



Universidade Norte do Paraná

UNOPAR

CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
MESTRADO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO LEITE

PRISCILA COSTA RIBEIRO

**UTILIZAÇÃO DO LEITELHO PARA PRODUÇÃO DE BEBIDA
LÁCTEA PROBIÓTICA**

Londrina
2012

PRISCILA COSTA RIBEIRO

**UTILIZAÇÃO DO LEITELHO PARA A PRODUÇÃO DE
BEBIDA LÁCTEA PROBIÓTICA**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia do Leite.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Lina Casale Aragon Alegro
Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Marcela de Rezende Costa

Londrina
2012

AUTORIZO A REPRODUÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Dados Internacionais de catalogação-na-publicação
Universidade Norte do Paraná
Biblioteca Central
Setor de Tratamento da Informação

R371u Ribeiro, Priscila Costa.
Utilização do leite para produção de bebida láctea probiótica. Londrina: [s.n], 2012
ix; 42p.

Dissertação (Mestrado). Ciência e Tecnologia do Leite. Universidade Norte do Paraná.
Orientadora: Prof^a Dr^a. Lina Casale Aragon Alegro

1- Tecnologia do leite- dissertação de mestrado – UNOPAR
2- Bifidobacterium 3- Lactobacillus 4- Fermentação 5- Ingredientes lácteos 6- Leite I-
Alegro, Lina Casale Aragon, orient.
II- Universidade Norte do Paraná.

CDU 637.1

PRISCILA COSTA RIBEIRO

UTILIZAÇÃO DO LEITELHO PARA PRODUÇÃO DE BEBIDA LÁCTEA PROBIÓTICA

Dissertação aprovada em 04 de junho de 2012, pela banca examinadora constituída pelos professores:

Profa. Dra. Lina Casale Aragon Alegro
Universidade Norte do Paraná

Profa. Dra. Marcela de Rezende Costa
Universidade Federal do Mato Grosso do Sul

Profa. Dra. Cíntia Hoch Batista de Souza
Universidade Norte do Paraná

Dedico este trabalho a Deus. Toda honra, toda glória e todo louvor a Ele.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me fortalecer e ajudar em todos os momentos, sempre renovando minha alegria e força, por não deixar a esperança acabar e por realizar meus sonhos.

Ao meu esposo João Carlos, pelo amor, compreensão, companheirismo, ajuda e apoio.

Aos meus pais, Janaina e Mario, que me mostraram o caminho, e ao meu irmão Lucas, pela ajuda em todos os momentos.

À professora Lina, que com paciência e amor, me ajudou em todas as dificuldades, em tempo integral, sempre disposta a acrescentar com sua orientação e motivação.

À professora Marcela, que com muita delicadeza, me fez ver como a pesquisa é encantadora.

Aos amigos Alisson, Ligia e Renan, que me ajudaram em todos os momentos da pesquisa, sempre me ensinando e aconselhando.

Aos professores que contribuíram de todas as maneiras para elaboração deste trabalho.

Que Deus me abençoe e me alargue as fronteiras, que seja comigo a tua mão e me preserves do mal, de modo que não me sobrevenha aflição. 1Cr 4:9,10

RIBEIRO, Priscila Costa. **Utilização do leiteiro para produção de bebida láctea probiótica**. 2012. 42 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia do Leite) – Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Norte do Paraná, Londrina, 2012.

RESUMO

O leiteiro é um produto da indústria láctea rico em fosfolipídios e ainda pouco utilizado comercialmente. Seu aproveitamento, como ingrediente alimentício, pode aumentar seu valor econômico, reduzir custos com tratamento de efluentes e ainda, resultar no desenvolvimento de novos produtos. O objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito da substituição parcial e total do soro de leite pelo leiteiro, além de avaliar a influência de diferentes concentrações de açúcar, durante o processo de fermentação e tempo de estocagem de bebidas lácteas probióticas. Para tal foram produzidas seis formulações onde todas continham 70 % de leite: S7 e S10 contendo 30% de soro e 7% e 10% de açúcar respectivamente, SL7 e SL10 contendo 15% de soro, 15% de leiteiro e 7% e 10% de açúcar, L7 e L10 contendo 30% de leiteiro e 7% e 10% de açúcar. As bebidas foram fermentadas pela cultura *starter Streptococcus thermophilus*, além das culturas probióticas *Bifidobacterium animalis* e *Lactobacillus acidophilus*. O leite, soro, leiteiro e os produtos finais tiveram pH, acidez e composição centesimal avaliados, o processo de fermentação foi avaliado a cada 30 minutos através de pH e acidez titulável, e as bebidas prontas foram avaliadas nos dias 1, 7, 14, 21 e 28, quanto à viscosidade, pH, acidez titulável e enumeração de *Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium animalis* e *Lactobacillus acidophilus*. Os resultados foram analisados por Análise de Variância e Teste de Tukey, ao nível de 5% de significância. Não foi verificada diferença estatística ($p > 0,05$) entre os valores de pH e acidez titulável no processo de fermentação das diferentes formulações. As bebidas L7 e L10 apresentaram teores de minerais maiores ($p < 0,05$) do que todas as outras. As formulações que continham maior quantidade de soro S7 e S10 apresentaram menores valores de acidez titulável ($p < 0,05$) comparadas com as demais. Em relação aos valores de pH e viscosidade, as formulações L7 e L10, adicionadas somente de leiteiro, apresentaram valores mais elevados que as outras bebidas. As populações de *S. thermophilus* apresentaram valores entre 10,50 e 12,20 log UFC/g durante os 28 dias de análise; *L. acidophilus* manteve sua contagem em valores próximos a 13,69 até a análise do dia 14 com redução ($p < 0,05$) de cinco ciclos logarítmicos a partir da análise do dia 21. *B. animalis* obteve uma contagem de 7,32 log UFC/g no primeiro dia de análise e a partir do sétimo dia de análise sofreu uma redução significativa ($p < 0,05$) onde manteve valores de contagens entre 5,81 a 6,48 log UFC/g até o último dia de análise. O leiteiro é uma ótima opção na elaboração de bebidas lácteas probióticas, uma vez que sua utilização leva a um aumento na quantidade de minerais e na viscosidade do produto, além de não interferir no processo de fermentação e nas populações dos microrganismos adicionados.

Palavras-chave: *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, fermentação, ingredientes lácteos, leiteiro.

RIBEIRO, Priscila Costa. **Use of buttermilk to the production of probiotic fermented milk**. 2012. 42 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia do Leite) – Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Norte do Paraná, Londrina, 2012.

ABSTRACT

Buttermilk is a product of the dairy industry rich in phospholipids little used commercially. Its use as a food ingredient, can increase their economic value, reduce costs and effluent treatment also result in the development of new products. The aim of this study was to evaluate the effect of partial and total substitution of whey buttermilk by, and to evaluate the influence of different concentrations of sugar during the fermentation process and storage time of probiotic dairy drinks. To this were produced where all six formulations containing 70% milk of which S7 and S10 containing 30% serum and 7% to 10% of sugar, and SL7 SL10 containing 15% serum, 15% and 7% of buttermilk and 10 % sugar respectively, L7 and L10 containing 30% and 7% of buttermilk and 10% sugar. drinks were fermented by *Streptococcus thermophilus* starter culture, and cultures of probiotic *Bifidobacterium animalis* and *Lactobacillus acidophilus*. The milk, whey, buttermilk and final products had pH, acidity and chemical composition evaluated, the fermentation process was evaluated every 30 minutes by pH and titratable acidity, and drinks ready were evaluated on days 1, 7, 14, 21 and 28, as the viscosity, pH, titratable acidity and enumeration of *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium animalis*. The results were analyzed by ANOVA and Tukey test, at 5% significance. No statistical difference was found ($p > 0.05$) between pH and titratable acidity in the fermentation process of different formulations. The beverages L7 and L10 showed levels of minerals higher ($p < 0.05$) than all the others. Formulations containing higher amount of serum S7 and S10 had lower levels of acidity ($p < 0.05$) compared with the others. Regarding pH and viscosity formulations L7 and L10, buttermilk added only showed higher values than other beverages. Populations of *S. thermophilus* showed values between 10.50 and 12.20 log CFU / g during the 28 days of analysis; *L. acidophilus* maintained its count at close to 13.69 to the analysis of day 14 with reduction ($p < 0.05$) of five log cycles from the analysis of day 21. *B. animalis* got a score of 7.32 log CFU / g on the first day of analysis and from the seventh day of analysis has been significantly reduced ($p < 0.05$) where scores remained values between 5.81 to 6.48 log CFU / g until the last day of examination. Buttermilk is a great option in the development of probiotic dairy drinks, once its use leads to an increase in the amount of Minerals and viscosity of the product, and does not interfere with the fermentation process and the populations of microorganisms added.

Key-words: *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, fermentation, dairy ingredients, buttermilk.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	11
2.1 Leiteinho	11
2.2 Soro.....	13
2.3 Probióticos.....	13
2.4 Produtos lácteos fermentados.....	17
3 ARTIGO.....	19
RESUMO.....	20
1 Introdução	21
2 Material e métodos.....	23
2.1 Planejamento experimental	23
2.2 Elaboração das bebidas lácteas.....	24
2.3 Análises e períodos de amostragem	24
2.6 Análises físico-químicas	25
2.7 Análises microbiológicas	25
2.8 Análise dos dados	26
3 Resultados e discussão.....	26
4 Conclusão	34
5 Referências	34
4 CONCLUSÃO.....	38
5 REFERÊNCIAS.....	39

1 INTRODUÇÃO

O processamento do leite para a fabricação de seus derivados gera variados subprodutos, que são, atualmente, interesse de pesquisa. Entre estes produtos, podemos destacar o leitelho, fase aquosa liberada durante o batimento do creme para a produção de manteiga.

O leitelho é rico em componentes com propriedades biológicas e tecnológicas, porém, ainda é pouco aproveitado pela indústria. É composto por água, proteínas, lactose, minerais, lipídeos e componentes provenientes da membrana do glóbulo de gordura do leite, como os fosfolipídios, que são de grande importância biológica, por exemplo, no sistema de transporte molecular, e tecnológica, atuando como emulsificante.

A tendência do consumidor, nos últimos anos, é de buscar um alimento que não irá somente suprir suas necessidades nutricionais, mas também que seja funcional, podendo promover algum outro efeito benéfico ao organismo. Alguns estudos mostram que produtos probióticos, como leites fermentados, bebidas lácteas e iogurtes, promovem benefícios ao organismo do consumidor, devido à capacidade dos micro-organismos em atuar no intestino, modificando positivamente seu ambiente.

