

**BEBIDA FERMENTADA SIMBIÓTICA: CARACTERÍSTICAS
FÍSICO-QUÍMICAS, SENSORIAIS E VIABILIDADE DE
*Lactobacillus acidophilus***

Recife – 2012

MÔNICA DE LUCENA LIRA AGUIAR DIAS

**BEBIDA FERMENTADA SIMBIÓTICA: CARACTERÍSTICAS
FÍSICO-QUÍMICAS, SENSORIAIS E VIABILIDADE DE
*Lactobacillus acidophilus***

Dissertação apresentada ao Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Nutrição do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, para obtenção do grau de Mestre em Ciências dos Alimentos.

Orientador (a): Prof^a. Nonete Barbosa Guerra.
Co-orientador: Prof^a. Silvana Magalhães Salgado

RECIFE – PERNAMBUCO
2012

Catálogo na fonte
Bibliotecária Giseani Bezerra, CRB4-1738

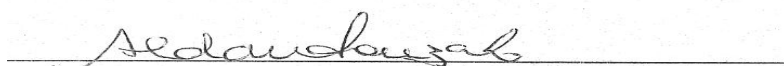
D541b	Dias, Mônica de Lucena Lira Aguiar. Bebida fermentada simbiótica: características físico-químicas, sensoriais e viabilidade de <i>Lactobacillus acidophilus</i> / Mônica de Lucena Lira Aguiar Dias. – Recife: O autor, 2012. 73 folhas : il. ; 30 cm. Orientador: Nonete Barbosa Guerra. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco, CCS, Programa de Pós-Graduação em Nutrição, 2012. Inclui bibliografia, apêndices e anexos. 1. Probióticos. 2. Prebiótico. 3. Produtos fermentados do leite. 4. Técnicas de análises. I. Guerra, Nonete Barbosa (Orientador). II. Título. 612.3 CDD (23.ed.) UFPE (CCS2012-111)
-------	---

Mônica de Lucena Lira Aguiar Dias

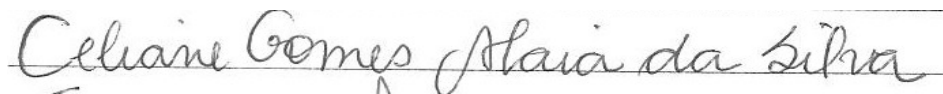
**Bebida Fermentada Simbiótica: Características Físico-químicas,
Sensoriais e Viabilidade de *Lactobacillus acidophilus***

Dissertação aprovada em:

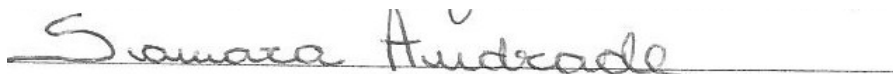
Recife, 29/02/2012



Prof. Dra. Alda Verônica Souza Livera



Prof. Dra. Celiane Gomes Maia da Silva



Prof. Dra. Samara Alvachian Cardoso Andrade

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO – UFPE
CENTRO DE CIENCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE NUTRIÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO

Reitor

Prof. Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

Vice-reitor

Prof. Silvio Romero de Barros Marques

Pró-Reitor para assuntos de pesquisa e pós-graduação

Prof. Francisco de Sousa Ramos

Diretor do Centro de Ciencias da Saúde

Prof. José Thadeu Pinheiro

Chefe do Departamento de Nutrição

Prof. Tânia Lúcia Montenegro da Silva Stamford

Vice-chefe do Departamento de Nutrição

Prof. Poliana Coelho Cabral

Coordenador do Programa de Pós- Graduação em Nutrição

Prof. Mônica Maria Osório

Vice- coordenador do Programa de Pós- Graduação em Nutrição

Prof. Célia Maria Machado Barbosa de Castro

Aos meus pais, Gregório e Emília.

Exemplos de amor,
superação e renúncia.

Com amor e gratidão,
dedico.

AGRADECIMENTOS

A Deus, razão de tudo, eterno protetor.

A meu esposo, Humberto Junior, pelo apoio em todas as fases das nossas vidas em comum e pelo incentivo e confiança depositadas para a concretização desta conquista. Aos meus filhos, Humberto Neto e Ana Beatriz, amo vocês.

Aos meus pais, Gregório e Emília, grande incentivadores dos nossos esforços (seus filhos) na busca de sempre alcançar mais um degrau de sucesso na vida profissional. Amo-os além desta vida.

Aos meus irmãos e irmãs, referência de sucesso, exemplo a ser seguido, amo-os para todo o sempre.

As minhas amigas (os), conquistas antigas e recentes, companheiras(os) de jornada que aprendi a amar e respeitar, Jossana, Daline, Gabriela, Lívia, Aline, Cristiana, Edvaldo, Rafael Medeiros, Wallace, Mariana, Risonete, Glauce, Clara, Ana Paula, Leide, Ana Freire, Conceição Damascena, Silvana, Otávio, Thereza, Teresa Ferraz, Mágda, Gorete, Celeste, Iris, Cristiane, Isolda, obrigada por vocês fazerem parte de mim.

À minha orientadora Silvana Magalhães Salgado, pelo profissionalismo, valiosas orientações, por ter socializado seus conhecimentos, incentivo nas dificuldades e pela inefável contribuição ao longo de todas as fases do trabalho. Jamais a esquecerei.

À professora Nonete Barbosa Guerra, exemplo de profissionalismo, competência pessoa humana. Obrigada por nos encher de orgulho pelos momentos de conhecimentos compartilhados com a sua simplicidade inebriante.

A professora Alda Livera, pelas contribuições ao longo do mestrado e pelas orientações e sugestões ao longo deste trabalho.

À professora Samara Andrade, seu carinho, atenção e contribuições foram imprescindíveis para as análises estatísticas.

Às professoras Celiane Maia, por aceitar o convite para participar da minha banca.

Às professoras Ruth Guilherme, companheira de outras épocas e a Viviane Padilha, incentivadora e exemplo, a ser copiado. Um grande abraço.

A todos os amigos e familiares, que compartilharam direta ou indiretamente desta conquista. Obrigada a todos.

Ao Serviço Social do Comércio, na pessoa do Presidente Prof. Josias Albuquerque, grande educador e incentivador da busca do conhecimento, obrigado pela compreensão e apoio por mais esta conquista.

Ao Diretor Regional do SESC, Antônio Inocêncio Lima, pelo apoio e por me assegurar esta oportunidade. Um abraço de obrigada.

À Minha Diretora e amiga Silvia Cavadinha, exemplo de pessoa forte e determinada. Obrigada por tudo! Esta etapa só foi alcançada por você ter apoiado meu sonho.

Ao Laboratório de Experimentação e Análise de Alimentos Profa. Nonete Barbosa Guerra- LEAAL, pela oportunidade de utilização das instalações e equipamentos, pela colaboração nas análises e pela confiança depositada. Um agradecimento especial a Camilo, Alexandre, Arthur, Graciliane, Moisés, Olivia, Solange, Silvinha, Vivaldo e Vivianne Braga.

Ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco, professores, funcionários (Neci, Cecília e Fran), pela oportunidade de qualificação a mim ofertada. Muito obrigada!

RESUMO

A indústria de laticínios busca o desenvolvimento de novos produtos visando ao aproveitamento do soro de leite na produção de bebidas fermentadas funcionais por serem veículos em potencial de probióticos e prebióticos. O objetivo do trabalho foi avaliar as características físico-químicas, sensoriais e a viabilidade dos *Lactobacillus acidophilus* até 21 dias de estocagem refrigerada da bebida à base de soro de leite (50%), sacarose (10%), leite em pó integral reidratado (25%), adicionada de polpa de yacon (15%) e culturas de *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus acidophilus* – La 5 e *Bifidobacterium bifidum* BB12. Foi determinado coliformes, *salmonella* SP, cor, pH, acidez, proteína, extrato etéreo, cinzas, fibra alimentar total, frutanos totais e carboidratos por diferença. A contagem dos *Lactobacillus acidophilus* LA-5 e *Bifidobacterium bifidum* BB12 foi realizada em meio AGAR MRS modificado. A resistência dos *Lactobacillus acidophilus* foi avaliada *in vitro* simulando as condições gástricas e entéricas. Foram realizados testes de aceitação e intenção de compra aplicada nos tempos 0, 7, 14 e 21 dias de armazenamento. Os resultados demonstraram que não houve crescimento de *salmonella* spp. e coliformes. A bebida caracterizou-se como bebida láctea fermentada desnatada segundo a Legislação Nacional. A presença de frutoligossacarídeos do yacon e de *L. acidophilus* LA-5 e *B. bifidum* BB-12 na bebida resultou na contagem satisfatória dos probióticos até os 21 dias de estocagem, embora a resistência dos *Lactobacillus acidophilus* aos ácidos gástricos e sais biliares tenha atendido à alegação de propriedade funcional até a primeira semana de armazenamento. Conclui-se que a aceitabilidade e funcionalidade da bebida foram evidenciadas durante sete dias de armazenamento e a atitude dos consumidores foi positiva quanto à intenção de compra, possibilitando boas perspectivas para futura produção comercial.

Palavras-Chave: probiótico, yacon, bebida láctea, análise sensorial.

ABSTRACT

The dairy industry seeks to develop new products aimed at the serum of milk usage in the production of fermented beverages once they are potential means for probiotics and prebiotics. The study ocused to evaluate the physical-chemical characteristics, sensory and viability of *Lactobacillus acidophilus* as the drink was in until 21 days refrigerated storage with a bases on serum of milk (50%), saccharose (10%), fully rehydrated powdered milk (25 %), adding pulp of yacon (15%) and cultures of *Streptococcus thermophilus* *Lactobacillus acidophilus* – 5e *La Bifidobacterium bifidum* BB12. It was determined coliforms, salmonella SP, color, pH, acidity, protein, ether extract, ash, total dietary fiber, fructans and total carbohydrates by difference. The counting of *Lactobacillus acidophilus* LA-5 and *Bifidobacterium bifidum* BB12 was carried out in modified means of AGAR MRS. The resistance of *Lactobacillus acidophilus* was evaluated in vitro simulating gastric and enteric conditions. Tests of acceptance and purchase intent were applied in time 0, 7, 14 and 21 days of storage. The results shown that there was no growth of *Salmonella* spp. And coliforms. The beverage was characterized as fermented lactic drink skimmed according to National Legislation. The presence of frutoligosacarídeos yacon and *L. acidophilus* LA-5 and *B.bifidum* BB-12 in the drink resulted in satisfactory counting of probiotics until the 21st day of storage, although the resistance of *Lactobacillus acidophilus* to gastric acids and bile salts has met the functional property allegation until the first week of storage. This provides to conclude that the drink acceptance and functionality were evidenced in seven days of storage and the consumers acceptance was positive in their intention of purchasing, which makes possible to expect good prospects for future commercial production.

Key words: probiotic, yacon, milk drink, sensory analysis.

LISTA DE FIGURAS

Dissertação (Revisão da Literatura)	página
Figura 1a- Raiz do Yacon (<i>Smallanthus sonchifolius</i>).....	28
Figura 1b- Aspecto físico interno da raiz do yacon.....	28
Figura 2 Fluxograma da obtenção da bebida fermentada.....	33
Artigo	página
Figura 1- Média das notas obtidas durante a análise sensorial da bebida fermentada.....	51
Figura 2- Percentual de Intenção de compras da bebida fermentada durante o armazenamento.....	52

LISTA DE TABELAS E QUADRO

Dissertação (Materiais e métodos)	página
Tabela 1 - Espécies principais de microrganismos usados como probióticos	18
Artigo	página
Tabela - 1 Composição centesimal da bebida fermentada	46
Tabela - 2 Estabilidade físico-química da bebida fermentada armazenada durante 21 dias sob refrigeração	47
Tabela - 3 Colorimetria da bebida fermentada	48
Quadro - 1 Crescimento de <i>Lactobacillus acidophilus</i> e <i>Bifidobacteria</i> na Bebida Fermentada armazenada sob refrigeração por 21 dias.	49
Tabela - 4 Viabilidade <i>in vitro</i> dos <i>L. acidophilus</i> da Bebida Fermentada armazenada por 21 dias.	51

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

FOS – Frutooligossacarídeos

⁰ C - Graus Celsius

pH- Potencial Hidrogeniônico

dp- Desvio Padrão

ml- Mililitro

min- Minuto

% - Percentual

ANOVA – Análise de Variância

CIELAB – Comissão Internacional de Iluminação

L* - Luminosidade

a* - Cromaticidade a

b* - Cromaticidade b

FAO/OMS – Organização Mundial da Saúde

ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas

LTDA – Limitada

AOAC – Association of Official Analytical Chemistry

UFC- – Unidade Formadora de Colônia

UFPE – Universidade Federal de Pernambuco

FA – Fibra Alimentar

FAT - Fibra Alimentar Total

SUMÁRIO

RESUMO

ABSTRACT

1 APRESENTAÇÃO	15
2 OBJETIVOS	18
2.1 Gerais	18
2.2 Específicos	18
3 REVISÃO DA LITERATURA	20
3.1 Probióticos	21
3.2 Prebióticos	25
3.3 Yacon (<i>Smallanthus sonchifolius</i>)	26
4 MATERIAL E MÉTODOS	32
4.1 Preparação da bebida fermentada	32
4.2 Avaliação físico-química	34
4.2.1 Composição centesimal, pH, brix e acidez	34
4.2.2 Análise instrumental da cor	34
4.3 Avaliação microbiológica	34
4.3.1. Quantificação dos <i>L. acidophilus</i> e <i>B. bifidum</i>	34
4.3.2. Viabilidade dos <i>L.acidophillus</i> a condições gástricas e entéricas: in vitro	35
4.4 Avaliação sensorial	36
4.5 Análise estatística	37
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	39
ARTIGO.....	39
1. Introdução.....	42
2. Material e métodos.....	43
-Processamento da bebida.....	43
-Ensaio físico-químicos e microbiológicos.....	43
-Análise sensorial.....	45
3. Resultados e discussão.....	45
3.1. Ensaio físico-químicos.....	45
3.2. Ensaio microbiológicos	49
3.3 Análises sensorial e intenção de compras.....	52
4. Conclusões	53

5. Referências.....	54
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	60
REFERÊNCIAS	62
ANEXOS	71

Apresentação

1 APRESENTAÇÃO

A utilização de soro de leite na elaboração de bebidas lácteas constitui uma forma racional de aproveitamento do produto resultante da fabricação do queijo, cuja composição apresenta excelente valor nutritivo.

O interesse por produtos alimentícios saudáveis, nutritivos e de grande aproveitamento tem aumentado mundialmente, e tem resultado em diversos estudos na área de produtos lácteos, associado a este aspecto, verifica-se um elevado consumo de alimentos prebióticos, probióticos e simbióticos.

O consumo de alimentos simbióticos está relacionado a uma série de benefícios à saúde sendo as espécies mais frequentemente como probióticos pertencentes aos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*, estes participam da fermentação e são considerados suplemento alimentar constituído de microrganismos vivos que administrados em quantidades adequadas conferem benefícios a saúde (KOMATSU *et al*, 2008). E a inulina e oligofrutose que vem sendo pesquisados em decorrência de sua função prebiótica, por aumentar o número de lactobacilos e bifidobactérias no intestino grosso por ser considerado um substrato fermentável(MOSCATTO *et al*, 2006).

O yacon é uma raiz tuberosa, oriunda da região Andina, que tem sido considerada como alimento funcional por seus componentes designados como fibras alimentares solúveis e prebióticos, devido a sua baixa digestibilidade pelas enzimas do trato gastrointestinal humano, estímulo seletivo do crescimento e atividade de bactérias intestinais promotoras da saúde (GIBSON & ROBERFROID, 1995). Pelo alto teor de compostos bioativos que ao ser incorporado a produtos alimentícios pode atender as exigências do mercado consumidor que busca por alimentos saudáveis, além de qualidade sensorial e nutricional.

Desta forma, bebidas suplementadas com esses componentes afetam benéficamente uma ou mais funções do organismo e possuem potencial para promover a saúde através de mecanismos não previstos na nutrição convencional (De BONDT, 2003).

No entanto, a efetividade de produtos contendo probióticos depende de alguns fatores relacionados, além de suas propriedades como promotoras de saúde, da viabilidade das culturas probióticas durante o período de vida útil do produto e da resistência dos microrganismos probióticos às condições do trato gastrintestinal.

Características do alimento, como composição, pH, disponibilidade de oxigênio, interação com bactérias lácticas empregadas em produtos fermentados, e ainda as características da embalagem e a temperatura de estocagem, podem influenciar a sobrevivência do microrganismo probiótico no produto (VINDEROLA *et al*, 2000; VINDEROLA *et al*, 2002).

