

---

**ELABORAÇÃO DE IOGURTE FUNCIONAL COM LEITE DE  
CABRA, SABORIZADO COM FRUTOS DO CERRADO E  
SUPLEMENTADO COM INULINA**

**Sílvio André Pereira Mundim**



**Dissertação Apresentada ao  
Programa de Pós-Graduação em  
Tecnologia de Processos Químicos e  
Bioquímicos para Obtenção do Grau  
de Mestre em Ciências (M.Sc.)**

**Orientadores:**

**Suely Pereira Freitas., D.Sc.**

**Nei Pereira Jr., Ph.D.**

**Escola de Química**

**Universidade Federal do Rio de Janeiro**

**2008**

---

---

**ELABORAÇÃO DE IOGURTE FUNCIONAL COM LEITE DE  
CABRA, SABORIZADO COM FRUTOS DO CERRADO E  
SUPLEMENTADO COM INULINA.**

**Silvio André Pereira Mundim**

Dissertação Apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de  
Processos Químicos e Bioquímicos para Obtenção do Grau de Mestre em  
Ciências (M.Sc.)

**Escola de Química**

**Universidade Federal do Rio de Janeiro**

**2008**

**ELABORAÇÃO DE IOGURTE FUNCIONAL COM LEITE DE CABRA,  
SABORIZADO COM FRUTOS DO CERRADO E SUPLEMENTADO COM  
INULINA.**

**Silvio André Pereira Mundim**

Dissertação submetida ao corpo docente do Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos da Escola de Química da Universidade Federal do Rio de Janeiro como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de mestre em ciências (M.Sc.).

Aprovada por:

---

Suely Pereira Freitas, D.Sc.  
Escola de Química / UFRJ  
Orientadora (Presidente da Banca)

---

Nei Pereira Jr., Ph.D.  
Escola de Química / UFRJ  
Orientador

---

Maria Antonieta P. Gimenes Couto, D.Sc.  
Escola de Química / UFRJ

---

Mônica Caraméz Triches Damaso, D.Sc.  
Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

---

Sonia Couri, D.Sc.  
EMPRAPA

**FICHA CATALOGRÁFICA**

Mundim, Sílvio André Pereira.

Elaboração de iogurte funcional com leite de cabra, saborizado com frutos do cerrado e suplementado com inulina/ Sílvio André Pereira Mundim. - Rio de Janeiro, 2008.

xviii, 133 f, 29,7 cm.

Dissertação (Mestrado em Ciências) - Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ, Escola de Química, Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos, 2008.

Orientadores: Suely Pereira Freitas, D.Sc.

Nei Pereira Jr., Ph.D.

1. Iogurte Funcional
2. Probióticos e Prebióticos
3. Frutos do Cerrado
4. Alimento Funcional

I. Freitas Pereira, Suely (Orient.)

II. Universidade Federal do Rio de Janeiro. Escola de Química. Pós-Graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos.

III. Título.

*“Depois de vencer, aja como se não  
tivesse vencido.”*

*Sun Tzu, em A arte da guerra.*

*Dedico este trabalho a Deus, por ter me dado saúde e sapiência, a minha mãe “in memorian”, que tenho certeza, me acompanha de um lugar maravilhoso.*

*A minha querida esposa, companheira de todos os momentos pelo incentivo e amor a mim dedicado.*

*A meu pai, que tanto reza e torce por mim.*

*A meu querido amigo e irmão Reinaldo Rocha Costa pela confiança em mim depositada, a minha irmã Zilma Rocha Costa e Edivaldo Rocha Costa por me apoiarem nos momentos difíceis da vida.*

*Dedico também a todos os amigos que torceram e acreditaram em mim para que eu conseguisse êxito em meus projetos.*

## AGRADECIMENTOS

A Deus, a quem tudo se deve;

A todos os membros do Programa de Pós Graduação da Escola de Química-UFRJ, que juntamente com pessoas maravilhosas da Uniminas tiveram a inspiração de idealizar e concretizar o Mestrado Inter Institucional, que com certeza abre portas para o ensino inter institucional no país e forma novos pesquisadores.

A professora Suely Pereira por sua sabedoria, experiência e por ter acreditado em meu potencial e ter me orientado.

Ao professor Nei Pereira Jr., por sua co-orientação, confiança, sabedoria, companheirismo, liderança e pela ousadia de enfrentar novos desafios a cada momento, sendo estas características essenciais para o sucesso deste projeto;

A professora Alcina Xavier e a professora Jane de Fátima Silva Rodrigues pela paciência para com todos os alunos, dedicação, experiência e por todas as orientações concedidas no decorrer do curso;

Ao Prof. Dr. Edinaldo Carvalho – FAMAT UFU, pelo apoio na Estatística Descritiva, bem como ao Dr. Dijalma Barbosa da Silva, pesquisador da Embrapa Cerrados e autor do Livro Frutas Nativas da Região Centro Oeste do Brasil, pela contribuição vital para esse trabalho;

A Cláudia Alves Almeida Pereira, proprietária da empresa Frutos do Cerrado, que gentilmente cedeu-me as polpas de frutos do cerrado para realização do trabalho e se dispôs a ajudar-me de maneira incondicional;

A Juliana Hirata Terra, Analista de Mercado da Beneo Orafti, por viabilizar a inulina;

A minha turma de alunos, da Escola Agrotécnica Federal de Uberlândia, pelo apoio dedicação e trabalho em equipe e ao amigo Fabrício Silvestre Mendonça pela força;

À equipe de marketing do Centro Universitário do Triângulo por todo apoio nas fases iniciais do trabalho;

A Sérgio Marcos de Moraes, mas também ao Prof. Daniel dos Reis Pinheiro e a todos os técnicos do UNITRI, sem exceção, por serem amigos e pelos momentos de descontração;

Aos colegas de turma, mesmo os que chegando mais tarde, integraram-se à equipe de forma simples, amistosa e competente, trazendo novos conhecimentos a um grupo que é, por natureza, multidisciplinar; Aos demais companheiros que de alguma forma colaboraram para o meu sucesso.

**ELABORAÇÃO DE IOGURTE FUNCIONAL COM LEITE DE CABRA,  
SABORIZADO COM FRUTOS DO CERRADO E SUPLEMENTADO COM  
INULINA.**

Resumo da Dissertação de *M.Sc.* apresentada ao Programa de Pós-Graduação em  
Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos da Escola de Química da  
Universidade Federal do Rio de Janeiro – Brasil.

**Sílvio André Pereira Mundim**

Orientadores: Suely Pereira Freitas

Nei Pereira Jr.

A crescente demanda por produtos que ofereçam mais que saciedade aos consumidores tem levado a novas pesquisas que buscam trazer a luz as propriedades funcionais dos alimentos. O papel da alimentação equilibrada na manutenção da saúde tem despertado interesse da comunidade científica, que tem produzido inúmeros estudos com o intuito de comprovar a atuação de certos alimentos na prevenção de doenças. Este trabalho objetivou o desenvolvimento de iogurtes com 1% de concentração de culturas lácticas tradicionais e probióticas, suplementado com inulina e saborizado com três frutas típicas do Cerrado, *Annona crassiflora* (araticum), *Eugenia dysenterica* (cagaita), e *Caryocar brasiliense* (pequi).

O processo de fermentação foi acompanhado através dos valores de pH e acidez expressa em ácido láctico. Foram realizadas análises físico-químicas (valor de pH, acidez expressa em ácido láctico, teor de umidade, teor de cinzas, teor de extrato seco total e desengordurado, teor de proteína, teor de gordura), cor e viscosidade aparente após a fermentação e durante o armazenamento do produto. Determinou-se a



viabilidade das bactérias lácticas tradicionais (*Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*) e probióticas (*Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium* sp.) durante os vinte e oito (28) dias de armazenamento.

Testes sensoriais de aceitação e preferência foram realizados com adultos e crianças, sendo os dados obtidos submetidos a análise estatística descritiva (valores médios com os respectivos desvios padrão, análise de variância (ANOVA) por Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC) e por Delineamento em Blocos Casualizados (DBC) e teste de Friedman). Não houve diferenças significativas entre as amostras em relação às características físico-químicas.

Observou-se que houve um decréscimo do valor de pH e do teor de lactose e um aumento na acidez expressa em ácido láctico. Durante o tempo de estocagem notou-se um decréscimo no número de células viáveis de *S. thermophilus* e *L. bulgaricus* e de *L. acidophilus* e *Bifidobacterium* sp.. A análise sensorial mostrou que de uma maneira geral os iogurtes saborizados com frutos do Cerrado apresentaram notas muito parecidas em relação aos atributos avaliados. Os resultados obtidos sinalizam as potencialidades da sinergia entre o uso da inulina, caracterizada como alimento funcional, aliada aos frutos do cerrado, tidos como antioxidantes naturais, ambos solubilizados num veículo que sirva como gerador de renda aos produtores, o leite.

**ELABORATION OF YOGHURT FUNCTIONAL WITH MILK OF GOAT,  
FLAVOR WITH CERRADO FRUITS AND SUPPLEMENTED WITH INULINA.**

Abstract of the *M.Sc.* Dissertation presented to the graduate program on  
Technology of Chemical and Biochemical Process of the Chemical High  
School of Federal University of Rio de Janeiro - Brazil.

**Sílvio André Pereira Mundim**

Supervisors: Suely Pereira Freitas

Nei Pereira Jr.

To growing demand by products that offer more than satisfaction to the consumers has caused new researches that are going to bring the light the functional estates of the sustenance. The paper of the food balanced in the maintenance of the health has awoken interests of the scientific community, that has produced endless number studies with the design of verify the action of certain sustenance's in the prevention of illnesses. This work planned the development of yoghurts to 1% of concentration of traditional lactic cultures and the probiotic ones, supplemented with inulin and flavor with three typical fruits of him closed, *Annona crassiflora* (araticum), *Eugenia dysenterica* (cagaita), and *Caryocar brasiliense* (pequi). The trial of fermentation was accompanied through the values of pH and express acidity in lactic acid. They were carried out physical-chemical analyses (pH value, acidity expressed in lactic acid, lactose proportion, humidity proportion, ash proportion, total dry and not greased extract proportion, protein proportion, fat proportion), color and apparent viscosity after the fermentation

and during the storage of the product. It was determined the viability of the traditional lactic bacteria (*Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*) and the probiotic ones (*Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium* sp.) during the twenty-eight (28) days of storage. Sensorial tests of acceptance and preference were taken with adults and children. The collected data in this study were subjected to statistical analysis (average values with the respective standard deviations, analysis, variation analysis (ANOVA) by the Entirely Casual Delineation (ECD) and by Block Casual Delineation (BCD) and by Friedman's test). Had not significant differences between the samples in relation the physical-chemical characteristics. It observed itself that had a decrease of the value of pH and of the content of lactose and an increase in the express acidity in lactic acid proportional to the increase of the concentration of lactic cultures. During the time of stock noticed itself a significant decrease in the number of viable cells of *S. thermophilus* and *L. Bulgaricus* and of *L. acidophilus* and *Bifidobacterium* sp. The sensory analysis showed that in general the saborizados yogurt with fruit notes of the Cerrado had very similar in relation to the attributes evaluated. The results indicate the potential for synergy between the uses of inulin, characterized as functional food, together with the fruits of Cerrado, taken as natural antioxidants, both solubilized in a vehicle that serves as a generator of income for producers, milk.

## SUMÁRIO

<b>CAPÍTULO 1</b>	<b>1</b>
<b>1 APRESENTAÇÃO DO TEMA DA DISSERTAÇÃO</b>	<b>1</b>
<b>CAPÍTULO 2</b>	<b>5</b>
<b>2 OBJETIVOS</b>	<b>5</b>
2.1. Objetivos	5
2.1.1. Objetivo geral	5
2.1.2 Objetivos específicos	5
<b>CAPÍTULO 3</b>	<b>6</b>
<b>3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b>	<b>6</b>
3.1 A exploração da caprinocultura no Brasil	6
3.2 Características do Leite de Cabra	7
3.3 Uso nutricional e terapêutico do leite de cabra	9
3.4 Caseína	10
3.5 Iogurte	12
3.5.1 Produto Fermentado	12
3.5.2 Etapas do processo tradicional de fabricação do iogurte	15
3.5.2.1 Preparo da matéria-prima	15
3.5.2.2 Tratamento térmico da matéria prima	15
3.5.2.3 Resfriamento do Leite	16
3.5.2.4 Inoculação das Culturas	16
3.5.2.5 Resfriamento do Produto	17
3.5.2.6 Envase e armazenamento	18
3.5.3 Processo de fermentação	18
3.5.3.1 Tipos de culturas utilizadas no processo de fermentação	19
3.5.3.1.1 Cultura tradicional	19
3.5.3.1.2 Cultura probiótica	21
3.5.4 Pós-acidificação	23
3.6 Probióticos	24
3.7 Prebióticos	28
3.7.1 Fatores bifidogênicos	29
3.8 INULINA	30
3.9 Efeitos fisiológicos dos probióticos e prebióticos	33

3.10 Frutos do cerrado	34
3.10.1 Araticum	35
3.10.2 Cagaita	38
3.10.3 Pequi	41
3.11 Legislação de Alimentos Funcionais	43
3.12 Técnicas de Análise Sensorial	46
3.13 Gestão de Custos	50
<b>CAPÍTULO 4</b>	<b>53</b>
<b>4. METODOLOGIA</b>	<b>53</b>
4.1 Material	53
4.1.1 Matéria-prima	53
4.1.2 Culturas lácticas	54
4.2 Métodos	54
4.2.1 Processo de fabricação dos iogurtes	54
4.2.1.1 Fase 1 – Elaboração da formulação inicial	56
4.2.1.2 Fase 2 – Preparo da cultura	56
4.2.1.3 Fase 3 – Fermentação	57
4.2.1.4 Fase 4 – Armazenamento das amostras sob refrigeração	57
4.2.1.5 Fase 5 – Adição da polpa nas amostras de iogurtes	58
4.2.1.6 Fase 6 – Distribuição dos iogurtes em frascos de polietileno	59
4.2.2 Caracterização físico-química dos iogurtes	60
4.2.3 Vida de prateleira dos iogurtes – Pós-acidificação	61
4.2.4 Contagem de microrganismos tradicionais e probióticos	61
4.2.4.1 Contagem de <i>Streptococcus salivarius ssp. Thermophilus</i>	62
4.2.4.2 Contagem de <i>Lactobacillus delbrueckii spp. Bulgaricus</i>	62
4.2.4.3 Contagem de <i>Lactobacillus acidophilus</i>	63
4.2.4.4 Contagem de <i>Bifidobacterium sp.</i>	64
4.2.5 Análise sensorial	64
4.2.6 Análise estatística	67
<b>CAPÍTULO 5</b>	<b>69</b>
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	<b>69</b>
5.1 Curvas de pH e acidez expressa em ácido láctico durante o processo de fermentação	69
5.2 Caracterização físico-química dos iogurtes	73

5.3 Valores de pH, acidez expressa em ácido láctico e do teor de lactose durante o período de armazenamento sob refrigeração (pós-acidificação).	75
5.4 Contagem das bactérias lácticas durante o tempo de estocagem	80
5.4.1 Contagem de bactérias tradicionais <i>Streptococcus salivarius ssp. Thermophilus</i> e <i>Lactobacillus delbruecki ssp. Bulgaricus</i>	80
5.4.2 Contagem de bactérias probióticas <i>Lactobacillus acidophilus</i> e <i>Bifidobacterium sp.</i>	83
5.5 Análise sensorial dos iogurtes	88
5.5.1 Teste de Preferência	91
5.5.2 Avaliação do consumo de iogurtes e intenção de compra	91
5.5.3 Teste de aceitação – Crianças	92
<b>CAPÍTULO 6</b>	<b>93</b>
<b>6 CONCLUSÕES</b>	<b>93</b>
<b>CAPÍTULO 7</b>	<b>94</b>
<b>7. REFERÊNCIAS</b>	<b>94</b>
<b>ANEXOS</b>	113
Estimativa preliminar de Custos	113

## LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1 Estrutura Química da Inulina.	31
Figura 3.2: Casca e frutos de <i>Annona crassiflora</i>	36
Figura 3.3 - Aspecto do fruto e da polpa de araticum	37
Figura 3.4 – Frutos da cagaita ( <i>Eugenia dysenterica</i> )	38
Figura 3.5- <i>Eugenia dysenterica</i> , árvore	39
Figura 3.6 – Pequi/fruto ( <i>Caryocar brasiliense</i> )	42
Figura 4.1 – Preparo de ingredientes para fabricação de iogurte funcional	54
Figura 4.2 - Blocos do processo de elaboração dos iogurtes produzidos a 1,0% de concentração de culturas prebióticas e probióticas adicionado de inulina e saborizado com três frutos do cerrado.	55
Figura 4.3 - Adição das culturas lácticas tradicionais e probióticas no leite de cabra integral UHT previamente esterilizado – preparo da cultura.	56
Fonte: MUNDIM et al, 2007	56
Figura 4.4 - Amostras de iogurte no banho termostatizado à 40°C.	57
MUNDIM et al, 2007	57
Figura 4.5 - Armazenamento das amostras de iogurtes e polpas sob refrigeração à 4°C.	58
MUNDIM et al, 2007	58
Figura 4.6 – Adição de polpas nas amostras de iogurtes	58
MUNDIM et al, 2007	58
Figura 4.7– Iogurtes em frascos de polietileno de 200 mL.	59
MUNDIM et al, 2007	59
Figura 4.8 - Iogurtes em frascos de polietileno de 1 L.	59
MUNDIM et al, 2007	59
Figura 4.9 - Colônias de <i>Streptococcus salivarius</i> ssp. <i>thermophilus</i> desenvolvidas em meio de cultura M 17, após 48 horas de incubação.	62
Figura 4.10 - Colônias de <i>Lactobacillus delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i> desenvolvidas em meio de cultura MRS – ágar glicose acidificado, após 72 horas de incubação.	63
Figura 4.11 - Colônias de <i>Lactobacillus acidophilus</i> desenvolvidas em meio de cultura MRS – maltose, após 72 horas de incubação.	63
Figura 4.12 - Colônias de <i>Bifidobacterium</i> sp. desenvolvidas em meio de cultura MRS – glicose com as soluções A, B e C, após 72 horas de incubação.	64

Figura 4.13- Ficha utilizada para avaliação de aceitabilidade dos iogurtes funcionais saborizados com frutos do cerrado adicionados de inulina.	66
Figura 4.14 - Ficha utilizada para avaliação de aceitabilidade dos iogurtes funcionais saborizados com frutos do cerrado adicionados de inulina com 1,0% de culturas lácticas, teste aplicado com julgadores infantis.	67
Figura 5.1 – Valores médios de pH durante o tempo do processo de fermentação de iogurte funcional com leite de cabra, saborizado com frutos do cerrado e suplementado com inulina a 1,0% de concentração de culturas lácticas tradicionais e probióticas.	70
Figura 5.2 - Valores médios de acidez expressa em ácido láctico durante o processo de fermentação do iogurte funcional elaborado com leite de cabra.	71
Figura 5.3 - Valores médios de pH durante o tempo de estocagem dos iogurtes funcionais elaborados com leite de cabra.	77
Figura 5.4 - Valores médios de acidez expressa em ácido láctico durante o tempo de estocagem do iogurte funcional elaborados com leite de cabra.	78
Figura 5.5 - Valores médios do teor de lactose durante o tempo de estocagem dos iogurtes funcionais elaborados com leite de cabra.	79
Figura 5.6 - Valores médios dos atributos cor, aroma, sabor, acidez, corpo e aparência global dos iogurtes funcionais saborizados com frutos do cerrado e suplementados com inulina pelo teste de Friedman.	89
Figura 5.7 - Respostas dos provadores em relação ao Teste de Ordenação de preferência dos iogurtes funcionais elaborados com leite de cabra, saborizados com frutos do cerrado e suplementados com inulina	91
Figura 5.8 - Respostas dos provadores em relação a freqüência do consumo de iogurtes dos iogurtes funcionais elaborados com leite de cabra, saborizados com frutos do cerrado e suplementados com inulina.	91
Figura 5.9 - Respostas dos provadores em relação à intenção de compra dos iogurtes funcionais elaborados com leite de cabra, saborizado com frutos do cerrado e suplementado com inulina.	92



## LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1 - Composição Média do Leite de Cabra e de Vaca.	8
Tabela 3.2 – Microrganismos com propriedades de probióticos	28
Tabela 3.3. Ocorrência natural de frutooligossacarídeos (FOS) em plantas ( % do peso fresco).	30
Tabela 3.4 – Composição da polpa de araticum	38
Tabela 5.1 - Caracterização físico-química dos iogurtes funcionais elaborados com leite de cabra.	73
Tabela 5.2 - Contagem média do número de células viáveis de <i>Streptococcus salivarius</i> ssp. <i>thermophilus</i> dos iogurtes funcionais elaborados com leite de cabra, durante o tempo de estocagem (UFC/mL) com variação segundo amostragem.	80
Tabela 5.3 - Contagem média do número de células viáveis de <i>Lactobacillus delbruecki</i> ssp. <i>bulgaricus</i> dos iogurtes funcionais elaborados com leite de cabra, durante o tempo de estocagem (UFC/mL), com variação segundo amostragem.	81
Tabela 5.4 - Contagem média do número de células viáveis de <i>Lactobacillus acidophilus</i> dos iogurtes funcionais elaborados com leite de cabra, durante o tempo de estocagem (UFC/mL), com variação segundo amostragem..	84
Tabela 5.5 - Contagem média do número de células viáveis de <i>Bifidobacterium</i> sp. dos iogurtes funcionais elaborados com leite de cabra, durante o tempo de estocagem (UFC/mL), com variação segundo amostragem..	84
<b>Custo de produção para 2.000 litros de iogurte no período de 30 dias.</b>	<b>113</b>

**LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS**

ABNT: Associação Brasileira de Normas Técnicas  
AOAC: Association Of Official Analytical Chemists  
ANVISA: Agência Nacional de Vigilância Sanitária  
BPF: Boas Práticas de Fabricação  
DBC: Delineamento de Blocos Casualizados  
DIC: Delineamento Inteiramente Casualizado  
DP: Grau de polimerização  
EAF-UDI: Escola Agrotécnica Federal de Uberlândia  
EMBRAPA: Empresa Brasileira de pesquisa Agropecuária  
ESD: Extrato Seco Desengordurado  
EST: Extrato Seco Total  
FAO: Food and Agriculture Organization of the United Nations  
FDA: Food and Drug Administration  
FDC: Food, Drug and Cosmetics  
FNB: Federação Náutica de Brasília  
FOS: Frutooligosacarídeos  
FOSHU: Foods for Specified Health Use  
GAO: General Accounting Office  
INPI: Instituto Nacional de Propriedade Industrial  
Kcal: Kilo caloria  
MAFF: Ministério da Agricultura Pesca e Alimentos - Inglaterra  
MAPA: Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento  
NBR: Norma Brasileira Registrada  
PIQ: Padrões de Identidade e Qualidade  
RDC: Resolução Diretiva de Conformidade  
SENAI-CETAL: Serviço Nacional de Aprendizagem Industrial  
UFC: Unidade Formadora de Colônia  
UHT: Ultra Alta Temperatura  
USPTO: United States Patent and Trademark Office  
WWW: World Wide Web

# *CAPÍTULO 1*

## **1 APRESENTAÇÃO DO TEMA DA DISSERTAÇÃO**

Uma das prioridades nas mudanças de hábitos alimentares e no estilo de vida são principalmente em função da busca incessante por saúde, proporcionando melhor qualidade de vida e prevenindo o aparecimento de determinadas doenças.

Os alimentos funcionais demonstram capacidade de regular funções corporais de forma a auxiliar na proteção contra doenças como hipertensão, diabetes, câncer, osteoporose e coronariopatias (SOUZA, et al., 2003). Um alimento pode ser considerado funcional se for demonstrado que o mesmo pode afetar benéficamente uma ou mais funções alvo no corpo, além de possuir os adequados efeitos nutricionais, de maneira que seja tanto relevante para o bem-estar e a saúde quanto para a redução do risco de uma doença (ROBERFROID, 2002).

Os alimentos funcionais constituem hoje uma das prioridades de pesquisa na área de alimentos em todo mundo com a finalidade de elucidar as propriedades e os efeitos que estes produtos podem apresentar na promoção da saúde.

A ciência de alimentos, anteriormente se preocupava em desenvolver alimentos para a sobrevivência humana, objetivo que foi substituído pelo conceito de produzi-lo com qualidade, uma vez que o uso dos alimentos como veículo de promoção do bem-estar e saúde e, ao mesmo tempo, como redutor dos riscos de algumas doenças, tem incentivado as pesquisas de novos componentes naturais e o desenvolvimento de novos ingredientes, possibilitando a inovação em produtos alimentícios e a criação de novos nichos de mercado (MATSUBARA, 2001).

Com a crescente preocupação com a saúde, e o pouco tempo destinado às refeições, sucedâneos que fornecem benefícios adicionais à saúde passam a propiciar aos consumidores uma forma fácil e conveniente de garantir que seus organismos tenham um fornecimento adequado de nutrientes importantes.

Segundo Pupin, 2002 a indústria de laticínios está reagindo para aumentar a sua competitividade no segmento de produtos funcionais, para se adaptar à tendência de mudanças em um mercado consumidor exigente, que se modifica rapidamente, além de ter que manter a liderança tecnológica na indústria de alimentos. (BRANDÃO, 2002).

O interesse por produtos alimentícios saudáveis, nutritivos e de grande aproveitamento tem crescido mundialmente, o que resulta em diversos estudos na área de produtos lácteos. Alguns desses estudos têm dado ênfase ao valor nutricional dos ingredientes lácteos, assim como à importância de uma dieta baseada em produtos lácteos. (PARK, et al, 1997).

O alimento funcional, além de suas funções nutricionais como fonte de energia e de substrato para a formação de células e tecidos, possui em sua composição uma ou mais substâncias que atuam modulando e ativando os processos metabólicos, melhorando as condições de saúde pelo aumento da efetividade do sistema imune, promovendo o bem-estar das pessoas e prevenindo o aparecimento precoce de alterações patológicas e de doenças degenerativas, que levam a uma diminuição da longevidade. (SGARBIERI & PACHECO, 1999).

O termo prebiótico é definido como um ingrediente alimentar não digerível pela maioria dos microrganismos do intestino e que afeta benéficamente o hospedeiro, pelo estímulo seletivo do crescimento e/ou atividade de apenas um ou de um número limitado de bactérias no cólon (GIBSON & ROBERFROID, 1995). Estudos clínicos e

epidemiológicos têm apresentado evidências de que antioxidantes fenólicos de cereais, frutas e vegetais são os principais fatores que contribuem para a baixa e significativa redução da incidência de doenças crônicas e degenerativas encontradas em populações cujas dietas são altas na ingestão desses alimentos (SHAHIDI, 1996).

Segundo Ferreira (2000), os laticínios são uma das mais antigas fontes de cálcio, um nutriente essencial que pode prevenir a osteoporose e possivelmente câncer de cólon. Entretanto, além do cálcio, pesquisas recentes têm focalizado especialmente outros componentes dos laticínios, conhecidos como probióticos. Estas propriedades permitem incluir os laticínios na classe de alimentos funcionais.

Inicialmente, o consumo de iogurte foi bastante limitado, restringindo-se apenas a certos grupos étnicos. Em meados de 1960, a adição de frutas ao produto, com o objetivo de atenuar o seu sabor ácido, possibilitou uma maior aceitação popularizando seu consumo em todas as classes sociais e faixas etárias. Simultaneamente, promoveu-se uma ampla divulgação das suas qualidades nutritivas e terapêuticas, levando a um considerável aumento no seu consumo (MOREIRA et al, 1999).

