DESENVOLVIMENTO DE LEITE FERMENTADO SIMBIÓTICO[1]

Development of Symbiotic Fermented Milk

MARANGONI JR, Luís
Faculdade de Jaguariúna

GATTI, Rafaela Franco
Faculdade de Jaguariúna

NUNES DA SILVA, Vera Sônia
Faculdade de Jaguariúna

MORAES, Rodrigo de Oliveira
Faculdade de Jaguariúna

Resumo: A demanda por produtos alimentícios saudáveis e nutritivos vem aumentando mundialmente, resultando em diversas pesquisas no ramo de lácteos. O objetivo deste trabalho foi desenvolver três formulações de leites fermentados com e sem adição de probiótico e amido resistente (AR) sendo, F1= formulação padrão (sem probiótico e prebiótico); F2=*Bifidobacterium* ssp +1,5% de amido de milho (contendo 0,75% de AR) e F3=*Bifidobacterium* ssp + 3% de amido de milho (contendo1,5% de AR).Os produtos obtidos foram armazenados a 5°C e avaliados quanto à viabilidade das bactérias probióticas e ao teor de AR durante os 28 dias de armazenagem. Foram realizados testes sensoriais de aceitação e intenção de compra. Os resultados mostraram que a viabilidade da cultura probiótica nos leites fermentados se manteve dentro do limite proposto pela legislação brasileira para alimentos com alegação de propriedades funcionais,com valores de 10^7 UFC.mL-1. As formulações com adição de AR não aumentaram a viabilidade das *Bifidobactérias*. O emprego de AR nas formulações F2e F3 atende à legislação para alegação de propriedades funcionais. A análise sensorial mostrou que as formulações F1 e F2 não diferiram significativamente em relação aos atributos avaliados. Os resultados demonstram grande potencial para a produção de leites fermentados simbióticos.

Palavras-Chaves: Amido resistente; leite fermentado; leite simbiótico.

Abstract: The demand for healthy and nutritious food products is increasing worldwide, resulting in various researches in the field of dairy. The objective of this study was to develop three formulations of fermented milks with and without addition of probiotic and resistant starch (RS) as follows: F1 = standard formulation (without probiotic and prebiotic); F2 = *Bifidobacterium* ssp + 1.5% corn starch (containing 0.75% RS), and F3 = *Bifidobacterium* ssp + 3% corn starch (containing 1.5% RS). The products obtained were stored at 5 ° C and evaluated for viability of the probiotic bacteria and RS content during the 28 days of storage. Sensory acceptance tests and purchase intent were performed. The results showed that the viability of the probiotic fermented milk remained within the limit proposed by Brazilian law for foods

[1] Estudo publicado em forma de poster no XIII Encontro de Iniciação Científica da Faculdade de Jaguariúna ENIC.

with functional property claim, with values of 10^7 UFC.mL^{-1}. Formulations with the addition of RS did not increase the viability of bifidobacteria. However, the use of RS in the formulations F1 and F2 meets the rules for functional property claim. The test showed that F1 and F2 do not differ significantly in relation to the attributes tested. The results demonstrate great potential for the production of synbiotic fermented milk.

key-words: Resistant starch, fermented and symbiotic milk.

INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, os produtos alimentícios têm sido vistos como difusores de bem estar e saúde e, ao mesmo tempo, como redutores de risco de algumas doenças, o que fomentou diversas pesquisas, estudos de novos componentes naturais e o desenvolvimento de novos ingredientes, possibilitando a inovação e visando atender à demanda por produtos com características de saudabilidade (KOMATSU et al., 2008).

Com essa demanda por produtos alimentícios saudáveis e/ou nutritivos, a indústria de laticínios vem reagindo para se manter competitiva no segmento de produtos funcionais, adaptando-se às mudanças em um mercado consumidor exigente, que se modifica rapidamente, mantendo a liderança tecnológica no setor de alimentos (BRANDÃO, 2002).

O mercado global de produtos probióticos foi estimado em 24,23 bilhões de dólares em 2011 e deve crescer, atingindo 36,03 bilhões de dólares em 2017, o que representaria um crescimento de 6,8% (MARKETSANDMARKETS, 2013).

Alimentos funcionais são aqueles que, além de fornecerem a nutrição básica, promovem o bem-estar e a saúde. Esse potencial é obtido através de mecanismos não previstos na nutrição convencional, devendo-se salientar que esse efeito restringe-se à promoção da saúde e pode estar associado à diminuição dos riscos de algumas doenças crônicas (SANDERS,1998; SGARBIERI et al.,1999).

Os alimentos funcionais foram inicialmente descritos no Japão, em meados da década de 1980. Desde então, observa-se um grande interesse dos consumidores por alimentos que apresentam componentes ou substâncias funcionais, ou seja, aqueles que modulam o sistema fisiológico do organismo, promovendo a saúde (GALLINA et al., 2011).

Prebióticos são definidos como um ingrediente alimentar digerível não absorvidos pelo intestino grosso, onde atua estimulando seletivamente o

crescimento ou a atividade de um número limitado de bactérias no cólon, podendo melhorar a saúde do hospedeiro (GIBSON et. al.,1995; FOOKS et.al., 1999).

