

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
CAMPUS MEDIANEIRA
CURSO DE TECNOLOGIA EM ALIMENTOS**

**JOCIMARA DAHMER
LUIZA SIEBENEICHLER**

ELABORAÇÃO DE BEBIDA FERMENTADA À BASE DE SORO LÁCTEO

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

**MEDIANEIRA – PR
2011**

JOCIMARA DAHMER
LUIZA SIEBENEICHLER

ELABORAÇÃO DE BEBIDA FERMENTADA À BASE DE SORO LÁCTEO

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

Orientador: Prof. M.Sc. William Arthur Philip Louis Naidoo Terroso de Mendonça Brandão.

Co-orientador: Prof^a Dr. Saraspathy N. T. G. de Mendonça.

MEDIANEIRA – PR

2011



Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Diretoria de Graduação e Educação Profissional
Coordenação do Curso Superior de Tecnologia em
Alimentos



TERMO DE APROVAÇÃO

Elaboração de bebida fermentada à base de soro lácteo

Por

Luiza Siebeneichler
Jocimara Dahmer

Este Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) foi apresentado às 9:00 h do dia 16 de junho de 2011 como requisito parcial para a obtenção do título de Tecnólogo no Curso Superior de Tecnologia em Alimentos, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, *Campus* Medianeira. O candidato foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho aprovado.

A folha de aprovação assinada encontra-se na Coordenação do Curso.

“Nem tudo que se enfrenta pode ser modificado,
mas nada pode ser modificado até que seja enfrentado.”

Albert Einstein

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus pelo equilíbrio e força concedida na minha caminhada e pelo tanto que ainda irei.

A minha orgulhosa família por este término de trabalho. Ao meu pai (*in memória*) por não poder presenciar este momento, mas creio que esta me protegendo da onde esta. Ao meu noivo Júnior, pela compreensão e paciência nos dias difíceis de estudo.

As empresas por nos conceder as matérias primas para a realização deste trabalho.

Aos meus amigos e colegas que de alguma forma nos prestigiaram e ajudaram para a construção desse trabalho.

Agradeço ao auxílio de nossos orientadores na elaboração e explanação de ideias. Aos mestres avaliadores (banca) que nos fizeram crescer em nossas futuras profissões.

Jocimara Dahmer

Agradeço a Deus por me amparar nos momentos difíceis, me dar força para superar os desafios e obstáculos encontrados e me mostrar os melhores caminhos.

À minha família, que amo muito, especialmente meus pais e minhas irmãs, pelo carinho, paciência, dedicação e incentivo em todas as decisões mais importantes da minha vida.

Ao meu namorado pelo grande apoio, compreensão, confiança, incentivo e alegria para seguir na minha jornada de estudos.

Aos meus amigos e colegas, pela ajuda, amizade e companheirismo.

Aos professores orientadores, pelo tempo, paciência e dedicação a nós na realização deste trabalho. Aos professores da banca por colaborarem com o meu crescimento.

Luiza Siebeneichler

DAHMER, J.; SIEBENEICHLER, L. **Elaboração de Bebida Fermentada à Base de Soro Lácteo**. 2011. 55 p. Trabalho de conclusão de curso. Tecnologia em Alimentos – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, *Campus Medianeira*.

RESUMO

Atualmente, o mercado consumidor vem demonstrando um aumento no interesse em consumir alimentos que apresentam, além das características básicas, propriedades que promovam o bem-estar e saúde, especificamente na área de laticínios, como é o caso dos leites fermentados probióticos. Este é o um motivo para a realização da pesquisa e do desenvolvimento de um produto diferenciado como a bebida fermentada à base de soro lácteo. Foram realizadas cinco formulações diferentes, variando a percentagem de amido para obter diferentes viscosidades. As diferentes formulações, após o desenvolvimento, foram submetidas às análises microbiológicas de qualidade e a análise sensorial, e durante o período de armazenamento (0, 7, 14, 21 e 28 dias), foram realizadas as análises de pH, acidez e contagem de microrganismos probióticos. As análises microbiológicas de qualidade realizadas foram coliformes totais, coliformes a 45°C e contagem de bolores e leveduras. Para a análise sensorial foram utilizadas a escala hedônica de nove pontos, para verificar a aceitabilidade do produto através dos atributos, onde também foi avaliado o índice de aceitabilidade dos tratamentos, e a escala de atitude para avaliar as atitudes dos consumidores em relação a frequência em que estaria disposto a consumir o produto. O pH e a acidez, durante o tempo de armazenamento, apresentaram variações perceptíveis nos tratamentos 1, 2, 3 e 5 no 14º dia e o tratamento 4 apenas no 21º. Na contagem de microrganismos probióticos todos os tratamentos podem ser considerados um alimento probiótico no início do armazenamento, pois apresentaram concentração maior que 10^6 UFC g⁻¹ e os tratamentos 1, 3 e 5 no 28º dia ainda podem ser considerados probióticos. Em relação às análises microbiológicas de qualidade todos os tratamentos apresentaram dentro do limite permitido pela legislação vigente para leites fermentados (Brasil, 2007). Quanto à aceitabilidade das formulações, apenas o tratamento 3 apresentou em todos os atributos valores igual ou acima de 70% considerando satisfatório, podendo ser bem aceito no mercado consumidor. Sendo assim, este novo produto deve ser aprimorado e pode ser acrescentado no mercado consumidor, pois pode ser considerado um produto inovador de baixo custo.

Palavras-chave: Soro lácteo. Probióticos. Amido modificado.

DAHMER, J.; SIEBENEICHLER, L. **Development of a Fermented Whey-Based Milk Drink**. 2011. 55 p. Trabalho de conclusão de curso. Tecnologia em Alimentos – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, *Campus Medianeira*.

ABSTRACT

Presently, the consumer market has been showing an increasing interest in consuming foods that offer, besides the basic characteristics, properties that promote the well-being and health, specifically in the dairy area, as is the case of probiotic fermented milks. This is one reason for conducting research and development of a differentiated product such as fermented drink whey-based. In this study, five different formulations were made, where each one has varied the percentage of starch for different viscosities. The different formulations, after development, were submitted to microbiological quality and sensory analysis, and during the storage period (0, 7, 14, 21 and 28 days), the pH, acidity and the counting of microorganisms' analysis were performed. The performed microbiological quality analyses were: total coliform, coliform at 45°C and counting of yeasts and molds. For the sensory analysis were used the hedonic scale of nine points, to verify the acceptability of the product with attributes, which also was evaluated for acceptability of treatment, and the attitude scale to evaluate the customers behaviors about the frequency with which would be willing to consume the product. The pH and acidity, during the storage time, presented a perceptible variation in treatments 1, 2, 3 and 5 at the 14th day and only at 21st day in treatment 4. On counts of probiotic microorganisms only treatment 2 cannot be considered a probiotic food until the end of storage time, because presented at the 14th day a concentration less than 10^6 UFC g⁻¹. The other treatments presented concentrations greater than 10^6 UFC g⁻¹ at the 28th day of storage. In relation to the microbiological quality analysis, all treatments had presented inside the allowable limit by the legislation for fermented milks (Brasil, 2007). About the acceptability of the formulations, just the treatment 3 presented, in all attributes, values equal to or above 70% considered satisfactory, and may be well accepted in the market. Thus, this new product must be improved and can be introduced into the consumer market, because it can be considered a low cost innovative product.

Palavras-chave: Lactic whey. Probiotics. Modified starch.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Percentual de consumidores de bebida láctea.....	37
Figura 2 - Percentual da frequência do consumo da bebida láctea.....	37
Figura 3 - Percentual de compra do novo produto	38
Figura 4 - Amostras dos cinco tratamentos	39
Figura 5 - Índice de Aceitabilidade da bebida fermentada à base de soro lácteo	45
Figura 6 - Escala de atitude dos atributos da bebida fermentada à base de soro lácteo.....	46

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Funcionalidades de bactérias probióticas avaliadas na espécie humana	23
Quadro 2 - Fluxograma utilizado para produção da bebida fermentada à base de soro lácteo.....	32

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Espécies reconhecidas como probióticos	22
Tabela 2 - Constituintes do soro de leite em pó	28
Tabela 3 - Perfil dos entrevistados na pesquisa de mercado	36
Tabela 4 - Tempo de fermentação e acidez após a fermentação	38
Tabela 5 - Valores referentes à acidez e pH durante a estocagem dos cinco tratamentos da bebida fermentada.....	40
Tabela 6 - Resultados das análises microbiológicas dos tratamentos da bebida fermentada	41
Tabela 7 - Resultados das Análises de Microrganismos Probióticos dos tratamentos da bebida fermentada.....	42
Tabela 8 - Resultados dos atributos de cor, sabor, aroma, consistência e impressão global, da bebida fermentada à base de soro lácteo.....	44

LISTA DE SIGLAS

AOAC	Association of Official Analytical Chemist
DBO	Demanda Bioquímica de Oxigênio
DVS	DIRECT VAT SET
°D	Graus Dornic
IA	Índice de Aceitabilidade
pH	Ponto Hidrogênionico
S.T.	Extrato Seco Total

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	OBJETIVOS	14
2.1	OBJETIVO GERAL	14
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	14
2.3	JUSTIFICATIVA	14
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
3.1	ALIMENTO FUNCIONAL	15
3.2	LEITES FERMENTADOS	18
3.3	PROBIÓTICOS	20
3.3.1	<i>Bifidobactérias</i>	24
3.3.2	<i>Lactobacilos</i>	26
3.4	SORO LÁCTEO	27
4	MATERIAL E MÉTODOS	30
4.1	MATERIAL	30
4.1.1	Soro de Leite em Pó Parcialmente Desmineralizado	30
4.1.2	Amido de Mandioca Modificado	30
4.1.3	Polpa de Fruta.....	30
4.1.4	Açúcar	31
4.1.5	Culturas Lácticas.....	31
4.1.6	Água Mineral Natural.....	31
4.2	MÉTODOS	31
4.2.1	Pesquisa de Mercado.....	31
4.2.2	Elaboração da Bebida Fermentada.....	32
4.2.3	Análises Físico – Químicas	33
4.2.4	Análises Microbiológicas	34
4.2.5	Contagem de Microrganismos Probióticos.....	34
4.2.6	Análise Sensorial.....	34
4.2.7	Análise Estatística	35
5	RESULTADO E DISCUSSÃO	36
5.1	PESQUISA DE MERCADO.....	36
5.2	FERMENTAÇÃO DAS FORMULAÇÕES.....	38
5.3	ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS.....	40
5.3.1	Evolução dos Parâmetros de Acidez e pH Durante a Estocagem da Bebida Fermentada à Base de Soro Lácteo.....	40
5.4	ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS.....	41

5.5	CONTAGEM DE MICRORGANISMOS PROBIÓTICOS	42
5.6	ANÁLISE SENSORIAL.....	43
5.6.1	Escala Hedônica	43
5.6.2	Índice de Aceitabilidade	45
5.6.3	Escala de Atitude	46
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS	47
	REFERÊNCIAS	48
	ANEXOS	52

1 INTRODUÇÃO

O aumento do nível das exigências do consumidor tem levado a indústria a procurar, cada vez mais, o desenvolvimento de novos produtos, ou de novas tecnologias de produção de produtos já conhecidos, para suprir as necessidades do mercado. O aumento da vida de prateleira dos produtos lácticos, proporcionada pela sofisticação cada vez maior dos processos de fabricação, há a necessidade de se enaltecer o aumento do valor nutritivo e as qualidades terapêuticas dos produtos elaborados (BORZANI et al., 2001).