O consumo de leites fermentados esteve baseado, por muito tempo, no iogurte tradicionalmente produzido com fermentos compostos de *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* spp. *Bulgaricus*. As novas tendências na elaboração de alimentos funcionais apontam para o uso de probióticos, associados ou não às bactérias tradicionais, quer como agentes “biotecnológicos”, que melhoram as características do produto tradicional, como reduzir a pós-acidificação do iogurte, fato evidenciado pela ação de *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium* sp. quer como “agentes terapêuticos”, ou seja, microrganismos que promovam efeitos benéficos nos indivíduos que os ingerem (ANTUNES, 2001).

O termo prebiótico é definido como um ingrediente alimentar não digerível pela maioria dos microrganismos do intestino, e que afeta benéficamente o hospedeiro, pelo estímulo seletivo do crescimento e/ou atividade de apenas um ou de um número limitado de bactérias no cólon (GIBSON & ROBERFROID, 1995).

Para um ingrediente alimentar ser classificado como um prebiótico é necessário não sofrer hidrólise e nem ser absorvido na parte superior do trato gastrointestinal, ser um substrato seletivo para um número limitado de bactérias potencialmente benéficas do cólon, que são estimuladas para crescerem e desenvolverem atividades metabólicas, mas também ser capaz de promover uma biota intestinal saudável e, como consequência, induzir efeitos no lúmen que beneficiem o hospedeiro. (FOOKS, et al, 1999).

Neste trabalho serão preparados a partir do leite de cabra, iogurtes probióticos com prebióticos saborizados com frutos do cerrado, *Annona crassiflora* (araticum), *Eugenia dysenterica* (Cagaita), e *Caryocar brasiliense* (Pequi) e suplementado com inulina, dado às grandes potencialidades do Cerrado Mineiro, região rica em recursos naturais aliado a pujante agricultura e pecuária de cunho familiar que necessita de mecanismos tecnológicos para agregação de valor aos produtos ali desenvolvidos.

Faz mister relatar que tal fato se concretiza a medida que surgem novas parcerias entre entidades educacionais (Uniminas-UFRJ/EQ) possibilitando esse elo no conhecimento e proporcionando o desenvolvimento de regiões do interior, graças a possibilidade de permitir que o estudante leve suas pré noções e anseios e que ao final do trabalho consiga traduzir em soluções economicamente viáveis os anseios de sua região e comunidade de origem bem como realização pessoal.

# CAPÍTULO 2

## 2 OBJETIVOS

### 2.1. Objetivos

#### 2.1.1. Objetivo geral

Elaborar iogurte probiótico com leite de cabra, saborizado com três frutos do Cerrado e suplementado com inulina.

#### 2.1.2 Objetivos específicos

- Determinar as características físico-químicas no iogurte tais como: teor de umidade, teor de cinzas, teor de extrato seco total e extrato seco desengordurado, teor de proteína e teor de gordura;
- Avaliar o tempo de fermentação dos iogurtes, que foi definido como o tempo necessário para os produtos atingirem aproximadamente o pH 4,8;
- Acompanhar as alterações nas características de pós-acidificação – valores de pH, acidez expressa em ácido láctico durante os 28 dias de estocagem refrigerada;
- Determinar a viabilidade das bactérias lácticas tradicionais (*Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*) e probióticas (*Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium* sp.) durante os 30 dias de armazenamento;
- Analisar sensorialmente os atributos cor, aroma, sabor, acidez, viscosidade, aparência global e preferência dos iogurtes pelos consumidores.

# *CAPÍTULO 3*

## **3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **3.1 A exploração da caprinocultura no Brasil**

A caprinocultura representa uma atividade pecuária importante para a maioria dos países, porém está mais concentrada nas regiões tropicais e ou semi-áridas. A finalidade da atividade tem sido o fornecimento de alimentos e matéria prima de vestuário à população humana.

Dentre os alimentos de origem animal utilizados na alimentação humana, o leite de cabra ocupa lugar de destaque, fornecendo calorías e aminoácidos essenciais em proporções iguais ou superiores aos recomendados pela Organização Mundial de Saúde, além de apresentar alta digestibilidade (BARROS, et al 1981).

A exploração dos caprinos para leite tem crescido, porque além do leite ser considerado um produto de alto valor nutritivo, os caprinos têm a capacidade de se adaptar a condições criatórias variáveis, podendo proporcionar a famílias de baixa renda familiar, e a população em geral, uma melhoria do nível nutricional da dieta (FIGUEIREDO, 1990; MEDEIROS et al., 1994; KNIGHTS & GARCIA, 1997).

Segundo RIBEIRO (1997) o uso de leite de cabra por indicação médica tem sido um dos carros chefes a promover a caprinocultura leiteira. De acordo com PELLERIN (2001), o leite de cabra apresenta propriedades que favorecem seu valor nutricional, sendo recomendado para crianças, particularmente para aquelas intolerantes ao leite de vaca, para pessoas com doenças gastrointestinais ou mesmo como suplemento para pessoas idosas e mal nutridas. As populações dos países em desenvolvimento, onde a caprinocultura é mais



importante numericamente, podem ser sensivelmente beneficiadas com a produção de leite caprino (KNIGHTS & GARCIA, 1997; PELLERIN, 2001).

### **3.2 Características do Leite de Cabra**

O leite de cabra é um composto físico e químico complexo. Segundo Le Jaouen (1981), o leite é basicamente uma emulsão de gordura numa solução aquosa, contendo vários elementos, alguns, como a lactose e minerais, estão dissolvidos, e outros em forma coloidal, como os compostos nitrogenados. O leite de cabra possui qualidades próprias, que muito o recomendam como alimento, porém a sua composição varia de acordo com vários fatores, entre estes, a raça, estágio de lactação, ciclo estral, condições ambientais, estação do ano, alimentação, cuidados dispensados ao animal e estado de saúde do mesmo (JARDIM, 1984).

De acordo com LE JAOUEN (1981), o leite de cabra apresenta algumas características físicas que o distinguem do leite de vaca. Apresenta um gosto típico que, dependendo das condições de higiene onde animais estão instalados e da alimentação que recebem, podem apresentar um gosto mais forte, muitas vezes indesejável. Porém, se o leite for obtido seguindo os padrões de higiene recomendado, é muito bem aceito pelas crianças, como observado em um trabalho realizado em creches na cidade de São Paulo, onde se verificou que o leite de cabra teve uma aceitação 50% maior do que o leite de vaca. (SAÚDE, 2001).

Tipicamente, o leite de cabra possui uma acidez natural um pouco menor do que o leite de vaca, pH 6,45, densidade entre 1,026 a 1,042 e ponto de congelamento de aproximadamente  $-0,58^{\circ}\text{C}$ . Por não apresentar caroteno (pró-vitamina A), e sim vitamina A, o leite de cabra apresenta uma coloração branca pura. No leite de vaca, a presença desta pró-vitamina é responsável por sua coloração mais amarelada (RIBEIRO & RIBEIRO, 2001).

Dados médios para a composição do leite de cabra e vaca, adaptados de compilações de vários autores, são apresentados na Tabela 3.1.

Tabela 3.1 - Composição Média do Leite de Cabra e de Vaca.

Constituintes	Cabra	Vaca
Gordura (%)	4,69	3,52
Proteínas (%)	3,95	3,26
Lactose (%)	4,72	4,76
Cinzas (%)	0,77	0,71
Extrato seco total (%)	14,12	12,25
Extrato seco desengordurado (%)	9,43	8,73
Água (%)	85,88	87,75
Densidade (15°C)	1,033	1,030
Acidez (°D)	17,7	16,7
pH	6,45	6,65
Depressão crioscópica (°H)	-0,558	-0,545

Fonte: Instituto de Laticínios Candido Tostes, Centro de Pesquisa e Ensino da EPAMIG, Juiz de Fora/MG 1996

Em contraste, outros trabalhos da literatura relatam diferenças marcantes entre o leite de diferentes raças caprinas (CLARK & SHERBON, 2000), e entre os leites caprino e bovino (HADJIPANAYIOTOU, 1995).

A lactose dos leites de cabra e vaca é essencialmente a mesma, sendo formada por uma molécula de  $\alpha$  ou  $\beta$ -glicose e uma molécula de  $\beta$ -galactose. O teor de lactose no leite normalmente apresenta pouca variabilidade, isto ocorre em função da lactose ser um dos principais responsáveis pela osmolaridade do leite e da necessidade da pressão osmótica deste produto estar de acordo com a pressão sanguínea (SWAISGOOD, 1996).

As principais proteínas presentes no leite podem ser divididas em três grupos (LE JAOUEN, 1981; SWAISGOOD, 1996):

1) Caseína, que é a parte coagulável das proteínas, e é representada em ordem decrescente pela  $\alpha_s$ -caseína ( $\alpha_{s1}$  e  $\alpha_{s2}$ ),  $\beta$ -caseína, k-caseína e  $\gamma$ -caseína.

- 2) Proteínas solúveis não coaguláveis, representadas pela  $\beta$ -lactoglobulina,  $\alpha$ -lactoalbumina.
- 3) Proteoses, peptonas, albumina sérica e imunoglobulinas, as quais ocorrem em baixas concentrações.

Segundo PIERRE (1977) apud LE JAOUEN (1981), a  $\alpha$ 1 - caseína representa 21,2% da proteína do leite de cabra, enquanto no leite de vaca, este valor corresponde a 40%. Por outro lado, a  $\beta$ -caseína representa 67,4% da proteína do leite de cabra e 43,3% da proteína do leite de vaca. Clark e Sherbon (2000) citam que os leites de cabra e vaca tem proporções similares de k-caseína e  $\alpha$ 2-caseína, porém o leite de cabra apresenta níveis mais altos de  $\beta$ -caseína (53% vs 37,5%) e níveis mais baixos de  $\alpha$ 1-caseína (15% vs 38%) do que o leite de vaca. O leite de cabra também apresenta menor percentagem de proteínas do soro do que o leite de vaca, respectivamente, 0,43 e 0,60% (RIBEIRO, 1997).

### **3.3 Uso nutricional e terapêutico do leite de cabra**

De acordo com Jardim (1984) e Medeiros et al. (1994) o leite de cabra é o alimento ideal para crianças, pessoas idosas, doentes e convalescentes, pois além de ter boa composição nutricional, não provoca o aparecimento de cólicas estomacais, podendo, em alguns casos, eliminá-las. Também é recomendado para crianças alérgicas ao leite de vaca e a pessoas que fazem tratamento quimioterápico. Neste caso, o consumo do leite de cabra pode diminuir a queda de cabelos, que normalmente ocorre neste tipo de tratamento. Segundo Knights e Garcia (1997) o leite de cabra é rico em ácidos graxos de cadeias curtas, tais como o cáprico e caprílico. Sendo esses ácidos graxos comumente usados em tratamentos de pessoas com problemas de má absorção, pois têm habilidade única de prover energia, além de inibir e limitar a deposição de colesterol nos tecidos e dissolver as placas de colesterol.

Em 300 casos de asma em que a alergia a lactoalbumina do leite de vaca foi diagnosticada como a principal causa, 270 tornaram-se livres dos sintomas em seis semanas,

após substituírem o leite de vaca pela mesma quantidade de leite de cabra (WALKER, 1991). De maneira semelhante, dados de muitas pesquisas mostram que aproximadamente 10 % da população, tanto adultos como crianças, sofre enxaqueca, e que parte desta é devido à alergia à alimentação. Walker (1991) observou que em 1.682 pacientes com enxaqueca alérgica, aproximadamente 80 % tinham o problema devido ao consumo de leite de vaca e queijo de leite de vaca, por serem alérgicas a lactalbumina deste leite.

O leite de cabra apresenta uma capacidade tamponante (buffer) superior ao leite de vaca, sendo mais recomendado então, para pessoas em tratamento de úlceras gástricas. Os principais componentes tamponantes do leite são as proteínas e os fosfatos (FAO, 1987).

Ainda, segundo Pinheiro Júnior (1985), a excelência do leite de cabra, como substituto do leite materno, revelou-se nas experiências realizadas em todo o mundo contra a tuberculose. Foi verificado por inúmeros médicos que a porcentagem de crianças tuberculosas diminuía com o uso do leite de cabra, em substituição ao de vaca. Isto é, provavelmente, devido a menor incidência da doença nos caprinos, o que tornaria o leite mais seguro.

### **3.4 Caseína**

A caseína é a proteína mais importante do leite. Para manter a solubilidade dessa caseína no leite, ela se encontra na forma de micela, onde cada fração constitui uma sub-micela estabilizadas por grupos fosfatos os quais estão esterificados a resíduos de serina. Esse fosfato une, através de cálcio as sub-micelas, mantendo a integridade da micela. (SGARBIERI, 1996)

A caseína é transformada em sais de cálcio ou sódio, para aumentar sua solubilidade e assimilação orgânica, sendo denominada a partir daí como caseinato de cálcio ou de sódio (TADINI, TAQUEDA & GRANDI, 1996). Os caseinatos, segundo definição na norma 72 da International Dairy Federation de 1974, são produtos fabricados mediante a secagem de

dispersões preparadas pela adição de um álcali apropriado e água potável com caseína padrão alimentício ou com coalhada fresca de caseína padrão alimentício, ambas derivadas integralmente do leite. Os álcalis e/ou sais alcalinos (incluindo amônia e alcalinos terrosos) usados devem ser também de grau alimentício (TADINI, 1994).

De acordo com a norma citada, os caseinatos alimentícios classificados como “extra” e de “1ª qualidade” tem as seguintes especificações:

- Quanto à cor: devem ser brancos ou cremes claro.
- Quanto ao conteúdo de umidade: extra – não mais que 6,0% e de 1ª qualidade – não mais que 8,0%.
- Quanto ao conteúdo de proteína: extra – não menos que 90,0% na matéria seca e de 1ª qualidade – não menos que 88,0% na matéria seca.

A fabricação desses concentrados protéicos de leite na forma de caseinatos se dá nas seguintes etapas: preparação e acidificação do leite desnatado, precipitação da caseína, separação e lavagem, secagem pelo processo de nebulização ou secador rotativo e embalagem.

De acordo com os Padrões de Identidade e Qualidade (PIQ) para Leites Fermentados, Resolução N.º. 5, 13 de novembro de 2000 (BRASIL, 2000) é permitido o uso do concentrado de proteínas do leite (como por exemplo, caseinatos alimentícios) em processos de fermentação do leite para obtenção de iogurtes, queijos maturados, queijos frescos e alguns tipos de sorvetes” (TADINI, 1994).

## 3.5 Iogurte

### 3.5.1 Produto Fermentado

A acidificação é um dos métodos mais antigos de preservação do leite. O leite fermentado surgiu na Mesopotâmia a cerca de 5000 a.C. O iogurte é um alimento e bebida tradicional nos Bálcãs e na Ásia Mediterrânea e a palavra “iogurte” é derivada da palavra turca “jugurt”, sendo conhecida por uma variedade de nomes em diferentes países (TAMIME & DEETH, 1980).

No início do século XX, a teoria de Metchnikoff, denominada “Teoria da Longevidade”, atribuiu ao iogurte vários efeitos benéficos à saúde humana. Para Metchnikoff, a longevidade dos povos dos Bálcãs era resultado de uma dieta rica em leite fermentado, contendo um lactobacilo que por muito tempo foi considerado como *L. bulgaricus*. Posteriormente, verificou-se que o *L. acidophilus* deveria ser o microrganismo contido em tais produtos pela afinidade deste com o trato intestinal humano. Segundo TAMIME & ROBINSON (1999) esta teoria exagera no valor do iogurte, porém, influenciou de forma positiva seu consumo em vários países da Europa.

Leite fermentado é resultante do processo de fermentação láctica, adicionado ou não de frutas, açúcar e outros ingredientes que melhorem sua apresentação e modifiquem seu sabor. O leite fermentado mais importante economicamente é o iogurte, obtido da coagulação do leite pela ação de dois microrganismos, *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, que favorece uma melhor assimilação, pelo organismo humano, de certos componentes, principalmente a lactose e proteínas (BOBBIO, 1995).

O iogurte constitui uma rica fonte de proteínas, cálcio, fósforo, vitaminas e carboidratos. O consumo deste produto está relacionado à imagem positiva de alimento

saudável e nutritivo, associado a suas propriedades sensoriais. Esse consumo também pode ser atribuído aos benefícios que o iogurte traz ao organismo humano, tais como: facilitar a ação das proteínas e enzimas digestivas, facilitar a absorção de cálcio, fósforo e ferro, ser fonte de galactose – importante na síntese de tecidos nervosos e cerebrosídeos em crianças, além de ser uma forma indireta de se ingerir o leite (FERREIRA et al, 2001).

Devido à ação metabólica das bactérias sobre os componentes do leite, durante a fermentação estes são transformados em açúcares mais simples que podem ser consumidos por pessoas que, devido à deficiência da enzima lactase em seu organismo, não toleram a lactose presente no leite (SALADO & ANDRADE, 1989).

Para Kleinmam (1990), é possível os indivíduos aumentarem sua tolerância a produtos lácteos por ingestão de produtos fermentados como o iogurte, pois, de acordo com SAVIANO & HARLANDER (1991) a lactose ingerida no iogurte é mais efetivamente digerida que a lactose do leite, ainda que o iogurte tenha quantidade equivalente em lactose. De acordo com estes autores este fato pode ser atribuído à hidrólise intestinal, pela ação da  $\beta$ -galactosidase microbiana dos organismos presentes no iogurte, durante a passagem no trato gastrointestinal.

A lactose presente no iogurte é mais facilmente digerível, pois cerca de 50% de sua concentração original já foi hidrolisada durante a fermentação, e as células bacterianas, durante o processo de metabolismo no organismo humano, sob condições gástricas, sofrem “lise”, liberando a lactase (BOBBIO, 1995).

Existem hoje no mercado vários tipos de iogurte classificados de acordo com o processo de elaboração, adição de ingredientes, composição, consistência e textura. São eles (BRANDÃO, 1987; TAMIME & DEETH, 1980):

- **Iogurte tradicional:** no qual o processo de fermentação ocorre dentro da própria embalagem, não sofre homogeneização e o resultado é um produto firme, mais ou menos consistente;
- **Iogurte batido:** o processo de fermentação ocorre em fermentadeiras ou incubadoras com posterior quebra do coágulo;
- **Iogurte líquido:** o processo de fermentação é realizado em tanques; é comercializado em embalagens plásticas tipo garrafa ou do tipo cartonadas.

As propriedades físicas do iogurte, como consistência/ viscosidade do coágulo, são de grande importância, pois quanto maior o conteúdo em sólidos da mistura destinada à elaboração do iogurte, maior a consistência e viscosidade do produto final. A prática utilizada nas indústrias é a adição de leite em pó (integral, semi-desnatado ou desnatado), com o objetivo de alcançar a concentração de sólidos necessária para a melhor consistência do iogurte (TAMIME & ROBINSON, 1991).

Atualmente, a indústria de iogurte está mais centrada no iogurte batido, pois este permite aos produtores adicionar estabilizantes para prevenir a sinérese durante a vida de prateleira (LUCEY & SINGH, 1998).

O iogurte é um derivado do leite que apresenta uma das melhores margens de rentabilidade para o fabricante de produtos lácteos, devido ao fato de não passar por nenhum processo de concentração, ou seja, começa com um volume de matéria-prima e termina com o mesmo volume, já que alguns ingredientes como polpas de frutas são acrescentados. Seu mercado, em suas diversas categorias, vem demonstrando grande potencial de crescimento nos últimos anos (SANTOS, 1998).

No Brasil, o aumento do consumo de iogurte começou em 1970 e continuou com uma taxa excepcional de crescimento devido aos mais variados produtos disponíveis



comercialmente, tais como iogurte congelado (*frozen*), o líquido e em forma de bebidas (BRANDÃO, 1987).

### **3.5.2 Etapas do processo tradicional de fabricação do iogurte**

A seguir uma descrição breve da elaboração do iogurte será apresentada, envolvendo aspectos que vão desde a matéria-prima até o produto final. Tal descrição está baseada nos trabalhos de Lobato (2000), Deeth & Tamime (1981), e Tamime & Robinson (1991).

#### **3.5.2.1 Preparo da matéria-prima**

O leite utilizado para fabricação de iogurte deve apresentar Boas Práticas de fabricação (BPF) ser higienicamente produzido e manipulado, de composição físico-química normal, isento de antibióticos e preservativos e não deve ser utilizado congelado, a fim de evitar defeitos na textura do produto.

Para a fabricação de um produto mais consistente, se deve aumentar a matéria seca do leite pela adição de 2 a 4% de leite em pó.

No caso de utilizar açúcar, este deve ser adicionado ao leite antes do aquecimento, normalmente de 6 a 12%.

#### **3.5.2.2 Tratamento térmico da matéria prima**

Esse tratamento tem como objetivo destruir os microrganismos patogênicos e outros que possam competir com as culturas do iogurte, além de promover a desnaturação das proteínas do soro que reduz a contração do coágulo da caseína do iogurte, diminuindo,

conseqüentemente, a sinérese. O tratamento térmico estimula o início do crescimento da cultura láctica por redução do conteúdo de oxigênio do leite, além disso, influi sobre o aumento da viscosidade do iogurte e na obtenção de uma boa textura (VARNAN & SUTHERLAND, 1994).

No aquecimento devem ser rigorosamente observados a temperatura e o tempo em que o leite deve permanecer. As condições recomendadas são: 95°C por um minuto e meio; 90°C por três minutos e meio; 85°C por oito minutos e meio ou 80°C por 30 minutos. O aquecimento mais indicado é por meio de banho-maria ou tanques de parede dupla (encamisados).

### **3.5.2.3 Resfriamento do Leite**

Após aquecimento do leite, deve-se resfriá-lo à temperatura de 42 - 43°C. Isso pode ser feito pela substituição da água quente do banho-maria por água fria. Para não haver contaminação nessa fase, o recipiente do leite deve estar sempre fechado, sendo controlado por termopares.

### **3.5.2.4 Inoculação das Culturas**

Após o leite ser resfriado (42 - 43°C) adiciona-se de 1 a 2% de fermento láctico preparado previamente, pela ativação das culturas. A cultura mãe deve ser homogeneizada, de forma que todos os grumos sejam quebrados. Após a adição de culturas no leite, o conjunto deve ser novamente homogeneizado por cerca de 2 minutos e o leite deve permanecer em completo repouso por aproximadamente quatro horas, a uma temperatura de 41 a 45°C. Ao

final da fermentação, o coágulo deve apresentar pH entre 4,5 e 4,7 e uma concentração de ácido láctico de 0,9%; o gel deve ser liso, brilhante, sem desprendimento de soro ou gases.

### **3.5.2.5 Resfriamento do Produto**

O resfriamento é uma etapa crítica na produção de iogurte e é realizado logo após o produto ter atingido o grau de acidez desejado na fermentação. Como a elaboração do iogurte é um processo biológico, torna-se necessário o uso da refrigeração para reduzir a atividade metabólica da cultura, controlando deste modo a acidez do iogurte.

É recomendado que se faça em duas etapas, para evitar o choque térmico, que provoca um encolhimento da massa e danos ao coágulo, pois o resfriamento muito rápido pode provocar a separação de soro no iogurte (TAMIME & DEETH, 1980).

A primeira etapa consiste em abaixar a temperatura a 18 - 20°C em, no máximo, 30 minutos, o que pode ser feito com água à temperatura ambiente. No caso do iogurte batido, pode-se fazer, nessa temperatura, a adição de ingredientes tais como: frutas, corantes, cereais, mel, etc., que devem ser homogeneizados na massa.

Na segunda etapa, a redução da temperatura da massa deve atingir a temperatura de 10°C. O aparecimento do sabor característico do iogurte ocorre durante as 12 horas posteriores ao resfriamento, proporcionando as características finais de um bom iogurte.

O próximo passo será a quebra da coalhada com agitação, visando obter uma massa de textura homogênea. Segundo Rasic & Kurman (1978), a agitação deve ocorrer preferivelmente a temperaturas menores que 40°C para se obter um coágulo consistente durante o armazenamento. A agitação feita a altas temperaturas (exemplo: logo após o término da fermentação) resulta no aparecimento de partículas do coágulo e separação do soro devido à destruição irreversível da estrutura gel.

### **3.5.2.6 Envase e armazenamento**

No caso do iogurte batido, a fermentação é feita em um tanque com posterior embalagem, no qual é envasado depois de resfriado e mantido sob refrigeração por um período superior a 24 horas antes de ser comercializado.

A embalagem deve seguir alguns critérios como: ser impermeável aos sabores, corantes, odores do ambiente, oxigênio e contaminações externas; resistir a acidez do iogurte, a umidade, golpes mecânicos a que o produto é sujeito durante o transporte e armazenamento e não permitir exposição do produto à luz. Uma boa opção para produção em pequena escala é a embalagem de polietileno termoformada que apresenta também facilidade para o fechamento térmico.

A temperatura de armazenamento deve ser de 2 a 5°C para conservar e melhorar a consistência do iogurte, que deve ser consumido à temperatura de 10 a 12°C, na qual o sabor torna-se mais apreciável.

### **3.5.3 Processo de fermentação**

Durante o processo de fermentação ocorre a produção de ácido láctico como produto principal e a produção de pequenas quantidades de outros subprodutos que influenciam profundamente nas características organolépticas do iogurte. O acetaldeído é produzido em maiores quantidades seguido por acetona, 2 - butanona, diacetil e acetoína. O ácido láctico resultante da fermentação contribui para a desestabilização da micela de caseína, provocando sua coagulação no ponto isoelétrico (pH 4,6 - 4,7) e conduzindo à formação de um gel, o

iogurte. Além disso, a fermentação láctica beneficia o valor nutricional do produto final (RASIC & KURMAN, 1978; TAMIME & ROBINSON, 1991).

A etapa de fermentação pode ser realizada na própria embalagem de comercialização para a produção do iogurte firme ou em tanques para a produção do iogurte batido. No entanto, independente do tipo de iogurte a ser fabricado, as reações bioquímicas responsáveis pela formação do gel/coágulo são exatamente as mesmas. As únicas diferenças existentes entre o iogurte firme e o batido são as propriedades reológicas do coágulo (TAMIME & ROBINSON, 1991).

### **3.5.3.1 Tipos de culturas utilizadas no processo de fermentação**

#### **3.5.3.1.1 Cultura tradicional**

As bactérias lácticas tradicionais na fabricação de iogurtes são *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus* – cocos unidos, geralmente em cadeias curtas e *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* – bastonetes unidos em cadeias longas - utilizam a lactose como substrato energético com liberação de ácido láctico. Ambos os microrganismos são termofílicos e homofermentativos. O crescimento associado destas duas culturas resulta em menor tempo de coagulação do leite, maior produção de ácido láctico e um maior desenvolvimento de sabor e aroma no iogurte. O iogurte preparado com a bactéria *S. thermophilus* é muito menos ácido que o produto preparado com *L. bulgaricus* (TAMIME & DEETH, 1980; SABOYA, OETTERER & OLIVEIRA, 1997).

A atividade proteolítica dos bacilos promove a liberação de pequenos peptídeos e aminoácidos, especialmente valina, que favorecem o crescimento dos cocos. Similarmente, o desenvolvimento dos cocos estimula o crescimento dos bacilos devido à produção de ácido

fórmico, gás carbônico e a redução da quantidade de oxigênio disponível no meio ( SHAH, 2000; TAMIME & DEETH, 1980).

De acordo com Tamime & Deeth (1980) e Tamime & Robinson (1999), a relação ótima entre cocos e bacilos para o desenvolvimento do sabor e aroma característicos do produto é dependente das propriedades das cepas utilizadas e é de aproximadamente 1:1. Este balanço adequado da cultura é importante para a obtenção de um iogurte com boas características organolépticas relativas ao sabor, aroma e textura.