O uso dos micro-organismos vivos na produção de alimentos funcionais tem crescido nos mercados nacional e internacional, mas ainda com restrições, pois exigem alterações na tecnologia de fabricação e ainda podem influenciar na qualidade sensorial dos produtos. As bactérias dos gêneros *Bifidobacterium* e *Lactobacillus* são os principais micro-organismos utilizados como probióticos em alimentos funcionais. Quando ingeridos na dieta, estas bactérias colonizam o intestino humano e promovem algumas mudanças desejáveis sobre seu metabolismo e microbiota.

Assim a elaboração de um leite fermentado probiótico e adicionado de leitelho torna-se uma alternativa inovadora para as indústrias de derivados lácteos, aproveitando-se um subproduto rico em nutrientes, que apresenta grande capacidade de emulsificação e impacto positivo sobre o sabor em sistemas alimentícios, além dos benefícios à saúde.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 LEITELHO

A tecnologia da fabricação de manteiga possui uma etapa do processamento que consiste no batimento do creme de leite. Neste creme, existem glóbulos de gordura dispersos em forma de emulsão, que são formados basicamente por um núcleo de triglicerídeos envolto por uma membrana fina, a membrana do glóbulo de gordura do leite. Durante o batimento deste creme, ocorre o rompimento dos glóbulos de gordura presentes e, conseqüentemente, a liberação dos triglicerídeos para a formação da manteiga, com separação de uma fase aquosa (WALSTRA, WOUTERS e GEURTS, 2006; FOX e MCSWEENEY, 1998; VALSECHI, 2001).

Esta fase aquosa, que acaba recebendo a maioria dos componentes solúveis em água contida no creme denomina-se leitelho (COSTA, 2008). Entre seus componentes, estão proteínas, lactose e minerais. Além disso, alguns lipídeos e materiais derivados das membranas dos glóbulos de gordura rompidas com a agitação do processamento, também migram para o leitelho (RIGUEIRA, 2006; COSTA et al., 2009).

O leitelho possui maior quantidade de fosfolipídios em comparação aos valores apresentados para o leite. Isto ocorre devido à grande quantidade de membranas de glóbulos de gordura presentes, que são compostas por 25% de proteínas e 70% de lipídios, sendo, estes últimos, divididos em neutros (55 a 70%) e polares (40%). Estes lipídeos são compostos basicamente por fosfolipídios, como os glicerofosfolipídios e os esfingofosfolipídeos (SODINI et al., 2006).

Os fosfolipídios são moléculas que apresentam, em sua composição espacial, uma parte hidrofílica e outra, hidrofóbica, o que caracteriza a molécula como anfifílica. Sua parte polar possui um grupamento fosfato ligada a grupos orgânicos distintos e a fração apolar é constituída de ácidos graxos (SODINI et al., 2006).

Além de possuírem atividades biológicas e nutricionais, os fosfolipídeos apresentam funções tecnológicas, principalmente devido às suas características anfifílicas, atuando, assim, como agentes emulsionantes e surfactantes (DEWETTINCK et al., 2008).

Segundo Sodini et al. (2006), o leiteiro comum de soro de leite apresenta maior propriedade de emulsificação e menor capacidade de formação de espuma em comparação com o leiteiro doce, possivelmente por conter maior proporção de fosfolipídios e proteínas. Os autores sugerem que, devido aos resultados obtidos, o leiteiro de soro de leite pode ser um novo ingrediente na indústria alimentícia, apesar de afirmarem que são necessários novos estudos relacionados à avaliação sensorial dos produtos, além de adequações na formulação dos alimentos.

A identificação de várias funções biológicas e tecnológicas dos fosfolipídios levou a um crescente interesse no desenvolvimento de técnicas de isolamento destes compostos, em que se utilizam os produtos lácteos, como o leiteiro. Essas técnicas podem ser de concentração ou extração, utilizando-se solventes ou tecnologias mais atuais, como filtração por membranas ou extração supercrítica (THOMPSON e SINGH, 2006; COSTA et al., 2009).

O leiteiro é uma boa alternativa para o uso em formulações de produtos lácteos, pois possui várias propriedades benéficas a saúde, possuindo também boas propriedades tecnológicas, baixo custo, fácil disponibilidade e boas características sensoriais como apresenta o leiteiro (BASSI et al., 2011)

Rigueira et al. (2006) constataram que o leiteiro em pó possui oito vezes mais fosfolipídios, comparado com o leite desnatado em pó. Além disso, o leiteiro com adição de água ou com adição de leite desnatado apresenta de sete a onze vezes mais fosfolipídios que o leite desnatado.

Elling et al. (1996) mostraram que o leiteiro contém sete vezes mais fosfolipídios que o leite integral, sendo que as concentrações deste composto verificadas por eles foram 0,89 mg/g e 0,12 mg/g, respectivamente. Valores menores foram observados por Christie et al. (1987), que demonstraram um aumento de quatro vezes nos fosfolipídios do leiteiro em relação aos do leite, com valores de 0,72 mg/mL e 0,15 mg/mL, respectivamente.

2.2 SORO

O soro é um subproduto da indústria láctea, obtido pela separação da fase aquosa do leite e da maior parte da porção lipídica e caseica, através de três processos principais: coagulação enzimática, precipitação ácida no ponto isoelétrico das caseínas ou separação física das micelas por microfiltração (SGARBIERI, 2004). O soro, geralmente, é derivado da fabricação de queijos e é constituído principalmente de proteínas, lactose, minerais e água, representando 80 a 90% do volume total do leite utilizado nesse tipo de processamento (CAMARGO et al., 2000).

O soro obtido da fabricação do queijo também pode ser chamado de soro doce. Com pH entre 6 e 7, esse produto apresenta 55% do total de nutrientes do leite, podendo, então, ser utilizado como fontes de vários nutrientes como cálcio, proteínas e vitaminas hidrossolúveis (CUNHA et al., 2008). Suas proteínas possuem alto valor biológico, com efeito no combate de alguns tipos de câncer, atividades imunomoduladora, antimicrobiana e antiviral, entre outros (SGARBIERI, 2004).

O soro tem sido concentrado e desidratado para a produção de ingredientes em pó em diversos países, porém, no Brasil, ele ainda é bastante utilizado na forma líquida, sendo aproveitado para a alimentação animal ou na fabricação de produtos lácteos (SANTOS et al., 2008). Sua adição em bebidas lácteas, além de reduzir o custo com ingredientes, pode acarretar importantes propriedades funcionais (THAMER e PENNA, 2006). A fabricação de bebidas lácteas, fermentadas ou não, a partir do soro líquido é, para a indústria, uma alternativa lucrativa, pois o processo tecnológico é simples, além de ser possível o uso de equipamentos que geralmente já existem na usina de beneficiamento (CUNHA et al., 2008).

2.3 PROBIÓTICOS

A nutrição envolvendo alimentos funcionais é um novo conceito adquirido através de conhecimentos científicos e tecnológicos das últimas décadas, os quais promoveram mudanças no pensamento e, principalmente, no estilo de vida das pessoas. Esses alimentos têm a função de melhorar as funções fisiológicas do

organismo, promovendo a saúde e diminuindo o risco de desenvolvimento de doenças (THAMER e PENNA, 2005).

Dentre os produtos funcionais, podemos destacar os probióticos, que são alimentos que contém micro-organismos vivos que, quando são administrados em quantidades adequadas, promovem efeitos benéficos ao consumidor (SANDERS, 2003), como, por exemplo, o balanço na microbiota intestinal (SAAD, 2006). As bactérias probióticas possuem a capacidade de aderir na parede intestinal, sobressaindo-se diante dos micro-organismos patogênicos (COLLADO et al., 2007).

Segundo Oliveira et al. (2002), para que um alimento seja considerado funcional, ele deve, além de seus valores nutricionais, ter a capacidade de promoção da saúde, devendo ficar claro que esse alimento não deve ser usado para a obtenção de cura.

Vários gêneros de bactérias compõem o grupo dos probióticos, dentre eles, *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*. O íleo e o cólon parecem ser as porções preferidas do intestino para a colonização desses micro-organismos; no entanto, o efeito da bactéria é específico para cada cepa. Os probióticos possuem vários efeitos sobre o hospedeiro, como a modulação da microbiota intestinal, alterações do metabolismo microbiano, estímulo da imunidade do hospedeiro, estímulo na absorção de alguns nutrientes como o cálcio, entre outros possíveis efeitos benéficos (SAAD, 2006).

Segundo Lee et al. (1999), o consumo de produtos contendo probióticos como *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*, promove melhoria nos movimentos peristálticos, na absorção de nutrientes e no controle das infecções intestinais, além de dificultar a adesão de patógenos à mucosa, neutralizar os efeitos de enterotoxinas e dificultar o crescimento de microrganismos patógenos, como *Escherichia coli*. Os probióticos também ajudam na digestão da lactose em pessoas com deficiência/ausência de lactase, metabolizam alguns tipos de fármacos e reduzem o nível de colesterol e o risco de câncer de cólon (THAMER e PENNA, 2005).

Para isto, foram enumerados três possíveis mecanismos de ação das bactérias probióticas: o primeiro está relacionado com a diminuição das populações

de microrganismos patogênicos, que competem com os probióticos por nutrientes ou sítios de adesão, ou ainda, que podem ser destruídos por compostos produzidos pelos probióticos. O segundo mecanismo são as modificações na atividade enzimática dos patógenos, produzidas pelos probióticos, o que causa danos nas células. Por último, os probióticos podem estimular a atividade imunológica do hospedeiro, acarretando em um aumento do número de anticorpos do hospedeiro (OLIVEIRA et al., 2002).

Porém, para a obtenção do efeito terapêutico desejado, as bactérias probióticas devem estar disponíveis em número suficiente no produto, uma vez que elas apresentam efeitos biológicos no ambiente intestinal somente se atingirem um número mínimo viável (OLIVEIRA et al., 2002; MACHADO et al., 2003). A dose mínima diária da cultura probiótica considerada terapêutica é de 10^8 a 10^9 UFC, o que corresponde ao consumo de 100 g de produto que contenha 10^6 a 10^7 UFC/g (LEE e SALMINEN, 1995).