Ao longo dos anos a fibra alimentar recebeu diversas definições em todo o mundo, no Brasil a alegação de fibras segundo a ANVISA, (2007) está documentado como: “As fibras alimentares auxiliam o funcionamento do intestino. Seu consumo deve estar associado a uma alimentação equilibrada e hábitos de vida saudáveis”.

Esta alegação poderá ser utilizada desde que esteja dentro dos requisitos específicos também estabelecido pela ANVISA, (2007): *“...que a porção do produto pronto para consumo forneça no mínimo 3g de fibras se o alimento for sólido ou 1,5g de fibras se o alimento for líquido”.*

No mesmo documento a ANVISA estabeleceu alegações e requisitos específicos para outros ingredientes, os quais apresentam funções e características de fibras alimentares. Neste estudo o ingrediente utilizado “amido resistente” encaixa-se dentro da categoria de dextrina resistente (ANVISA, 2007), por ser constituído de alto teor de amilose, de acordo com a ficha técnica do produto.

WALTER et. al., 2005; NUGENT, 2005 definem amido resistente (AR) como:

> *a soma do amido e de produtos de sua degradação não absorvidos no intestino delgado de indivíduos saudáveis”, e que assumi um caráter relacionado aos seus efeitos biológicos e fisiológicos, podendo ser parcialmente comparáveis aos da fibra alimentar.*

No documento FAO/WHO (2002), o termo “próbioticos” é definido como: "microrganismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas conferem um benefício à saúde do hospedeiro".

Um micro-organismo só é considerado probiótico se o mesmo for habitante normal do trato gastrointestinal, sobreviver à passagem pelo estômago e manter a viabilidade e a funcionalidade no intestino (FAO/WHO,2002; ANTUNES et al., 2007).

Portanto, produtos que contêm essa combinação sinérgica entre micro-organismos probióticos e substâncias prebióticas são denominados "simbióticos" (MAZZA,1998).

Com base no exposto acima, o presente trabalho teve como objetivo desenvolver uma formulação de leite fermentado simbiótico, bem como realizar a caracterização do produto e a viabilidade celular durante a estocagem sob refrigeração.

Material e Métodos

Material

A matéria-prima utilizada para a elaboração das diferentes formulações de leites fermentados foi: Leite Desnatado tipo A Pasteurizado; Açúcar Refinado Especial; Leite em Pó Desnatado e Amido Resistente de Milho (AR).

As culturas comerciais liofilizadas utilizadas foram: *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (Cultura tradicional); *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*.

Para contagem das bactérias probióticas, foram utilizados os seguintes meios de cultura: Ágar MRS, Dicloxacilina, Cloreto de Lítio, L-Cisteína e Anaerobac. Para determinação de bolores e leveduras utilizou-se o meio de cultura Ágar Dicloran Rosa de Bengala Cloranfenicol e para determinação de coliformes totais o meio de cultura Caldo Lauril Sulfato Triptose.

Métodos

Os leites fermentados foram elaborados no Laboratório de Alimentos da Faculdade de Jaguariúna conforme fluxograma apresentado na Figura 1, a composição das formulações estão expressas na Tabela 1. Acrescentou-se leite desnatado Tipo A, 7% de açúcar refinado, 2% de leite em pó desnatado (diluído gradativamente) para cada formulação em frasco do tipo *Schott* com capacidade para um litro, esterilizado em autoclave, na temperatura de 121°C por 15 minutos. Em seguida, os ingredientes foram homogeneizados e tratados termicamente a 85°C por 30 minutos em banho termostatizado, e resfriados até 35°C para receber as culturas lácticas em condições assépticas.

Na formulação padrão (F1) adicionaram-se 10mL de cultura láctea tradicional. Já para as formulações de leite fermentado simbiótico adicionaram-se as culturas lácticas tradicionais, probióticas e AR, sendo: (F2) 10mL de cultura láctea, 30mL de cultura probiótica e 1,5% de amido de milho (contendo 0,75% de AR) e (F3) 10mL de cultura láctea, 30mL de cultura probiótica e 3% de amido de milho (contendo1,5% de AR).

Os frascos do tipo *Schott* foram incubados em estufa BOD a 45°C até atingirem um valor de pH entre 4,6 e 4,8. O tempo de fermentação foi de 4 horas

para todos os tratamentos. As amostras foram estocadas em estufa BOD em temperatura de 5°C e avaliadas em intervalos de 7 dias durante 28 dias.

Tabela 1: Composição de ingredientes das formulações.

Ingredientes	**F1**	**F2**	**F3**
Leite desnatado tipo A	89,75%	84,50%	83,00%
Açúcar	7,00%	7,00%	7,00%
Leite em pó desnatado	2,00%	2,00%	2,00%
Amido de milho resistente	-	1,50%	3,00%
Fermento lácteo	1,25%	1,25%	1,25%
Cultura probiótica	-	3,75%	3,75%

F1: formulação padrão; F2: formulação com 1,5% de amido resistente, e F3: formulação

As avaliações higiênico-sanitárias foram determinadas pelos seguintes métodos: coliformes a 30-35°C por meio do procedimento dos tubos múltiplos ou número mais provável (NMP) e os coliformes termotolerantes a 45°C em caldo lauril sulfato avaliando-se à fluorescência em luz ultravioleta, de acordo com Wehr & Frank (2004). Os bolores e leveduras foram determinados em ágar dicloran rosa de bengala cloranfenicol com incubação por 5 dias a 25±1°C (WEHR & FRANK, 2004).

