup>Aa</sup> ±0,05
21	1,25 <sup>Aa</sup> ±0,01	1,45 <sup>Aa</sup> ±0,05	1,52 <sup>Aa</sup> ±0,17
28	1,30 <sup>Ca</sup> ±0,02	1,42 <sup>Ba</sup> ±0,02	1,59 <sup>Aa</sup> ±0,04

<sup>A,B</sup> letras maiúsculas distintas na mesma linha indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre as diferentes formulações de sobremesa aerada para um mesmo dia e temperatura de armazenamento. <sup>a,b</sup> letras minúsculas distintas na mesma coluna indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre os diferentes dias para uma mesma formulação de sobremesa aerada em uma mesma temperatura de armazenamento.

No acompanhamento da acidez total versus tempo de armazenamento não foram observadas diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) para as três formulações. A F1, caracterizada pela menor concentração de proteína, apresentou as menores médias, sendo que a F3 atingiu valores superiores às demais formulações.

Segundo Machado (2007), a acidez pode reduzir significativamente a viabilidade das células, portanto torna-se essencial o seu monitoramento para garantir os efeitos desejados sobre viabilidade. O *Lb. acidophilus* tolera acidez na faixa de 0,3% a 1,9% (MACHADO, 2007). Resultado atingido por todas as formulações deste presente trabalho.

Tamime e Robinson (1991) denominaram como pós acidificação a acidez produzida após o período de incubação, isto é, durante o resfriamento, estocagem e distribuição até o consumo. Essa acidez muda durante o armazenamento em maior ou menor grau, dependendo da acidez inicial do produto, da temperatura de armazenamento e do poder acidificante da cultura. Para estas formulações não foi

evidenciado pós acidificação, já que não houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) durante os 28 dias de armazenamento refrigerado.

Comparando a evolução da concentração de ácido láctico presente no meio, a viabilidade do *Lb. acidophilus* La-5 reage proporcionalmente ao aumento ou diminuição. Esta ligação é tratada por Machado (2007), na formulação de bebida de soja fermentada, ao se referir a diminuição da acidez com o crescimento de antagonistas presentes naturalmente no produto. Este fato pode ser relacionado ao crescimento e morte celular associados ao teor de ácido do meio e a produção destes pelos micro-organismos.

Gomes e Malcata (2001) mencionam que a sobrevivência dos probióticos também está relacionada com a acidez, que ao se modificarem resultam em perda de viabilidade, a exemplo do que ocorre em iogurtes lácteos. Ainda sugerem que se deve selecionar probiótico resistente, ou substituir a matriz alimentar ou aumentar a proteção através de microencapsulação.

As proteínas presentes nos ingredientes das formulações, variando nas concentrações, interferiram de forma significativa na produção de ácido láctico. Ao observarmos a ação de tamponamento das proteínas, foi verificado que conforme era a concentração a produção de ácido láctico aumentou. A F3, que possuía maior quantidade proteica, se destacou com as maiores médias de acidez.

## 6 CONCLUSÃO

O desenvolvimento de três formulações de sobremesa de soja aerada simbiótica com diferentes teores de proteína (adicionada de ingredientes prebióticos e do micro-organismo *Lb. acidophilus* LA-5) foi possível, empregando uma formulação adequada para este tipo de produto.

Em relação ao determinação do teor proteico real de cada formulação, foi possível atingir os objetivos nas F1 e F2, sendo que a F3 apresentou valores inferiores aos que foram determinado teoricamente na composição de sua formulação.

Em relação à viabilidade do micro-organismo probiótico, a matriz alimentar se mostrou apropriada na viabilidade do *Lb. acidophilus* LA-5, uma vez que as formulações apresentaram população superior a  $10^8$  e  $10^9$ , valores preconizados pela legislação brasileira, durante o período de 28 dias de armazenamento.

Em relação ao perfil de textura, as formulações apresentaram características individualizadas, sendo a F1, a que apresentou maiores valores de firmeza, devido menor percentual de CPS em sua formulação. As demais formulações obtiveram massa mais aerada, se assemelhando nas características de coesividade e elasticidade.