Os probióticos são alimentos suplementados com microrganismos vivos e que, se consumidos regularmente e em quantidades suficientes, devem produzir efeitos benéficos à saúde, além dos efeitos nutricionais habituais que beneficiam o hospedeiro por meio da melhoria no equilíbrio da microbiota intestinal (SNELLING, 2005). Os mais utilizados são estirpes de bactérias produtoras de ácido láctico como *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*, as quais se utilizadas em leites fermentados e iogurtes os transformam em alimentos funcionais. Estas bactérias aumentam de maneira significativa o valor nutritivo e terapêutico dos alimentos, pelo aumento dos níveis de vitaminas do complexo B e aminoácidos, absorção de cálcio, ferro e magnésio (ROLFE, 2000).

O soro lácteo possui alta demanda bioquímica de oxigênio (DBO), e a contribuição de indústrias para o aumento da poluição hídrica através deste resíduo é significativa, considerando-se o grande número de empresas que lançam esses resíduos sem nenhum tipo de tratamento nos cursos d'água. (MACHADO et al., 2000).

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

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Elaborar uma bebida probiótica fermentada por *Bifidobactéria*, *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus* e *Lactobacillus Acidophilus* à base de soro de leite e amido modificado.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Elaborar uma bebida fermentada por *Bifidobactéria*, *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus* e *Lactobacillus Acidophilus*, a partir de soro de leite e amido modificado e avaliar, durante o armazenamento, a influência destas duas variáveis sobre os parâmetros de acidez, pH e sobrevivência dos microrganismos probióticos em estudo.

Avaliar os aspectos físico-químico, microbiológicos e a aceitabilidade da bebida elaborada.

2.3 JUSTIFICATIVA

Considerando o grande volume de soro de leite atualmente descartado, pensou-se em um reaproveitamento desse descarte através do desenvolvimento de um novo produto funcional.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 ALIMENTO FUNCIONAL

Alimentos funcionais são aqueles que contêm substâncias biologicamente ativas que afetam benéficamente uma ou mais funções do organismo humano, além de garantirem efeitos nutricionais adequados, conduzindo a uma melhoria do estado geral de saúde de seu usuário. Esses alimentos possuem potencial para promover a saúde através de mecanismos não previstos na nutrição convencional, devendo ser salientado que esse efeito restringe-se à promoção da saúde e não à cura de doenças (JARDIM et al., 2009).

O mercado consumidor tem demonstrado um grande interesse por alimentos que apresentem, além das características básicas nutricionais, componentes ou substâncias funcionais, ou seja, alimentos que ajustam ou modulam o sistema fisiológico do organismo humano, com o intuito de prevenir doenças e promover a saúde (MORAES et al., 2006). Esses alimentos já fazem parte de uma nova concepção de alimentos, lançada pelo Japão na década de 80, através de um programa do governo que tinha como objetivo desenvolver alimentos saudáveis para uma população que envelhecia e apresentava uma grande expectativa de vida. Neste programa foram utilizados alimentos similares em aparência aos alimentos convencionais, usados como parte de uma dieta normal, e que demonstraram benefícios fisiológicos e/ou reduziram os riscos de doenças crônicas (BRANDÃO, 2007).

Os alimentos funcionais devem apresentar propriedades benéficas além das nutricionais básicas, sendo apresentados na forma de alimentos comuns. Segundo a Resolução nº 18, de 30 de abril de 1999 do Ministério da Saúde, através da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), o alimento ou ingrediente com propriedades funcionais pode, além de funções nutricionais básicas, produzir efeitos metabólicos, fisiológicos e benéficos à saúde, devendo ser seguro para consumo sem supervisão médica (BRASIL, 1999).

Além das suas funções nutricionais como fonte de energia e de substrato para formação de células e tecidos, os alimentos funcionais possuem em sua

composição uma ou mais substâncias que atuam modulando e ativando os processos metabólicos, melhorando as condições de saúde pelo aumento da afetividade do sistema imunológico, promovendo o bem estar dos consumidores e prevenindo o aparecimento precoce de alterações patológicas e doenças degenerativas, que levam a uma diminuição da longevidade (THAMER et al., 2006).

Os alimentos e ingredientes funcionais podem ser classificados em dois modos: quanto à fonte de origem (vegetal ou animal), e quanto aos benefícios que oferecem ao organismo humano, atuando em seis diferentes áreas (sistema gastrointestinal, sistema cardiovascular, metabolismo de substratos, desenvolvimento celular, comportamento de funções fisiológicas e como antioxidantes) (KOMATSU et al., 2008). Sabendo que a área afetada variará de acordo com a presença de diferentes componentes bioativos, como os probióticos, as fibras, os fitoquímicos, as vitaminas, os minerais, as ervas, os ácidos graxos ômega 3 (ω -3), além de determinados peptídeos e proteínas (MORAES et al., 2006).

Para Brandão (2007) o caráter funcional dos alimentos funcionais pode ser atribuído a uma qualidade inerente à matéria-prima ou a uma característica adicionada através de tecnologias de processamento inovadoras ou a adição de ingredientes promotores da saúde como os probióticos à matriz alimentar, sendo que as indústrias estão se esforçando para ofertar novos produtos com este foco ao mercado consumidor emergente. Alguns principais ingredientes responsáveis por esta funcionalidade são liberados pelas fibras dietéticas, óleos de peixe, esteróis de plantas, minerais, vitaminas, prebióticos e probióticos. A indústria também usa outros ingredientes opcionais, como os substratos de gordura e edulcorantes, dependendo do tipo de produto a ser produzido e do público alvo (THAMER et al., 2006).

Segundo MORAIS et al. (2006), os alimentos funcionais apresentam as seguintes características:

- Devem ser alimentos convencionais e ser consumidos na dieta normal/usual;
- Devem ser compostos por componentes naturais, algumas vezes, em elevada concentração ou presentes em alimentos que normalmente não os supririam;
- Devem ter efeitos positivos além do valor básico nutritivo, que pode aumentar o bem-estar, a saúde e reduzir o risco de

ocorrência de doenças, promovendo benefícios à saúde além de aumentar a qualidade de vida, incluindo os desempenhos físico, psicológico e comportamental;

- A alegação da propriedade funcional deve ter embasamento científico;
- Pode ser um alimento natural ou um alimento do qual um componente tenha sido removido;
- Pode ser um alimento no qual a natureza de um ou mais componentes tenha sido modificada;
- Pode ser um alimento no qual a bioatividade de um ou mais componentes tenha sido modificada.

O avanço tecnológico no setor de produtos alimentícios industrializados, bem como o acesso a novos conhecimentos científicos, têm promovido mudanças nos conceitos de nutrição e no entendimento do papel da dieta sobre a saúde, que tem aumentado o interesse da população pelo consumo de alimentos funcionais, o que proporciona uma melhoria da qualidade da nutrição e reduz os gastos com saúde por meio da prevenção de doenças e da melhoria da qualidade e da expectativa de vida (BRANDÃO, 2007).

São vários os fatores que vêm estimulando o desenvolvimento de novos alimentos funcionais. Dentre eles destacam-se, principalmente, o aumento da expectativa de vida em países desenvolvidos - cuja sua população necessita de cuidados hospitalares por maior período de tempo, o elevado custo dos serviços de saúde e os avanços na tecnologia de alimentos e ingredientes (KOMATSU et al., 2008).

A nova tendência do mercado consumidor são os alimentos funcionais, tais como iogurtes, margarinas, leites fermentados, bebidas lácteas, cereais, águas minerais, entre outros produtos que prometem ajudar na cura ou na prevenção de doenças, como as cardiovasculares, certos tipos de câncer, alergias, problemas intestinais, dentre outras (RAUD, 2008).

No Brasil, já estão presentes no mercado vários alimentos funcionais, como iogurtes com probióticos que melhoram a saúde intestinal, leites enriquecidos com ferro que ajudam na prevenção e tratamento da anemia, leites com vitaminas e com ácido ômega-3 e margarinas enriquecidas com ômega-3 que ajudam no

controle de colesterol. No setor de água mineral, destacam-se algumas bebidas funcionais, como água que contém alta concentração de vitaminas C e do complexo B, a fim de fortalecer o sistema imunológico e água que contém fibra frutooligossacarídeos, que prometem contribuir para a prevenção de câncer de mama e de cólon, reduzir os riscos de doenças cardiovasculares e regular o intestino (CENTENARO, 2009).

3.2 LEITES FERMENTADOS

Não há nenhum dado confirmado sobre a origem dos leites fermentados, mas sabe-se que a descoberta dos microrganismos se deu através da acidificação do leite, que era praticada para conservá-lo e para produção de outras bebidas com sabor distinto e agradável. Frequentes referências aos leites fermentados são encontradas em escritos bíblicos (GABIATTI et al., 2010).

Os primeiros estudos científicos sobre a função probiótica dos leites fermentados começaram no início do século XX, com o trabalho do microbiologista russo Eli Metchnikoff, no Instituto Pasteur. Ele propôs uma teoria sobre o prolongamento da vida baseado no consumo diário de leites fermentados pelos povos dos Bálcãs. Ele acreditava que a atividade metabólica das bactérias ácido-láticas inibiria as bactérias intestinais do mesmo modo que inibem a putrefação dos alimentos (THAMER et al., 2005). Atualmente dados científicos têm ressaltado a contribuição da flora intestinal para a manutenção da saúde humana (JARDIM et al., 2009).

Entende-se por leites fermentados os produtos adicionados ou não de outras substâncias alimentícias, obtidas por coagulação e diminuição do pH do leite, reconstituído, adicionado ou não de outros produtos lácteos, por fermentação láctica mediante ação de cultivos de microrganismos específicos. Esses microrganismos especificados devem ser viáveis, ativos e abundantes no produto final durante seu prazo de validade (BRASIL, 2007).

A fermentação do leite através das culturas lácticas resulta em vários tipos de produtos, todos com características sensoriais modificadas e a vida útil mais extensa do que o leite *in natura*, devido à formação de componentes metabólitos

como ácido láctico, ácido propiônico, diacetil e substâncias antagonísticas que exercem efeitos inibidores das bactérias gram-negativas responsáveis pela deterioração do produto (GABIATTI et al., 2010).

Muitos estudos têm mostrado os benefícios do consumo de leite fermentado contendo microrganismos com características funcionais, como prevenção de infecções intestinais e diarreias, efeitos anticarcinogênicos, redução dos níveis de colesterol, e melhor digestão da lactose, principalmente por pessoas intoleráveis (VIEGAS et al., 2010). Esses benefícios são devidos aos efeitos que são atribuídos aos leites fermentados, como a ação estimulante do ácido láctico sobre as glândulas digestivas e intestinais, o fornecimento de uma flora microbiológica adequada, e também é um produto rico em ácido láctico e em peptonas derivadas da caseína, que torna o produto mais digestível que o leite natural (SOROA Y PINEDA, 1980).

Nos processos de fabricação de leites fermentados, há um controle rigoroso da acidez e quando se atinge um determinado teor de ácido láctico, que depende do tipo do produto, a fermentação é interrompida por resfriamento rápido ou por pasteurização, independentemente da quantidade de substrato remanescente. A fermentação de produtos lácteos geralmente apresenta algumas características que são as fermentações descontínuas; os únicos substratos utilizados pelos microrganismos são a lactose e, em menor grau, citrato e lactato; o produto obtido, com maior durabilidade, tem características organolépticas e físico-químicas distintas da matéria-prima, com diferentes composições e consistência, textura, sabor e aroma; e há produção de diversos componentes e, na maioria dos processos, não são permitidos aditivos na fermentação, com raras exceções (BORZANI et al., 2001).