Durante o processo fermentativo, a viabilidade dos probióticos no alimento pode ser afetada pelos produtos do seu metabolismo, como ácidos orgânicos, pela diminuição do pH e pela restrição de nutrientes. A estabilidade e viabilidade de bactérias probióticas podem ser melhoradas através da adição de micronutrientes na forma de aminoácidos e peptídeos. A cisteína também pode ser utilizada para otimizar o crescimento dos anaeróbios, como as bifidobactérias. Algumas outras técnicas, como a microencapsulação, também podem melhorar a viabilidade desses organismos no alimento (SHAH, 2000).

Produtos lácteos favorecem a sobrevivência dos probióticos quando em contato com o suco gástrico, pois possuem um efeito tamponante e protetor. As indústrias de laticínios encontraram nos probióticos um meio de desenvolver novos produtos, sendo que, no mercado, há uma grande variedade de alimentos funcionais disponíveis, e esses alimentos ainda estão em crescimento (KOMATSU, BURITI e SAAD, 2008).

Alguns fatores devem ser considerados na fabricação de leites fermentados e iogurtes probióticos, como a composição do meio de fermentação, quantidade de oxigênio dissolvido, adição de hidrolisados protéicos de caseínas ou

de soro, extrato de levedura, glicose, vitaminas e minerais. Com essas variantes, pode-se promover a multiplicação e sobrevivência das culturas. Além disso, é possível aumentar a capacidade tamponante com a adição de proteínas, o que reduz a queda de pH durante a vida de prateleira do produto (KOMATSU, BURITI e SAAD, 2008).

Existem critérios preferências para que uma bactéria possa ser escolhida para a elaboração de um produto, como o gênero a que essa bactéria pertence; ser de origem humana; ser estável a pH ácido e básico; ser capaz de aderir na mucosa intestinal, para que ocorra colonização, no mínimo temporária; ser capaz de produzir substâncias com ação antimicrobiana; não ser patogênica; não estar relacionada a nenhum outro tipo de doença (OLIVEIRA et al., 2002).

Além de possuírem todos estes critérios, Oliveira et al. (2002) afirmam, ainda, que os probióticos também devem apresentar boas propriedades tecnológicas, como boa multiplicação no leite, apresentar atributos sensoriais adequados ao tipo de produto utilizado, e serem capazes de sobreviver, em níveis aceitáveis, durante toda a vida-de-prateleira do produto.

As *bifidobactérias* são muito utilizadas como probióticos. Descritas em 1899, são micro-organismos Gram-positivos, não formadores de esporos, desprovidos de flagelos, não produzem catalase e são anaeróbios. Sua temperatura ótima de multiplicação está na faixa de 37 a 41 °C, tendo o pH ótimo entre 6,0 e 7,0. As *bifidobacterias* são usadas como probióticos, visando sua atividade antimicrobiana, boa tolerância ao ambiente ácido, aos metabólitos tóxicos e aos sais biliares (MAZO et al., 2009).

Para a produção de leite fermentado probiótico, normalmente é utilizada uma combinação de bactérias comuns do iogurte (*Lactobacillus bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus*) e probióticos. No entanto, *L. bulgaricus* produz grande quantidade de ácido durante a vida-de-prateleira dos produtos, fenômeno conhecido como pós-acidificação, o que prejudica a viabilidade das bactérias probióticas. Com isso, a combinação de probióticos somente *S. thermophilus* é mais utilizada, mostrando a importância da escolha de uma opção adequada de cultura auxiliar, o que promove maior viabilidade dos probióticos durante o armazenamento

(OLIVEIRA et al., 2002).

Apesar de serem utilizados somente para promoção da saúde, alguns probióticos já demonstraram ser eficazes no combate de alguns quadros clínicos, como infecções causadas por *Helicobacter pylori*, diarreia infantil, colites por *Clostridium difficile*, inflamações intestinais, alguns tipos de câncer intestinal, infecções urogenitais na mulher, diarreias associadas a antibióticos e a rotavírus, infecções cirúrgicas, alívio na constipação intestinal e nos sintomas causados pela intolerância a lactose, além de diminuição nos níveis de colesterol (OLIVEIRA et al., 2002; GUPTA e GARG, 2009).

2.4 PRODUTOS LÁCTEOS FERMENTADOS

Segundo a Instrução Normativa nº 46, de 23 de Outubro de 2007, “entende-se por leites fermentados os produtos adicionados ou não de outras substâncias alimentícias, obtidas por coagulação e diminuição do pH do leite, ou leite reconstituído, adicionado ou não de outros produtos lácteos, por fermentação láctica, mediante ação de cultivos de microrganismos específicos”. Essa fermentação pode ocorrer com um ou mais dos cultivos a seguir: *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Bifidobacterium sp.*, *Streptococcus salivarius*, e/ou outras bactérias ácido-láticas. Nas bebidas fermentadas, é obrigatório conter leite e/ou leite reconstituído e cultivos de bactérias lácticas, sendo que ingredientes opcionais não lácteos não podem ultrapassar 30% do produto final (BRASIL, 2007).

Já o termo “bebidas lácteas” tem sido utilizado para nomear uma série de produtos fabricados com soro de leite (THAMER e PENNA, 2006).

Segundo a Instrução Normativa nº 16, de 23 de agosto de 2005, a bebida láctea é definida como “o produto lácteo resultante da mistura de leite (in natura, pasteurizado, esterilizado, UHT, reconstituído, concentrado, em pó, integral, semidesnatado ou parcialmente desnatado e desnatado) e soro de leite (líquido, concentrado em pó) adicionado ou não de produto(s) ou substância(s) alimentícia(s), gordura vegetal, leite(s) fermentado(s), fermentos lácteos selecionados e outros produtos lácteos”. A base láctea deve representar pelo menos 51% m/m

(massa/massa) do total de ingredientes do produto. Assim, é obrigatória a adição de leite e soro nas bebidas lácteas, tendo como ingredientes opcionais produtos lácteos como o leiteiro, caseinatos, entre outros, e não lácteos como frutas, cereais etc. (BRASIL, 2005).

Segundo Sivieri e Oliveira (2002), a produção adequada de bebidas lácteas se concentra na mistura correta de leite e soro, podendo-se adicionar outros ingredientes, como corantes, aromatizantes, edulcorantes, polpas de frutas e outros. Segundo Almeida, Bonassi e Roça (2001), essa mistura não é bem definida.

O soro doce apresenta, em média, 6,5% de sólidos totais, sendo 4,5 % de lactose, 0,8% de proteínas, 0,5% de lipídeos e 0,7% de minerais (TAMIME, 2009). O leiteiro contém, em média, 11,7% de sólidos, incluindo 6,5% de lactose, 3,0% de proteínas, 1,5% de lipídeos e 0,7% de minerais (MORIN et al., 2006). Assim, o leiteiro poderia ser aproveitado para a fabricação de produtos como as bebidas lácteas, dentre outros, substituindo-se parcialmente um dos ingredientes principais, como o soro ou o leite, resultando em novos produtos.

Sabe-se que uma bebida láctea fermentada contendo leiteiro em substituição total ao soro, segundo a legislação brasileira, seria enquadrada como leite fermentado, pois para ser considerada bebida láctea teria que obrigatoriamente ter a adição de soro. Já a utilização de uma mistura de leite, soro e leiteiro, em proporções adequadas, resultariam em uma bebida láctea de acordo com a legislação (BRASIL, 2005, 2007).

Neste trabalho, foram produzidos derivados lácteos substituindo-se parcial ou totalmente o soro de leite pelo leiteiro. Porém, a fim de facilitar a descrição dos produtos elaborados, eles serão chamados de bebida láctea, no geral, independentemente da adição ou não de soro em suas formulações.

3 ARTIGO

UTILIZAÇÃO DO LEITELHO PARA PRODUÇÃO DE BEBIDA LÁCTEA PROBIÓTICA

Priscila Costa RIBEIRO¹, Alisson Santana da SILVA², Elsa Helena Walter de SANTANA³, Marcela de Rezende COSTA⁴, Lina Casale ARAGON-ALEGRO^{5*}

¹Mestranda em Ciência e Tecnologia do Leite, Universidade Norte do Paraná. Av. Paris, 675, 86041-120, Londrina, PR, Brasil. E-mail: priscila.farm@hotmail.com.

²Graduando do curso de Biomedicina, Universidade Norte do Paraná. Av. Paris, 675, 86041-120, Londrina, PR, Brasil. E-mail: alissonsantana57@hotmail.com.

³Médica veterinária, doutora em Ciência Animal pela Universidade Estadual de Londrina, docente do curso de Mestrado em Ciência e Tecnologia do Leite, Universidade Norte do Paraná. Av. Paris, 675, 86041-120, Londrina, PR, Brasil. E-mail: elsahws@hotmail.com.

⁴Médica veterinária, doutora em Tecnologia de Alimentos pela Universidade Estadual de Campinas, docente da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul. Av. Senador Filinto Müller, 2443, Cidade Universitária, 79074-460, Campo Grande, MS, Brasil. E-mail: marcela.rezende@ufms.br.