Objetivos

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

Desenvolver uma bebida fermentada a base de soro de leite adicionada de polpa de yacon com ação simbiótica

2.2 Específicos

- ✓ Caracterizar a bebida fermentada quanto a sua composição nutricional e parâmetros físico-químicos;
- ✓ Avaliar as características sensoriais e intenção de compra da bebida fermentada;
- ✓ Conferir a viabilidade do *Lactobacillus acidophilus* durante o *shelf life*.

Revisão da Literatura

3 REVISÃO DA LITERATURA

O papel de uma alimentação saudável na manutenção da saúde tem despertado interesse dos consumidores e da comunidade científica, o que vem estimulando inúmeros estudos com o intuito de comprovar a atuação de componentes bioativos na redução de riscos de certas doenças (BADARÓ, 2008). Por conter substâncias biologicamente ativas que afetam benéficamente uma ou mais funções do organismo, os alimentos funcionais são aqueles que garantem efeitos nutricionais adequados, conduzindo a uma melhoria do estado geral de saúde (STANTON *et al*, 2005; ROBERFROID, 2005; JARDIM *et al*, 2009).

Estes alimentos constituem hoje uma prioridade de pesquisa em todo o mundo, com a finalidade de elucidar as propriedades e os efeitos benéficos que eles podem proporcionar à saúde e o bem-estar (OLIVEIRA *et al*, 2002). Devem produzir benefícios específicos à saúde, reduzindo o risco de diversas doenças, conduzindo ao bem estar físico e mental (BADARÓ, 2008). Para que um alimento seja considerado funcional, é necessária uma avaliação detalhada, que garanta o pleno reconhecimento de suas propriedades funcionais pela comunidade científica (BURITI, 2008). Adicionalmente, é necessário que ele se adéque a legislação vigente no país onde será comercializado (JONG *et al*, 2007; STRINGHETA *et al*, 2007).

O termo alimentos funcionais foi inicialmente introduzido pelo governo do Japão em meados dos anos 1980 (HORST; LAJOLO, 2005; STRINGHETA *et al*, 2007), como o resultado de esforços para desenvolver alimentos que possibilitassem a redução dos gastos com saúde pública considerando a elevada expectativa de vida naquele país (STRINGHETA *et al*, 2007). O Japão foi pioneiro na formulação do processo de regulamentação específica para os alimentos funcionais. Similares em aparência aos alimentos convencionais, os alimentos funcionais são usados como parte de uma dieta normal e que demonstraram benefícios fisiológicos e, ou, reduziram o risco de doenças crônicas, além de suas funções básicas nutricionais (STRINGHETA *et al*, 2007).

Pesquisa realizada pela Associação Brasileira da Indústria de Alimentação (**ABIA**) revela que o setor de alimentos funcionais cresce ao redor do mundo a uma taxa de 14% ao ano, enquanto as vendas de alimentos convencionais registram índices de desenvolvimento entre 3 e 4% de crescimento e os dados da *Health and Wellness Food Beverages in Brasil* (Alimentos e Bebidas para o Bem Estar e a Saúde no Brasil) mostram um crescimento 81% desse segmento entre 2004 e 2009 no país, período em que o faturamento do setor passou de R\$ 15 bilhões para R\$ 27,2 bilhões (SIMÕES, 2011).

O mercado de alimentos funcionais está em expansão e a indústria de laticínios vem vislumbrando esse nicho com vistas a aumentar a sua competitividade para se adaptar ao consumidor exigente (BRANDÃO, 2002; PUPIN, 2002; JARDIM *et al*, 2009).

Especificamente na área de laticínios uma nova tendência que vem se apresentando é a produção de iogurtes e leites fermentados funcionais (KRÜGER *et al*, 2008). Este vem se desenhando porque além destes produtos possuírem grande aceitação pelo público em geral e apresentarem excelente valor nutritivo, são veículos em potencial para o consumo de probióticos (ANTUNES *et al*, 2007).

O segmento de probióticos no mercado foi dominado por produtos lácteos porque os consumidores já estão familiarizados com o fato de que os leites fermentados contêm micro-organismos viáveis e os reconhecem como benéficos para a saúde, facilitando a recomendação da sua ingestão para o consumo de probióticos (BALLUS *et al*, 2010).

O soro de leite é considerado um subproduto da indústria de laticínios e na sua composição encontram-se quantidades significativas de excelentes componentes como a lactose e proteínas de elevado valor biológico (JARDIM *et al*, 2009). O aproveitamento do soro na elaboração de bebidas tem sido estudado por vários pesquisadores a exemplo de Oliveira, Cunha, Jardim que visam encontrar métodos capazes de minimizar os custos de produção e obter produtos com melhores características, composição química e com diversidade de uso (BURGUER *et al.*, 2011). A conversão do soro líquido em bebidas lácteas é uma das mais atrativas opções para as indústrias devido a simplicidade do processo além da possibilidade de uso dos equipamentos já existentes na usina de beneficiamento de leite (CUNHA *et al.*, 2008; BURGUER *et al.*, 2011).

Bebida láctea fermentada é obtida a partir do soro do leite e, com isso, é definida como produto lácteo resultante da mistura do leite e soro de leite, adicionado ou não de produtos ou substâncias alimentícias, gordura vegetal, leites fermentados, fermentos lácteos selecionados e outros produtos lácteos (BRASIL, 2003), fermentada mediante a ação de cultivo de micro-organismos específicos e/ou adicionado de leite(s) fermentado(s) e que não poderá ser submetida a tratamento térmico após fermentação. A bebida láctea deve ter como base láctea pelo menos 51% (m/m) do total de ingredientes do produto (BRASIL, 2003).

3.1 Probióticos

O termo probiótico significa “para a vida” e é utilizado para designar a presença de bactérias benéficas para o organismo humano em alimentos (SOUZA, 2006). Os primeiros

registros da ingestão de bebidas contendo micro-organismos probióticos datam de 2000 anos atrás (GIBSON, 2004; SOUZA, 2006). Na definição clássica, os probióticos são tidos como suplementos microbianos que influenciam positivamente o organismo e aumentam de maneira significativa o valor nutritivo e terapêutico dos alimentos, através do equilíbrio microbiano intestinal e das funções fisiológicas do trato intestinal humano (SHAH, 2001; THAMER; PENNA, 2005).

Atualmente, o termo probiótico é definido como micro-organismos vivos, administrados em quantidades adequadas, que conferem benefícios à saúde do hospedeiro (*Food and Agriculture Organization of United Nations, World Health Organization*, 2001; SANDERS, 2003; KOMATSU *et al*, 2008), sendo geralmente bactérias gram-positivas e incluídas basicamente em dois gêneros: *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* (MORTAZAVIAN *et al.*, 2007). Esses tipos de bactérias podem ser administrados em doses controladas, incluídas geralmente em bebidas lácteas fermentadas, comprimidos ou pós. Geralmente, os probióticos estão associados à prebióticos e a essa associação intitula-se simbióticos (TORTORA, FUNKE, CASE, 2005; OWEHAND, 2007; SOUZA *et al.*, 2009; COSTA e VARAVALLO, 2011).

A garantia da sobrevivência dos micro-organismos probióticos ao longo do armazenamento é relevante à saúde do hospedeiro, pois inúmeros benefícios se destacam: controle e estabilidade da microbiota intestinal; promoção da resistência gastrintestinal à colonização por patógenos; prevenção de distúrbios intestinais; produção de bacteriocinas e outros compostos antimicrobianos; promoção da digestão da lactose em indivíduos intolerantes à lactose; estimulação e modulação do sistema imune; alívio da constipação intestinal; aumento da absorção de minerais e produção de vitaminas; possível ação na redução do colesterol sanguíneo e ações antitumorais (FARIA, BENEDET, LE GUERROUE, 2006; SAAD, 2006).

Na tabela 1 estão listados alguns microorganismos utilizados como probióticos (PIMENTEL, 2011).

Tabela 1 - Espécies principais de microrganismos usados como probióticos.

<i>Lactobacillus spp.</i>	<i>Bifidobacterium spp.</i> ²	Outros
<i>L.acidophilus</i> ² <i>L.casei</i> ² <i>L.amylovorus</i> <i>L.crispatus</i> <i>L.gallinarum</i> ¹ <i>L.gasseri</i> <i>L.johnsonni</i> <i>L.plantarum</i> <i>L.salivarius</i> <i>L.fermentum</i> <i>L.reuteri</i> <i>L.helveticus</i> <i>L.brevis</i> <i>L.cellobiosus</i> <i>L.curvatus</i>	<i>B.adolescentis</i> <i>B.animalis</i> ³ <i>B.bifidum</i> <i>B.breve</i> <i>B.infantis</i> <i>B.lactis</i> ³ <i>B.longum</i> <i>B.thermophilum</i>	<i>E.faecalis</i> ¹ <i>E.faecium</i> <i>Lactococcus lactis</i> <i>Leuconostoc</i> <i>mesenteroides</i> <i>Sporolactobacillus</i> <i>Inulinus</i> ¹

Fonte: Holzapfel e colaboradores (1998); Fooks, Fuller e Gibson (1999); Azizpour e colaboradores (2009); Pimentel (2011).

¹Aplicação em animais

²Principais probióticos

³Sinônimos

Uma cultura probiótica para adjuntos alimentares deve ser habitante normal do trato intestinal, capaz de sobreviver à passagem pelo trato digestivo superior, prover benefícios e manter a viabilidade/atividade no alimento veículo antes do consumo, pois se faz necessário a adesão das culturas a sítios específicos localizados no epitélio intestinal, diminuindo desta forma a colonização de bactérias patogênicas (SAAD, 2006).

Alimentos fermentados por bactérias lácticas apresentam melhores valores nutricionais em função da digestão parcial das proteínas, gorduras, carboidratos e aumentam as vitaminas do complexo B, além de produzirem a β -D-galactosidase. Efeitos indiretos, desta fermentação constituem inibição de fatores antinutricionais/produção de toxinas e a produção de compostos antimicrobianos (DEMIATE *et al*, 1994).

A viabilidade dos probióticos no produto pode ser afetada pela produção de ácido láctico e peróxido de hidrogênio por fermentos tradicionais, presença de oxigênio, assim

como interações de cepas presentes e a concentração de açúcar (BARRETO et al, 2003; SHAH et al.,2007;BADARÓ et al.,2008).

A adição de culturas probióticas às bebidas lácteas fermentadas vem sendo uma prática comum tendo em vista os inúmeros benefícios a saúde humana em indivíduos que consomem periodicamente esses produtos (SAAD, 2006). O uso de probióticos em alimentos progrediu expressivamente nos últimos anos, com ênfase ao efeito terapêutico especial de *Lactobacillus acidophilus* (CAMARGO et al, 2000). As bactérias probióticas também conferem alterações no sabor e textura dos alimentos devido à autólise bacteriana (SOUZA, 2006).

As bifidobactérias foram isoladas pela primeira vez no final do século XIX por Tissier, sendo, em geral, caracterizadas por serem micro-organismos gram-positivos, não actinomicetas, dentro do grupo das bactérias gram-positivas (SGORBATI et al, 1995). As espécies de bifidobactérias nativas são dependentes da idade do indivíduo (SAAD, 2006), sendo organismos heterofermentativos, que produzem ácidos acético e láctico na proporção molar de 3:2 a partir de 2 moles de hexose, sem produção de CO₂, exceto durante a degradação do gluconato (GOMES; MALCATA, 2009).

A multiplicação, características e exigências nutricionais de bifidobactérias são exclusivas dentre as bactérias lácticas. O gênero *bifidobacterium* é classificado como anaeróbico estrito, no entanto, o grau de tolerância de oxigênio depende da espécie/cepa e meio, e mesmo da morfologia das cepas isoladas (CORRÊA, 2006).

Bifidobacterium infantis e *Bifidobacterium breve* são predominantes em crianças, enquanto *Bifidobacterium adolescentis* é predominante em adultos e *Bifidobacterium longum* está presente nas diversas fases da vida (GOMES; MALCATA, 1999). Dentre as culturas probióticas amplamente estudadas e empregadas como constituintes de alimentos funcionais, destacam-se os *Bifidobacterium Bifidum Lactobacillus acidophilus* (THAMER; PENNA, 2005).

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).

Lactobacilos podem colaborar na digestão da lactose em indivíduos com intolerância a esse dissacarídeo, reduzir a constipação e a diarreia infantil, ajudar na resistência a infecções por salmonela, prevenir a "diarreia do viajante" e aliviar a síndrome do intestino irritável. (KOMATSU et al, 2008).

Convém ressaltar que para o indivíduo alcançar os benefícios terapêuticos, os micro-organismos probióticos devem sobreviver aos processos de elaboração e estocagem do produto. A legislação brasileira reconhece vários probióticos e, entre eles, o *L. acidophilus* (BRASIL 2008). Para tanto, a contagem total de bactérias probióticas viáveis no intestino deve atingir no mínimo 10^7 UFC/ml no produto final, durante todo o prazo de validade (BRASIL, 2005). Caso o produto seja registrado, é autorizada a inserção de alegações de efeito sobre a saúde na rotulagem de produtos que apresentam concentrações superiores a 10^8 células por porção diária de consumo até o final de seu prazo de validade (AMARAL *et al*, 2009).

A dose mínima diária da cultura probiótica considerada terapêutica é de 10^8 a 10^9 UFC/g, correspondente ao consumo de 100 g de produto que contenha 10^6 a 10^7 UFC/g. (MATSUBARA, 2001). Tais concentrações de microorganismos probióticos viáveis devem ser mantidas constantes ao longo do armazenamento do produto (MARUYAMA *et al*, 2006).

Atualmente a principal função das bactérias lácticas nos alimentos é a acidificação dos produtos alimentares em um pH próximo de 4, inibindo o desenvolvimento de bactérias indesejáveis pela produção de ácidos orgânicos, majoritariamente ácidos lácticos (PIARD *et al*, 2011). Considerando a baixa atividade proteolítica das bactérias probióticas, para reduzir o tempo de fermentação das bebidas lácteas também é comum adicionar culturas do iogurte como *Lactobacillus bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus* (THAMER; PENNA, 2006).

Considerando que muitos fatores interferem nas características dos laticínios com probióticos, uma alternativa para aumentar a contagem de bifidobactérias é o emprego de prebióticos resultando no produto simbiótico.

3.2 Prebióticos

Os prebióticos são atualmente definidos como ingredientes seletivamente fermentáveis que permitem modificações específicas na composição e/ou na atividade da microbiota gastrointestinal que resultam em benefícios à saúde do hospedeiro (ROBERFROID, 2007; JARDIM *et al*, 2009).

Um prebiótico corresponde a um nutriente restrito ao cólon, contendo substâncias químicas resistentes aos processos digestivos no trato gastrointestinal superior, geralmente oligossacarídeos e polissacarídeos (BURITI, 2008). Os efeitos que desempenham no organismo estão relacionados ao processo fermentativo no cólon, como o crescimento de

bactérias não patogênicas produtoras de ácidos graxos de cadeia curta que podem interferir no metabolismo lipídico (ROLIM *et al*, 2010).

Os prebióticos como inulina e a oligofrutose são exemplos de carboidratos resistentes a digestão no intestino grosso onde ocorre o processo de fermentação. Assim, proporcionam efeito de aumentar o volume das fezes e a sua frequência (KAUR; GUPTA, 2002; ROBERFROID, 2002; CORTE 2008). Outros benefícios são: baixa cariogenicidade, aumentar a absorção de cálcio, magnésio e ferro; estimular a produção de vitaminas do complexo B, e inibir o estágio inicial do câncer de cólon, regularizando a função intestinal (ROBERFROID, 2005; ROLIM *et al*, 2010). A inulina e as oligofrutoses estimulam seletivamente o crescimento de bifidobactérias e mantêm em níveis baixos os bacteróides, *clostridium* ou coliformes contribuindo na prevenção de câncer de cólon (HAULY; MOSCATTO, 2002).

Os prebióticos devem ser consumidos em doses diárias a partir de 4 a 5 g até 20 g de inulina e/ou oligofrutose, administradas durante pelo menos 15 dias, para garantirem o estímulo a multiplicação de bifidobactérias no cólon (JARDIM *et al*, 2009).

A inulina é um carboidrato largamente encontrado na natureza, funcionando como carboidrato de reserva em muitas plantas (HAULY; MOSCATTO, 2002). Os oligossacarídeos constituem um grupo bastante enfatizado, e dentre os benefícios de sua digestão estão o aumento da população das bifidobactérias no cólon, que por seu efeito antagônico suprimem a atividade das bactérias putrefativas e reduzem a formação de produtos tóxicos da fermentação (THAMER; PENNA, 2006).

