

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

LARISSA HIKARI FUJII

**ELABORAÇÃO DE BEBIDA DE EXTRATO DE SOJA SABOR
MORANGO, PÊSSEGO E UVA COM *Streptococcus thermophilus*,
Lactobacillus acidophilus e *Bifidobacterium lactis***

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

LONDRINA

2016

LARISSA HIKARI FUJII

**ELABORAÇÃO DE BEBIDA DE EXTRATO DE SOJA SABOR
MORANGO, PÊSSEGO E UVA COM *Streptococcus thermophilus*,
Lactobacillus acidophilus e *Bifidobacterium lactis***

Trabalho de Conclusão de Curso de graduação, apresentado à disciplina Trabalho de Conclusão de Curso 2 do Curso Superior de Tecnologia em Alimentos, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, câmpus Londrina, como requisito parcial para obtenção do título de Tecnólogo em Alimentos.

Orientador: Prof^a. Dr^a. Luciana Fulaneto-Maia

Coorientador: Prof^a. Dr^a. Marly Sayuri Katsuda e Prof^a. Msc. Juliany Piazzon Gomes

LONDRINA

2016

TERMO DE APROVAÇÃO

ELABORAÇÃO DE BEBIDA DE EXTRATO DE SOJA SABOR MORANGO, PÊSSEGO E UVA COM *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium lactis*

LARISSA HIKARI FUJII

Este(a) Trabalho de Conclusão de Curso foi apresentado(a) em 14 de junho de 2016 como requisito parcial para a obtenção do título de Tecnólogo em Alimentos. O(a) candidato(a) foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho aprovado.

Prof^a. Luciana Furlaneto-Maia
Orientadora

Prof^a. Ana Flávia Oliveira
Membro titular

Prof^a. Ana Lydia Nunes
Membro titular

Dedico este trabalho ao meu pai, por me ensinar a nunca desistir dos meus sonhos, mesmo se os obstáculos parecessem intransponíveis.

AGRADECIMENTOS

Certamente, não há palavras suficientes para agradecer a todas as pessoas que contribuíram de forma direta ou indireta com este trabalho e que fizeram parte desta importante etapa. No entanto, peço desculpas àquelas que não estão presentes nessas palavras, mas elas podem ter a certeza de que fizeram parte do meu pensamento e da minha gratidão.

Primeiramente, agradeço a Deus por proporcionar a realização de mais um sonho e por me sustentar em Suas mãos todos os dias, inclusive o desenvolvimento do trabalho.

Agradeço a minha orientadora Prof^a. Dr^a. Luciana Furlaneto-Maia pela compreensão, paciência e por compartilhar seu conhecimento que me guiou nessa trajetória.

À minha co-orientadora Prof^a. Dr^a. Marly Sayuri Katsuda por fornecer os materiais para as análises físico-químicas. E também à minha outra co-orientadora Prof^a. Msc. Juliany Piazzon Gomes pelo encorajamento.

À minha mãe por me incentivar a enfrentar os desafios da vida com muito amor, carinho e dedicação.

À Prof^a. Dr^a. Lyssa Sakanaka por me auxiliar nos procedimentos de análises físico-químicas.

À Marcia Terra, Raísa Dardaque, Priscila Brantega e Milena Matesco pela paciência e por me auxiliarem nas análises microbiológicas.

Aos meus colegas de classe.

Ao meu namorado Bruno Hideki Arabori por ser compreensível nos meus momentos de ansiedade e angústia e por sempre me animar nesta etapa.

À minha prima e melhor amiga Letícia Terue Fujii por se preocupar comigo pelos meus “maus momentos” de desespero e pelas palavras de serenidade.

A todos os meus amigos que me auxiliaram nesta etapa.

Por fim, agradeço a todos que contribuíram para a realização desta pesquisa.

Um Deus tão grande
Com um amor tão grande
Me faz alcançar
Muito além do que eu sonhei
(Quatro por um)

RESUMO

FUJII, L. H. **Elaboração de bebida de extrato de soja sabor morango, pêssego e uva com *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium lactis***. 2016. 35f. Trabalho de Conclusão de Curso (Tecnologia em Alimentos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Londrina, 2016.

O consumo de produtos industrializados aliado à praticidade tem ganhado espaço no mercado, pois com a rotina acelerada, os consumidores têm buscado alimentos que demandem pouco tempo e esforço. Em contrapartida, estes têm valorizado a importância do consumo de alimentos que ofereçam benefícios ao organismo. Podem-se citar alimentos como os que utilizam soja em sua formulação e os probióticos. Estes apresentam inúmeros benefícios ao organismo e atuam como alimentos funcionais. Com os seguintes conhecimentos em relação às preferências dos consumidores, as indústrias alimentícias e tecnológicas têm buscado unir essas propriedades em um só produto. Dessa forma, o presente trabalho teve como objetivo desenvolver uma bebida probiótica a partir de suco com extrato de soja sabor morango, pêssego e uva contendo microrganismos probióticos *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium lactis*. Foram utilizados sucos isentos de conservantes com adição de açúcar e edulcorante artificial de sucralose em suas composições. A cultura mista foi inoculada e armazenada durante 30 dias. O crescimento microbiano, pH, acidez e sólidos solúveis foram avaliados nos tempos 0h, 24h, 15 dias e 30 dias. Os resultados indicaram uma maior taxa de crescimento microbiano nos 15 dias e ao longo do período de armazenamento houve um aumento da acidez, redução do pH e dos sólidos solúveis. E por fim, conclui-se que o suco de soja pode ser utilizado como substrato para o desenvolvimento das bactérias probióticas, proporcionando um aumento no potencial de propriedades funcionais.

Palavras-chave: Probióticos. Soja. Alimento funcional. Sucos. Viabilidade.

ABSTRACT

FUJII, L. H. **Development of strawberry, peach and grape flavor soymilk drink with *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium lactis***. 2016. 35f. Completion of Course Work (Food Technology) - Federal Technology University - Parana. Londrina, 2016.

The consumption of processed products combined with practicality has gained ground in the market owing to the accelerated routine, consumers have sought for foods that require just a little time and effort. However, it has emphasized the importance of consuming foods which provide benefits to the body. May be mentioned as foods which use soybean in their formulation and probiotics. These offer many benefits to the body and act as functional foods. With the following knowledge of the preferences of consumers, food and technology industries have sought to unite these properties in one product. Thus, this study aims to development a beverage with soymilk drink added probiotic cultures of *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium lactis* from strawberry, peach and grape flavors. Juices were used free of preservatives and have added sugar and artificial sweetener sucralose in their compositions, where the mixed culture was inoculated and stored for 30 days. The microbial development, pH, acidity and soluble solids were evaluated at the times 0h, 24h, 15 days and 30 days. The results indicated a major microbial growth rate in 15 days, and throughout the storage period there was an increase in acidity, reducing the pH and the soluble solids. Finally, it concluded that the soybean extract may be used as substrate for the development of probiotic bacteria, resulting in an increase in the potential functional properties.

