

Elaboração de bebidas lácteas fermentadas: aceitabilidade e viabilidade de culturas probióticas

Elaboration of fermented dairy beverages: acceptability and viability of probiotic cultures

Adriana Carla Santos de Menezes Ramos¹; Tânia Lúcia Montenegro Stamford²; Erilane Castro Lima Machado³; Flávia Rodrigues Bezerra de Lima⁴; Estefânia Fernandes Garcia⁵; Samara Alvachian Cardoso Andrade²; Celiane Gomes Maia da Silva^{6*}

Resumo

Este trabalho teve por finalidade desenvolver formulações de bebidas lácteas fermentadas com cultura probiótica (*Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus thermophilus* e *Bifidobacterium bifidum*) sabor cajá, caracterizando-as quanto à composição centesimal e estabilidade durante armazenamento refrigerado por 28 dias. As bebidas lácteas foram desenvolvidas através de um planejamento fatorial 3x3, com dois fatores e três níveis cada: Polpa de cajá (15, 20 e 25%) e Soro de leite (20, 30 e 40%), gerando nove formulações. Estas formulações foram submetidas ao teste sensorial de aceitabilidade. Posteriormente, três formulações foram selecionadas e avaliadas quanto as análises microbiológicas, composição centesimal, pH e acidez titulável. Como o Índice de Aceitabilidade foi superior a 70% em todas as formulações foram selecionadas as que apresentaram maior proporção de soro de leite, ou seja, F3, F6 e F9. Quanto à composição centesimal, as formulações não apresentaram diferença significativa ($p>0,05$) para carboidratos. As bebidas lácteas demonstraram estabilidade com relação ao pH e acidez durante a estocagem refrigerada por 28 dias e resultados satisfatórios quanto à investigação de microrganismos patogênicos de acordo com a legislação vigente. A quantificação de bactérias lácticas evidenciou contagens significativas para *Lactobacillus acidophilus* e *Streptococcus thermophilus*, valores entre 11,6 a 10,2 Log UFC/mL e 8,9 a 11 Log UFC/mL, respectivamente. A espécie *Bifidobacterium bifidum* apresentou contagem inferior a 6 Log UFC/mL. Diante dos resultados obtidos, as formulações de bebidas lácteas selecionadas apresentaram viabilidade nutricional, tecnológica e sensorial.

Palavras-chave: Aceitabilidade, *Bifidobacterium bifidum*, *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus thermophilus*, soro de leite

Abstract

This work aims to develop formulations of fermented dairy beverages with probiotic cultures (*Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus thermophilus* e *Bifidobacterium bifidum*) yellow monbin

¹ Nutricionista, M.e em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal Rural de Pernambuco, UFRPE, Recife, PE. E-mail: adriana_carlamenezes@hotmail.com

² Prof^{as} Dr^{as} Associados em Nutrição, UFPE, Recife, PE. E-mail: tlmstamford@yahoo.com.br; samaraandrade@uol.com.br

³ Prof^a Dr^a Adjunto em Nutrição, UFPE, Recife, PE. E-mail: erilane@ig.com.br

⁴ Bolsista PIBIC/CNPq/UFRPE do curso de Economia Doméstica, UFRPE, Recife, PE. E-mail: flaviarblima@hotmail.com

⁵ Prof^a M.e Assistente em Nutrição, Universidade Federal de Campina Grande, UFCG, Campina Grande, PB. E-mail: estefaniafgarcia@yahoo.com.br

⁶ Prof^a Dr^a Adjunto em Ciência e Tecnologia de Alimentos, UFRPE, Recife, PE. E-mail: celianemaia@yahoo.com.br

* Autor para correspondência

flavored, to characterize the chemical composition and to evaluate the stability during refrigerated storage for 28 days. The dairy beverages were developed from an experimental design 3x3, with two factors and three levels each: yellow monbin pulp (15, 20 and 25%) and whey (20, 30 and 40%). Nine formulations were produced and submitted to a sensory acceptability test. Thereafter three selected formulations were evaluated based on their microbiological characteristics, proximate composition, pH and titratable acidity. As the acceptance was higher than 70% in all the formulations, were selected that had a higher proportion of whey. Thus, the formulations F3, F6 e F9 were selected. Considering the proximate composition, the selected formulations not differed regarding for carbohydrates. The dairy beverages showed stability with respect to pH and acidity during the shelf life of 28 days and satisfactory results as the investigation of pathogenic microorganisms within the standards established. Quantification of lactic acid bacteria evidenced high numbers to *Lactobacillus acidophilus* and *Streptococcus thermophilus*, values between 11.6 to 10.2 CFU log/mL and 8.9 to 11 CFU log/mL, respectively. The species *Bifidobacterium bifidum* presented less than 6 log/ mL CFU for the formulations. Based on these results, the selected dairy beverages formulations had nutrition, technology and sensorial feasibility.

Key words: Acceptability, *Bifidobacterium bifidum*, *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus thermophilus*, whey

Introdução

Bebida láctea fermentada é o produto lácteo resultante da mistura do leite e soro de leite, adicionado ou não de produtos ou substâncias alimentícias, fermentada mediante a ação de cultivo de microrganismos específicos. A base láctea deve representar pelo menos 51% (m/m) do total de ingredientes do produto (BRASIL, 2005). Em termos de composição geral, as bebidas lácteas têm um valor nutricional correspondente à composição do leite a partir do qual são fabricadas, além das diferenças na concentração de alguns constituintes químicos devido à tecnologia de fabricação envolvida e ao processo de fermentação (GRANDI; ROSSI, 2010).