Até recentemente, o consumo de leites fermentados esteve baseado no iogurte tradicionalmente produzido com fermentos compostos de *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* e *Streptococcus salivarius ssp. thermophilus*. Atualmente o uso de probióticos está aumentando, associado ou não a esses tradicionais, quer como agentes biotecnológicos, ou seja, que melhoram as características do produto tradicional, por reduzir a pós-acidificação do iogurte e leites fermentados, fato evidenciado pela ação de *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium sp*, quer como

agentes terapêuticos, ou seja, microrganismos que promovem efeitos benéficos nos indivíduos que os ingerem (THAMER et al., 2005).

3.3 PROBIÓTICOS

A palavra “probiótico” é um termo derivado da língua grega que significa “para a vida”. Os probióticos eram classicamente definidos como suplementos alimentares que continham microrganismos vivos que afetam benéficamente o animal hospedeiro, promovendo o balanço de sua microbiota intestinal (BADARÓ et al., 2008). Diversas outras definições de probióticos foram publicadas nos últimos anos, entretanto, a definição atualmente aceita é que eles são microrganismos vivos, administrados em quantidades adequadas, que conferem benefícios à saúde do hospedeiro (SAAD, 2006).

Segundo o Regulamento Técnico de Substâncias Bioativas e Probióticos Isolados com Alegação de Propriedades Funcionais e/ou de Saúde, da Resolução RDC nº 2, de janeiro de 2002 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, entende-se por probióticos os microrganismos vivos capazes de melhorar o equilíbrio microbiano intestinal produzindo efeitos benéficos à saúde do indivíduo (BRASIL, 2002).

Os microrganismos que podem ser denominados probióticos são, principalmente, as bactérias lácticas, as quais, que além de atuarem favoravelmente no produto alimentício ao qual foram adicionados para determinados fins, fazem parte dos microrganismos capazes de exercer efeitos benéficos à saúde do hospedeiro. Um microrganismo probiótico deve necessariamente sobreviver às condições adversas do estômago e colonizar o intestino, mesmo que temporariamente, por meio de adesão ao epitélio intestinal (OLIVEIRA et al., 2002).

Para um microrganismo ser considerado probiótico, este deve atender a algumas exigências, como a capacidade das células probióticas, depois de ingeridas, sobreviverem às condições de estresse presentes no trato gastrointestinal, como suco gástrico, presença de sais biliares e enzimas digestivas, mantendo sua viabilidade e atividade metabólica no intestino para exercerem os efeitos benéficos aos hospedeiros (BADARÓ et al., 2008).

São atribuídos aos probióticos três possíveis mecanismos de atuação, sendo o primeiro deles a supressão do número de células viáveis através da produção de compostos com atividade antimicrobiana, a competição por nutrientes e a competição por sítios de adesão. O segundo mecanismo é a alteração do metabolismo microbiano, através do aumento ou da diminuição da atividade enzimática. O terceiro é o estímulo da imunidade do hospedeiro, através do aumento dos níveis de anticorpos e o aumento da atividade dos macrófagos (SAAD, 2006).

Esses microrganismos fermentam a lactose, produzindo ácido láctico, e possuem a capacidade de se manter vivos no produto fermentado e sobreviver à passagem pelo trato gastrointestinal, fixando-se no intestino e trazendo benefícios no balanço da flora microbiana dos consumidores (SILVA, 2007). Assim, as bactérias probióticas são encontradas distribuídas em regiões específicas do trato intestinal, de acordo com as condições de cada região, como disponibilidade de nutrientes, potencial hidrogeniônico, potencial redox e fatores químicos e físicos. Para garantir um efeito contínuo no organismo humano, os probióticos devem ser ingeridos diariamente (BRANDÃO, 2007).

Dentre os microrganismos que são considerados probióticos os mais utilizados são dos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*, pertencentes ao grupo das bactérias ácido lácticas, dentro desses gêneros são 56 espécies reconhecidas como pertencentes ao gênero *Lactobacillus* e 29 espécies são classificadas como *Bifidobacterium* (Tabela 1). Existem outros microrganismos, que não são bactérias, que também podem ser utilizados como probióticos, como é o caso de algumas leveduras, como a espécie *Saccharomyces boulardii* (KOMATSU et al., 2008).

Tabela 1 - Espécies reconhecidas como probióticos

<i>Lactobacillus</i>		<i>Bifidobacterium</i>
<i>L. acetotolerans</i>	<i>L. homohiochii</i>	<i>B. adolescentes</i>
<i>L. acidophilus</i>	<i>L. intestinalis</i>	<i>B. angulatum</i>
<i>L. agilis</i>	<i>L. jensenii</i>	<i>B. animalis</i>
<i>L. alimentarius</i>	<i>L. johnsonii</i>	<i>B. asteroides</i>
<i>L. amylophilus</i>	<i>L. kandleri</i>	<i>B. bifidum</i>
<i>L. amylovorus</i>	<i>L. kefir</i>	<i>B. boum</i>
<i>L. avarius</i>	<i>L. kefiranofaciens</i>	<i>B. breve</i>
<i>L. bif fermentans</i>	<i>L. malefermentans</i>	<i>B. catenulatum</i>
<i>L. brevis</i>	<i>L. mali</i>	<i>B. choerinum</i>
<i>L. buchneri</i>	<i>L. minor</i>	<i>B. coryneforme</i>
<i>L. casei subsp casei</i>	<i>L. murinus</i>	<i>B. cuniculi</i>
<i>L. collinoides</i>	<i>L. oris</i>	<i>B. dentium</i>
<i>L. confusus</i>	<i>L. parabuchneri</i>	<i>B. gallicum</i>
<i>L. coryniformis</i>	<i>L. paracasei</i>	<i>B. gallinarum</i>
<i>L. crispatus</i>	<i>L. pentosus</i>	<i>B. globosum</i>
<i>L. curvatus</i>	<i>L. pontis</i>	<i>B. pseudocatenulatum</i>
<i>L. delbrueckii</i>	<i>L. plantarum</i>	<i>B. indicum</i>
<i>L. farciminis</i>	<i>L. reuteri</i>	<i>B. infantis</i>
<i>L. fermentum</i>	<i>L. rhamnosus</i>	<i>B. lactis</i>
<i>L. fructivorans</i>	<i>L. ruminis</i>	<i>B. longum</i>
<i>L. fructosus</i>	<i>L. sake</i>	<i>B. Magnum</i>
<i>L. gallinarum</i>	<i>L. salivarius</i>	<i>B. merycicum</i>
<i>L. gasseri</i>	<i>L. sanfrancisco</i>	<i>B. minimum</i>
<i>L. graminis</i>	<i>L. sharpeae</i>	<i>B. pseudolongum</i>
<i>L. halotolerans</i>	<i>L. suebicus</i>	<i>B. pullorum</i>
<i>L. hamsteri</i>	<i>L. vaccinofermentans</i>	<i>B. ruminantium</i>
<i>L. helveticus</i>	<i>L. vaginalis</i>	<i>B. saeculare</i>
<i>L. hilgardii</i>	<i>L. viridescens</i>	<i>B. subtile</i>
		<i>B. suis</i>
		<i>B. thermophilum</i>

Fonte: STEFE et al., 2008

Os probióticos são caracterizados em leites fermentados por diminuir o nível residual de lactose e aumentar a disponibilidade de aminoácidos livres, além de certas vitaminas, em comparação com os leites não fermentados. Os leites

fermentados por esses microrganismos contêm maior quantidade do isômero L(+) ácido láctico, que é mais facilmente metabolizado pelos seres humanos, do que D(-) ácido láctico, que é menos metabolizado (BRANDÃO, 2007).

Os principais benefícios à saúde do hospedeiro após a ingestão de probióticos são: o controle da microbiota intestinal, a estabilização da microbiota intestinal após o uso de antibióticos, a promoção da resistência gastrointestinal à colonização por patógenos, a diminuição da população de patógenos através da produção de ácidos acético e láctico, de bacteriocinas e de outros compostos antimicrobianos, a promoção da digestão da lactose em indivíduos intolerantes à lactose, o estímulo do sistema imune, o alívio da constipação, o aumento da absorção de minerais e produção de vitaminas. Inclui-se também dentre os benefícios dos probióticos sobre a microbiota intestinal humana fatores como os efeitos antagônicos e a competição contra microrganismos indesejáveis e os efeitos imunológicos. Dados experimentais indicam que diversos probióticos são capazes de modular algumas características da fisiologia digestiva, como a imunidade da mucosa e a permeabilidade intestinal (SAAD, 2006). Algumas funcionalidades específicas de bactérias probióticas estão destacadas no Quadro 1.

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

Quadro 1 - Funcionalidades de bactérias probióticas avaliadas na espécie humana

Fonte: BRANDÃO, 2007

De acordo com a legislação, a quantidade necessária de células viáveis disponíveis nos leites fermentados e iogurtes, para alimentos probióticos, é de no mínimo 10^7 células viáveis por grama ou mililitro do produto. Por outro lado, a dose terapêutica mínima exigida é de 10^5 células viáveis por grama ou mililitro do produto. Os microrganismos precisam ser viáveis, ativos e abundantes para exercer um efeito positivo na saúde, devendo estar em uma concentração de no mínimo 10^6 UFC g^{-1} no produto ao longo de sua vida de prateleira de forma a proporcionar uma dose diária mínima de 10^{10} UFC g^{-1} de bactérias viáveis (BRANDÃO, 2007).

Os principais microrganismos probióticos utilizados em produtos lácteos são dos gêneros *Bifidobacterium* (*Bifidobacterium adolescentes*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium longum* e *Bifidobacterium lactis*) e *Lactobacillus* (*L. acidophilus*, *L. casei*, *L. paracasei* e *L. rhamnosus*) (CENTENARO, 2009).

Segundo Komatsu, Buriti e Saad (2008), os produtos alimentícios como os laticínios contribuem para a sobrevivência dos probióticos ao suco gástrico, particularmente por seu efeito tamponante e protetor. A indústria de laticínios, em particular, encontrou nas culturas probióticas uma ferramenta para o desenvolvimento de novos produtos. Conseqüentemente, inúmeros laticínios probióticos são disponíveis comercialmente e a variedade desses produtos continua em expansão.

3.3.1 *Bifidobactérias*

Foram estudadas pela primeira vez no final do século XIX por TISSIER, que descreveu como formas alongadas, não produtoras de gás, anaeróbicas com morfologia *Bifid*, presente nas primeiras fezes dos recém-nascidos, então chamadas de *Bacillus bifidus* (BRANDÃO, 2007). Atualmente o gênero *Bifidobacterium* inclui 30 espécies, 10 das quais são de origem humana, 17 de origem animal, duas de águas residuais e uma de leite fermentado. Todas as bifidobactérias de origem humana podem utilizar como fonte de carbono, além da glicose, a galactose, a lactose e usualmente a frutose (STEFÉ et al., 2008).

As *bifidobactérias* são geralmente caracterizadas como bacilos de Gram positivos, imóveis e não esporulados, e são bactérias anaeróbicas estritas, mas a sensibilidade varia entre as cepas em grande proporção (CENTENARO, 2009). O potencial hidrogeniônico (pH) ótimo de crescimento dessa espécie situa-se entre 6 e 7, no qual não se observa crescimento no potencial hidrogeniônico inferior a 4,5 e superior a 8,5. A temperatura ótima de crescimento varia de 37 a 41°C (BRANDÃO, 2007).