Keywords: Probiotics. Soy. Functional Food. Juices. Viability

LISTA DE ILUSTRAÇÃO E TABELAS

Figura 1 – Efeitos dos alimentos probióticos e na microbiota intestinal e sua influência na saúde do hospedeiro.....	15
Figura 2 – Aspecto dos sucos de morango, pêssego e uva, após o inoculo bacteriano.....	23
Figura 3 – Representação das placas contendo as colônias de cultura probiótica mista após 72h de incubação.....	24
Figura 4 – Desenvolvimento celular de cultura de bactéria probióticas mista durante a estocagem sob refrigeração em suco de soja saborizado.....	25
Figura 5 - Valores de pH (A) e acidez (B) dos suco de soja saborizados contendo bactérias probióticas.....	26
Tabela 1 – Valores de sólidos solúveis dos sucos de sabor morango, pêssego e uva.....	27

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
2 OBJETIVOS	11
2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	11
3 ALIMENTOS FUNCIONAIS	12
3.1 PROBIÓTICOS	13
3.1.1 Características gerais de <i>Streptococcus thermophilus</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i> e <i>Bifidobacterium lactis</i>	16
3.2 SOJA.....	17
3.3 BEBIDA COM EXTRATO DE SOJA PROBIÓTICA.....	18
4 MATERIAIS E MÉTODOS	20
4.1 OBJETO EM ESTUDO.....	20
4.2 MÉTODOS	20
4.2.1 Elaboração da bebida contendo probióticos.....	20
4.2.2 Determinação da viabilidade celular da cepa probiótica	21
4.2.3 Análise do pH.....	21
4.2.4 Análise da acidez	21
4.2.5 Análise de sólidos solúveis.....	22
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	23
6 CONCLUSÃO	28
REFERÊNCIAS	29

1 INTRODUÇÃO

Os consumidores estão buscando produtos mais saudáveis e que possuam propriedades nutricionais interessantes à saúde. Sabendo disto, as indústrias alimentícias têm procurado desenvolver alimentos que sejam práticos e compostos por vários nutrientes em função do beneficiamento do organismo.

De acordo com Oliveira e Roman (2013), para um alimento ser considerado funcional, além de oferecer a nutrição básica, deve ser capaz de beneficiar em uma ou mais funções o organismo, podendo ser uma melhora na saúde, bem-estar e/ou reduzir os riscos de contrair uma doença.

Dessa forma, o uso de probióticos na dieta humana vem sendo amplamente difundido tanto como suplemento alimentar como na forma de medicamento, pois seu consumo diário promove inúmeros benefícios ao organismo (BARBOSA *et al*, 2011), considerando-o como um alimento funcional.

Com uma ingestão diária dos probióticos, estes podem proporcionar melhorias dos movimentos peristálticos do intestino, aumentando a absorção de nutrientes; o equilíbrio da microbiota; a prevenção e/ou controle de infecções intestinais; a modulação do sistema imune; prevenção de alguns tipos de câncer; redução do LDL-colesterol; melhoria na digestão da lactose; proteção contra infecções no trato urinário, entre outras ações (BARBOSA, 2007).

Além da ingestão de probióticos, os alimentos exercem importante função na qualidade de vida e entre estes alimentos destaca-se a soja, por possuir potencial nutritivo de proteínas, benefícios na prevenção de doenças cardiorrespiratórias, cânceres (mama, próstata e cólon) e auxilia na redução dos sintomas adversos da menopausa (BARBOSA, 2007).

Assim, com a procura de produtos alimentícios que ofereçam benefícios extras à saúde, e dos efeitos funcionais da soja e dos probióticos, o presente estudo teve como objetivo o desenvolvimento de um suco com extrato de soja saborizado acrescido de culturas probióticas que visam promover benefícios ao organismo humano enquanto pode ser apreciada na alimentação do consumidor brasileiro.

2 OBJETIVOS

Desenvolver uma bebida probióticas a partir de suco com extrato de soja sabor morango, pêsego e uva contendo microrganismos probióticos *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium lactis*.

2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Inocular bactérias probióticas ao produto elaborado;
- Avaliar a viabilidade do probiótico em relação ao tempo;
- Analisar os aspectos microbiológicos, pH, acidez e sólidos solúveis do produto elaborado.

3 ALIMENTOS FUNCIONAIS

Atualmente, há um interesse muito grande em relação à função desempenhada pelos alimentos que possuem constituintes que influenciam nas atividades metabólicas e fisiológicas, ou então, componentes isolados de alimentos que apresentam uma destas particularidades, aos quais são denominados como alimentos funcionais (OLIVEIRA, 2013).

O conceito de alimentos funcionais surgiu no Japão em meados de 1980, caracterizando os alimentos que além de fornecerem os nutrientes básicos, possuem componentes que podem beneficiar a saúde dos consumidores (SILVEIRA; VIANNA; MOSEGUI, 2009).

Segundo o programa “Alimentos para Uso Específico de Saúde” (Foods for Specified Health Use - FOSHU) implementado pelo Ministério da Saúde e Bem-estar do Japão, definiu-se alimentos funcionais como alimentos que possuem propriedades atuantes nos mecanismos de defesa, prevenção ou tratamento de doenças/distúrbios, melhoria das condições de saúde física, mental ou gerais, ou retardamento do processo de envelhecimento (SILVEIRA; VIANNA; MOSEGUI, 2009).

Diversos autores relatam que um alimento pode ser considerado funcional quando influencia beneficemente em uma ou mais funções no corpo, além dos efeitos nutricionais convencionais (Roberfroid, 2002). Ainda, Moraes e Colla (2006) relatam que os alimentos funcionais são alimentos ou bebidas consumidas no dia a dia que podem promover melhoras fisiologicamente específicas devido à presença de nutrientes saudáveis. São consumidos em dietas convencionais, no entanto, apresentam a capacidade de auxiliar na prevenção de doenças como hipertensão, diabetes, câncer, osteoporose e coronariopatias.

A Resolução RDC 18/1999 define alimentos funcionais como sendo:

alimento ou ingrediente que alegar propriedades funcionais ou de saúde pode, além de funções nutricionais básicas, quando se tratar de nutriente, produzir efeitos metabólicos e ou fisiológicos e ou efeitos benéficos à saúde, devendo ser seguro para consumo sem supervisão médica.