Muitas plantas que contêm inulina fazem parte da dieta humana básica há muito tempo, por exemplo: cebola, banana, trigo e alho. Recentemente descobriu-se a raiz da chicória e o tubérculo andino yacon como fontes promissoras de frutanos (HAULY; MOSCATTO, 2002).

A concentração de inulina em cada planta depende muito da variedade, do tempo decorrido desde a colheita até a utilização desta e das condições de estocagem (HAULY; MOSCATTO, 2002). O FOS é formado a partir da hidrólise da inulina pela enzima inulase (BURIGO *et al*, 2007).

3.3 Yacon (*Smallanthus sonchifolius*)

O yacon, espécie da família Asteraceae, é originário dos vales andinos da Colômbia, Equador, Peru, Bolívia e noroeste da Argentina, em altitudes de 2.000 a 3.100 metros

(VILHENA; CÂMARA; KAKIHARA, 2000). Yacon é o nome comumente utilizado para designar a planta e a sua raiz de reserva. O yacon representa espécie originária dos Andes, cujo cultivo e consumo datam dos tempos pré-incas (SANTANA; CARDOSO, 2008).

É popularmente conhecido como *llaqon*, *llacum*, *llacuma*, *yacumpi*, *aricuma*, *chicama*, *jiquima* e *jiquimilla*. Seu nome científico é *Polymnia sonchifolia*, sinônimas *Polymnia edulis* e *Smallanthus sonchifolius* (VALENTOVA *et al*, 2002).

O reconhecimento recente dos efeitos promissores para a saúde advindos do consumo de yacon aumentou o interesse comercial nos mercados das cidades, levando ao desenvolvimento de atividades comerciais em torno de seu cultivo (MANRIQUE *et al.*, 2005; SANTANA; CARDOSO, 2008).

Na década de 80, o yacon foi levado pela primeira vez do Equador até a Nova Zelândia, país em que se adaptou bem e onde hoje é cultivado em pequena escala (MANRIQUE; HERMANN, 2004). Em 1985, ele foi transferido da Nova Zelândia ao Japão, país onde tem se realizado a maior quantidade de investigações científicas referentes ao manejo agrônômico, à composição química, às propriedades sobre a saúde e desenvolvimento de produtos processados (LACHMAN *et al*, 2004). O Japão foi o centro da dispersão da raiz até outros países, como Coréia e Brasil (SEMINARIO; VALDERRAMA, 2003; SANTANA; CARDOSO, 2008).

No Japão, as raízes tuberosas são transformadas em produtos de panificação, bebidas fermentadas, pó ou polpa liofilizada, pickles entre outros (VALENTOVÁ; ULRICHOVÁ, 2003).

No Brasil, a espécie foi introduzida por volta de 1989, na região de Capão Bonito (SP), por imigrantes japoneses, que utilizam suas folhas e raízes tuberosas nos tratamentos contra diabetes e altas taxas de colesterol no sangue (KAKIHARA *et al*, 1996).

No cultivo desta raiz também têm sido constatadas vantagens para os produtores, além de sua adaptabilidade a diferentes tipos de condições climáticas. Estas características têm sido vinculadas a inúmeros benefícios para a população em geral, representando um novo produto a ser explorado e aplicado nos níveis social, agrícola, tecnológico e científico (VALENTOVA *et al*, 2002).



Figura 1a- Yacon
(*Smallanthus sonchifolius*)

Fonte: Pessoal da autora

Figura 1b – Raiz do Yacon
(*Smallanthus sonchifolius*)

Fonte: Pessoal da autora

O yacon (**figura 1a e 1b**) tem aparência de batata-doce, textura e sabor semelhantes aos da pera, começou a ganhar notoriedade quando foram descobertas peculiaridades em sua composição química que poderiam ser benéficas à saúde humana. (VALENTOVA *et al*, 2002).

O grande interesse pelo yacon nas últimas décadas se deve ao conteúdo de carboidratos bioativos de importância à saúde humana (RIVERA; MANRIQUE, 2005). Sua composição tem como principais substâncias água e carboidratos, os quais são armazenados principalmente sob forma de frutooligossacarídeos (FOS), entre outros açúcares livres. (SANTANA; CARDOSO, 2008).

O valor energético da raiz é considerado baixo devido ao alto conteúdo de água que se situa em torno de 83 e 90% do peso fresco (LACHMAN *et al*, 2004; ROSA *et al*, 2009).

Uma vez que os frutooligossacarídeos são açúcares não-redutores, eles apresentam a vantagem de não serem susceptíveis à reação de *Maillard*. Quanto à estabilidade, estes compostos são estáveis a valores de pH superiores a 3 e temperaturas de até 140°C. Desse modo, os FOS não são degradados na maioria dos processos térmicos das indústrias de alimentos (MOURA, 2004; SANTANA; CARDOSO, 2008).

Em relação aos carboidratos, entre os açúcares encontrados estão os monossacarídeos frutose e glicose, e os oligossacarídeos sacarose e frutooligossacarídeos, além de traços de amido e inulina (GRAU; REA, 1997). As raízes contêm entre 10 e 14% de matéria seca, sendo esta composta por aproximadamente 90% de carboidratos (MANRIQUE; PÁRRAGA, 2005). A composição dos açúcares varia de forma significativa em função de fatores como a cultivar, a época de cultivo e a colheita, o tempo e a temperatura na pós-colheita (SEMINARIO; VALDERRAMA, 2003; SANTANA; CARDOSO, 2008).

As ligações que unem as moléculas de frutose são resistentes a ação das enzimas digestivas, e, portanto chegam ao cólon, última porção do intestino, sem passar por nenhuma modificação química. Esta é a razão que o FOS tem uma contribuição calórica baixa no corpo humano (25% a 35% das calorias que provem de outros carboidratos) (MANRIQUE *et al*, 2005).

Além dos diversos benefícios apresentados, FOS, reconhecido como um tipo de fibra solúvel gera outros efeitos favoráveis sobre a digestão: aumenta o peristaltismo, reduz o tempo de trânsito intestinal, ajuda a reter mais água no bolo alimentar e tem um efeito osmótico associado à resposta laxante. Estes efeitos podem contribuir para prevenir e controlar a constipação (MANRIQUE *et al*, 2005).

São utilizadas para enriquecer com fibras produtos alimentares. Diferentemente de outras fibras, não têm sabores adicionais, e podem enriquecer os alimentos sem contribuir muito com a viscosidade. As oligofrutoses são comumente utilizadas em cereais, preparações de frutas para iogurtes, sobremesas congeladas, cookies e produtos lácteos nutricionais. As propriedades nutricionais da inulina e oligofrutoses são similares, assim a decisão de formular com inulina ou oligofrutoses se dá em função dos atributos desejados no produto final (HAULY; MOSCATTO, 2002).

Prebióticos como os frutanos, inulina e frutooligossacarídeos (FOS) estão sendo utilizados, na sua forma isolada ou por meio de alimentos fonte, como ingredientes alimentícios, por razões nutricionais e tecnológicas (ROLIM *et al*, 2010).

O yacon tem sido reportado como uma boa fonte da enzima *peroxidase*, a qual catalisa a oxigenação de compostos fenólicos a quinonas que, após polimerização, apresentam os típicos pigmentos marrons ou pretos, conhecidos da oxidação enzimática de frutas e hortaliças (VALENTOVÁ; ULRICHOVÁ, 2003). Segundo Butler e Rivera (2004), é importante considerar a subcamada da casca quando se estuda o processo de descascamento de yacon, pois é nesta parte da raiz que se concentram os taninos e os polifenóis.

Durante o descascamento e o processamento do yacon, quando as membranas das células são rompidas, os polifenóis e os taninos estão disponíveis para se misturar aos outros componentes, especialmente as enzimas citoplasmáticas, o que pode ocasionar um processo conhecido como oxidação enzimática, e a epiderme torna-se rapidamente escura quando exposta ao ar (VALENTOVÁ; ULRICHOVÁ, 2003). Esta oxidação se dá em presença de oxigênio livre, escurecendo rapidamente a superfície recém-cortada das raízes tuberosas de yacon, prejudicando sua aparência e a de seus produtos. O controle do escurecimento enzimático é geralmente limitado à inibição da enzima, pois inativa-se as enzimas

polifenoloxidase e *peroxidase*, responsáveis pela reação de escurecimento (CABELLO, 2005).

Dos métodos propostos para a prevenção da oxidação, estão: a desidratação, o armazenamento a baixas temperaturas, o tratamento térmico, a utilização de antioxidantes, a eliminação do oxigênio do meio, entre outros (LUPETTI *et al*, 2005). Em experimento de Rivera e Manrique (2005) para processamento de suco de yacon, foram utilizados 1,3g de ácido ascórbico para cada quilograma de extrato de raízes descascadas passadas por centrífuga a fim de controlar o escurecimento da amostra. (SANTANA; CARDOSO, 2008).

Recentemente foi desenvolvido iogurte com extrato de soja e yacon (PAULY-SILVEIRA, 2009), bolo de chocolate e pão com farinha de yacon (PADILHA, 2009; ROLIM, 2010) todos com atributos sensoriais satisfatórios, demonstrando que o desenvolvimento de alimentos ricos em fibras alimentares a partir da raiz do yacon é uma alternativa alimentar, uma vez que, o yacon é fonte de frutanos bioativos que desempenham inúmeras funções benéficas no organismo e não alteraram as características sensoriais do novo produto quando comparado ao convencional.

Materiais e métodos

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Preparação da bebida fermentada

A bebida fermentada foi preparada utilizando leite pasteurizado homogeneizado (tipo B), em seguida foi adicionado o coagulante (Renina) Há-La da Christian Hansen Ind. e Com. Ltda, na proporção de 1 mL diluído em 5 mL de água destilada. As matérias-primas empregadas na fabricação da bebida foram: soro de leite pasteurizado (50%), sacarose (10%), e para a reconstituição do teor de sólidos foi utilizado 25% de leite em pó integral reidratado, adicionada de polpa de yacon, na proporção de 15% da formulação.. Os inóculos foram preparados a partir de culturas de bactérias liofilizadas, os microrganismos probióticos *Bifidobacterium* Bb 12 e *Lactobacillus acidophilus* LA-5(Christian Hansen) . Para preparo da cultura mãe, um grama de cada cultura (contendo $1,0 \times 10^6$ UFC g-1 de cada um dos quatro microrganismos) foi inoculado em 1000mL de leite de vaca UHT.

A fermentação láctica foi realizada em banho maria com controle temperatura (36°C) e o controle do pH até atingir 5,0 monitorado com potenciômetro Micronal B474, no início da fermentação e nos intervalos: 30 minutos, 50 minutos e 180 minutos. Logo após a bebida foi acondicionada em recipiente estéril com tampa rosqueada e armazenada sob temperatura de refrigeração, aproximadamente 6°C ($\pm 1^\circ\text{C}$) conforme apresentado na **(Figura 2)**.

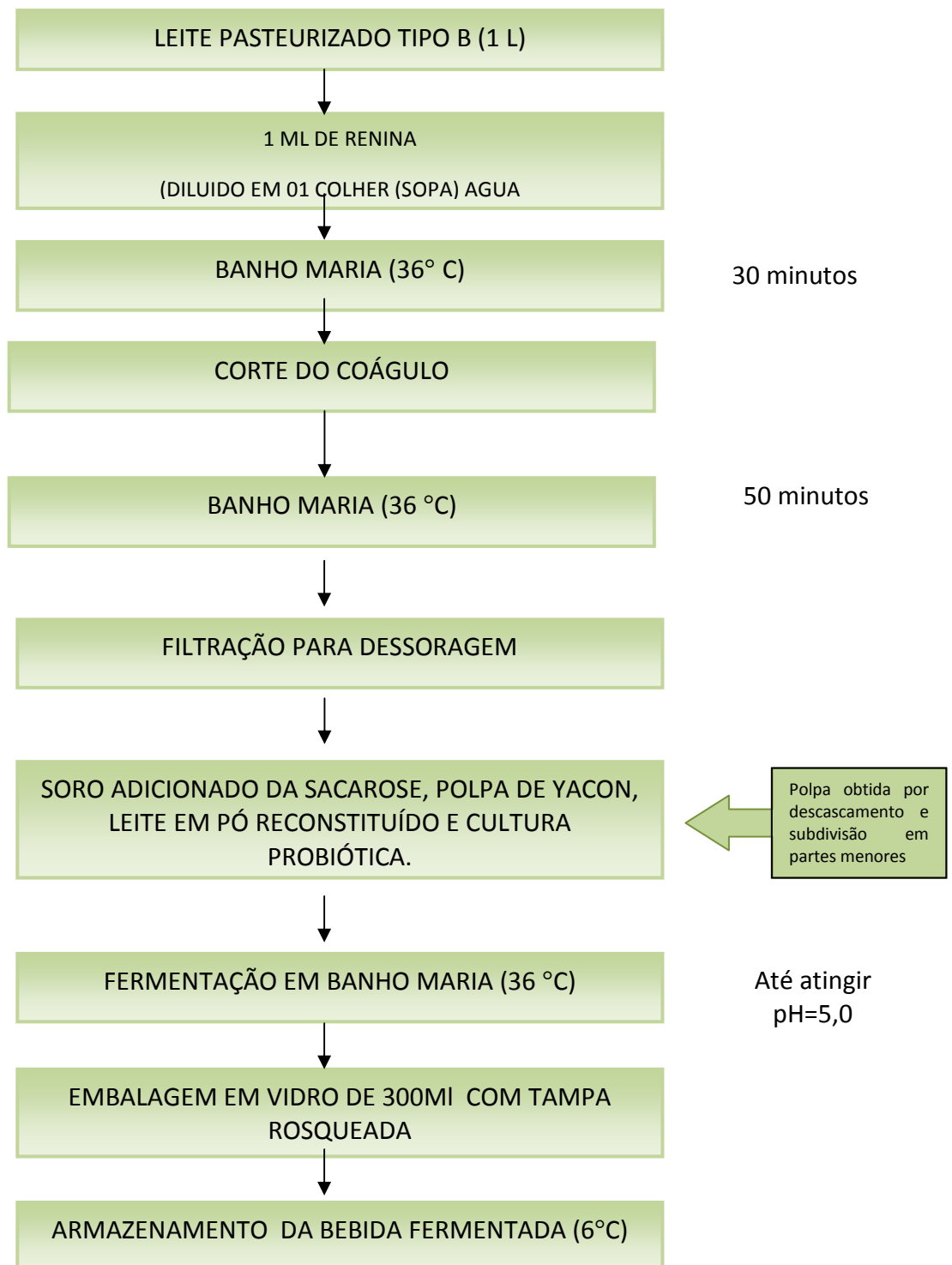


Figura 2- Fluxograma da preparação da bebida fermentada

4.2 Avaliação físico-química

4.2.1 Composição centesimal, pH, brix e acidez

Na caracterização da bebida utilizou-se a metodologia preconizada pela AOAC (2002): umidade (935.29), resíduo mineral fixo (930.22.32.308), proteína (991.20.33.2..11), extrato etéreo (963.15.31.4.02), fibra alimentar total (985.29.45.4.08), frutanos totais (método integrado AOAC, 985.29) adaptado por QUEMENER et al (1994) e QUEMENER et al (1997) e carboidratos por diferença.

E a estabilidade físico-química foi avaliada por meio do pH, brix e acidez(AOAC 2002) durante os tempos 0, 7, 14 e 21 dias de armazenamento.

4.2.2 Análise instrumental da cor

A bebida fermentada também foi avaliada quanto a sua cor, no primeiro dia de armazenamento e em três intervalos de 7 dias (7, 14 e 21 dias). Para isso foi utilizado o sistema CIELAB com base nos três parâmetros estabelecidos: parâmetro L* e as coordenadas cromáticas a* e b* (CMDMC, 2007, LANDIM, 2008).