Bifidobactérias são habitantes naturais do trato gastrointestinal humano, mas alguns fatores são apontados como capazes de influenciar a população de bifidobactérias no intestino, como dieta, antibióticos e estresse. Para resistir às condições do trato gastrointestinal essas culturas probióticas devem apresentar tolerância à bile e à atividade de hidrólise de sais biliares, além de resistir a condições ácidas e ricas de proteases. Além disso, devem ser capazes de competir com a microbiota normal e resistir aos metabólitos produzidos por membros dessa microbiota, incluindo bacteriocinas, ácidos orgânicos e outros agentes antimicrobianos (BADARÓ et al., 2008).

Essas bactérias do gênero *Bifidobacterium* são utilizadas pelos seus efeitos probióticos e são encontrados em iogurte e em outros derivados fermentados do leite. Produzem no corpo humano “antibióticos naturais”, que regulam a flora intestinal. Isto favorece o funcionamento do intestino, o que se reflete também na beleza da pele. No momento de consumir o produto, a concentração de bifidobactérias deve ser superior a 10^6 UFC g⁻¹ para que se possa sentir seu efeito benéfico (GABIATTI et al., 2010).

O uso das bifidobactérias em fermentações de leite é de modo limitado devido ao lento crescimento, embora o leite seja um meio satisfatório por conter nutrientes essenciais, aminoácidos e pequenos peptídeos, estes estão presentes em quantidades insuficientes para o crescimento de bifidobactérias. O desenvolvimento das bactérias probióticas ocorre lentamente devido a baixa atividade proteolítica no leite, sendo prática comum a adição de bactérias do iogurte para reduzir o tempo de fermentação (CENTENARO, 2009).

As Bifidobactérias são conhecidas por estimularem o sistema imunológico, produzirem vitamina B, inibirem a multiplicação de patógenos, reduzirem a concentração de amônia e colesterol no sangue e ajudarem a

restabelecer a microbiota normal após tratamento com antibióticos (KOMATSU et al., 2008).

3.3.2 *Lactobacilos*

Outro gênero que integra os agentes probióticos é o *Lactobacillus*, que foi isolado a primeira vez por MORO em 1900, pelo isolamento de espécies alongadas anaeróbicas facultativas de fezes de lactentes amamentados ao peito materno, a qual denominou *Bacillus acidophilus*, como sendo um nome genérico para *Lactobacillus intestinais* (GABIATTI et al., 2010). Os *Lactobacilos* são geralmente caracterizados como gram positivos, não formadores de esporos e não flagelados, possuindo forma de cocos. Eles são aerotolerantes ou anaeróbicos e estritamente fermentativos (BRANDÃO, 2007).

Atualmente o gênero *Lactobacillus* conta com 56 espécies reconhecidas, das quais cinco contêm subespécies (*delbrueckii*, *aviarius*, *salivarius*, *coryniformis* e *paracasei*). Dentre essas 56 espécies, 18 delas, estão presentes na microbiota intestinal de humanos e são consideradas de interesse como probióticos (BADARÓ et al., 2008).

Os lactobacilos são distribuídos em vários nichos ecológicos e habitam o trato gastrointestinal e genital, constituindo importante parte da microbiota dos homens e animais superiores. Seu crescimento é afetado por vários fatores ambientais, como pH, tensão de oxigênio, nível de substrato disponível, presença de secreções e interações com outros microrganismos (simbiose). Possuem crescimento otimizado na faixa de temperatura entre 35 a 40°C e o pH varia entre 5,5 a 6,0, tendo como única fonte de energia os carboidratos (BRANDÃO, 2007).

O metabolismo fermentativo das espécies do gênero *Lactobacillus* pode ser classificado como (GABIATTI et al., 2010):

- Homofermentativas obrigatórias: convertem hexoses em ácido láctico, sendo incapazes de utilizar as pentoses;
- Heterofermentativas facultativas: fermentam hexoses em ácido láctico, e no caso de algumas espécies e sob certas circunstâncias, em ácido láctico, acético e fórmico e etanol,

sendo capazes de fermentar pentoses em ácidos láctico e acético;

- Heterofermentativas obrigatórias: utilizam hexoses para obter ácidos láctico e acético, etanol e dióxido de carbono, e pentoses para obter ácidos láctico e acético.

Para que as cepas de lactobacilos sejam consideradas probióticas, as condições básicas incluem o fato de que devem ser substâncias reconhecidas como seguras, tolerantes ao ácido e à bile, aderentes ao epitélio intestinal dos hospedeiros e apresentar atividade antagônica contra bactérias patogênicas (BRANDÃO, 2007).

3.4 SORO LÁCTEO

O soro de leite é um subproduto de indústrias lácteas e na sua composição encontram-se quantidades significativas de excelentes componentes, como a lactose e proteínas de elevado valor biológicos (BRANDÃO, 2007). É um líquido residual de cor amarela, resultante da fabricação de queijos por coagulação da caseína, obtido por adição de ácido (soro ácido) ou de enzima (soro doce). Distingue-se o soro doce, quando o leite é coagulado com renina em pH 6,6, e o soro ácido, quando é subproduto da coagulação ácida do leite (JARDIM et al., 2009).

O soro representa 85 a 95% do volume inicial do leite e contém aproximadamente 55% do total de nutrientes do leite. O soro doce contém aproximadamente 6,4% de extrato seco do leite, isto representa a metade da matéria seca do leite, 4,8% de lactose, 0,73% de proteínas, 0,05% de gordura, 0,5% de minerais, 0,05 % de ácido láctico e densidade de $1,024 \text{ g L}^{-1}$ à 15°C . Para o soro ácido, tem-se 6,5% de extrato seco, 4,9% de lactose, 0,73% de proteínas, 0,04% de gordura, 0,8% de minerais, 0,40% de ácido láctico e densidade de $1,028 \text{ g L}^{-1}$ à 15°C . O soro de leite em pó contém em média de 12 a 14% de proteínas, 60 a 75% de lactose, minerais de 1 a 22% e gordura entre 1,0 a 1,5%. Devido a sua composição, descrita na Tabela 2, este é muitas vezes utilizado para substituir os sólidos do leite (BRANDÃO, 2007).

Tabela 2 - Constituintes do soro de leite em pó

Componente	Soro doce em pó	Soro com teor reduzido de lactose	Soro em pó desmineralizado
Lactose (g)	73	56	80
Proteína (g)	12	23	13
Lipídios (g)	1	2	2
Minerais (g)	8	15	1,2
Umidade (g)	4,5	4,5	3,8
Calorias (Kcal)	384	329	381
Colesterol (mg)	22	57	31
Cálcio (mg)	594	352	80
Ferro (mg)	0,6	-	-
Sódio (mg)	876	2.495	24
Fósforo (g)	810	1.150	180
Potássio (mg)	2.118	4.400	-
Riboflavina(mg)	2,2	-	-
Vitamina A (IU)	64	40	20
Vitamina C (mg)	3	-	-

Fonte: BRANDÃO, 2007

O soro era considerado pelos produtores de queijo como um subproduto da fabricação, com baixo ou nenhum valor comercial. Porém, esta visão mudou com a descoberta de propriedades funcionais e bioativas de seus componentes, principalmente das proteínas, que têm sido apontadas como nutrientes portadores de atividade funcional, capazes de modular algumas respostas fisiológicas do organismo animal (BIASUTTI et al., 2008).

No Brasil, uma das principais opções de aproveitamento do soro de leite é a produção de bebidas lácteas, sendo que as mais comercializadas são as bebidas fermentadas, com características sensoriais semelhantes ao iogurte. Contudo, o aproveitamento desse subproduto atinge apenas 15% do total de soro produzido no país. Considerando a alta demanda de soro produzido, impõe-se a necessidade de maior e melhor aproveitamento do mesmo, sendo que o desperdício do subproduto da fabricação de queijo cabe aos pesquisadores e as indústrias desenvolver e

aplicar medidas evitando o desperdício de um produto de alto valor nutritivo e diminuindo a poluição ambiental (JARDIM et al., 2009).

A fermentação do soro, dependendo dos microrganismos utilizados, pode produzir diversos componentes diferentes, sendo que dentre as substâncias possíveis encontram-se a proteína “single-cell”, o ácido láctico, o álcool etílico, a riboflavina (vitamina B2), metano, lactase, bebidas lácteas fermentadas, entre outros (BRANDÃO, 2007).

As características de iogurte que se pode obter utilizando soro em pó desmineralizado ou concentrado protéico são de um produto de excelente sabor, sendo que a concentração de ácido láctico, acetaldeído e diacetil, que são compostos associados ao *flavor* característico do iogurte, são iguais ou mais altas em amostras de iogurte no qual se utilizou concentrado protéico de soro para substituir parcialmente os sólidos de leite desnatado (BRANDÃO, 2007).

Suas aplicações industriais são diversas, como ingrediente na produção de alimentos ou indústria farmacêutica e nutracêutica (panificação, sorvetes, misturas lácteas ou leites modificados, chocolates, suplementos esportivos e nutricionais, fórmulas infantis e outros), sendo também aplicado na indústria de nutrição animal e principalmente no gado de leite (VALDUGA et al., 2006).

Quanto à poluição ambiental causada pelo desperdício de soro, aproximadamente metade da produção mundial de soro é descartada em efluentes sem qualquer tratamento. Desta forma, devido a sua alta demanda bioquímica de oxigênio (DBO), associada, principalmente, à presença de lactose e proteínas, constitui-se num forte agente de poluição ambiental (BIASUTTI et al., 2008). O alto teor de DBO é entre 30.000 a 60.000 mg de O₂/L, dependendo do processo utilizado na elaboração do queijo. Em média, cada tonelada de soro não tratado despejado por dia no sistema de tratamento de esgoto equivale à poluição diária de cerca de 470 pessoas (ANDRADE et al., 2002).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 MATERIAL

4.1.1 Soro de Leite em Pó Parcialmente Desmineralizado

O soro de leite em pó parcialmente desmineralizado proveniente da coagulação ácida utilizado, foi fornecido pela Empresa Concentrado Indústria de Produtos Lácteos Ltda - Sooro® de Marechal Cândido Rondon - Paraná. O certificado de análise do soro de leite (Anexo A) demonstra as análises físico-químicas e microbiológicas realizadas no produto conforme a legislação vigente.

4.1.2 Amido de Mandioca Modificado

Utilizou-se SuperCorp® 75, um amido de mandioca quimicamente modificado de grau alimentício, fornecido pela Empresa Agrícola Horizonte® localizada em Marechal Cândido Rondon - Paraná.

O amido SuperCorp® 75 é neutro e sua cor é extremamente clara, diferente de outros amidos de cereais, por isso possibilita a aplicação em produtos delicados sem despreendimento de aromas não desejáveis, utilizado em bebidas lácteas, iogurtes, atomatados, ketchup/mostarda e requeijão.

4.1.3 Polpa de Fruta

A polpa de fruta utilizada, sabor salada de fruta, foi fornecida pela Empresa Frimesa® de Matelândia - Paraná.

4.1.4 Açúcar

Utilizou-se açúcar refinado da marca Alto Alegre®, adquirido no comércio local de Medianeira - Paraná.

4.1.5 Culturas Lácticas

O fermento tipo DVS (DIRECT VAT SET), contendo estirpes selecionadas de *Bifidobactéria*, *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus* e *Lactobacillus Acidophilus*, foi adquirido da Empresa SACCO DO BRASIL®.

4.1.6 Água Mineral Natural

Foi utilizada água mineral natural da marca Vittalev®, adquirida no comércio local em Medianeira – Paraná.