As culturas probióticas têm sido bastante exploradas pelas indústrias de laticínios como uma ferramenta para o desenvolvimento de novos produtos funcionais (VASILJEVIC; SHAH, 2008; BALDISSERA et al., 2011). Estes microrganismos probióticos apresentam diversas características, dentre elas, a de serem seguros, capazes de aderir à mucosa intestinal e tolerante aos ácidos e a bile (DEL PIANO et al., 2006; CUNHA et al., 2008).

Diferentes estirpes de bactérias pertencentes aos gêneros *Lactobacillus*, *Streptococcus* e *Bifidobacterium* têm sido tradicionalmente usadas

em produtos lácteos fermentados. A atual tendência é usar culturas lácteas chamadas ABT (acidophilus bifidus-thermophilus), que contém *L. acidophilus*, bifidobactéria e *S. thermophilus*, cujas culturas devem suportar o processo de elaboração do bioproduto, bem como, manter a viabilidade celular das cepas de *L. acidophilus* e *Bifidobacterium bifidum* durante o armazenamento (VINDEROLA et al., 2002; ZACARCHENCO; MASSAGUER-ROIG, 2004).

É necessário, para conferir benefícios à saúde, que os microrganismos probióticos mantenham-se viáveis no alimento durante sua vida útil, estando presente em número significativo e estando viável no momento do consumo, na concentração recomendada de 6 a 8 Log UFC/mL (ONG; HENRIKSSON; SHAH, 2006; MICHAEL, PHEBUS; SCHMIDT, 2010). Outros autores sugerem para efeito terapêutico que o produto deve conter a concentração mínima de 7 a 9 log UFC / mL (OLIVEIRA et al., 2009, 2010).

Os produtos fermentados probióticos são influenciados pelas culturas utilizadas, sendo possível a formulação de lácteos fermentados probióticos com excelentes atributos sensoriais (MATTILA-SANDHOLM et al., 2002).

O uso de soro de leite associado à fermentação

por bactérias probióticas, quando administrados em quantidades adequadas, confere benefícios à saúde, além de contribuir com novas alternativas alimentares (CUNHA et al., 2009).

O Brasil oferece uma gama de frutas com sabores e aromas diferenciados, as quais podem ser uma alternativa de adição em bebidas lácteas, após o adequado processamento tecnológico. Dentre as frutas com potencial de aproveitamento está o cajá (*Spondias mombin* L.), fruta nativa do semi-árido nordestino com excelentes características relacionadas ao sabor, aroma e aparência (BORGES; MEDEIROS; CORREIA, 2009).

Objetivou-se nesta pesquisa desenvolver formulações de bebidas lácteas fermentadas com *Bifidobacterium bifidum* e *Lactobacillus acidophilus* sabor cajá, bem como, avaliar sensorialmente e caracterizar as formulações selecionadas quanto a composição centesimal e vida de prateleira a partir de análises físico-químicas, qualidade microbiológica e crescimento de bactérias lácticas.

Material e Métodos

Obtenção das matérias-primas

Para a formulação das bebidas, bem como para

a produção de soro, foi utilizado leite pasteurizado tipo “B”. O soro de leite foi obtido pelo método enzimático (FURTADO; LOURENÇO NETO, 1994) para fabricação de queijo.

A polpa de cajá foi processada a partir dos frutos do genótipo 6.3, de maior produtividade no período de coleta, adquiridos do banco de Germoplasma do Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA). Foi utilizado açúcar cristal refinado, adquirido no comércio local, para adoçar as bebidas, cultura liofilizada Bio Rich (Chr. Hansen, Valinhos, SP, Brasil) compostas pelas bactérias *Lactobacillus acidophilus* LA-5, *Bifidobacterium bifidum* BB-12 e *Streptococcus thermophilus* e leite em pó desnatado reconstituído para ativação do inóculo.

Planejamento experimental

As bebidas lácteas foram desenvolvidas através de um planejamento fatorial 3x3 (VIEIRA, 1999) com dois fatores e três níveis cada: polpa de cajá (15, 20 e 25%) e soro de leite (20, 30 e 40%), gerando nove formulações (Tabela 1). Os níveis foram escolhidos de forma a manter as formulações de acordo com a legislação vigente quanto ao mínimo de 51% de base láctea (BRASIL, 2005).

Tabela 1. Planejamento experimental fatorial 3X3 (dois fatores com três níveis cada) para elaboração de bebidas lácteas fermentadas sabor cajá.

Polpa (P)	Soro de leite (S)		
	S ₀ (20%)	S ₁ (30%)	S ₂ (40%)
P ₀ (15%)	P ₀ S ₀ (F1)	P ₀ S ₁ (F2)	P ₀ S ₂ (F3)
P ₁ (20%)	P ₁ S ₀ (F4)	P ₁ S ₁ (F5)	P ₁ S ₂ (F6)
P ₂ (25%)	P ₂ S ₀ (F7)	P ₂ S ₁ (F8)	P ₂ S ₂ (F9)

F: Formulação.

Fonte: Elaboração dos autores.

Elaboração das bebidas lácteas

As formulações foram elaboradas de acordo com as seguintes etapas: 1) Preparo do inóculo

probiótico, 2) Obtenção do soro de leite e polpa de cajá, 3) preparo das bebidas lácteas fermentadas sabor cajá.