Em relação às características físicas e químicas da sobremesa, durante o período de armazenamento, as concentrações de proteína foram fator determinante na acidez, refletindo assim, na viabilidade. Não foi verificado o processo de pós acidificação durante o armazenamento.

A F3, com maior percentual de proteína, se mostrou mais apropriada na manutenção da viabilidade celular. Porém quanto às características estruturais, devido à grande concentração de CPS, a massa não apresentou estabilidade desejada, visto que o CPS contribui para aeração do produto, tornando a sobremesa porosa em demasia. Desta forma, quanto à estrutura, a F2 se destacou com uma massa uniformemente aerada e mais estável.

Portanto, foi possível verificar que a composição da matriz alimentar com diferentes teores de proteína, podem influenciar de forma significativa na viabilidade dos micro-organismos, mostrando-se uma alternativa adequada para que sejam investidos mais estudo.

## 7 REFERÊNCIAS

AHMED Z.; WANG, Y.; CHENG, Q.; IMRAN, M. *Lactobacillus acidophilus* bacteriocin, from production to their application: an overview. **African Journal of Biotechnology**, v.9, p.2843-2850, 2010.

BRASIL Ministério da Saúde. Agência Nacional De Vigilância Sanitária. Lista de alimentos com alegações de propriedades funcionais e/ou de saúde, novos alimentos/ingredientes, substâncias bioativas e probióticas aprovada. 2008. Disponível em:<[http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno\\_lista\\_alega.htm](http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno_lista_alega.htm)>. Acessado em : 02/01/14.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº359, de 23 de dezembro de 2003. Regulamento técnico de porções de alimentos embalados para fins de rotulagem nutricional. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 26 dez. de 2003.

BRASIL Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº388, de 05 de agosto de 1999. Regulamento técnico que aprova o uso de aditivos alimentares, estabelecendo suas funções e seus limites máximos para a categoria de alimentos 19- sobremesas. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 09 ago. de 1999.**

BALDISSERA, A.C.; DELLA BETTA, F.; PENNA, A.L.B.; LINDNER, J.D.D. Alimentos funcionais: uma nova fronteira para o desenvolvimento de bebidas protéicas a base de soro de leite. **Semina: Ciências Agrárias**, v.32, p.1497-1512, 2011.

BEHRENS, J.H.; ROIG, S.M.; SILVA, M.A.A.P. Fermentation of soymilk by commercial lactic cultures; development of a product with warket potential. *Acta Alimentaria*, v.33, p.101-109, 2001

BURITI, F.C.A. **Sobremesa aerada simbiótica: desenvolvimento do produto e resistência do probiótico *in vitro***. 144 fls. Tese (Doutorado em Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

BURITI, F.C.A.; CASTRO, I.A.; SAAD, S.M.I. Viability of *Lactobacillus acidophilus* insynbiotic guava mousses and its survival under *in vitro* simulated gastrointestinal conditions. **International Journal of Food Microbiology**, v.137, p.121-129, 2010a.

CARDARELLI, H.R.; ARAGON-ALEGRO, L.C.; ALEGRO, J.H.A.; CASTRO, I.A. de; SAAD, S.M.I. Effect of inulin and *Lactobacillus paracasei* on sensory and instrumental texture properties of functional chocolate *mousse*. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.88, p.1318-1324, 2008.

CANTERI, M.G.; ALTHAUS, R.A.; VIRGENS FILHO, J.S.; GIGLIOTI, E.A.; GODOY, C.V. **SASM-Agri: sistema para análise e separação de médias em experimentos agrícolas pelos métodos Scott-Knott, Tukey e Duncan**. Revista Brasileira de Agrocumputação, v.1, p.18-24, 2001.

COLLINS, J.K; THORNTON, G.; SULIVAN, G.O. Selection of probiotics strains for humans applications. **International Dairy Journal**, V.8, p.487-490, 198.