4.3 Avaliação microbiológica

Para avaliar as condições higiênico sanitárias foram analisadas quanto a presença de coliformes a 45°C/ml e *Salmonella* spp/25ml no tempo zero da fermentação (SILVA *et al*,2010)

4.3.1. Quantificação dos *L. acidophilus* e *B. bifidum*

As contagens de *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* seguiram a técnica preconizada por Cardarelli (2006) conforme descrita abaixo:

Para determinação dos *Lactobacillus acidophilus* La-5, uma amostra de 25 ml da bebida foi diluída em 225 ml de água peptonada estéril 0,1%.Após a diluição foram retiradas alíquotas de 1ml que foram transferida, em duplicata, para placas de Petri estéreis, as quais foi em seguida, adicionada de Agar De Man Rogosa Sharpe (MRS) modificado. A técnica utilizou a semeadura em profundidade, 1 ml de cada diluição inoculada em Agar De Man Rogosa Sharpe (MRS agar, Oxoid Ltda. Basingstoke, Reino Unido) modificado pela substituição de glicose por maltose como principal fonte de carboidratos, conforme descrita

pela *International Dairy Federation* (IDF Standard 306, 1995). Logo após a homogeneização e sedimentação do Agar, as placas foram incubadas em Jarra Gaspak a 37° C ($\pm$ 1) por 48 horas, em câmara de anaerobiose.

Para determinação do *Bifidobacterium bifidum* BB12 uma amostra de 25 ml da bebida foi diluída em 225 ml de água peptonada estéril 0,1%. Em seguida alíquota de 1 ml de amostra foi transferida para dois tubos de ensaio contendo 9 ml de solução de água peptonada estéril 0,1%. Para enumeração de bifidobactérias utilizou-se a técnica de semeadura em profundidade de 1 ml de cada diluição em Agar De Man Rogosa-Sharpe (MRS agar, Oxoid Ltda. Basingstoke, Reino Unido) acrescido de propionato de sódio (0,3% m/v) e cloreto de lítio (0,2% m/v), após três dias de incubação em Jarra Gaspak, sob anaerobiose a 37°C ($\pm$ 1).

Após o tempo de incubação requerido para cada meio de cultura, a contagem dos Lactobacilos e Bifidobactérias foi realizada nos tempos 0,7,14, e 21 dias de armazenamento . A identificação dos referidos microrganismos foi realizada selecionando cinco colônias para o teste de *catalase* e coloração de gram. A contagem dos microrganismos foi determinada em UFC/ mL em função do número de colônias confirmadas e diluição inoculada. (SILVA *et al*, 2010).

4.3.2. Viabilidade dos *L.acidophilus* a condições gástricas e entéricas: *in vitro*

A resistência dos microrganismos aos sucos gástricos e entéricos foi avaliada segundo metodologia sugerida por Liserre *at al*,(2007).

Ao longo do armazenamento, nos tempos 0, 7, 14 e 21 dias, porções de 25 ml da bebida contendo a cultura probiótica foram misturadas a 225 ml de um a solução de NaCl 0,5%, utilizando um “Bag Mixer”. Desta diluição foi retirada uma alíquota de 10 ml e transferida para um solução de NaCl 0,85% adicionadas de 0,5 ml de HCl 1N e de soluções das enzimas pepsina (*Pepsin from porcine stomach mucosa*, Sigma-Aldrich CO. St. Louis, MO, EUA, 0,1 ml) e Lipase (Amano lípase F-AP15, *from Rhizopus oryzae*, Aldrich Chemical Company Inc.Milwaukee, EUA, 0,01 ml), também dissolvidas em NaCl 0,5%, totalizando um conteúdo de 10,53 ml (0,0313 g/L pepsina; 0,0001 mg/L lípase) com pH entre 1,4-1,9, que foi incubado a 37°C por 2h, com agitação de aproximadamente 150 rpm.

A seguir, foram adicionados 0,17 ml de NaCl 0,85% e 2,92 ml de solução de tampão fosfato de sódio pH= 12 contendo bile (Bile bovina, Sigma-Aldrich, 0,0284 g) e pancreatina (*Pancreatin from porcine pâncreas*, Sigma-Aldrich, 0,0028 g), totalizando um conteúdo de 13,63 ml com pH entre 4,3-5,2, que foi reincubado a 37° C ($\pm$ 1) por 2h , com agitação de aproximadamente 150 rpm.

Após 4h do início do ensaio, uma alíquota de 3,5 ml de solução tampão fostato de sódio pH=12, contendo bile(0,035 g) e pancreatina(0,0035 g) foi adicionada, totalizando um volume final de 17,17 ml, com pH entre 6,7-7,5, que foi novamente incubado a 37⁰ C ($\pm$ 1) por 2 horas, com agitação aproximada de 150 rpm., totalizando 6 horas de ensaio.

A retirada das alíquotas da diluição de bebida contendo os sucos gástricos e entéricos simulados ocorreu após 30 min, 2h, 4h, 6h do início do ensaio *in vitro*. Cada ensaio foi realizado em duplicata em alíquotas de 0,1 ml (diluição de 10⁻²), de 0,01 ml (diluição de 10⁻³) e 0,001 ml (diluição de 10⁻⁴).

Para a contagem de *Lactobacillus acidophilus* sobreviventes ao ensaio *in vitro*, alíquotas de 1 ml foram semeadas em superfície de placas contendo Agar MRS modificado e incubadas em jarra Gaspak com Sistema de Anaerobiose Anaerogen, Oxoid a 37⁰C ($\pm$ 1) por 48 horas. Os resultados foram expressos em UFC/ ml em função do número de colônias confirmadas e diluição inoculada.

4.4 Avaliação sensorial

Os testes de aceitação e intenção de compra foram aplicados nos tempos 0, 7, 14 e 21 dias de armazenamento. O termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) para a aplicação da avaliação sensorial desta bebida foi aceita pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da UFPE, conforme consta no Ofício do Comitê de Ética em Pesquisa N^o574/2011 – CEP/CCS – Registro do SISNEP FR-421831 - CAAE – 0170.0.172.000-11 (**Anexo 1**).

No teste de aceitabilidade foi adotada escala hedônica ancorada em 9 pontos (1= Gostei Extremamente, 5= indiferente, 9 = Desgostei Muito) (Mimim, 2006) e a escala da intenção de compra foi 1= sim, 2=não , 3= talvez compraria. (**Anexo 2**).

Cada sessão contou com a presença mínima de 50 provadores não treinados, em geral, alunos e professores dos cursos de graduação do Centro de Ciências da Saúde, em um total de 4(quatro) sessões. Cada provador analisou uma amostra por sessão, sendo que a maioria dos provadores esteve presente em duas ou mais sessões. As amostras (aproximadamente 50 ml) foram servidas à temperatura de refrigeração em copos descartáveis transparentes para facilitar a análise dos atributos sensoriais relativo à aparência.

4.5 Análise estatística

Os dados foram analisados através do teste estatístico ANOVA, seguida do teste de Duncan para comparação entre as médias obtidas, ao nível de 5% de significância, utilizando o programa “*Statistic for Windows 6.0*”.(STATSOFT STATISTICA FOR WINDOWS 6.0).

Resultados e Discussão

RESULTADOS E DISCUSSÃO

ARTIGO

A ser submetido para publicação na Revista Food Microbiology

DESENVOLVIMENTO DE BEBIDA FERMENTADA SIMBIÓTICA: CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS, SENSORIAIS E VIABILIDADE DOS *Lactobacillus acidophilus*.

Mônica de Lucena Lira Aguiar Dias^I

Silvana Magalhães Salgado^{II **}

Nonete Barbosa Guerra^{II}

Alda Verônica Souza Livera^{II}

Samara Alvachian Andrade^{II}

^I Mestranda do Curso de Pós-Graduação em Nutrição, Área de Ciências dos Alimentos, Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

^{II} Docentes do Departamento de Nutrição, Laboratório de Experimentação e Análise de Alimentos- LEAAL - Universidade Federal de Pernambuco -UFPE

**** Endereço para correspondência:**

Rua Mamanguape No. 48, apto 1201- Boa Viagem- Recife – Pernambuco

CEP:51020-250

e-mail:silvanasalgado@ufpe.br

**DESENVOLVIMENTO DE BEBIDA FERMENTADA SIMBIÓTICA:
CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS, SENSORIAIS E VIABILIDADE DOS
Lactobacillus acidophilus.**

RESUMO

A indústria de laticínios busca o desenvolvimento de novos produtos visando ao aproveitamento do soro de leite na produção de bebidas fermentadas funcionais por serem veículos em potencial de probióticos e prebióticos. O objetivo do trabalho foi desenvolver e avaliar as características físico-químicas, sensoriais e a viabilidade dos *Lactobacillus acidophilus* até 21 dias de estocagem refrigerada da bebida à base de soro de leite (50%), sacarose (10%), leite em pó integral reidratado (25%), adicionada de polpa de yacon (15%) e culturas de *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus acidophilus* – La 5 e *Bifidobacterium bifidum* BB12. Foi determinado coliformes, salmonella SP, cor, pH, acidez, proteína, extrato etéreo, cinzas, fibra alimentar total, frutanos totais e carboidratos por diferença. A contagem dos *Lactobacillus acidophilus* LA-5 e *Bifidobacterium bifidum* BB12 foi realizada em meio AGAR MRS modificado. A resistência dos *Lactobacillus acidophilus* foi avaliada *in vitro* simulando as condições gástricas e entéricas. Foram realizados testes de aceitação e intenção de compra aplicada nos tempos 0, 7, 14 e 21 dias de armazenamento. Os resultados demonstraram que não houve crescimento de salmonella spp. e coliformes. A bebida caracterizou-se como bebida láctea fermentada desnatada segundo a Legislação Nacional. A presença de frutoligossacarídeos do yacon e de *L. acidophilus* LA-5 e *B. bifidum* BB-12 na bebida resultou na contagem satisfatória dos probióticos até os 21 dias de estocagem, embora a resistência dos *Lactobacillus acidophilus* aos ácidos gástricos e sais biliares tenha atendido à alegação de propriedade funcional até a primeira semana de armazenamento. Conclui-se que a aceitabilidade e funcionalidade da bebida foram evidenciadas durante sete dias de armazenamento e a atitude dos consumidores foi positiva quanto à intenção de compra, possibilitando boas perspectivas para futura produção comercial.

Palavras-Chave: probiótico, yacon, bebida láctea, análise sensorial.

SIMBIOTIC LEAVEND DRINK DEVELOPMENT:CHARACTERISTICS FISIC-CHEMISTRY, SENSORY AND VIABILITY OF *the Lactobacillus acidophilus*

ABSTRACT

The dairy industry seeks to develop new products aimed at the serum of milk usage in the production of fermented beverages once they are potential means for probiotics and prebiotics. The study ocused to evaluate the physical-chemical characteristics, sensory and viability of *Lactobacillus acidophilus* as the drink was in until 21 days refrigerated storage with a bases on serum of milk (50%), saccharose (10%), fully rehydrated powdered milk (25 %), adding pulp of yacon (15%) and cultures of *Streptococcus thermophilus* *Lactobacillus acidophilus* – 5e La *Bifidobacterium bifidum* BB12. It was determined coliforms, salmonella SP, color, pH, acidity, protein, ether extract, ash, total dietary fiber, fructans and total carbohydrates by difference. The counting of *Lactobacillus acidophilus* LA-5 and *Bifidobacterium bifidum* BB12 was carried out in modified means of AGAR MRS. The resistance of *Lactobacillus acidophilus* was evaluated in vitro simulating gastric and enteric conditions. Tests of acceptance and purchase intent were applied in time 0, 7, 14 and 21 days of storage. The results shown that there was no growth of *Salmonella* spp. And coliforms. The beverage was characterized as fermented lactic drink skimmed according to National Legislation. The presence of frutoligossacarídeos yacon and *L. acidophilus* LA-5 and *B.bifidum* BB-12 in the drink resulted in satisfactory counting of probiotics until the 21st day of storage, although the resistance of *Lactobacillus acidophilus* to gastric acids and bile salts has met the functional property allegation until the first week of storage. This provides to conclude that the drink acceptance and functionality were evidenced in seven days of storage and the consumers acceptance was positive in their intention of purchasing, which makes possible to expect good prospects for future commercial production.

Key words: probiotic, yacon, milk drink, sensory analysis.

1. INTRODUÇÃO

A indústria de alimentos, nos tempos atuais, busca a inserção de novas tecnologias, principalmente visando ao aproveitamento de resíduos. Quando o cenário é para a indústria de queijos, em grande expansão, verifica-se a necessidade de maior incentivo ao aproveitamento do soro do leite em função do seu valor nutricional e considerável volume de produção.

Neste contexto, a substituição parcial de leite por soro de leite na produção de bebidas lácteas é uma das principais opções de aproveitamento do lactosoro no Brasil, cujas bebidas fermentadas são as mais comercializadas (JARDIM *et al.*, 2009).

Outra nova tendência que vem se apresentando é a produção de iogurtes e leites fermentados funcionais que além de grande aceitação pelo público em geral, apresentam excelente valor nutritivo e são veículos em potencial para o consumo de probióticos (ANTUNES *et al.*, 2007; KRÜGER *et al.*, 2008).

Além dos benefícios nutricionais, as culturas probióticas podem também melhorar o sabor do produto final, promovendo menor acidificação durante o armazenamento, pós-processamento (GOMES; MALCATA, 1999). Bactérias probióticas, especificamente bifidobactérias e lactobacilos são habitantes normais do trato intestinal humano, e, portanto, são as mais empregadas na produção de alimentos probióticos (SAAD, 2006).

A dose mínima diária da cultura probiótica considerada terapêutica é de 10^8 a 10^9 UFC, correspondente ao consumo de 100 g de produto. Valores de 10^6 a 10^7 UFC/g são aceitáveis, desde que comprovados os benefícios. Tais concentrações de micro-organismos probióticos viáveis devem ser mantidas constantes, ao longo do armazenamento do produto (MARUYAMA *et al.*, 2006).

Nas indústrias lácteas a combinação de carboidratos bioativos e micro-organismos probióticos já é uma realidade, sendo esse cenário delineado porque os consumidores estão cada vez mais preocupados com a saúde, e os alimentos funcionais são uma prioridade de pesquisa em todo o mundo, com o objetivo de estudar as propriedades e os efeitos benéficos desses produtos à saúde e ao bem-estar (BELCHIOR, 2004).

Nas últimas décadas, o yacon tem sido alvo de pesquisa por apresentar compostos bioativos de importância à saúde humana (RIVERA; MANRIQUE, 2005). Sua composição tem como principais substâncias água e carboidratos, os quais são armazenados principalmente sob forma de frutooligossacarídeos (FOS), entre outros açúcares livre. (SANTANA; CARDOSO, 2008; ANTUNES, 2001; SILVA, 2007). Estudos demonstram a

potencialidade dos frutanos do yacon e culturas probióticas no desenvolvimento de iogurte (PAULY-SILVEIRA, 2009).

Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi desenvolver bebida láctea simbiótica e avaliar as propriedades físico-químicas, sensoriais e a viabilidade de *Lactobacillus acidophilus*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

-Processamento da bebida

A bebida fermentada foi preparada utilizando leite pasteurizado homogeneizado (tipo B), em seguida foi adicionado o coagulante (Renina) Há-La da Christian Hansen Ind. e Com. Ltda, na proporção de 1 mL diluído em 5 mL de água destilada. As matérias-primas empregadas na fabricação da bebida foram: soro de leite pasteurizado (50%), sacarose (10%), e para a reconstituição do teor de sólidos foi utilizado 25% de leite em pó integral reidratado, adicionada de polpa de yacon, na proporção de 15% da formulação. Os inóculos foram preparados a partir de culturas de bactérias liofilizadas, os microrganismos probióticos *Bifidobacterium* Bb 12 e *Lactobacillus acidophilus* LA-5 (Christian Hansen). Para o preparo da cultura mãe, um grama de cada cultura (contendo $1,0 \times 10^6$ UFC g⁻¹ de cada um dos microrganismos) foi inoculado em 1000mL de leite de vaca pasteurizado.

A fermentação láctica foi realizada com controle de temperatura (36°C) e o controle do pH até atingir 5,0, monitorado com potenciômetro Micronal B474, no início da fermentação e nos intervalos: 30 minutos, 50 minutos e 180 minutos. Logo após, a bebida foi acondicionada em recipiente estéril com tampa rosqueada e armazenada sob temperatura de refrigeração, aproximadamente 6°C ($\pm 1^\circ\text{C}$).

-Ensaio físico-químico e microbiológico

A bebida foi armazenada em temperatura de 6°C (± 1), embalada em vidros transparentes com tampa rosqueada, mantida sob refrigeração por 21 dias. Amostras foram retiradas para as análises físico-químicas de pH, acidez titulável, percentual de proteína, extrato etéreo, cinzas, fibra alimentar total, frutanos totais (método integrado AOAC, 2002) adaptado por QUEMENER *et al* (1994) e QUEMENER *et al* (1997), e carboidratos por diferença.

Para avaliar as condições higiênico-sanitárias do processamento foram determinados Coliformes a 45°C/mL e *Salmonella* spp/25mL (SILVA *et al*, 2010).

