



unopar

---

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO STRICTO SENSU**  
**MESTRADO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE LEITE E DERIVADOS**

THAIS FERREIRA PETRONI BAPTISTA

**UTILIZAÇÃO DE DIFERENTES PREBIÓTICOS EM IOGURTE  
NATURAL INTEGRAL E DESNATADO: EFEITO SOBRE AS  
CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E  
MICROBIOLÓGICAS DO PRODUTO**

---

Londrina  
2017

THAIS FERREIRA PETRONI BAPTISTA

**UTILIZAÇÃO DE DIFERENTES PREBIÓTICOS EM IOGURTE  
NATURAL INTEGRAL E DESNATADO: EFEITO SOBRE AS  
CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E  
MICROBIOLÓGICAS DO PRODUTO**

Dissertação apresentada à UNOPAR, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Leite e Derivados

Orientadora: Profa. Dra. Cíntia Hoch Batista de Souza

Londrina

2017

THAIS FERREIRA PETRONI BAPTISTA

**UTILIZAÇÃO DE DIFERENTES PREBIÓTICOS EM IOGURTE  
NATURAL INTEGRAL E DESNATADO: EFEITO SOBRE AS  
CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E  
MICROBIOLÓGICAS DO PRODUTO**

Dissertação apresentada à UNOPAR, no Mestrado em Ciência e Tecnologia de Leite e Derivados, área e concentração em Ciência e Tecnologia de Leite e Derivados como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre conferido pela Banca Examinadora composta pelos seguintes membros:

---

Profa. Dra. Elsa Helena Walter de Santana  
UNOPAR

---

Profa. Dra. Karla Bigetti Guergoletto  
Universidade Estadual de Londrina

---

Profa. Dra. Cíntia Hoch Batista de Souza  
UNOPAR

Londrina, 06 de março de 2017.

Dedico esta dissertação às pessoas que me apoiaram e incentivaram durante o Mestrado, minhas amigas Heloísa Licha e Anna Laura, meu marido Flávio, meus pais e a minha orientadora Cíntia Hoch.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus pela vida e saúde para concretizar todos os objetivos e pela gravidez do meu filho Davi que foi um presente no final do mestrado.

Aos meus pais, Vera Lúcia Ferreira Petroni e Hélio Petroni, pela vida, por toda dedicação, amor e apoio em todas as minhas decisões.

A minha irmã Tatiane, pelo apoio e presença nesta etapa da minha vida.

Ao meu marido Flávio, pelo amor, incentivo e paciência em todas as minhas escolhas.

A minha amiga Heloísa Licha, pela amizade, companheirismo, ajuda e apoio na minha vida pessoal e profissional.

A minha orientadora Cíntia Hoch Batista de Souza, pela confiança, pelo conhecimento adquirido e apoio na elaboração deste projeto e pela amizade construída.

A Flávia Kawahigashi por sempre estar disposta a ajudar nas análises realizadas no laboratório e incentivo.

Aos meus colaboradores, alunos de Nutrição, Pedro, Mateus e Lucas que não mediram esforços e sacrifícios para que pudéssemos concluir este trabalho.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e a Fundação Nacional de Desenvolvimento do Ensino Superior Particular (FUNADESP) pelas bolsas de iniciação científica concedidas aos alunos de graduação que participaram deste trabalho.

A todas as pessoas que de um jeito ou de outro me ajudaram e estiveram presente durante a realização desse sonho.

BAPTISTA, T. F. P. **Utilização de diferentes prebióticos em iogurte natural integral e desnatado: efeito sobre as características físico-químicas e microbiológicas do produto.** 2017. 60 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Leite e Derivados) - Unidade Piza, UNOPAR, Londrina, 2017.