As células viáveis dos micro-organismos probióticos foram avaliadas após 1, 7, 14, 21 e 28 dias. A abertura dos frascos foi feita em cabine de biossegurança. Uma fração de 1 mL de amostra foi adicionada em tubo contendo 9 mL de solução de água peptonada estéril.

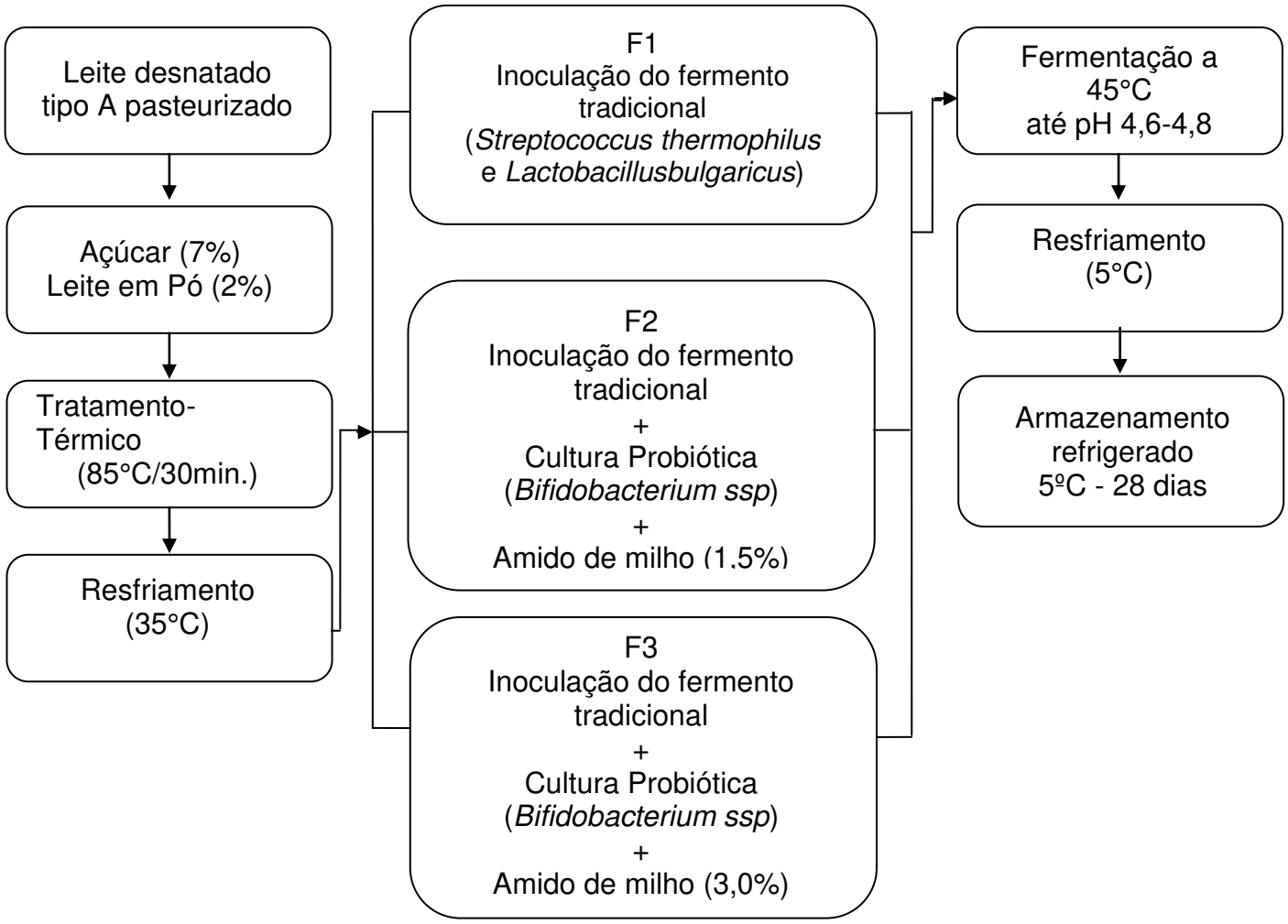

Figura1: Fluxograma do processo de fabricação das formulações de leites fermentados. F1: formulação padrão; F2: formulação com 1,5% de amido resistente, e F3: formulação com 3% de amido resistente.

Foram utilizados meio seletivo e condições favoráveis para o crescimento dos microrganismos de interesse (*Bifidobacterium ssp*). Esses microrganismos foram quantificados em Ágar MRS adicionado de cloreto de lítio, cisteína HCl e dicloxacilina, e incubados a 37º±1°C por 72 horas em anaerobiose.

Foram realizadas as seguintes análises físico-químicas no produto durante o período de estocagem: pH (via potenciômetro digital com eletrodo de vidro combinado, modelo MICRONAL B-375 e determinação de amido resistente na matéria prima e nos produtos obtidos no estudo (nos tempos 0 e 28 dias) foram realizadas em triplicatas, baseado nos métodos de HORWITZ, 2010 e GONI et all., 1996.