3.1 PROBIÓTICOS

Em 1965, Lilly e Stillwell introduziram o termo “probiótico” definindo como “substâncias secretadas por um microrganismo para estimular o crescimento de outro”. E desde então, surgiram muitas teorias sobre este termo. Atualmente, a definição aceita internacionalmente foi elaborada por especialistas da *Food and Agriculture Organization of the United Nations / World Health Organization* (2002): “probióticos são microrganismos vivos que quando administradas em quantidades adequadas oferecem benefícios à saúde do hospedeiro”.

Probióticos são definidos como microrganismos vivos que possuem a capacidade em melhorar o equilíbrio da microbiota intestinal, produzindo efeitos benéficos ao consumidor. De acordo com a legislação, foi estabelecido que a quantidade mínima para viabilizar o microrganismo probiótico encontra-se entre 10^8 a 10^9 unidades formadoras de colônias (UFC) na recomendação diária do produto para o consumo (BRASIL, 2008).

Os principais microrganismos reconhecidos pela ANVISA como probióticos são: *Lactobacillus acidophilus*, *casei shirota*, *casei* variedade *ramnosus*, *casei* variedade *defensis*, *paracasei*, *Lactococcus lactis*, *Bifidobacterium bifidum*, *B. animalis* (incluindo a subespécie *B. lactis*), *B. longum*, *Enterococcus faecium* (BRASIL, 2008).

Segundo Nogueira e Gonçalves (2011), para que as bactérias probióticas atuem no organismo, é preciso que estas sejam consumidas vivas e sobrevivam ao entrar em contato com o suco gástrico e sais da bile para então, poderem agir contra os microrganismos patogênicos.

No entanto, é necessário o consumo contínuo dos produtos com as culturas probióticas, pois o epitélio intestinal passa por uma descamação e renovação celular por períodos, e os probióticos se mantêm no cólon e multiplicam-se, mas não se tornam os colonizadores perenes da mucosa intestinal, onde não são constatados após a interrupção do consumo (ANTUNES *et al.*, 2007).

Stefe, Alves e Ribeiro (2008) relatam que os probióticos produzem inúmeros efeitos como: impedimento de multiplicação e ação patogênica, estimulação do sistema imunológico, redução do colesterol no sangue, anticarcinogênico, tratamento e prevenção de diarreias, melhoras da digestão da lactose em seres humanos,

inibição do crescimento de microrganismos patogênicos de *Helicobacter pylori*, produção de vitaminas.

A figura 1 demonstra as ações e efeitos das bactérias probióticas no organismo humano ao ser consumido diariamente:

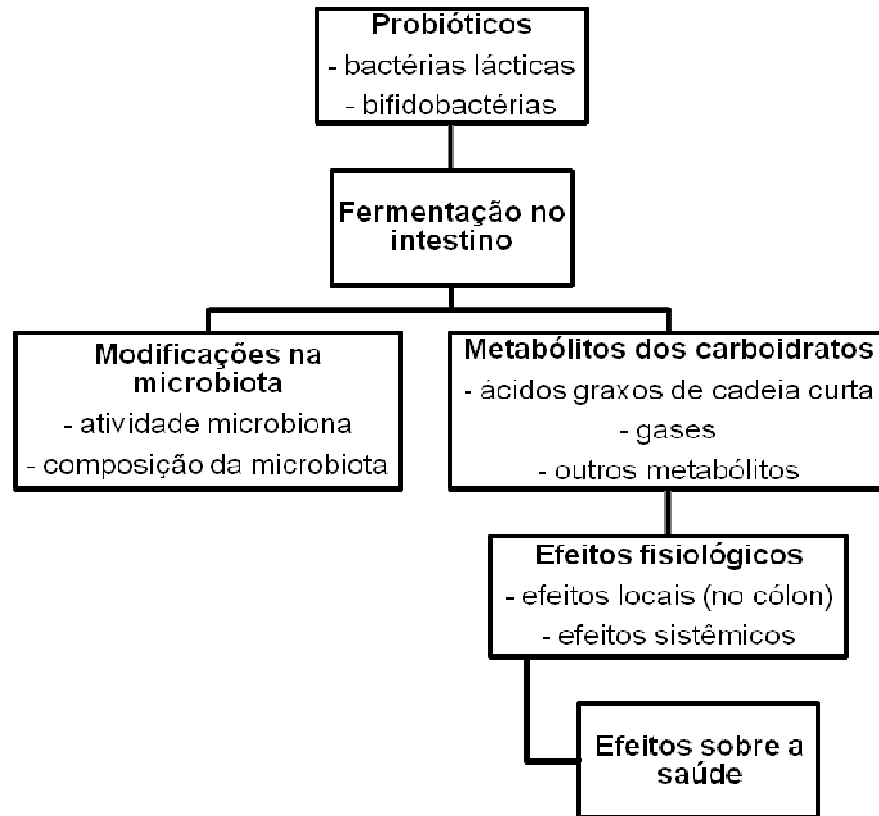


Figura 1. Efeitos dos alimentos probióticos e na microbiota intestinal e sua influência na saúde do hospedeiro

Fonte: PUUPPONEM-PIMIA *et al.* (2002).

A comunidade científica em parceria com as indústrias alimentícias tem buscado atender a essa demanda no mercado, investindo em novas tecnologias e produtos, sem alterar as características sensoriais (FRANCO, 2011).

De acordo com ABIAD (2011), a produção de alimentos funcionais é um dos setores alimentícios que mais cresce no mundo. E há estimativas que indicam que no mercado brasileiro o faturamento atingiu 15% do mercado de alimentos e que crescerá aproximadamente 20% ao ano.

Alimentos funcionais podem ser definidos como “alimentos ou ingredientes que produzem efeitos benéficos à saúde, além de suas funções nutricionais básicas” (BVSMS, 2009). A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) define na

Resolução 18/1999 que a propriedade funcional é referente à atuação metabólica ou fisiológica dos nutrientes no organismo (BRASIL, 1999).

Dentro do mercado de alimentos funcionais, há os probióticos que são definidos como alimentos contendo microrganismos que produzem efeitos benéficos sobre a microbiota intestinal e as funções do organismo (THAMER; PENNA, 2005).

Assim, a indústria alimentícia tem inserido as culturas probióticas com o objetivo de incluir novas propriedades benéficas e funcionais aos produtos. Os produtos mais conhecidos e comercializados são os leites fermentados e iogurtes com probióticos, no entanto, existem inúmeros produtos nesta linha de desenvolvimento como sorvetes, manteiga, maionese, entre outros (SAAD, 2006).