A bebida fermentada também foi avaliada quanto a sua cor, no primeiro dia de armazenamento e em três intervalos de 7 dias (7, 14 e 21 dias). Para isso, foi utilizado o sistema CIELAB com base nos três parâmetros estabelecidos: parâmetro L* e as coordenadas cromáticas a* e b*(LANDIM, 2008).

A contagem dos *Lactobacillus acidophilus* LA-5, 25 mL na bebida baseou-se na metodologia de Cardarelli(2006). A bebida foi diluída em água peptonada estéril 0,1%. Após a diluição, alíquotas de 1 mL foram transferidas em duplicatas, para placas de Petri adicionadas de Agar(MRS) modificado, utilizando semeadura em profundidade, 1 mL de cada diluição em Agar(MRS Agar, Oxoid Ltda. Basingstoke, Reino Unido) modificado pela substituição de glicose por maltose, conforme descrita pela *International Dairy Federation*(IDF Standard 306, 1995). Logo após, as placas foram incubadas a 37° C ($\pm$ 1) por 48 horas, em anerobiose. (CARDARELLI, 2006)

Para determinação do *Bifidobacterium bifidum* BB12, utilizou-se 25 ml da bebida foi diluída água peptonada estéril 0,1%. Em seguida, alíquotas de 1 mL de amostra foram transferidas para dois tubos de ensaio contendo 9 mL de solução de água peptonada estéril 0,1%. Para enumeração de bifidobactérias utilizou-se a técnica de semeadura em profundidade de 1 mL de cada diluição em Agar (MRS Agar, Oxoid) acrescido de propionato de sódio (0,3% m/v) e cloreto de lítio (0,2% m/v), após 72 horas de incubação em anaerobiose a 37°C ($\pm$ 1)(CARDARELLI, 2006).

A identificação dos referidos microrganismos foi realizada selecionando cinco colônias para o teste de catalase e coloração de gram. A contagem dos microrganismos foi determinada em UFC/ mL em função do número de colônias confirmadas e diluição inoculada (SILVA *et al*, 2010).

A resistência do *Lactobacillus acidophilus* aos sucos gástricos e entéricos foi avaliada segundo metodologia sugerida por Liserre *at al*,(2007). Ao longo do armazenamento, porções da bebida contendo a cultura probiótica foram misturadas à solução de NaCl 0,5%, utilizando um “Bag Mixer”. Uma alíquota de 10 mL foi retirada e transferida para solução de NaCl 0,85% adicionadas de 0,5 mL de HCl 1N e de soluções das enzimas pepsina (Pepsin from porcine stomach mucosa, Sigma-Aldrich CO. St. Louis, MO,EUA, 0,1 mL) e Lipase (Amano lipase F-AP15, from *Rhizopus oryzae*, Aldrich Chemical Company Inc.Milwaukee, EUA, 0,01 mL), dissolvidas em NaCl 0,5%, com pH entre 1,4-1,9, sendo incubado a 37°C por 2h, com agitação de aproximadamente 150 rpm. Em seguida, foi adicionado NaCl 0,85% e solução de tampão fosfato de sódio pH= 12 contendo bile (Bile bovina, Sigma-Aldrich, 0,0284 g) e pancreatina (Pancreatin from porcine pâncreas, Sigma-Aldrich, 0,0028 g), com

pH entre 4,3-5,2, sendo reincubado a 37°C (± 1) por 2h, com agitação de aproximadamente 150 rpm.

Após 4 h do início do ensaio, uma alíquota de 3,5 mL de solução tampão fosfato de sódio pH=12, contendo bile e pancreatina foi adicionada com pH entre 6,7-7,5, que foi novamente incubado a 37°C (± 1) por 2 horas, com agitação aproximada de 150 rpm, para um total 6 horas de ensaio.

A retirada das alíquotas da diluição de bebida contendo os sucos gástricos e entéricos, simulados, ocorreu após 30 min, 2h, 4h, 6h do início do ensaio *in vitro*. Cada ensaio foi realizado em duplicata. Para a contagem de *Lactobacillus acidophilus* sobreviventes ao ensaio *in vitro*, alíquotas de 1 mL foram semeadas em superfícies de placas contendo Agar MRS modificado e incubadas em jarra Gaspak (Sistema de Anaerobiose Anaerogen, Oxoid) a 37°C (± 1) por 48 horas. Os resultados foram expressos em UFC/ mL em função do número de colônias confirmadas e diluição inoculada.

- Análise sensorial

Foram realizados testes de aceitação com escala hedônica de 9 pontos (MIMIN, 2006)) e intenção de compra (ancorada em 3 pontos: 1=sim, 2=não, 3=talvez) que foram aplicados nos tempos 0, 7, 14 e 21 dias de armazenamento. Para a realização desta etapa, o trabalho foi submetido e aprovado pelo CEP/CCS/UFPE, sob N^o 574/2011–Registro do SISNEP FR-421831 - CAAE – 0170.0.172.000-11.

Cada sessão contou com a presença mínima de 50 provadores não treinados, totalizando quatro sessões. As amostras (aproximadamente 50 ml) foram servidas à temperatura de refrigeração em copos descartáveis transparentes.

Os dados foram analisados através do teste estatístico ANOVA, seguido do teste de Duncan para comparação entre as médias obtidas, em nível de 5% de significância, utilizando o programa “Statistic for Windows 6.0”.

3.RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Ensaio físico-químicos

Os valores de proteína correspondentes à composição da bebida fermentada (Tabela 1) estão de acordo com a legislação: mínimo 1,7g/100g de proteína de origem láctea (BRASIL,

2000). Ademais, o valor nutricional do soro do leite é indiscutível pela qualidade nutricional das proteínas que apresentam digestibilidade em torno de 95% (ANTUNES, 2003).

Os teores de lipídeos 0,5g/100 mL do produto o caracterizam como desnatado, segundo a legislação (BRASIL, 2007), cuja base láctea apresenta um conteúdo de matéria gorda máximo de 0,5 g/100 g de produto.

No que se refere ao valor obtido para cinzas, observa-se resultado inferior a 1%, provavelmente pela presença de constituintes como: cálcio, fósforo, potássio e sódio (THAMER;PENNA, 2006; JARDIM *et al.*, 2009).

Tabela 1- Composição Centesimal da Bebida Fermentada Simbiótica

ENSAIOS	VALORES
Umidade (g/100ml)	82,03±0,02
Proteínas (g/100ml)	1,86±0,01
Lipídeos (g/100ml)	0,50±0,01
Resíduo Mineral Fixo (g/100ml)	0,84±0,00
Fibra Alimentar Total (g/100ml)	0,35±0,02
Frutanos Totais (g/100ml)	0,24±0,03
Carboidrato (g/100ml)	14,42±0,00
Valor Calórico (Kcal/100ml)	69,62±0,00

± - Desvio Padrão

ml- Mililitro

Conforme descrito por Menezes e Lajolo (2005), os frutanos não são mensurados pelo método oficial de determinação da fibra alimentar, razão pela qual se utilizou o método integrado de Quemener *et al* (1994) e Quemener *et al* (1997) para sua determinação.

De acordo com Padilha (2009), a época do cultivo e colheita do yacon, o estágio de maturação influencia o teor de frutanos, uma vez que aqueles de maior peso molecular podem ser hidrolisados em moléculas menores para serem utilizadas como fonte de energia nos processos de respiração e transpiração (SEMINARIO E VALDERRAMA, 2003; CARVALHO *et al*, 2004; SANTANA E CARDOSO, 2008).

O teor de frutano da bebida foi de 68,57% do total de fibra alimentar comprovando as potencialidades do yacon no desenvolvimento de novos produtos alimentícios funcionais. A alegação de promoção de saúde preconizada pela ANVISA(1999) é um mínimo de fibra 1,5 g/porção. Na referida bebida fermentada, o teor de fibra total corresponde a 50%, menor que a recomendação, fato que poderá contribuir com efeitos desejáveis à saúde do consumidor

como a modificação da microbiota intestinal e indução de efeitos sistêmicos na luz intestinal do hospedeiro (SAAD *et al*, 2011).

Na Tabela 2 a pós-acidificação durante os 7 primeiros dias se apresentou um pouco mais intensa quando comparado ao 21º dia. Esta constatação pode ser explicada pelo consumo de lactose, resultando na produção de ácido láctico, devido à alta atividade metabólica das bactérias lácteas a pH 5,0 e temperatura entre 0 e 5°C (BEAL *et al*, 1999). Kempka *et al.*, (2008), analisaram as características físico-químicas de bebida láctea fermentada e observaram comportamento semelhante, quanto a queda do pH e o aumento na acidez titulável durante armazenamento por 22 dias em refrigeração.

Tabela 2- Estabilidade físico-química da bebida fermentada armazenada durante 21 dias sob refrigeração.

ANÁLISE	TEMPO (DIAS)			
	0	7	14	21
pH	4,73±0,02a	4,51±0,02b	4,44±0,01c	4,39±0,01c
%Ácido Láctico	0,24±0,01c	0,36±0,01b	0,38±0,01ab	0,40±0,01a
Sólidos Solúveis	14,0±0,0a	14,0±0,0a	14,0±0,0a	14,0±0,0a
Totais				

Letras iguais na horizontal não diferem estatisticamente (p>0,05) pelo teste de Duncan

Ainda na Tabela 2, observa-se que ao final da vida útil, os valores máximos de variação foram de 0,34 unidades de pH. Esta variação não foi maior em função do tipo de combinação dos micro-organismos, pois a associação entre *Bifidobacterium spp.* e *S.thermophilus*, acarreta numa menor produção de ácido acético pelas bactérias probióticas (ORDÓÑEZ *et al*, 2005; FIORENTINI *et al*, 2011).

Ao longo do período de estocagem, registraram-se diferentes teores de ácido láctico na bebida, apresentando resultado menos intenso nos primeiros dias de armazenamento, aumentando no decorrer do processo de fermentação. Esta variação (tabela 2) pode ser justificada em decorrência da multiplicação das bactérias lácticas por meio do mecanismo de pós-acidificação. Observa-se que resultado idêntico foi registrado por Oliveira *et al.*,(2002).

O teor de sólidos solúveis totais da bebida (Tabela 2) não foi alterado durante a vida de prateleira, demonstrando uma homogeneidade da fabricação em todas as etapas do processamento, o que é ideal para manter a qualidade do produto final. Estudo realizado por SAAD (2011) observou-se que alterações podem estar relacionadas com a embalagem, sendo prudente que a indústria realize testes de migração na embalagem considerando que as alterações no alimento poderão ser detectadas.

Com relação à cor da bebida, as coordenadas de cromaticidade L^* , a^* e b^* foram influenciadas ($p < 0,05$) pelo tempo de armazenamento da bebida, cuja coordenada e valores negativos de a^* (associada à dimensão verde-vermelho) nos tempos 0 e 21, diferiram de forma significativa dos tempos 7 e 14 dias, enquanto na coordenada b^* (associada à dimensão azul-amarelo) as maiores faixas foram nos primeiros dias de armazenamento (Tabela 3).

A cor da bebida está relacionada à presença de pigmentos na matéria-prima (yacon) e, portanto, passível de variações sazonais. A bebida fermentada apresentou característica de cor levemente amarelada, com valores positivos que corroboram com a coordenada b^* encontrada na análise instrumental (Tabela 3). Os parâmetros de cor da bebida apresentaram modificações na superfície de forma mais pronunciada no tempo 14 dias, com os parâmetros (L^* e b^*) apresentando diferenças estatísticas ($p < 0,05$). A diferença total de cor (ΔE) da bebida foi superior aos 14 dias, principalmente devido ao valor de L da amostra nesta etapa do armazenamento. Observa-se que valor de b^* foi o índice que mais variou em todos os tratamentos. Esta variação durante o armazenamento se deve aos diferentes processamentos que foram realizados no decorrer do estudo.

Tabela 3 – Colorimetria da bebida fermentada

COORDENADAS	TEMPO (DIAS)			
	0	7	14	21
L	88,27±0,32a	89,32±0,1a	74,75±0,35c	81,26±0,92b
a^*	-4,45±0,07b	-4,22±0,04c	-4,13±0,03c	-4,63±0,07a
b^*	13,55±0,07a	12,27±0,95a	7,26±0,15c	9,22±0,11b
ΔE^*	-	1,67	14,91	8,24

Letras iguais na horizontal não diferem estatisticamente ($p > 0,05$) pelo teste de Duncan

Considerando que a embalagem utilizada no estudo foi vidro transparente, pode ocorrer passagem de luz que interfere na coloração por ação do processo de escurecimento oxidativo, pois a presença de compostos fenólicos, como o ácido clorogênico e do aminoácido L-triptofano no *yacon*, o torna suscetível à reação de escurecimento causada pelas enzimas *peroxidase* (POD) e *polifenoloxidase* (PPO) (ROLIN *et al*, 2010).

Outros fatores como a associação de micro-organismos, a formulação do produto, o tempo de armazenamento e as variações de pH (MOREIRA *et al*, 1999; OLIVEIRA, 2006), podem também atuar na modificação da coloração de alimentos lácteos fermentados pelos efeitos provenientes das condições de processamento (GONÇALVES, 2009).

3.2 Ensaios microbiológicos

No que diz respeito às análises microbiológicas, todas as formulações, independentemente da sua constituição, não apresentaram crescimento de *Salmonella* spp. e de bactérias do grupo coliforme, garantindo a segurança higiênico-sanitária dos produtos elaborados de acordo com o tratamento térmico empregado.

A contagem das bactérias probióticas encontra-se na tabela 4. A condição ótima para o crescimento destas bactérias ocorre numa faixa de pH específica, dependendo da espécie. Portanto, faz-se necessário a quantificação separada dos probióticos utilizados. Silva et al. (2001) observaram valores inferiores de culturas lácteas quando a contagem total de microrganismos viáveis não foi conduzida de forma individual.

Quadro 1 – Crescimento de *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacteria bifidum* na Bebida Fermentada armazenada sob refrigeração por 21 dias.

TEMPO (DIAS) MICRO-ORGANISMO	ZERO (UFC/mL)	SETE (UFC/mL)	QUATORZE (UFC/mL)	VINTE E UM (UFC/mL)
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	$1,6 \times 10^9$	$2,1 \times 10^9$	$0,2 \times 10^7$	$2,36 \times 10^9$
<i>Bifidobacterium bifidum</i>	$2,0 \times 10^9$	$4,2 \times 10^8$	NI	$2,64 \times 10^9$

NI- Não Identificado

UFC-Unidade Formadora de Colônia

Observa-se no quadro 1 que os lactobacilos desenvolveram-se melhor nas condições de pH da bebida, pois são considerados acidúricos por crescerem usualmente em pH entre 5,5 e 6,2, mas podem se desenvolver em pH inferior a 5,0 (OLIVEIRA, 2006), enquanto as bifidobactérias, apesar de serem mais exigentes quanto ao pH, seu substrato ideal são os frutooligossacarídeos -FOS, portanto, estes carboidratos são referidos como fatores bifidogênicos (SHAH, 2001; THAMER; PENNA, 2005). Além disto, algumas cepas de *Lactobacillus acidophilus* aproveitam aminoácidos e peptídeos no soro do leite, aumentando

sua sobrevivência (McCOMAS JR; GILLILAND, 2003; LISERRE *et al*, 2007; BURITI, 2008).

Aos 14 dias de armazenamento, (tabela 4), ocorreu uma diminuição do número de bactérias, principalmente dos bífidos por serem estritamente anaeróbias e mais sensíveis ao ácido láctico produzido pelo processo de fermentação (KRÜGER *et al*, 2008; GONÇALVES; EBERLE, 2008), o mesmo constatado em estudo realizado por Fiorentini *et al.*,(2011). A recuperação das bifidobactérias aos 21 dias pode ter decorrido do conteúdo de frutooligossacarídeos (FOS) utilizado como fonte nutricional ao longo do armazenamento.

Segundo Krüger *et al.*,(2008) a contagem ideal de probióticos recomendada para bebidas lácteas fermentadas é de 10^6 - 10^7 células viáveis/mL e a Legislação Brasileira (BRASIL, 1999) vigente preconiza 10^6 UFC/porção(120mL) da bebida.

De uma maneira geral a contagem final de células viáveis na bebida fermentada, após 21 dias em refrigeração, mostrou-se dentro dos limites recomendados para este produto, tornando-se promissora a combinação de yacon com culturas probióticas na elaboração de laticínios. Pesquisas atuais têm focado a proteção e viabilidade das culturas probióticas durante a produção, armazenamento e passagem do produto pelo trato gastrointestinal. Os estudos demonstram que as culturas podem ser significativamente protegidas pelas proteínas do leite, carboidratos prebióticos e microencapsulação, utilizando quitosana, alginato de sódio, entre outros (KOMATSU *et al*, 2008).