A predominância de qualquer uma das espécies pode acarretar em defeitos para o produto final. Os principais fatores que podem afetar o balanço adequado entre os dois microrganismos são o tempo e a temperatura de incubação e a porcentagem de inóculo. Por exemplo, um tempo menor de incubação resultaria em um produto com maior proporção de cocos e com um sabor fraco. Por outro lado, um tempo maior de incubação ou um resfriamento inadequado favoreceria a predominância de bacilos resultando num produto com sabor amargo (WALSTRA et al, 1999).

A temperatura ótima de crescimento de *S. thermophilus* situa-se entre 40 - 45°C, atingindo um mínimo a 20°C e um máximo a 50°C. Para *L. bulgaricus*, a temperatura ótima de crescimento situa-se entre 40 - 43°C, atingindo um mínimo a 22°C e um máximo a 52,5°C. Quando ocorre uma associação entre *S. thermophilus* e *L. bulgaricus* a temperatura ótima de crescimento fica entre 40 - 45°C e a coagulação pode demorar mais que quatro horas, dependendo da porcentagem de inóculo adicionada. Após o iogurte ter atingido o pH desejável (geralmente pH 4,6), o gel é resfriado a temperatura menor que 10°C. O pH final da maioria dos iogurtes varia entre 4,6 - 4,0 (LUCEY & SINGH, 1998).

As bactérias tradicionais utilizadas na fermentação de iogurtes, *S. thermophilus* e *L. bulgaricus*, não pertencem à flora intestinal, não são resistentes à bile e conseqüentemente não sobrevivem a passagem através do trato gastrointestinal, portanto não são consideradas como

probióticas. No entanto, essas bactérias possuem efeitos positivos como ação inibidora contra bactérias patogênicas no trato gastrointestinal e melhoramento da digestão da lactose devido a presença de enzima  $\beta$ -galactosidase nas células das bactérias tradicionais de iogurte (LOURENS-HATTINGH & VILJOEN, 2001).

### **3.5.3.1.2 Cultura probiótica**

Recentemente, os iogurtes têm sido reformulados para incluir linhagens vivas de *L. acidophilus* e espécies de *Bifidobacterium* além dos organismos da cultura tradicional de iogurte *S. thermophilus* e *L. bulgaricus*. Assim, o bio-iogurte é o iogurte que contém microrganismos probióticos vivos que proporcionam o aumento dos efeitos benéficos a saúde do hospedeiro (LOURENS-HATTINGH & VILJOEN, 2001; SHAH, 2001; VINDEROLA, BAILO & REINHEIMER, 2000).

As bifidobactérias são habitantes naturais do intestino humano e animal. Sua população é influenciada pela idade, dieta, antibióticos, estresse entre outros fatores. As bifidobactérias são bastonetes, gram-positivas, anaeróbias, possuem formato de Y e requerem nutrientes especiais, o que dificulta seu isolamento e crescimento em laboratórios. Todas as espécies de *bifidus* fermentam a lactose e crescem bem em leite. Sua temperatura de crescimento situa-se entre 20°C a 46°C e morrem a 60°C. O pH ótimo é de 6,5 - 7,0 e não há crescimento em pH < 5,1 ou pH > 8,0 (ARUNACHALAM, 1999).

Em humanos, as bifidobactérias são consideradas benéficas por produzirem ácido láctico, acético e pequena quantidade de ácido fórmico, diminuindo o pH do cólon e inibindo a proliferação de patógenos (HUGHES & HOOVER, 1991; IBRAHIM & BEZKOROVAINY, 1994).

Os *L. acidophilus* são bactérias gram-positivas, catalase negativas, anaeróbias a microaerófilas, homofermentativas e possuem formato de bastonetes.

São residentes naturais do intestino humano e de animais. Os *L. acidophilus* são fracos formadores de ácidos, e por esta razão, são especialmente utilizados em iogurtes suaves. Crescem em temperatura entre 20 a 48°C, sendo a temperatura ótima de crescimento 37°C (FRANCO, LANDGRAF & DESTRO, 1996). Os lactobacilos contribuem com o sabor e aroma em alimentos fermentados, produzindo vários compostos voláteis, como o diacetil e seus derivados (SILVA & STAMFORD, 2000).

Não está estabelecida a quantidade ótima de consumo de produtos contendo bactérias probióticas necessárias para promover benefícios nutricionais aos consumidores (GILLILAND *et alii*, 2002). Vinderola & Reinheimer (2000) sugerem níveis acima de  $10^7$  UFC por grama ou mililitros do produto para serem garantidos efeitos funcionais fisiológicos. Outros autores preconizam número mínimo de células viáveis de  $10^5$  UFC.g<sup>-1</sup> (SHAH *et al*, 1995; SAMONA & ROBINSON, 1994).

Possivelmente essas contagens sejam ainda efetivas no caso de produtos lácteos consumidos com frequência regular (VINDEROLA & REINHEIMER, 2000).

Para os Padrões de Identidade e Qualidade (PIQ) de Leites Fermentados, a Resolução Nº 5, de 13 de novembro de 2000, estabelece que em iogurtes a contagem total de bactérias lácticas viáveis deve ser no mínimo de  $10^7$  UFC/mL no produto final, durante todo o prazo de validade e, no caso em que mencione(m) o uso de Bifidobactérias, a contagem deve ser de  $10^6$  UFC/mL (BRASIL, 2000). Em relação aos probióticos, o produto deve constar a quantidade dos microrganismos viáveis que garanta a ação alegada dentro do prazo de validade do produto (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2002).

Diversos fatores afetam o crescimento e a viabilidade das bactérias probióticas no produto. Entre eles pode-se destacar o ácido e peróxido de hidrogênio produzidos pela



bactéria do iogurte, o pH, o aumento da acidez durante armazenamento, a temperatura de armazenamento, a presença de conservantes e de outros microrganismos, a concentração de oxigênio contida no produto e permeabilidade do oxigênio através da embalagem e a disponibilidade de fatores de crescimento (DAVE & SHAH, 1997; GUEIMONDE, et al 2004).

Do ponto de vista econômico/comercial, não é viável fermentar o leite usando apenas microrganismos probióticos devido ao maior tempo de fermentação requerido para reduzir o pH do leite para 4,6 e também ao sabor desagradável provocado por algumas linhagens de bactérias probióticas. Atualmente, os microrganismos da cultura tradicional de iogurte (*S. thermophilus* e *L. bulgaricus*) são empregados em combinação com as bactérias probióticas para reduzir o tempo de fermentação e melhorar o sabor, corpo e textura do produto final (DAVE & SHAH,1997).

Segundo Lourens-Hatting & Viljoen (2001), Kailasapathy & Rybka (1997) e Arunachalam (1999), 400 a 500g por semana de iogurte probiótico contendo no mínimo  $10^6$  UFC/mL devem ser consumidos regularmente para transferir ao consumidor efeito probiótico.

#### **3.5.4 Pós-acidificação**

Durante o armazenamento do iogurte, observam-se alterações na sua qualidade. A atividade metabólica das bactérias lácticas do iogurte é reduzida durante o resfriamento. No entanto, o produto final pode sofrer uma pós-acidificação que é o decréscimo do pH durante o armazenamento refrigerado devido à atividade metabólica persistente da bactéria láctica. A pós-acidificação é mais intensa nos primeiros sete dias de fabricação do iogurte devido ao consumo de lactose, produção de ácido láctico e a alta atividade metabólica da bactéria a pH mais elevados (BEAL et al, 1999).

A intensidade da pós-acidificação em iogurtes depende da capacidade de acidificação das culturas, da etapa de fermentação nos tanques, do resfriamento, da temperatura de armazenamento e do valor inicial do pH. Uma pós-acidificação intensa pode afetar a viabilidade das bactérias lácticas, principalmente das bactérias probióticas *Bifidobacterium* sp. e *L. acidophilus* (SHAH & RAVULA, 2000).

De acordo com Lourens-Hatting & Viljoen (2001), uma excessiva pós-acidificação ocorre, principalmente, devido o crescimento incontrolável de *L. bulgaricus* nas temperaturas de refrigeração e aos baixos valores de pH. A pós acidificação pode ser prevenida através do controle do pH, da aplicação de choque térmico (58°C/5 minutos) no iogurte, da aplicação de Boas Práticas de Fabricação (BPF) e da utilização de culturas que possuam um comportamento reduzido de pós-acidificação como a cultura probiótica composta por *L. acidophilus* e *Bifidobacterium* sp. juntamente com *S. thermophilus*. Além disso, a diminuição da temperatura de armazenamento (< 4°C) e o aumento da capacidade tamponante do iogurte obtido através da adição de concentrado protéico de soro também previne a pós-acidificação do iogurte (KAILASAPATHY & RYBKA,1997).

### **3.6 Probióticos**

O termo ‘probiótico’, de origem grega, significa ‘para a vida’ tem sido empregado das maneiras mais diversas ao longo dos últimos anos. LILLY & STILLWEL (1965) o usaram para denominar substâncias secretadas por um protozoário que estimularam o crescimento de outros e, posteriormente, Parker (1974) definiu probiótico como relativo a organismos e substâncias que contribuem para o equilíbrio microbiano intestinal.

FULLER (1989) considerou que os probióticos são suplementos alimentares que contêm bactérias vivas que produzem efeitos benéficos no hospedeiro, favorecendo o equilíbrio de sua microbiota intestinal. No entanto HAVENAAR & HUIS IN’T VELD (1992)

consideraram que são culturas únicas ou mistas de microrganismos que, administrados a animais ou humanos, produzem efeitos benéficos no hospedeiro por incremento das propriedades da microbiota nativa.

A partir da década de 90 o termo probiótico foi ampliado e passou a ser usado para caracterizar os “microrganismos viáveis (o que inclui bactérias lácticas e leveduras na forma de células liofilizadas ou de produto fermentado) que exibem um efeito benéfico sobre a saúde após ingestão, devido à melhoria das propriedades da microbiota.(Tabela 3.2).

As culturas probióticas são, portanto, suplementos microbianos que aumentam de maneira significativa o valor nutritivo e terapêutico dos alimentos (Havenaar e Huis in't Veld, 1992).

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

O modo de ação dos probióticos não foi ainda completamente esclarecido, embora tenham sido sugeridos vários processos que podem atuar independentemente ou associados. Um deles é a exclusão competitiva, em que o probiótico competiria com os patógenos por sítios de fixação e nutrientes, impedindo sua ação transitoriamente (HAVENAAR et al., 1992; OUWEHAND et al., 1999; CROSS, 2002). A exclusão competitiva explicaria a necessidade da administração continuada e a elevadas doses dos probióticos, para manifestar seus efeitos.

Os probióticos podem também afetar patógenos através da síntese de bacteriocinas (VILLANI et al., 1995; RODRIGUEZ, 1996; NAIDU et al., 1999), de ácidos orgânicos voláteis (AUDISIO et al., 2000; JIN et al. 2000; OGAWA et al., 2001) e de peróxido de hidrogênio (HAVENAAR et al., 1992; NAIDU et al., 1999), ou atuar sobre o metabolismo

celular, reduzindo a concentração de amônia no organismo (KOZASA, 1986), e liberando enzimas como a lactase (DE VRESE et al., 2001).

Os efeitos anticarcinogênicos podem ser atribuídos à inibição de enzimas pro-carcinogênicas ou a estimulação do sistema imunitário do hospedeiro. A administração de *Lactobacillus casei* foi relacionada com a indução de uma resposta antitumoral mediada por células T e a ativação de macrófagos (KATO et al., 1988), assim como a supressão da formação de tumores de cólon em camundongos (KATO et al., 1994) e a inibição de metástases pulmonares (MATSUZAKI & YOKOKURA, 1987; MATSUZAKI et al., 1990).

A maioria dos estudos com bactérias ácido-lácticas, demonstra que os probióticos têm efeito imunestimulante em animais e no homem, apesar de ainda não estarem esclarecidos os mecanismos pelos quais isto ocorre. Esse efeito pode estar relacionado à capacidade de os microrganismos do probiótico interagirem com as placas de Peyer e as células epiteliais intestinais, estimulando as células B produtoras de IgA e a migração de células T do intestino (PERDIGÓN & HOLGADO, 2000). Também tem sido demonstrado que os probióticos favorecem a atividade fagocítica inespecífica dos macrófagos alveolares, sugerindo uma ação sistêmica por secreção de mediadores que estimulariam o sistema imune (CROSS, 2002).

O critério de seleção e avaliação dos microrganismos probióticos foi resultado das pesquisas institucionais e de universidades com as indústrias de alimentos. As linhagens de bactérias para se classificarem como probióticas devem apresentar as seguintes propriedades (SUSKOVIC et al, 2001):

- Possuir identificação taxonômica exata;
- Ser um habitante normal das espécies alvo: origem humana para probióticos humanos;
- Não ser tóxica e patogênica;
- Ser geneticamente estável;

- Possuir capacidade de sobreviver, proliferar e estimular a atividade metabólica no trato gastrointestinal;
- Possuir características de aderência e colonização;
- Apresentar características desejáveis de viabilidade durante preparação, estocagem e consumo da cultura;
- Ter viabilidade populacional elevada, apresentando em torno de  $10^6 - 10^8$  bactérias por grama de produto;
- Produzir substâncias antimicrobianas, incluindo bacteriocinas, peróxido de hidrogênio e ácidos orgânicos;
- Ser antagonista a patógenos;
- Apresentar capacidade de competir com a microbiota normal, ou espécie específica, ser potencialmente resistente a bacteriocinas, ácido e outras substâncias antimicrobianas produzidas pela microbiota residente;
- Possuir resistência ao suco gástrico e à bile;
- Apresentar propriedade imunoestimulatória;
- Ser capaz de exercer efeitos benéficos à saúde (documentados e validados clinicamente);
- Favorecer o processo de produção: crescimento adequado, recuperação, concentração, congelamento, desidratação, estocagem e distribuição;
- Fornecer qualidades organolépticas desejáveis.

Tabela 3.2 – Microrganismos com propriedades de probióticos

<i>Lactobacillus</i>	<i>Bifidobacterium</i>	Outras bactérias ácido lácticas	Bactérias não ácido lácticas
<i>L. acidophilus</i>	<i>B. adolescentis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Bacillus cereus</i> var. <i>toyoi</i>
<i>L. amylovorus</i>	<i>B. animalis</i>	<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Escherichia coli</i> cepa <i>nissle</i>
<i>L. casei</i>	<i>B. bifidum</i>	<i>Lactococcus lactis</i>	<i>Propionibacterium freudenreichii</i>
<i>L. crispatus</i>	<i>B. breve</i>	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	<i>Saccharoyces cerevisiae</i>
<i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>Bulgaricus</i>	<i>B. infantis</i>	<i>Pediococcus acidilactici</i>	<i>Saccharoyces boulardii</i>
<i>L. gallinarum</i>	<i>B. lactis</i>	<i>Sporolactobacillus inulinus</i>	
<i>L. gasseri</i>	<i>B. longum</i>	<i>Streptococcus thermophilus</i>	
<i>L. johnssonii</i>			
<i>L. paracasei</i>			
<i>L. plantarum</i>			
<i>L. reuteri</i>			
<i>L. rhamnosus</i>			

Adaptado de HELLER (2001).

### 3.7 Prebióticos

O termo prebiótico é definido como um ingrediente alimentar não digerível pela maioria dos microrganismos do intestino e que afeta benéficamente o hospedeiro, pelo estímulo seletivo do crescimento e/ou atividade de apenas um ou de um número limitado de bactérias no cólon (GIBSON & ROBERFROID, 1995).

Para um ingrediente alimentar ser classificado como um prebiótico é necessário (FOOKS, FULLER & GIBSON, 1999):

- Não sofrer hidrólise e nem ser absorvido na parte superior do trato gastrointestinal;
- Ser um substrato seletivo para um número limitado de bactérias potencialmente benéficas do cólon, que são estimuladas para crescerem e desenvolverem atividades metabólicas;
- Ser capaz de promover uma biota intestinal saudável e, como consequência, induzir efeitos no lúmen que beneficiem o hospedeiro.

### 3.7.1 Fatores bifidogênicos

Um aspecto benéfico em associar prebióticos aos probióticos, e estes estarem presentes na elaboração de iogurtes, são os fatores bifidogênicos, geralmente hidratos de carbono, susceptíveis de resistir ao metabolismo direto do hospedeiro, e que por isso atingem o intestino onde são metabolizados preferencialmente pelas bifidobactérias.

Os fatores bifidogênicos mais utilizados são os frutooligossacáridos (FOS) de ocorrência natural (p.ex. na soja, trigo, milho, cebola e aspargos), ou produzidos industrialmente a partir de xarope de sucrose; trata-se de frutanas com ligação  $\beta(2\rightarrow1)$ , tipicamente polidispersos com graus de polimerização que podem variar entre 2 e 35. De entre os diversos FOS estudados, a oligofrutose mostrou o efeito bifidogênico mais intenso; no entanto, a inulina também tem encontrado um sucesso significativo, bem como os xilooligossacarídeos de origem natural e os transgalacto-oligossacarídeos de origem sintética (SPBT - Portugal; 1999).

Como exemplo de substâncias prebióticas pode-se citar alguns oligossacarídeos como a lactulose, lactitol, lactosacarose, rafinose, (FOS), e polissacarídeos como a inulina e o amido resistente (CONWAY, 2001).

Entre os oligossacarídeos de ocorrência natural, os (FOS) são os principais compostos reconhecidos e utilizados em alimentos aos quais atribue-se propriedades prebióticas (NITSCHKE, 2002). Dependendo do comprimento da cadeia, definida pelo número de unidades de monossacarídeos e também chamada grau de polimerização (DP), os FOS podem ser chamados de oligofrutoses (DP < 10, DP média = 4,8) ou inulina (DP 2 - 60, média = 12) (GIBSON & ROBERFROID, 1995; NINESS, 1999).

Muitos alimentos possuem naturalmente FOS em sua composição, como pode ser observado na Tabela 3.3.

Tabela 3.3. Ocorrência natural de frutooligossacarídeos (FOS) em plantas ( % do peso fresco).

<b>Plantas</b>	<b>Parte Comestível</b>	<b>Inulina</b>	<b>Oligofrutose</b>
Cebola	Bulbo	2-6	2-6
Alcachofra Jerusalém	Tubérculo	16-20	10-15
Chicória	Raiz	15-20	5-10
Alho-porró	Bulbo	3-10	2-5
Alho	Bulbo	9-16	3-6
Alcachofra	Folhas centrais	3-10	<1
Banana	Fruta	0,3-0,7	0,3-0,7
Centeio	Cereal	0,5-1	0,5-1
Cevada	Cereal	0,5-1,5	0,5-1,5
Dente de leão	Folhas	12-15	3-12
Yacon	Raiz	3-19	3-19
Barba de bode	Folhas	4-14	4-14
Trigo	Cereal	1-4	1-4

Fonte: Van Loo et al. 1995.

Os prebióticos não somente proporcionam aumento potencial do número de bactérias benéficas no intestino grosso de humanos, predominantemente os lactobacilos e as bifidobactérias, mas também aumentam sua atividade metabólica através do fornecimento de substrato fermentável (BIELECKA et al, 2002).

### 3.8 INULINA

A inulina é um carboidrato do grupo de polissacarídeos chamados frutanas. É composto por uma cadeia principal de unidades de frutose com uma unidade de glicose terminal, conforme mostra a Figura 3.1. A fórmula pode ser descrita como **GF<sub>n</sub>**, onde **G** representa a molécula de glicose, **F** a molécula de frutose e **n** o número de unidades de frutose. A inulina é uma frutana polidispersa, constituída de uma mistura de polímeros e oligômeros superiores lineares de frutose. As unidades de  $\beta$ -Dfrutofuranosil são mantidas



entre si por ligações do tipo  $\beta(2\rightarrow1)$ , e possuem uma molécula de glicose na porção inicial de cada cadeia linear de frutose, a qual é unida por uma ligação tipo  $(\alpha1-\beta2)$ , como na molécula de sacarose (QUEMENER; THIBAUT; COUSSEMENT, 1997; ROBERFROID, 1993).

O grau de polimerização destas cadeias (em média 30 unidades) pode alcançar 60 unidades de frutosila (DE LEENHEER; HOEBREGS, 1994; VAN HAASTRECHT, 1995; IUB-IUPAC, 1982).

A hidrólise (ácida ou enzimática) da inulina produz oligômeros lineares. Estes são estruturalmente designados GF<sub>n</sub> (glicose-frutose) (onde n representa o número de unidades frutofuranosil obtidas pela hidrólise), e F<sub>m</sub>, que é constituída apenas por frutose (onde m representa o número de unidades frutofuranosil obtidas). Os valores de n e m variam entre 2 e 9 (ROBERFROID, 1998; DE BRUYN et al., 1992). Os polissacarídeos GF<sub>n</sub> e F<sub>m</sub> têm propriedades físico-químicas muito semelhantes, embora se verifique a presença de grupo terminal frutose redutor, os produtos tipo F<sub>m</sub> são redutores, enquanto os GF<sub>n</sub> são não redutores.

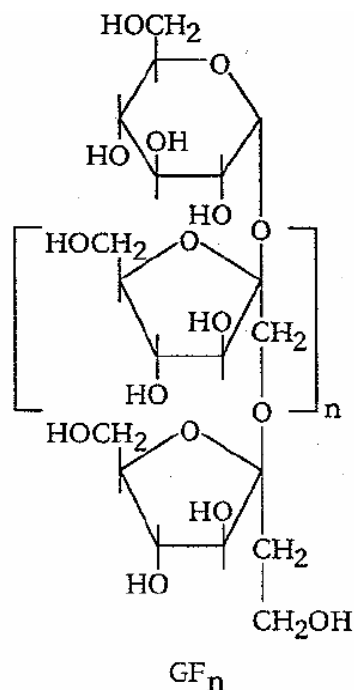


Figura 3.1 Estrutura Química da Inulina.

Fonte: ROBERFROID (1993)

As propriedades nutricionais da inulina são baseadas em três fatores:

- Após a ingestão, a inulina não é hidrolisada no sistema digestivo humano, não resultando, portanto, em contribuição calórica neste processo. Apenas no cólon ocorre a degradação de inulina por fermentação de bactérias, onde conseqüentemente vai ocorrer uma baixa contribuição calórica indireta em níveis de 1,0 a 1,5 kcal/g inulina (ROBERFROID, GIBSON e DELZENNE, 1993) ou 1,48 kcal/g inulina, (RANHOTRA, GELROTH e GLASER, 1993).
- A inulina afeta os parâmetros fisiológicos do sistema digestivo, como esvaziamento gástrico, tempo de trânsito, pH, e massa fecal de forma similar às fibras dietéticas (ROBERFROID, GIBSON e DELZENNE, 1993). Pelo efeito benéfico no sistema digestivo a inulina é considerada um "alimento funcional".
- A ingestão de inulina resulta em um significativo incremento dos benefícios das bifidobactérias. A flora *Bifidus* estimula o sistema imunológico, a absorção de minerais, e inibe o crescimento de bactérias nocivas ao organismo, (HEWITT, 1994) e (ROBERFROID, VAN LOO e GIBSON, 1998).

Recentes pesquisas em nutrição mostraram resultados interessantes com relação à absorção de cálcio e prevenção de câncer de cólon (COUSSEMENT e FRANK, 1998). A inulina é metabolizada da mesma maneira que as fibras com efeitos similares quando ingerida. Por alguns de seus efeitos, a inulina pode ser comparada a outras fibras solúveis, como pectinas.

A inulina é considerada um alimento e não um aditivo, em 12 países, entre os quais estão incluídos: EUA, Bélgica, França, Luxemburgo, Dinamarca, Japão e Reino Unido e, portanto, não está sujeita a regulamentação (CÂNDIDO e CAMPOS, 1995).

THE JOURNAL OF NUTRITION (1999), uma publicação oficial da “American Society for Nutritional Sciences”, dedicou um suplemento aos benefícios nutricionais que a

inulina e oligofrutose podem trazer à saúde. Os artigos nele publicados discutem e apresentam dados sobre a aplicação de inulina como ração para pequenos animais, seu valor calórico e influência na prevenção de cânceres como o de cólon, de útero e de mama.

Em ACTIVE FOOD SCIENTIFIC MONITOR (2000), foram apresentados estudos feitos em animais mostrando que a inulina e oligofrutoses, ao contrário de outros tipos de fibras dietéticas, que contém ácido fítico ou ácido urônico, estimula a biodisponibilidade de minerais como cálcio, magnésio e ferro, resultando em um incremento de taxa de cálcio nos tecidos ósseos aumentando a densidade mineral nos ossos. Em ACTIVE FOOD SCIENTIFIC MONITOR (2001) é apresentado o efeito da inulina e oligofrutose no metabolismo de lipídios.

Devido às cadeias mais longas, a inulina possui a capacidade de formar microcristais quando misturada com água e leite. Estes microcristais interagem entre si para formar uma mistura cremosa e macia promovendo a sensação de presença de gordura. A inulina tem sido utilizada com sucesso como substituto da gordura em recheios prontos, sobremesas congeladas e molhos (NINESS, 1999).

Na década de 90, as autoridades legais em quase todos os países europeus confirmaram que a inulina poderia ser rotulada como fibra (COUSSEMENT e FRANK, 1998). A ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC) realizou pesquisas e workshops que fundamentaram sua decisão de considerar oficialmente a oligofrutose e a inulina como fibras alimentares (LEE e PROSKY, 1994).

### **3.9 Efeitos fisiológicos dos probióticos e prebióticos**

O termo simbiótico, é utilizado quando o ingrediente alimentar contém tanto os probióticos quanto os prebióticos que afetam o hospedeiro de maneira benéfica (SCHREZENMEIR & VRESE, 2001).

A interação entre o probiótico e prebiótico *in vivo* pode ser favorecida por uma adaptação do probiótico através do consumo de prebiótico. Isto deve resultar em uma vantagem competitiva para o probiótico se este for consumido juntamente com o prebiótico (PUUPONEN-PIMIÃ et al, 2002; SAAD, 2006 p.3).

O consumo regular de prebióticos e probióticos pode ser empregado na profilaxia e tratamento de uma série de condições patológicas, a maior parte na esfera da gastroenterologia (MARTEAU et al, 2001; CHERMESH & ELIAKIM, 2006).

Segundo Schrezenmeir & Vrese (2001), os benefícios à saúde em virtude do consumo de prebióticos e probióticos, que estão bem estabelecidos pela literatura atualmente são: 1) diminuição da frequência e da duração da diarreia associada ao uso de antibióticos (*Clostridium difficile*), infecção por rotavírus, quimioterapia, e, em menor grau, diarreia do viajante; 2) estimulação humoral e imunidade celular; e 3) diminuição de metabólitos desfavoráveis como amônia e enzimas pró-carcinogênicas do cólon.

### **3.10 Frutos do cerrado**

O Cerrado é um extenso bioma brasileiro que abriga milhares de espécies de aves, mamíferos, plantas e outros organismos. Em meio à sua rica diversidade encontram-se plantas que guardam muitas propriedades interessantes, algumas particularmente importantes para o homem, quer seja como alimento, fármaco ou ainda como cosmético, entre outras utilizações.

Estudos clínicos e epidemiológicos têm apresentado evidências de que antioxidantes fenólicos de cereais, frutas e vegetais são os principais fatores que contribuem para a baixa e significativa redução da incidência de doenças crônicas e degenerativas encontradas em populações cujas dietas são altas na ingestão desses alimentos (SHAHIDI, 1996).

Desta forma, as pesquisas sobre antioxidantes naturais têm aumentado muito nos últimos anos (JAYAPRAKASHA, F. K.; JAGANMOHAN RAO 2000). Compostos típicos

que possuem atividade antioxidante incluem a classe de fenóis, ácidos fenólicos e seus derivados, flavonóides, tocoferóis, fosfolipídios, aminoácidos, ácido fítico, ácido ascórbico, pigmentos e esteróis. Antioxidantes fenólicos são antioxidantes primários que agem como terminais para os radicais livres (XING, Y.; WHITE, P. J.1996). Grande parte dos compostos citados podem ser encontrados no cerrado, que ocupa 25% do território brasileiro e é o segundo maior bioma da América do Sul, perdendo em tamanho somente para a Floresta Amazônica.