O inóculo foi preparado utilizando a cultura de bactérias liofilizadas (marca Bio Rich®), contendo as bactérias *Bifidobacterium bifidum*, *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus thermophilus*. Foi utilizada a proporção de 400mg (1 sachê) de cultura liofilizada para 400mL de leite em pó desnatado reconstituído a 10%, e fermentado em estufa a $42\pm 1^\circ\text{C}$ por aproximadamente 4 horas. O soro de leite foi obtido de acordo com metodologia para elaboração de queijo pelo método enzimático, utilizando coalho líquido e cloreto de cálcio (FURTADO; LORENÇO NETO, 1994). A polpa de cajá foi processada utilizando-se despoldadeira semi-industrial e pasteurizada em banho térmico à 65°C por 30 minutos.

Para o processamento das bebidas lácteas houve a mistura do açúcar (12%), leite e soro de leite, com posterior homogeneização e pasteurização em banho-térmico a 65°C por 30 minutos, seguido de resfriamento a aproximadamente 40°C em banho de gelo, com posterior inoculação da cultura láctica a 10% (v/v). A fermentação foi realizada em estufa a $42\pm 1^\circ\text{C}$ por 4 horas, sendo posteriormente refrigeradas a aproximadamente 4°C , seguida das etapas de adição da polpa e homogeneização. As bebidas lácteas fermentadas foram mantidas em refrigeração a 4°C .

Análise sensorial

Esta pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa envolvendo seres humanos do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco (CEP/CCS/UFPE N° 120/10).

Com o objetivo de garantir a segurança dos alimentos a serem servidos aos provadores na análise sensorial, foram realizadas análises microbiológicas para detecção de coliformes totais e termotolerantes de acordo com metodologia descrita por Davidson, Roth e Gambrel-Lenarz (2004), sendo submetidas à análise sensorial àquelas que se apresentaram dentro dos padrões legais permitidos (BRASIL, 2005).

Com base no delineamento experimental, as nove formulações de bebidas lácteas fermentadas sabor cajá foram submetidas ao teste de aceitação no Laboratório de Análise Sensorial do Departamento de Ciências Domésticas/ Universidade Federal Rural de Pernambuco (DCD/UFPE). Foi utilizado um painel de provadores não treinados, constituído por 72 adultos de ambos os sexos em condições laboratoriais. As amostras foram servidas aos provadores em temperatura refrigerada ($4\pm 1^\circ\text{C}$), em copos descartáveis de 50 mL, com tampas, codificados com três dígitos e distribuídos aleatoriamente em dois blocos, com intervalo de dez minutos para descanso entre cada bloco. Foram servidas água e bolacha tipo água para limpeza do palato.

A aceitação quanto aos atributos cor, aroma, textura, sabor e aparência global, foram avaliados utilizando-se a escala hedônica estruturada de 9 pontos, onde 9 representou “gostei muitíssimo” e 1 “desgostei muitíssimo” (MINIM, 2006).

Calculou-se o índice de aceitabilidade (IA) para cada um dos atributos avaliados (TEIXEIRA; MEINERT; BARBETA, 1987), sendo consideradas aceitas as formulações que apresentaram IA igual ou superior a 70%.

Análises físico-químicas

As bebidas lácteas selecionadas foram levadas ao laboratório de análises físico-químicas de Alimentos em Vitória de Santo Antão/PE – UFPE – Centro Acadêmico de Vitória, para serem submetidas às análises de umidade e cinzas pelo método termogravimétrico; proteínas por Kjeldahl; lipídios por Blich Dyer e carboidratos totais por diferença dos demais constituintes (AOAC, 2002). A análise de lactose foi realizada segundo o método de redução de Fehling (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2005).

Estabilidade durante armazenamento

As formulações selecionadas foram avaliadas

nos tempos 0, 7, 14, 21 e 28 dias, sob refrigeração ($\pm 4^{\circ}\text{C}$), quanto aos parâmetros físico-químicos (pH e acidez titulável), padrões de qualidade (Coliformes/mL ou/g - $30/35^{\circ}\text{C}$ e 45°C e Bolores e leveduras) e determinação de células viáveis de *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium* e *Streptococcus thermophilus* (AOAC, 2002). O pH foi determinado utilizando-se potenciômetro e a acidez expressa em g de ácido láctico/100g (AOAC, 2002), em triplicata.

Análises microbiológicas

As análises microbiológicas inoculadas pela técnica de pour-plate foram realizadas para o grupo coliforme (DAVIDSON; ROTH; GAMBRELLENARZ, 2005) e para investigação de bolores e leveduras segundo Frank e Yousef (2004). Para quantificação do *Streptococcus thermophilus* foi utilizado o ágar M17 de acordo com Patrick et al. (2000), incubado em aerobiose a 37°C por 48 h, segundo a metodologia de Zacarchenco e Massaguer-Roig (2004). Os microrganismos probióticos *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium* foram avaliados utilizando MRS modificado com adição de 0,15% (m/v) de bile (MRS-Bile), para contagem de *L. acidophilus* e o meio MRS modificado com adição de 0,2% (m/v) de lítio e 0,3% (m/v) de propionato de sódio (MRS-LP), para quantificação de bifidobactéria (CUNHA et al., 2009). As placas com MRS-Bile e as placas com MRS-LP (Anaerocult®) foram incubadas a

37°C por 72 h, sendo as segundas em condição de anaerobiose. As contagens foram descritas em Log UFC/mL.

Análise dos resultados

Os dados foram submetidos à Análise de variância (ANOVA) e teste de Duncan (5% de significância), para comparação entre as médias, utilizando o software Statistica for Windows 7.0.