Segundo Oliveira *et al.* (2002), o uso de culturas probióticas para a fabricação de produtos alimentícios deve ser empregado de acordo com o seu desempenho tecnológico. Os probióticos que possuem bom desempenho tecnológico devem demonstrar uma boa multiplicação no produto, promover características sensoriais adequadas, apresentar estabilidade, viabilidade durante o período de armazenamento e também, deve resultar em produtos com aromas e texturas adequadas.

Leite e seus derivados são bons veículos de cepas probióticas devido às suas propriedades intrínsecas e ao fato de que a maioria dos produtos lácteos é armazenada a temperaturas refrigeradas. Entre os produtos probióticos, as bebidas lácteas foram os primeiros produtos comercializados e atualmente, são consumidos em quantidades maiores do que as outras bebidas probióticas (SONG; IBRAHIM; HAYEK, 2012).

O iogurte é uma das fontes originais de probióticos e continua a ser um produto probiótico popular. Outros produtos lácteos, incluindo mousse de chocolate, sobremesas congeladas de lácteos fermentados, creme de leite e sorvete podem ser bons veículos de probióticos. No entanto, com o aumento dos consumidores aderente ao vegetarianismo, há também uma procura para os produtos probióticos vegetarianos e intolerantes à lactose, sendo assim, nos países desenvolvidos, foram elaborados vegetais fermentados, produtos à base de frutas, de cereais com probióticos (SONG; IBRAHIM; HAYEK, 2012).

Embora haja o desenvolvimento de inúmeros produtos probióticos, ainda não foi desenvolvida uma bebida com extrato de soja probiótica para comercialização.

3.1.1 Características gerais de *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium lactis*

Os microrganismos probióticos exercem efeitos benéficos ao organismo do hospedeiro quando são ingeridos diariamente em concentrações adequadas. Os mais utilizados é o grupo das bactérias ácido-láticas, como os gêneros *Bifidobacterium* e *Lactobacillus* (KRÜGER *et al.*, 2008).

Os *Bifidobacterium*, em geral, são caracterizados como bacilos gram-positivos, não formadores de esporos, desprovidos de flagelos e aeróbios. São heterofermentativos que produzem ácidos acético e lático. A temperatura ótima para o crescimento varia entre 37 a 41°C e em relação ao pH ótimo, valores entre 6 a 7, com ausência de crescimento em pH ácidos entre 4,5 a 5 (GOMES; MALCATA, 1999).

As espécies de *Lactobacillus* e *Streptococcus thermophilus* estão classificadas como não-patogênicos e não-toxigênicos, gram-positivos, bactérias fermentativas associadas à produção de ácido lático, etanol e outros produtos metabólitos a partir de carboidratos, sendo efetivas para a elaboração de alimentos fermentados (WGO, 2011).

Embora sejam utilizados os microrganismos *Streptococcus thermophilus* na produção de iogurtes e outros produtos lácteos, estes não estão listados como probióticos de acordo com a legislação brasileira por não apresentarem os efeitos cientificamente comprovados (FERNÁNDEZ, 2015). No entanto, *World Gastroenterology Organisation Global Guidelines* (2011) relata que a ingestão de *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgaricus*, melhora na digestão da lactose e reduz os sintomas relacionados à intolerância à lactose baseado em uma série de estudos onde os indivíduos consumiam iogurtes com culturas probióticas.

O *Lactobacillus acidophilus* é caracterizado como forma de bacilo, não formador de esporos, desprovido de flagelos e microaerófilo. As ótimas temperaturas para o seu crescimento variam entre 35 a 40°C e pH de 5,5-6 (GOMES; MALCATA, 1999).

Já o *Streptococcus thermophilus* é classificado como cocos, anaeróbia facultativa, a temperatura ótima varia entre 35 a 46°C e seu pH de 6,5 (BEAL; LOUVET; CORRIEU, 1989; TAYEB, 1984)

Para a atuação dos efeitos benéficos no organismo do hospedeiro, é preciso que ocorra o crescimento e atividades dos probióticos no intestino. Dessa forma, os microrganismos devem apresentar características como: possuírem resistência ao suco gástrico, às bílis e enzimas pancreáticas e digestivas; serem aderentes na mucosa intestinal; apresentar a capacidade de colonização; produzir substâncias antimicrobianas contra os microrganismos patogênicos e ausência de mutações (RESENDE, 2010).

World Gastroenterology Organisation Global Guidelines (2011) relata o mecanismo de ação dos probióticos que incluem o consumo e competição de nutrientes com os microrganismos patogênicos; alteração do pH do meio intestinal, criando um ambiente desfavorável aos patógenos; produção de bactérias para inibição dos patógenos; estimulação da produção de mucina epitelial e inativação das toxinas produzidas pelos patógenos.

Assim, os efeitos atuam na redução de doenças cardiovasculares, câncer de cólon, inflamação do intestino, síndrome do intestino irritável, encefalopatia hepática; tratamentos para diarreias; eliminação de *Helicobacter pylori*, aumento da imunidade, entre outros benefícios (WGO, 2011).

3.2 SOJA

A soja está entre os alimentos que tem se destacado nos últimos anos, pois possui características químicas e nutricionais que podem ser qualificadas como um alimento funcional pela qualidade da proteína, mas também pelo desempenho em auxiliar na prevenção e ações terapêuticas em doenças cardiovasculares, câncer, osteoporose e para a redução dos sintomas da menopausa (HASLER, 1999).

Há vários estudos experimentais e epidemiológicos sobre a ação das isoflavonas naturais como proteção contra várias doenças crônicas. Observou-se que onde há maior incidência de alguns tipos comuns de câncer (mama, próstata e cólon) e de doenças coronárias, atingem, principalmente, as populações ocidentais

expostas a quantidades limitadas de isoflavonas de soja (como a genisteína, daidzeína) na dieta (BRANDI, 1997).

As propriedades referentes ao consumo de produtos elaborados com soja foram atribuídas pela presença dos fitoquímicos, destacando-se os inibidores de proteases, fitatos, fitoesteróis, saponina, ácidos fenólicos, lecitina, ácidos graxos insaturados e isoflavonóides. Outros nutrientes como aminoácidos, fibras, vitaminas, minerais e carboidratos têm apresentado efeitos benéficos à saúde (RODRIGUES, 2003).