A seguir, serão apresentadas as características tecnológicas e funcionais dos frutos do ecossistema do Cerrado.

### **3.10.1 Araticum**

Os frutos do araticum, também conhecidos como marolo, pinha do cerrado, panã, araticum panã, araticum do cerrado, cabeça-de-pinha, araticum liso, araticum cortiça (ALMEIDA et al., 1998; RIBEIRO et al., 2000) pertencem à família das Annonaceae e são coletados entre fevereiro e março. Segundo Mendonça et al. (1998), essa família está representada no bioma cerrado por 45 espécies, destacando pelo seu potencial frutífero os gêneros *Annona* L., *Duguetia* St. Hil e *Rollinia* St. Hil.

Árvore de 4 a 8m de altura, com tronco geralmente tortuoso de 20 a 30cm de diâmetro, revestido por casca áspera e corticosa; folhas alternas simples; flores axilares, com pétalas engrossadas e carnosas (LORENZI, 1998). Fruto com cerca de 15cm de diâmetro, 2kg de peso, oval arredondado, externamente marrom claro com polpa creme amarelada firme, sementes numerosas, elípticas e marrom escuras (ALMEIDA et al., 1998) (Figura 3.2).



Figura 3.2: Casca e frutos de *Annona crassiflora*

Fonte: Frutas nativas da região Centro-Oeste / Roberto Fontes Vieira ... [et al.].(editores). -- Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2006. 324p. (no prelo)

A família Annonaceae, destaca-se pelo sabor de seus frutos, (figura 3.3) que são muito apreciados e, por isso, facilmente comercializáveis. Quanto as formas de uso e exploração, o uso mais importante da espécie é como frutífera (RIBEIRO et al., 2000).

Os frutos são muito apreciados pela sua polpa doce e de sabor característico (FERREIRA, 1973 citado por Viera et al 2006), que pode ser consumida in natura ou sob a forma de doces, geléias, sucos, licores, tortas, iogurtes ou sorvetes (ALMEIDA et al., 1998).

Almeida et al. (1998), citando vários autores, relata que a infusão das folhas e das sementes pulverizadas é usada no combate à diarreia e como indutor da menstruação e as sementes pulverizadas misturadas com óleo são empregadas contra parasitas do couro cabeludo (ALMEIDA, 1994) e contra micoses sistêmicas (Ribeiro et al 2000). Segundo Santos et al. (1998) substâncias extraídas do araticunzeiro já foram também testadas no combate a células tumorais.

A exploração da espécie é feita basicamente por extrativismo, sendo os frutos comercializados em feiras de bairro, por vendedores ambulantes e em algumas frutarias. Entretanto, Silva et al. (1994) verificaram que os frutos já são explorados por pequenas indústrias de doces, sorvetes e outros produtos alimentícios.



Figura 3.3 - Aspecto do fruto e da polpa de araticum

Fonte: Frutas nativas da região Centro-Oeste / Roberto Fontes Vieira ... [et al.].(editores). -- Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2006. 324p. (no prelo)

Quanto à distribuição geográfica, o araticum pode ser encontrado em Minas Gerais, Mato Grosso do Sul, Distrito Federal, Goiás, Mato Grosso, Pará, Bahia, Piauí, Tocantins, Maranhão e, em remanescentes, no Paraná (RATTER et al., 2000) e em São Paulo (DURIGAN et al., 1999).

Comparando o valor nutricional do araticum com o da manga, Almeida et al. (1987) encontraram maiores valores de hidratos de carbono, cálcio e fósforo. Comparado com outras frutas do cerrado, o araticum apresentou baixo teor de vitamina C, porém maior do que algumas frutas cultivadas como banana d'água e maçã argentina. O araticum, se comparado com outras frutas, pode ser considerado uma boa fonte de lipídeos e de fibras dietéticas (Tabela 3.4).

Os lipídeos da polpa são especialmente interessantes para o consumo *in natura*, devido à presença do ácido linolênico, que é um ácido graxo essencial, ou seja, não é sintetizado pelo organismo humano e deve ser ingerido através da dieta (AGOSTINI et al., 1995). Além disso, a polpa de araticum é uma boa fonte de ferro e de pró-vitamina A. A polpa apresenta nove carotenóides, com predominância do beta-caroteno, que é o principal carotenóide pró-vitamina A.

Tabela 3.4 – Composição da polpa de araticum

Composição	Teor	Composição	Teor
Proteína Bruta %	0,4-1,3	Cálcio (mg 100g)	52,0
Lipídios%	1,6-3,0	Ferro (mg 100g)	0,7-2,3
Glicídios %	10,3-12,8	Vitamina A (mg 100g)	70-253
Fibras %	3,8-5,2	Vitamina C (mg 100g)	8,2-21,0
Energia (cal100g)	52-87	Vitamina B1 (mg 100g)	0,04-0,45
SST (Brix)	18,9-19,0	Vitamina B2 (mg 100g)	0,07-0,10
pH	4,7	Niacina (mg 100g)	0,6-2,67
Magnésio (mg100g)	24,2	Tanino (mg 100g)	245
Fósforo (mg 100g)	24,0		

Fonte: Frutas nativas da região Centro-Oeste / Roberto Fontes Vieira ... [et al.].(editores). -- Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2006. 324p. (no prelo)

### 3.10.2 Cagaita

A cagaita (*Eugenia dysenterica*), comumente conhecida como a "árvore da cagaita" é uma fruta nativa do Cerrado ou cerradão (Savana brasileira) pertencente à família Myrtaceae que apresenta potencial para uso em sistemas agrícolas de produção (Almeida, 1998). Frutifica entre outubro e dezembro (Figura 3.4) (SILVA et al; 1994).



Figura 3.4 – Frutos da cagaita (*Eugenia dysenterica*)

Fonte: Frutas nativas da região Centro-Oeste / Roberto Fontes Vieira ... [et al.].(editores). -- Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2006. 324p. (no prelo)



A cagaiteira é uma árvore de altura mediana (4m a 10m) de tronco e ramos tortuosos, com uma casca suberosa e fendada bem característica, com folhas novas membranáceas e folhas adultas coriáceas, glabras ou quase glabras nas duas faces, opostas-cruzadas, de ovaladas a elípticas, decíduas durante o florescimento (Figura 3.5). Suas flores vistosas formam panículas fasciculadas e são brancas, delicadas com quatro pétalas, com cálice de quatro lacínios ovados e ciliados. Seus estames são muito exertos e claros. Seus frutos são bagas globosas, suculentas, de cor amarelo clara e de sabor agradável a levemente ácido. Suas sementes são elipsóides e achatadas (RIZZINI, 1971).



Figura 3.5- *Eugenia dysenterica*, árvore

Fonte: Frutas nativas da região Centro-Oeste / Roberto Fontes Vieira ... [et al.].(editores). -- Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2006. 324p. (no prelo)

A espécie *E. dysenterica* ocorre naturalmente nos Estados de São Paulo, Minas Gerais, Bahia, Tocantins, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Pará, Maranhão, Piauí e Goiás, além do Distrito Federal (CORRÊA, 1984).

De maneira geral, a produção de frutos é alta, chegando até mais de 2.000 frutos por árvore (ALMEIDA *et al.*, 1987). Silva (1999) observou que os frutos da cagaiteira apresentam características físicas que indicam a possibilidade de sua exploração, tanto para consumo *in natura*, quanto para industrialização. Os frutos “de vez” são mais adequados para o transporte e comercialização, uma vez que os frutos maduros são altamente perecíveis, devendo,

portanto, ser utilizados imediatamente. A utilização do fruto *in natura* pelas populações locais é relativamente pequena, em comparação com algumas outras espécies frutíferas do Cerrado. O efeito laxativo do fruto maduro e o caráter perecível do mesmo podem ser apontados como a causa principal desta pequena utilização. No entanto, os derivados dos frutos verdes ou de vez, na forma de sorvetes, doces, geléias e licores possuem um alto potencial de utilização. Alguns destes produtos são produzidos de forma artesanal e comercializados em feiras ou em quiosques. Na forma de sorvetes e picolés, podem ser já encontrados em estabelecimentos especializados em produtos regionais.

A importância principal do aproveitamento da cagaiteira se dá pelo potencial alimentício de seus frutos. Além disso, a cagaiteira é uma planta ornamental e melífera e presta-se à extração de cortiça, podendo ser a sua casca utilizada em curtumes. Suas folhas têm propriedades antidiarréicas, existindo relatos do seu uso para o tratamento da diabete e icterícia, seus frutos têm qualidades laxativas (HERINGER e FERREIRA, 1974).

Quanto ao valor nutricional, a cagaita é um fruto suculento, sendo considerado uma boa fonte de vitamina C (18–72mg/100g), vitamina B2 (0,4mg/100g), cálcio (172,8mg/100g), magnésio (62,9 mg/100g) e ferro (3,9 mg/100g). O óleo da polpa da cagaita apresenta, aproximadamente, 28% de ácidos graxos saturados, principalmente ácido palmítico (24%); 50% de ácidos graxos monoinsaturados, principalmente ácido oléico (36%); e 22% de poliinsaturados, principalmente ácido linolênico (12%), que é um ácido graxo essencial, isto é, não é sintetizado pelo organismo e precisa ser ingerido pela dieta (FRANCO, 1992; ALMEIDA, 1998).

### 3.10.3 Pequi

O pequi (*Caryocar brasiliense*) assim como o piquiá (*Caryocar villosum*) ocorre no cerrado, cerradão e mata calcária, sendo seus frutos produzidos de outubro a março (SILVA et al, 1994). Os frutos jovens e maduros possuem coloração verde. Os maduros exalam forte aroma e devem ser coletados no chão, de outubro a janeiro, logo que caem da árvore. (ALMEIDA, 1998).

A polpa do pequi contém uma boa quantidade de óleo comestível e é rico em vitamina A e proteínas, transformando-se em importante complemento alimentar. A amêndoa do pequi, pela alta quantidade de óleo que contém e por suas características químicas, pode ser também utilizada com vantagem na indústria de cosmética para a produção de sabonetes e cremes. Ambos os frutos de pequi e piquiá possuem a mesma característica, sendo que a grande e notável diferença entre as duas espécies reside no tamanho da planta como um todo (SILVA, S.; TASSARA, H;2001).

Ferreira et al. (1988) encontraram teores de óleo de 61,79% e 42,2% e teores de proteína de 6,71% e 24,6%, respectivamente, na polpa e na amêndoa de pequis provenientes da região de Cerrado, destacando, ainda, a riqueza destes frutos em relação a vários elementos minerais, quando comparados com diversas frutas economicamente cultivadas. Silva et al. (1994) encontraram 2000 mcg de vitamina A e 463 mcg de vitamina B<sub>2</sub> na polpa de frutos de pequi do Cerrado. Além do uso alimentar em pratos típicos da região, o óleo da polpa dos frutos possui propriedades medicinais (Salles et. al., 1997).

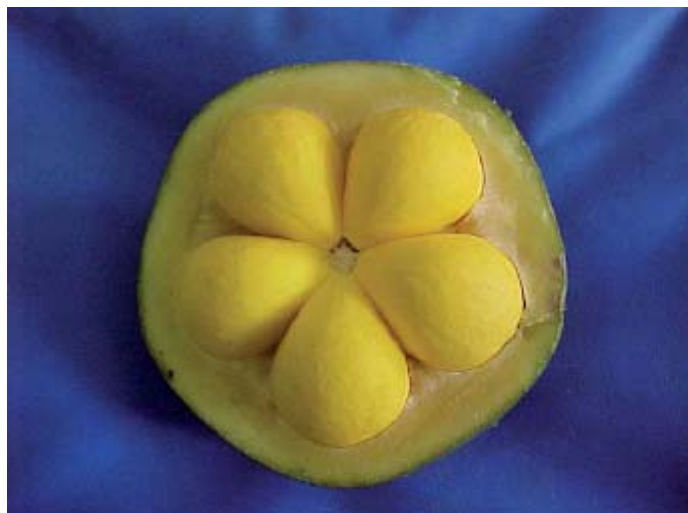


Figura 3.6 – Pequi/fruto (*Caryocar brasiliense*)

Fonte: Frutas nativas da região Centro-Oeste / Roberto Fontes Vieira ... [et al.].(editores). -- Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2006. 324p. (no prelo)

A polpa de pequi contém de 70,9 a 105 mg/100 g de vitamina C, valores acima da laranja, goiaba, banana d'água e maçã argentina, sendo o valor máximo superior ao suco de limão (FRANCO, 1982; SANO e ALMEIDA, 1998; RODRIGUES et al., 2004). A polpa de pequi apresenta teores de lipídeo e proteína que variam de 20 a 27% e 2,2 a 6,0%, respectivamente. Já na amêndoa, o teor de gordura variou de 23,8 a 28,7% e o de proteína de 9,7 a 20,3% (VILELA, 1998; RODRIGUEZ, et al., 2004; OLIVEIRA, et al., 2004). A polpa e a amêndoa do pequi contêm 267,9 e 317 Kcal/100 g, respectivamente, constituindo uma fonte rica em calorias (RODRIGUES et al., 2004).

Em 100 gramas de polpa de pequi encontram-se, ainda, 0,030 mg de vitamina B1, 0,463 mg de vitamina B2, 0,387 mg de niacina (FRANCO, 1982), podendo ser considerado uma boa fonte de vitamina B2. Quanto aos minerais, cem gramas de polpa de pequi apresentam 0,4 mg de cobre, 1,6 mg de ferro, e 2,1 mg de sódio (HIANE et al., 1992, citados por ALMEIDA et al., 1998), podendo ser considerado boa fonte de ferro.

### 3.11 Legislação de Alimentos Funcionais

O termo “alimentos funcionais” foi primeiramente introduzido no Japão no início da década de 80, quando foi definido como “qualquer alimento ou ingrediente que tem um impacto positivo na saúde, na performance física ou no estado mental de um indivíduo, além de seu valor nutritivo”. (*Foods for Specified Health Use-FOSHU*) em 1991 (MORAES 2006).

No Reino Unido, o Ministério da Agricultura, Pesca e Alimentos (MAFF) define alimentos funcionais como “um alimento cujo componente incorporado oferece benefício fisiológico e não apenas nutricional”. Esta definição ajuda distinguir alimentos funcionais de alimentos fortificados com vitaminas e minerais (PIMENTEL, et al., 2005).

Nos Estados Unidos da América do Norte os termos alimentos funcionais e nutracêuticos têm sido usados conforme a definição estabelecida (PIMENTEL, et al., 2005). No entanto, a dificuldade se encontra na regulamentação destes termos, pois deve haver uma diferenciação entre produtos que são vendidos e consumidos como alimentos (funcionais) e aqueles que um componente em particular foi isolado e é vendido na forma de barras, cápsulas, pós, entre outros (nutracêuticos). A separação desses produtos é necessária quando se estabelece limites de consumo (PIMENTEL, et al., 2005).

O Comitê de Alimentos e Nutrição do Instituto de Medicina da FNB (Federação Náutica de Brasília) define alimentos funcionais como qualquer alimento ou ingrediente que possa proporcionar um benefício à saúde, além dos nutrientes tradicionais que eles contêm (HASLER, 1998).

O escritório Americano de Contas Gerais (*US General Accounting Office-GAO*) define alimentos funcionais como alimentos que se declaram ter benefícios além da nutrição básica. Entretanto, em matéria de lei, um alimento funcional não tem nenhuma definição reconhecida pela FDC (*Food, Drugs and Cosmetics*). A FDA (*Food and Drug Administration*) regula os alimentos funcionais, baseada no uso que se pretende dar ao

produto, na descrição presente nos rótulos ou nos ingredientes do produto. A partir destes critérios, a FDA classificou os alimentos funcionais em cinco categorias: alimento, suplementos alimentares, alimento para usos dietéticos especiais, alimento-medicamento ou droga (NOONAN & NOONAN, 2004).

No Brasil, o Ministério da Saúde, através da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), regulamentou os Alimentos Funcionais através das seguintes resoluções: ANVISA/MS 16/99; ANVISA/MS 17/99; ANVISA/MS 19/99, cuja essência é:

a) Resolução da ANVISA/MS 16/99 - trata de Procedimentos para Registro de Alimentos e ou Novos Ingredientes, cuja característica é de não necessitar de um Padrão de Identidade e Qualidade (PIQ) para registrar um alimento, além de permitir o registro de novos produtos sem histórico de consumo no país e também novas formas de comercialização para produtos já consumidos (BRASIL, 1999a);

b) Resolução da ANVISA/MS 17/99 - Aprova o Regulamento Técnico que estabelece as Diretrizes Básicas para Avaliação de Risco e Segurança de Alimentos que prova, baseado em estudos e evidências científicas, se o produto é seguro sob o ponto de risco à saúde ou não (BRASIL, 1999b);

c) Resolução ANVISA/MS 18/99 - Aprova o Regulamento Técnico que estabelece as Diretrizes Básicas para a Análise e Comprovação de Propriedades Funcionais e/ou de Saúde, alegadas em rotulagem de alimentos (BRASIL, 1999c);

d) Resolução ANVISA/MS 19/99 - Aprova o Regulamento Técnico de Procedimentos para Registro de Alimentos com Alegação de Propriedades Funcionais e ou de Saúde em sua Rotulagem (BRASIL, 1999d).

As diretrizes para a utilização da alegação de propriedades funcionais e ou de saúde, segundo a ANVISA são:

a) A alegação de propriedades funcionais e ou de saúde é permitida em caráter opcional;

- b) O alimento ou ingrediente que alegar propriedades funcionais ou de saúde pode, além de funções nutricionais básicas, quando se tratar de nutriente, produzirem efeitos metabólicos e ou fisiológicos e ou efeitos benéficos à saúde, devendo ser seguro para consumo sem supervisão médica;
- c) São permitidas alegações de função ou conteúdo para nutrientes e não nutrientes, podendo ser aceitas aquelas que descrevem o papel fisiológico do nutriente ou não nutriente no crescimento, desenvolvimento e funções normais do organismo, mediante demonstração da eficácia. Para os nutrientes com funções plenamente reconhecidas pela comunidade científica não será necessária a demonstração de eficácia ou análise da mesma para alegação funcional na rotulagem (item 3.3 da Resolução ANVISA nº 18);
- d) No caso de uma nova propriedade funcional, há necessidade de comprovação científica da alegação de propriedades funcionais e ou de saúde e da segurança de uso, segundo as Diretrizes Básicas para avaliação de Risco e Segurança dos alimentos;
- e) As alegações podem fazer referências à manutenção geral da saúde, ao papel fisiológico dos nutrientes e não nutrientes e à redução de risco de doenças. Não são permitidas alegações de saúde que façam referência à cura ou prevenção de doenças (BRASIL, 1999c; BRASIL, 1999d).

O registro de um alimento funcional só pode ser realizado após comprovada a alegação de propriedades funcionais ou de saúde com base no consumo previsto ou recomendado pelo fabricante, na finalidade, condições de uso e valor nutricional, quando for o caso ou na(s) evidência(s) científica(s): composição química ou caracterização molecular, quando for o caso, e ou formulação do produto; ensaios bioquímicos; ensaios nutricionais e ou fisiológicos e ou toxicológicos em animais de experimentação; estudos epidemiológicos; ensaios clínicos; evidências abrangentes da literatura científica, organismos internacionais de saúde e legislação internacionalmente reconhecidas sob propriedades e características do

produto e comprovação de uso tradicional, observado na população, sem associação de danos à saúde (Brasil, 1999c; Brasil 1999d; PIMENTEL, et al., 2005).

### **3.12 Técnicas de Análise Sensorial**

A análise sensorial é uma ferramenta chave no desenvolvimento de produtos. Os testes necessários devem ser aplicados conforme os critérios do produto que se deseja avaliar. Um bom planejamento dos testes, uma criteriosa seleção dos julgadores e uma correta interpretação dos testes são fatores muito importantes para obtenção de respostas confiáveis. O laboratório de análise sensorial deve conter: cabines individuais, para aplicação dos testes, deve ser limpo, livre de ruídos e odores e apresentar área com boa ventilação e iluminação (FERREIRA et al., 2000).

O desenvolvimento de novos produtos é uma atividade de vital importância para a sobrevivência da maioria das empresas.

Segundo ATHAYDE (1999) a indústria de alimentos no Brasil nunca lançou no mercado tantos produtos novos como vem ocorrendo nos últimos anos. Em virtude de fatores como o desenvolvimento tecnológico, crescimento da concorrência externa, licenciamento de marcas importadas, competitividade do setor e da exigência do consumidor que incorporou novos valores às suas preferências, as prateleiras dos supermercados recebem diariamente novos produtos .

O consumidor tende a se tornar mais seletivo e exigente na hora de optar pelas marcas à sua disposição. Em virtude disso, as indústrias precisam inovar ou desenvolver produtos que antecipem essas necessidades para surpreender o consumidor e ganhar mercado na frente da concorrência (ATHAYDE, 1999).

Existem importantes vantagens na diferenciação de produtos através de marcas, patentes de desenho, sistemas de comercialização. Sob estas perspectivas de inovação,



bebidas não alcoólicas prontas para beber, como bebidas lácteas, chás e isotônicos ganham a preferência dos consumidores, pela praticidade de consumo. Em adição ao sabor e satisfação, refrescantes bebidas podem oferecer um fácil e único sistema de transferência de vitaminas, minerais e outros ingredientes que têm propriedades preventivas de doenças (GIESE, 1995).

A avaliação sensorial intervém nas diferentes etapas do ciclo de desenvolvimento de produtos; como na seleção e caracterização de matérias primas, na seleção do processo de elaboração, no estabelecimento das especificações das variáveis das diferentes etapas do processo, na otimização da formulação, na seleção dos sistemas de envase e das condições de armazenamento e no estudo de vida útil do produto final (PENNA, 1999).

Um alimento além de seu valor nutritivo deve produzir satisfação e ser agradável ao consumidor, isto é resultante do equilíbrio de diferentes parâmetros de qualidade sensorial. Em um desenvolvimento de um novo produto é imprescindível otimizar parâmetros, como forma, cor, aparência, odor, sabor, textura, consistência e a interação dos diferentes componentes, com a finalidade de alcançar um equilíbrio integral que se traduza em uma qualidade excelente e que seja de boa aceitabilidade (PENNA, 1999).

A NBR 12806 define análise sensorial como uma disciplina científica usada para evocar, medir, analisar e interpretar reações das características dos alimentos e materiais como são percebidas pelos sentidos da visão, olfato, gosto, tato e audição (ABNT, 1993a).

As percepções sensoriais dos alimentos são interações complexas que envolvem estes cinco sentidos. No caso o sabor, é usualmente definido como impressões sensoriais que ocorrem na cavidade bucal, como resultado do odor e vários efeitos sensoriais, tais como frio, queimado, adstringência e outros (GIESE, 1995).

O objetivo da avaliação sensorial é detectar diferenças entre os produtos baseado nas diferenças perceptíveis na intensidade de alguns atributos (FERREIRA et al., 2000). Contudo, conforme o produto o atributo sensorial e finalidade do estudo, existem recomendações de

métodos, referindo a NBR 12994, que classifica os métodos de análise sensorial dos alimentos e bebidas em discriminativos, descritivos e subjetivos (ABNT, 1993b).

Os métodos discriminativos estabelecem diferenciação qualitativa e/ou quantitativa entre as amostras e incluem os testes de diferença e os testes de sensibilidade (ABNT, 1993b). São testes em que não se requer conhecer a sensação subjetiva que produz um alimento a uma pessoa, mas apenas se deseja estabelecer se existe diferença ou não entre duas ou mais amostras e, em alguns casos, a magnitude ou importância dessa diferença (ANZALDÚA-MORALES, 1994).

São testes muito usados para seleção e monitoramento de equipe de julgadores, para determinar se existe diferença devido à substituição de matéria-prima, alterações de processo devido à embalagem ou ao tempo de armazenamento (FERREIRA et al., 2000).

O teste de comparação múltipla é um teste descritivo, utilizado para avaliar a diferença e o grau de diferença em relação a um controle, no qual uma amostra conhecida é apresentada (ABNT, 1994).

Os métodos descritivos podem ser testes de avaliação de atributos (por meio de escalas), perfil de sabor, perfil de textura, análise descritiva quantitativa - ADQ e teste de tempo-intensidade (ABNT, 1993b).

Nos testes descritivos procura-se definir as propriedades do alimento e medi-las da maneira mais objetiva possível. Aqui não são importantes as preferências ou aversões dos julgadores, e não é tão importante saber se as diferenças entre as amostras são detectadas, e sim qual é a magnitude ou intensidade dos atributos do alimento (ANZALDÚA-MORALES, 1994).

Na avaliação de atributos dos produtos alimentícios utilizam-se escalas, que determinam a grandeza (intensidade da sensação) e a direção das diferenças entre as amostras,

e através das escalas é possível saber o quanto as amostras diferem entre si e qual a amostra que apresenta maior intensidade do atributo sensorial que está sendo medido.

O perfil de características é um teste que avalia a aparência, cor, odor, sabor e textura de um produto comercializado ou em desenvolvimento. É amplamente recomendado em desenvolvimento de novos produtos, para estabelecer a natureza das diferenças entre amostras ou produtos, em controle da qualidade (TEIXEIRA, MEINERT e BARBETTA, 1987).

Em certos produtos alimentícios, o efeito do tempo na liberação das características sensoriais (do aroma, gosto, textura e mesmo as sensações térmicas) têm impacto significativo na preferência do consumidor.

Os testes afetivos são usados para avaliar a preferência e/ou aceitação de produtos. Geralmente um grande número de julgadores é requerido para essas avaliações. Os julgadores não são treinados, mas são selecionados para representar uma população alvo (IFT, 1981).

Os testes afetivos são uma importante ferramenta, pois acessam diretamente a opinião do consumidor já estabelecido ou potencial de um produto, sobre características específicas do produto ou idéias sobre o mesmo, por isso são também chamados de testes de consumidor (FERREIRA et al., 2000).

As principais aplicações dos testes afetivos são a manutenção da qualidade do produto, otimização de produtos e/ou processos e desenvolvimento de novos produtos.

A escala hedônica é usada para medir o nível de preferência de produtos alimentícios por uma população, relata os estados agradáveis e desagradáveis no organismo.

A escala hedônica afetiva mede o gostar ou desgostar de um alimento. A avaliação da escala hedônica é convertida em escores numéricos e analisados estatisticamente para determinar a diferença no grau de preferência entre amostras (IFT, 1981; LAND e SHEPHERD, 1988; ABNT, 1998).

O teste de ordenação é um teste no qual uma série de três ou mais amostras são apresentadas simultaneamente. Ao provador é solicitado que ordene as amostras de acordo com a intensidade ou grau de atributo específico (ABNT, 1994).

O teste de comparação múltipla é utilizado para avaliar a diferença e o grau de diferença em relação a um controle, no qual uma amostra conhecida é apresentada (ABNT, 1994).

### **3.13 Gestão de Custos**

Atualmente, um dos objetivos organizacionais que preocupam a empresa tem sido pôr em prática uma adequada política de formação de preços, de maneira a garantir a sua permanência no mercado. A afirmação de Assaf Neto (1998) confirma essa preocupação.

Segundo o autor, a formação de preços é questão fundamental para a sobrevivência e o crescimento auto sustentado de qualquer empresa, independentemente de seu porte e de sua atuação.

Vários estudiosos publicaram trabalhos sobre formação de preços: Sardinha (1995), Bernardi, (1998), Santos (1991), Wernke (2001), Bruni e Famá (2003), Cogan (1999), Horngren et al (2000) e Perez Junior et al (2001). Ainda nesse contexto, é vasta a relação de pesquisas empíricas que apontam diferentes métodos de precificação: Resende, Guerreiro e Pereira (2006), Paulo (2001) e Santos (1995), por exemplo, ressaltam a importância da fixação de preços de venda dos produtos e serviços.