Grosso e Fávaro-Trindade (2004), observaram uma boa viabilidade dos *L. acidophilus* em leite e em leite acidificado, semelhante aos resultados encontrados neste trabalho aos 7 dias de armazenamento (Tabela 4). Estudo semelhante foi realizado por BURITI *et al*, (2010) ao combinar *L. acidophilus* e o frutano inulina em musses de goiaba resultando na sobrevivência do probiótico também na primeira semana de estocagem.

A ANVISA RDC 18/99 alega que a quantidade mínima viável para os probióticos deve ser na faixa 10^8 e 10^9 UFC/porção. Valores menores podem ser aceitos desde que se comprove a eficácia a partir de testes de resistência da cultura utilizada no produto à acidez gástrica e aos sais biliares.

Segundo Matsubara (2001), o produto deve iniciar uma contagem de 10^9 UFC/g da porção, para que, ao final da digestão gástrica, apresente cerca de 10^4 a 10^6 UFC até o intestino.

Tabela 4– Viabilidade *in vitro* dos *L. acidophilus* da Bebida Fermentada armazenada por 21 dias

TEMPO DE ARMAZENAMENTO (DIAS)	0	7	14	21
TEMPO DE DIGESTÃO (HORAS)	(UFC/ml)	(UFC/ml)	(UFC/ml)	(UFC/ml)
30 min.	$9,0 \times 10^6$	$1,47 \times 10^8$	$2,8 \times 10^8$	$1,5 \times 10^3$
1 h	$3,2 \times 10^2$	$3,0 \times 10^4$	$2,0 \times 10^2$	NI
2 h	$4,4 \times 10^3$	$2,5 \times 10^2$	$1,1 \times 10^2$	NI
4 h	$1,7 \times 10^3$	$1,0 \times 10^3$	$0,4 \times 10^2$	NI
6 h	$4,5 \times 10^3$	$1,0 \times 10^6$	$1,3 \times 10^2$	NI

UFC= Unidade Formadora de Colônia

NI= Não Identificado

Alguns fatores são responsáveis pela perda de viabilidade dos micro-organismos probióticos em produtos lácteos, a exemplo a permeabilidade da embalagem utilizada, o nível de oxigênio nos produtos durante o armazenamento refrigerado, a sensibilidade às substâncias produzidas pelas bactérias (SHAH, 2001; THAMER; PENNA, 2005). Manter a viabilidade da bactéria probiótica durante o armazenamento representa um desafio tecnológico significativo, pois os alimentos fermentados têm um pH baixo, o que resulta em produtos com menor vida de prateleira.

A temperatura de armazenamento influencia a sobrevivência de probióticos conforme demonstrou Conrad *et al* (2000) relatando que o congelamento estabiliza os micro-organismos, quando comparada à refrigeração. Este aspecto também foi constatado por Buriti (2008) em musses simbióticas, armazenadas sob congelamento.

De acordo com Ballus *et al* (2010), os lactobacilos possuem capacidade de resistir ao ácido, o que é atribuída à presença de gradiente constante entre o pH extracelular e o pH citoplasmático, no entanto, no momento em que o pH do citoplasma celular atinge seu limite, as funções celulares são inibidas e a célula morre.

A partir do sétimo dia de armazenamento o pH da bebida variou de 4,51 a 4,39 (Tabela 2), fato que possivelmente contribuiu para reduzir a sobrevivência do *L. acidophilus*. Ademais se observa na tabela 5 que a partir dos 30 minutos do processo de digestão *in vitro*, houve um decréscimo de 6 UFC/ml na sobrevivência do probióticos no tempo zero de armazenamento. Esta constatação pode ser atribuída à etapa gástrica da metodologia empregada que é decisiva para garantir a viabilidade do microrganismo até o final do ensaio (BURITI, 2008).

3.3 Análise sensorial e intenção de compras

O perfil dos provadores que participaram em todos os blocos da análise sensorial da bebida fermentada aponta que 12,6% foram do sexo masculino e 87,4% do sexo feminino. A média de idade dos provadores foi de 22 (para o gênero feminino) e de 21 (para o gênero masculino) em anos e a mediana de 21 anos.

A análise sensorial aplicada à bebida fermentada indicou que o tempo e o pH causaram alterações significativas na aceitabilidade ao longo do armazenamento refrigerado. As médias das notas adotadas na escala hedônica ancorada em 9 pontos (1= Gostei Extremamente, 5= Indiferente, 9 = Desgostei Muito) variaram entre gostei ligeiramente e desgostei ligeiramente (4,97 e 5,95) (Figura 1).

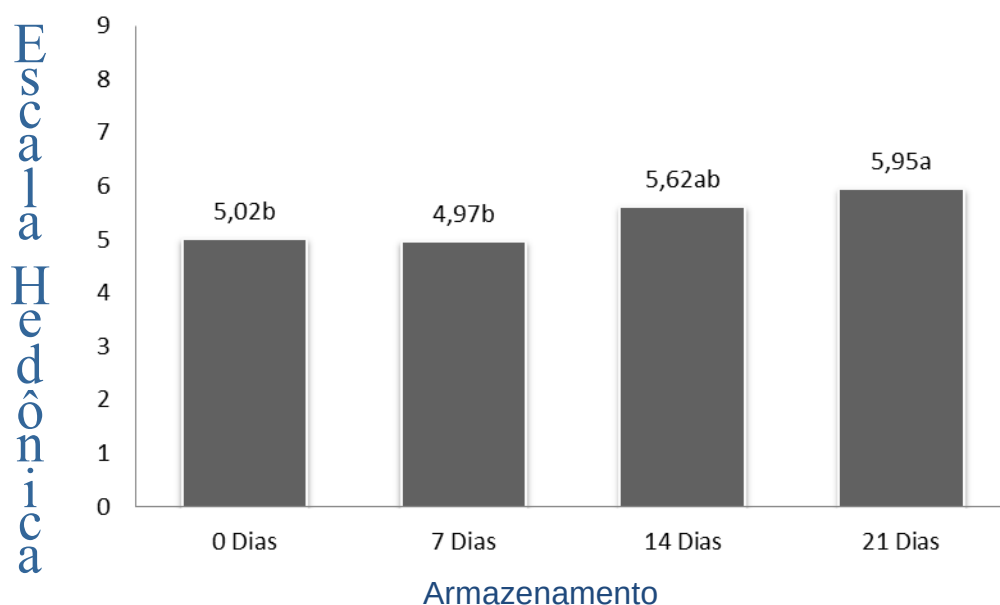


Figura 1 - Média das notas obtidas durante a análise sensorial da bebida fermentada

Letras iguais não diferem significativamente ao nível de 5% de significância pelo teste de Duncan.

Aos 21 dias de armazenamento a acidificação da bebida resultou em maior aceitabilidade com 65,9% das respostas dos provadores posicionadas entre **Indiferente** e **Desgostei Ligeiramente**. Segundo Thamer e Penna (2005), a produção de ácido define as características de qualidade e vida de prateleira do produto, ou seja, um alimento fermentado probiótico deve atingir até pH 4,6, próximo ao obtido neste estudo, para garantir um sabor suave e evitar efeitos adversos do pH baixo sobre as bactérias probióticas. Além disto, os produtos acidófilos são apreciados por um grupo restrito de consumidores, o que pode ter contribuído para a aceitabilidade da bebida (Figura 2).

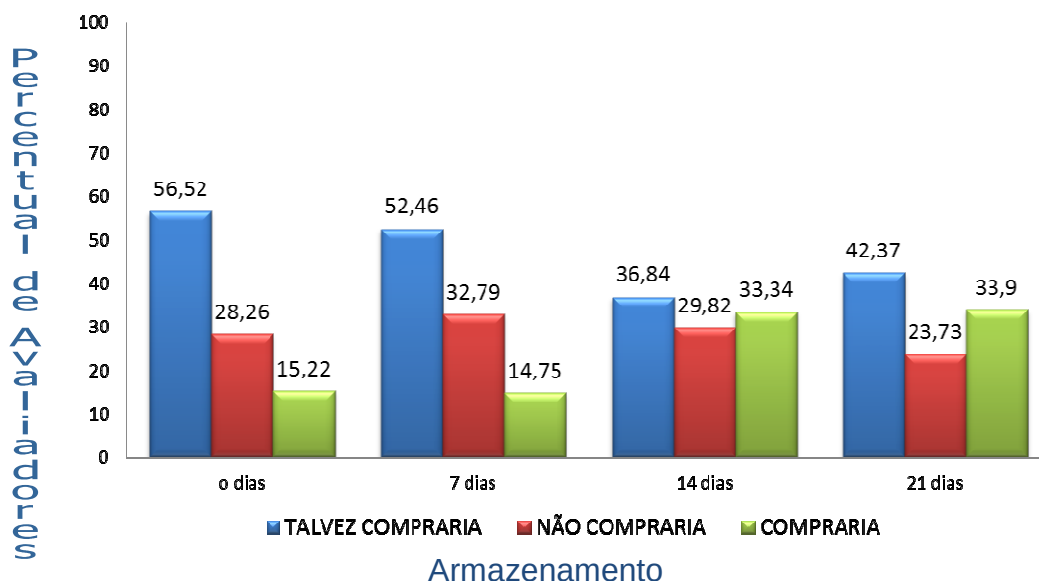


Figura 2 – Percentual de intenção de compras da bebida fermentada durante o armazenamento

Em todas as etapas da avaliação da bebida fermentada o percentual de intenção de compras “talvez compraria” foi mais elevado (Figura 2). Aos 14 e 21 dias, o percentual de “compraria” aumentou demonstrando que o comportamento dos consumidores apresenta tendência de maior aceitabilidade da bebida aos 21 dias.

Pesquisas sobre a atitude do consumidor em relação aos produtos probióticos informam que é crescente o interesse pelo consumo de alimentos funcionais que beneficiam a saúde. Entretanto, há consenso de que existe pouco conhecimento da população sobre os funcionais e os benefícios de sua ingestão independente do sexo, idade e nível educacional e econômico (VIANNA *et al*, 2008).

4. CONCLUSÕES

Os resultados do presente trabalho demonstraram que a bebida simbiótica caracterizou-se como bebida láctea fermentada desnatada, segundo a Legislação Nacional.

A presença de frutoligossacarídeos do yacon e de *L. acidophilus* LA-5 e *B.bifidum* BB-12 na bebida resultou na contagem satisfatória dos probióticos até os 21 dias de estocagem, embora a resistência dos *Lactobacillus acidophilus* aos ácidos gástricos e sais biliares tenham atendido à alegação de propriedade funcional até a primeira semana de armazenamento.

De uma maneira geral a aceitabilidade e funcionalidade da bebida foram evidenciadas durante sete dias de armazenamento e a atitude dos consumidores foi positiva quanto à intenção de compra, possibilitando boas perspectivas para futura produção comercial deste produto.

5. REFERÊNCIAS

ANTUNES, A.E.C. MARASCA, E.T.G. MORENO, I.; DOURADO, F.M. ; RODRIGUES, L.G.; LERAYER, A.L.S. Desenvolvimento de buttermilk probiótico. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 27, n. 1, p.83-90, 2007.

ANTUNES, A.J. Funcionalidade de proteínas do soro de leite bovino, 1ª. ed., Editora Manole Ltda., 2003. 135p.

ANTUNES, L.A.F. Microorganismos probióticos e alimentos funcionais, **Revista Indústria Laticínios**, São Paulo, v.6.n.34, p.30-34, 2001.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC. **Official methods of analysis of the association analytical chemists**. 18. ed. Maryland: AOAC, 2002.

BEAL, C.; SKOKANOVA, J.; LATRILLE, E.; MARTIN, N.; CORRIEU, G. Combined effects of culture conditions and storage time on acidification and viscosity of stirred yogurt. **Journal of Dairy Science**, v. 82, n. 4, p. 673-681, 1999.

BELCHIOR, F.; O ingrediente do lácteo saudável. **Leite e Derivados**, São Paulo, v. 13, n. 76, p. 54-64, 2004.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regulamento técnico de identidade e qualidade de bebidas lácteas**. Instrução Normativa n.16, 23 de agosto de 2005.

_____. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Métodos analíticos oficiais físico-químicos para controle de leite e produtos lácteos**. Instrução Normativa n. 22 de 14 de abril de 2006.

_____. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Resolução n. 5**, de 13 de novembro de 2000. Regulamento técnico de identidade e qualidade de leites fermentados. Disponível em: http://www.ngetecno.com.br/legislacao/leite_piq_leite_fermentado.htm. Acesso em: 26 jul. 2011.

_____. ANVISA. Resolução nº18, de 30 de abril de 1999. Aprova o Regulamento Técnico que estabelece as Diretrizes Básicas para Análise e Comprovação de Propriedades Funcionais e ou de Saúde Alegadas em Rotulagem de Alimentos. Diário Oficial da República Federativa do Brasil. Brasília, 03 de Nov.1999. Disponível em: <http://elegis.bvs.br/leisref/publ.showact.php?id=109>. Acesso em jan.2011.

BALLUS, C. A.; KLAJN, V. M.; CUNHA, M.F.; OLIVEIRA, M.L.; FIORENTINI, A.M. - Aspectos Científicos e Tecnológicos do Emprego de Culturas Probióticas na elaboração de produtos lácteos fermentados: Revisão – **Boletim CEPPA**, Curitiba, v. 28, n. 1, p. 85-96, jan./jun. 2010.

BURITI, F. A. Sobremesa aerada simbiótica: desenvolvimento do produto e resistência do probiótico *in vitro*- São Paulo, 2008.148p. Tese (Doutorado) em Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica- Tecnologia de Alimentos - Universidade de São Paulo.

CARDARELLI, H.R. Desenvolvimento de queijo *petit-suisse* simbiótico (Tese) Doutorado. Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Universidade de São Paulo, 2006.

CARVALHO, S. et al. Fructanos en raíces tuberosas de yacon (*Smallanthus sonchifolius*) expuestas al sol y almacenadas bajo condiciones ambientales. **Agro-Ciencia**, Botucatu, São Paulo, v.20, n.1, p.17-23, 2004.

CMDMC- Centro Multidisciplinar para o desenvolvimento de Materiais Cerâmicos. Disponível em <http://www.liec.com.br/pesquisa/pigmentos/page2.php>. Acesso em 10.01.2012.

CONRAD, P. B. et al. Stabilization and preservation of *Lactobacillus acidophilus* in saccharide matrices. **Cryobiology**, v. 41, n. 1, p. 17-24, 2000.

FIORENTINI A.M.; BALLUS, C.A. OLIVEIRA;M.L.; CUNHA; M.F.;KLAJN V.M.The influence of different combinations of probiotic bacteria and fermentation temperatures on the microbiological and physicochemical characteristics of fermented lactic beverages containing soybean hydrosoluble extract during refrigerated storage.**Ciência Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.31, n.3, July/sept. 2011.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS – FAO; WORLD HEALTH ORGANIZATION - WHO. **Evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria**. Córdoba: FAO/ WHO, 2001. Disponível em: <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/meeting/009/y6398e.pdf>. Acesso em: 12 mar. 2009.

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

GONÇALVES, A.A.;EBERLES,I.R. Frozen yogurt com bactérias probióticas, **Alimentos e Nutrição Araraquara**,v.19,n.3,p.291-297,jul./set.2008.

GONÇALVES, M.M. Desenvolvimento e caracterização de queijo tipo quark simbiótico. Dissertação. Mestrado. Universidade Federal de Viçosa –MG, 2009, 61p.

GROSSO, C.R.F.; FÁVARO-TRINDADE, C.S.; Estabilidade de *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium lactis* nas formas livre e imobilizada em leite acidificado e de *B. lactis* imobilizado em iogurte **Brazilian Journal Microbiology**. vol.35 no. 1-2 São Paulo Jan./June 2004.

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**, Uberaba - MG, p.85-92;out.2009

_____, F.B.B.; MIGUEL, D.P.; FERREIRA, R.A.R. BORGES, D.O. Probióticos e prebióticos em alimentos: definição, importância e benefícios- **VIII jornada científica da FAZU**, Uberaba – MG, p.125-131;out.2009.

KEMPKA, A. P.; KRÜGER, R.L.; VALDUGA, E.; DI LUCCIO, M.; TREICHEL, H.; CANSIAN, R.; OLIVEIRA, D. Formulação de bebida láctea fermentada sabor pêssego utilizando substratos alternativos e cultura probiótica. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, 28(Supl.): 170-177, 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** vol.44. n3, São Paulo, July/Sept.2008.