## RESUMO

Um alimento pode ser considerado funcional se for demonstrado que o mesmo pode afetar benéficamente uma ou mais funções alvo no corpo, sendo os probióticos e prebióticos incluídos neste contexto. O objetivo deste trabalho foi produzir diferentes formulações de iogurte utilizando leite integral e desnatado com adição de *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12 e prebióticos (inulina e FOS). O pH, acidez e perfil de textura dos produtos foram avaliados. Além disso, avaliou-se as populações de Bb-12 e a cinética de fermentação dos produtos. As análises microbiológicas e físico-químicas foram realizadas semanalmente durante 21 dias, durante o armazenamento refrigerado dos iogurtes (5°C). No resultado de fermentação, os iogurtes contendo prebióticos aceleraram o processo em 1 hora comparado com o controle, mantendo as contagens de Bb-12 acima de 10<sup>8</sup> UFC/g. As contagens de Bb-12 na fermentação mantiveram acima de 10<sup>8</sup> UFC/g, alcançando 10<sup>9</sup> UFC/g nos iogurtes desnatados com adição de inulina e FOS. Na análise de pH e acidez, não houve diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) nas formulações contendo prebióticos e controle. Com relação às populações de Bb-12, foram observadas populações de 10<sup>8</sup> UFC/g em ambos os iogurtes. Os iogurtes integrais contendo prebióticos apresentaram populações de 10<sup>9</sup> UFC/g. Os parâmetros de dureza, adesividade e gomosidade, apresentaram diferenças significativas dos valores em iogurtes integrais e desnatados, sendo que os menores valores foram encontrados para iogurtes desnatados, e que a adição de prebióticos em iogurtes desnatados não foi suficiente para manter a matriz do iogurte, pois a sinérese foi maior nestas formulações. No iogurte integral, os valores de dureza e gomosidade em iogurtes contendo prebióticos não apresentaram diferenças significativas ( $p < 0,05$ ). A adesividade apresentou-se maior no iogurte contendo FOS apresentando diferença significativa ( $p > 0,05$ ) no 7° e 21° dia de armazenamento. Estes resultados demonstraram que Bb-12 pode ser adicionado à esta matriz alimentar e que a suplementação com prebióticos não afetou a viabilidade de Bb-12, mantendo os valores de pH e acidez dentro do padrão recomendado pela legislação. Além disto, a inulina melhorou os parâmetros de textura em iogurtes desnatados, comparado com o FOS, apresentando diferenças significativas nos valores ( $p < 0,05$ ).

**Palavras-chave:** Alimentos funcionais. Fermentação. *Bifidobacterium*.

BAPTISTA, T. F. P. **Utilização de diferentes prebióticos em iogurte natural integral e desnatado: efeito sobre as características físico-químicas e microbiológicas do produto.** 2017. 60 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Leite e Derivados) - Unidade Piza, UNOPAR, Londrina, 2017.

## ABSTRACT

A food may be considered functional if it is shown that it can beneficially affect one or more target functions in the body, with probiotics and prebiotics being included in this context. Yogurts have been reformulated to include probiotic strains and prebiotic fibres in addition to conventional yogurt organisms because they confer benefits to consumer health. The objective of this work was to produce different yogurt formulations using whole milk and skimmed milk with addition of *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* and prebiotics and 2% inulin and FOS, besides evaluating the fermentation, analysing pH and acidity, Bb-12 counts and texture. Probiotic, pH, acidity and texture viability analyses were carried out weekly for 21 days during storage of the yogurts (5°C). In the fermentation result, yogurts containing prebiotics accelerated the yogurt fermentation process in 1 hour compared to the control, maintaining the Bb-12 counts above 10<sup>8</sup> CFU/g. The Bb-12 counts in the fermentation maintained above 10<sup>8</sup> CFU/g, reaching 10<sup>9</sup> CFU/g in the skimmed yogurt with addition of inulin and FOS. In the analysis of pH and acidity, there were no significant differences (p<0.05) in formulations containing prebiotics and control. In relation to the Bb-12 populations, they presented 10<sup>8</sup> CFU/g values in whole and skimmed yogurts, reaching 10<sup>9</sup> CFU/g in the prebiotic-containing yogurts, but this value did not present a significant difference (p<0.05). The parameters of hardness, adhesiveness and gumminess showed significant differences in the values of whole and skimmed yogurts. The lowest values were found for skimmed yoghurts and the addition of prebiotics in skimmed yoghurts was not enough to maintain the yoghurt matrix, because syneresis was higher in these formulations. In the yogurt, the values of hardness and gumminess in yogurts containing prebiotics did not present significant differences (p<0.05) and adhesiveness was higher in yogurt containing FOS, presenting a significant difference (p> 0.05) in 7 and 21st day of storage. These results demonstrate that Bb-12 is feasible for insertion into this food matrix and that the addition of prebiotics does not affect the viability of Bb-12, keeping pH and acidity values within the standard recommended by the legislation. In addition, inulin improved the texture parameters in skimmed yoghurts, compared to FOS, showing significant differences in the values (p<0.05).