^{5*}Bióloga, doutora em Ciência dos Alimentos pela Universidade de São Paulo, docente do curso de Mestrado em Ciência e Tecnologia do Leite, Universidade Norte do Paraná. Av. Paris, 675, 86041-120, Londrina, PR, Brasil. RG: 26.285.095-3. CPF: 261.148.178-42. E-mail: lcalegro@yahoo.com.br (autora pra correspondência)

RESUMO

O leite é um produto da indústria láctea rico em fosfolipídios e ainda pouco utilizado comercialmente. Seu aproveitamento, como ingrediente alimentício, pode aumentar seu valor econômico, reduzir custos com tratamento de efluentes e ainda, resultar no desenvolvimento de novos produtos. O objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito da substituição parcial e total do soro de leite pelo leite, além de avaliar a influência de diferentes concentrações de açúcar, durante o processo de fermentação e tempo de estocagem de bebidas lácteas probióticas. Para tal foram produzidas seis formulações onde todas continham 70 % de leite sendo que S7 e S10 contendo 30% de soro e 7% e 10% de açúcar, SL7 e SL10 contendo 15% de soro e 15% de leite com 7% e 10% de açúcar respectivamente, L7 e L10 contendo 30% de leite e 7% e 10% de açúcar. As bebidas foram fermentadas pela cultura *starter Streptococcus thermophilus*, além das culturas probióticas *Bifidobacterium animalis* e *Lactobacillus acidophilus*. O leite, soro, leite e os produtos finais tiveram pH, acidez e composição centesimal avaliados, o processo de fermentação foi avaliado a cada 30 minutos através de pH e acidez titulável, e as bebidas prontas foram avaliadas nos dias 1, 7, 14, 21 e 28, quanto à viscosidade, pH, acidez titulável e enumeração de *Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium animalis* e *Lactobacillus acidophilus*. Os resultados foram analisados por Análise de Variância e Teste de Tukey, ao nível de 5% de significância. Não foi verificada diferença estatística ($p > 0,05$) entre os valores de pH e acidez titulável no processo de fermentação das diferentes formulações. As bebidas L7 e L10 apresentaram teores de minerais maiores ($p < 0,05$) do que todas as outras. As formulações que continham maior quantidade de soro S7 e S10 apresentaram menores valores de acidez titulável ($p < 0,05$) comparadas com as demais. Em relação aos valores de pH e viscosidade, as formulações L7 e L10, adicionadas somente de leite, apresentaram valores mais elevados que as outras bebidas. As populações de *S. thermophilus* apresentaram valores entre 10,50 e 12,20 log UFC/g durante os 28 dias de análise; *L. acidophilus* manteve sua contagem em valores próximos a 13,69 até a análise do dia 14 com redução ($p < 0,05$) de cinco ciclos logarítmicos a partir da análise do dia 21. *B. animalis* obteve uma contagem de 7,32 log UFC/g no primeiro dia de análise e a partir do sétimo dia de análise sofreu uma redução significativa ($p < 0,05$) onde manteve valores de contagens entre 5,81 a 6,48 log UFC/g até o último dia de análise. O leite é uma ótima opção na elaboração de bebidas lácteas probióticas, uma vez que sua utilização leva a um aumento na quantidade de minerais e na viscosidade do produto, além de não interferir no processo de fermentação e nas populações dos microrganismos adicionados.

Palavras-chave: *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, fermentação, ingredientes lácteos, leite.

1 INTRODUÇÃO

O processamento do leite para a produção de seus derivados gera variados subprodutos que são, atualmente, interesse de pesquisa. Alguns autores, inclusive, já demonstraram os efeitos bioativos de alguns componentes desses subprodutos, como proteínas, peptídeos, lipídeos, entre outros (BAUMAN et al., 2006; HAUG et al., 2007).

Dentre estes subprodutos, destaca-se o leitelho, fase aquosa liberada durante o batimento do creme para produção de manteiga (MORIN et al., 2006), e que contém todos os componentes hidrossolúveis presentes neste creme, como caseínas, proteínas do soro, lactose, minerais e poucos lipídeos, além de fragmentos das membranas dos glóbulos de gordura (MATHER, 2000).

Estas membranas, que protegem os glóbulos de gordura presentes no leite, impedindo sua coalescência e a ação de enzimas lipolíticas aí presentes (WALSTRA; WOUTERS; GEURTS, 2006), são constituídas por proteínas, carboidratos, triglicerídeos e fosfolipídeos, como a esfingomiéline, a fosfatidilcolina e a fosfatidiletanolamina (MATHER, 2000).

Dentre estes componentes, os fosfolipídeos compreendem cerca de 33% (MATHER, 2000). Os fosfolipídeos são lipídeos polares anfipáticos, ou seja, possuem uma extremidade hidrofóbica e outra hidrofílica, sendo a primeira, constituída por ácidos graxos, e a última, por um resíduo fosfato ligado a diferentes grupos orgânicos, como colina, serina e etanolamina, entre outros (DEWETTINCK et al., 2008). Estes lipídeos são de grande importância biológica, por exemplo, na inibição do crescimento de tumores (SCHMELZ; SULLARDS; DILLEHAY; MERRILL, 2000), e tecnológica, atuando como emulsificante (ASTAIRE et al., 2003; SODINI et al., 2006; DEWETTINCK et al., 2008; COSTA et al., 2009). Alguns fosfolipídeos exercem um papel estrutural, fazendo parte do sistema de membrana das células (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2011).

Na última década, tem sido observada uma tendência do consumidor em buscar, no alimento, não só o suprimento de suas necessidades nutricionais, mas também a promoção de alguns efeitos benéficos ao organismo. Uma vez que o leitelho contém significativa concentração de fosfolipídeos, substância benéfica ao organismo humano, a sua utilização pela indústria de alimentos seria uma forma de

aproveitamento desse subproduto ainda pouco utilizado.

Além disso, outra maneira de promover efeitos benéficos à saúde do consumidor é a adição, aos produtos lácteos, de micro-organismos probióticos, definidos como micro-organismos vivos, que quando ingeridos em quantidades adequadas, trazem benefícios à saúde do consumidor (FAO/WHO, 2001; SANDERS, 2003).

Além do controle da microbiota intestinal, há ainda outros benefícios das culturas probióticas à saúde do hospedeiro, tais como: promoção da digestão da lactose em indivíduos intolerantes a esse carboidrato; estabilização da microbiota intestinal após o uso de antibióticos; promoção da resistência gastrintestinal à colonização de patógenos; diminuição da população de patógenos por meio da produção de ácidos acético e lático, de peróxido de hidrogênio e de bacteriocinas, entre outros compostos antimicrobianos; estímulo do sistema imune; alívio da constipação e aumento da absorção de minerais e vitaminas (SAAD, 2006).

Os probióticos são capazes de atuar no hospedeiro de três diferentes formas: inibição de patógenos ao produzir compostos com atividade antimicrobiana, pela competição por nutrientes e por sítios de adesão; alteração do metabolismo microbiano (estimulando ou inibindo a atividade enzimática do patógeno); estimulação da imunidade do hospedeiro, aumentando a produção de anticorpos e a atividade dos macrófagos, conferindo ao indivíduo, efeitos de ordem antimicrobiana, nutricional e fisiológica (SAAD, 2006; TIRAPÉGUI, 2006).

A fim de que os efeitos positivos sobre a saúde do consumidor sejam observados, a população mínima viável de probióticos presente em um alimento, durante a vida-de-prateleira, varia entre 10^6 Unidades Formadoras de Colônias (UFC)/g ou mL (SHAH et al., 1995) e 10^7 UFC/g ou mL de produto (RYBKA; FLEET, 1997; VINDEROLA; REINHEIMER, 2000). No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) preconiza que uma porção diária de bebida ou alimento pronto para o consumo apresente entre 10^8 e 10^9 UFC do probiótico utilizado (BRASIL, 2008).

Alguns lácteos favorecem a sobrevivência dos probióticos quando submetidos à ação do suco gástrico, pois possuem um efeito tamponante e protetor. As indústrias de laticínios encontraram nos probióticos um meio de produzir novos

produtos, sendo que, no mercado há uma grande variedade de alimentos funcionais disponíveis, e esses produtos ainda estão em crescimento (KOMATSU, BURITI, SAAD, 2008).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a utilização do leiteiro como ingrediente de uma bebida adicionada de microrganismos probióticos. Além disso, verificou-se a influência do uso de diferentes proporções de soro e leiteiro e de diferentes teores de açúcar no processamento e nas características desta bebida láctea probiótica durante sua vida-de-prateleira, visto que não foram encontrados trabalhos científicos publicados com esse foco.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL

Foram formuladas bebidas lácteas probióticas contendo 70% de base láctea (leite UHT padronizado 3%, Polly, Confepar, Londrina, Brasil) e 30% de soro (Comfepar, Londrina, Brasil) e/ou leiteiro (Comfepar, Londrina, Brasil), além do fermento lácteo BioRich (Chr. Hansen, Hønsholm, Dinamarca), constituído de *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*, *Bifidobacterium animalis* e *Lactobacillus acidophilus*. Foram testadas adições de diferentes proporções de soro e leiteiro na base láctea, além de duas concentrações de açúcar (Tabela 1). O experimento foi repetido três vezes. Além disso, as análises físico-químicas foram realizadas em triplicata, e as microbiológicas, em duplicata.

Tabela 1. Formulações básicas das bebidas lácteas probióticas.

Formulação	Leite (%)	Soro (%)	Leiteiro (%)	Açúcar (%)
S7	70	30	0	7
S10	70	30	0	10
SL7	70	15	15	7
SL10	70	15	15	10
L7	70	0	30	7
L10	70	0	30	10

2.2 ELABORAÇÃO DAS BEBIDAS LÁCTEAS

O soro e o leiteiro, ambos em pó, foram reconstituídos nas proporções de 68 g/Kg de água e 125 g/Kg de água, respectivamente, e adicionados conforme o planejamento experimental, à base láctea. Em seguida, as misturas foram aquecidas durante 5 min a 90 °C, em placas aquecedoras, e resfriadas em banho de gelo. Quando foi atingida a temperatura de 42 °C, foi adicionado, na proporção de 2%, o fermento lácteo refrigerado a 5 °C, que foi ativado no dia anterior à produção das bebidas, em leite em pó a 42 °C, até atingir pH 4,6, a fim de facilitar sua multiplicação no produto. Após homogeneização, estas misturas foram incubadas em estufa BOD a 42 °C, até atingir valores de pH entre 4,7 e 4,9. Em seguida, foram resfriadas a 10 °C, quando foram realizadas as quebras manuais dos coágulos (durante 30 s) e a adição dos demais ingredientes: 5% de polpa de morango (Polpa Norte, Japurá, Brasil) , 7 ou 10% de açúcar (União, Santos, Brasil) , 0,2% de aromatizante (All flavours, Diadema, Brasil) e 0,2% de corante vermelho natal (Mix, São Bernardo do Campo, Brasil). As bebidas lácteas foram envasadas em garrafas plásticas pré-higienizadas de capacidade de 500 mL, e armazenadas a 4 °C até a realização das análises.

2.3 ANÁLISES E PERÍODOS DE AMOSTRAGEM

O processo de fermentação foi avaliado a cada 30 minutos, através de acidez titulável e pH. As matérias-primas (leite, soro e leiteiro) e os produtos finais tiveram pH, acidez e composição centesimal avaliados.

As bebidas foram avaliadas nos dias 1, 7, 14, 21 e 28 de armazenamento a 6 °C, quanto à viscosidade, pH, acidez titulável e enumerações de *Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium animalis* e *Lactobacillus acidophilus*.