KRUGER R.; KEMPKA, A.P.; OLIVEIRA, D.; VALDUGA, E.; CANSIAN, R.L.; TREICHEL, H.; DI LUCCIO, M. Desenvolvimento de uma Bebida láctea probiótica utilizando como substratos soro de leite e extrato hidrossolúvel de soja. **Alimentação e Nutrição Araraquara** v. 19, n1, p.43-53, jan/mar.2008.

LANDIM, E.M. C. Obtenção, caracterização e avaliação da estabilidade de pigmentos naturais microencapsulados(Dissertação) Mestrado . Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2008.

LISERRE, A.M., RE, M.I.; FRANGO, B.D.C.M., Microencapsulation of Bifidobacterium animals subsp.lactis in modified alginate-chitosan beads and evalution of survival in simulated gastrointestinal conditions. **Food Biotechnology**.21,1-16. 2007.

McCOMAS JR, K.A.; GILLILAND, S.E. Growth of probiotic and traditional yogurt cultures in milk supplemented with whey protein hydrolysate. **Journal of Food Science**, v.68, n.6, p.2090-2095, 2003.

MAN, J.C, ROGOSA, M., SHARPE, M.E. A medium for the cultivation of Lactobacilli. **J. Appl. Bacteriol.** 1961; 23:130-5.

MARUYAMA, L.Y.; CARDARELLI, H.R.; BURITI, F.C.A.; SAAD, S.M.I. Textura instrumental de queijo *petit-suisse* potencialmente probiótico: influência de diferentes combinações de gomas – **Ciência Tecnologia dos Alimentos** vol.26 no.2 Campinas April/June 2006.

MATSUBARA, S. Alimentos Funcionais: uma tendência que abre perspectivas aos laticínios. **Revista Indústria de Laticínios**, São Paulo, v. 6, n. 34, p. 10-18, 2001.

MENEZES EW, RATTO AT, GIUNTINI EB, LAJOLO FM. Composição de alimentos: compilação e informização de estruturas para intercâmbio de dados. **Braz J Food Tecnol** 2005;

MINIM, V.P.R. Análise Sensorial- Estudos com Consumidores. 1 ed. Viçosa-MG: UFV, 2006, v. 1, p. 111-126.

MOREIRA, S.R.; SCHWAN, R.F.; CARVALHO, E.P.; FERREIRA, C. Análise microbiológica e química de iogurtes comercializados em Lavras, MG. **B.SBCTA**, v.19,n.1, p.147-152, 1999.

OLIVEIRA, V.M. Formulação de bebida láctea fermentada com diferentes concentrações de soro de queijo, enriquecida com ferro: caracterização físico-química, análises bacteriológicas

e sensoriais, 2006, 78p. (Dissertação) (Mestrado em Medicina Veterinária) Universidade Federal Fluminense (UFF)- Niterói, 2006.

OLIVEIRA, M.N.;SIVIERI, K.; ALEGRO,J.H.A.; SAAD, S.M.I. Aspectos tecnológicos de alimentos funcionais contendo probióticos - **Rev. Bras. Cienc. Farm.** vol.8 n.1 São Paulo jan./mar., 2002.

ORDONEZ, J. A.; RODRIGUES, M. I. C.; ALVAREZ, L. F.; SANZ, M. L. G.; MIGUILLON, G. D. G. F. **Componentes dos Alimentos e Processos: tecnologia de alimentos.** Porto Alegre-RS: Artmed, v.1, 2005.

PADILHA, V.M.;ROLIM, P.M., GALINDO, M. , SALGADO, S.M., LIVERA, A.V. Avaliação do tempo de secagem e da inibição da atividade enzimática de yacon sob tratamento químico. **Revista Ciência Rural** v.39, p. 2178-2184, 2009.

PAULY-SILVEIRA, N.D.S. O emprego da metodologia de superfície de resposta no desenvolvimento de um novo produto simbiótico, fermentado com *Enterococcus faecium* e *Lactobacillus jugurti*, à base de extratos aquosos de soja e de yacon (*Smallanthus sonchifolius*), 2009, 105p. Dissertação (Mestre em Alimentos e Nutrição).

QUEMENER, B.;THIBAUT, J.F.; COUSSEMENT, Determination of inulin and oligofructose in food products and integration in the AOAC method for measurement of total dietary fibre. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*, v. 27, p.125-132,1994.

QUEMENER, B.;THIBAUT, J.F.; COUSSEMENT, P. Integration of inulin determination in the AOAC method for measurement of total dietary fiber. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.21,p.175-178, 1997.

RIVERA, D.; MANRIQUE, I. Zumo de Yacón- Ficha Técnica. Centro Internacional de la Papa (CIP). Lima, Peru, 2005. Online. Disponível na Internet: www.cipotato.org/artc/cipcrops/fichazumoyacon.pdf. Acesso em 9 jan.2012.

ROLIM, P.M.; SALGADO, S.M.; PADILHA, V.M.; LIVERA, A.V.S.; GUERRA, N.B.; ANDRADE, S.A.C. Análise de componentes principais de pães de forma formulados com farinha de yacon. **Revista Ceres**, v.57, n.1, p. 12-17, jan/fev, 2010.

SAAD, S. M. I.Probióticos e prebióticos: o estado da arte. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, Vol 42, n1, jan/mar, 2006.

SAAD, S. M.;CRUZ, A.G.;FARIA, J.A.F. Probióticos e Prebióticos em Alimentos: fundamentos e aplicações tecnológicas. 1ª. ed. São Paulo, Varela, 2011

SANTANA, I; CARDOSO, M.H. Raiz tuberosa de yacon (*smallanthus sonchifolius*): potencialidade de cultivo, aspectos tecnológicos e nutricionais. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.38 n.3, p.898-905, mai-jun,2008.

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

SEMINARIO, J.; VALDERRAMA, M. El yacon: fundamentos para el aprovechamiento de un recurso promisorio. Lima, Peru: Centro Internacional de la Papa (CIP), Universidad Nacional de Cajamarca, Agencia Suiza para el Desarrollo y La Cooperación (COSUDE), 2003. 60p. Online. Disponível na Internet http://www.cipotato.org/market/PDFdocs/Yacon_Fundamentos_password.pdf. <Acesso em 20 nov. 2011>.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. 4ª. Ed. São Paulo: Varela, 544p. 2010.

SILVA, A.S.S. A raiz da yacon (*Smallanthus sonchifolius* Poepping & Endlicher) como fonte de fibras alimentares, sua caracterização físico-química, uso na panificação e sua influência na glicemia pós-prandial. (tese). Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina; 2007.

STATSOFT, Inc, STATISTICA for Windows 6.0-Computer program manual, Tulsa-UK: StatSoft, 2004.

THAMER, K.G.; PENNA, A.L.B. Caracterização de bebidas lácteas funcionais fermentadas por probióticos e acrescidas de prebiótico. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**, vol.26 no.3 Campinas July/Sept. 2006.

_____, K. G.; PENNA, A. L. B. Efeito do teor de soro, açúcar e de frutooligossacarídeos sobre a população de bactérias lácticas probióticas em bebidas fermentadas. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 41, n. 3, p. 393-400, July/sept. 2005.

VIANA, J.V.; CRUZ, A.G.; ZOELLNER, S.S.; SILVA, R.; BATISTA, A.L.D. Probiotic foods: consumer perception and attitudes. **International Journal of Food Science and Technology**, v.43, p.1577-1580, 2008.

Considerações Finais

CONSIDERAÇÕES FINAIS

- ✓ Considerando que modificações na tecnologia para a produção de bebidas fermentadas podem resultar dados diferentes dos obtidos neste estudo, sugere-se a continuidade de novos estudos relativos à elaboração e avaliação de bebidas fermentadas simbióticas que verifiquem a viabilidade deste produto *in vivo*, durante o *shelf life*.
- ✓ Buscar atingir as expectativas de saúde e bem-estar, por meio de alimentos funcionais, além de satisfazer as preferências dos consumidores, têm exigido esforços das indústrias de alimentos, por isso, estudar as informações detectadas a partir de testes aceitabilidade e de intenção de compras é uma ferramenta indispensável, podendo ser determinante na escolha e na percepção do consumidor sobre um produto.

Referências

REFERÊNCIAS

ANTUNES, A.E.C. MARASCA, E.T.G. MORENO, I.; DOURADO, F.M. ; RODRIGUES, L.G; LERAYER, A.L.S. Desenvolvimento de buttermilk probiótico. **Ciênc. Tecnol. Alim.**, Campinas, v. 27, n. 1, p.83-90, 2007.

ANTUNES, A.J. Funcionalidade de proteínas do soro de leite bovino, 1ª. ed., Editora Manole Ltda., 2003. 135p.

ANTUNES, L.A.F. Microorganismos probióticos e alimentos funcionais, **Rev.Ind.Latic.**, São Paulo, v.6.n.34, p.30-34, 2001.

ANVISA. Regulamento técnico de padrões microbiológicos para alimentos, Resolução RDC Nº 12, 2001. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br/e-legis/>>. Acesso em 25 out. 2008.

_____. Resolução nº18, de 30 de abril de 1999. Aprova o Regulamento Técnico que estabelece as Diretrizes Básicas para Análise e Comprovação de Propriedades Funcionais e ou de Saúde Alegadas em Rotulagem de Alimentos. Diário Oficial da República Federativa do Brasil. Brasília, 03 de Nov.1999.

Disponível em: <<http://elegis.bvs.br/leisref/publ.showact.php?id=109>>. Acesso em jan.2011.

_____. Resolução RDG Nº. 359, de 23 de Dezembro de 2003. Aprova regulamento técnico de porções de alimentos embalados para fins de rotulagem nutricional. Diário Oficial da União, Brasília, 25 dez.2003. <http://e-legis.bvs.br/leisref/publ.showact.php?id=9058#>

_____. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Alimentos. Comissões e Grupos de Trabalho. Comissão Tecnocientífica de Assessoramento em Alimentos Funcionais e Novos Alimentos. Alimentos com Alegações de Propriedades Funcionais e ou de Saúde, Novos Alimentos/Ingredientes, Substâncias Bioativas e Probióticos. Atualizado em 11 de janeiro de 2005. VIII-Lista das Alegações Aprovadas.

_____. 2008 Comissão Técnico Científica de Assessoramento em Alimentos Funcionais e Novos Alimentos. Alimentos com alegações de propriedades funcionais e ou de saúde, novos alimentos/ingredientes/substancias bioativas e probioticas: lista de alegações aprovadas.

http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno_lista_alega.htm. Brasília, 2008.

Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno.htm>. Acesso em 15 jan. 2011.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC. **Official methods of analysis of the association analytical chemists**. 18. ed. Maryland: AOAC, 2002.

BADARÓ, A.C.L. GUTTIERRES, A.P.M. REZENDE, A.C.V. STRINGHETA, P.C. Alimentos Probióticos: aplicação como promotora da saúde humana-parte 1. **Nutrir Gerais-Revista Digital de Nutrição** - Ipatinga: Unileste, v.2, n.3, Ago/dez.2008.

BELCHIOR, F.; O ingrediente do lácteo saudável. **Leite e Derivados**, São Paulo, v. 13, n. 76, p. 54-64, 2004.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regulamento técnico de identidade e qualidade de bebidas lácteas**. Instrução Normativa n.16, 23 de agosto de 2005.

_____. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Métodos analíticos oficiais físico-químicos para controle de leite e produtos lácteos**. Instrução Normativa n. 22 de 14 de abril de 2006.

BALLUS, C. A.; KLAJN, V. M.; CUNHA, M.F.; OLIVEIRA, M.L.; FIORENTINI, A.M. - Aspectos Científicos e Tecnológicos do Emprego de Culturas Probióticas na elaboração de produtos lácteos fermentados: Revisão – **Boletim CEPPA**, Curitiba, v. 28, n. 1, p. 85-96, jan./jun. 2010.

BURGUER, K.P.; CARVALHO, A.C.F.B. A.C.; COLEONE, A.M.C.; VIDAL-MARTINS, A.L.L. ; CORTEZ, C.P.; FERREIRAL.M. - Características Microbiológicas de leite integral e bebida láctea processados por UAT (ultra alta temperatura) ao longo do período de validade. **Arquivos Instituto de Biologia**, São Paulo, v.78, n.1, p.129-136, jan./mar., 2011.

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

_____, F. C. A. Sobremesa aerada simbiótica: desenvolvimento do produto e resistência do probiótico *in vitro*- São Paulo, 2008.148p. Tese (Doutorado) em Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica- Tecnologia de Alimentos - Universidade de São Paulo.

CABELLO, C. Extração e pré-tratamento químico de frutanos de yacon, *polymnia sonschifolia* – **Cienc.Tecnol.Aliment**.Campinas, v.25, n.2, p.202-207, abr.-jun.2005.

CAMARGO D. S.; ALVES, G.; GARCIA, S. MIZUBUTI, I.Y. , 2000-Bebida fermentada a base de leite de soro de leite e isolado protéico de soja- **SEMINA- Ciências Agrárias**, Londrina, V.21, N.1. P.45-51, Mar.2000;

CARDARELLI, H.R. Desenvolvimento de queijo *petit-suisse* simbiótico (Tese) Doutorado. Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Universidade de São Paulo, 2006.

CARVALHO, S. et al. Fructanos en raíces tuberosas de yacon (*Smallanthus sonchifolius*) expuestas al sol y almacenadas bajo condiciones ambientales. **Agro-Ciencia**, Botucatu, São Paulo, v.20, n.1, p.17-23, 2004.

CMDMC- Centro Multidisciplinar para o desenvolvimento de Materiais Cerâmicos. Disponível em <http://www.liec.com.br/pesquisa/pigmentos/page2.php>. Acesso em 10.01.2012.

COPOLLA, M.M.; GIL-TURNES, C. Probióticos e resposta immune. **Ciencia Rural** vol.34.no.4 Santa Maria July/Aug.2004

CONRAD, P. B. et al. Stabilization and preservation of *Lactobacillus acidophilus* in saccharide matrices. **Cryobiology**, v. 41, n. 1, p. 17-24, 2000.

COR- wikipédia – disponível em <http://pt.wikipedia.org/wiki/Cor>.<Acesso em 05.01.2012>

CORRÊA, S.B.M. Desenvolvimento de manjar branco potencialmente probiótico (Dissertação) Mestrado. Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Universidade de São Paulo, 2006.

COSTA, E.S.; VARAVALLO, M.A. Probióticos e prebióticos: Relações com a imunidade e promoção da saúde **Revista Científica do ITPAC** volume 4. Número 2. Abril de 2011. Publicação 2. <http://www.itpac.br/revista>.<acesso em 05.01.2012>

CORTE, F.F.D. Desenvolvimento de frozen yogurt com propriedades funcionais. Rio Grande de Sul, 2008. 100p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Santa Maria.

De BONDT, V. **Novas tendências para bebidas funcionais**, BRASIL ALIMENTOS, 18, Janeiro/Fevereiro, 2003.

FARIA, C.P. BENEDET, H.D. LE GUERROUE, J.L. Parâmetros de produção de leite de búfala fermentado por *Lactobacillus casei*. Pesquisa Agropec. Bras., Brasília, v.41, n.3. mar.2006. Disponível em. Acesso em 12 jan2012.

FIORENTINI A.M.; BALLUS, C.A. OLIVEIRA; M.L.; CUNHA; M.F.; KLAJN V.M. The influence of different combinations of probiotic bacteria and fermentation temperatures on the microbiological and physicochemical characteristics of fermented lactic beverages containing soybean hydrosoluble extract during refrigerated storage. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v.31, n.3, July/sept. 2011.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS – FAO; WORLD HEALTH ORGANIZATION - WHO. **Evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria**. Córdoba: FAO/ WHO, 2001. Disponível em: <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/meeting/009/y6398e.pdf>. Acesso em: 12 mar. 2009.

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

GONÇALVES, A.A.; EBERLES, I.R. Frozen yogurt com bactérias probióticas, Alim. Nutr., Araraquara, v.19, n.3, p.291-297, jul./set.2008.

GONÇALVES, M.M. Desenvolvimento e caracterização de queijo tipo quark simbiótico. Dissertação. Mestrado. Universidade Federal de Viçosa –MG, 2009, 61p.