**Key words:** Functional food. Fermentation. *Bifidobacterium*.

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO .....	8
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	9
<b>2.1 Alimentos funcionais.....</b>	<b>9</b>
<b>2.2 Iogurte.....</b>	<b>10</b>
<b>2.3 Probióticos .....</b>	<b>12</b>
2.3.1 Bifidobactéria .....	14
2.3.2 <i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>lactis</i> Bb-12 .....	15
<b>2.4 Prebióticos .....</b>	<b>16</b>
2.4.1 Inulina.....	17
2.4.2 Fruto-oligossacarídeos.....	19
3. OBJETIVOS .....	22
<b>3.1 Objetivo geral.....</b>	<b>22</b>
<b>3.2 Objetivos específicos .....</b>	<b>22</b>
REFERÊNCIAS.....	23
4. ARTIGO.....	32
CONCLUSÃO GERAL .....	59



## 1 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos houve um interesse maior da sociedade em consumir alimentos saudáveis que além de garantir o valor nutritivo, beneficiam a saúde do consumidor, podendo desempenhar um papel benéfico na redução do risco de doenças crônicas.

Para que o consumidor de fato obtenha os efeitos benéficos de um alimento funcional é necessário o consumo regular destes alimentos. Além disso é importante que mantenha uma alimentação equilibrada associada à prática de atividades físicas. Assim, a indústria alimentícia observou a necessidade de oferecer ao consumidor alimentos que apresentem em sua formulação compostos que têm efeito comprovado sobre a saúde.

Entre estes compostos, se destaca o uso de probióticos, que dentre outros efeitos, beneficiam o consumidor na melhora das funções gastrointestinais, reduzindo o risco de constipação e o risco de aparecimento de doenças como, por exemplo, o câncer de cólon. Além dos probióticos, se enquadram nesta categoria de alimentos funcionais os prebióticos como os fruto-oligosacarídeos e a inulina, que são utilizados como substrato pela microbiota intestinal saudável, favorecendo sua multiplicação e conseqüentemente seus efeitos benéficos locais e sistêmicos. Na indústria de alimentos, os prebióticos também são utilizados como substituto de açúcar e gordura, para elaboração de produtos com menor valor calórico, contribuindo para uma tendência do mercado em disponibilizar produtos que atendam a população que procura produtos considerados *diet* e *light*.

Nos últimos 20 anos, a fabricação de iogurte no Brasil cresceu de maneira considerável, com registro em 2004 de uma produção média de 400 mil toneladas por ano, o que representa 76% do total de produtos lácteos (FERREIRA, 2011). Entretanto, entre 2010 a 2015, a receita dobrou de 7 bilhões para 14 bilhões. O principal motivo, além da elevação da renda média das famílias, é a conscientização sobre a necessidade de hábitos alimentares saudáveis através do consumo de produtos funcionais, sendo o iogurte uma boa matriz alimentícia para adição de compostos funcionais, podendo, desta forma, oferecer aos produtos inovadores, diferenciados na textura e sabor e que ao mesmo tempo ofereçam nutrientes que beneficiem a saúde e bem-estar do consumidor.

## 2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

### 2.1 Alimentos funcionais

Com o processo de desenvolvimento da indústria e pela facilidade em consumir produtos industrializados, houve um desequilíbrio na qualidade de vida da população através da má alimentação. Este desequilíbrio associado a uma vida estressante resultou em aumento de doenças crônicas cardiovasculares e degenerativas.

Devido aos altos índices destas doenças relacionadas à má alimentação, houve um interesse maior da população em consumir alimentos considerados funcionais, pelo fato de que estes alimentos proporcionam benefícios à saúde do consumidor. Segundo Sanders (1998), algumas causas são responsáveis pelo aumento da procura por alimentos funcionais. Dentre essas causas está a conscientização da população sobre o efeito da alimentação na saúde e prevenção de doenças.

O termo alimento funcional foi primeiramente descrito no Japão em meados dos anos 80 em um contexto de promoção de saúde, para reduzir gastos relacionados com a saúde pública (ARAI, 1996). Em 1991, a denominação “Alimentos Funcionais” foi legalmente aprovada de acordo com o sistema “Alimento Destinado a Uso Específico de Saúde” (Food for Specific Health Use – FOSHU). Este sistema foi utilizado para prevenir e reduzir os efeitos das doenças relacionadas ao estilo de vida (MORAES; COLLA, 2006). Os alimentos funcionais promovem a saúde, melhorando o bem-estar físico e mental e reduzindo o risco de aparecimento de doenças crônico-degenerativas (MITSUOKA, 2014).