2.6 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

O leite, o soro, o leiteiro e as bebidas lácteas foram avaliados quanto ao pH, acidez e composição centesimal utilizando-se os métodos oficiais da AOAC (2003). A acidez titulável foi medida através da titulação com hidróxido de sódio e o pH utilizando-se um potenciômetro de imersão. O teor de nitrogênio total foi determinado pelo método de Kjeldahl, e o teor de proteína calculado multiplicando-se o teor de nitrogênio total por 6,38. O teor de lipídeos foi determinado pelo método de Gerber, o teor de cinzas pelo método gravimétrico de incineração em mufla e teor de sólidos totais através de secagem em estufa.

Além disso, as bebidas lácteas tiveram a viscosidade analisada, utilizando-se um viscosímetro digital rotativo (Quimis, Diadema, Brasil) com haste número 2 e velocidade de 30 r.p.m. Anteriormente às análises, as amostras foram mantidas a 6 °C e homogeneizadas (ALMEIDA et al., 2001).

2.7 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

Para a enumeração de *Bifidobacterium animalis*, *Lactobacillus acidophilus* e *Streptococcus thermophilus*, foram pesados 10 gramas das amostras e homogeneizados com 90 mL de solução salina 0,85% esterilizada. A partir desta diluição inicial, foi preparada uma série de diluições decimais, utilizando-se o mesmo diluente. Alíquotas de 0,1 mL das diluições foram semeadas na superfície de placas contendo ágar MRS (Himedia, Mumbai, Índia) adicionado de 0,2 % (m/v) de cloreto de lítio (Cinética, Brasil) e 0,3 % (m/v) de proprionato de sódio (Sigma, São Paulo, Brasil) (MRS-LP) para a enumeração de *Bifidobacterium animalis*. Ágar MRS contendo 1,5% de sais biliares (Himedia, Mumbai, Índia) (MRS-Bile) e ágar M17 adicionado de 5% de uma solução de lactose (Synth, Diadema, Brasil) a 10% foram utilizados para a enumeração de *Lactobacillus acidophilus* e *Streptococcus thermophilus*, respectivamente. As placas de MRS-LP foram incubadas sob anaerobiose (AnaeroGen[®], Oxoid, Basingstoke, Inglaterra) a 37 °C por 72 horas e as de MRS-Bile e M17, incubadas em aerobiose, a 37° por 72 horas (VINDEROLA; REINHEIMER, 2000; ZACARCHENCO; MASSAGUER-ROIG, 2006).

2.8 ANÁLISE DOS DADOS

Os resultados foram avaliados através de análise de variância e teste de Tukey ao nível de 5% de significância, utilizando o programa Statistica (STATSOFT, 2000).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A composição centesimal do leite, do leiteiro e do soro estão mostradas na tabela 2. Neste trabalho, as concentrações de lipídeos e extrato seco total (EST) observadas no soro estão de acordo com o descrito por Tamime (2009), contendo em torno de 4,8% de lactose, 0,9% de proteínas, 0,1% de lipídeos e 0,7% de minerais, totalizando 6,5% de sólidos totais (EST). Porém, as concentrações de proteínas verificadas no soro foram maiores, e as de cinzas e EST menores que os valores descritos por Tamime (2009).

Tabela 2. Composição centesimal do leite, leiteiro e soro utilizados na formulação das bebidas lácteas.

Produto	Proteínas	Lipídeos	Cinzas	EST
Leite	3,35±0,03	2,80±0,32	0,75±0,024	10,38±0,29
Leiteiro	5,19±0,64	0,90±0,00	0,89±0,026	11,50±0,40
Soro	1,83±0,20	0,10±0,00	0,38±0,052	5,66±0,09

EST = Extrato Seco Total.

O leiteiro utilizado apresentou teores de proteínas, lipídeos e minerais superiores e teor de carboidratos inferior aos normalmente encontrados. O leiteiro contém, em média, 11,7% de sólidos, incluindo 6,5% de lactose, 3,0% de proteínas, 1,5% de lipídeos e 0,7% de minerais (MORIN, POULIOT e JIMÉNEZ-FLORES, 2006). Apesar disso, os sólidos totais foram semelhantes aos descritos por estes autores (Tabela 2).

Observou-se que o leiteiro apresentou maiores teores de proteínas, carboidratos e minerais que o leite e o soro e, conseqüentemente, maior extrato seco total. Dentre as três matérias-primas utilizadas, o leite é o mais rico em

lipídeos, sendo o soro, o mais pobre em relação a esse componente.

Segundo Walstra et al. (2006), os principais constituintes do leite são a água (87,5%), lipídios (3,6%), proteínas (3,0%), lactose (4,6%) e sais minerais (0,7%), sendo que os valores de lipídeos encontrados no leite usado foram menores comparados aos dados do autor, já as proteínas e as cinzas foram semelhantes portanto estão dentro do esperado para esse tipo de leite.

O soro apresentou aproximadamente metade do conteúdo de proteínas, minerais e EST do leite (Tabela 2). Segundo Mora et al., (1973), aproximadamente 85-95% do volume de leite usado na fabricação de queijos resulta em soro, que contém cerca de metade dos sólidos totais do leite, representados por proteínas hidrossolúveis, principalmente albuminas e globulinas, além de sais, gordura e lactose.

Na tabela 3, estão descritas as composições centesimais das seis formulações de bebida láctea produzidas. De acordo com os resultados, não houve diferença entre as bebidas, em relação aos teores de proteínas e de lipídeos ($p < 0,05$).

Tabela 3. Média e desvio padrão dos teores de proteínas, lipídeos, carboidratos, cinzas e extrato seco total em cada formulação das bebidas lácteas.

Produto	Proteínas	Lipídeos	Cinzas	EST
S7	3,35±0,08 ^a	1,80±0,10 ^a	0,66±0,013 ^{bc}	8,65±0,28 ^d
S10	3,51±0,20 ^a	1,87±0,12 ^a	0,66±0,10 ^{bc}	13,93±0,60 ^{ab}
SL7	3,84±0,09 ^a	1,73±0,21 ^a	0,63±0,009 ^c	14,42±1,34 ^{ab}
SL10	3,93±0,22 ^a	1,63±0,15 ^a	0,61±0,008 ^c	15,69±0,11 ^a
L7	3,93±0,38 ^a	2,00±0,10 ^a	0,82±0,090 ^a	12,73±0,35 ^{bc}
L10	3,71±0,54 ^a	1,80±0,00 ^a	0,74±0,014 ^{ab}	11,47±0,25 ^c

^{a,b,c,d} Letras diferentes em uma mesma coluna indicam diferença estatística ($p < 0,05$). EST = Extrato Seco Total.

As amostras 5 e 6, que continham somente leiteiro em sua composição, apresentaram os maiores teores de minerais ($p < 0,05$). Estes resultados estão de acordo com o observado na tabela 2, na qual o leiteiro apresentou concentração superior de minerais em comparação com o soro.

Os produtos 1 e 2 apresentaram teores de cinzas significativamente

menores em comparação com a bebida 5 ($p < 0,05$), e as formulações 3 e 4 apresentaram concentrações de cinzas menores ($p < 0,05$) em comparação com as bebidas 5 e 6. Em relação ao EST, observou-se que o resultado da formulação 1 foi significativamente menor do que os verificados nas outras formulações ($p < 0,05$).

A fim de se verificar a influência das diferentes concentrações de soro e/ou leite e da quantidade de açúcar nas bebidas formuladas, durante a fermentação, o pH e a acidez dos produtos elaborados foram analisados durante este processo.

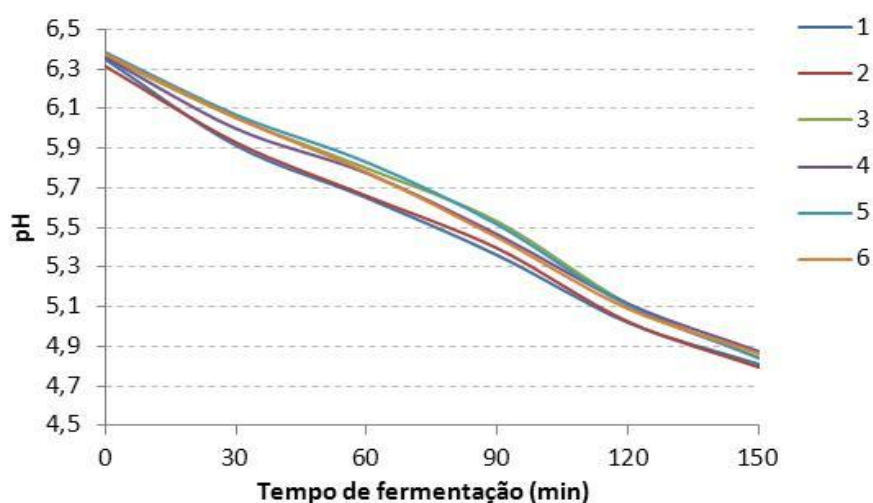


Figura 1. Valores médios de pH, obtidos durante o processo de fermentação das bebidas lácteas.

Os valores médios iniciais de pH das bebidas antes da fermentação encontravam-se entre 6,3 e 6,4 (Figura 1). Durante o processo fermentativo, os microrganismos utilizaram os carboidratos presentes nestas misturas, produzindo ácido láctico e outros ácidos orgânicos (TAMIME e ROBINSON, 1991), o que provocou uma redução significativa do pH ($p < 0,05$), atingindo valores entre 4,8 e 4,9. Segundo Fuchs et al. (2005), estes valores de pH são considerados ideais para a promoção da coagulação das proteínas do leite.

Comparando-se as diferentes formulações de bebidas elaboradas, verificou-se que não houve diferença em relação ao tempo para se atingir pH final ($p > 0,05$) (Figura 1).

Fazer o controle do pH é essencial no processo de fermentação, pois a

separação do soro está diretamente relacionada com esse parâmetro, onde se o pH ideal não for atingido, ou seja, a coalhada não seja totalmente formada, pode-se favorecer a sinérese do produto (THAMER e PENNA 2006).

Em relação aos valores de acidez durante o processo fermentativo não houve diferença entre as formulações ($p > 0,05$) até o tempo de 150 minutos, quando a bebida S10 apresentou valores em torno de 54,5 D° sendo que foi menor do que os observados em SL10 (67,5 D°), L7 (66,5 D°) e L10 (65,5 D°) ($p < 0,05$) (Figura 2).

É normal um produto apresentar acidez elevada quando no mesmo meio os valores de pH estão baixos, porém isso não é regra, pois essas variações de pH e acidez estão relacionadas com a capacidade de tamponamento de leite, determinada por suas proteínas em especial as caseínas e também a alguns sais como os fosfatos (WALSTRA et al., 2006).