Em 1999, foi aprovado pela *Food and Drug Administration* (FDA, 1999) a alegação nutricional quanto à ingestão diária de 25g de proteína de soja para obter os efeitos de prevenção e/ou redução de doenças cardiovasculares, em uma dieta reduzida em gordura saturada e colesterol.

Neste contexto, associam-se os produtos derivados de soja com produtos comuns do cotidiano dos consumidores para incrementar o hábito do consumo da leguminosa. E também, a associação destes produtos com frutas tem apresentado uma boa afinidade, melhorando as características visuais e sensoriais, reduzindo os aspectos sensoriais indesejáveis da soja (RODRIGUES, 2003).

3.3 BEBIDA COM EXTRATO DE SOJA PROBIÓTICA

O extrato de soja é um dos produtos mais comum no cotidiano do consumidor, devido a sua facilidade na utilização de forma direta ou no desenvolvimento de produtos como sorvetes, um tipo de leite condensado, bebidas, iogurtes, formulados infantis e entre outros, pois apresenta baixo custo e alto teor de proteínas (RODRIGUES, 2003; CABRAL, 1997).

Segundo Rodrigues (2003), para que haja melhor aceitação e consumo dos produtos derivados de soja, são adicionados ingredientes para conferir doçura e/ou aromatizantes para reduzir e mascarar as características sensoriais da soja.

Conhecendo as inúmeras propriedades e benefícios que a soja oferece, é interessante a introdução desta em alimentos de consumo diário para que seja implantada de forma progressiva na alimentação da população brasileira. Uma das formas de introduzir este alimento na dieta é por meio de sucos de frutas com

extrato de soja, onde tem sido muito aceito pelos consumidores (RODRIGUES, 2003).

De acordo com Barbosa (2007), há pesquisas que foram realizadas em que apresentam os oligossacarídeos (estaquiose e rafinose) presente no extrato de soja, onde pode ser utilizado como um substrato adequado para o crescimento e desenvolvimento bioquímico de bactérias probióticas, proporcionando um alimento com as propriedades nutricionais potencializadas e também, como um diferencial para os nichos da população que demonstram alergias e/ou distúrbios alimentares pela ingestão de leite de vaca.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

Este trabalho caracteriza-se como experimental com dados quantitativos, elaborado no laboratório de Microbiologia e Microscopia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), localizada na cidade de Londrina. As análises e a elaboração da bebida com extrato de soja sabor morango, pêssego e uva com culturas probióticas foram realizadas no período de março a abril de 2016.

4.1 OBJETO EM ESTUDO

A cultura probiótica utilizada foi da marca SACCO®, e continha as bactérias *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium lactis*. Os microrganismos encontram-se liofilizados em envelope e na concentração de $2,5 \times 10^{10}$, $3,2 \times 10^9$ e $3,1 \times 10^9$ UFC/g, respectivamente. Este material foi obtido pela loja virtual TopTherm disponível no site (<http://www.toptherm.com.br/>).

Os sucos com extrato de soja foram desenvolvidos nos sabores morango, pêssego e uva da Mais Vita (Yoki®), sendo isentos de conservantes com adição de açúcar e edulcorante artificial de sucralose em suas composições, sendo obtidos no comércio local de Londrina-PR.

4.2 MÉTODOS

4.2.1 Elaboração da bebida contendo probióticos

Um volume de 800 mL de cada suco foi acondicionado em frascos estéreis, e a estes foi depositado todo o conteúdo do envelope da cultura mista de probióticos. A bebida foi armazenada sob refrigeração a 4°C, durante o período de análise.

4.2.2 Determinação da viabilidade celular da cepa probiótica

Após o inóculo da bactéria, nos tempos T0 h, T24 h, T360 horas e T720 horas, retirou-se um volume de 1 mL do produto e procedeu-se a diluição seriada. A contagem celular deu-se pelo método de profundidade (*pour-plate*) em meio MRS (*Man Rogosa Sharpe*) ágar. As placas foram incubadas por 72 horas a 37°C dentro de sacos plásticos com sistema gerador de atmosfera com teor reduzido de oxigênio e aumentado de gás carbônico Anaerobac®.

O cálculo de UFC/mL foi obtido pela contagem do número de células, multiplicado por 10^1 e pela diluição plaqueada.

Controle negativo foi realizado com a bebida com extrato de soja sem inóculo bacteriano.

4.2.3 Análise do pH

O pH foi determinado pela leitura direta em potenciômetro, calibrados com soluções tampão pH 4,0 e pH 7,0, nos mesmos tempos estipulados no item 4.2.2. O procedimento metodológico foi realizado de acordo com Instituto Adolfo Lutz (2008).

4.2.4 Análise da acidez

Dilui-se 10 mL da bebida em 100 mL de água destilada, homogeneizou-se e foram adicionados 4 a 5 gotas da solução de fenolftaleína a 1% e titulado com solução de hidróxido de sódio 0,1 N, até o aparecimento de coloração rósea persistente por aproximadamente 30 segundos, segundo a Instrução Normativa n. 68 do MAPA (BRASIL, 2006).

4.2.5 Análise de sólidos solúveis

Os sólidos solúveis foram analisados através do teor de açúcar presente na bebida e foram determinados por meio da leitura do refratômetro, sendo este calibrado com água destilada nos mesmos tempos do item 4.2.2, de acordo com Instituto Adolfo Lutz (IAL, 1985).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O presente trabalho avaliou a sobrevivência de cultura probiótica mista em suco de soja sabores morango, pêsego e uva, armazenados sob refrigeração.

No procedimento realizado, o inóculo inicial de cada microrganismo foram $2,0 \times 10^7$, $2,5 \times 10^6$ e $2,4 \times 10^6$ das bactérias *S. thermophilus*, *L. acidophilus* e *B. lactis*, respectivamente. A figura 2 apresenta o aspecto do suco após o inóculo bacteriano.

Por se tratar de uma cultura liofilizada e a fim de evitar contaminações, não se procedeu a reativação celular; ainda, como o objetivo deste trabalho foi verificar a viabilidade celular no produto, também foi inoculado na concentração considerada para um probiótico (mínimo de 10^8 UFC/mL).



Figura 2 – Aspecto dos sucos de morango, pêsego e uva, após o inóculo bacteriano

Fonte: Autoria própria.

Durante o período de estocagem, uma alíquota foi retirada e foi determinado a UFC/mL da cultura probiótica mista (Figura 3).



Figura 3 – Representação das placas contendo as colônias de cultura probiótica mista após 72 h de incubação. Seta indica colônia bacteriana

Fonte: Autoria própria.