Segundo Bernardi (1998), o principal fator para uma correta formação de preços é a informação, pois a formação de preços é um sistema, o qual deve ser alimentado com informações precisas e detalhadas, seus elementos, composição e tratamento, para que as diversas variáveis de ordem econômica sejam corretamente consideradas e a decisão seja de boa qualidade.

Segundo Cogan (1999), é voz corrente que a correta determinação dos preços impõe como condição *sine qua non* um profundo conhecimento dos custos. Nada mais natural. Afinal, é por meio das informações acerca dos custos, como também do rateio de todas as despesas da empresa que se chega ao valor de produção, não se devendo esquecer, é claro, de adicionar a porcentagem de lucro desejada.

Vale salientar a observação de Horngren (1995) segundo a qual as empresas que consideram os custos na determinação dos preços o fazem de uma forma circular, partem da quantidade que pretendem vender (base para os custos fixos diretos e indiretos unitários), e só então calculam o preço.

Segundo o autor, o método é equivocado, pois são os preços que influenciam as quantidades e não o contrário.

Segundo Cogan (1999), historicamente o preço de venda foi determinado adicionando-se o lucro aos custos. No momento atual, caracterizado pela alta competitividade, que cada vez mais caminha para uma concorrência perfeita, as decisões de preço são tomadas levando-se em conta uma série de variáveis, como por exemplo, características do mercado, os objetivos estratégicos ou organizacionais, bem como levando-se em conta os preços praticados no mercado.

Essa visão tem consonância com Paulo (2001), segundo o qual a formação do preço deve resultar de análise conjunta (de custos e de mercado), obedecendo-se a algumas premissas básicas que regem a matéria, para se evitar que esse processo se resuma, de um lado, a meras informações extraídas das planilhas de custo de produção, e do outro, numa comparação entre renda e custo marginal, bem como aceitando-se a idéia de que o preço é imposto pelo mercado.

Todos os aspectos apresentados têm sua importância, valendo, contudo, ressaltar a visão de Perez Junior et al (2001), segundo o qual o preço obtido a partir do custo é uma

referência valiosa para se comparar com o preço de mercado e se determinar a conveniência ou inconveniência de se vender o produto pelo valor que o mercado esteja disposto a pagar.

# *CAPÍTULO 4*

## **4. METODOLOGIA**

Os produtos foram elaborados na planta de leite pertencente à Escola Agrotécnica Federal de Uberlândia – EAF-UDI. As análises físico-químicas foram realizadas no SENAI-CETAL, as análises microbiológicas e sensoriais foram realizadas nos laboratórios pertencentes ao Centro Universitário do Triângulo – UNITRI, todos localizados na cidade de Uberlândia – MG.

### **4.1 Material**

#### **4.1.1 Matéria-prima**

As matérias-primas utilizadas para a elaboração dos iogurtes saborizados com frutos do cerrado, usando culturas lácticas tradicionais e probióticas a 1,0% (p/v) foram:

- Leite de cabra UHT integral enriquecido com ácido fólico – Caprilat®;
- Açúcar refinado especial – União® (Sacarose);
- Inulina (Raftiline, da empresa Orafti – Bélgica);
- Polpa natural de Araticum – Frutos do cerrado®;
- Polpa natural de Pequi – Frutos do cerrado®;
- Polpa natural de Cagaita – Frutos do cerrado®;

### 4.1.2 Culturas lácticas

Foram utilizadas as seguintes culturas lácticas comerciais:

- Cultura Tradicional: fermento láctico Rich®, que é uma cultura tradicional de iogurte composta por duas linhagens de bactérias lácticas superconcentradas – *L. bulgaricus* e *S. thermophilus* da Chr. Hansen – Valinhos – SP;
- Cultura Probiótica: Bio Rich® – fermento láctico probiótico que contém culturas selecionadas e superconcentradas de *L. acidophilus* LA-5, *Bifidobacterium* BB-12 e *S. thermophilus*, da Chr. Hansen – Valinhos – SP.

## 4.2 Métodos

### 4.2.1 Processo de fabricação dos iogurtes

Os iogurtes foram elaborados, de acordo com o fluxograma apresentado na figura 4.2, onde foram inoculadas as culturas lácticas tradicionais e probióticas na concentração de 1,0%, a inulina e as polpas de araticum, cagaita e pequi (figura 4.1).



Figura 4.1 – Preparo de ingredientes para fabricação de iogurte funcional



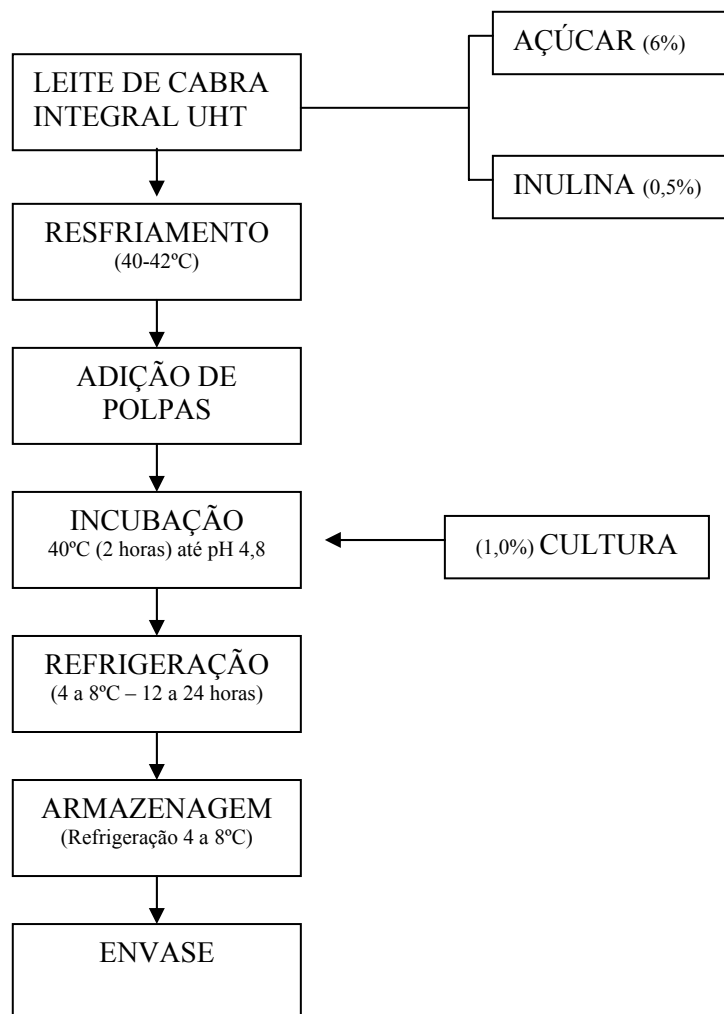


Figura 4.2 - Blocos do processo de elaboração dos iogurtes produzidos a 1,0% de concentração de culturas prebióticas e probióticas adicionado de inulina e saborizado com três frutos do cerrado.

#### 4.2.1.1 Fase 1 – Elaboração da formulação inicial

Para a elaboração da formulação inicial utilizada na produção dos iogurtes acrescentou-se para cada litro de leite de cabra integral UHT, 6% (p/v) de açúcar refinado e 0,5% (p/v) de inulina. Em seguida, os ingredientes foram homogeneizados. As misturas foram resfriadas até atingir 42°C, para receber a culturas lácticas em condições assépticas. As temperaturas de autoclave se fizeram necessárias para evitar possíveis contaminações por parte do açúcar adicionado, e também para que houvesse uma perfeita homogeneização.

#### 4.2.1.2 Fase 2 – Preparo da cultura

As culturas lácticas tradicionais (2,5 g do fermento láctico Rich®) e culturas probióticas (2,5 g do fermento láctico Bio Rich®) foram dissolvidas assepticamente em 500 mL de leite de cabra integral UHT previamente esterilizado (Figura 4.3). Em seguida a mistura foi homogeneizada na concentração de 1,0% em capela de fluxo laminar.



Figura 4.3 - Adição das culturas lácticas tradicionais e probióticas no leite de cabra integral UHT previamente esterilizado – preparo da cultura.

Fonte: MUNDIM et al, 2007

#### 4.2.1.3 Fase 3 – Fermentação

As formulações iniciais foram incubadas em banho termostático à 40°C. Durante a incubação o iogurte foi submetido a medidas do valor do pH e acidez expressa em ácido láctico, monitorados a cada 15 minutos (triplicata), em porções destinadas somente para estas análises, para avaliação do tempo de fermentação, até as amostras atingirem aproximadamente um valor de pH de 4,8 e percentual de ácido láctico de 0,7 (Figura 4.4). O tempo zero foi estabelecido a partir de três horas e trinta minutos de incubação, pois os microrganismos se encontravam liofilizados.



Figura 4.4 - Amostras de iogurte no banho termostático à 40°C.  
MUNDIM et al, 2007

#### 4.2.1.4 Fase 4 – Armazenamento das amostras sob refrigeração

Após o processo de fermentação, as diferentes amostras de iogurtes foram resfriadas e armazenadas em ambiente refrigerado à 4°C (Figura 4.5).



Figura 4.5 - Armazenamento das amostras de iogurtes e polpas sob refrigeração à 4°C.  
MUNDIM et al, 2007

#### 4.2.1.5 Fase 5 – Adição da polpa nas amostras de iogurtes

Para cada 1 litro de iogurte fabricado com 1,0% (p/v) de culturas lácticas foram adicionadas separadamente 150g de polpa de fruta pasteurizada de araticum, 100g de polpa pasteurizada de cagaita e 50g de polpa pasteurizada de pequi, obtendo-se três produtos distintos, (Figura 4.6), sendo todo o processo realizado na capela de fluxo laminar.



Figura 4.6 – Adição de polpas nas amostras de iogurtes  
MUNDIM et al, 2007

#### 4.2.1.6 Fase 6 – Distribuição dos iogurtes em frascos de polietileno

As amostras de iogurtes foram distribuídas em frascos de polietileno, de 1 litro mas também de 200 mL, adquiridos no comércio especializado em embalagens na cidade de Uberlândia – MG, que foram devidamente higienizados com detergente neutro e álcool à 70%.

Os frascos utilizados para o armazenamento dos iogurtes foram rotulados com etiqueta auto-adesiva com a descrição do produto (Figura 4.7).



Figura 4.7– Iogurtes em frascos de polietileno de 200 mL.  
MUNDIM et al, 2007



Figura 4.8 - Iogurtes em frascos de polietileno de 1 L.  
MUNDIM et al, 2007

#### 4.2.2 Caracterização físico-química dos iogurtes

Para caracterização físico-química dos iogurtes analisou-se, em triplicata, o valor de pH, acidez expressa em ácido láctico, teor de lactose, teor de umidade, teor de cinzas, extrato seco total e extrato seco desengordurado, teor de proteínas e teor de lipídios, de acordo com as metodologias descritas abaixo:

A) **Acidez titulável:** a acidez, em termos de ácido láctico, foi determinada por titulação (AOAC, 1995).

B) **Valor de pH:** o pH foi determinado utilizando-se o pHmetro digital Micronal, modelo 320, com eletrodo de vidro combinado (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1985).

C) **Determinação da lactose:** foi determinada pelo método de Fehling (BRASIL, 2003).

D) **Teor de umidade:** foi determinado pelo método de secagem em estufa à 105°C (AOAC, 1995).

E) **Teor de cinzas:** foi determinada pelo método de incineração em forno mufla a 550°C (AOAC, 1995).

F) **Extrato seco total:** foi determinado pelo método de secagem em estufa à 105°C (AOAC, 1995).

G) **Extrato seco desengordurado:** foi determinado pelo método de secagem em estufa à 105°C (AOAC, 1995).

H) **Proteínas:** o teor de proteínas foi determinado pelo método Micro Kjeldahl (AOAC, 1995).

I) **Gordura:** foi determinada no aparelho Milko – tester MK III F 3140, A/SN. Foss Electric, Denmark.

#### 4.2.3 Vida de prateleira dos iogurtes – Pós-acidificação

Estabeleceu-se como período de armazenamento 28 dias à 4°C. Os iogurtes foram avaliados nos dias 1, 7, 14, 21 e 28 quanto ao valor de pH, acidez expressa em ácido láctico, teor de lactose e determinação de células viáveis de *Streptococcus salivarius ssp. thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium sp.*.

#### 4.2.4 Contagem de microrganismos tradicionais e probióticos

A análise microbiológica é utilizada para estudar a cinética de crescimento e reprodução das espécies fermentadoras do iogurte. Para tanto faz-se necessário o ajuste das condições físicas, químicas e nutritivas necessárias a cada espécie.

As contagens de bactérias lácticas dos iogurtes foram realizadas nos seguintes dias de estocagem; 1°, 7°, 14°, 21° e 28°. A abertura dos fracos de iogurtes foi feita no interior da câmara de fluxo laminar para prevenir qualquer contaminação ambiente na amostra. Uma alíquota de 1 mL de amostra foi transferida para um tubo com rosca contendo 9 mL de solução de água peptonada estéril 0,1%. A partir desta diluição foram feitas diluições subseqüentes, necessárias à análise do produto. Após o tempo de incubação requerido para cada meio de cultura, a contagem foi realizada em placas de Petri que apresentaram entre 25 e 250 colônias.

Foram elaborados meios seletivos com o intuito de favorecer o crescimento da bactéria de interesse, impedindo o crescimento das outras bactérias.

#### 4.2.4.1 Contagem de *Streptococcus salivarius ssp. Thermophilus*

Para enumeração de *Streptococcus salivarius ssp. thermophilus* foi utilizado o meio ágar M 17. A inoculação foi realizada por profundidade. Após a inoculação, as placas de Petri foram incubadas invertidas em aerobiose a 37°C por 48 horas (IDF,1997) (Figura 4.9).



Figura 4.9 - Colônias de *Streptococcus salivarius ssp. thermophilus* desenvolvidas em meio de cultura M 17, após 48 horas de incubação.

#### 4.2.4.2 Contagem de *Lactobacillus delbrueckii spp. Bulgaricus*

Para a enumeração de *Lactobacillus delbrueckii spp. bulgaricus* foi utilizado o meio MRS ágar glicose acidificado. A inoculação foi realizada por profundidade.

Após a inoculação, as placas de Petri foram incubadas invertidas em jarras contendo gerador de anaerobiose Anaerobac (PROBAC) a 37°C por 72 horas (IDF, 1997). A Figura 4.10 apresenta as colônias de *L. bulgaricus*



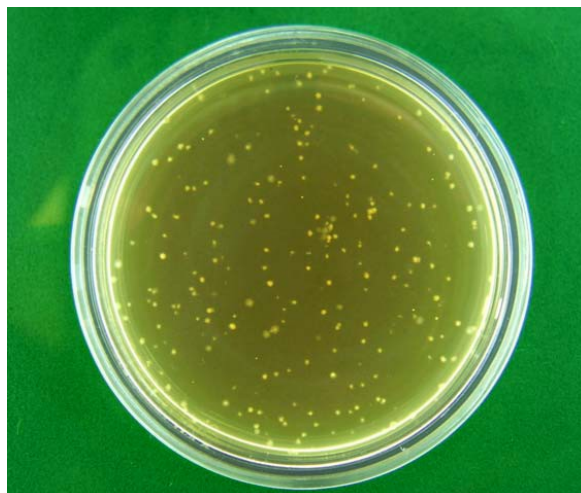


Figura 4.10 - Colônias de *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* desenvolvidas em meio de cultura MRS – ágar glicose acidificado, após 72 horas de incubação.

#### 4.2.4.3 Contagem de *Lactobacillus acidophilus*

Para a enumeração de *Lactobacillus acidophilus* foi utilizado o meio De Man, Rogosa Sharp MRS, formulado em laboratório, com adição de solução de maltose. A técnica utilizada para a inoculação foi por profundidade. Após a inoculação, as placas de Petri foram incubadas invertidas em jarras contendo gerador de anaerobiose Anaerobac (PROBAC) a 37°C por 72 horas (Figura 4.11) (IDF, 1999).



Figura 4.11 - Colônias de *Lactobacillus acidophilus* desenvolvidas em meio de cultura MRS – maltose, após 72 horas de incubação.

#### 4.2.4.4 Contagem de *Bifidobacterium* sp.

Para a enumeração de *Bifidobacterium* sp. foi utilizado o meio MRS com glicose e adicionado de solução de dicloxacilina (solução A), cloridrato de cisteína (solução B) e cloreto de lítio (solução C). A técnica utilizada para inoculação foi por profundidade. Após a inoculação, as placas de Petri foram incubadas invertidas em jarras contendo gerador de anaerobiose Anaerobac (PROBAC) a 37°C por 72 horas (CHR. HANSEN, 1999). A Figura 4.12 apresenta as colônias de *Bifidobacterium* sp..

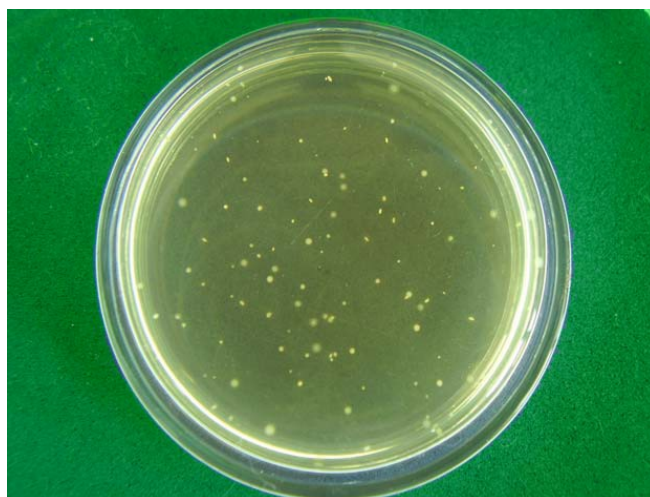


Figura 4.12 - Colônias de *Bifidobacterium* sp. desenvolvidas em meio de cultura MRS – glicose com as soluções A, B e C, após 72 horas de incubação.

#### 4.2.5 Análise sensorial

Os iogurtes foram submetidos à avaliação sensorial por uma equipe de 30 provadores não treinados no Laboratório de Análise Sensorial da Escola Agrotécnica Federal de Uberlândia. Os parâmetros analisados foram: cor, aroma, sabor, acidez, viscosidade e aparência geral, além disso, aos julgadores solicitou-se que indicassem a frequência de consumo de iogurtes e a intenção de compra do produto caso o encontrassem à venda no mercado.

Na avaliação dos iogurtes foi utilizada uma escala hedônica de 9 pontos. O modelo de ficha utilizado para avaliar a aceitabilidade dos produtos é apresentado na Figura 4.13.

Os provadores receberam aproximadamente 40 mL de cada amostra com temperatura entre 4 - 8°C em copos de plástico descartáveis com capacidade para 50 mL, codificados com números aleatórios de três dígitos. O teste foi realizado em cabines individuais.

Foram selecionadas 40 crianças com idade entre 4 a 6 anos da Escola Municipal Sobradinho, pertencente ao Município de Uberlândia - MG, para verificar a aceitabilidade da amostra preferida pelos adultos.

O teste utilizado foi a escala hedônica facial de 7 pontos (Figura 4.14) (FERREIRA et al, 2000). Para cada gravura foi atribuído valor numérico correspondente a 1 “desgostei muito” e 7 “gostei muito”.



## ESCALA HEDÔNICA FACIAL

Faça um círculo na figura que melhor descreve a sua opinião sobre o produto que você comeu.

Nome..... Data.....

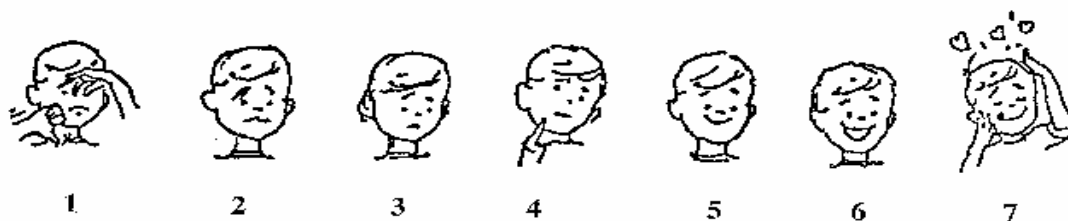


Figura 4.14 - Ficha utilizada para avaliação de aceitabilidade dos iogurtes funcionais saborizados com frutos do cerrado adicionados de inulina com 1,0% de culturas lácticas, teste aplicado com julgadores infantis.

### 4.2.6 Análise estatística

Em relação aos valores das curvas de pH e acidez durante o período de fermentação; das curvas de pH, acidez e lactose durante as cinco semanas de monitoramento (pós-acidificação) e as análises microbiológicas os resultados foram expressos em valores médios com os respectivos desvios padrão. Quanto aos resultados das análises de umidade, cinzas, extrato seco total e extrato seco desengordurado, proteína e gordura foram submetidos à análise de variância (ANOVA) por Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC), para utilizar esta análise é necessário que seus pressupostos sejam satisfeitos: o primeiro Teste Lilliefors de Normalidade e o segundo da *Homogeneity*.

As notas apresentadas pelos julgadores aos diferentes atributos avaliados na análise sensorial e a determinação da cor foram submetidas à análise de variância (ANOVA) por Delineamento de Blocos Casualizados (DBC) e teste de Friedman para a

comparação das médias. Em relação aos itens: preferência, consumo e intenção de compra, os resultados foram expressos em porcentagem.

Para a avaliação dos dados apresentados na pesquisa foi utilizado o programa de estatística *BioEstat 5.0*.

# *CAPÍTULO 5*

## **5 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **5.1 Curvas de pH e acidez expressa em ácido láctico durante o processo de fermentação**

O tempo total de fermentação da formulação inicial com concentração de culturas lácticas tradicionais e probióticas a 1,0% (p/v) foi de 90 minutos, no banho termostaticado à 40°C, até as amostras atingirem aproximadamente um valor de pH de 4,8 e percentual de ácido láctico de 0,7.

Nas Figuras 5.1 e 5.2 estão ilustradas as curvas de fermentação dos iogurtes experimentais. A Figura 5.1 apresenta a variação do valor de pH para o nível de adição de culturas lácticas tradicionais e probióticas dos iogurtes. No processamento do iogurte com adição de 1,0% de culturas lácteas obteve-se valores de pH, variando de  $5,15 \pm 0,01$  a  $4,78 \pm 0,01$ .

A Figura 5.2 descreve a variação da acidez expressa em porcentagem de ácido láctico. Os valores variaram de  $0,48 \pm 0,01$  a  $0,72 \pm 0,01$ .

Valores médios de pH durante o processo de fermentação dos iogurtes funcionais

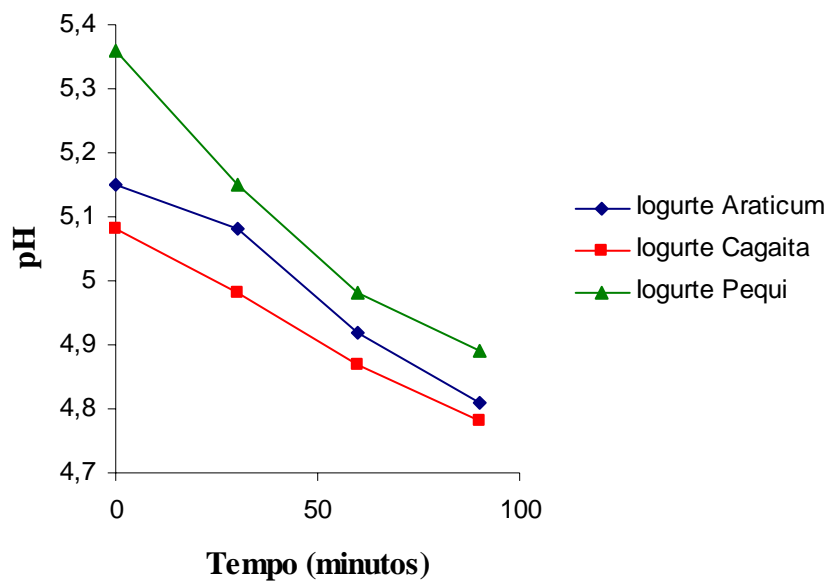


Figura 5.1 – Valores médios de pH durante o tempo<sup>1</sup> do processo de fermentação de iogurte funcional com leite de cabra, saborizado com frutos do cerrado e suplementado com inulina a 1,0% de concentração de culturas lácticas tradicionais e probióticas.

<sup>1</sup> O tempo zero foi determinado a partir de uma hora e meia de fermentação



Valores médios de acidez expressa em ácido láctico durante o processo de fermentação dos iogurtes funcionais

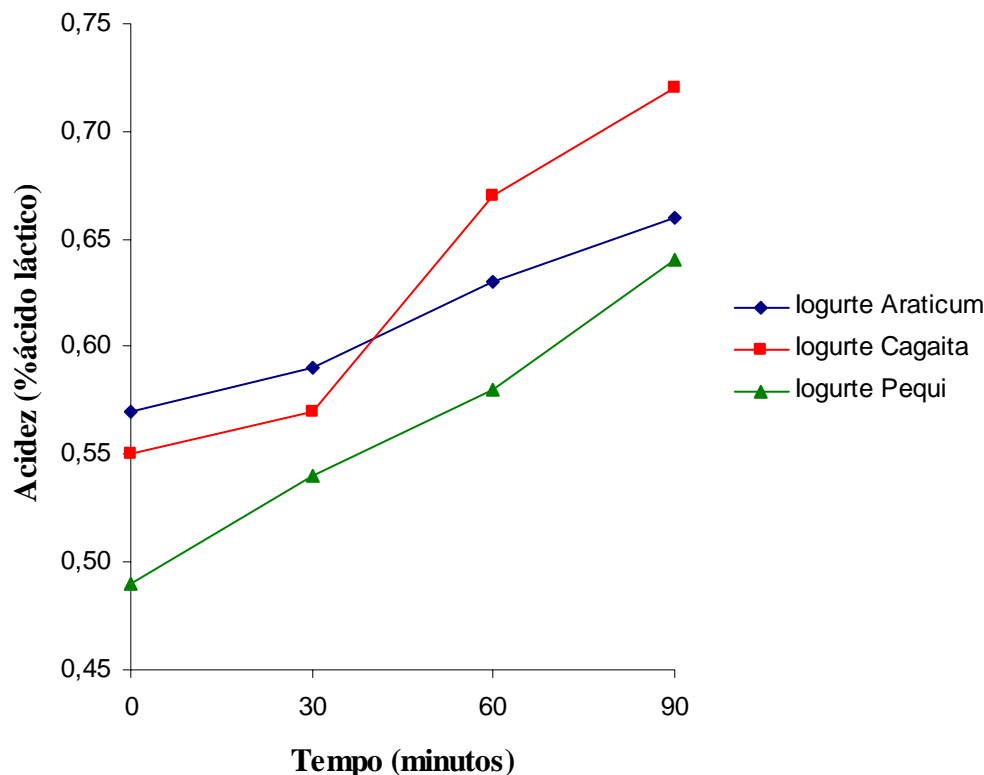


Figura 5.2 - Valores médios de acidez expressa em ácido láctico durante o processo de fermentação do iogurte funcional elaborado com leite de cabra.

Inicialmente as culturas do iogurte convertem parte da lactose em ácido láctico, originando uma diminuição do pH até um ponto em que a caseína se torna insolúvel e o leite mais viscoso. A produção gradual de ácido láctico começa por desestabilizar os complexos de caseína e proteínas do soro desnaturadas, por solubilização do fosfato de cálcio e dos citratos. Os agregados de micelas de caseína e/ou micelas isoladas vão se associando e coalescem parcialmente à medida que se aproxima o valor de pH do ponto isoelétrico, ou seja, aproximadamente 4,6 a 4,7 (TAMIME & ROBINSON, 1991).