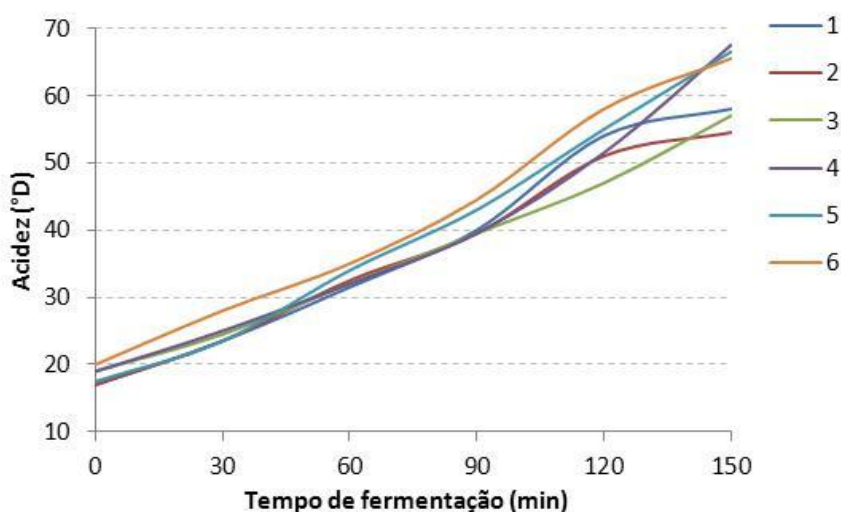


Figura 2. Valores médios de acidez, obtidos durante o processo de fermentação das bebidas lácteas.

Tabela 4. Média e desvio padrão do pH nas diferentes formulações das bebidas lácteas probióticas durante a vida de prateleira.

Bebidas	1	7	14	21	28
S7	4,29±0,15 ^a	4,27±0,23 ^b	4,21±0,09 ^c	4,19±0,09 ^c	4,16±0,05 ^c
S10	4,26±0,06 ^a	4,21±0,09 ^b	4,17±0,03 ^{ce}	4,15±0,03 ^{ce}	4,08±0,05 ^{ce}
SL7	4,24±0,02 ^a	4,19±0,05 ^b	4,20±0,03 ^c	4,21±0,03 ^c	4,12±0,07 ^{ce}
SL10	4,25±0,05 ^a	4,17±0,06 ^b	4,20±0,05 ^c	4,20±0,06 ^c	4,10±0,03 ^{ce}
L7	4,31±0,05 ^a	4,17±0,05 ^b	4,17±0,04 ^{ce}	4,17±0,05 ^{ce}	4,15±0,04 ^c
L10	4,35±0,12 ^a	4,25±0,09 ^b	4,25±0,05 ^{cd}	4,26±0,05 ^{cd}	4,21±0,08 ^{cd}

^{a,b,c,d,e} Letras diferentes em uma mesma coluna indicam diferença estatística ($p < 0,05$).

Não foi observada alteração significativa do pH durante a vida-de-prateleira das amostras ($p > 0,05$) (Tabela 4).

Dentre as diversas formulações, nos dias 14 e 21 foram verificadas diferenças nos valores de pH, que apresentaram-se maiores na bebida L10, leituras de 4,25 e 4,26, quando comparada com as formulações S10 e a L7, que apresentaram valores de pH entre 4,15 e 4,17 ($p < 0,05$). No último dia de armazenamento, a bebida L10 apresentou ser menos ácida com pH em torno de 4,21, comparadas com as formulações S10 , SL7 e SL10 que tiveram leituras entre 4,8 a 4,12 ($p < 0,05$).

Os diferentes valores de pH encontrados em algumas formulações podem ser relacionados a atividade das culturas utilizadas, a quantidade de soro de leite utilizada na elaboração das bebidas lácteas, a adição de diferentes ingredientes, assim como o tempo de armazenamento (THAMER e PENNA 2006).

Tabela 5. Média e desvio padrão da acidez ($^{\circ}$ D) nas diferentes formulações das bebidas lácteas probióticas durante a vida de prateleira.

Bebidas	1	7	14	21	28
S7	83,0±7,6 ^{ac}	78,0±8,9 ^a	82,0±7,8	83,0±7,5 ^a	92,1±9,5 ^a
S10	82,8±7,8 ^{ac}	78,2±3,1 ^a	81,9±3,3	83,1±8,6 ^a	83,8±8,4 ^a
SL7	91,6±13,6 ^c	90,3±11,4 ^b	93,1±7,9	91,1±7,2 ^{bc}	90,1±11,5 ^a
SL10	90,0±11,7 ^c	91,7±7,2 ^b	95,1±6,4	98,1±6,5 ^{bc}	96,6±7,7 ^a
L7	100,9±11,7 ^{bc}	103,7±5,3 ^{ce}	104,7±4,9	105,0±6,2 ^b	109,2±6,8 ^b
L10	89,3±13,5 ^c	93,9±13,0 ^{be}	96,2±6,1	95,9±9,1 ^{bc}	104,0±16,1 ^b

^{a,b,c,d} Letras diferentes em uma mesma coluna indicam diferença estatística ($p < 0,05$).

Os valores de acidez titulável das diferentes bebidas mantiveram-se constantes durante o tempo de armazenamento ($p > 0,05$) (Tabela 5). Comparando-se as diferentes formulações, observa-se que durante os 28 dias de armazenamento, as bebidas lácteas probióticas elaboradas somente com soro apresentaram-se menos ácidas com valores entre 78,0 a 92,1 em relação a pelo menos duas outras em cada dia de análise ($p < 0,05$).

O teor de sólidos totais pode também afetar a acidez titulável do produto pela ação tamponante de alguns constituintes do leite como as proteínas, citratos, fosfatos e lactatos isso pode ser exemplificado com o trabalho de Wolfschoon-Pombo, Granzinoli e Fernandes (1983), onde esses autores observaram em iogurtes produzidos com variados teores de sólidos totais, que com o aumento dos sólidos totais houve também um aumento da acidez titulável, isso também ocorreu em algumas formulações nesse trabalho (THAMER e PENNA, 2006).

Durante o armazenamento refrigerado das bebidas lácteas, pode ocorrer um aumento da acidez titulável, essa mudança pode acontecer, em maior ou menor proporção, dependendo da temperatura de refrigeração, do tempo de armazenamento e do poder de pós-acidificação das culturas utilizadas (GURGEL e OLIVEIRA 1995; THAMER e PENNA 2006).

Tabela 6. Média e desvio padrão da viscosidade (em Pas) nas diferentes formulações das bebidas lácteas probióticas durante a vida de prateleira.

Bebidas	1	7	14	21	28
S7	0,786±0,135 ^a	0,772±0,195 ^b	0,635±0,060 ^c	0,575±0,152 ^c	0,577±0,117 ^c
S10	0,849±0,074 ^a	0,812±0,100 ^b	0,747±0,187 ^{cd}	0,758±0,199 ^{cd}	0,894±0,021 ^d
SL7	0,910±0,003 ^a	0,913±0,006 ^b	0,896±0,024 ^d	0,847±0,101 ^d	0,869±0,068 ^d
SL10	0,909±0,002 ^a	0,909±0,001 ^b	0,920±0,005 ^d	0,910±0,004 ^d	0,913±0,015 ^d
L7	0,908±0,001 ^a	0,906±0,001 ^b	0,907±0,001 ^d	0,907±0,002 ^d	0,908±0,002 ^d
L10	0,913±0,010 ^a	0,910±0,005 ^b	0,909±0,002 ^d	0,909±0,002 ^d	0,910±0,001 ^d

^{a,b,c,d} Letras diferentes em uma mesma coluna indicam diferença estatística ($p < 0,05$)

Os valores de viscosidade das diferentes formulações variaram de 0,575 a 0,920 Pas durante o tempo de estocagem, não tendo sido observada diferença entre as formulações nas análises do dia um e sete (Tabela 6). A partir do dia 14, a formulação S7 com leitura de 0,635 Pas apresentou-se menos viscosa que comparadas com as leituras das bebidas SL7, SL10, L7 e L10 ($p < 0,05$). No dia 28, além de continuar menos viscosa que SL7, SL10, L7 e L10, a bebida S7 com leitura de viscosidade 0,577 Pas também foi significativamente menos viscosa do que a formulação L10 com leitura de 0,894 Pas.

Todas as bebidas que continham em sua formulação o leiteiro apresentaram ser mais viscosas comparadas às formulações que continham somente soro, isso pode ocorrer devido aos altos teores de fosfolípidos encontrados no leiteiro. Os fosfolípidos, por ser uma molécula anfifílica, possui a função tecnológica de melhorar a viscosidade do produto (DEWETTINCK et al., 2008; ASTAIRE et al., 2003; SODINI et al., 2006; DEWETTINCK et al., 2008; COSTA et al., 2009).

Em relação à população de microrganismos, não foi verificada influência da adição de soro e/ou leiteiro e da concentração de açúcar nas diferentes formulações ($p > 0,05$). Thamer e Penna (2005) observaram um aumento na contagem de *S. thermophilus* em bebidas lácteas probióticas, conforme os teores de soro foram elevados, porém, a variação do teor de açúcar não teve efeito significativo neste microrganismo, o que também foi verificado neste trabalho.

Tabela 7. Média e desvio padrão das populações de *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium animalis* nas formulações das bebidas lácteas.

Dia	Populações de Microrganismos (log UFC/mL)		
	<i>Streptococcus thermophilus</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Bifidobacterium animalis</i>
1	11,32 ± 2,58 ^a	13,79 ± 1,77 ^b	7,32 ± 1,39 ^d
7	10,50 ± 2,08 ^a	14,21 ± 0,58 ^b	6,48 ± 0,72 ^d
14	12,20 ± 1,07 ^a	13,69 ± 0,28 ^b	6,09 ± 0,78 ^e
21	12,01 ± 1,70 ^a	8,41 ± 0,10 ^c	5,81 ± 0,78 ^e
28	11,24 ± 1,79 ^a	3,03 ± 0,76 ^c	5,82 ± 0,66 ^e

^{a,b,c,d,e} Letras diferentes em uma mesma coluna indicam diferença estatística ($p < 0,05$).