Os testes de aceitação e intenção de compra foram baseados nos métodos de MACFIE, & BRATCHELL, 1989 realizados com 50 alunos da Faculdade de

Jaguariúna,campus II. A ficha sensorial foi baseada em uma escala hedônica de 9 centimetros (9: gostei extremamente a 1: desgostei extremamente) para avaliar os atributos aparência, aroma, sabor, textura e impressão global. Os resultados do teste de aceitação foram avaliados por ANOVA, utilizando dois fatores (consumidor e amostra), e teste de comparação de médias Tukey, ao nível de significância de 5%. Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando o software Statistical Analysis System - SAS 9.1.2 (SAS Institute, 2008).

Para intenção de compra foi realizado um questionário utilizando uma escala de cinco pontos, onde 1: certamente compraria; 2: provavelmente compraria; 3: tenho dúvida se compraria ou não compraria; 4: provavelmente não compraria; 5: certamente não compraria.

Resultados e Discussão

Cinética da fermentação

Na produção de leites fermentados o processo de fermentação inicia-se quando as culturas do iogurte (*Streptococcus thermophilus*e *Lactobacillusbulgaricus)* convertem parte da lactose em ácido lático, resultando na diminuição do pH (4,6-4,7) até o ponto em que a caseína torna-se insolúvel e aumenta a viscosidade do leite. A produção gradativa de ácido lático começa pela desestabilização dos complexos de caseína e proteína do soro desnaturado, por solubilização do fosfato de cálcio e dos citratos (TAMIME & ROBINSON, 1991).

Como pode ser observado na Figura 2, do instante da inoculação até os 150 minutos, o pH encontrava-se elevado, quando então se nota uma intensificação na fermentação, entre os 150 e os 240 minutos, instante este em que o pH atinge 4,7, chegando ao ponto ideal para o leite fermentado.

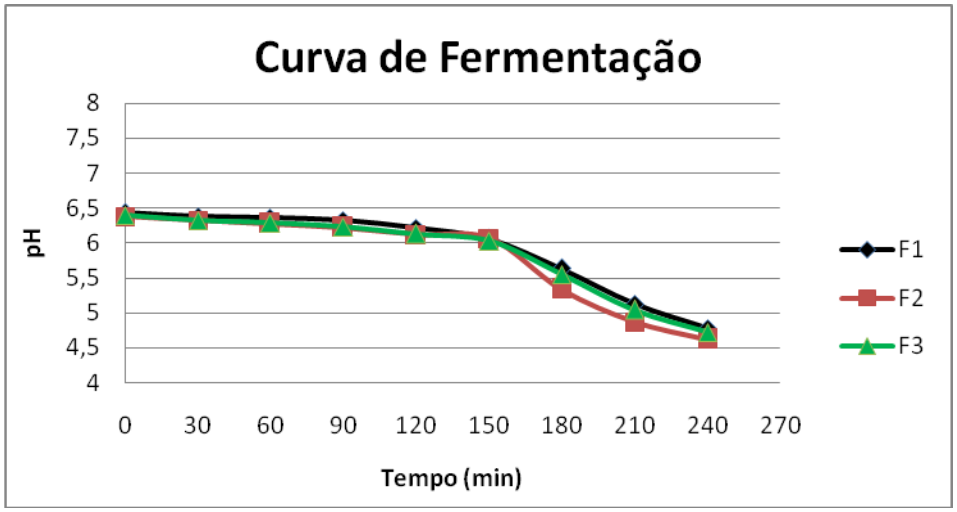

Figura 2: Cinética de fermentação (pH vs. tempo) das diferentes formulações: F1: formulação padrão; F2: formulação com 1,5% de amido resistente, e F3: formulação com 3% de amido resistente.

Avaliação da qualidade higiênico-sanitária das formulações (F1, F2 e F3)

Na Tabela 2 estão expressos os resultados das análises microbiológicas realizadas após um dia de fabricação para verificação da qualidade higiênico-sanitária das formulações.

Tabela 2: Avaliação microbiológicas das formulações.

Amostras	Contagem Coliformes 30-35ºC (NMP/mL)	Contagem Coliformes 45°C (NMP/mL)	Contagem Bolores e Leveduras (UFC/mL)
F1	< 3	< 3	< 100
F2	< 3	< 3	< 100
F3	< 3	< 3	< 100

F1: formulação padrão; F2: formulação com 1,5% de amido resistente, e F3: formulação com 3% de amido resistente.

De acordo com a Tabela 1, as contagens de coliformes a 30-35°C e 45°C e de bolores e leveduras, para leites fermentados, estão de acordo com os limites estipulados pela legislação (BRASIL, 2007). Portanto, estes resultados demonstram a boa qualidade microbiológica das amostras e os cuidados de manipulação no preparo das formulações.

Avaliação do amido resistente (AR) ao longo do período de estocagem

O teor de amido resistente (AR) encontrado na matéria prima utilizada (amido de milho) foi de 50,22% ± 0,34, e os resultados encontrados nas formulações estão apresentados na Tabela 3. Nas duas formulações (F2 e F3), os resultados encontrados no tempo zero e aos 28 dias não apresentaram diferenças estatísticas ($p<0,05$), provavelmente porque as bactérias não utilizaram o amido resistente como fonte de energia, após o período de armazenamento. Este resultado sugere que o produto poderá promover um impacto positivo após seu consumo, exercendo um efeito benéfico sobre a composição da microbiota intestinal, conferindo benefícios à saúde do hospedeiro. Do ponto de vista tecnológico observou-se que a adição de AR resultou em produtos com textura mais firme comparado com a formulação sem adição de AR.