4.2 MÉTODOS

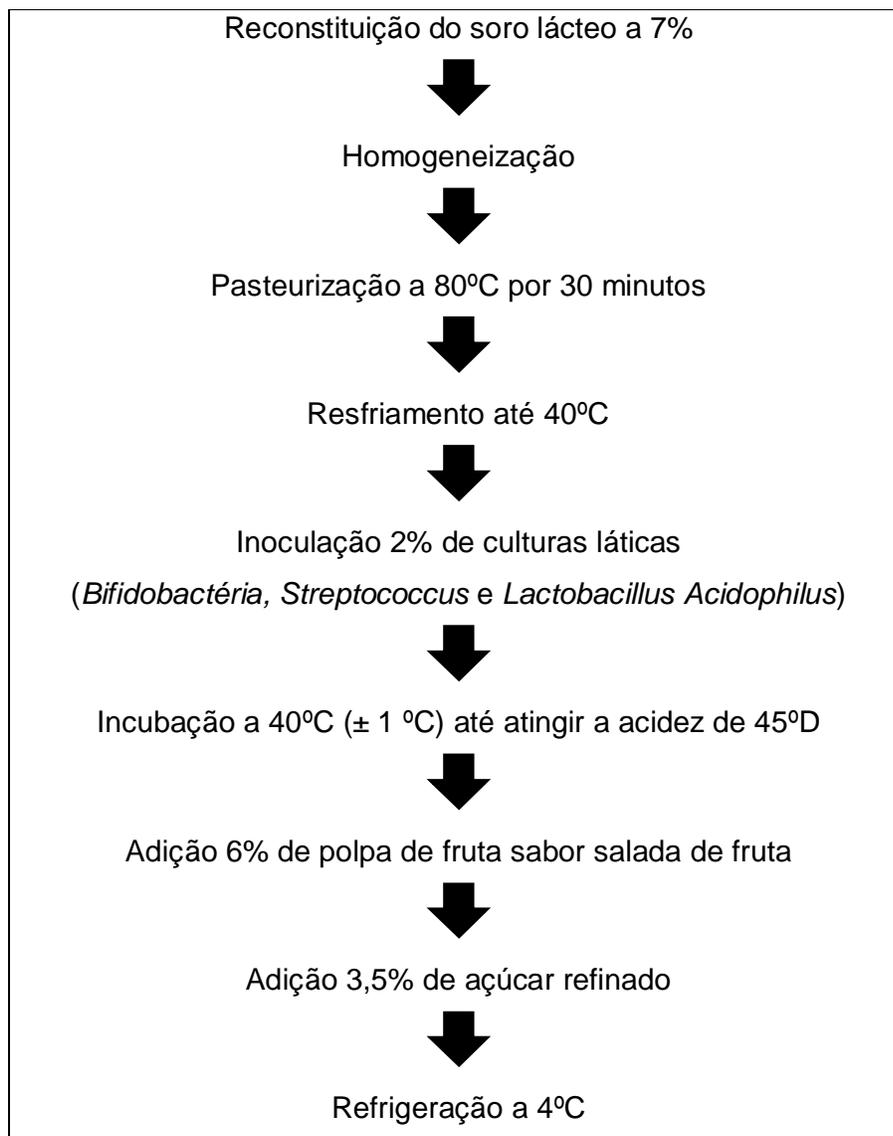
4.2.1 Pesquisa de Mercado

Para avaliar o consumo de bebida láctea, o nível de conhecimento sobre probióticos e a possibilidade da inserção de um novo produto lácteo, foi realizada uma pesquisa de mercado juntamente com a análise sensorial no Laboratório da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Campus Medianeira, que abrangeu um total de 120 pessoas, constituído por funcionários e alunos da Universidade.

O questionário foi composto por cinco perguntas de múltiplas escolhas (Anexo B). A avaliação das questões foi realizada através da somatória das respostas e estas foram expressas em gráfico, utilizando o programa Microsoft Excel 2010.

4.2.2 Elaboração da Bebida Fermentada

A elaboração da bebida fermentada à base de soro lácteo seguiu o fluxograma demonstrado no Quadro 2.



Quadro 2 - Fluxograma utilizado para produção da bebida fermentada à base de soro lácteo

Todo o processo de produção das bebidas fermentadas foi realizado no laboratório de Laticínios da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Campus Medianeira – Paraná.

Para iniciar o processo de produção da bebida fermentada, procedeu-se a limpeza e sanitização dos materiais e utensílios que foram utilizados através da sanitização com detergente líquido e enxágue com água corrente.

Para o estudo, foram delineados cinco tratamentos, sendo que em todas as formulações os ingredientes utilizados foram: soro lácteo (7% de sólidos totais), água mineral, polpa de fruta sabor salada de fruta (6%) e açúcar (3,5%). A diferença entre as formulações foi apenas a adição de amido modificado em diferentes concentrações, conforme demonstrado abaixo:

- Tratamento 1: Soro lácteo a 7% extrato seco total (S.T.), sem a adição de amido modificado, sendo a amostra padrão;
- Tratamento 2: Soro lácteo a 7% S.T., com adição de 1% de amido modificado;
- Tratamento 3: Soro lácteo a 7% S.T., com adição de 2% de amido modificado;
- Tratamento 4: Soro lácteo a 7% S.T., com adição de 3% de amido modificado;
- Tratamento 5: Soro lácteo a 7% S.T., com adição de 4% de amido modificado.

4.2.3 Análises Físico – Químicas

Para a caracterização da bebida fermentada à base de soro lácteo foram realizadas as análises de acidez e pH. As análises de acidez foram realizadas pelo método titulométrico expresso em °Dornic, e o pH pelo método potenciométrico, seguindo os métodos de acordo com o Instituto Adolfo Lutz (1985). Essas análises foram realizadas em duplicata durante o período de armazenamento (0, 7, 14, 21 e 28 dias), e nos laboratórios da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Campus Medianeira – Paraná.

4.2.4 Análises Microbiológicas

Segundo os Padrões de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados da Instrução Normativa nº 46, de 23 de Outubro de 2007 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, para as análises microbiológicas de qualidade na bebida fermentada foram realizadas as seguintes análises: contagem de coliformes totais, coliformes a 45°C e contagem de bolores e leveduras. As análises foram realizadas no Laboratório de Microbiologia da Frimesa® Cooperativa Central - Unidade Frigorífica de Medianeira. As metodologias utilizadas foram para coliformes totais AOAC 991.14 – Petrifilm; coliformes a 45°C AFNOR (3M-01/2-09/89/C) e para bolores e levedura IN MA nº62/03.

4.2.5 Contagem de Microrganismos Probióticos

Para a contagem de microrganismos probióticos, com o objetivo de verificar a viabilidade dos microrganismos probióticos da bebida fermentada à base de soro lácteo, foram realizadas análises em triplicata no Laboratório de Análises Microbiológicas e Físico-Químicas de Alimentos e Água – Lamag, utilizando o Lactobacillus MRS Agar da marca Himedia, segundo a metodologia da Instrução Normativa nº 62, de 26 de Agosto de 2003, durante o período de armazenamento da bebida (0, 7, 14, 21 e 28 dias).

4.2.6 Análise Sensorial

A avaliação sensorial foi realizada após os testes físico-químicos e microbiológicos a fim de garantir a segurança dos julgadores, no Laboratório de Análise Sensorial da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Campus Medianeira – Paraná, nos períodos da tarde e noite. As amostras foram avaliadas sensorialmente através de uma ficha de análise sensorial (Anexo C), avaliando os atributos sabor, aroma, cor, consistência e impressão global, utilizando Escala Hedônica de nove pontos, seguindo-se uma escala de categorias, sendo 9 = gostei

muitíssimo e 1 = desgostei muitíssimo, registrando o quanto os provadores gostaram ou desgostaram de cada tratamento, conforme metodologia proposta por Ferreira (2000). As amostras também foram avaliadas utilizando a Escala de Atitude que segundo Minim (2006), mede o grau de aceitação do produto com base em atitudes do consumidor em relação à frequência em que estaria disposto a consumir o produto em determinado período, classificada em nove categorias, que vai de 9 = Eu beberia isto, em cada oportunidade que tivesse e 1 = Eu beberia isto, se fosse forçado.

As amostras foram fornecidas em copos plásticos descartáveis, mantidas a temperatura de refrigeração (5°C), codificadas com três dígitos aleatórios, em cabines individuais sob luz branca, sendo recomendado à ingestão de água destilada entre cada amostra para que não interferisse na avaliação da amostra seguinte.

4.2.7 Análise Estatística

O tratamento estatístico dos dados foi efetuado através da análise de variância - ANOVA (BARBETTA, 2002), para observar a significância dos resultados no nível de 5% de probabilidade, bem como a determinação das médias e o Índice de Aceitabilidade, e escala de atitude das amostras, segundo Dutcoski (2007).

5 RESULTADO E DISCUSSÃO

5.1 PESQUISA DE MERCADO

A utilização da pesquisa de mercado pode auxiliar na tarefa de desenvolver novos produtos, servindo como um mecanismo de captação das necessidades dos consumidores, monitoramento de seus hábitos e atitudes e de avaliação de conceitos, protótipos e produtos. Uma pesquisa de mercado é a coleta de informações junto ao consumidor, concorrente ou fornecedor para orientar a tomada de decisões ou solucionar problemas de empresários e empreendedores (CORBARI et al., 2010).

O perfil dos 120 alunos e funcionários da UTFPR campus Medianeira entrevistados encontram-se descritos na Tabela 3.

Tabela 3 - Perfil dos entrevistados na pesquisa de mercado

Perfil Demográfico	Percentagem (%)
Sexo	Feminino – 64%
	Masculino – 36%
Idade	15 a 25 anos – 68%
	26 a 35 anos – 14%
	Acima de 35 anos – 18%

Analisando a Figura 1, é possível verificar o consumo de bebida láctea pelos entrevistados e, comparando a mesma com os resultados da pesquisa realizada por Centenaro (2009) que obteve apenas 72% dos entrevistados como consumidores de bebida láctea, podemos considerar que o consumo deste produto no presente estudo aumentou 21% desde Dezembro de 2009, tornando a ideia de repetir tal estudo de caso interessante, para podermos afirmar se realmente o

consumo atual de bebida láctea é maior, como foi apresentado neste estudo com 120 entrevistados.

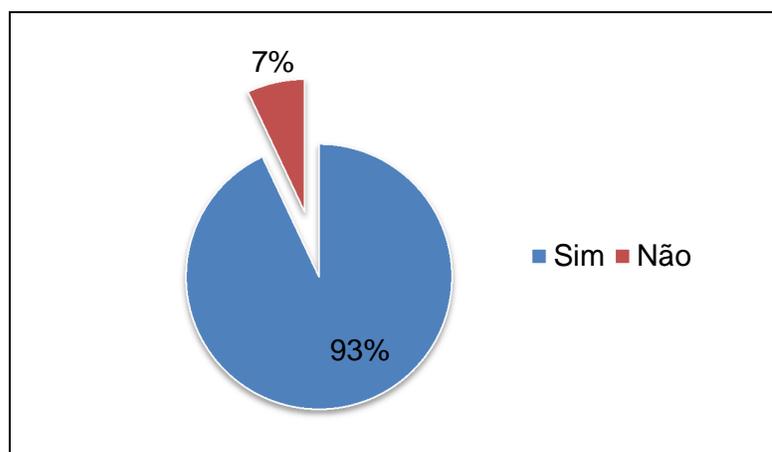


Figura 1 - Percentual de consumidores de bebida láctea

Em relação à frequência do consumo de bebida láctea, podemos observar os resultados da pesquisa na Figura 2, que comparado com a pesquisa realizada por Gabiatti e Corti (2010) avaliando a frequência do consumo de iogurte, que constatou que 44% dos entrevistados consumiam iogurte uma vez por semana. Estes valores estão de acordo com os resultados encontrados nesta pesquisa.