Resultados e Discussão

De acordo com a tabela 2 verifica-se que a formulação F8 obteve a maior média no atributo aparência geral e cor, diferindo significativamente ($p < 0,05$) apenas da F3 para aparência geral e de F2, F3 e F6 para cor. A F7 obteve maior nota para o atributo textura diferindo apenas de F2 e F3. Resultados contrários foram obtidos por Gomes e Penna (2009), onde não foi observada diferença significativa para os atributos aparência, cor, consistência e aroma em bebidas lácteas funcionais.

As formulações F7 e F8 que tinham as maiores proporções de polpa de cajá apresentaram as maiores notas de cor, o que pode ter favorecido a aceitação pelos provadores. De acordo com Bermúdez-Aguirre et al. (2010) a cor está relacionada ao aspecto visual do produto, que pode determinar a aceitabilidade ou rejeição de um produto, assim como a identificação do *flavour* e a preferência (BERMÚDEZ-AGUIRRE et al., 2010).

Tabela 2. Notas obtidas no teste de aceitação de bebidas lácteas fermentadas sabor cajá para os atributos de cor, aroma, textura, sabor e aparência geral seguidas do desvio padrão e Índice de aceitabilidade.

Formulações	Atributos				
	Cor	Aroma	Textura	Sabor	Aparência Geral
F1	7,12±1,42abcd (79%)	7,05±1,46ab (78%)	7,18±1,35ab (79%)	7,20±1,61a (79%)	7,17±1,28ab (79%)
F2	6,85±1,43d (76%)	6,99±1,34b (77%)	6,66±1,57bc (74%)	6,97±1,53a (77%)	6,92±1,45ab (76%)
F3	7,11±1,57bcd (79%)	6,98±1,49b (76%)	6,18±1,97c (73%)	7,21±1,56a (80%)	6,82±1,57b (75%)
F4	7,25±1,430abcd (80%)	7,25±1,28ab (80%)	7,30±1,26a (81%)	7,04±1,64a (78%)	7,19±1,31ab (79%)
F5	7,24±1,43abcd (80%)	7,21±1,46ab (80%)	7,11±1,38abc (79%)	6,89±1,67a (76%)	7,14±1,32ab (79%)
F6	7,03±1,477cd (78%)	7,05±1,43ab (78%)	6,97±1,75abc (77%)	7,12±1,46a (79%)	7,18±1,37ab (79%)
F7	7,60±1,48ab (84%)	7,55±1,17a (83%)	7,26±1,53a (80%)	7,11±1,56a (79%)	7,35±1,30a (81%)
F8	7,64±1,32a (84%)	7,28±1,59ab (80%)	7,03±1,52abc (78%)	6,87±1,76a (76%)	7,40±1,33a (82%)
F9	7,54±1,28abc (76%)	7,19±1,45ab (79%)	6,92±1,55abc (76%)	6,87±1,68 ^a (75%)	7,29±1,25ab (82%)

Médias seguida de letras iguais na vertical não diferem significativamente ao nível de 5% de significância pelo teste de Duncan ($p>0,05$).

Fonte: Elaboração dos autores.

A formulação F3 (Tabela 2) com maior proporção de soro apresentou menor média ($6,18\pm 1,97$) para atributo textura, diferindo significativamente ($p<0,05$) das formulações F1, F4 e F7, que apresentaram 20% de soro de leite, ou seja, as menores proporções de soro de leite obtiveram as maiores notas de textura. Provavelmente, o menor percentual de soro de leite favoreceu uma bebida láctea com textura mais firme. Krüger et al. (2008) avaliando bebida láctea probiótica com soro de leite e extrato hidrossolúvel de soja, obtiveram média de 7,25 para textura, valor semelhante ao encontrado nas formulações F1, F4 e F7. Apenas o atributo sabor não apresentou diferença significativa entre as formulações.

Segundo Teixeira, Meinert e Barbetta (1987) para que o produto seja considerado como aceito, em termos de suas propriedades sensoriais, é necessário que este obtenha um Índice de Aceitabilidade (IA) de no mínimo 70%. Como o Índice de Aceitabilidade

foi superior a 70% em todas as formulações (Tabela 2) e o principal objetivo da pesquisa foi alcançar um melhor aproveitamento do subproduto do queijo, foram selecionadas as formulações F3, F6 e F9, com maior percentual de soro de leite, as quais seguiram para as etapas de estabilidade durante o armazenamento e caracterização.

Santos et al. (2008) em pesquisa avaliando a influência da concentração de soro na aceitação sensorial de bebida láctea fermentada com polpa de manga também constataram que a substituição parcial do leite por soro de leite apresentou-se viável sensorial e tecnologicamente, levando ao aproveitamento de um potencial agente poluidor e aumentando a aceitação do produto.

Os resultados da composição centesimal (Tabela 3) demonstraram que a formulação F9 diferiu significativamente ($p<0,05$) de F3 e F6 em relação à umidade, que pode ser justificado por conter maior teor de polpa de cajá, possibilitando o aumento no

teor de umidade. Valores semelhantes para umidade foram relatados por Cunha et al. (2008) ao avaliarem as propriedades físico-químicas de bebidas lácteas, com 70% de leite e 30% de soro, o qual obteve um valor médio de 81,91%.

Os teores de cinzas variaram entre 0,63% a 0,74% (Tabela 3), onde F3 alcançou o maior teor de cinzas (0,74%), diferindo significativamente ($p>0,05$) de F6 e F9, devido, possivelmente, à menor concentração de polpa de cajá nesta formulação.