A figura 4 apresenta os resultados da UFC/mL nos sucos acrescidos de bactérias probióticas. Embora o preparado tenha permanecido sob refrigeração, observou-se um aumento no número de células durante o armazenamento, ou seja, houve o desenvolvimento microbiano até 15 dias de estocagem em todos os sabores de suco. Com 30 dias de estocagem continuou o desenvolvimento celular no suco de morango, decaindo nos sucos de pêsego e não sendo mais recuperado no suco de uva.

Embora o objetivo do trabalho fosse verificar a viabilidade da cultura probiótica durante período de estocagem, foi obtido um resultado positivo ao saber que os microrganismos estavam em multiplicação. Ainda, o produto mostrou-se promissor para o desenvolvimento desses microrganismos em sucos de soja, podendo posteriormente ser ajustado para chegar à concentração exigida pela legislação (10^8 a 10^9 UFC) para ser considerada como alimento probiótico.

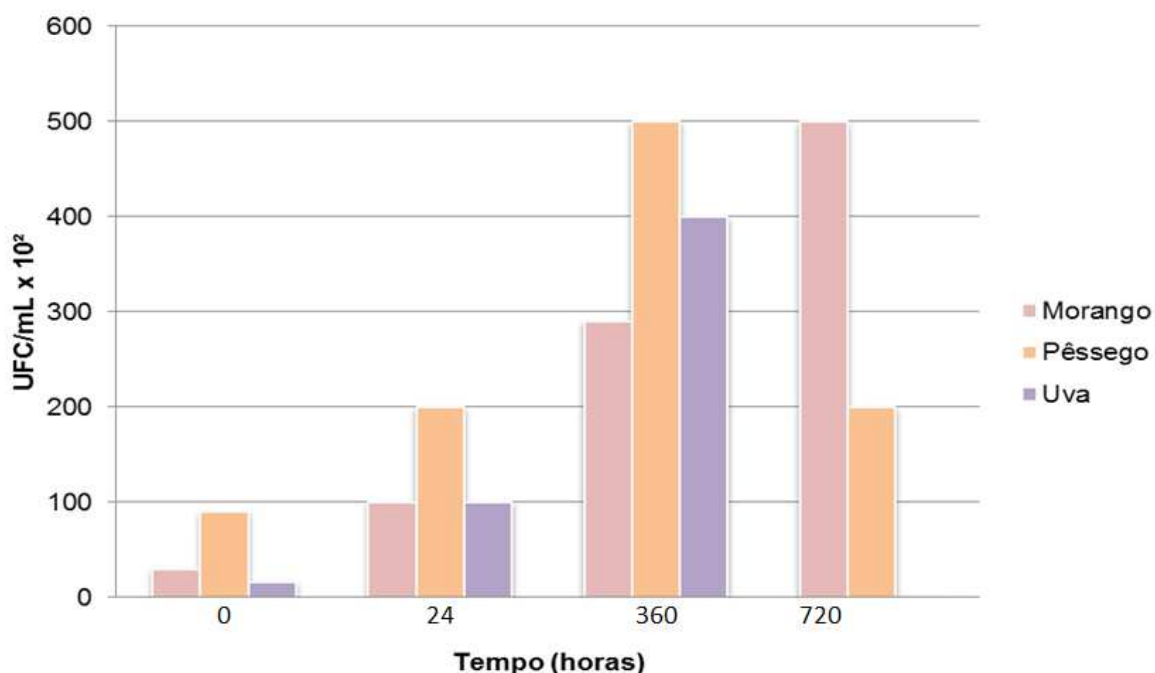


Figura 4 – Desenvolvimento celular de cultura de bactéria probiótica mista durante a estocagem sob refrigeração em suco de soja saborizado; dados expressos em UFC/mL de produto

Fonte: Autoria própria (2016).

Ao contrário aos resultados obtidos por Haully, Fuchs e Ferreira (2005) verificaram que com 21 dias de armazenamento, o número de bactérias lácticas em iogurte de soja teve um decréscimo considerável. Segundo Macedo *et al.* (2008), a redução da viabilidade de bactérias probióticas pode estar relacionada com vários fatores como a acidez do produto, taxa de oxigênio, entrada de oxigênio pela embalagem, compostos antimicrobianos, entre outros.

De acordo com Gomes e Malcata (1999), há vários estudos que indicam o uso de culturas mistas contendo *Bifidobacterium* sp, *L. acidophilus* e *S. thermophilus*, pois promovem algumas vantagens como “melhores taxas de crescimento, redução do tempo de fermentação, ausência de certos defeitos sensoriais e um aumento do valor nutritivo dos produtos finais”.

Há inúmeras vantagens das ações dos probióticos durante a fabricação de produto lácteo, tais como auxiliar na conservação do leite por meio da produção de ácido láctico e de outros elementos antimicrobianos, desenvolver qualidades sensoriais desejadas, aumento dos valores nutricionais do produto e promove propriedades benéficas ao organismo (OLIVEIRA, 2013).

No entanto, é preciso que os microrganismos sejam viáveis no alimento durante o *shelf-life*, como demonstrado em nosso estudo.

Também foi monitorado o pH e a acidez dos preparados. Os resultados estão apresentados na figura 5.

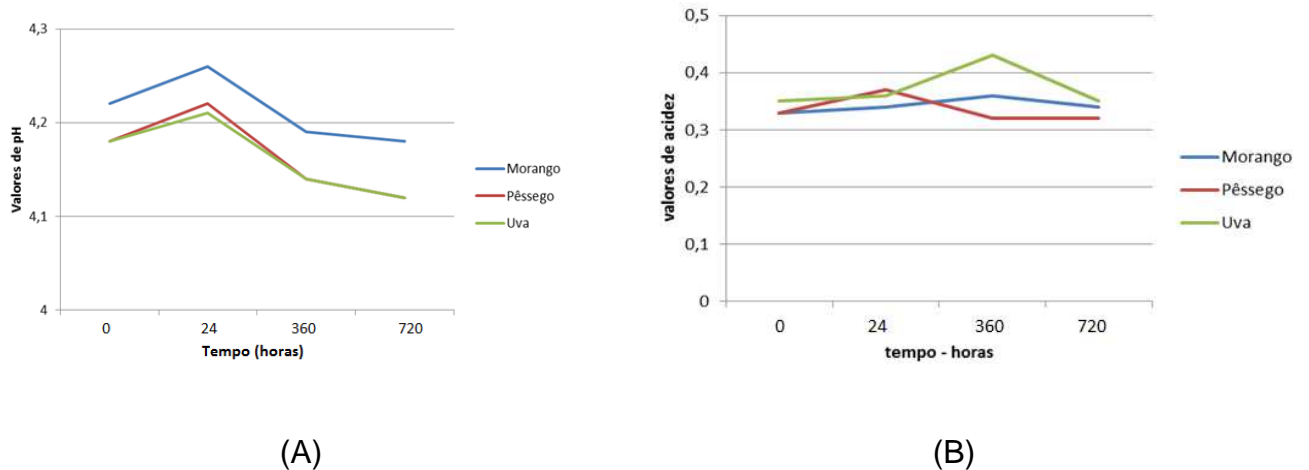


Figura 5 - Valores de pH (A) e acidez (B) dos sucos de soja saborizados contendo bactérias probióticas

Fonte: Autoria própria.