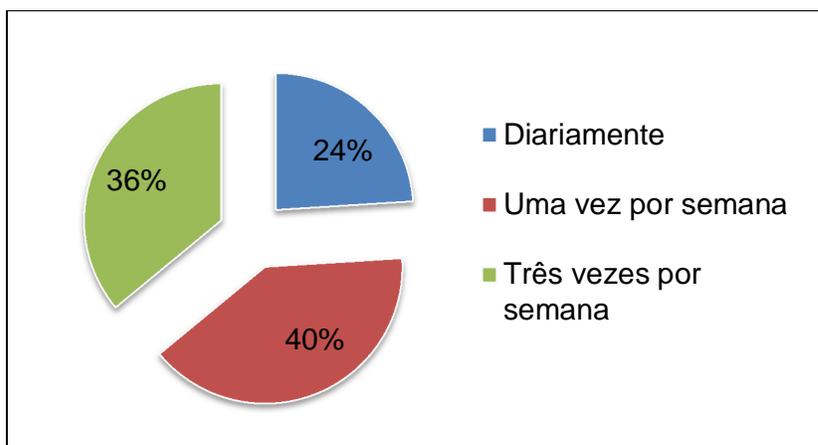


Figura 2 - Percentual da frequência do consumo da bebida láctea

Quando questionados sobre o conhecimento do soro lácteo, 53% dos entrevistados responderam que conhecem este produto e 47% não conhecem. Quanto ao conhecimento de produto probiótico e suas funções, 51% afirmaram que conhecem e 49% que não conhecem.

Referente ao novo produto, os entrevistados foram questionados se comprariam uma bebida láctea probiótica sabor salada de fruta. Os resultados estão descritos na Figura 3.

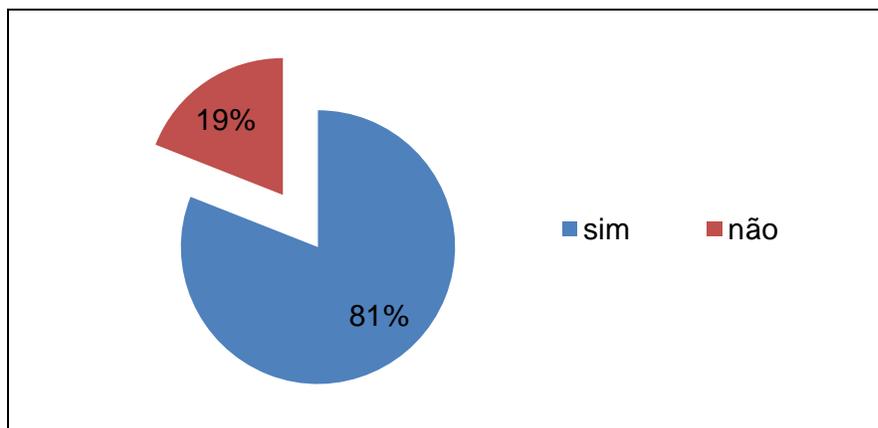


Figura 3 - Percentual de compra do novo produto

5.2 FERMENTAÇÃO DAS FORMULAÇÕES

A tabela abaixo (Tabela 4) apresenta o tempo de fermentação e a acidez obtida em cada tratamento da bebida fermentada à base de soro lácteo.

Tabela 4 - Tempo de fermentação e acidez após a fermentação

Tratamentos	Tempo Fermentação	Acidez (°D)
T 1 ¹	8 horas	47°D
T 2 ²	8 horas	46,2°D
T 3 ³	5 horas	43,3°D
T 4 ⁴	4 horas	47°D
T 5 ⁵	3 horas e 30 minutos	45°D

¹ Tratamento 1: Tratamento sem adição de amido modificado; ² Tratamento 2: Tratamento com adição de 1% de amido modificado; ³ Tratamento 3: Tratamento com adição de 2% de amido modificado; ⁴ Tratamento 4: Tratamento com adição de 3% de amido modificado; ⁵ Tratamento 5: Tratamento com adição de 4% de amido modificado.

Pode-se observar que o tempo de fermentação apresentou diferença significativa entre os tratamentos, sendo que o tratamento 1 atingiu 47° D de acidez após 8 horas, enquanto o tratamento 5 atingiu 45°D em apenas 3 horas e 30 minutos de fermentação. Possivelmente o tempo de fermentação pode ter sido influenciado pela adição de carboidratos disponíveis na bebida.

Considerando que para produtos à base de soro lácteo não há nenhuma legislação vigente, foram utilizados para tal a legislação atual de leites fermentados - Instrução Normativa nº 46, de 23 de Outubro de 2007, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento para leites fermentados, onde a mesma afirma que a acidez pode variar de 0,6 a 2,0 g de ácido láctico/100 g. Neste estudo, a acidez alcançada nos 5 tratamentos da bebida fermentada à base de soro lácteo estava abaixo do limite determinado pela legislação para leites fermentados.

A Figura 4 demonstra as cinco formulações da bebida fermentada à base de soro lácteo, sendo identificados como 0% (tratamento 1 – sem a adição de amido); 1% (tratamento 2 – adição de 1% de amido); 2% (tratamento 3 – adição 2% de amido); 3% (tratamento 4 – adição de 3% de amido) e 4% (tratamento 5 – adição de 4% de amido).

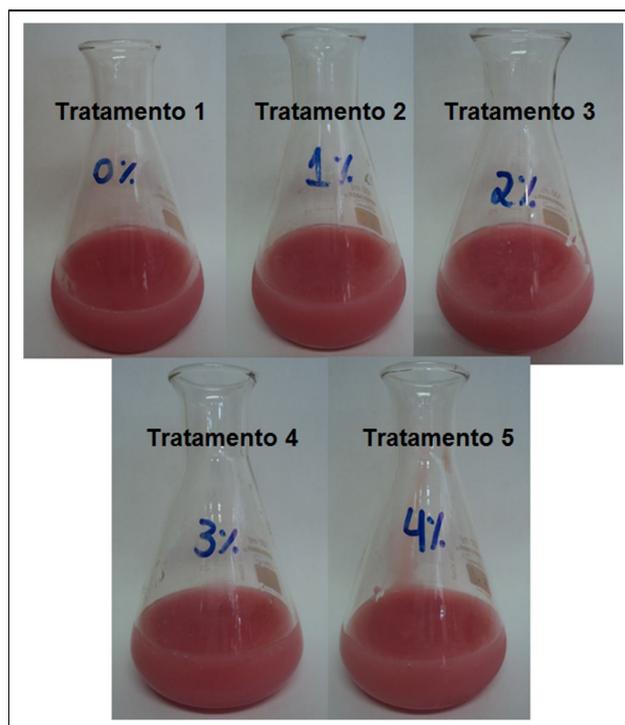


Figura 4 - Amostras dos cinco tratamentos

5.3 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

5.3.1 Evolução dos Parâmetros de Acidez e pH Durante a Estocagem da Bebida Fermentada à Base de Soro Lácteo

A evolução dos parâmetros de acidez e pH dos cinco tratamentos durante o período de armazenamento a 4°C estão contidos na Tabela 5.

Tabela 5 - Valores referentes à acidez e pH durante a estocagem dos cinco tratamentos da bebida fermentada

Tratamentos		Tempo (Dias)				
		Início	7	14	21	28
T 1	Acidez (°D)	47	45	48	52	50
	pH	4,2	4,17	4,06	3,99	4,04
T 2	Acidez (°D)	46,2	46	48	52	55
	pH	4,31	4,14	4,09	4,05	4,02
T 3	Acidez (°D)	43,3	46	47	51,5	54
	pH	4,33	4,21	4,12	4,01	4,03
T 4	Acidez (°D)	47	65	65	55	47
	pH	4,31	4,26	4,22	4,03	4,07
T 5	Acidez (°D)	45	55	42,5	65	82,5
	pH	4,32	4,23	4,16	4,07	4,08

Observou-se que no período de armazenamento, os valores de pH para a maioria dos tratamentos apresentaram-se em declínio e abaixo de 4,5. Segundo BRANDÃO (2007), que elaborou uma bebida fermentada simbiótica de soro lácteo, estes valores são desejáveis para a prevenção do crescimento de contaminantes patogênicos e também do ponto de vista sensorial, pois garante ao produto final um sabor suave.

Os valores de pH obtidos neste estudo, no início da estocagem, se assemelham aos resultados da formulação da bebida fermentada simbiótica de soro lácteo desenvolvido por Brandão (2007), os valores de acidez do referido estudo tenham sido mais baixos, provavelmente devido à utilização de inulina, o que pode ter contribuído para uma melhor fermentação, aumentando a acidez da bebida.

* Segundo a Instrução Normativa nº 46, de 23 de Outubro de 2007 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

Os resultados das análises dos tratamentos das bebidas fermentadas à base de soro lácteo apresentado na Tabela 6, demonstram que o produto segue os limites preconizados para a qualidade microbiológica de leites fermentados, segundo a Instrução Normativa nº 46, de 23 de Outubro de 2007 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Observou-se presença de bolores e leveduras em todos os tratamentos, e nos tratamentos 4 e 5 houve presença de coliformes totais, porém as contagens ficaram a baixo dos padrões máximos aceitáveis estabelecidos pela legislação vigente, assegurando a segurança microbiológica do consumo pelos julgadores durante a análise sensorial.

5.5 CONTAGEM DE MICRORGANISMOS PROBIÓTICOS

Os resultados da contagem de microrganismos probióticos, estão descritos na Tabela 7.

Tabela 7 - Resultados das Análises de Microrganismos Probióticos dos tratamentos da bebida fermentada

Tratamentos	Tempo (Dias)				
	T 1	T 2	T 3	T 4	T 5
Início	7×10^7	14×10^7	5×10^7	452×10^7	349×10^7
7	311×10^7	334×10^7	249×10^7	96×10^7	90×10^7
14	11×10^7	1×10^5	10×10^7	2×10^7	74×10^7
21	3×10^7	-	1×10^7	1×10^7	8×10^7
28	6×10^6	-	4×10^6	4×10^5	6×10^7

Para o alimento exercer um efeito positivo sobre a saúde, ou seja, ser probióticos, os microrganismos precisam ser viáveis, ativos e abundantes na concentração de no mínimo 10^6 UFC g^{-1} no produto ao longo da vida de prateleira (BRANDÃO, 2007). Considerando os resultados os tratamentos 1, 3 e 5 estes podem ser considerados como um alimento probiótico, pois apresentaram 6×10^6 , 4×10^6 e 6×10^7 UFC mL^{-1} , respectivamente no 28° dia.

A presença desses microrganismos em produtos lácteos fermentados, possivelmente foi alterada devido há vários fatores, tais como a linhagem utilizada, interação entre as espécies de bactérias utilizadas, condições da cultura, composição química do meio, acidez final, conteúdo de sólidos na matéria-prima, disponibilidade de nutrientes, promotores e inibidores do crescimento, concentração de açúcar, oxigênio dissolvido, quantidade inoculada, temperatura de incubação, tempo e temperatura de estocagem (SILVA, 2007).

Outros estudos já foram realizados, que apresentaram contagens semelhantes, como o estudo realizado por Zacarchenco e Massaguer-Roig (2004) que formularam uma bebida láctea sabor pêssego utilizando substratos alternativos e cultura probiótica, utilizando como bactérias *S. thermophilus*, *L. delbrueckii*, *subsp. bulgaricus*, *L. acidophilus* e *Bifidobacterium*, e foram obtidas as contagens de $2,5 \times 10^7$ UFC mL^{-1} no início do armazenamento e 1×10^6 UFC mL^{-1} no 21° dia de armazenamento.