Thamer e Penna (2006) obtiveram valores de cinzas entre 0,53% a 0,61% na caracterização de bebidas lácteas funcionais fermentadas por probióticos, valores estes inferiores aos encontrados nesta pesquisa (Tabela 3). Os resultados da composição centesimal (Tabela 3) demonstraram que para as três formulações avaliadas houve diferença significativa ($p\leq 0,05$) para as análises de umidade, cinzas, proteínas, lipídeos e lactose, apenas o teor de carboidratos não diferiu significativamente ($p\leq 0,05$) quanto aos resultados apresentados.

Tabela 3. Composição centesimal de bebidas lácteas fermentadas sabor cajá.

Análises	Formulações		
	F3	F6	F9
Umidade (%)	81,52±0,14b	81,66±0,08b	81,87±0,02 ^a
Cinzas (%)	0,74±0,09a	0,63±0,01b	0,65±0,01b
Proteína (%)	1,55±0,07ab	1,61±0,08a	1,47±0,02b
Lipídeos (%)	0,18±0,02c	0,53±0,06a	0,42±0,03b
Carboidratos* (%)	15,80±0,05a	15,56±0,43a	15,80±0,17 ^a
Lactose (%)	5,2±0,01b	5,7±0,01a	5,3±0,01b

Médias seguidas de letras iguais na horizontal não diferem significativamente pelo teste de Duncan ($p>0,05$). *Valores estimados por diferença

Fonte: Elaboração dos autores.

Os teores de proteína encontrados para as três formulações foram superiores ao valor mínimo preconizado pela legislação vigente para bebida láctea fermentada com adição de produtos ou substâncias alimentícias (BRASIL, 2005), que é de 1%. Estes valores variaram entre 1,47 a 1,61% (Tabela 4), indicando boa adequação, logo, os valores médios encontrados são considerados satisfatórios para o produto.

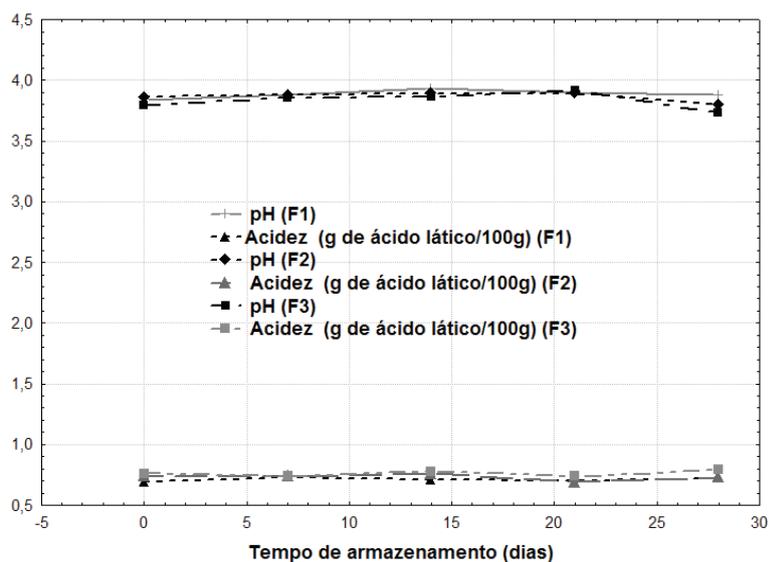
A legislação vigente para bebida láctea fermentada não faz menção quanto à recomendação para o teor de lipídeos. Neste estudo a proporção encontrada para este constituinte variou de 0,18 a 0,53% (Tabela 4), podendo ser comparado ao leite

fermentado desnatado, que pela legislação nacional (BRASIL, 2000) deve apresentar no máximo 0,50%. Estes teores reduzidos podem ser atribuídos à substituição parcial de leite por soro de leite.

Quanto aos teores de carboidratos totais, não houve diferença significativa ($p>0,05$) entre as formulações, que variaram de 15,56 a 15,80, valor superior (13,29%) foi apresentado por Cunha et al. (2008).

Um fator importante relacionado à uniformidade das bebidas lácteas sabor cajá está associado aos valores de pH e acidez. As médias para os valores durante o período de armazenamento estão descritas na (Figura 1).

Figura 1. Teores de pH e acidez (g de ácido láctico/100g) em formulações de bebidas lácteas fermentadas sabor cajá (F3, F6 e F9) durante os 28 dias de armazenamento a 4°C.



Fonte: Elaboração dos autores.

Pode-se observar que as três formulações de bebidas lácteas mantiveram-se praticamente constante quanto ao pH e acidez durante o período de armazenamento. Donkor et al. (2006) avaliando o efeito da acidificação sobre a atividade de iogurte probiótico, durante o armazenamento refrigerado, verificaram declínio significativo no pH e aumento da acidez.

Santo et al. (2010), estudando a influência da adição de polpa de açaí na melhora do perfil de ácidos graxos e vida de prateleira de iogurtes probióticos (*Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium animalis ssp. lactis* e *Bifidobacterium longum*), observaram que após 28 dias de armazenamento, o pH variou de 4,20 a 4,33, e a acidez apresentou valores de 0,94 a 1,08 g de ácido láctico/100g, sendo superiores as médias encontradas neste estudo de 3,89 (F3), 3,86 (F6) e 3,83 (F9) para pH; 0,73 (F3), 0,73 (F6) e 0,76 (F9) para acidez em g de ácido láctico/100g, o que possivelmente está associado as diferenças nas características dos frutos e na base láctea.

Os critérios microbiológicos adotados para bebida láctea fermentada (BRASIL, 2005) tratam

apenas dos parâmetros de qualidade por meio de investigação de coliformes/mL a 35°C e 45°C. Neste trabalho foram realizadas também análises de bolores e leveduras. A presença de leveduras fornece informações, tais como condições higiênico-sanitárias deficientes, multiplicação no produto em decorrência de falhas no processamento e/ou estocagem e matéria prima com contaminação excessiva (TEBALDI et al., 2007).