Observamos que posterior a adição dos probióticos, com 360 horas, o pH apresentou valores menores do que a mensuração inicial. Barbosa (2007) sugere que este valor se deve ao processo fermentativo, corroborando com nossos experimentos onde neste tempo apresentou elevada contagem de bactérias probióticas.

De acordo com Beal, Louvet e Corrieu (1989), a redução do pH em iogurtes armazenados em temperatura de 4°C, relaciona-se com a pós-acidificação do meio devido o consumo de carboidratos e produção do ácido lático apresentando a fermentação dos microrganismos durante o armazenamento.

Santo *et al.* (2010), avaliou a influência da adição de polpa de açaí de iogurtes com culturas probióticas de *L. acidophilus*, *B. animalis* subespécie *lactis* e *B. longum* e observou que no 28º dia de armazenamento, o pH variou entre 4,20 a 4,33. Assim como Gallina *et al.* (2011) analisou o leite pasteurizado com inoculação

do fermento de *S. thermophilus*, *L. bulgaricus* e *Bifidobacterium* spp após o período de 28 dias armazenado em temperaturas de 4 a 6°C com pH de 4,13.

Os dados de acidez também corroboram com os dados de crescimento bacteriano desta pesquisa. Donkor *et al.* (2006), observou o efeito da acidificação sobre o iogurte probiótico ao longo do período de armazenamento em temperaturas de refrigeração que houve um declínio significativo no pH e aumento da acidez.

Também foi constatado no trabalho de Haully, Fuchs e Ferreira (2005) que o aumento da acidez com o tempo de armazenamento, havendo diferença entre o produto após a fermentação e o produto no 21º dia de armazenamento a 4°C. Ao contrário de Jardim (2012), onde não foi observada diferença expressiva da acidez durante o período de armazenamento em refrigeração até 28 dias, ou seja, a bebida obteve um comportamento constante da acidez em função do tempo.

Na tabela 1 estão apresentados os dados de valores de sólidos solúveis dos sucos. Observou-se que a concentração de sólidos solúveis variou durante o armazenamento do produto, apresentando pequena variação. Com os dados obtidos não pudemos estabelecer uma correção de utilização de oligossacarídeos presentes no suco em relação ao desenvolvimento microbiano. Contudo, nos estudos realizados por Barbosa (2007), houve redução dos sólidos solúveis devido ao consumo de substratos como oligossacarídeos (rafinose e estaquiose) presentes naturalmente na soja.

Tabela 1 – Valores de sólidos solúveis dos sucos de sabor morango, pêssego e uva

Tempo	Morango (°Brix)	Pêssego (°Brix)	Uva (°Brix)
0h	4,5	8	4,75
24h	6	9,25	5,75
360h	5,75	8,75	5,75
720h	4	8,25	5

Fonte: Autoria própria.

6 CONCLUSÃO

As bebidas à base de suco de soja saborizado mostraram-se eficiente para a manutenção celular de cultura probiótica mista, durante o período de armazenamento. Houve ainda crescimento celular durante o período de estocagem, inclusive com 30 dias de refrigeração para os sucos sabor morango e pêssego.

Embora a contagem celular não se encontrasse em concentração exigida para ser considerado um probiótico, este estudo apresentou que o extrato de soja pode ser utilizado como substrato para o desenvolvimento das bactérias probióticas, proporcionando um aumento no potencial de propriedades funcionais.

REFERÊNCIAS

ABIAD. Associação Brasileira da Indústria de Alimentos para Fins Especiais e Congêneres. **Saiba as diferenças e benefícios dos alimentos probióticos, prebióticos e simbióticos**, 2011. Disponível em <<http://www.abiad.org.br/index.php/sala-de-imprensa/releases-pautas-e-artigos/28-saiba-as-diferencas-e-beneficios-dos-alimentos-probioticos-prebioticos-e-simbioticos-110111>> Acesso em 10 mai. 2015.

ANTUNES, A. E. C. *et al.* Probióticos: Agentes promotores de saúde. **Nutrire**, São Paulo, v. 32, n. 3, p. 103-122, dez. 2007.

BARBOSA, E. G. **Prevalência de bactéria probiótica *L. acidophilus* - NCFM em extrato de soja fermentado e saborizado com sacarose e polpa de pêssego**. 2007. 73f. Monografia (Especialização em Ciência e Tecnologia Agroindustrial) - Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2007.

BARBOSA, F. H. F. *et al.* Probióticos – microrganismos a favor da vida. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, Paraíba, v. 11, n. 1, p. 11-21, 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução RDC nº 18, de 30 de abril de 1999. Regulamento Técnico que estabelece as diretrizes básicas para análise e comprovação de propriedades funcionais e ou de saúde alegadas em rotulagem de alimentos. **Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 3 mai. 1999.

_____. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Resolução nº5, de 13 novembro de 2000. Padrões de identidade e qualidade (PIQ) de leites fermentados. **Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 14 dez. 2006.

_____. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Alimentos com alegações de propriedades funcionais e ou de saúde**, 2008. Disponível em <<http://portal.anvisa.gov.br/wps/content/Anvisa+Portal/Anvisa/Inicio/Alimentos/Assuntos+de+Interesse/Alimentos+Com+Alegacoes+de+Propriedades+Funcionais+e+ou+de+Saude>> Acesso em 10 mai. 2015.

BEAL, C.; LOUVET, P.; CORRIEU, G. Influence of controlled pH and temperature on the growth and acidification of pure cultures of *Streptococcus thermophilus* 404 and

Lactobacillus bulgaricus 398. **Appl. Microbiol Biotechnol**, Thiverval-Grignon, v. 32, p. 148-154, 1989.

BRANDI, M. L. Natural and Synthetic Isoflavones in the Prevention and Treatment of Chronic Diseases. **Calcif Tissue Int**, New York, v. 61, p. S5-S8. 1997.