Vieira (2011) adicionou amido resistente em uma sobremesa láctea, e conclui que a adição de AR influência diretamente na textura de produtos lácteos, obtendo maiores valores de textura.

Tabela 3: Resultado do amido resistente no tempo inicial e após 28 dias.

1 Tratamentos	**Amido Resistente (g/100g)**	
2	***2.1.1.1.1.1.1 Tempo Zero***	***2.1.1.1.1.1.2 Tempo 28º dia***
Formulação -2	0,63±0,05[a]	0,62±0,06[a]
Formulação -3	1,16±0,08[a]	1,12±0,12[a]

F2 formulação com 0,75% de amido resistente e F3 formulação com 1,5% de amido resistente. Valores na mesma coluna com índices diferentes são significativamente diferentes ($p<0,05$).

Avaliação da viabilidade dos micro-organismos probióticos nas bebidas ao longo do período de estocagem.

Na Tabela 4 estão apresentados os resultados da viabilidade das bactérias probióticas (*Bifidobactérias* ssp.) presentes nas amostras de leite fermentado (F2 e F3), ao longo de 28 dias de armazenamento refrigerado a 5°C.

Tabela 4: Contagem de probióticos (log UFC. mL^{-1}) nas formulações.

Tempo de estocagem (dias)	F2	F3
1	7,25	7,41
7	7,07	7,36
14	7,14	7,27
21	7,32	7,23
28	7,36	7,23

F1: formulação padrão; F2: formulação com 1,5% de amido resistente, e F3: formulação com 3% de amido resistente.

A viabilidade da cultura probiótica nas formulações (F2 e F3) ao longo da estocagem (Tabela 3), ficaram em torno de 10^7 UFC/mL. Esse resultado está de acordo com a legislação vigente para alimentos funcionais, que estabelece uma quantidade mínima viável para os probióticos na faixa de 10^8 a 10^9 (UFC) na recomendação diária do produto pronto para consumo, o que corresponde ao consumo de 100 g de produto contendo 10^6 a 10^7 UFC/ mL ou g(ANVISA, 2008).

De acordo com Crittenden et al., (2001) dentre as quarenta espécies de bifidobactérias estudadas, a que apresentou maior viabilidade para a produção de iogurte simbiótico, contendo 1% de amido resistente e 1% de inulina, foi a *Bifidobacterium lactis* Lafti TM B94.

Vieira (2011) desenvolveu uma formulação de sobremesa láctea simbiótica contendo 1,5 e 3,0% de AR, sendo que todas as formulações mantiveram os níveis de bactérias probióticas exigidos pela legislação (acima de 10^6UFC/g), durante os 63 dias de armazenamento, a 10º C.

Contudo as formulações F1 e F3,com adição do AR, não aumentaram a viabilidade das bifidobactérias. Porém, por se tratar de um prebiótico, trarão benefícios à saúde do hospedeiro.

Análise sensorial – Teste de Aceitação e Preferência

Teste de Aceitação

O teste de aceitação do leite fermentado simbiótico foi realizado com três amostras, sendo F1 a formulação padrão (sem adição de AR), F2 a formulação com 1,5% de amido resistente e F3 a formulação com 3,0% de amido resistente. Nesta

avaliação, está representadas as percepções sensoriais, expressando o julgamento dos provadores em relação à qualidade do produto (Tabela 5).

Tabela 5: Valores médios dos atributos avaliados no teste de aceitação (N=50) utilizando escala hedônica de 9 cm*.

Amostra	**Variáveis**				
	Aparência	Aroma	Sabor	Textura	IG
F1	6,08 ab	6,12 a	6,03 a	6,00 a	6,18 a
F2	6,52a	5,96 a	5,69 a	6,12 a	5,89 ab
F3	5,61b	5,81 a	4,81b	4,88b	5,17b

*Médias seguidas por uma mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey (5%). F1: formulação padrão; F2: formulação com 1,5% de amido resistente, e F3: formulação com 3% de amido resistente.

Para o atributo aparência, observa-se que a formulação F2 apresentou maior média de aceitação. No entanto, esta formulação não diferiu estatisticamente ($p>0,05$) da formulação F1, sendo estas duas amostras as mais aceitas pelos consumidores em relação a este atributo.

Em relação ao atributo aroma, as formulações F1, F2 e F3 não apresentaram diferença significativa ($p>0,05$) entre si. Este resultado mostra que a adição de AR não influenciou na aceitação dos consumidores de leite fermentado, em relação ao atributo aroma.

O leite fermentado F1 apresentou maior média de aceitação pelos consumidores, em relação ao atributo sabor. No entanto, esta formulação não diferiu significativamente ($p>0,05$) da formulação F2. Já a formulação F3 foi menos aceita pelos consumidores, diferindo estatisticamente das formulações F1 e F2.

Em relação ao atributo textura, as formulações F1 e F2 não diferiram significativamente ($p>0,05$) entre si e apresentaram maior aceitação pelos consumidores em relação a este atributo. Já a formulação F3 apresentou diferença significativa ($p<0,05$) em relação às formulações F1 e F2, sendo menos aceita pelos consumidores em relação ao atributo textura.