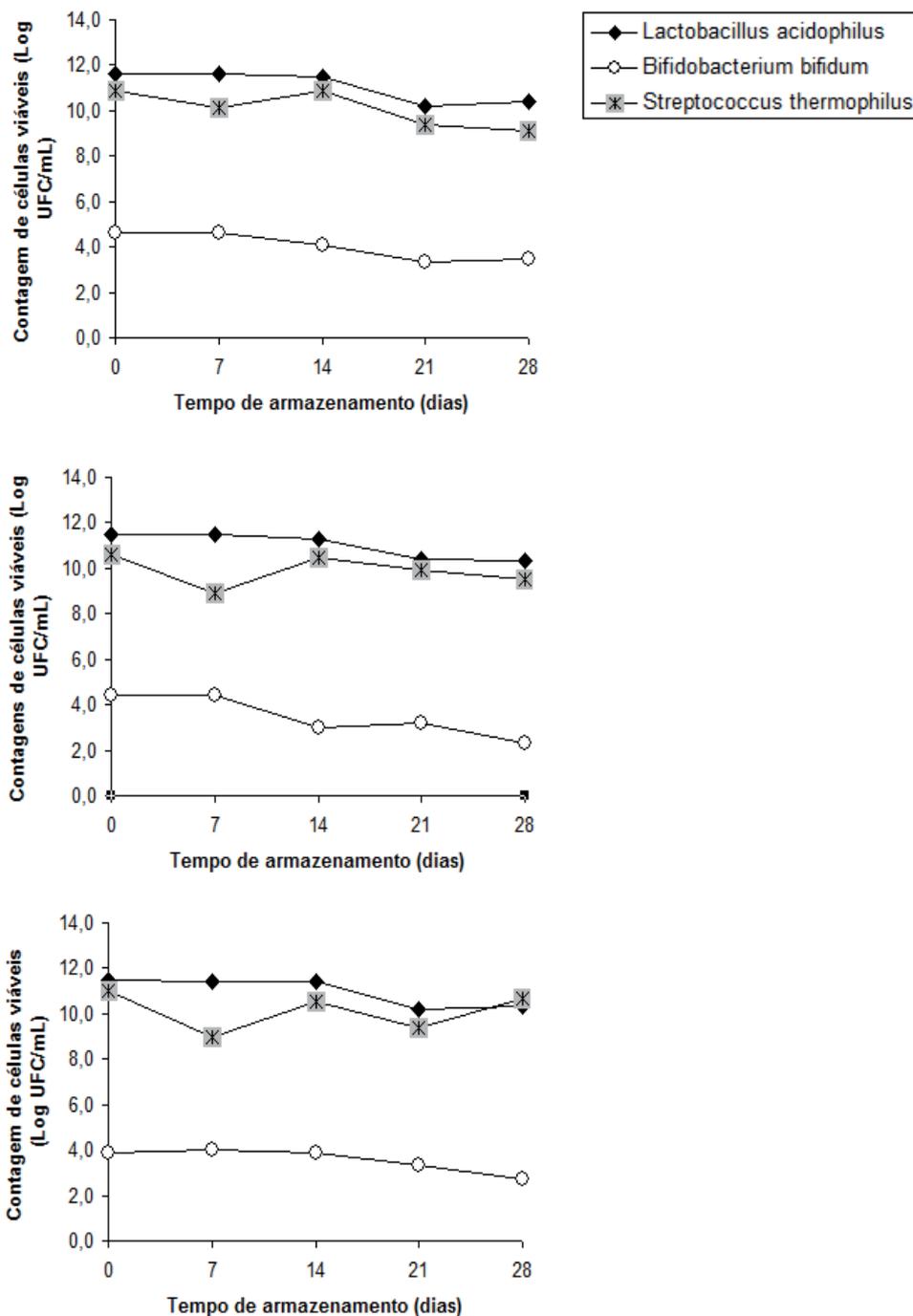
Considerando o padrão para coliformes a 35°C e 45°C durante o período de armazenamento, não se verificou contaminação por bactérias deste grupo. Quanto a análise de bolores e leveduras, não foi detectada presença nas bebidas analisadas (dados não apresentados).

Desta forma, pode-se evidenciar boas práticas de fabricação, qualidade da matéria-prima utilizada e condições adequadas de armazenamento para as bebidas lácteas fermentadas sabor cajá, durante os 28 dias de armazenamento refrigerado, estando de acordo com os padrões da legislação em vigor (BRASIL, 2005).

Na Figura 2 pode-se observar a viabilidade das

bactérias lácticas durante estocagem refrigerada das formulações F3, F6 e F9, utilizando meios específicos para cada microrganismo presente na cultura láctea.

Figura 2. Viabilidade de *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium bifidum* e *Streptococcus thermophilus* em formulações de bebidas lácteas fermentadas sabor cajá (F3, F6 e F9) durante 28 dias de armazenamento sob refrigeração a 4°C.



Fonte: Elaboração dos autores.