GRAU, A; REA, J. Yacon. *Smallanthus sonchifolius* (Poep. & Endl.) H. Robinson. In: HERMANN, M.; HELLER, J. (Eds.). Andean roots and tubers: ahupa, arracacha, maca and yacon. Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. (Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research). Gatersleben/International Plant Genetic Resources Institute. Rome, Italy, 1997. p.199-242. Online. Disponível na Internet <http://www.cipotato.org/market/ARTChermann/yacon.pdf>.<Acesso em 4 nov. 2011>

GROSSO, C.R.F.; FÁVARO-TRINDADE, C.S.; Estabilidade de *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium lactis* nas formas livre e imobilizada em leite acidificado e de *B. lactis* imobilizado em iogurte **Braz. J. Microbiol.** vol.35 no. 1-2 São Paulo Jan./June 2004.

HAULY M.C.O.; MOSCATTO, J.A. Inulina e Oligofrutoses: uma revisão sobre propriedades funcionais, efeito prebiótico e importância na indústria de alimentos **Semina: Ciências Exatas e Tecnológicas**, Londrina, v. 23, n. 1, p. 105-118, dez. 2002;

HORST, M.A ; LAJOLO,FM. - Biodisponibilidade de Compostos Bioativos de Alimentos, 2005.

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**, Uberaba - MG, p.85-92;out.2009

JARDIM, F.B.B.; MIGUEL, D.P.; FERREIRA, R.A.R. BORGES, D.O. Probioticos e prebióticos em alimentos: definição, importância e benefícios- **VIII jornada científica da FAZU**, Uberaba – MG, p.125-131;out.2009.

KAUR,N.;GUPTA, A.K. Applications of inulin and oligofructoses in health and nutrition.**J.Biosci** Bangalore, v.27, p.703-714, 2002.

KEMPKA, A. P.; KRÜGER, R.L.; VALDUGA, E.; DI LUCCIO, M.;TREICHEL, H.;CANSIAN,R.; OLIVEIRA, D. Formulação de bebida láctea fermentada sabor pêssago utilizando substratos alternativos e cultura probiótica.**Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, 28(Supl.): 170-177, dez. 2008.

KOMATSU, T.R. BURITI, F.C.A. SAAD; S.M.I. Inovação, persistência e criatividade superando barreiras no desenvolvimento de alimentos probióticos. **Rev.Bras.Cienc. Farm.**vol.44. n3, São Paulo, July/Sept.2008.

KRUGER R.; KEMPKA, A.P.; OLIVEIRA, D.; VALDUGA, E.; CANSIAN, R.L.;TREICHEL, H.; DI LUCCIO, M. Desenvolvimento de uma Bebida láctea probiótica utilizando como substratos soro de leite e extrato hidrossolúvel de soja. **Alim. Nutr. Araraquara** v. 19, n1, p.43-53, jan/mar.2008.

LANDIM, E.M. C. Obtenção, caracterização e avaliação da estabilidade de pigmentos naturais microencapsulados(Dissertação) Mestrado . Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2008.

LIMA, S. M. C. G., MADUREIRA, F. C. P., PENNA, A. L. B. Bebidas lácteas: nutritivas e refrescantes. **Milkbizz Tecnologia**, São Paulo, v. 1, n. 3, p. 4-11, 2002.

LISERRE, A.M.,RE,M.I.;FRANGO,B.D.C.M., Microencapsulation of Bifidobacterium animals subsp.lactis in modified alginate-chitosan beads and evalution of survival in simulated gastrointestinal conditions.**Food Biotechnology**.21,1-16. 2007.

LUPETTI, K.O. et al. Análise de imagem em química analítica: empregando metodologias simples e didáticas para entender e prevenir o escurecimento de tecidos vegetais. **Química Nova**, São Carlos, v.28, n.3, p.548-554, 2005.

McCOMAS JR, K.A.; GILLILAND, S.E. Growth of probiotic and traditional yogurt cultures in milk supplemented with whey protein hydrolysate. **Journal of FoodScience**, v.68, n.6, p.2090-2095, 2003.

MAN, J.C, ROGOSA, M., SHARPE, M.E. A medium for the cultivation of Lactobacilli. **J Appl Bacteriol**. 1961; 23:130-5.

MANRIQUE, I.; HERMANN, M. Yacon - Fact Sheet. Lima, Peru: International Potato Center (CIP), 2004. Online. Disponível na Internet
www.cipotato.org/artc/cipcrops/factsheetyacon.pdf. <Acesso em 10 dez. 2011>.

MANRIQUE, I. ; PÁRRAGA, A.; HERMAN, M. Jarabe de yacón: Principios y procesamiento Centro Internacional de la Papa (CIP) Lima, Peru, 2005. Portal: www.cipotato.org.

MARUYAMA, L.Y.; CARDARELLI, H.R.; BURITI, F.C.A.; SAAD, S.M.I. Textura instrumental de queijo *petit-suisse* potencialmente probiótico: influência de diferentes combinações de gomas- **Ciênc. Tecnol. Aliment.** vol.26 no.2 Campinas April/June 2006.

MATSUBARA, S. Alimentos Funcionais: uma tendência que abre perspectivas aos laticínios. **Revista Indústria de Laticínios**, São Paulo, v. 6, n. 34, p. 10-18, 2001.

MENEZES EW, RATTO AT, GIUNTINI EB, LAJOLO FM. Composição de alimentos: compilação e informização de estruturas para intercâmbio de dados. **Braz J Food Technol** 2005;

MINIM, V.P.R. Análise Sensorial- Estudos com Consumidores. 1 ed. Viçosa-MG: UFV, 2006, v. 1, p. 111-126.

MOREIRA, S.R.; SCHWAN, R.F.; CARVALHO, E.P.; FERREIRA, C. Análise microbiológica e química de iogurtes comercializados em Lavras, MG. **B.SBCTA**, v.19, n.1, p.147-152, 1999.

MOSCATTO, J.A.; BORSATO, D.; BONA, E.; OLIVEIRA, A.S.; HAULY, M.C.O. The optimization of the formulation for a chocolate cake containing inulin and yacon meal, *Intern. Journal of Food and Technology*, v.41, p.181-188, 2006.

OLIVEIRA, V.M. Formulação de bebida láctea fermentada com diferentes concentrações de soro de queijo, enriquecida com ferro: caracterização físico-química, análises bacteriológicas e sensoriais, 2006, 78p. (Dissertação) (Mestrado em Medicina Veterinária) Universidade Federal Fluminense (UFF)- Niterói, 2006.

OLIVEIRA, M.N.; SIVIERI, K.; ALEGRO, J.H.A.; SAAD, S.M.I. Aspectos tecnológicos de alimentos funcionais contendo probióticos -**Rev. Bras. Cienc. Farm.** vol.8 n.1 São Paulo jan./mar., 2002.

ORDONEZ, J. A.; RODRIGUES, M. I. C.; ALVAREZ, L. F.; SANZ, M. L. G.; MIGUILLON, G. D. G. F. **Componentes dos Alimentos e Processos: tecnologia de alimentos**. Porto Alegre-RS: Artmed, v.1, 2005.

OWEHAND, Arthur C. Antiallergic Effects of Probiotics. *The Journal of Nutrition*. Bethesda, v. 137, n. 3, p. 794-797, mar. 2007.

PADILHA, V.M.; ROLIM, P.M., GALINDO, M. , SALGADO, S.M., LIVERA, A.V. Avaliação do tempo de secagem e da inibição da atividade enzimática de yacon sob tratamento químico. **Revista Ciência Rural** v.39, p. 2178-2184, 2009.

PAULY-SILVEIRA, N.D.S. O emprego da metodologia de superfície de resposta no desenvolvimento de um novo produto simbiótico, fermentado com *Enterococcus faecium* e *Lactobacillus jugurti*, à base de extratos aquosos de soja e de yacon (*Smallanthus sonchifolius*), 2009, 105p. Dissertação(Mestre em Alimentos e Nutrição).

PIARD, J.C.;LOIR, Y.L.;POQUET,I.;LANGELLA, P.Bactérias Lácticas: As bactérias lácticas no centro de novos desafios tecnológicos- **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento** – Encarte Especial, 2011.

PIMENTEL, T. C. Probióticos e benefícios a saúde.**Revista Saúde e Pesquisa**, v. 4, n. 1, p. 101-107, jan./abr. 2011.

PUPIN, A. M. Probióticos, prebióticos e simbióticos: aplicações em alimentos funcionais. **Seminário Novas Alternativas de Mercado** – ITAL, Campinas, p. 133-145, 2002.

QUEMENER, B.;THIBAULT, J.F.; COUSSEMENT, Determination of inulin and oligofructose in food products and integration in the AOAC method for measurement of total dietary fibre. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*, v. 27, p.125-132,1994.

QUEMENER, B.;THIBAULT, J.F.; COUSSEMENT, P. Integration of inulin determination in the AOAC method for measurement of total dietary fiber.*International Journal of Biological Macromolecules*, v.21,p.175-178, 1997.

RIVERA, D.; MANRIQUE, I. Zumo de Yacón- Ficha Técnica. Centro Internacional de la Papa (CIP). Lima, Peru, 2005. Online. Disponível na Internet: www.cipotato.org/artc/cipcrops/fichazumoyacon.pdf. Acesso em 9 jan.2012.

ROBERFROID, M. Functional food concept and its application to prebiotcs. **Digestive and Liver Disease**, v. 34, n. 2, p. 105-10, 2002.

ROBERFROID, M.B.FeaturingInulin-type FructansUniversité Catholique de Louvain, 7A rue du Rondia, B-1348, Louvain-La-Neuve, Bélgica - **British Journal of Nutrition** (2005), 93, Suppl. 1, S13-S25.

ROLIM, P.M.; SALGADO, S.M.; PADILHA, V.M.; LIVERA, A.V.S.; GUERRA, N.B.; ANDRADE, S.A.C. Análise de componentes principais de pães de forma formulados com farinha de yacon.**Revista Ceres**, v.57, n.1, p. 12-17, jan/fev, 2010.

ROSA, C.S.; OLIVEIRA,V.R.; VIEIRA, V.B.;GRESSLER, C.;VIEGA, S. - Elaboração de bolo com farinha de *Yacon* - **Ciência Rural**, Santa Maria, Online –2009.

SAAD, S. M. I.Probióticos e prebióticos: o estado da arte.**Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, Vol 42, n1, jan/mar, 2006.

SAAD, S. M.;CRUZ, A.G.;FARIA, J.A.F. Probióticos e Prebióticos em Alimentos: fundamentos e aplicações tecnológicas. 1ª. ed. São Paulo, Varela, 2011

SANDERS, M. E. Probiotics: considerations for human health. **Nutrition Review**, v. 61, n. 3, p. 91-99, 2003.

SANTANA, I; CARDOSO, M.H. Raiz tuberosa de yacon (*smallanthus sonchifolius*): potencialidade de cultivo, aspectos tecnológicos e nutricionais. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.38 n.3, p.898-905, mai-jun,2008.

SHAH, N. P. Functional cultures and health benefits. **International Dairy Journal**, v. 17, p. 1262–1277, 2007.

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

SEMINARIO, J.; VALDERRAMA, M. El yacon:fundamentos para el aprovechamiento de un recurso promisorio. Lima, Peru: Centro Internacional de la Papa(CIP), Universidad Nacional de Cajamarca, Agencia Suiza para el Desarrollo y La Cooperación (COSUDE), 2003. 60p.Online. Disponível na Internet http://www.cipotato.org/market/PDFdocs/Yacon_Fundamentos_password.pdf.<Acesso em 20 nov. 2011>.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. 4ª. Ed. São Paulo: Varela, 544p. 2010.

SILVA, A.S.S. A raiz da yacon (*Smallanthus sonchifolius* Poepping & Endlicher) como fonte de fibras alimentares,sua caracterização físico-química, uso na panificação e sua influência na glicemia pós-prandial. (tese). Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina; 2007.

SIMÕES. K, - Funcionais e orgânicos conquistam prateleiras-Alimentos Filão do bem-estar prevê R\$38 bilhões em vendas até 2014 - **Jornal Valor de São Paulo** - São Paulo –Brasil- 2011.

SOUZA, Cinthia Hoch Batista de, Influencia de uma cultura starter termofílica sobre a viabilidade de *L.acidophilus* e as características de queijo minas frescal probiótico- Dissertação – USP -São Paulo, 2006

SOUZA, Fabíola Suzano *et al.* Prebióticos, probióticos e simbióticos na prevenção e tratamento das doençasalérgicas. **Revista Paulista de Pediatria**. São Paulo, v.28, n. 1, p. 86-97, mar. 2009.

STANTON,C.;ROSS,R.P.;FITZGERARD,G.F.;VAN SIDEREN,D. Fermented functional foods based on probiotics and their biogenic metabolites.**Curr.Opin.Biotechnol.**,São Paulo,v.16,p.196-203, 2005.

STATSOFT, Inc, STATISTICA for Windows 6.0-Computer program manual, Tulsa-UK:StatSoft ,2004.

STRINGHETA, P.C ;OLIVEIRA,T.T. ;GOMES,R.C.; AMARAL,M.P.H. ;CARVALHO,A.F. VILELA, M. A.P.;Políticas de saúde e alegações de propriedades funcionais e de saúde para alimentos no Brasil.Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas- **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences** - vol. 43, n. 2, abr./jun., 2007.

THAMER, K.G.;PENNA, A.L.B. Caracterização de bebidas lácteas funcionais fermentadas por probióticos e acrescidas de prebiótico. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**, vol.26 no.3 Campinas July/Sept. 2006.

THAMER, K. G.; PENNA, A. L. B. Efeito do teor de soro, açúcar e de frutooligossacarídeos sobre a população de bactérias lácticas probióticas em bebidas fermentadas. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 41, n. 3, p. 393-400, July/sept.2005.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. K.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 8.ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. cap.4, p.83-84.

VALENTOVA K, CVAK L, MUCK A,**Revista eletrônica do Departamento de Química da Universidade Federal de Santa Catarina**, 2002.

VALENTOVÁ K & J ULRICHOVÁ.. *Smallanthus sonchifolius* and *Lepidium meyenii* – Prospective andean crops for the prevention of chronic diseases. **Biomedical Papers**. 2003, 147(2): 119-130.

VIANA,J.V.;CRUZ,A.G.;ZOELLNER,S.S.;SILVA,R.;BATISTA,A.L.D. Probiotic foods:consumer perception and attitudes. **International Journal of Food Science and Technology**,v.43,p.1577-1580,2008.

VILHENA, S.M.C.; CÂMARA, F.L.A.; KAKIHARA, S.T. O cultivo de yacon no Brasil. *Horticultura Brasileira*,**Brasília**, v. 18, n. 1, p. 5-8, março 2000.

VILHENA, S.M.C. Ciclo de cultivo e técnicas pós-colheita de yacon (*Polymnia sonchifolia* Poep. Endl.) em função do conteúdo de frutose total nos órgãos subterrâneos. 2001. 73f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Estadual de São Paulo, Botucatu.

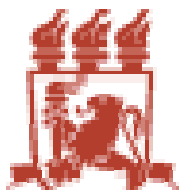
VINDEROLA, C. G.; MOCCHIUTTI, P.; REINHEIMER, J. A. Interaction among lactic acid starter and probiotic bacteria used for fermented dairy products. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 85, n. 4, p. 721-729, 2002.

VINDEROLA, C. G.; PROSELLO, W.; GHIRBERTO, D.; REINHEIMER, J. A. Viability of probiotic (*Bifidobacterium*, *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei*) and non-probiotic microflora in Argentinian fresco ch n. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 83, n. 9, p. 1905-1911, 2000.

Anexos

ANEXO 1. N^o574/2011 – CEP/CCS – Registro do SISNEP FR-421831 - CAAE – 0170.0.172.000-11

ANEXO -2 – Ficha para Análise Sensorial da Bebida Láctea Fermentada com Polpa de Yacon



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

DEPARTAMENTO DE NUTRIÇÃO



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO

Ficha para Análise Sensorial e Intenção de Compra

Nome: _____

Data: _____ Escolaridade: _____

Sexo: M() F() Idade: _____

Por favor, avalie a amostra servida e indique o quanto gostou ou desgostou do produto.
Marque a resposta que melhor reflita seu julgamento.

9. () Gostei extremamente
8. () Gostei muito
7. () Gostei moderadamente
6. () Gostei ligeiramente
5. () Indiferente
4. () Desgostei ligeiramente
3. () Desgostei extremamente
2. () Desgostei moderadamente
1. () Desgostei muito

Comentários _____

FONTE: MIMIN (2006)

POR FAVOR, SOBRE A INTENÇÃO DE COMPRA, VOCÊ COMPRARIA O PRODUTO?

MARQUE A RESPOSTA QUE MELHOR REFLITA SUA DECISÃO.

1. () SIM

2. () NÃO

3. () TALVEZ

COMENTÁRIOS _____