Os alimentos identificados como funcionais para FOSHU são utilizados para promover a saúde e efeitos fisiológicos benéficos quando consumidos como parte de uma dieta normal, devendo estar na forma de alimentos comuns, não na forma de comprimidos ou cápsulas (ROBERFROID, 2000). O alimento funcional é utilizado para prevenção do aparecimento de doenças e não como tratamento para uma doença em fase de desenvolvimento (ARAI, 1996). Para Roberfroid (2005), a principal função da dieta é fornecer nutrientes e dar ao consumidor a sensação de satisfação e bem-estar, além de garantir a saúde, reduzindo o risco de aparecimento de doenças.

No Brasil, de acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), os ingredientes que possuem alegação de funcionalidade são: ácidos graxos (EPA e DHA), carotenoides (licopeno, luteína e zeaxantina), fibras alimentares

(fibras alimentares, beta-glucana em farelo de aveia, aveia em flocos e farinha de aveia, dextrina resistente, fruto-oligossacarídeo - FOS, goma guar parcialmente hidrolisada, inulina, lactulose, polidextrose, psillium (ou psyllium), quitosana, fitoesteróis, polióis (manitol, xilitol e sorbitol), probióticos e proteína de soja (ANVISA, 2016).

O alimento ou ingrediente que possuir classificação de “alegação de propriedades funcionais ou de saúde” pode, além de prover funções nutricionais básicas, produzir efeitos metabólicos, fisiológicos e/ou benéficos para saúde do consumidor, devendo ser seguro para o consumo sem supervisão médica. Os probióticos e prebióticos são aditivos alimentares que compõem a categoria de alimentos funcionais, exercendo efeitos benéficos sobre a microbiota intestinal, contribuindo para a saúde do consumidor com efeitos locais e/ou sistêmicos (OLIVEIRA et al., 2002).

## 2.2 Iogurte

O iogurte é um dos alimentos conhecidos e consumidos há mais de 4.500 anos em todo o mundo. Este alimento é rico em proteínas, cálcio, fósforo, vitaminas e carboidratos. O consumo do iogurte está relacionado à imagem de positiva de alimento saudável e nutritivo (FERREIRA et al., 2001). Não há nenhum registro sobre sua origem, porém acredita-se ter ocorrido próxima a região montanhosa do Mediterrâneo, pois os povos nômades deste local atravessavam o deserto levando o leite cru acondicionado em bolsas confeccionadas com pele de cabra e transportadas por camelos. O contato das bolsas com o corpo dos camelos oferecia ótimas condições de temperatura para o crescimento de bactérias produtoras de ácido láctico. Ao consumir o leite, os nômades encontravam um produto de sabor agradável (TRIBBY, 2009).

A Bulgária foi um dos primeiros países a consumir o iogurte e a divulgar este alimento para o restante do mundo. Nos anos 1950 o iogurte aumentou sua popularidade por ser considerado um alimento bom para a saúde (RIBEIRO et al. 2010).

Iogurte é o produto resultante da coagulação do leite, cuja fermentação se realiza pelas bactérias ácido-láticas *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. Outras bactérias ácido lácticas podem ser

utilizadas no processo de fabricação, contribuindo para as características do produto final (BRASIL, 2007).

As bactérias que realizam a fermentação do iogurte são bactérias homofermentadoras, que degradam a lactose transformando-a principalmente em ácido láctico, causando o aumento da acidez. A redução do pH de 5,2 para 4,6 em temperatura de 40 a 44°C no período entre 4 e 5 horas, desestabiliza as micelas de caseína proporcionando a coagulação das proteínas do leite, conferido textura e sabor levemente ácido ao produto. O leite já coagulado é rapidamente resfriado para cessar o processo de fermentação. No início do processo de fermentação do iogurte, o pH favorece a multiplicação de *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*. Conforme a acidificação do meio (iogurte) aumenta pela produção de ácido láctico, ocorre a multiplicação de *Lactobacillus bulgaricus*. Este micro-organismo possui capacidade proteolítica, o que influencia no sabor, textura e aroma do iogurte (VAN DER WATER, 2003).

A legislação brasileira determina que para ser considerado um iogurte, o produto deve apresentar no mínimo  $10^7$  UFC/g de micro-organismos viáveis. Com relação a matéria gorda o iogurte pode ser classificado da seguinte maneira: com creme (base láctea com matéria gorda de 6,0g/100g); integral (base láctea com matéria gorda mínima de 3,0g/100g); parcialmente desnatado (base láctea com matéria gorda máxima de 2,9g/100g) e desnatado (base láctea com matéria gorda máxima de 0,5g/100g) (BRASIL, 2000).