Neste estudo, a contagem de microrganismos apresentou resultados dentro do recomendado pela legislação vigente que é de 10^6 UFC/g, ou seja, 6 Log UFC/mL (BRASIL, 2005) para a contagem de *Lactobacillus acidophilus* e *Streptococcus thermophilus*, de até 11,6 Log UFC/mL e 11 Log UFC/mL, respectivamente. As contagens para *Bifidobacterium bifidum* apresentaram-se inferiores a 6 Log UFC/mL. De acordo com Macedo et al. (2008) este comportamento pode estar relacionado a vários fatores como acidificação do produto, nível de oxigênio no produto, permeação do oxigênio através da embalagem, compostos antimicrobianos que podem reduzir a viabilidade de bactérias probióticas. Bifidobactérias possuem tolerância menor a ácidos quando comparado a *L. acidophilus* (SHAH; LANKAPUTHRAB, 1997), o que também pode justificar a baixa contagem entre as formulações estudadas para *Bifidobacterium bifidum*.

As elevadas contagens observadas para *L. acidophilus* reforçam que os produtos avaliados são potencialmente favoráveis à promoção de efeitos terapêuticos à saúde do consumidor. Além disso, as bactérias lácticas presentes na cultura utilizada contribuíram para os aspectos tecnológicos das bebidas lácteas elaboradas.

Conclusão

As bebidas lácteas produzidas com 15, 20 e 25% de polpa de cajá e 40% de soro de leite foram aceitas pelos consumidores, e apresentaram resultados satisfatórios quanto à composição centesimal de acordo com a legislação vigente. Durante o tempo de armazenamento o pH e a acidez mantiveram-se estáveis. As análises microbiológicas demonstraram qualidade higiênico-sanitária dos produtos finais pela ausência de contaminação por bactérias do grupo coliformes e bolores e leveduras. As formulações estudadas apresentaram tanto no dia da produção como em 28 dias de armazenamento refrigerado, contagem do microrganismo probiótico *Lactobacillus acidophilus* superior ao mínimo

preconizado pela legislação vigente.

Referências

- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY - AOAC. 17. ed. Washington: AOAC, 2002. 1115 p.
- BALDISSERA, A. C.; BETTA, F. D.; PENNA, A. L. B.; LINDNER, J. D. D. Alimentos funcionais: uma nova fronteira para o desenvolvimento de bebidas proteicas a base de soro de leite. *Semina: Ciências Agrárias*, Londrina, v. 32, n. 4, p. 1497-1512, 2011.
- BERMÚDEZ-AGUIRRE, D.; YÁÑEZ, J. A.; DUNNE, C. P.; DAVIES, N. M.; BARBOSA-CÁNOVAS, G. V. Study of strawberry flavored milk under pulsed electric field processing. *Food Research International*, Malaysia, v. 43, n. 8, p. 2201-2207, 2010.
- BORGES, K. C.; MEDEIROS, A. C. L.; CORREIA, R. T. P. Iogurte de leite de búfala sabor cajá (*spondiaslutea* L.): caracterização físico-química e aceitação sensorial entre indivíduos de 11 a 16 anos. *Alimentação e Nutrição*, Araraquara, v. 20, n. 2, p. 295-300, 2009.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Legislação. SISLEGIS: Sistema de Consulta à Legislação. *Instrução Normativa* n. 16, de 23 de agosto de 2005. Aprova o regulamento técnico de identidade e qualidade de bebida látea. *Diário Oficial [da] União*, Brasília, DF, 24 ago. 2005, seção 1, p. 7.
- _____. Resolução nº5, de 13 de novembro de 2000. Oficializa os padrões de identidade e qualidade (PIQ) de leites fermentados. *Diário Oficial [da] União*, Brasília, DF, 27 nov. 2000, Seção 1, p. 9.
- 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*, Londrina, v. 29, n. 1, p. 103-116, 2008.
- CUNHA, T. M.; ILHA, E. C.; AMBONI, R. D. M. C.; BARRETO, P. L. M.; CASTRO, F. P. A influência do uso de soro de queijo e bactérias probióticas nas propriedades de bebidas lácteas fermentadas. *Brazilian Journal of Food Technology*, Campinas, v. 12, n. 1, p. 23-33, 2009.
- DAVIDSON, P. M.; ROTH, L. A.; GAMBRELL-LENARZ, S. A. Coliform and other indicator bacteria. In: WEHR, H. M.; FRANK, J. F. (Ed.). *Standard methods for the examination of dairy products*. 17. ed. Washington: American Public Health Association; 2004. Chapter 7.