Segundo Thamer e Penna (2005) que realizaram um estudo variando a concentração de soro, açúcar e frutooligossacarídeos sobre a população de bactérias lácticas probióticas em bebidas fermentadas, obtiveram as contagens de células viáveis na ordem de 10^{12} UFC mL^{-1} , o que contribuiu para obter essa contagem foi a utilização de estabilizante no desenvolvimento desta bebida.

5.6 ANÁLISE SENSORIAL

5.6.1 Escala Hedônica

Os resultados do teste de análise sensorial mediante a utilização da escala hedônica de nove pontos estão representados na Tabela 8.

Tabela 8 - Resultados dos atributos de cor, sabor, aroma, consistência e impressão global, da bebida fermentada à base de soro lácteo

	AROMA (%)	COR (%)	SABOR (%)	CONSISTÊNCIA (%)	IMPRESSÃO GLOBAL (%)
T 1	6,38 ± 1,71 ^a	6,56 ± 1,83 ^a	5,63 ± 2,11 ^a	4,87 ± 2,23 ^a	5,67 ± 1,88 ^a
T 2	6,55 ± 1,71 ^a	6,85 ± 1,75 ^a	6,71 ± 1,89 ^{bd}	6,19 ± 1,96 ^{be}	6,38 ± 1,72 ^b
T 3	6,79 ± 1,49 ^a	6,84 ± 1,60 ^a	6,33 ± 1,89 ^c	6,32 ± 2,08 ^c	6,56 ± 1,73 ^{ce}
T 4	6,71 ± 1,66 ^a	6,71 ± 1,76 ^a	6,01 ± 1,93 ^{ae}	5,34 ± 2,29 ^{af}	6,08 ± 1,76 ^{af}
T 5	6,86 ± 1,61 ^b	6,96 ± 1,64 ^b	6,03 ± 2,01 ^{af}	6,25 ± 1,94 ^d	6,24 ± 1,72 ^d
DMS	0,42	0,31	0,46	0,50	0,42

* Média de 120 julgamentos. Escala Hedônica: (9) gostei muitíssimo; (8) gostei muito; (7) gostei regularmente; (6) gostei ligeiramente; (5) nem gostei e nem desgostei; (4) desgostei ligeiramente (3) desgostei regularmente; (2) desgostei muito; (1) desgostei muitíssimo.

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

^{a,b,c,d,e,f} Marcas (média ± desvio-padrão) seguidas da mesma letra (mesma coluna) não diferem entre si.

Através do tratamento estatístico dos dados, mediante a aplicação da análise de variância - ANOVA (BARBETTA, 2002), observou-se que ao nível de 5% de probabilidade, houve diferença significativa entre as amostras para os atributos aroma, cor, sabor, consistência e avaliação global.

Observou-se através do Teste de Tukey, que para o atributo aroma houve diferença entre o Tratamento 1 e Tratamento 5, pois o valor da diferença entre as suas medias se encontram acima do valor do DMS. Para o atributo cor, notou-se que houve diferença entre os Tratamentos 1 e 5. Para o atributo sabor, o Tratamento 1 diferiu dos Tratamentos 2 e 3, e o Tratamento 2 diferiu dos Tratamentos 4 e 5. Considerando-se o atributo de consistência, o Tratamento 1 diferiu dos Tratamentos 2, 3 e 5, e os Tratamentos 2 e 4 diferiram entre si. Para o atributo avaliação global observou-se que houve diferença entre os Tratamentos 1 e 2, 3, e 5 e que os Tratamentos 3 e 4 diferiram entre si.

Analisando-se a escala de categorias utilizada, observou-se que o Tratamento 5 aproximou-se de gostei regularmente para os atributos aroma, cor,

consistência e que o Tratamento 2 aproximou-se de gostei regularmente para o atributo de sabor. O Tratamento 3 para o atributo de avaliação global, aproximou-se da categoria gostei regularmente. Salienta-se o fato de que o Tratamento 1 para o atributo de consistência aproximou-se da categoria nem gostei nem desgostei, o que denota que devera ser aprimorado.

5.6.2 Índice de Aceitabilidade

Os resultados referentes ao Índice de Aceitabilidade (IA) das amostras da bebida fermentada à base de soro lácteo estão apresentados na Figura 5.

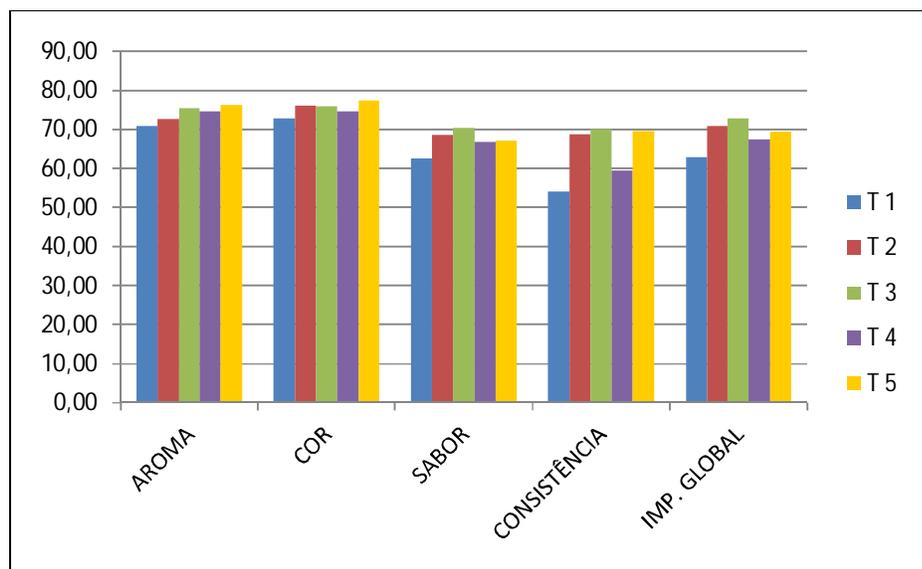


Figura 5 - Índice de Aceitabilidade da bebida fermentada à base de soro lácteo

Observou-se que os resultados do Índice de Aceitabilidade do tratamento 3, em todos os atributos, apresentaram-se igual ou acima de 70% considerando satisfatório, podendo ser bem aceito no mercado consumidor segundo Teixeira, Meinert e Barbeta (1987).

Em relação ao atributo impressão global, apenas as amostras dos tratamentos 2 e 3, apresentaram aceitabilidade maior que 70%, devido a falta de doçura conforme descritos pelos provadores nas fichas da análise sensorial. Em relação ao atributo consistência os provadores relataram que o tratamento 1 (sem

adição de amido) que obteve apenas 54,07% de aceitabilidade, apresentava-se muito líquido comparado a um leite fermentado, causado pela falta do amido modificado.

Os atributos sabor e consistência apresentaram-se abaixo ou igual a 70%, o que indica que as formulações devem ser aprimoradas nestes quesitos, o que poderá ser efetuado aumentando a quantidade de açúcar adicionado na bebida fermentada.

5.6.3 Escala de Atitude

Na Figura 6 está representada a escala de atitude dos atributos das 5 formulações elaboradas.

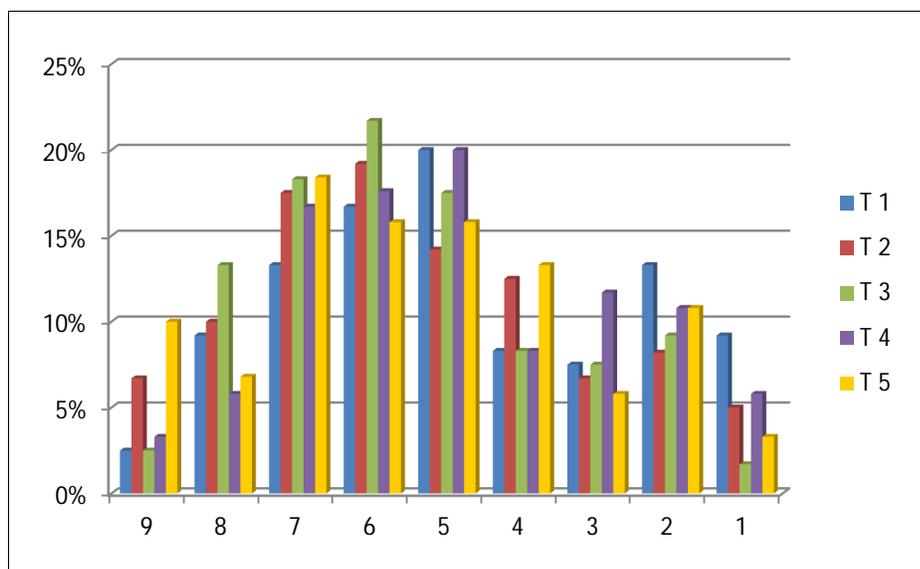


Figura 6 - Escala de atitude dos atributos da bebida fermentada à base de soro lácteo

A partir da escala de atitude (Figura 6) podemos perceber que o tratamento 5 (10%) foi o que obteve maior avaliação na escala que “eu beberia isto, em cada oportunidade que tivesse”, sendo que os tratamentos 1 e 2 obtiveram as menores avaliações nesta escala com apenas 2,5% cada tratamento. Em relação à escala que “eu beberia isto, se fosse forçado” a maior avaliação foi do tratamento 1 com 9,2% e a menor avaliação foi do tratamento 3 com apenas 1,7%.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Através dos resultados obtidos nas análises realizadas nos cinco tratamentos, verificou-se que é possível desenvolver um produto a partir do soro lácteo com adição de amido modificado com poder funcional probiótico.

Considerando o tempo de fermentação, a variável amido pode ter influenciado no tempo de fermentação, ou seja, quanto maior a adição de amido, mais rápido o produto alcançou um pH/acidez adequado para fermentação do produto.

Todos os tratamentos foram considerados alimentos funcionais probióticos no tempo inicial de armazenamento, e no tempo de 28 dias de armazenamento apenas três tratamentos permaneceram com uma concentração de microrganismos probióticos necessária para proporcionar o bem-estar e saúde ao consumidor.

Na avaliação dos consumidores o tratamento 3 apresentou um índice de aceitabilidade maior que 70% em todos os atributos avaliados na análise sensorial, portanto, se for lançado no mercado, este pode vir se tornar um alimento bem aceito pelos consumidores.

REFERÊNCIAS

ANDRADE, R. L. P. de; MARTINS, J. F. P. **Influência da Adição da Fécula de Batata-Doce (*Ipomoea batatas* L.) sobre a Viscosidade do Permeado de Soro de Queijo**. Ciência e Tecnologia de Alimentos. Campinas. V. 22. N.3. Set./Dez. 2002.

BADARÓ, A. C. L.; GUTTIERRES, A. P. M.; REZENDE; A. C. V.; STRINGHETA, P. C.; **Alimentos Probióticos: Aplicações Como Promotores da Saúde Humana – Parte 1**. Revista Digital de Nutrição Nutrir Gerais – Ipatinga: Unileste - MG. V. 2, N. 3. Ago./Dez. 2008

BARBETTA, P.A. **Estatística Aplicada às Ciências Sociais**. Florianópolis: Ed. UFSC, 5ª edição, 2002.

BIASUTTI, E. A. R.; AFONSO, W. de O.; JUNIOR, C. de O. L.; COELHO, J. V.; SILVA, V.D.M.; SILVESTRE, M. P. C. **Ação da pancreatina na obtenção de hidrolisados protéicos de soro de leite com elevado teor de oligopeptídeos**. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas. São Paulo. V. 44 N. 1. Jan./Mar. 2008.

BORZANI, Walter et al. **Biotecnologia industrial**. São Paulo, SP: E. Blücher, 2001. 4 v.