Segundo Tamime & Robinson (1991), a temperatura de inoculação da cultura láctica deve estar na faixa de 40 a 45°C por um período variável entre 2,5 a 5 horas, que

lhe proporcionará condições ótimas de crescimento. Atualmente, as empresas visando a minimização de custos de processo produzem culturas mais concentradas que diminuem o tempo de fermentação dos produtos.

Algumas indústrias lácticas estabelecem o fim do processo fermentativo tão logo se evidencie o aspecto de gel lácteo. Uma das vantagens desta prática é produzir iogurtes mais suaves. Em alguns trabalhos verificou-se que em um pH levemente abaixo de 4,9 observava-se gel característico de iogurte. No entanto, quando a fermentação prossegue até pH 4,6 ocorre um aumento na estabilidade do produto (ANTUNES, 2004).

Pereira (2002) utilizando as culturas tradicionais (*S. thermophilus* e *L. bulgaricus*) e probióticas (*L. acidophilus* e *Bifidobacterium* sp.) observou que o tipo de cultura afetou significativamente o tempo de fermentação dos iogurtes. A autora relatou que os produtos fermentados apenas pelas culturas tradicionais apresentaram maior tempo de fermentação.

Dave & Shah (1997) obtiveram tempos de fermentação que variaram de 3:50 a 6:00 horas utilizando culturas lácticas mistas compostas de *S. thermophilus*, *L. bulgaricus*, *L. acidophilus* e *Bifidobacterium* na fabricação de iogurtes. Os produtos fabricados com *S. thermophilus*, *L. acidophilus* e *Bifidobacterium* apresentaram tempos de fermentação maiores (6:50 a 11:00 horas). Provavelmente, a ausência de *L. bulgaricus* neste caso, tenha acarretado o aumento de tempo de fermentação destes produtos, uma vez que a relação simbiótica com *S. thermophilus* e a alta atividade proteolítica são importantes durante a fermentação. Neste estudo, o tempo de fermentação observado foi menor que os relatados na literatura para iogurtes

comerciais. Isto ocorreu, provavelmente, devido ao uso de inóculos comercializados para uso doméstico com maior concentração de culturas lácticas.

## 5.2 Caracterização físico-química dos iogurtes

A Tabela 5.1 apresenta os resultados referentes aos valores médios e desvio padrão do teor de umidade, teor de cinzas, teor de extrato seco total (EST) e extrato seco desengordurado (ESD), teor de proteína e teor de gordura dos três iogurtes funcionais elaborados com leite de cabra.

Tabela 5.1 - Caracterização físico-química dos iogurtes funcionais elaborados com leite de cabra.

Análises	Iogurte Araticum	Iogurte Cagaita	Iogurte Pequi
Umidade (%)	78,21 ± 0,76	78,10 ± 0,91	78,45 ± 0,72
Cinzas (%)	0,92 ± 0,07	0,89 ± 0,08	0,90 ± 0,04
EST (%)	21,99 ± 0,07	21,82 ± 0,08	23,59 ± 0,04
ESD (%)	19,10 ± 0,52	18,67 ± 0,82	20,77 ± 0,73
Proteína (%)	5,39 ± 0,84	5,84 ± 0,13	6,21 ± 0,53
Gordura (%)	4,98 ± 0,11	3,89 ± 0,10	5,98 ± 0,09

EST: Extrato Seco Total; ESD: Extrato Seco Desengordurado

A composição do iogurte é similar à do leite, embora se reconheça que há algumas diferenças devido às mudanças ocorridas pela fermentação bacteriana sobre a lactose e pela adição de leite em pó, normalmente feita para aumentar os sólidos do leite, o que permite maior conteúdo protéico, além de presença de aditivos e flavorizantes (DEETH & TAMIME, 1981).

A Resolução N°. 5 de 13 de novembro de 2000, não contempla os requisitos físico-químicos como umidade, cinzas, EST e ESD, apresentando somente teor de gordura (g/100g), acidez (g de ácido láctico/100g) e proteínas lácteas (g/100g) (BRASIL, 2000).

De acordo com o artigo 476 do Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal, do Ministério da Agricultura, o leite para ser considerado normal deve apresentar EST mínimo de 11,5% e ESD mínimo de 8,5% (BRASIL, 1952).

Segundo Neirotti & Oliveira (1988) a composição do leite deve apresentar em média 87% de umidade, 3,7% de proteínas (caseína, albumina e globulina) e 0,6% de cinzas. Portanto, os teores de umidade (78,21%, 78,10% e 78,45%) e de cinzas (0,92%, 0,89% e 0,90%) das três amostras de iogurtes funcionais elaborados neste estudo, apresentaram valores próximos aos estabelecidos para a principal matéria-prima do iogurte, o leite.

Os valores obtidos para EST (21,99%; 21,82%; 23,59%) e ESD (19,10%; 18,67%; 20,77%) das três amostras de iogurte ficaram acima dos valores referentes ao leite, em função da adição das polpas que favoreceu o teor protéico do iogurte.

Os resultados obtidos para o teor de proteína dos iogurtes, 5,39% ; 5,84% ; e 6,21% estão de acordo com a legislação brasileira em vigor, que estabelece o mínimo de 2,9% de proteínas lácteas. Quanto ao teor de gordura, obteve-se 4,98%; 3,89%; 5,98. Neste caso, a resolução estabelece para iogurtes integrais uma faixa de 3,0 a 5,9%, para os semi-desnatados 0,6 a 2,9% e para os desnatados um máximo de 0,5% (BRASIL, 2000), mas, com relação ao teor de gordura, do iogurte de pequi, ligeiramente acima do recomendado pela legislação é interessante destacar que o mesocarpo interno (polpa) do *Caryocar brasiliense* contém óleos monoinsaturados (PEIXOTO, 1973; EMBRAPA-CPAC, 1987, citada por ARAÚJO, 1994; ALMEIDA e SILVA, 1994) sendo portanto indicado para consumo humano uma vez que não se inclui nas gorduras saturadas de origem animal, as quais a legislação faz menção.

Tamime & Robinson (1991) relataram que durante o processo de elaboração de iogurtes há um aumento do teor de aminoácidos livres e peptídeos. As proteínas desempenham um importante papel na formação do coágulo e, portanto, a consistência e a viscosidade do produto é diretamente proporcional à concentração das mesmas.

Segundo Rasic & Kurman (1978), leites fermentados com maior teor de proteínas possuem um maior tempo de vida útil que controles produzidos sem aumento do teor de sólidos. Os autores atribuem esses efeitos ao aumento da inibição da degradação da lactose combinado com o aumento da capacidade tamponante.

O teor de gordura do leite afeta favoravelmente a qualidade do iogurte, a gordura estabiliza a contração do gel protéico, previne a separação do soro no produto final e afeta a percepção sensorial do produto, que apresenta textura mais macia e cremosa (THOMOPOULOS, TZIZ & MILKAS, 1993).

### **5.3 Valores de pH, acidez expressa em ácido láctico e do teor de lactose durante o período de armazenamento sob refrigeração (pós-acidificação).**

As Figuras 5.3, 5.4 e 5.5 apresentam a evolução do valor de pH, acidez expressa em ácido láctico e teor de lactose dos produtos durante o tempo de estocagem.

Ao comparar os valores de pH e acidez expressa em ácido láctico obtidos no final da fermentação (Figuras 5.1 e 5.2) e os obtidos durante o período de estocagem (Figuras 5.3 e 5.4) verifica-se que houve um decréscimo do valor de pH e aumento da acidez expressa em láctico durante o armazenamento refrigerado dos iogurtes devido à produção continuada de ácidos pelas bactérias lácticas. Segundo Beal *et al* (1999) os

iogurtes estão sujeitos ao decréscimo de pH e aumento da acidez durante a estocagem refrigerada, isso devido à persistente atividade das bactérias durante a estocagem do produto.

A Figura 5.3 apresenta a variação do valor de pH durante os 28 dias de armazenamento do produto. No primeiro dia de análise os valores de pH para as amostras de iogurtes sabores araticum, cagaita e pequi, foram de  $4,54 \pm 0,01$ ,  $4,53 \pm 0,01$  e  $4,69 \pm 0,01$ , respectivamente, reduzindo gradativamente até alcançar  $4,42 \pm 0,01$ ,  $4,47 \pm 0,01$  e  $4,51 \pm 0,01$  no 28º dia, correspondente ao período final de estocagem. A vida de prateleira do iogurte deve ser em torno de 30 dias, período no qual o produto deve manter suas características próprias, deste que adequadamente refrigerado (VEDAMUTHU, 1991c).

A diminuição nos valores de pH está relacionada à pós-acidificação do iogurte durante o armazenamento refrigerado, mas também a adição das polpas. Oliveira & Damin (2002) também observaram ligeira diminuição do pH, quando estudaram a viabilidade de bactérias do iogurte e das culturas probióticas em leite fermentado sob refrigeração a 4°C durante o período de estocagem das amostras.

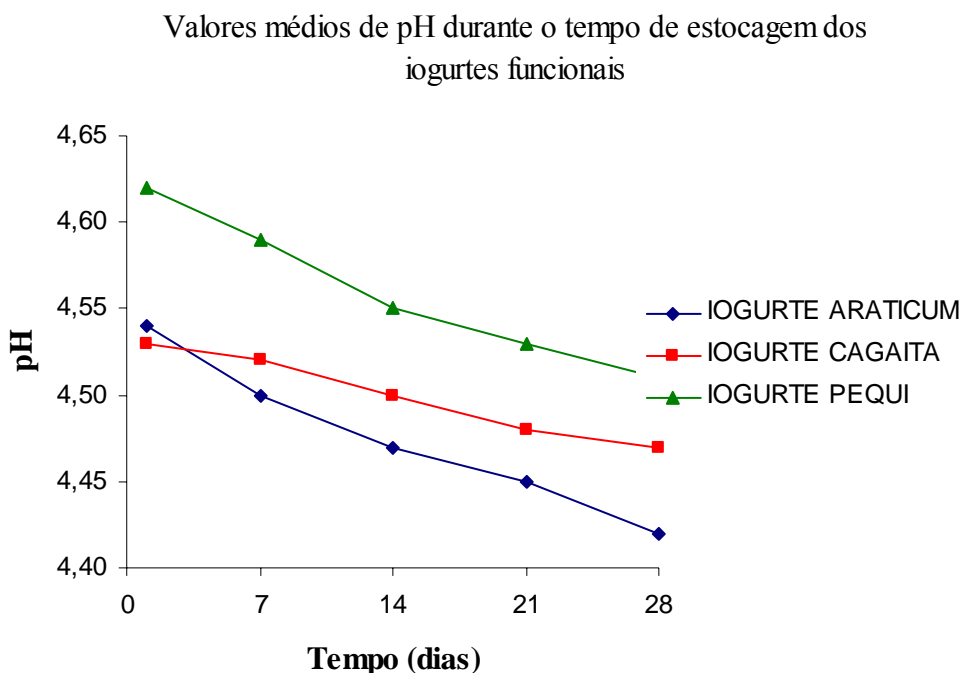


Figura 5.3 - Valores médios de pH durante o tempo de estocagem dos iogurtes funcionais elaborados com leite de cabra.

A Figura 5.4 apresenta a variação da acidez expressa em ácido láctico do iogurte durante os 28 dias de armazenamento. No primeiro dia de análise os valores de acidez para as amostras de iogurtes sabores araticum, cagaita e pequi, foram de  $0,72 \pm 0,01$ ,  $0,69 \pm 0,02$  e  $0,67 \pm 0,01$ , respectivamente, aumentando gradativamente até alcançar  $0,90 \pm 0,01$ ,  $0,86 \pm 0,01$  e  $0,81 \pm 0,01$  de ácido láctico no 28º dia, correspondente ao período final de estocagem.

Os valores de acidez expressa em ácido láctico das diferentes amostras de iogurte, atendem ao estabelecido pela legislação brasileira em vigor, que deve apresentar uma acidez mínima de 0,6g de ácido láctico/100g de produto e máxima de 1,5g de ácido láctico/100g de produto (BRASIL, 2000).

Estudos realizados por Salji & Ismail (1983) mostraram que em iogurtes armazenados sob refrigeração, a acidez pode apresentar alterações em maior ou menor

grau, dependendo do valor inicial da mesma, da temperatura de refrigeração, do tempo de armazenagem e do poder de pós-acidificação das culturas utilizadas.

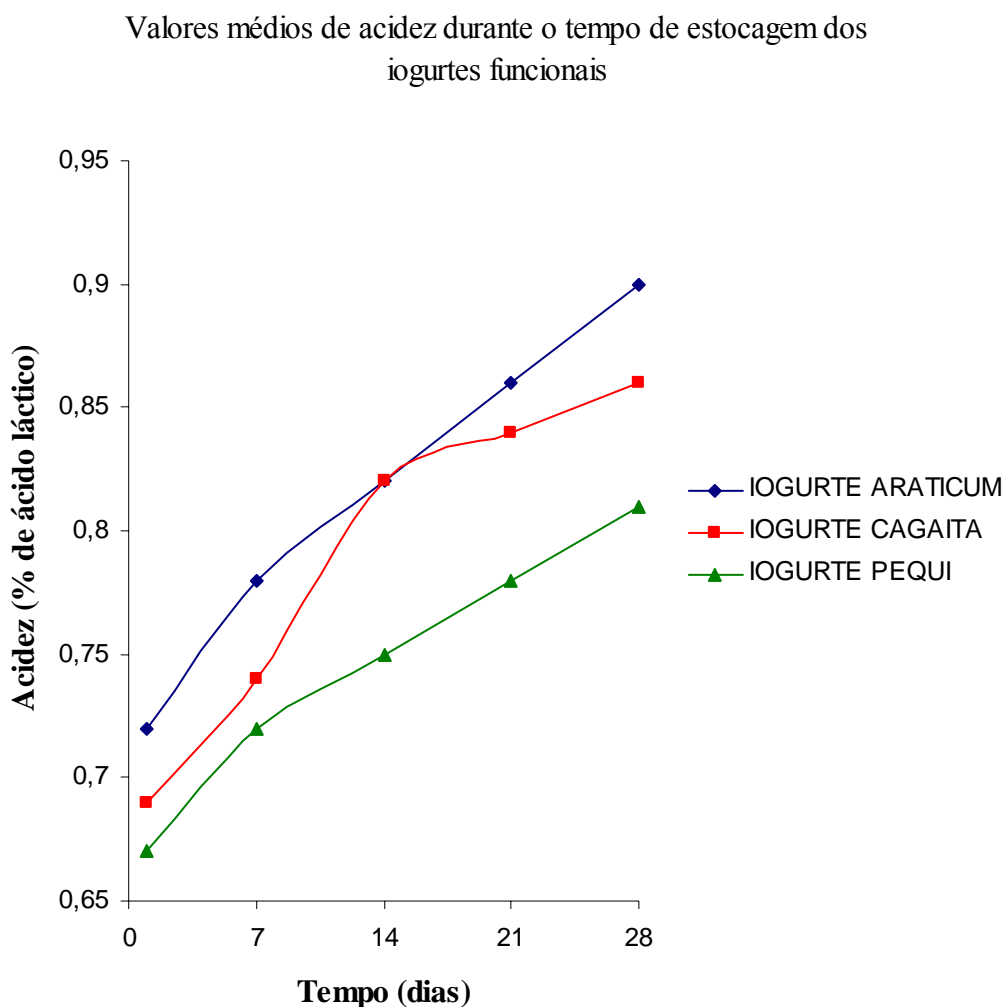


Figura 5.4 - Valores médios de acidez expressa em ácido láctico durante o tempo de estocagem do iogurte funcional elaborados com leite de cabra.

A Figura 5.5 apresenta a variação do teor de lactose durante os 28 dias de armazenamento do produto. No primeiro dia de análise os valores médios de lactose para as amostras de iogurtes sabores araticum, cagaita e pequi, foram respectivamente  $4,12 \pm 0,03$ ;  $3,95 \pm 0,04$  e  $3,22 \pm 0,05$ , reduzindo gradativamente até alcançar  $3,62 \pm$



0,02;  $3,24 \pm 0,05$  e  $3,11 \pm 0,03$  no 28º dia, correspondente ao período final de estocagem.

Segundo Tamime & Robinson (1991), a lactose é fonte de energia para os microrganismos do iogurte. Os valores apresentados de consumo de lactose estão de acordo com a literatura que cita um consumo entre 10 e 30% de lactose durante a fermentação e armazenamento dos iogurtes (GALVÃO, FERNANDES & SWAMURA, 1995).

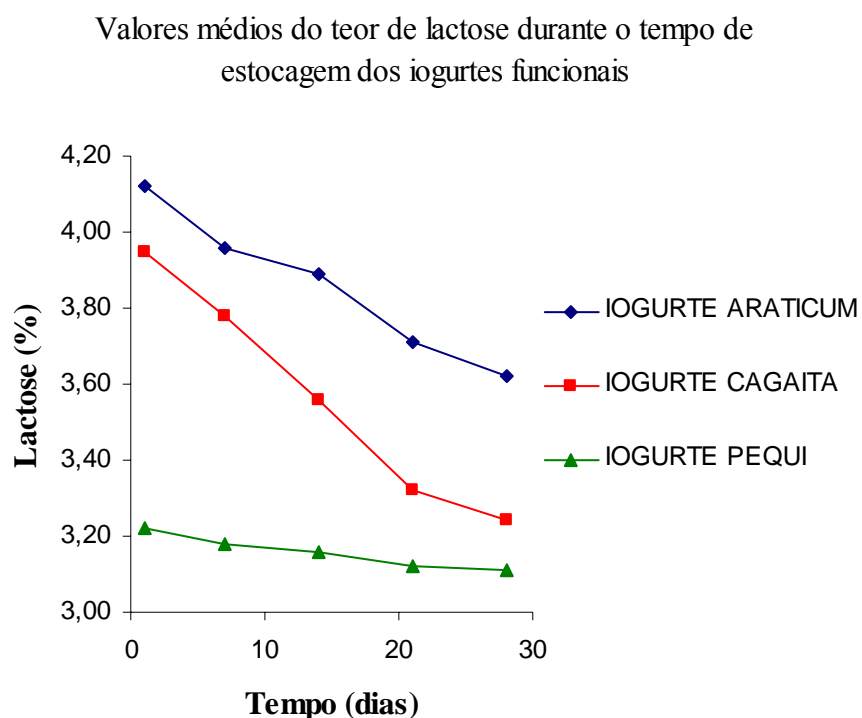


Figura 5.5 - Valores médios do teor de lactose durante o tempo de estocagem dos iogurtes funcionais elaborados com leite de cabra.

A adição das polpas nos iogurtes a 1,0% (p/v) de concentração de culturas lácticas tradicionais e probióticas afetaram os valores de pH, acidez expressa em ácido láctico e teor de lactose. As amostras saborizadas com araticum e cagaita apresentaram maiores quedas nos valores de pH e maior aumento de acidez conseqüentemente uma

maior pós acidificação ao longo da vida de prateleira dos produtos. Além disso, houve um maior consumo de lactose durante o período de estocagem refrigerada.

#### 5.4 Contagem das bactérias lácticas durante o tempo de estocagem

As Tabelas 5.2 e 5.3 apresentam os valores médios (UFC/mL) das contagens de bactérias lácticas tradicionais *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* dos iogurtes funcionais elaborados neste estudo durante o período de armazenamento à 4°C.

##### 5.4.1 Contagem de bactérias tradicionais *Streptococcus salivarius* ssp. *Thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *Bulgaricus*

Tabela 5.2 - Contagem média do número de células viáveis de *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus* dos iogurtes funcionais elaborados com leite de cabra, durante o tempo de estocagem (UFC/mL) com variação segundo amostragem.

Tempo de estocagem (dias)	Células viáveis de <i>Streptococcus salivarius</i> ssp. <i>thermophilus</i> (UFC/mL)		
	Iogurte Araticum	Iogurte Cagaita	Iogurte Pequi
1	7,90 x 10 <sup>8</sup>	6,24 x 10 <sup>8</sup>	7,75 x 10 <sup>8</sup>
7	1,62 x 10 <sup>9</sup>	1,12 x 10 <sup>9</sup>	1,38 x 10 <sup>9</sup>
14	7,01, x 10 <sup>8</sup>	6,88 x 10 <sup>8</sup>	7,01 x 10 <sup>8</sup>
21	6,55 x 10 <sup>8</sup>	6,70 x 10 <sup>8</sup>	7,90 x 10 <sup>7</sup>
28	5,99 x 10 <sup>8</sup>	4,98 x 10 <sup>8</sup>	4,01 x 10 <sup>8</sup>

Tabela 5.3 - Contagem média do número de células viáveis de *Lactobacillus delbruecki* ssp. *bulgaricus* dos iogurtes funcionais elaborados com leite de cabra, durante o tempo de estocagem (UFC/mL), com variação segundo amostragem.

Tempo de estocagem (dias)	células viáveis de <i>Lactobacillus delbruecki</i> ssp. <i>Bulgaricus</i> (UFC/mL)		
	Iogurte Araticum	Iogurte Cagaita	Iogurte Pequi
1	$1,39 \times 10^7$	$1,38 \times 10^7$	$1,42 \times 10^7$
7	$1,05 \times 10^7$	$1,10 \times 10^7$	$1,29 \times 10^7$
14	$1,03 \times 10^7$	$1,08 \times 10^7$	$1,11 \times 10^7$
21	$5,15 \times 10^6$	$5,93 \times 10^6$	$5,60 \times 10^6$
28	$2,93 \times 10^6$	$2,20 \times 10^6$	$1,99 \times 10^6$

A contagem do número de células viáveis do microrganismo tradicional *S. thermophilus* oscilou entre  $1,62 \times 10^9$  a  $5,99 \times 10^8$  para o iogurte sabor araticum,  $1,12 \times 10^9$  a  $4,98 \times 10^8$  para o iogurte sabor cagaita e  $1,38 \times 10^9$  a  $7,90 \times 10^7$  para o iogurte sabor pequi. Observou-se uma redução máxima de um ciclo logarítmico para as amostras de iogurte após 28 dias de estocagem. A contagem do microrganismo tradicional *L. bulgaricus* permaneceu entre  $1,39 \times 10^7$  a  $2,93 \times 10^6$  para o iogurte sabor araticum,  $1,38 \times 10^7$  a  $2,20 \times 10^6$  para o iogurte sabor cagaita e  $1,42 \times 10^7$  a  $1,99 \times 10^6$  para o iogurte sabor pequi.

A manutenção do número de células viáveis da bactéria láctica tradicional *S. thermophilus* atende aos valores estabelecidos pela legislação brasileira em vigor, que, segundo os Padrões de Identidade e Qualidade (PIQ) de Leites Fermentados, Resolução Nº. 5, 13 de novembro de 2000, a contagem total de bactérias lácticas viáveis deve ser no mínimo de  $10^7$  UFC/mL no produto final, durante todo o prazo de validade e, no caso em que mencione(m) o uso de Bifidobactérias, a contagem será de  $10^6$  UFC/mL. No presente estudo o microrganismo tradicional *L. bulgaricus* apresentou valores inferiores ao estabelecido pela legislação, o que provavelmente não se traduz como uma redução importante do ponto de vista tecnológico (BRASIL, 2000). Ressalta-se que a

legislação não separa os microrganismos, portanto, na enumeração geral as amostras de iogurtes estavam de acordo com os padrões preconizados.

Estudos têm mostrado que as bactérias do iogurte (*S. thermophilus* e *L. bulgaricus*) sobrevivem bem no produto durante a vida de prateleira (DONKOR *et alii*, 2006). O *L. bulgaricus* é o principal responsável pela pós-acidificação dos iogurtes, mas por outro lado, contribui consideravelmente para a produção de compostos aromáticos, especialmente o acetaldeído, característico do iogurte (GUYOT, 1992).

De acordo com Tamime & Robinson (1991) o valor de pH implica na atividade metabólica das bactérias, podendo favorecer um determinado grupo, em detrimento do outro. No caso do iogurte, bactérias do gênero *Lactobacillus* crescem e toleram valores de pH mais baixos do que as pertencentes ao gênero *Streptococcus*.

Segundo Lourens-Hattingh & Viljoen (2001), uma excessiva pós-acidificação (acidificação indesejada ao produto) ocorre, principalmente, devido ao crescimento incontrolável de *L. bulgaricus* nas temperaturas de refrigeração e a baixos valores de pH. Portanto, as indústrias fabricantes de culturas lácticas fornecem culturas tradicionais de iogurte com uma menor concentração de *L. bulgaricus* e uma maior concentração de *S. thermophilus*. A redução na contagem de *L. bulgaricus* no produto final contribui para diminuir a pós-acidificação do iogurte durante a vida de prateleira. Isto é importante tanto para garantir ao produto final um sabor suave, quanto para evitar efeitos adversos do pH baixo sobre as bactérias probióticas (DAVE & SHAH, 1997b).

Rybka & Kailasapathy (1995) observaram uma maior contagem no número de células viáveis de *S. thermophilus* nos iogurtes inoculados com culturas probióticas, a qual variou de  $10^9$  a  $10^7$  UFC/mL durante 36 dias de estocagem.

A presença de carboidratos na mistura base pode inibir o crescimento dos microrganismos do iogurte. Estudos comprovaram uma diminuição na velocidade de produção de ácido pelo *S. thermophilus* e *L. bulgaricus* quando se aumenta a concentração de açúcar de 6 para 12%. Um exame microscópico dos diferentes tipos de iogurte mostrou que o *S. thermophilus* apresentou maior tolerância a altas concentrações de açúcar que o *L. bulgaricus*. Esta tolerância, das culturas depende da linhagem utilizada, sendo aconselhável uma cuidadosa seleção. A inibição do crescimento das culturas do iogurte com um extrato seco total de 14 a 16% adicionado de açúcar (10 a 12%), se deve principalmente ao efeito osmótico adverso dos solutos do leite, assim como a baixa atividade de água ( $A_w$ ) (TAMIME & ROBINSON, 1991).

#### **5.4.2 Contagem de bactérias probióticas *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium sp.***

As Tabelas 5.4 e 5.5 apresentam os valores médios (UFC/mL) das contagens de bactérias lácticas probióticas *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium sp.* dos iogurtes funcionais elaborados com leite de cabra, durante o período de armazenamento à 4°C.

Tabela 5.4 - Contagem média do número de células viáveis de *Lactobacillus acidophilus* dos iogurtes funcionais elaborados com leite de cabra, durante o tempo de estocagem (UFC/mL), com variação segundo amostragem..

Tempo de estocagem (dias)	Células viáveis de <i>Lactobacillus acidophilus</i> (UFC/mL)		
	Iogurte Araticum	Iogurte Cagaita	Iogurte Pequi
1	9,38 x 10 <sup>8</sup>	1,38 x 10 <sup>8</sup>	7,75 x 10 <sup>8</sup>
7	1,05 x 10 <sup>9</sup>	1,10 x 10 <sup>9</sup>	1,30 x 10 <sup>9</sup>
14	7,10 x 10 <sup>8</sup>	5,08 x 10 <sup>8</sup>	7,24 x 10 <sup>8</sup>
21	7,09 x 10 <sup>8</sup>	6,92 x 10 <sup>8</sup>	7,20 x 10 <sup>8</sup>
28	8,89 x 10 <sup>8</sup>	5,20 x 10 <sup>8</sup>	8,01 x 10 <sup>8</sup>

Tabela 5.5 - Contagem média do número de células viáveis de *Bifidobacterium* sp. dos iogurtes funcionais elaborados com leite de cabra, durante o tempo de estocagem (UFC/mL), com variação segundo amostragem..