- DEL PIANO, M.; MORELLI, L.; STROZZI, G. P.; ALLESINA, S.; BARBA, M.; DEIDDA, F.; LORENZINI, P.; BALLARÉ, M.; MONTINO, F.; ORSELLO, M.; SARTORI, M.; GARELLO, E.; CARMAGNOLA, S.; PAGLIARULO, M.; CAPURSO, L. Probiotics: from research to consumer. *Digestive and Liver Disease*, Louvain, v. 38, p. 248-255, 2006. Supplement 2.
- DONKOR, O. N.; HENRIKSSON, A.; VASILJEVIC, T.; SHAH, N. P. Effect of acidification on the activity of probiotics in yoghurt during cold storage. *International Dairy Journal*, Barking, v. 16, n. 10, p. 1181-1189, 2006.
- FRANK, J. F.; YOUSEF, A. E. Tests for groups of microorganisms. In: WEHR, H. M.; FRANK, J. F. (Ed.). *Standard methods for the examination of dairy products*. 17. ed. Washington: American Public Health Association, 2004. Chapter 8.
- FURTADO, M. M.; LOURENÇO NETO, J. P. M. *Tecnologia de queijos: manual técnico para produção industrial de queijos*. São Paulo: Dipemar, 1994. 118 p.
- GOMES, R. G.; PENNA, A. L. B. Características reológicas e sensoriais de bebidas lácteas funcionais. *Semina: Ciências Agrárias*, Londrina, v. 30, n. 3, p. 629-646, 2009.
- GRANDI, A. Z.; ROSSI, D. A. Avaliação dos itens obrigatórios na rotulagem nutricional de produtos lácteos fermentados. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, São Paulo, v. 69, n. 1, p. 62-68, 2010.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ - IAL. Normas analíticas de Instituto Adolfo Lutz. 4. ed. São Paulo, v. 1, 2005. 1018 p.
- KRÜGER, R. L.; KEMPKA, A. P.; OLIVEIRA, D.; VALDUGA, E.; CANSIAN, R. L.; TREICHEL, H.; DI LUCCIO, M. Desenvolvimento de uma bebida láctea probiótica utilizando como substratos soro de leite e extrato hidrossolúvel de soja. *Alimentos e Nutrição*, Araraquara, v. 19, n. 1, p. 43-53, 2008.
- MACEDO, L. N.; LUCHESE, R. H.; GUERRA, A. F.; BARBOSA, C. G. Efeito prebiótico do mel sobre o crescimento e viabilidade de *Bifidobacterium spp.* e *Lactobacillus spp.* em leite. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v. 28, n. 4, p. 935-942, 2008.
- MATTILA-SANDHOLM, T.; MYLLÄRINEN, P.; CRITTENDEN, R.; MOGENSEN, G.; FONDÉN, R.; SAARELA, M. Technological challenges for future probiotic foods. *International Dairy Journal*, Barking, v. 12, n. 2-3, p. 173-182, 2002.
- MICHAEL, M.; PHEBUS, R. K.; SCHMIDT, K. A. Impact of a plant extract on the viability of *Lactobacillus delbrueckii spp. Bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* in nonfat yogurt. *International Dairy Journal*, Barking, v. 20, n. 10, p. 665-672, 2010.
- MINIM, V. P. R. *Análise sensorial: estudos com consumidores*. Viçosa, Ed. UFV, 2006. 225 p.
- OLIVEIRA, R. P. S.; FLORENCE, A. C. R.; PEREGO, P.; OLIVEIRA, M. N.; CONVERTI, A. Use of lactulose as prebiotic and its influence on the growth, acidification profile and viable counts of different probiotics in fermented skim milk. *International Journal of Food Microbiology*, Amsterdam, v. 145, n. 1, p. 1-6, 2010.
- OLIVEIRA, R. P. S.; PEREGO, P.; CONVERTI, A.; OLIVEIRA, M. N. Growth and acidification performance of probiotics in pure culture and co-culture with *Streptococcus thermophilus*: the effect of inulin. *Food Science and Technology*, Kioto, v. 42, n. 5, p. 1015-1021, 2009.
- ONG, L.; HENRIKSSON, A.; SHAH, N. P. Development of probiotic Cheddar cheese containing *Lactobacillus acidophilus*, *Lb. casei*, *Lb. paracasei* and *Bifidobacterium spp.* and the influence of these bacteria on proteolytic patterns and production of organic acid. *International Dairy Journal*, Barking, v. 16, n. 5, p. 446-456, 2006.
- PATRICK, T. C.; BOGAARD, V. D.; KLEEREBEZEM, M.; KUIPERS, O. P.; VOS, W. M. Control of lactose transport, b-galactosidase activity, and glycolysis by ccpA in *Streptococcus Thermophilus*: evidence for carbon catabolite repression by a non-phosphoenolpyruvate-dependent phosphotransferase system sugar. *Journal of Bacteriology*, Washington, v. 182, n. 21, p. 5982-5989, 2000.
- SANTO, A. P. E.; SILVA, R. C.; SOARES, F. A. S. M.; ANJOS, D.; GIOIELLI, L. A.; OLIVEIRA, M. N. Açai pulp addition improves fatty acid profile and probiotic viability in yoghurt. *International Dairy Journal*, Barking, v. 20, n. 6, p. 415-422, 2010.
- 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, 2008.
- SHAH, N. P.; LANKAPUTHRAB, W. E. V. Improving viability of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium spp.* in yogurt. *International Dairy Journal*, Barking, v. 7, p. 349-356, 1997.
- TEBALDI, V. M. R.; RESENDE, J. G. O. S.; RAMALHO, G. C. A.; OLIVEIRA, T. L. C.; ABREU, L. R.; PICCOLI, R. H. Avaliação microbiológicas de bebidas lácteas fermentadas adquiridas no comércio varejista do Sul de Minas Gerais. *Ciência e agrotecnologia*, Lavras, v. 31, n. 4, p. 1085-1088, 2007.

TEIXEIRA, E.; MEINERT, E.; BARBETA, P. A. *Análise sensorial dos alimentos*. Florianópolis: UFSC, 1987. 182 p.

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

VASILJEVIC, T.; SHAH, N. P. Probiotics - from metchnikoff to bioactives. *International Dairy Journal*, Barking, v. 18, n. 7, p. 714-728, 2008.

VIEIRA, S. *Estatística experimental*. São Paulo: Ed. Atlas, 1999. 185 p.

VINDEROLA, C. G.; COSTA, G. A.; REGENHARDT, S.; REINHEIMER, J. A. Influence of compounds associated with fermented dairy products on the growth of lactic acid starter and probiotic bacteria. *International Dairy Journal*, Barking, v. 12, n. 7, p. 579-589, 2002.

ZACARCHENCO, P. B.; MASSAGUER-ROIG, S. Avaliação sensorial, microbiológica e de pós-acidificação durante a vida-de-prateleira de leites fermentados contendo *Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium longum* e *Lactobacillus acidophilus*. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v. 24, n. 4, p. 674-679, 2004.