CORRÊA, S.B.M. **Desenvolvimento de manjar branco potencialmente probiótico**. 92 p. Dissertação (Mestrado), Universidade de São Paulo, Programa de Pós Graduação em tecnologia Bioquímico Farmacêutica área de Tecnologia de Alimentos. São Paulo - 2006

DERAZ, S.; KARLSSON, N.E.; KHALIL, A.A.; MATTIASSON, B. Mode of action of acidocin D20079, a bacteriocin produced by the potencial probiotic strain, *Lactobacillus acidophilus* DSM 20079. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v.34, p.373-379, 2007

ESCALANTE, L. A. El potencial de la manipulación de la flora intestinal por medios dietéticos sobre la salud humana. **Enfermedades Infecciosas y Microbiología**, v. 21, n. 3, p. 106-114, 2001.

ESTEVEZ, E.A.; MONTEIRO, J.B.R. Beneficial effects of soy isoflavones on chronic diseases. **Revista de Nutrição**, v.14, p.43-52, 2001.

EUROPEAN COMMISSION CONCERTED ACTION ON FUNCTIONAL ON FOOD SCIENCE IN EUROPE. Scientific concepts of functional foods in Europe: consensus document. **British Journal of Nutrition**, v 81, suppl. 1, p. S1-S27, 1999.

FAO/WHO. Guidelines for the evaluation of probiotics in food. Report of a joint FAO/WHO working group on drafting guidelines for the evaluation of probiotics in food. Ontario, Canada, 2002.

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

FULLER, R. Probiotics in man and animals. **Journal of Applied Bacteriology**, V.66, p.365-378, 1989

GILLILAND, S.E.; SPEAK, M.L. Instability, of *Lactobacillus acidophilus* in yogurt. **Journal of Dairy Science**, v.60, p. 1395-1398, 1977.

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

GRIMOUD, J.; DURAND, H.; COURTIN, C.; MONSAN, P.; OUARNÉ, F.; THEODOROU, V.; ROQUES, C. *In vitro* screening of probiotic lactic acid bacteria and prebiotic gluco oligosacharides to select effective synbiotics. **Anaerobe**, v.16, p.493-500, 2010.

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

HUDSON. H.M.; DAUBERT, C.R.; FOEGEDING, E.A. Rheological and physical properties of devititized whey protein isolate powders. **Journal of Agriculture Food Chemistry**, v.48, p 3112-3119, 2000.

HUTKINS, R.W. **Microbiology and technology of fermented foods**.1.ed. Ames: Blackwell, 2006.

IAL. INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: métodos físico químicos para análise de alimentos**. 4.ed. 1. ed. digital. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008.

ISO 14891, **DIN EN ISO 14891 Milk and milk products - Determination of nitrogen content - Routine method using combustion according to the Dumas principle (ISO 14891:2002)**.

JAFAREI, P.; EBRAHIMI, M.T. *Lactobacillus acidophilus* cell structure and application. **African Journal of Microbiology Research**, v.54, p.4033-4042, 2011.

KAILASAPATHY, K.; CHIN, J. Survival and therapeutic potential of probiotic organisms with reference to *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium spp.* **Immunology and Cell Biology**, v. 78, n.1, p.80-88, 2000.

KLAENHAMMER, T.R. Genetics of bacteriocins produced by lactic acid bacteria. **FEMS Microbiology Reviews**, v.12, p.39-86, 1993

KLAENHAMMER, T.R. Probiotics and prebiotics. In: DOYLE, M.P.; Beuchat, L.R. MONTIVILLE, T.J.; Eds. **Food microbiology: Fundamentals and Frontiers**. 2 ed Whashington: ASM Press, 2001. P. 797-811.

KOLIDA, S.; GIBSON, G.R. Synbiotics in health and disease. **Anual Review of Food Science and Tecnology**, v.2, p.373-393, 2011.

KOMATSU, T.R.; BURITI, F.C.A.; SAAD, S.M.I. **Inovação, persistência e criatividade superando barreiras no desenvolvimento de alimentos probióticos**. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas, v.44, p.229-347, 2008.