Quanto ao atributo impressão global, a formulação F1 apresentou maior média de aceitação pelos consumidores. No entanto, esta formulação não diferiu estatisticamente ($p>0,05$) da formulação F2. Já a formulação F3 apresentou a menor média de aceitação, em relação à impressão global e não diferiu significativamente ($p>0,05$) da formulação F2.

De modo geral, observa-se que as formulações F1 e F2 apresentaram as maiores médias de aceitação em relação a todos os atributos avaliados, e não diferiram entre si estatisticamente (p>0,05) ao nível de 5%. Sendo assim, a formulação padrão e a formulação com adição de 1,5% de amido resistente foram as mais aceitas pelos consumidores.

Vieira (2011) avaliou sensorialmente a adição de amido resistente em uma sobremesa láctea simbiótica, os seus resultados mostraram que a adição de AR não tiveram influência negativa no sabor da sobremesa.

Estimativas dos contrastes

A Tabela 6 apresenta os resultados das estimativas dos contrastes com os respectivos níveis de significância.Este teste compara formulações agrupadas, com o intuito de verificar as diferenças entre grupos em relação aos atributos avaliados. Os resultados apresentados mostram que a formulação F1, quando comparada com as formulações F2 e F3,apresentou diferença estatística ao nível de significância de 5% pelo teste F, em relação aos atributos sabor e impressão global.Comparando a formulação F2 com a F3, observa-se que houve diferença estatística significativa (p<0,05) em relação aos atributos aparência, sabor, textura e impressão global.

Os resultados obtidos no teste de estimativas do contraste corroboram os resultados apresentados no teste de aceitação e mostram outra maneira de avaliar os dados.

Tabela 6: Estimativas dos contrastes $m_1 - (m_2 + m_3)/2$ e $m_2 - m_3$ com respectivos níveis de significância

Contraste	**Variáveis**				
	Aparência	Aroma	Sabor	Textura	IG
F1vs F2 e F3	0,02	0,24	0,78*	0,50	0,66*
F2vs F3	0,91**	0,15	0,89*	1,24**	0,72*

* significativo ao nível de 5% pelo teste F, ** significativo ao nível de 1% pelo teste F, sem asterisco indica não significativo. F1: formulação padrão; F2: formulação com 1,5% de amido resistente, e F3: formulação com 3% de amido resistente.

Intenção de compra

A Figura 3 mostra o histograma de distribuição em relação à porcentagem de cada categoria avaliada no teste de intenção de compra de cada formulação.

Observando o histograma que mostra a intenção de compra para cada uma das três formulações, verifica-se que aformulaçãoF1 obteve maior porcentagem de intenção de compra na região “provavelmente compraria”, apresentando 40% das intenções de compra, seguida de 28% na região de “certamente compraria” e 26% de “tenho dúvidas se compraria ou não compraria”.

Em relação à formulação F2, esta apresentou 30% de intenção de compra na região “certamente compraria”, sendo a formulação que obteve melhor porcentagem nessa região, seguido de 38% na região “provavelmente compraria” e 22% na região “tenho dúvidas se compraria ou não”.

Já a formulação F3 apresentou 20% de intenção de compra na região “certamente compraria”, 32% na região “provavelmente compraria” e 20% na região “tenho dúvidas se compraria ou não”.

De maneira geral, as três formulações apresentaram resultados satisfatórios frente à intenção de compra, sendo que a maior parte dos resultados obtidos no teste de intenção de compra está nas regiões “certamente compraria”, “provavelmente compraria” e “tenho dúvidas se compraria ou não”.