BRANDÃO, W. A. P. L. N. T. de M. **Elaboração de Bebida Fermentada Simbiótica de Soro Lácteo**. Dissertação. Florianópolis – Santa Catarina. Nov. 2007.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Resolução nº 18, de 30 de abril de 1999. Dispõe sobre Diretrizes Básicas para Análise e Comprovação de Propriedades Funcionais e ou de Saúde Alegadas em Rotulagem de Alimentos**. Disponível em < http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/18_99.htm >. Acesso em março de 2011.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Resolução RDC nº 2, de 7 de janeiro de 2002. Dispõe sobre Regulamento Técnico de Substâncias Bioativas e Probióticos Isolados com Alegação de Propriedades Funcional e ou de Saúde**. Disponível em < http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/2002/02_02rdc.htm >. Acesso em Março de 2011.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). **Instrução Normativa nº 62, de 26 de Agosto de 2003**. Dispõe sobre Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. Disponível em < <http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis->

consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=2851 >. Acesso em Março de 2011.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). **Instrução Normativa nº 46, de 23 de Outubro de 2007**. Dispõe sobre Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados. Disponível em < <http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=18164> >. Acesso em Março de 2011.

CAPITANI, C. D.; PACHECO, M. T. B.; GUMERATO, H. F.; VITALI, A.; SCHMIDT, F.L. **Recuperação de proteínas do soro de leite por meio de coacervação com polissacarídeo**. Pesquisa Agropecuária Brasileira. Brasília. V.40. N.11 Nov. 2005.

CENTENARO, A. I. **Desenvolvimento de bebida láctea pasteurizada, de diversos sabores, adicionada de *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* Bb-12**. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Curso Superior de Tecnologia em Laticínios, Medianeira, 2009.

CORBARI, A. A.; ONGARATTO, G. C.; FUZINATTO, M. M. **Elaboração de sorvete de creme adicionado de soro de leite em pó, erva medicinal (sálvia offinalis L.) e componente apícola (própolis)**. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Curso Superior de Tecnologia em Alimentos, Medianeira, 2010.

DUTCOSKY, S. D. **Análise Sensorial de Alimentos**. Curitiba: Champagnat, 2007. 210 p

FERREIRA, V.P.L. **Análise Sensorial, Testes Discriminativos e Afetivos**. Campinas: Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos, p.73-77, 2000 (Manual Série e Qualidade).

GABIATTI, A. R.; CORTI, D. **Avaliação da adequação de leites fermentados probióticos comercializados na região oeste do Paraná quanto aos requisitos estabelecidos na legislação federal brasileira**. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Curso Superior de Tecnologia em Alimentos, Medianeira, 2010.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ; PREGNOLATTO, W.; PREGNOLATTO, N. P. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. 3.ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 1985.

JARDIM, F. B. B.; DUARTE, L. B.; MIGUEL, D. P.; SANTOS, C. G. P dos; LOBATO, F. M. **O Uso de Probióticos e Prebióticos no Desenvolvimento de Bebidas**

Lácteas. VIII Jornada Científica da Fazu. Out. 2009. Disponível em < <http://www.fazu.br/hd2/jornada2009/pdf/engenharia.pdf> >. Acesso em Abril de 2011.

KEMPKA, A. P.; KRÜGER, R. L.; VALDUGA, E.; LUCCIO, M. D.; TREICHEL, H.; CANSIAN, R.; OLIVEIRA, D. de. **Formulação de Bebida Láctea Fermentada Sabor Pêssego Utilizando Substratos Alternativos e Cultura Probiótica.** Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos. Campinas. V.28 supp 1.0. Dez. 2008.

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. São Paulo. V. 44. N. 3. Jul./Set. 2008.

KRÜGER, R.; KEMPKA, A. P.; OLIVEIRA, D. de; VALDUGA, E.; CANSIAN, R. L.; TREICHEL, H.; LUCCIO, M. D. **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.

MACHADO, R. M. G.; FREIRE, V. H.; SILVA, P. C. **Tratamento de Efluentes em Pequenas e Médias Indústrias de Laticínios.** Revista Ação Ambiental, p. 15-17, 2000.

MINIM, V. P. R. **Análise Sensorial: Estudos com Consumidores.** Viçosa, MG: UFV, 2006. 225 p.

MORAES, F. P.; COLLA, L. M. **Alimentos Funcionais e Nutraceuticos: Definições, Legislação e Benefícios à Saúde.** Revista Eletrônica de Farmácia. V. 3(2), 109-122. 2006.

OLIVEIRA, M. N. de; SIVIERI, K. S.; ALEGRO, J. H. A.; SAAD, S. M. I. **Aspectos Tecnológicos de Alimentos Funcionais Contendo Probióticos.** Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas. São Paulo. V. 38. N. 1. Jan./Mar. 2002.

RAUD, C. **Os Alimentos Funcionais: A Nova Fronteira da Indústria Alimentar Análise das Estratégias da Danone e da Nestlé no Mercado Brasileiro de Iogurtes.** Rev. Sociol. Polít. Curitiba. V. 16. N. 31, p. 85-100. Nov. 2008.

ROLFE, R. D. **The Role of Probiotic Cultures in the Control of Gastrointestinal Health.** Journal of Nutrition. Bethesda. V. 130. N.2, p. 396-402. 2000.

SAAD, S. M. I. **Probióticos e Prebióticos: O Estado da Arte.** Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas. São Paulo. V. 42. N. 1. Jan./Mar. 2006.

SILVA, S. V. da. **Desenvolvimento de Iogurte Probiótico com Prebiótico**. Dissertação. Santa Maria - Rio Grande do Sul. 2007.

SNELLING, A. M. **Effects of Probiotics on the Gastrointestinal Tract**. Current opinions in Infectious Diseases. Philadelphia. V.18. N. 5, p. 420-426. 2005.

SOROA Y PINEDA, J. M. **Indústrias Lácteas**. 5. ed., rev. e aum. Lisboa: Litexa. 1980. 376 p.

STEFE, C. de A.; ALVES, M. A. R.; RIBEIRO, R. L. **Probióticos, Prebióticos e Simbióticos – Artigo de Revisão**. Saúde e Ambiente em Revista. Duque de Caxias. V.3. N.1, p.16-33. Jan./Jun. 2008.

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

THAMER, K. G.; PENNA, A. L. B. **Efeito do Teor de Soro, Açúcar e de Frutooligossacarídeos sobre a População de Bactérias Lácticas Probióticas em Bebidas Fermentadas**. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas. São Paulo. V.41. N.3. Jul./Set. 2005.

THAMER, K. G.; PENNA, A. L. B. **Caracterização de Bebidas Lácteas Funcionais Fermentadas por Probióticos e Acrescidas de Prebiótico**. Ciência e Tecnologia de Alimentos. Campinas. V.26. N.3. Jul./Set. 2006.

VALDUGA, E.; PAVIANI, L. C.; MAZUR, S. P.; FINZER, J. R. D. **Aplicação do Soro de Leite em Pó na Panificação**. Alim. Nutr. Araraquara. V. 17. N. 4, p.393-400. Out./Dez. 2006.

VIEGAS, R. P.; SOUZA, M. R.; FIGUEIREDO, T. C.; RESENDE, M. F. S.; PENNA, C. F. A. M.; CERQUEIRA, M. M. O. P. **Qualidade de Leites Fermentados Funcionais Elaborados a partir de Bactérias Ácido-Lácticas Isoladas de Queijo de Coalho**. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia. Belo Horizonte. V. 62. N. 2. Abr. 2010.

ZACARCHENCO, P. B.; MASSAGUER-ROIG, S. **Avaliação Sensorial, Microbiológica e de Pós-Acidificação Durante a Vida-de-Prateleira de Leites Fermentados Contendo *Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium longum* e *Lactobacillus acidophilus***. Ciênc. Tecnol. Alimentos. Campinas. 24(4): 674-679. Out./Dez. 2004.

ANEXOS

Anexo A - Certificado de análise do soro de leite

PARÂMETROS	ESPECIFICAÇÃO	VALORES ANÁLISE
Data de fabricação		21/01/11
Validade	Um ano após a data de fabricação.	21/01/12
Aspecto	Pó uniforme sem grumos.	Característicos, conforme especificação.
Cor	Branco a amarelado.	Branco a amarelado, conforme especificação.
Sabor/Odor	Levemente lácteos.	Característicos, conforme especificação.
Umidade (%)	Máximo 3,0	2,70
Acidez (% ácido láctico)	Máximo 2,0	1,63
Gordura (%)	Máximo 1,5	1,50
Insolubilidade (mL)	Máximo 1,0	0,05
Ph	6,0 - 7,0	6,28
Cloretos (% NaCl)	Máximo 1,9	1,75
Cinzas (sais minerais %)	Máximo 6,0	5,25
Aeróbios Mesófilos (UFC/g)	Máximos 5×10^4	$7,0 \times 10^2$
St. Aureus (UFC/g)	Máximo 100	$7,0 \times 10^1$
Coliformes totais (UFC/g)	Máximo 100	$< 1,0 \times 10^1$
Coliformes fecais (UFC/g)	Máximo 10	$< 1,0 \times 10^1$
Bolores e leveduras (UFC/g)	Máximo 50	$< 1,0 \times 10^1$

Fonte: Laboratório de Controle de Qualidade – Sooro.

Anexo B – Ficha da Pesquisa de Mercado

Pesquisa de Mercado

- 1) Você consome bebida láctea?
 - a) Sim ()
 - b) Não ()
- 2) Quantas vezes consome bebida láctea por semana?
 - a) 1 vez ()
 - b) 3 vezes ()
 - c) Diariamente ()
 - d) Nunca ()
- 3) Você conhece o soro lácteo?
 - a) Sim ()
 - b) Não ()
- 4) Você conhece o que é um produto probiótico e suas funções?
 - a) Sim ()
 - b) Não ()
- 5) Você compraria esta bebida láctea probiótica com sabor de salada de fruta?
 - a) Sim ()
 - b) Não ()

Anexo C – Ficha da Análise Sensorial

Sexo: Feminino () Masculino () Peso: Altura: Idade: Data:

Teste da Escala Hedônica

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

- 1 = Desgostei muitíssimo
 2 = Desgostei muito
 3 = Desgostei regularmente
 4 = Desgostei ligeiramente
 5 = Indiferente
 6 = Gostei ligeiramente
 7 = Gostei regularmente
 8 = Gostei muito
 9 = Gostei muitíssimo

AMOSTRAS	AROMA	COR	SABOR	CONSISTÊNCIA	IMPRESSÃO GLOBAL
256					
675					
188					
971					
562					

Observações: _____

Teste de Escala de Atitude

Instruções: Você está recebendo amostras de 5 formulações diferentes de um novo produto que será introduzido no mercado. Primeiro, observe se o produto é “conhecido” ou “desconhecido” e, em seguida, deguste cuidadosamente cada uma das amostras, avaliando de acordo com a seguinte escala:

- Produto conhecido () Produto não conhecido ()
 9 = Eu beberia isto, em cada oportunidade que tivesse
 8 = Eu beberia isto, muito frequentemente
 7 = Eu beberia isto, frequentemente
 6 = Eu beberia isto, agora e depois
 5 = Eu beberia isto, se possível, mas não sairia da minha rotina
 4 = Eu não gosto, mas se fosse preciso, beberia
 3 = Eu beberia isto, raramente
 2 = Eu beberia isto, se não tivesse outra escolha
 1 = Eu beberia isto, se fosse forçado

AMOSTRA	VALOR ATRIBUÍDO
256	
675	
188	
971	
562	

Observações: _____