LEVRI, K.M.; KETVERTIS, K.; DERAMO, M.; MERESTEIN, JH.; D'AMICO, F. Do probiotics reduce adult lactose intolerance? **A systematic review**. **Journal of Family Practice**, v.54,n.7, p.613-620,2005.

LIN, C.K.; TSAI, H.C.; LIN, P.P.; TSEN, H.Y.; TSAI, C.C. *Lactobacillus acidophilus* LAP5 able to inhibit the *Salmonella cholera suis* invasion to the human Caco-2 epithelial cell. **Anaerobe**, v.14, p.251-255, 2008.

MACHADO, Mírian Ribeiro Galvão. **Bebida de soja fermentada com lactobacillus acidophilus: viabilidade celular, avaliação sensorial, armazenamento e resposta funcional**. 2007. 101f. Tese (doutorado) – programa de Pós Graduação em Ciências e Tecnologia Agroindustrial. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

MARUYAMA, L.Y.;CARDARELLI, H.R.; BURITI, F.C.A.; SAAD, S.M.I. **Textura instrumental de queijo petit-suisse potencialmente probiótico: influência de diferentes combinações de gomas**. Ciência e Tecnologia de alimentos, v.26, p.386-393, 2006

MATIAS, N.S. **Desenvolvimento de alimentos probiótico à base de soja com polpa de fruta**. 2011, 78p. Dissertação (mestrado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo 2001.

MCFARLAND, L.V. **Probiotics and diarrhea. Annals of Nutrition & Metabolism**, v.57, n. 1, p.10-11,2010.

MORAES, C.S.; PASTORE, G.M.; SATO, H.H.; PARK, Y.K. **Isoflavonas de soja e suas atividades biológicas**. São Paulo: Livraria Varela, 2009.

MORAES, F.P.; COLLA, L.M. **Alimentos funcionais e nutracêuticos: definições, legislação e benefícios à saúde**. Revista Eletrônica de Farmácia, v.32, p.109-122, 2006. Disponível em:<[http:// www.revistas.ufg.br/index.php](http://www.revistas.ufg.br/index.php)> Acesso em: 02/01/14.

NINESS, K.R. Inulin and oligofructose: what are they? **Journal of Nutrition**, v.129, p.1402-1406, 1999.

OLIVEIRA, R.P.de S. **O efeito da composição de cultura e da suplementação do leite no crescimento, na taxa de acidificação, na sobrevivência e no metabolismo de bactérias probióticas em leite fermentado**. 170 f. Tese (Doutorado e Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, SãoPaulo, 2010.

PADILHA, M. **Queijo *petit-suisse* probiótico e simbiótico: características tecnológicas e emprego de técnicas dependentes e independentes de cultivo na avaliação da sobrevivência dos probióticos no produto e em ensaios de sobrevivência *in vivo***. 2013. 122p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêutica, Universidade de São Paulo, 2013.

PIMENTEL, T.C.; GARCIA, S.; PRUDENCIO, S.H. Aspectos funcionais, de saúde e tecnológicos de frutanos tipo inulina. **Boletim do CEPPA**, v.30, p.103-118, 2012.

PAROLO, C.C.F. **Estudo dos lactobacilos no biofilme dental**. 163 f. Tese (Doutorado em Odontologia) – Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.

PRADO, F. C. **Desenvolvimento de bioprocesso para produção de bebida probiótica à base de água de côco**. 163 f. Tese (Doutorado em Processos Biotecnológicos) – Setor de Bioprocessos, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2007

RERKSUPPAPHOL, S.; RERKSUPPAHOL, L. *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* stored at ambient temperature, are effective in the treatment of acute diarrhea. **Annals of Tropical Paediatrics**, V. 30, n.4, p. 299-304,2010.

RIBEIRO, Maria Carolina de Oliveira. **Caracterização do *Pediococcus acidilactici* B14 quanto às propriedades probióticas e sua associação com *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 com aplicação em sobremesa com soja aerada potencialmente simbiótica.** Tese (Doutorado em Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia) – Faculdade de Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba 2012.