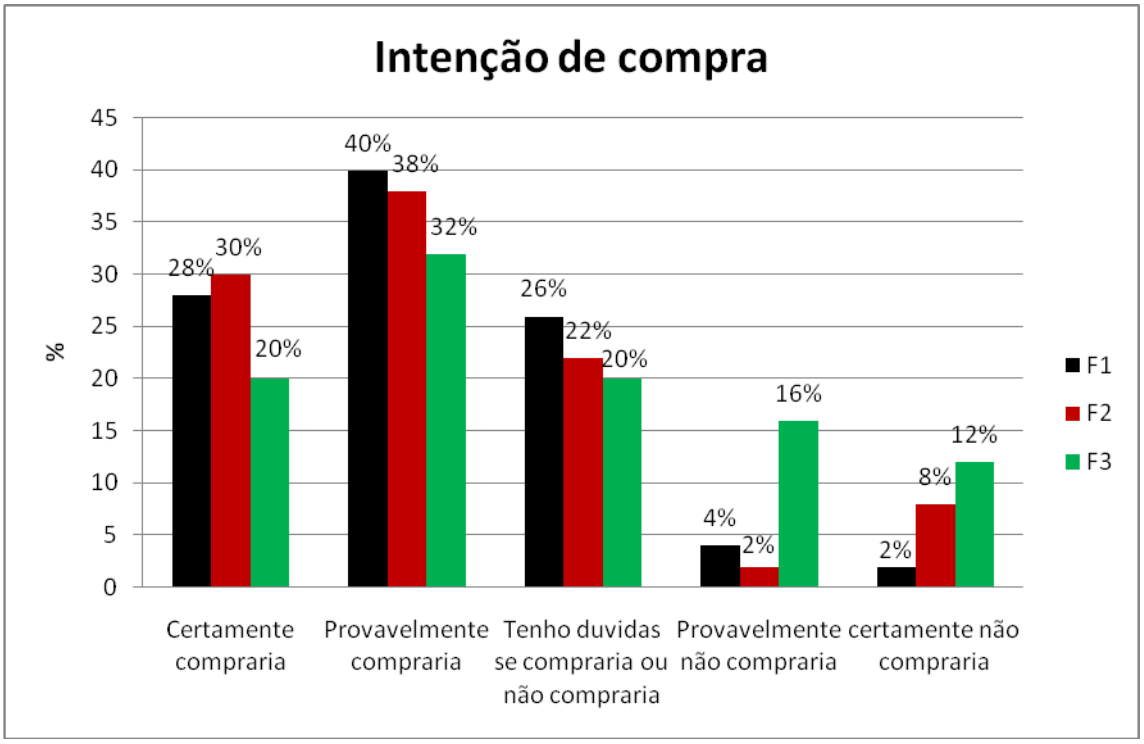

Figura 3: Resultados do teste de intenção de compra. F1: formulação padrão; F2: formulação com 1,5% de amido resistente, e F3: formulação com 3% de amido resistente.

De acordo com os resultados apresentados pela avaliação sensorial, pode-se concluir que as formulações F1 (padrão) e F2 (com adição de 1,5% de amido resistente) obtiveram maior aceitação em relação a todos os atributos avaliados, e maior intenção de compra, quando comparadas com a formulação F3.

As duas formulações, F1 e F2, apresentaram intenção de compra positiva maior que 65%, considerando as categorias "certamente compraria" e "provavelmente compraria". Este resultado mostra a boa aceitação destas formulações pelos consumidores e é uma ferramenta muito importante para o marketing e para o estudo de mercado de leites fermentados simbióticos.

Considerações finais

Os leites fermentados desenvolvidos neste estudo, empregando diferentes concentrações de amido resistente e culturas probióticas, ficaram de acordo com a legislação vigente, tanto em termos de probióticos quanto em teor de fibra alimentar.

Nos leites fermentados F2 e F3 a contagem se manteve constante em 10^7 UFC/mL durante 28 dias. A concentração de amido resistente não variou ao longo do período de estocagem, porém, por se tratar de uma fibra, promoverá um impacto positivo após seu consumo, exercendo um efeito benéfico sobre a composição da microbiota intestinal, conferindo benefícios à saúde do hospedeiro.

De maneira geral, as formulações F1 e F2 obtiveram as melhores médias de aceitação em relação a todos os atributos avaliados e apresentaram intenção de compra positiva maior que 65%. Estes resultados mostram que as formulações foram bem aceitas pelos consumidores.

A adição de amido resistente torna-se mais uma alternativa de aplicação para se obter um produto prebiótico.

Referências bibliográficas

ANTUNES, A. E. C.; SILVA, E. R. A.; MARASCA, E. T. G.; MORENO, I.; LERAYER, A. L. S. Probiotics: health promoting agents. **Nutrire: Revista da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição =Journal Brazilian Society Food Nutrition**, São Paulo, v. 32, n. 3, p. 103-122, dez. 2007.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Alimentos com Alegação de Propriedades Funcionais e ou de Saúde, Novos Alimentos/ Ingredientes, Substâncias Bioativas e Probióticos. 2007. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno_lista_alega.htm.>

Acesso em: 18/07/2014.

ANVISA, 2008. Comissões Tecnocientíficas de Acessoramento em Alimentos Funcionais e Novos Alimentos. Alimentos com Alegação de Propriedades Funcionais e ou de Saúde, Novos alimentos/Ingredientes, Substâncias Bioativas e Probióticos: lista das alegações aprovadas, Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno_lista_alega.htm>. Acesso em: 08/07/2014.

BRANDÃO, S. C. C. Novas gerações de produtos lácteos funcionais. Revista Indústria de Laticínios, v. 6, n° 7, p. 64-66, São Paulo, 2002.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n° 46, de 23 de outubro de 2007. Aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de leites fermentados. **Diário oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 2007, Seção 1, p. 4.

CRITTENDEN, R.G.; MORRIS, L.F.; HARVEY, M.L.; TRAN, L.T.; MITCHELL, H.L.; PLAYNE, M.J. Selection of a Bifidobacterium strain to complement resistant starch in a synbiotic yoghurt. **Journal of Applied Microbiology,** Australia, v.90, n.2, p. 268-278, 2001.

FAO/WHO Working Group Report on Drafting Guidelines for the Evolution of Probiotcs in Food. London, Ontario, Canada, april 30 and May 1, 2002.

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

GALLINA, D. A.; SILVA e ALVES, A. T.; TRENTO, F. K. H. S.; CARUSI, J. Caracterização de leites fermentados com e sem adição de probióticos e prebióticos e avaliação da viabilidade de bactéria láticas e probióticas durante a vida-de-prateleira. **Revista Unopar Ciência Biológicas e da Saúde**, Londrina, v. 13, n° 4, p. 239 244, 2011.

GIBSON, G. R.; ROBERFROID, M. B. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concepts of prebiotics. **Journal Nutrition**, Bethesda, v. 125, n. 6, p. 1401–1412, jun. 1995.