Tempo de estocagem (dias)	Células viáveis de <i>Bifidobacterium</i> sp. (UFC/mL)		
	Iogurte Araticum	Iogurte Cagaita	Iogurte Pequi
1	3,70 x 10 <sup>6</sup>	2,98 x 10 <sup>6</sup>	3,25 x 10 <sup>6</sup>
7	1,25 x 10 <sup>7</sup>	1,18 x 10 <sup>7</sup>	1,24 x 10 <sup>7</sup>
14	2,66 x 10 <sup>6</sup>	2,01 x 10 <sup>6</sup>	2,54 x 10 <sup>6</sup>
21	1,95 x 10 <sup>7</sup>	1,03 x 10 <sup>7</sup>	1,35 x 10 <sup>7</sup>
28	5,90 x 10 <sup>6</sup>	3,30 x 10 <sup>6</sup>	4,99 x 10 <sup>6</sup>

A contagem do número de células viáveis do microrganismo probiótico *L. acidophilus* permaneceu entre 1,05 x 10<sup>9</sup> a 7,09 x 10<sup>8</sup> para o iogurte sabor araticum, 1,10 x 10<sup>9</sup> a 1,38 x 10<sup>8</sup> para o iogurte sabor cagaita e 1,30 x 10<sup>9</sup> a 7,20 x 10<sup>8</sup> para o iogurte sabor pequi. Observou-se uma redução máxima de um ciclo logarítmico para as amostras dos iogurtes funcionais após 28 dias de estocagem.

A contagem do número de células viáveis do microrganismo probiótico *Bifidobacterium* sp. permaneceu entre 1,95 x 10<sup>7</sup> a 2,66 x 10<sup>6</sup> para o iogurte sabor araticum, 1,18 x 10<sup>7</sup> a 2,01 x 10<sup>6</sup> para o iogurte sabor cagaita e 1,35 x 10<sup>7</sup> a 2,54 x 10<sup>6</sup>

para o iogurte sabor pequi. Observou-se uma redução de até um ciclo logarítmico para as amostras de iogurtes funcionais após 28 dias de estocagem.

Os valores encontrados para a contagem das bactérias probióticas estão de acordo com os valores estabelecidos pelos Padrões de Identidade e Qualidade (PIQ) de Leites Fermentados, Resolução N°. 5, 13 de novembro de 2000, onde a contagem total de bactérias lácticas viáveis deve ser no mínimo de  $10^7$  UFC/mL no produto final, durante todo o prazo de validade e, no caso em que mencione(m) o uso de Bifidobactérias, a contagem será de  $10^6$  UFC/mL (BRASIL, 2000).

A atividade metabólica de *L. bulgaricus* e *S. thermophilus* durante a armazenagem resulta na produção de ácidos orgânicos que futuramente podem afetar a viabilidade das células probióticas (DONKOR et al, 2006). Embora o *L. acidophilus* tolere a acidez, um rápido decréscimo no seu número foi observado sob condições ácidas. Bifidobactérias não são tão tolerantes ao ácido quanto *L. acidophilus*; o crescimento dos últimos organismos cessa a um pH menor que 4,0, enquanto o crescimento de *Bifidobacterium* sp. é retardado a pH abaixo de 5,0 (SHAH & LANKAPUTHRA, 1997).

Mesmo com a pós-acidificação os produtos não atingiram pH < 4,0 (Figura 21), sendo este valor prejudicial à sobrevivência das bactérias probióticas (SHAH & RAVULA, 2000).

Os valores obtidos neste trabalho estão semelhantes aos reportados por Dave & Shah (1997) que obtiveram uma contagem de células viáveis de *L. acidophilus* entre  $3,9 \times 10^7$  e  $1,2 \times 10^6$  UFC/mL. Dave & Shah (1997) e Rybka & Kailasapathy (1995) observaram uma redução na contagem no número de células viáveis para *Bifidobacterium* ssp. de  $1,6 \times 10^7$  para  $4,9 \times 10^5$  UFC/mL. Os mesmos autores

demonstraram que *L. acidophilus* pode sobreviver no iogurte a níveis suficientes ( $> 10^6$  UFC/mL) por até 28 dias.

A variação da viabilidade probiótica nas amostras utilizadas por diferentes autores pode ser provavelmente atribuída a diferenças comportamentais dos microrganismos e a influência de fatores como acidez, pH, outras bactérias iniciais, e oxigênio dissolvido no leite (GUEIMONDE et al, 2004; SHAH, 2000).

Segundo Charteris et al (1997), Dave & Shah (1997), a viabilidade das bactérias probióticas armazenadas sob refrigeração e baixo pH, por longos períodos pode diminuir, e ainda, a viabilidade do *L. acidophilus* pode ser afetada pela presença do *L. bulgaricus*.

O peróxido de hidrogênio produzido por *L. bulgaricus* apresenta efeito antimicrobiano, afetando o crescimento de bactérias probióticas (DAVE & SHAH, 1997b; DAVE & SHAH, 1998). Samona & Robinson (1994) citam ainda a secreção de bacteriocinas por *L. bulgaricus*, podendo comprometer a sobrevivência de bifidobactérias.

A sobrevivência das bactérias probióticas em produtos lácteos fermentados depende de vários fatores, tais como a linhagem utilizada, interação entre as espécies presentes, condições da cultura, composição química do meio (fonte de carboidrato), acidez final, conteúdo de sólidos do leite, disponibilidade de nutrientes, promotores e inibidores do crescimento, concentração de açúcar (pressão osmótica), oxigênio dissolvido (especialmente para a *Bifidobacterium* sp.), quantidade inoculada, temperatura de incubação, tempo de temperatura de estocagem (KAILASAPATHY & RYBKA, 1997; LOURENS-HATTINGH & VILJOEN, 2001).



Os resultados mostraram que com a utilização de culturas contendo microrganismos probióticos, o produto apresentou contagem suficiente para promover efeitos terapêuticos à saúde do consumidor, além de contribuir para os efeitos tecnológicos, como reduzir a pós-acidificação do iogurte e leites fermentados, fato evidenciado pela ação de *L. acidophilus* e *Bifidobacterium* sp. (ANTUNES, 2001).

Contagens inferiores de culturas probióticas foram observadas por Vinderola, Bailo & Reinheimer (2000), ao estudarem a viabilidade de bactérias do iogurte durante a estocagem refrigerada à 5°C por quatro semanas, observaram que o nível de perda de viabilidade depende do tipo de iogurte (firme ou líquido, semi-desnatado ou integral) e da cultura láctica utilizada. As contagens iniciais de *L. acidophilus* e *B. bifidum* variaram de  $10^6$  a  $10^7$  UFC/mL, enquanto que no final da estocagem eram menores que  $10^4$  UFC/mL.

Apesar da importância da viabilidade dessas bactérias benéficas, pesquisas conduzidas na Austrália e na Europa têm mostrado uma precária viabilidade da bactéria probiótica, especialmente bifidobactérias, em preparações de iogurte (SHAH & LANKAPUTHRA, 1997; LANKAPUTHRA, SHAH & BRITZ, 1996b).

Bactérias probióticas devem, após a ingestão, alcançar o intestino em níveis elevados para ser capaz de sobreviver, aderir as paredes intestinais, multiplicar-se e, talvez, exercer seus efeitos de promoção da saúde. Conseqüentemente, a viabilidade de espécies probióticas durante a armazenagem de leite fermentado é muito importante (AWAISHEH, HADDADIN & ROBINSON, 2005).

Com o objetivo de solucionar a sobrevivência dos organismos probióticos, diferentes perspectivas têm sido utilizadas, incluindo culturas selecionadas, microencapsulação e adição de prebióticos (DONKOR et al, 2006). Prebióticos são

geralmente adicionados a produtos lácteos para seletivamente estimular o crescimento de probióticos selecionados tais como *Bifidobacterium* sp. no intestino humano. Vários estudos têm mostrado a melhora do crescimento e atividades de *Bifidobacterium* sp. com inulina (AKALIN, FENDERYA & AKBULUT, 2004).

Segundo Donkor et al (2006), embora a inulina não enriqueça a viabilidade de organismos probióticos durante a estocagem, observou-se um efeito significativo no desempenho do crescimento inicial de probióticos e uma melhor retenção da viabilidade, independentemente de sua concentração, durante o período de estocagem. Similarmente, houve uma melhora substancial no crescimento das culturas do iogurte (*S. thermophilus* e *L. bulgaricus*) na presença de inulina.

Neste trabalho a adição de inulina na formulação inicial destinada a elaboração dos iogurtes funcionais, provavelmente contribuíram para a viabilidade dos probióticos durante o período de estocagem. Além disso, a redução no número de células viáveis de *L. bulgaricus* favoreceu a viabilidade das bactérias probióticas.

## **5.5 Análise sensorial dos iogurtes**

Na Figura 5.6 observam-se os valores médios de cor, aroma, sabor, acidez, viscosidade e aparência global dos iogurtes, atribuídos pelos julgadores.

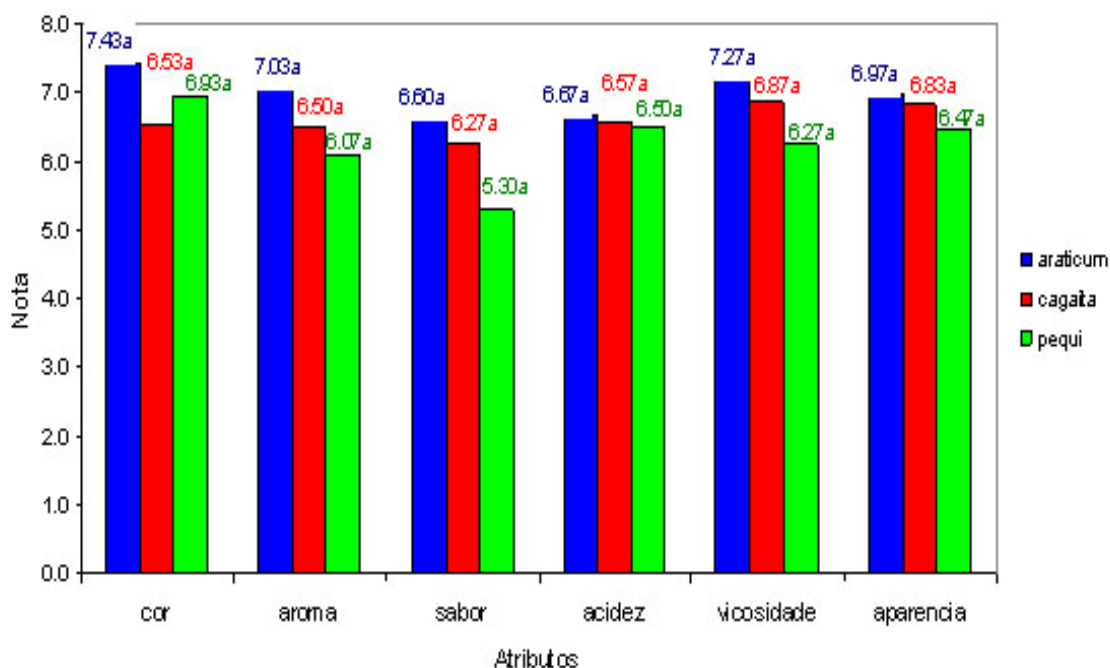


Figura 5.6 - Valores médios dos atributos cor, aroma, sabor, acidez, corpo e aparência global dos iogurtes funcionais saborizados com frutos do cerrado e suplementados com inulina pelo teste de Friedman<sup>2</sup>.

As amostras não apresentaram diferenças significativas em relação aos atributos avaliados. Observa-se valores próximos em todos os quesitos avaliados.

Os valores médios das notas apresentadas para os diferentes atributos avaliados, foram correspondentes a “gostei”.

A primeira impressão que se tem de um alimento é geralmente visual, sendo que a cor é um dos aspectos fundamentais na qualidade e aceitação do produto. A cor dos alimentos resulta da presença de compostos coloridos já existentes no produto natural (pigmentos naturais), ou da adição de corantes sintéticos (BOBBIO & BOBBIO, 1995). Foi observado que os produtos apresentaram cor característica, sem grumos e com aspecto homogêneo, além de um suave sabor ácido.

<sup>2</sup> Teste de Friedman ao nível de 5% de significância

O sabor e aroma do iogurte dependem inteiramente da cultura e de seu metabolismo durante a fermentação. Sabores e odores estranhos são geralmente causados por subprodutos da fermentação inadequada. Tais atributos devem-se ao ácido láctico e em quantidades muito pequenas de acetaldeído, diacetil e ácido acético e dependem também do tipo e da qualidade dos ingredientes utilizados na mistura do iogurte, do tempo e da temperatura de fermentação (VEDAMUTHU, 1991b).

Segundo Man & Jones (1996), o aumento da acidez pode alterar o perfil de sabor dos iogurtes, diminuindo a preferência do produto.

O corpo do iogurte é devido, principalmente aos ingredientes acrescentados durante o processo de fabricação. Deve possuir suficiente viscosidade para resistir ao manuseio normal durante todo o processo e armazenamento. A contração do coágulo e a separação do soro durante o envase são considerados defeitos do corpo. A separação do soro não é apenas prejuízo na aparência visual, mas também revela problemas de corpo e textura do produto (PINHEIRO, 2003).

A aparência global é traduzida pelo “conjunto”, relativa à primeira impressão causada pelo produto como um todo, sem representar a média das notas das outras características avaliadas.

### 5.5.1 Teste de Preferência

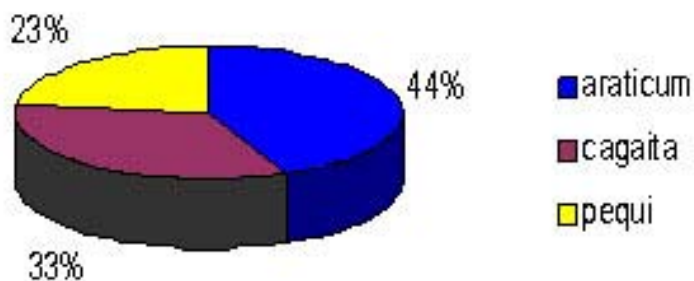


Figura 5.7 - Respostas dos provedores em relação ao Teste de Ordenação de preferência dos iogurtes funcionais elaborados com leite de cabra, saborizados com frutos do cerrado e suplementados com inulina

### 5.5.2 Avaliação do consumo de iogurtes e intenção de compra

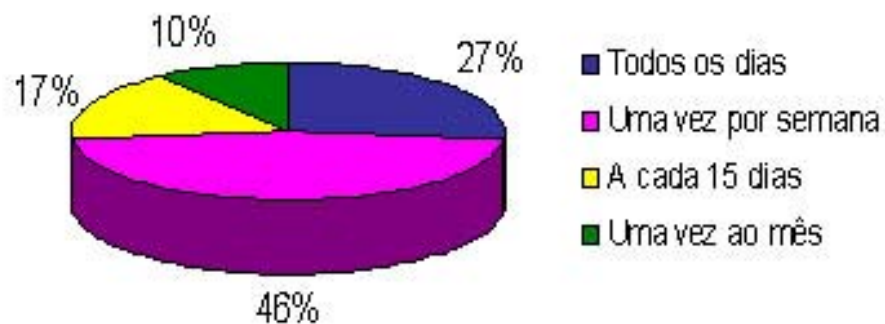


Figura 5.8 - Respostas dos provedores em relação a frequência do consumo de iogurtes dos iogurtes funcionais elaborados com leite de cabra, saborizados com frutos do cerrado e suplementados com inulina.

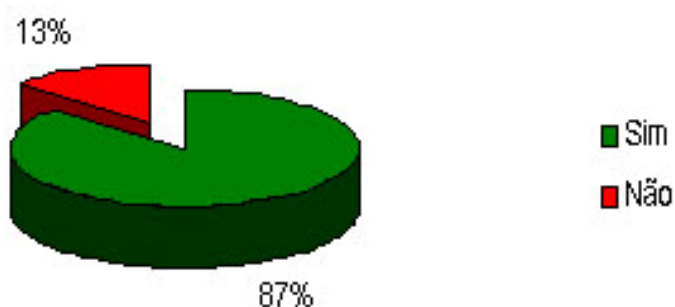


Figura 5.9 - Respostas dos produtores em relação à intenção de compra dos iogurtes funcionais elaborados com leite de cabra, saborizado com frutos do cerrado e suplementado com inulina.

### 5.5.3 Teste de aceitação – Crianças

De acordo com o Teste de Preferência realizado pelos adultos, as três amostras foram selecionadas para serem testadas com 40 crianças da Escola Municipal Sobradinho da Prefeitura Municipal de Uberlândia - MG.

As amostras avaliadas obtiveram índice de 100%, ou seja, todas as crianças aprovaram os produtos testados.

# CAPÍTULO 6

## 6 CONCLUSÕES

Através desta pesquisa foi possível concluir que:

- As polpas de araticum, pequi e cagaita são boas opções para saborização de iogurtes, e que influenciam o tempo de fermentação dos mesmos.
- Os iogurtes saborizados com pequi, cagaita e araticum não apresentaram diferenças significativas em relação as características físico-químicas.
- Os valores de pH decresceram levemente em função da produção de ácido láctico durante o período de estocagem refrigerada para todos os produtos obtidos caracterizando a pós-acidificação. Os valores de acidez estão de acordo com o proposto pela legislação brasileira.
- O teor de lactose apresentou redução conforme aumentava o teor de ácido láctico.
- Durante o tempo de estocagem, o número de células viáveis de *S. thermophilus* atende aos valores estabelecidos pela legislação brasileira em vigor, no entanto, *L. bulgaricus* apresentou valores inferiores ao esperado, no entanto, a legislação não prevê a enumeração dos microrganismos separadamente.
- O número de bactérias viáveis das culturas lácticas probióticas (*L. acidophilus* e *Bifidobacterium* sp.) estão de acordo com o padrão estabelecido pela legislação brasileira. O produto apresentou contagem suficiente para promover efeitos terapêuticos à saúde do consumidor.
- O produto é economicamente competitivo no mercado, e apresenta características sensoriais de muito boa aceitação.

# *CAPÍTULO 7*

## **7. REFERÊNCIAS**

ABNT. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 12806**: análise sensorial dos alimentos e bebidas - terminologia. Rio de Janeiro, 1993a.

ABNT. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 12994**: análise sensorial dos alimentos e bebidas. Rio de Janeiro, 1993b.

ABNT. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 13170**: teste de ordenação em análise sensorial. Rio de Janeiro, 1994.

ABNT. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 14141**: escalas utilizadas em análise sensorial de alimentos e bebidas. Rio de Janeiro, 1998.

ACTIVE Food Scientific Monitor. **An Orafti Newsletter**, n.2, p. 1-9, 2000.

\_\_\_\_\_. \_\_\_\_\_, n.4, p. 1-12, 2001.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, Regulamento Técnico de Substâncias Bioativas e Probióticos Isolados com Alegação de Propriedades Funcional ou de Saúde, Resolução RDC nº 2, 7 de janeiro de 2002.

AGOSTINI, T. S.; CECCHI, H. M.; BARRERA-ARELLANO, D. Caracterização química da polpa e do óleo de marolo. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, Caracas, v. 45, n. 3, p. 237-241, 1995.



AKALIN, A. S.; FENDERYA, S.; AKBULUT, N. Viability and activity of bifidobacteria in yoghurt containing fructooligosaccharide during refrigerated storage. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 39, p. 613-621, 2004.

ANZALDÚA-MORALES, A. **La evaluación sensorial de los alimentos en la teoría y la práctica**. Zaragoza: Acribia, 1994. 198p.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of Analysis of AOAC International**. 16. ed. Washington, 1995. v.1-2.

ALMEIDA, S. P. de et al. **Cerrado: aproveitamento alimentar**. Planaltina: EMBRAPA-CPAC, 1998. 188 p.

\_\_\_\_\_. **Cerrado: espécies vegetais úteis**. Brasília: EMBRAPA, 1994. p. 48-335.

\_\_\_\_\_. **Cerrado: espécies vegetais úteis**. Planaltina: EMBRAPA-CPAC, 1998. 464 p.

ALMEIDA, S. P. Frutas nativas do cerrado: caracterização físico-química e fonte potencial de nutrientes. In: SANO, S. M.; ALMEIDA, S. P. (Ed.). **Cerrado: ambiente e flora**. Planaltina: EMBRAPA-CPAC, 1998. p. 247-285.

\_\_\_\_\_; SILVA, J. A. da; RIBEIRO, J. F. **Aproveitamento alimentar de espécies nativas dos cerrados: araticum, baru, cagaita e jatobá**. Planaltina: EMBRAPA-CPAC, 1987. 83 p. (EMBRAPA-CPAC. Documentos, 26).

ANTUNES, L. A. F. Microrganismos probióticos e alimentos funcionais. **Indústria de laticínios**, v. 6, n. 34, p. 30-34, 2001.

ARUNACHALAM, K. D. Role of bifidobacteria im nutrition, medicine and tecnology. **Nutrition Research**, v. 19, n. 10, p. 1559-1597, 1999.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. Disponível em: <http://www.abnt.org.br>. Acesso em: 18 jul. 2007.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of A.O.A.C. international**. 16. ed. Arlington: Virgínia, 1998.

ATHAYDE, A. Indústrias agregam conveniências aos novos produtos. **Engenharia de Alimentos**, São Paulo, n. 24, p. 39-41, 1999.

AUDISIO, M.C.; OLIVER, G.; APELLA, M.C. Protective effect of *Enterococcus faecium* J96, a potential probiotic strain, on chicks infected with *Salmonella pullorum*. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 63, n.10, p. 1333- 1337, 2000.

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

BARROS, G. C.; LEITAO, C. H. S. Influência da mastite sobre as características físico-químicas de leite de cabra. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 12, n. 3/4, p. 45-48, 1992.

BEAL, C. et al. 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.

BERNARDI, Luiz Antonio. **Política e formação de preços**: uma abordagem competitiva sistêmica e integrada. 2. ed. São Paulo: Atlas, 1998. 250 p.

BIELECKA, M. et al. Effect of non-digestible oligosaccharides on gut microecosystem in rats. **Food Research International**, v. 35, p. 139-144, 2002.

BOBBIO, F. O.; BOBBIO, P. A. **Manual de laboratório de química dos alimentos**. São Paulo: Livraria Varela, 1995, 129 p.

BOLETIM DA SOCIEDADE PORTUGUESA DE BIOTECNOLOGIA. Lisboa, n. 64, 1999.

BRANDÃO, S. C. C. Novas gerações de produtos lácteos funcionais. **Indústria de Laticínios**, São Paulo, v. 6, n. 37, p. 64-66, 2002.

BRANDÃO, S. C. C. Tecnologia da fabricação de iogurte. **Revista do Instituto de Laticínios Candido Tostes**, Juiz de Fora, v. 42, n. 250, p. 3-8, 1987.

BRASIL. **Padrões de Identidade e Qualidade (PIQ) de Leites Fermentados**, Resolução nº 5, 13 de novembro de 2000. Disponível em: [www.agricultura.gov.br/sislegis](http://www.agricultura.gov.br/sislegis). Acesso em 3 mar. 2008.

\_\_\_\_\_. Resolução nº 16, de 30 de abril de 1999. Aprova o Regulamento Técnico de Procedimentos para Registro de Alimentos e ou Novos Ingredientes. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 3 dez. 1999.

\_\_\_\_\_. Resolução nº 17, de 30 de abril de 1999. Aprova o Regulamento Técnico que estabelece as Diretrizes Básicas para a Avaliação de Risco e Segurança dos Alimentos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 3 maio. 1999.

\_\_\_\_\_. Resolução nº 18, de 30 de abril de 1999. Aprova o Regulamento Técnico que Estabelece as Diretrizes Básicas para Análise e Comprovação de Propriedades Funcionais e ou de Saúde Alegadas em Rotulagem de Alimentos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 3 maio. 1999.

\_\_\_\_\_. Resolução nº 19, de 30 de abril de 1999. Aprova o Regulamento Técnico de Procedimentos para Registro de Alimento com Alegação de Propriedades Funcionais e ou de Saúde em sua Rotulagem. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 3 maio. 1999.

\_\_\_\_\_. Resolução nº 2, de 7 de janeiro de 2002. Aprova o Regulamento Técnico de Substâncias Bioativas e Probióticos Isolados com Alegação de Propriedades Funcional ou de Saúde. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 9 jan. 2002.

BRITO, M. A. et al. **Cagaita, Biologia e manejo**. Planaltina: EMBRAPA-CERRADOS, 2003. 80 p.

BRUNI, Adriano Leal; FAMÁ, Rubens. **Gestão de custos e formação de preços: com aplicações na calculadora HP 12C e Excel**. 2. ed. São Paulo: Atlas, 2003.

CÂNDIDO, L. M. B.; CAMPOS, A. M. **Alimentos para fins especiais: dietéticos**. São Paulo: Varela, 1995. 423 p.

CHARTERIS, W. P.; KELLY, P. M.; MORELLI, L.; COLLINS, J. K. Selective detection, enumeration, and identification of potentially probiotic *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* species in mixed bacterial populations. **International Journal of Food Microbiology**, v. 35, n. 1, p. 1-27, 1997.

CHERMESH, I.; ELIAKIM, R. Probiotics and the gastrointestinal tract: where are we in 2005? **World Journal of Gastroenterology**, v. 12, n. 6, p. 853-857, 2006.

CLARK, S.; SHERBON, J.W. Alphas1-casein, milk composition and coagulation properties of goat milk. **Small Ruminant Research**, v.38, p.123-134, 2000.

CONWAY, P. Prebiotics and human health: the state –of-the-art and future perspectives. **Scandinavian Journal of Clinical Nutrition**, v. 45, p. 13-21, 2001.

CORRÊA, M. P. **Dicionário das plantas úteis do Brasil**. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional, 1984. p. 1926-1978.

COUSSEMET, P.; FRANCK, A. New food applications for inulin. **Agro Food Industry Hi-Tech**, Milano, v. 9, n. 3, p. 26-28, 1998.

CROSS, M.L. Microbes versus microbes: immune signals generated by probiotic lactobacilli and their role in protection against microbial pathogens. **FEMS Immunology and Medical Microbiology**, Amsterdam, v. 34, n. 4, p. 245-253, 2002.

DAVE, R. I.; SHAH, N. P. Viability of yogurt and probiotic, in yogurt made from commercial starter cultures. **International Dairy Journal**, v. 7, n. 1, p. 31-41, 1997.

DE BRUYN, A. et al. Isolation and identification of b-D fructofuranosyl – (2 →1) - β-D frustofuranosyl - (2 →1) – D-fructose, a product of the enzymic hidrolisis of the inulin from Chicorium intyhis. **Carbohydrate Res.**, 1992.

DE LEENHEER, L.; HOEBREGS, H. Progress in the elucidation of the composition of chicory inulin. **Starch**, v. 46, p.193, 1994.

DE VRESE, M. et al. Probiotics-compensation for lactase insufficiency. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 73, n. 2, p. 421S-429S, 2001.

DEETH, C. L. I. F.; TAMIME, A. Y. Yogurt: Nutritive and therapeutic aspect. **Journal of Food Protection**, v. 44, n. 1, p. 78, 1981.

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

DURIGAN, G. et al. Inventário florístico na Estação Ecológica de Assis, SP. **Hoehnea**, São Paulo, v. 26, n. 2, p. 149-172, 1999.

FERREIRA, C. L. L. F. et al. Verificação da qualidade físico-química e microbiológica de alguns iogurtes vendidos na região de Viçosa. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 56, n. 321, p. 152- 158, 2001.

\_\_\_\_\_. Tecnologia para produtos lácteos funcionais: probióticos. In: PORTUGAL, J.A.B.; CASTRO, M. C. D.; SILVA, P. H. F. **O Agronegócio e os alimentos funcionais**. Juiz de Fora: EPAMIG, Centro Tecnológico, 2001. p. 183-203.

FERREIRA, F. R. et al. **Caracterização física e química de frutos de piqui**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 9., 1987, Campinas. **Anais...** Campinas: Sociedade Brasileira de Fruticultura, 1988. p. 643-646.