ROBERFROID, M. Prebiotics: the concept revisited. **Journal of Nutrition**, v.137, p.830S-837S, 2007

SAAD, S.M.I. Probióticos e prebióticos: o estado da arte. **Revista Brasileira de Ciências farmacêuticas**, v.42, p.1-6, 2006

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

SANTOS, R. dos; NETTO, C.C.; MACEDO, G.A.; PASTORE, G.M. Biotecnologia aplicada à produção de prebióticos. In: SAAD, S.M.I.; CRUZ, A.G. da; FARIA, J. de A. F. **Probióticos e Prebióticos em alimentos: fundamentos e aplicações tecnológicas**, 1.ed. São Paulo: Livraria Varela, 2011.

SHAH, N. P. Functional foods from probiotics and prebiotics. **Food Technology**, v. 55, n. 11, p. 46-53, 2001

SILVA, K.; BOLINI, H.M.A.; ANTUNES, A.J. Soro de leite bovino em sorvete. **Alimentos e Nutrição**, v.15, p.187-196, 2004

SILVA, N. da; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A.; TANIWAKI, M.H.; SANTOS, R.F.S. dos; GOMES, R.A.R. Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água. 4.ed. São Paulo: Varela, 2010.

SOUZA, Cinthia Hoch B de. **Desenvolvimento de margarina probiótica e simbiótica: viabilidade do probiótico no produto e resistência in vitro.** Doutorado em Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. São Paulo – SP, 2010.

SOUZA, P.H.M.; SOUZA NETO, M.H.; MAIA, G.A. Componentes funcionais nos alimentos. **Boletim da SBCTA**, v.37, p.127-135, 2003.

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

SULLIVAN, A.; NORD, C.E>Probiotics and gastrointestinal diseases. **Journal of Internal Medicine**, v.257, p. 78-92,2005.

TAMINE, A.Y.; ROBINSON, R.K. **Yoghurt: science and tecnologia**. Oxford, New York. Pergamon press, 1991.

VASCONCELOS, Bruno Garcia. **Desenvolvimento de mix de açaí probiótico, prebiótico e simbiótico**. Dissertação (mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. Departamento de Tecnologia Bioquímica - Farmacêutica. São Paulo – SP, 2010.

VIEIRA, T.M. F.S. **Estrutura, funcionalidade e aplicações de proteínas de soja**. Artigo Científico - Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição, ESALQ/USP. Piracicaba, SP, 2007.

VIDIGAL, M.C.T.R. **Caracterização reológica e sensorial de sobremesa láctea diet contendo concentrado protéico de soro**. 101f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2009.

WOHLGEMUTH, S.; LOH, G.; BLAUT, M. **Recent developments and perspectives in the investigation of probiotic effects**. International Journal of Medical Microbiology, v.300, p. 3-10, 2010.

**ANEXO A - Laudo Determinação da Concentração de Proteínas**

**Fundação ABC**

Ordem Serv.: 12805

Data entrada: 27/12/2013

Cliente: Fernanda Rita

Matricula: Particular

Propriedade: -

Solicitante: Fernanda Rita

**Amostra****Identificação**

40587/2013	Sobremesa Aerada Simbiótica de Maracujá 21/11 - 5 % M. Cord
40588/2013	Sobremesa Aerada Simbiótica de Maracujá 21/11 - 5 % M. Cord
40589/2013	Sobremesa Aerada Simbiótica de Maracujá 21/11 - 10% M. Cord
40590/2013	Sobremesa Aerada Simbiótica de Maracujá 21/11 - 10% M. Cord
40591/2013	Sobremesa Aerada Simbiótica de Maracujá 21/11 - 15% M. Cord
40592/2013	Sobremesa Aerada Simbiótica de Maracujá 21/11 - 15% M. Cord

Resultados		Amostras					
Determinação	Unidade	40587	40588	40589	40590	40591	40592
Proteína Bruta (Dumas)	%	5,74	5,31	9,26	9,40	11,33	12,50

Responsável: Fundação ABC - Laboratórios