A contagem do *S. thermophilus* nos 28 dias de prateleira não foi verificada diferença estatística durante as cinco análises feitas nesse período, tendo permanecido seus valores entre 10,50 log UFC/ml a 12,20 log UFC/ml durante todas as análises realizadas (Tabela 7). No trabalho de Moreira et al. (2000) também foi observado um bom crescimento na associação de bactérias em produtos lácteos.

L. acidophilus manteve-se constante e em altas contagens até a terceira análise. Porém, sua população sofreu diminuição nas contagens do dia 21 ($p < 0,05$), apresentando, ao final dos 28 dias, contagens de 3,03 log UFC/mL. Quanto a um bom crescimento de *L. acidophilus*, resultados parecidos foram encontrados no trabalho de Cunha et al. (2008), em bebidas lácteas contendo *S. thermophilus*, *B. animalis* e *L. acidophilus*.

A população de *B. animalis* sofreu uma diminuição no sétimo dia após a produção ($p < 0,05$) e, a partir deste dia, suas contagens permaneceram estatisticamente iguais entre 5,81 a 6,09 log UFC/ml durante todo período de análise. Segundo Lin et al. (2006), o uso de *S. thermophilus* diminui o teor de oxigênio no meio, colaborando para a estabilidade das bifidobactérias. A baixa população de *B. animalis* pode ser explicada pelos baixos valores de pH das bebidas, entre 4,0 e 4,4. Segundo Mazo et al. (2009), o pH adequado de crescimento para este probiótico está entre 6,0 e 7,0.

Uma hipótese para a diminuição das populações de probióticos a partir de 14 dias de armazenamento seria a de que o pH pode ter influenciado na sobrevivência destes microrganismos adicionados nas bebidas, pois com o decréscimo do pH a partir das análises do dia 14, pode ser notada redução nas

contagens de *L. acidophilus* e *B. animalis*. Comportamento semelhante ao verificado neste trabalho foi demonstrado por Thamer e Penna (2005), que observaram decréscimo nas populações de probióticos adicionadas quando houve abaixamento do pH.

Apesar da diminuição das populações de microrganismos probióticos durante o período de armazenamento das amostras, o número total de probióticos existente nas bebidas excedeu o mínimo necessário para que elas sejam consideradas alimentos probióticos, de 10^6 UFC/mL, atendendo a legislação brasileira e os padrões internacionais (BRASIL, 2008 ;SHAH et al., 1995; RYBKA; FLEET, 1997; VINDEROLA; REINHEIMER, 2000).

4 CONCLUSÃO

A utilização do leiteiro é uma opção na elaboração de bebidas lácteas probióticas, uma vez que sua utilização leva a um aumento na quantidade de minerais e na viscosidade dos produtos, além de não interferir no processo de fermentação e nas populações dos microrganismos adicionados.

5 REFERÊNCIAS

ALMEIDA, K. E.; BONASSI, I. A.; ROÇA, R. O. Características físicas e químicas de bebidas lácteas fermentadas e preparadas com soro de queijo Minas frescal. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 21, n. 2, p. 187-192, 2001.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of Analysis**. 17th ed. Washington, DC: AOAC, 2003.

ASTAIRE, J. C., WARD, R.; GERMAN, J.B.; JIMENEZ-FLORES, R. Concentration of polar MFGM lipids from buttermilk by microfiltration and supercritical fluid extraction. **Journal of Dairy Science**, v.86, p.2297–2307, 2003.

BAUMAN, D. E.; LOCK, A. L. Concepts in lipid digestion and metabolism in dairy cows. In: **Tri-State Dairy Nutrition Conference**, 15. 2006. West Lafayette, Cornell University, Proceeding.14p, 2006.

BRASIL. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Comissões Tecnocientíficas de Assessoramento em Alimentos Funcionais e Novos Alimentos.

Alimentos com alegações de propriedades funcionais e ou de saúde, novos alimentos/ingredientes, substâncias bioativas e probióticos: lista das alegações aprovadas. Atualizado em julho/2008. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno_lista_alega.htm>. Acesso em: 20 mar. 2012.

COSTA, M. R.; JIMÉNEZ-FLORES, R.; GIGANTE, M. L. Propriedades da membrana do glóbulo de gordura do leite. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v 20, n. 3, p 545-552, 2009.

DEWETTINCK, K.; ROMBAUT, R.; THIENPONT, N.; LE, T.T.; MESSENS, K.; VAN CAMP, J. Nutritional and technological aspects of milk fat globule membrane material. **International Dairy Journal**, v. 18, n. 5, p. 436-457, 2008.

Food and Agriculture Organization of the United Nations; World Health Organization. 2001. **Evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria**. Córdoba, 34p. Disponível em: <ftp://ftp.fao.org/es/esn/food/probioreport_en.pdf>. Acesso em: 03 fev. 2012. [Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation].

FUCHS, R.H.B. et al. Iogurte de soja suplementado com oligofrutose e inulina. **Rev. Ciênc. Tecnol. Alimentos**, v. 25, n.1, 2005.

GURGEL, M. S. C. C. A., OLIVEIRA, A. J. Avaliação das características físico-químicas do iogurte. **Leite & Derivados**, São Paulo, v. 4, n. 22, p. 38-43, 1995.

HAULY, M.C.O.; FUCHS, R.H.B. Suplementação de iogurte de soja com frutooligossacarídeos: características probióticas e aceitabilidade. **Rev. Nutrição**, Campinas, v.18, n.5, set./out. 2005.

HAUG, A.; HOSTMARK, A. T.; HARSTAD, O. M. Bovine milk in human nutrition: a review. **Lipids in Health and Disease**, v. 6, p. 25, 2007.

KOMATSU, T. R.; BURITI, F. C. A.; SAAD, S. M. I. Inovação, persistência e criatividade superando barreiras no desenvolvimento de alimentos probióticos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 44, p. 329-344, 2008.

LIN, C.F.; CHEN, C. L.; LIN, Y. S. Ceramide in apoptotic signaling and anticancer therapy. **Curr Med Chem** 13: 1609–1616, 2006.

MATHER, I. H. A review and proposed nomenclature for major proteins of the milk-fat globule membrane. **Journal of Dairy Science**, v. 83, p. 203-247, 2000.

MAZO, J. Z.; ILHA, E. C.; ARISI, A. C. M.; SANT'ANNA, E. S. Bifidobactérias: isolamento, identificação e aplicação em alimentos probióticos. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 27, n. 1, p. 119-134, 2009.

MORA, C.V.; SWENSON, P.E.; RILLTER, R.L. Functional characteristics of whey protein concentrates. **Journal of Food Science**, v.38, p.324-330, 1973.

MOREIRA, M.; ABRAHAM, A.; DE ANTONI, G. Technological properties of milks fermented with thermophilic lactic acid bacteria at suboptimal temperature. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 83, n. 3, p. 395- 400, 2000.

MORIN, P.; POULIOT, Y.; JIMÉNEZ-FLORES, R. A comparative study of the fractionation of regular buttermilk and whey buttermilk by microfiltration. **Journal of Food Engineering**, v. 77, n. 3, p. 521-528, 2006.

SAAD, S. M. I. Probióticos e prebióticos: o estado da arte. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 42, p. 53-69, 2006.

SANDERS, M. E. Probiotics: considerations for human health. **Nutrition Review**, New York, v.61, n.3, p.91-9, 2003.

SODINI I.; MORIN P.; OLABI A.; JIME´NEZ-FLORES R. Compositional and Functional Properties of Buttermilk: A Comparison Between Sweet, Sour, and Whey Buttermilk. **International Dairy Journal**, v. 89, n. 2, p. 525-536, 2006.

STATSOFT, INC. **STATISTICA for Windows** [Computer program manual]. Tulsa, OK: StatSoft, Inc. 2000.

SYMOLON, H.; SCHMELZ, E. M.; DIRCK, L. D.; MERRIL A. M. Dietary Soy Sphingolipids Suppress Tumorigenesis and Gene Expression in 1,2-Dimethylhydrazine-Treated CF1 Mice and *Apc^{Min/+}* Mice. **J. Nutrição**. 134: 5 1157-1161, 2004.

TAMIME, A. **Dairy powders and concentrated products**. West Sussex: Wiley-Blackwell, 2009.

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

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

THAMER, K. G.; PENNA, A. L. B. Caracterização de bebidas lácteas funcionais fermentadas por probióticos e acrescidas de prebiótico. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 3, p. 589-595, 2006.

TIRAPEGUI, J. ; ROGERO, M. M. . Aspectos atuais sobre ejercicio físico y nutrición. **Cuadernos de Nutrición**, v. 29, p. 165-172, 2006.

VINDEROLA, C. G.; REINHEIMER, J. A. Enumeration of *Lactobacillus casei* in the presence of *L. acidophilus*, bifidobacteria and lactic starter bacteria in fermented dairy products. **International Dairy Journal**, v. 10, n. 4, p. 271-275, 2000.

WALSTRA, P.; WOUTERS, J.T.M.; GEURTS, T.J. **Dairy Science and Technology**. 2nd Edition, Boca Raton: CRC Press. 2006.

WOLFSCHOON-POMBO, A. F., GRANZINOLLI, G. G. M., FERNANDES, R. M. Sólidos totais do leite, acidez, pH e viscosidade do iogurte. **Revista do Instituto de**

Laticínios Cândido Tostes, Juiz de Fora, v. 227, n. 37, p. 19-24, 1983

ZACARCHENCO, P.B.; MASSAGUER-ROIG, S. Properties of *Streptococcus thermophilus* fermented milk containing variable concentrations of *Bifidobacterium longum* and *Lactobacillus acidophilus*. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.37, p.338-344, 2006.

4 CONCLUSÃO

O leitelho é uma opção na elaboração de bebidas lácteas probióticas, uma vez que sua utilização leva a um aumento na quantidade de minerais e na viscosidade do produto, além de não interferir no processo de fermentação e nas populações dos microrganismos adicionados. Além disso, não foi verificada influência das diferentes quantidades de açúcar adicionadas às bebidas durante o processo de fermentação e vida-de-prateleira.

5 REFERÊNCIAS

ALMEIDA, K. E. ; BONASSI, I. A.; ROÇA, R. O. Características físicas e químicas de bebidas lácteas fermentadas e preparadas com soro de queijo Minas frescal. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 21, n. 2, p. 187-192, 2001.

ASTAIRE, J. C., WARD, R.; GERMAN, J.B.; JIMENEZ-FLORES, R. Concentration of polar MFGM lipids from buttermilk by microfiltration and supercritical fluid extraction. **Journal of Dairy Science**, v.86, p.2297–2307, 2003.