FERREIRA, M. B. Frutos comestíveis do Distrito Federal – III: piqui, mangaba, marolo e mamãozinho. **Cerrado**, Brasília, DF, v. 5, n. 20, p. 22-25, jun. 1973.

FERREIRA, Vera Lúcia et al. **Análise sensorial**: testes discriminativos e afetivos. Campinas: SBCTA, 2000. 127 p. (Manual. Série Qualidade).

FIGUEIREDO, E.A.P. Perspectivas da produção de caprinos nas próximas décadas na América Latina. In: CAPRINOCULTURA e Ovinocultura. Piracicaba: FEALQ/ SBZ, 1990. p. 69-83.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS - FAO. **Tecnología de la producción caprina**. Santiago: FAO, 1987. 242 p.

FOOKS, L.; FULLER, R.; GIBSON, G. R. Prebiotics, probiotics and human gut microbiology. **International Dairy Journal**, v. 9, n. 1, p. 53-61, 1999.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF M.; DESTRO, M. T. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 1996. 182 p.

FRANCO, G. Composição química dos alimentos e valor energético. In: **Nutrição: texto básico e tabela de composição química de alimentos**. 6. ed. Rio de Janeiro: ATHENEU, 1982. p. 180-193.

FURTADO, M. M. Leite de cabra: características especiais. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 36, n. 214, p. 31-37, 1981.

GEISE, J. Developments in beverage additives. **Food Technology**, Chicago, v. 49, n.9, p. 64-72, set. 1995.

GIBSON, G. R.; ROBERFROID, M. B. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. **Journal of Nutrition**, v. 125, p. 1401-1412, 1995.

GILLILAND, S. E. et al. Viability during storage of selected probiotic lactobacilli and bifidobacterias in a yogurt-like product. **Food Microbiology and Safety**, v. 67, n. 8, p. 3091-3095, 2002.

GUYOT, A. Les yoghourts. **Le Lait et Nous**, n. 2, p. 6-12, 1992.

GUEIMONDE M. et al. Viability and diversity of probiotic Lactobacillus and Bifidobacterium populations included in commercial fermented milks. **Food Research International**, v. 37, p. 839-850, 2004.

HADJIPANAYIOTOU, M. Composition of ewe, goat and cow milk and of colostrum of ewe and goats. **Small Ruminant Research**, v. 18, p. 255-262, 1995.

HASLER, C. M. Functional foods: their role in disease in: developing new food products for a changing prevention and health promotion. **Food Technology**. v. 52, n. 2. p. 57-62, 1998.

HAVENAAR, R.; BRINK, B.T.; HUIS INT'VELD, J.H.J. Selection of strains for probiotic use. In: FULLER, R. **Probiotics: the scientific basis**. London : Chapman e Hall, 1992. p. 209-224.

HELLER, K. J. Probiotic bacteria in fermented foods: product characteristics and starter organisms. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 73, n. 2, p. 374s-379s, feb., 2001.

HERINGER , E. P.; FERREIRA, M. B. Informações preliminares acerca da floração precoce de vinte espécies arbóreas do cerrado do Planalto Central. In: CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA, 25., 1974, Mossoró. **Anais...** Recife: Sociedade Botânica do Brasil, 1976. p. 213-224.

HEWITT, L. Fight the good fat. **Food Manufacture**, London, v. 69, n. 10, p. 20, 1994.

HORNGREN, Charles T. **Introdução a contabilidade gerencial**. Rio de Janeiro: Prentice Hall do Brasil, 1995.

HUGHES, D. B.; HOOVER, D. G. Bifidobacteria: their potential for use in American dairy products. **Food Technology**, v.45, n. 4, p. 75-83, 1991.

IBRAHIM, S. A.; BEZKOROVAINY, A. Growth-promoting factors for *Bifidobacterium longum*. **Journal of Food Science**, v. 59, n. 1, p. 189-191, 1994.

IFT. INSTITUTE OF FOOD TECHNOLOGISTS. Sensory evaluation guide for testing food and beverage products. **Food Technology**, Chicago, v. 35, n. 11, p. 50-57, nov. 1981.

JARDIM, W. R. **Criação de caprinos**. São Paulo: Nobel, 1984. 239 p.

JAYAPRAKASHA, F. K.; JAGANMOHAN RAO, L. Phenolic constituents from lichen *Parmotrema stuppeum* (Nyl.) Hale and their antioxidant activity. *Z . Naturforsch*, v. 55C, p. 1018-1022, 2000.

JIN, L. Z.; MARQUARDT, R. R.; BAIDOO, S. K. Inhibition of enterotoxigenic *Escherichia coli* K88, K99 and 987P by the *Lactobacillus* isolates from porcine intestine. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Sussex, v. 80, n. 5, p. 619-624, 2000.

KAILASAPATHY, K.; RYBKA, S. *L. acidophilus* and *Bifidobacterium* ssp.: their therapeutic potencial and survival in yogurt. **The Australian Journal of Dairy Tecnology**, v. 52, n. 1, p. 28-35, 1997.

KATO, I.; ENDO, K.; YOKOKURA, T. Effects of oral administration of *Lactobacillus casei* on antitumor responses induced by tumor resection in mice. **International Journal of Immunopharmacology**, Oxford, v. 16, n. 1, p. 29-36, 1994.

\_\_\_\_\_ ; YOKOKURA, T.; MUTAI, M. Correlation between increase in Ia-bearing macrophages and induction of T cell dependent antitumor activity by *Lactobacillus casei* in mice. **Cancer Immunology Immunotherapy**, New York, v. 26, n. 3, p. 215-221, 1988.

KNIGHTS, M.; GARCIA, G. W. The status and characteristics of the goat (*Capra hircus*) and its potential role as a significant milk producer in the tropics: A review. **Small Ruminant Research**, v. 26, p. 203-215, 1997.

KOZASA, M. Toyocerin (*Bacillus toyoi*) as growth promotor for animal feeding. **Microbiology Aliments Nutrition**, n. 4, p. 121-135, 1986.

KLEINMAM, R. E. Pratical significance of lactose intolerance in children: supplement. **Pediatric**, v. 86, n. 4, p. 643-644, 1990.

LAND, D. G.; SHEPHERD, R. Scaling and ranking methods. In: PIGGOTT, J. R. **Sensory analysis of foods**. New York: Elsevier Applied Science, 1988. p. 155-170. v

LEE, S. C.; PROSKY, L. Perspectives on new dietary fiber definition. **Cereal Food World**, St. Paul, v. 39, n. 10, p. 767-768, 1994.



LE JAOUEN, J. C. Milking and the technology of milk and milk products. In: GALL, C. (Ed.). **Goat production**. London: Academic Press, 1981. p. 345-377.

LILLY, D. M.; STILLWEL, R. H. Probiotics. Growth promoting factors produced by micro-organisms. **Science**, Washington, v. 147, n. 3659, p. 747-748, 1965.

LOBATO, Arcenio Amorim. **A geração de patentes na Universidade Federal de Minas Gerais: seu contexto e perspectivas**. 2000. Dissertação (Mestrado em Ciência da Informação)-Escola de Ciência de Informação da UFMG, Belo Horizonte, 2000.

LOBATO, V. **Tecnologia de fabricação de derivados do leite na propriedade rural**. Lavras: UFPA, 2000.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil**. 2. ed. Nova Odessa: Plantarum, 1998. 2 v.

LOURENS-HATTINGH, A.; VILJOEN, B. Yogurt as probiotic carrier food. **International Dairy Journal**, v. 11, n. 1/2, p. 1-17, 2001.

LUCEY, J. A.; SINGH, H. Formation and physical properties of acid milk gels: a review. **Food Research International**, v. 30, n. 7, p. 529-539, 1998.

MAN, C.M.D., JONES, A.A. **Shelf life evaluation of foods**. New York: Blackie Academic & Professional, 1996. 321p.

MARTEAU, P. R. et al. Protection from gastrointestinal diseases with the use of probiotics. **American Journal Clinical Nutrition**, v. 73, n. 2, p. 430s-436s, Suppl. S., 2001.

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.

MATSUZAKI, T.; SHIMIZU, Y.; YOKOKURA, T. Augmentation of antimetastatic effect on Lewis lung carcinoma (3LL) in C57BL/6 mice by priming with Lactobacillus casei. **Medical Microbiology and Immunology**, New York, v. 179, n. 3, p. 161-168, 1990.

\_\_\_\_\_ ; YOKOKURA, T. Inhibition of tumor metastasis of Lewis lung carcinoma in C57BL/6 mice by intrapleural administration of *Lactobacillus casei*. **Cancer Immunology Immunotherapy**, New York, v. 25, n. 2, p. 100-104, 1987.

MEDEIROS, L. P. et al. **Caprinos**: princípios básicos para sua exploração. Brasília: EMBRAPA-SPI, 1994. 177 p.

MENDONÇA, R. C. de. et al. Flora vascular do cerrado. In: SANO, S. M.; ALMEIDA, S. P. de (Ed.). **Cerrado**: ambiente e flora. Planaltina: EMBRAPA-CPAC, 1998. p. 289-556.

MORAES, F. Alimentos funcionais e nutracêuticos: definições, legislação e benefícios à saúde. **Revista Eletrônica de Farmácia**, Goiânia, v. 3, n. 2, p. 109-122, 2006.

MOREIRA, S. R. et al. Análise microbiológica e química de iogurtes comercializados em Lavras–MG. **Ciência Tecnologia de Alimentos**, v. 19, n. 1, p. 147-152, 1999.

MUNDIM, S.A.P., FREITAS, S.P., MUNDIM, N.C.O.M, 2007. Alimentos Funcionais. In: Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química, 20., 2007, Uberlândia, MG. **Anais...** Uberlândia: UFU, 2007. 1 CD-Rom.

NAIDU, A. S.; BIDLACK, W. R.; CLEMENS, R. A. Probiotic spectra of lactic acid bacteria (LAB). **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v. 38, n. 1, p. 13-126, 1999.

NINESS, K. R. Inulin and oligofuctose: what are they? **Journal of Nutrition**, v. 129, n. 7S, p. 1402s-1406s, 1999.

NITSCHKE, M.; UMBELINO, D.C. Frutoooligossacarídeos: novos alimentos funcionais. **Boletim SBCTA**, n. 36, v. 1, 2002.

NOONAN, W. P.; NOONAN, C. Legal requirements for “functional foods” claims. **Toxicology Letters**, v. 150, p. 19- 24, 2004.

NORMAS ANALÍTICAS DO INSTITUTO ADOLF LUTZ, **Métodos Químicos e Físicos para Análise de Alimentos**, 3 ed., São Paulo, 1985.

OGAWA, M. et al. Inhibition of in vitro growth of Shiga toxinproducing *Escherichia coli* O157:H7 by probiotic *Lactobacillus* strains due to production of lactic acid. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 68, n. 1-2, p. 135-140, 2001.

OLIVEIRA, M. N. S. et al. Estádio de maturação dos frutos e fatores relacionados aos aspectos nutritivos da polpa de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.). In: CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA, 55.; ENCONTRO REGIONAL DE BOTÂNICOS DE MG, BA e ES, 26., 2004, Viçosa, MG. **Anais...** Viçosa, MG: UFV, 2004. 1 CD-ROM.

OUWEHAND, A.C. et al. Probiotics: mechanisms and established effects. **International Dairy Journal**, Amsterdam, v. 9, n. 1, p. 43- 52, 1999.

PARK, Y. K.; KOO, M. H.; CARVALHO, P. O. Recentes progressos dos alimentos funcionais. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 5, n. 31, p. 200-206, 1997.

PARKER, R.B. Probiotics, the other half of the antibiotic story. **Animal Nutrition Health**, n. 29, p. 4-8, 1974.

PAULO, Edílson. Utilização de programas não-linear na formação de preço e mix de vendas para multiprodutos. In: ENCONTRO ANUAL DA ASSOCIAÇÃO NACIONAL DOS PROGRAMAS DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ADMINISTRAÇÃO, 25., 2001, Curitiba. [Trabalhos apresentados]. Curitiba: Associação Nacional dos Programas de Pós-Graduação em Administração, 2001.

PEIXOTO, A. R. **Plantas oleaginosas arbóreas**. São Paulo: Nobel, 1973. p. 195- 226.

PELLERIN, P. Goat's milk in nutrition. *Annales Pharmaceutiques Francaises*, v. 59, n. 1, p. 51-62, 2001.

PENNA, E. W. Evaluación sensorial. - Una metodologia para tecnologia de alimentos. **Talleres Graficos USACH**. Chile, 60p, 1999.

PERDIGÓN, G.; HOLGADO, A.P.R. Mechanisms involved in the immunostimulation by lactic acid bacteria. In: FULLER, R.; PERDIGÓN, G. **Probiotics 3:**

**Immunodulation by the Gut Microflora and Probiotics.** Dordrecht : Kluwer Academic, 2000. p.213-233.

PEREZ JUNIOR, J. H. et al. **Gestão estratégica de custos.** 2. ed. São Paulo: Atlas, 2001.

PIERRE, A.; MICHEL, F.; ZAHOUTE, L. Composition of casein micelles in relation to size in goat milks with A and null  $\alpha$ - $\beta$ -casein variants. **International Dairy Journal**, v. 9, p. 179-182, 1999.

PIMENTEL, B. M. V.; FRANCKI, M.; GOLLÜCKE, B. P. **Alimentos funcionais:** introdução as principais substâncias bioativas em alimentos. São Paulo: Varela, 2005.

PINHEIRO, M. V. S. **Caracterização de iogurtes fabricados com edulcorantes, fermentados por culturas lácticas probióticas.** 2003. 196 p. Dissertação de Mestrado (Mestre em Engenharia e Ciência de Alimentos) - Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto, 2003.

PINHEIRO JÚNIOR, G. C. **Caprinos no Brasil.** Belo Horizonte: Itatiaia, 1985. 177 p.  
PROENÇA, C.; OLIVEIRA, R. S.; SILVA A. P. **Flores e frutos do cerrado.** Brasília: Ed. Universidade Brasília; São Paulo: Imprensa Oficial, 2000.

PUPIN, A. M. Probióticos, prebióticos e simbióticos: aplicações em alimentos funcionais. In: SEMINÁRIO NOVAS ALTERNATIVAS DE MERCADO, 1., 2002, Campinas. [Trabalhos apresentados]. Campinas: ITAL, 2002. p. 133-145.

PUUPPONEN-PIMIÄ, R. et al. Development of functional ingredients for gut health. **Trends in Food Science & Technology**, v. 13, n. 1, p. 3-11, 2002.

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

RANHOTRA, G. S.; GELROTH, J. A.; GLASER, B. K. Usable energy value of selected bulking agents. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 58, n. 5, p. 1176-1178, 1993.

RASIC, J. L.; KURMANN, J. A. **Yoghurt**: Scientific grounds technology, manufacture & preparation. Copenhagen: Technical Dairy Publishing House, 1978. 427 p.

RATTER, J. A. et al. Estudo preliminar da distribuição das espécies lenhosas da fitofisionomia Cerrado sentido restrito nos estados compreendidos pelo bioma Cerrado. **Boletim do Herbário Ezechias Paulo Heringer**, Brasília, DF, v. 5, p. 5-43, jul. 2000.

REZENDE, A. J.; GUERREIRO, R.; PEREIRA, C. A. Em busca do entendimento da formação dos hábitos e das rotinas da contabilidade gerencial: um estudo de caso. **RAM: Revista de Administração Mackenzie**, v. 7, p. 78-93, 2006.

RIBEIRO, J. F. et al. **Araticum** (*Annona crassiflora* Mart.). Jaboticabal: FUNEP, 2000. 52 p. (Série frutas nativas, 12).

RIBEIRO, S. D. A. **Caprinocultura**: criação racional de caprinos. São Paulo: Nobel, 1997. 318 p.

RIZZINI, C. T. A flora do cerrado: análise florística das savanas centrais. In: SIMPÓSIO SOBRE O CERRADO, 1., 1971, São Paulo. [**Anais...**]. São Paulo: Edgard Blucher: Edusp, 1971. p. 107-153.

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

ROBERFROID, M.; GIBSON, G.R.; DELZENNE, N. The biochemistry of oligofructose, a nondigestible fiber: an approach to calculate its caloric value. **Nutrition Reviews**, Lawrence, v. 51, n. 5, p. 137-146, 1993.

RODRIGUES, L. J. et al. Caracterização físico-química da amêndoa e polpa do pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) produzidas nas regiões Norte e Sul de Minas Gerais. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 18., 2004, Florianópolis. **Anais...** Florianópolis: SBF, 2004. 1 CD-ROM.

RODRIGUEZ, J.M. Antimicrobial spectrum, structure, properties and mode of action of nisin, a bacteriocin produced by *Lactococcus lactis*. **Food Science and Technology International**, New York, v. 2, n. 2, p. 61-68, 1996.

RYBKA, S.; KAILASAPATHY, K. The survival of culture bacteria in fresh and freeze-dried AB cultures. **The Australian Journal of Dairy Technology**, v. 50, n. 1, p. 51-57, 1995.

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

SABOYA, L. V.; OETTERER, M.; OLIVEIRA, A. J. Propriedades profiláticas e terapêuticas de leites fermentados: uma revisão. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 31, n. 2, p. 176-185, 1997.

SALADO, G. A.; ANDRADE, M. O. Processamento e qualidade nutricional do iogurte. **Boletim Cultura**, v. 7, p. 1-35, 1989.

SALLES, A. H.; REIS, G. M. C. L.; ZURLO, M. A. **Horto medicinal do cerrado**. 2. ed. rev. ampl. Brasília: Jardim Botânico de Brasília, 1997. 33 p.

SAMONA, A.; ROBINSON, R. K. Effect of yogurt cultures on the survival of bifidobacteria in fermented milks. **Journal of Society of Dairy Technology**, v. 47, n. 2, p. 58-60, 1994.

SANO, S. M.; ALMEIDA, S. P. de. **Cerrado: ambiente e flora**. Planaltina: EMBRAPA-CPAC, 1998. 368 p.

SANTOS, A. S. et al. Volatile constituents of fruits of *Annona glabra* L. from Brazil. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 13, p. 148-150, 1998.

SANTOS, J. A. Iogurte: um bom negócio se feito com profissionalismo. **Indústria de Laticínios**, n. 18, p. 20-27, 1998.

SANTOS, Joel José dos. **Formação de preços e do lucro**. 3. ed. São Paulo: Atlas, 1991.

SANTOS, Neri dos. **Apostila gestão do conhecimento**. Florianópolis: PPGE/UFSC, 2000.

SANTOS, Roberto Vatan dos. **Modelos de decisão para gestão de preço de venda**. 1995. Dissertação (Mestrado)-Faculdade de Economia e Administração, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1995.

SALJI, J. P.; ISMAIL, A. A. Effect of initial acidity of plain yogurt on acidity changes during refrigerated storage. **Journal Food Science**, v. 48, n.1, p. 249-258, 1983.

SARDINHA, José Carlos. **Formação de preços: a arte do negócio**. São Paulo: Makron Books, 1995.

SAÚDE. Leite de cabra, campeão entre a criançada. *Saúde*, n.209, p.12, 2001.

SCHREZENMEIR, J.; VRESE, M. Probiotics, prebiotics and synbiotics – approaching a definition. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 73, p. 361s-364s, 2001.

SGARBIERI, V. C. **Proteínas em alimentos protéicos**. São Paulo: Varela, 1996. 570 p.

\_\_\_\_\_; PACHECO, M. T. B. Revisão: alimentos funcionais fisiológicos. **Brazilian Journal of Technology**, n. 2, p. 7-19, 1999.

SHAH, N. P. et al. Survival of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* in commercial yoghurt during refrigerated storage. **International Dairy Journal**, v. 5, n. 5, p. 515-521, 1995.

SHAH, N. P. Probiotic bacteria: enumeration and survival in dairy foods. **Journal of Dairy Science**, v. 83, p. 894-907, 2000.

\_\_\_\_\_; RAVULA, R. R. Influence of water activity on fermentation, organic acids production and viability of yogurt and probiotic bacteria. **The Australian Journal of Dairy Technology**, v. 55, n. 3, p. 127-131, 2000.

SHAHIDI, F. Natural Antioxidants: an Overview. In: **Natural Antioxidants Chemistry, Health Effects, and Applications**. AOCS Press: Champaign, 1996. p. 1-11.

SILVA, J. A. da et al. **Frutas nativas dos cerrados**. Brasília: EMBRAPA, 1994. 166 p.

SILVA, L. L.; STAMFORD, T. L. M. Alimentos probióticos: uma revisão. **Higiene Alimentar**, v. 14, n. 68-69, p. 41-50, 2000.

SILVA, R. S. M. **Caracterização de subpopulações de cagaita (“Eugenia dysenterica” DC.) da região Sudeste do Estado de Goiás, Brasil**. 1999. 112 f. Dissertação (Mestrado)-Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 1999.

SILVA, S.; TASSARA, H. **Frutas no Brasil**. São Paulo: Nobel, 2001, 209 p.

SOUZA, P. H. M.; SOUZA NETO, M. H.; MAIA, G. A. Componentes funcionais nos alimentos. **Boletim da SBCTA**. v. 37, n. 2, p. 127-135, 2003.

SWAISGOOD, H.E. Characteristics of milk. In: FENNEMA, O. R. (Ed.). **Food chemistry**. New York: Marcel Dekker, 1996. p. 841-878.

SUSKOVIC, J.; KOS, B.; GORETA, J.; MATOSIC, S. Role of lactic acid bacteria and bifidobacteria in symbiotic effect. **Food Technology and Biotechnology**, v. 39, n. 3, p. 227-235, 2001.

TADINI, C. C. **Utilização de caseinato de cálcio na produção de queijo tipo minas frescal**. 1994. 241 p. Tese de Doutorado (Doutora em Engenharia Química) – Escola Politécnica da Universidade de São Paulo. 1994.

TADINI, C. C.; TAQUEDA, M. E.; GRANDI, J. G. Use de caseinato de calcio en la producción de queso Minas Frescal. **Tecnología Láctea Latinoamericana**, n. 3, p. 22-33, 1996.

TAMIME, A. Y.; DEETH, H. C. Yogurt: technology and biochemistry. **Journal of Food Protection**, v. 43, n. 12, p. 939-977, 1980.

TAMIME, A. Y.; ROBINSON, R. K. **Yogurt: ciencia y tecnologia**. Zaragoza: Acribia, 1991. 368 p.



TEIXEIRA, E.; MEINERT, E. M.; BARBETTA, P. A. Análise sensorial de alimentos. Florianópolis: Ed. da UFSC, 1987. 180 p.

THOMOPOULOS, C.; TZIA, C.; MILKAS, D. Influence of processing of solids-fortified milk on coagulation time and quality properties of yogurt. **Milchwissenschaft**, v. 48, n.8, p.426-430, 1993.

**THE JOURNAL OF NUTRITION**, v.129, n.7, p. 1395-1495, 1999.

VAN HAASTRECHT, J. Promising performers: oligosaccharides present new product development opportunities for wide range of processed foods. **Int. Food Ingredients**, n. 1, p. 23-27, 1995.

VAN LOO, J. et al. Inulin and oligofructose in the western diet. (in press). **Crit. Rev. Food Sci. Nutri.**, v. 35, n. 6, p. 525-552, 1995.

VARNAM, A. H.; SUTHERLAND, J. P. Leche y productos lácteos. **Tecnología, Química y Microbiología**, Zaragoza, p. 1-34, 365-401, 1994.

VIEIRA, Roberto Fontes (Ed.) et al. Frutas nativas da região Centro-Oeste. Brasília: EMBRAPA Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2006. 324 p. No prelo.

VEDAMUTHU, E. R. The yogurts story – past, present and future. Part V. **Dairy, Food Environmental Sanitarians**, v. 11, n. 8, p. 444-446, 1991b.

\_\_\_\_\_. The yogurts story – past, present and future. Part VI. **Dairy, Food Environmental Sanitarians**, v. 11, n. 9, p. 513-514, 1991c.

VILELA, G. F. **Variações naturais de *Caryocar brasiliense* Camb. (Caryocaraceae): fenológicas, genéticas e de valores nutricionais de frutos**. 1998. 88 f. Dissertação (Mestrado)–Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1998.

VILLANI, F. et al. Antilisterial activity of thermophilin 347, a bacteriocin produced by *Streptococcus thermophilus*. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.25, n.2, p.179-190, 1995.

VINDEROLA, C. G.; BAILO, N.; REINHEIMER, J. A. Survival of probiotic in Argentina yogurts during refrigerate storage. **Food Research Internacional**, v. 33, p. 97-102, 2000.

WALKER, V. Uso terapêutico do leite de cabra na medicina moderna. **Agropecuária Alternativa**, v. 5, n. 25, p. 10-11, 1991.

WALSTRA, P. et al. **Dairy technology**: principles of milk properties and processes. New York: [s.n.], 1999.

XING, Y.; WHITE, P. J. Antioxidants from Cereals and Legumes in Natural Antioxidants Chemistry, Health Effects, and Applications. In: SHAHIDI, F. **AOCS Press**: Champaign, 1996. p. 25-55.

# *ANEXOS*

## **Estimativa preliminar de Custos**

Para produção de um litro de iogurte probiótico em sistema de agricultura Familiar artesanal, foram utilizadas as seguintes matérias primas:

- Um litro Leite de cabra UHT integral enriquecido com ácido fólico – Caprilat®;
- 60 gramas de açúcar refinado especial; União®
- 5 gramas inulina (Raftiline, da empresa Orafti – Bélgica);
- 100 gramas de polpa natural de fruta – Frutos do cerrado®;
- 100 gramas de Cultura láctica.
- Para embalar e identificar o produto foram utilizadas frascos de polietileno de 200 ml com rótulo adesivo.
- O processo de fabricação artesanal ocupa uma cozinha de 20 metros quadrados equipada com:
  - Um pasteurizador;
  - Um refrigerador;
  - Uma iogurteira.

Em ensaio elaborado para identificar os custos de produção e a receita média de 2.000 litros/mês de iogurte produzidos de forma artesanal foi elaborada tabela que considera os custos fixos, variáveis, custo de oportunidade e depreciação. A tabela 5.6 apresenta de forma simplificada os custos de produção do produto.

**Custo de produção para 2.000 litros de iogurte no período de 30 dias.**

<b>Materiais diretos</b>	<b>R\$</b>
Leite de cabra	1.600,00
Açúcar	80,00
Cultura láctea	2.000,00
Polpa de fruta	2.400,00
Inulina	300,00
Embalagem	200,00
Rótulo	60,00
Médico Veterinário	1.500,00
Manipulador	700,00
Aluguel, água e energia	340,00
Manutenção e depreciação dos Equipamentos e Custo de Oportunidade	100,00/mês
<b>TOTAL</b>	<b>9.280,00</b>
	<b>9.280,00/2000 = R\$ 4,64</b>
	<b><u>Custo Total por litro: R\$4,64</u></b>

O custo apurado para produção de um litro de iogurte é de R\$ 4,64 , sendo o produto comercializado em embalagens de 200 ml, cada unidade do produto tem o custo total unitário de: **R\$0,93**, mas que certamente serão menores se produzidos em larga escala.

Se compararmos as características sensoriais e os custos, dos produtos comercializados no mercado atualmente, o que mais se aproxima das características do iogurte objeto da pesquisa é o iogurte Activia® que tem o preço de venda em torno de R\$ 0,99, já que não dispomos no mercado da cidade de Uberlândia-MG, de iogurte com leite de cabra para comparar.

Considerando os valores nutricionais do iogurte, probiótico prebiótico elaborado com leite de cabra, saborizado com frutos do cerrado, e seus benefícios para saúde, pode-se afirmar que é um produto diferenciado e com valor compatível com o valor aceito pelo mercado, pois de acordo com Perez Junior et al (2001), o preço obtido

a partir do custo é uma referencia valiosa para se comparar com o preço de mercado e se determinar a conveniência ou inconveniência de se vender o produto pelo valor que o mercado esteja disposto a pagar.