BVSMS. Biblioteca Virtual em Saúde. **Alimentos funcionais**, 2009. Disponível em <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/dicas/220_alimentos_funcionais.html> Acesso em 9 mai. 2015.

CABRAL, L. C.; WANG, S. H.; ARAUJO, F. B.; MAIA, L. H. **Efeito da pressão de homogeneização nas propriedades funcionais do leite de soja em pó**, 1997. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20611997000300018> Acesso em 17 set. 2015.

DONKOR, O. N.; HENRIKSSON, A.; VASILJEVIC, T.; SHAH, N. P. Effect of acidification on the activity of probiotics in yoghurt during cold storage. **International Dairy Journal, Barking**, v. 16, n. 10, p. 1181-1189, 2006.

FAO/WHO Working Group Report on Drafting. **Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food**. London, Ontario, Canada, mai, 2002.

FERNÁNDEZ, L. C. **Desenvolvimento de sorvetes probióticos à base de extrato solúvel de soja**. 2015. 89f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia Industrial na área de concentração de Microbiologia Aplicada) – Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, 2015.

FRANCO, R. C. J. **Obtenção de maionese de iogurte probiótica com fitosteróis**. 2011. 74 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Processos Químicos) – Escola de Engenharia Mauá do Centro Universitário, Instituto Mauá de Tecnologia, São Caetano do Sul, 2011.

Food and Drug Administration. **Guidance for Industry: A Food Labeling Guide**, 2013. Disponível em: <<http://www.fda.gov/food/guidanceregulation/guidancedocumentsregulatoryinformation/labelingnutrition/ucm064919.htm>> Acesso em 02 mai. 2016.

GALLINA, D. A. et al. Caracterização de leites fermentados com e sem adição de probióticos e prebióticos e avaliação da viabilidade de bactérias lácticas e probióticas

durante a vida-de-prateleira. **UNOPAR Cient. Ciênc. Biol. Saúde**. São Paulo, v. 13, n. 4, p. 239-44, 2011.

GOMES, A. M. P.; MALCATA, F. X. Boletim de Biotecnologia. **Agentes probióticos em alimentos: aspectos fisiológicos e terapêuticos, e aplicações tecnológicas**, 1999. Disponível em: <www.spbt.pt/getfile.aspx?tipo=pub&fileid=8> Acesso em 20 mai. 2016.

HASLER, C. M. **Functional Foods: Their Role in Disease Prevention and Health Promotion**, 1999 – Disponível em: <<http://www.nutriwatch.org/04Foods/ff.html>> Acesso em 17 set. 2015.

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

IAL – Instituto Adolfo Lutz (São Paulo). Normas analíticas do instituto Adolfo Lutz. In: _____. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 3 ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 1985. p. 18-21.

_____. Procedimentos e determinações gerais. In: _____. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 1 ed. digital. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. p. 85-160.

JARDIM, F. B. B. **Desenvolvimento de bebida láctea probiótica carbonatada: características físico-químicas, microbiológicas e sensoriais**. 2012. 136f. Tese (Doutorado em Alimentos e Nutrição) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Araraquara, 2012.

KRÜGER, R. et al. Desenvolvimento de uma bebida láctea probiótica utilizando como substratos soro de leite e extrato hidrossolúvel de soja. **Alim. Nutr.**, Araraquara, v. 19, n. 1, p. 43-53, jan./mar. 2008.

MACEDO, L. N. et al. Efeito prebiótico do mel sobre o crescimento e viabilidade de *Bifidobacterium ssp.* e *Lactobacillus ssp.* em leite. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28, n. 4, p. 935-942, out./dez. 2008.

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

NOGUEIRA, J. C. R.; GONÇALVES, M. C. R. Probióticos – Revisão da Literatura. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**, v. 15, n. 4, p. 487-492, 2011.

OLIVEIRA, A. F.; ROMAN, J. A. Alimentos Funcionais. In:_____. **Nutrição para Tecnologia e Engenharia de Alimentos**, Curitiba: CRV, 2013. p. 151-164.

OLIVEIRA, M. E. G. **Queijo de coalho caprino adicionado de bactérias lácticas: elaboração, caracterização e avaliação *in vitro* de potencial probiótico**. 2013. 154f. Tese (Doutorado em Nutrição) – Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2013.

OLIVEIRA, M. N. *et al.* Aspectos tecnológicos de alimentos funcionais contendo probióticos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. v. 38, n. 1, mar. 2002.

PUUPPONEN-PIMIÄ. R. Food Science & Technology. In:_____. **Development of functional ingredients for gut health**, Finland, p. 3-11, 2002.

RESENDE, A. **Probióticos**, 2010. Disponível em <<http://blogdasmicro.blogspot.com.br/2010/04/probioticos.html>>. Acesso em 20 mai. 2016.

ROBERFROID, M. Functional food concept and its application to prebiotics. **Digest Liver Dis**. v. 34, n. 2, p. S105-S110, 2002.

RODRIGUES, R. S. **Caracterização de extratos de soja obtidos de grãos, farinha integral e isolado protéico visando à formulação e avaliação biológica (em coelhos) de bebida funcional à base de extrato de soja e polpa de pêssegos**. Tese (Doutorado em Tecnologia em Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2003.

SAAD, S. M. I. Probióticos e prebióticos: o estado da arte. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**., v. 42, n. 1, p.1-16, mar. 2006.

SANTO, A. P. E. *et al.* Açaí pulp addition improves fatty acid profile and probiotic viability in yoghurt. **International Dairy Journal**, Amsterdam, v. 20. P. 415-422, 2010.

SILVEIRA, T. F. V.; VIANNA, C. M. M.; MOSEGUI, G. B. G. Brazilian legislation for functional. **Revista de Saúde Coletiva**. Rio de Janeiro, v. 19, n. 4, p. 1189-1202, 2009.

SONG, D. *et al.* Probiotics. In: SONG, D.; IBRAHIM, S.; HAYEK, S. **Recent application of probiotics in food and agricultural science**. 1ª ed. Croatia: InTech, 2012. p. 3-36.

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

TAYEB, J.; BOURILLANNE, C.; DESMAZEAUD, M. J. Computerized control of growth with temperature in a mixed culture of lactic acid bacteria. **Journal of Fermentation Technology**, Jooy-en-Josas, v. 62, p. 461-470, 1984.

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 José do Rio Preto, v. 41, n. 3, jul.-set. 2005.

World Gastroenterology Organisation. **Probiotics and prebiotics**, 2011. Disponível em: <<http://www.worldgastroenterology.org/guidelines/global-guidelines/probiotics-and-prebiotics/probiotics-and-prebiotics-english>> Acesso em 20 mai. 2016.