BAUMAN, D. E.; LOCK, A. L. Concepts in lipid digestion and metabolism in dairy cows. In: **Tri-State Dairy Nutrition Conference**, 15. 2006. West Lafayette, Cornell University, Proceeding.14p, 2006.

BRASIL. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Comissões Tecnocientíficas de Assessoramento em Alimentos Funcionais e Novos Alimentos. **Alimentos com alegações de propriedades funcionais e ou de saúde, novos alimentos/ingredientes, substâncias bioativas e probióticos**: lista das alegações aprovadas. Atualizado em julho/2008. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno_lista_alega.htm>. Acesso em: 20 mar. 2012.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº. 16, de 23 de agosto de 2005**. Aprova o regulamento técnico de identidade e qualidade de bebida láctea. Diário Oficial da União, Brasília, 24 ago. 2005. Seção 1, Página 7. Disponível em <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=12792>>. Acesso em: 11 ago. 2010.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº. 46, de 23 de outubro de 2007**. Adota o regulamento técnico de identidade e qualidade de leites fermentados. Diário Oficial da União, Brasília, 24 out. 2007. Seção 1, Página 5. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=18164>>. Acesso em: 11 ago. 2010.

CAMARGO, D. S.; ALVES, G.; GARCIA, S; MIZUBUTI, I. Y. Bebida fermentada a base de soro de leite e isolado protéico de soja. **Semina - Ciências Agrárias**, v. 21, n. 1, p. 45-51, 2000.

COLLADO, M. C.; MERILUOTO, J. E.; SALMINEN, S. Measurement of aggregation properties between probiotics and pathogens: in vitro evaluation of different methods. **Journal of Microbiological Methods**, v. 71, n. 1, p. 71-74, 2007.

COSTA, M. R. **Obtenção de ingrediente lácteo enriquecido em lipídeos polares a partir de leiteiro de soro**. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas-SP, 2008.

COSTA, M. R.; JIMÉNEZ-FLORES, R.; GIGANTE, M. L. Propriedades da membrana do glóbulo de gordura do leite. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v 20, n. 3, p 545-

552, 2009.

CUNHA, T. M.; CASTRO, F. P.; BARRETO, P. L. M.; BENEDET, H. D.; PRUDÊNCIO, E. S. Avaliação físico-química, microbiológica e reológica de bebida láctea e leite fermentado adicionados de probióticos. **Semina - Ciências Agrárias**, v. 29, n. 1, p. 103-116, 2008.

DEWETTINCK, K.; ROMBAUT, R.; THIENPONT, N.; LE, T.T.; MESSENS, K.; VAN CAMP, J. Nutritional and technological aspects of milk fat globule membrane material. **International Dairy Journal**, v. 18, n. 5, p. 436-457, 2008.

FOX, P. H.; McSWEENEY, P. L. H. **Dairy Chemistry and Biochemistry**. London: Chapman & Hall, 1998.

Food and Agriculture Organization of the United Nations; World Health Organization. 2001. **Evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria**. Córdoba, 34p. Disponível em: <ftp://ftp.fao.org/es/esn/food/probioreport_en.pdf.> Acesso em: 03 fev. 2012. [Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation].

FUCHS, R.H.B. et al. Iogurte de soja suplementado com oligofrutose e inulina. **Rev. Ciênc. Tecnol. Alimentos**, v. 25, n.1, 2005.

GUPTA, V.; GARG, R. Probiotics. **Indian Journal of Medical Microbiology**, v. 27, n. 3, p. 202-209, 2009.

HAULY, M.C.O.; FUCHS, R.H.B. Suplementação de iogurte de soja com frutooligosacarídeos: características probióticas e aceitabilidade. **Rev. Nutrição**, Campinas, v.18, n.5, set./out. 2005.

HAUG, A.; HOSTMARK, A. T.; HARSTAD, O. M. Bovine milk in human nutrition: a review. **Lipids in Health and Disease**, v. 6, p. 25, 2007.

KOMATSU, T. R.; BURITI, F. C. A.; SAAD, S. M. I. Inovação, persistência e criatividade superando barreiras no desenvolvimento de alimentos probióticos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 44, p. 329-344, 2008.

LEE, Y. K.; NOMOTO, K.; SALMINEN, S.; GORBACH, S. L. **Handbook of probiotics**. New York: John Wiley & Sons, Inc.. 1999.

LEE, Y. K.; SALMINEN, S. The coming age of probiotics. **Trends in Food Science and Technology**, v. 6, p. 241-245, 1995.

LIN, C.F.; CHEN, C. L.; LIN, Y. S. Ceramide in apoptotic signaling and anticancer therapy. **Curr Med Chem** 13: 1609–1616, 2006.

MACHADO, D. F.; FERREIRA, C. L. L. F.; COSTA, N. M. B.; OLIVEIRA, T. T. Efeito de probiótico na modulação dos níveis de colesterol sérico e no peso do fígado de ratos alimentados com dieta rica em colesterol e ácido cólico. **Ciência Tecnologia de Alimentos**, v. 23, p. 270-275, 2003.

MATHER, I. H. A review and proposed nomenclature for major proteins of the milk-fat globule membrane. **Journal of Dairy Science**, v. 83, p. 203-247, 2000.

MAZO, J. Z.; ILHA, E. C.; ARISI, A. C. M.; SANT'ANNA, E. S. Bifidobactérias: isolamento, identificação e aplicação em alimentos probióticos. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 27, n. 1, p. 119-134, 2009.

MEILGAARD, M.; CIVILLE, G. V.; CARR, B. T. **Sensory evaluation techniques**. 3rd ed. Boca Raton: CRC, 1999.

MOREIRA, M.; ABRAHAM, A.; DE ANTONI, G. Technological properties of milks fermented with thermophilic lactic acid bacteria at suboptimal temperature. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 83, n. 3, p. 395- 400, 2000.

MORIN, P.; POULIOT, Y.; JIMÉNEZ-FLORES, R. A comparative study of the fractionation of regular buttermilk and whey buttermilk by microfiltration. **Journal of Food Engineering**, v. 77, n. 3, p. 521-528, 2006.

OLIVEIRA, M. N.; SIVIERI, K.; ALEGRO, J. H. A.; SAAD, S. M. I. Aspectos Tecnológicos de alimentos funcionais contendo probióticos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 38, p. 1-21, 2002.

RIGUEIRA, J. C. S. **Desenvolvimento de metodologia analítica para detecção de adulteração pela adição de leite em pó e leite fluido**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, 2006.

SAAD, S. M. I. Probióticos e prebióticos: o estado da arte. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 42, p. 53-69, 2006.

SANDERS, M. E. Probiotics: considerations for human health. **Nutrition Review**, New York, v.61, n.3, p.91-9, 2003.

SANTOS, C. T.; COSTA A. R.; FONTAN, G. C. R.; FONTAN, R. C. I.; BONOMO, R. C. F. Influência da concentração de soro na aceitação sensorial de bebida láctea fermentada com polpa de manga. **Alimentos e Nutrição, Araraquara**, v. 19, n. 1, p. 55-60, jan/mar. 2008.

SGARBIERI, V. C. Propriedades fisiológicas-funcionais das proteínas do soro de leite. **Revista de Nutrição**, v. 17, n. 4, p. 397-409, 2004.

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

SIVIERI, K.; OLIVEIRA, M. Avaliação da vida-de-prateleira de bebidas lácteas preparadas com "fat replacers" (Litesse e Dairy-lo). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 22, n. 1, p. 24-31, 2002.

SODINI I.; MORIN P.; OLABI A.; JIME´NEZ-FLORES R. Compositional and Functional Properties of Buttermilk: A Comparison Between Sweet, Sour, and Whey Buttermilk. **International Dairy Journal**, v. 89, n. 2, p. 525-536, 2006.

STATSOFT, INC. **STATISTICA for Windows** [Computer program manual]. Tulsa, OK: StatSoft, Inc. 2000.

SYMOLON, H.; SCHMELZ, E. M.; DIRCK, L. D.; MERRIL A. M. Dietary Soy Sphingolipids Suppress Tumorigenesis and Gene Expression in 1,2-Dimethylhydrazine-Treated CF1 Mice and *Apc^{Min/+}* Mice. **J. Nutrição**. 134: 5 1157-1161, 2004.

TAMIME, A. **Dairy powders and concentrated products**. West Sussex: Wiley-Blackwell, 2009.

TAMIME, A. Y.; ROBINSON, R. K. Yogur. **Ciência y tecnologia**, Zaragoza. Acribia, 368 p., 1991.

THAMER, K. G.; PENNA, A. L. B. Caracterização de bebidas lácteas funcionais fermentadas por probióticos e acrescidas de prebiótico. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 3, p. 589-595, 2006.

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

THOMPSON, A. K.; SINGH, H. Preparation of liposomes from milk fat globule membrane phospholipids using a microfluidizer. **Journal of Dairy Science**, v. 89, p. 410-419, 2006.

TIRAPEGUI, J. ; ROGERO, M. M. . Aspectos atuais sobre ejercicio físico y nutrición.. **Cuadernos de Nutrición**, v. 29, p. 165-172, 2006.

VALSECHI, O. A. **O leite e seus derivados**. Araras, 2001. 36p. Disponível em <<http://www.cca.ufscar.br/~vico/O%20LEITE%20E%20SEUS%20DERIVADOS.pdf>>. Acesso em: 07 jul. 2010.

VINDEROLA, C. G.; REINHEIMER, J. A. Enumeration of *Lactobacillus casei* in the presence of *L. acidophilus*, bifidobacteria and lactic starter bacteria in fermented dairy products. **International Dairy Journal**, v. 10, n. 4, p. 271-275, 2000.

WALSTRA, P.; WOUTERS, J.T.M.; GEURTS, T.J. **Dairy Science and Technology**. 2nd Edition, Boca Raton: CRC Press. 2006.

ZACARCHENCO, P.B.; MASSAGUER-ROIG, S. Properties of *Streptococcus thermophilus* fermented milk containing variable concentrations of *Bifidobacterium longum* and *Lactobacillus acidophilus*. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.37, p.338-344, 2006.

WOLFSCHOON-POMBO, A. F., GRANZINOLLI, G. G. M., FERNANDES, R. M. Sólidos totais do leite, acidez, pH e viscosidade do iogurte. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 227, n. 37, p. 19-24, 1983.