GONI, I.; GARCÍA-DIZ, L.; MANAS, E.; SAURA-CALIXTO, F. Analysis of resistant starch: a method for foods and food products. **Food Chemistry Journal**, Great Britain, v.56, n.4, p.445-449, 1996.

HORWITZ, W. Official methods of analysis of the association of official analytical chemists. Resistant starch in starch and plant materials, Enzymatic Digestion, Final Action 2005. Gaithersburg, Maryland, 19th ed., AOAC, 2005. Current Through Revision 3, 2010. cap. 45.4.16, met. 2002.02, p.129-131.

KOMATSU, T. R.; BURITI, F. C. A.; SAAD, S. M. I. Inovação, persistência e criatividade superando barreiras no desenvolvimento de alimentos probióticos.

Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas, São Paulo, v.44, n.3, p.330-332, jul/set. 2008.

MACFIE, H.; BRATCHELL, N. Designs to balance the effect of order of presentation and first-order carry-over effects in hall tests. Journal of Sensory Studies, v. 4, n. 2, p. 129-148, 1989.

MARKETSANDMARKETS. Probiotics Market By Products (Functional Foods, Dietary Supplements, Specialty Nutrients, Animal Feed), Applications (Regular, Therapeutic, Preventive Health Care) And Ingredients (Lactobacilli, Bifidobacteria, Yeast) – Global Trends & Forecasts To 2017. February, 2013. Disponível: <http://www.marketsandmarkets.com/Market-Reports/probiotic-market-advanced-technologies-and-global-market-69.html>
Acesso em: 18 Fev. 2014.

MAZZA, G. Functional Foods - Biochemical & Processing Aspects. Lancaster, Pennsylvania: Technomic Publishing Company, p. 460, 1998.

NUGENT, A. P. Health Properties of Resistent Starch. **Nutrition Bulletin**, Londres, v. 30, p. 27-54, 2005.

SANDERS, M. E. Overview of Functional Foods : Emphasis on Probiotic Bacteria. **International Dairy Journal**, Amsterdam, v. 8, p. 341 – 347, 1998.

SAS INSTITUTE. 2008. SAS user's guide. Statistics version 9.1.2. Cary (NC): SAS Institute Inc.

SGABIERI, V. C.; PACHECO, M. T. B. Alimentos funcionais fisiológicos. **Brazilian Journal of food Technology**, Campinas, v. 2, n. 2, p. 7-19, 1999.

TAMINE, A. Y.; ROBINSON, R. K. Yogur: ciencia y tecnologia. Zaragoza: Editorial Acribia, p. 368, 1991.

VIERA, T. A. Desenvolvimento de sobremesa láctea simbiótica. 2011. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Escola de Engenharia Mauá do Centro Universitário do Instituto Mauá de Tecnologia, São Caetano do Sul, São Paulo, 2011.

WALTER, M., Silva L., EMANUELLI T. Amido Resistente: Características Físico-Químicas, Propriedades Fisiológicas e Metodologias de Quantificação. **Ciência Rural,** Santa Maria, v. 35, n. 4, p. 974-980, jul/ago, 2005.

WEHR, H. M.; FRANK, J. F. Standard Methods for the examination of Dairy Products. 17th edition. **APHA-American Public Health Association**. Washington, EUA. 2004. 570 p.

Sobre os Autores:

Luís Marangoni Júnior

Possui graduação em Engenharia de Alimentos pela Faculdade de Jaguariúna (2014), atualmente é Mestrando em Ciências e Tecnologia de Alimentos no ITAL- Instituto de Tecnologia de Alimentos com área de concentração em Embalagens e Conservação de Alimentos, bolsista CAPES - Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior.

Rafaela Franco Gatti

Graduada em Engenharia de Alimentos pela Faculdade de Jaguariúna (2014), possui duas iniciações científicas pelo Instituto de Tecnologia de Alimentos (TECNOLAT) com ênfase em Pesquisa e Desenvolvimento de produtos lácteos. Atualmente é Assistente de Controle de Qualidade em uma indústria de produtos cárneos.

Vera Sônia Nunes da Silva

Doutora em Alimentos e Nutrição e Mestra em Ciência da Nutrição Aplicada a Tecnologia de Alimentos pela Faculdade de Engenharia de Alimentos - UNICAMP e Graduada em Química pela Universidade Metodista de Piracicaba. Pesquisadora contratada do Instituto de Tecnologia de Alimentos - ITAL e Professora da Faculdade de Jaguariúna - FAJ.

Rodrigo de Oliveira Moraes

Possui graduação em Engenharia de Alimentos pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (1996), mestrado em Engenharia Química pela Universidade Estadual de Campinas (1999) e doutorado em Ciências Farmacêuticas Sp Capital pela Universidade de São Paulo (2004) . Atualmente é Professor Assistente da Faculdade de Jaguariúna, Coordenador da Fundação Tropical de Pesquisas e Tecnologia André Tosello e Diretor Técnico da Probiom Tecnologia - P & D Experimental em Ciências Físicas e Naturais. Tem experiência na área de Engenharia Química, com ênfase em Operações Industriais e Equipamentos para Engenharia Química. Atuando principalmente nos seguintes temas: Fermentação em Estado Sólido, trichoderma stromaticum, vassoura de bruxa, crinipellis perniciosa, bioreator e formulação.