Os iogurtes foram reformulados para incluir cepas vivas de *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium bifidus*, em adição aos micro-organismos já presentes no iogurte convencional. Estes iogurtes podem ser chamados de bio-iogurte, pois a adição de micro-organismos probióticos conferem benefícios adicionais à saúde do consumidor. A adição das cepas probióticas nestes iogurtes é realizada antes da fermentação, simultaneamente à adição das culturas convencionais, também chamadas de culturas do iogurte (LOURENS-HATTINGH; VILJOEN, 2001).

Para Parvez et al. (2006), a ação dos probióticos para elaboração de produtos lácteos pode resultar em melhora da conservação do leite, pela produção de ácido láctico e de outros compostos antimicrobianos, além de favorecer a produção de compostos aromáticos como acetaldeído em iogurtes e queijos e outros metabólitos como os exopolissacarídeos, que podem alterar as propriedades sensoriais e de textura dos produtos, tornando-os melhor aceitos pelos consumidores. Contudo, é

importante destacar que a adição de probióticos aos alimentos não deve alterar suas características sensoriais e físico-químicas ao longo do armazenamento a ponto de descaracterizá-los (ROY, 2005; SOUZA et al., 2008).

### 2.3 Probióticos

Probióticos “são micro-organismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios ao hospedeiro” (HILL et al., 2014). Para ser classificado como probiótico, dentre vários critérios, o micro-organismo deve sobreviver à passagem pelo ambiente ácido do estômago, resistir à presença de bile no intestino, interagir com a mucosa do hospedeiro e não conferir riscos à sua saúde (TANRIOVER; AKSOY; UNAL, 2012; VANDENPLAS et al., 2015).

Anteriormente, a ANVISA apresentava em sua página a lista de micro-organismos reconhecidos como probióticos sendo eles: *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei Shirota*, *Lactobacillus casei variedade rhamnosus*, *Lactobacillus casei variedade defensis*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactococcus lactis*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium animalis* (incluindo a subespécie *B. lactis*), *Bifidobacterium longum* e *Enterococcus faecium* (ANVISA, 2008). Em 22 de dezembro de 2016 a lista de alimentos com alegações de propriedades funcionais e ou de saúde foi atualizada, sendo que os nomes dos micro-organismos não são, atualmente, apresentados pela ANVISA (ANVISA, 2016).

Para o produto ser considerado probiótico, deve atender alguns requisitos específicos, sendo que a quantidade mínima estabelecida para exercer propriedade funcional, deve ser comprovada no final do prazo de validade do produto e nas condições de uso, armazenamento e distribuição (ANVISA, 2016).

A microbiota intestinal quando em equilíbrio, impede que micro-organismos potencialmente patogênicos nela presentes exerçam seus efeitos patogênicos. Por outro lado, o desequilíbrio dessa microbiota pode resultar na proliferação de patógenos, com consequente infecção bacteriana (ZIEMER; GIBSON, 1998). Bactérias das espécies *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* são capazes de manter o equilíbrio na microbiota intestinal, devido à produção de diferentes compostos como peróxido de hidrogênio, ácido láctico e acético. O aumento da acidez do intestino, pode impedir a proliferação de micro-organismos patogênicos (FOOKS; GIBSON, 2002). Segundo Fuller (1989), os mecanismos de ação dos probióticos ocorrem através da

diminuição do número de bactérias patogênicas por produção de substâncias antibacterianas, competição por nutrientes e por sítios de adesão na superfície epitelial do intestino.

São vários os efeitos para a saúde atribuídos aos probióticos. Alguns dos efeitos documentados são: menor frequência e duração da diarreia associada a antibióticos (*Clostridium difficile*) (HICKSON et al., 2007), infecção por rotavírus e quimioterapia; estimulação da atividade humoral e celular e diminuição de metabólitos desfavoráveis, como por exemplo, amônio e enzimas pró-cancerígenas no cólon (SCHREZENMEIR; VRESE, 2001); sintomas de intolerância à lactose (MUSTAPHA et al., 1997), redução do colesterol (PEREIRA et al., 2003), tumores colorretais (ISHIKAWA et al., 2005); favorecimento da absorção do cálcio e síntese de vitaminas (FULLER et al., 1992), síndrome do intestino irritável (NOBAEK et al., 2000), doenças inflamatórias do intestino (MATSUMOTO et al., 2005), infecção por *Helicobacter pylori* (CANDUCCI et al., 2010) e candidíase (HILTON et al., 1992; VITALI et al., 2007; LEÃO et al., 2015). Contudo, porém é importante salientar que não existem cepas probióticas que promovem todos os benefícios citados conjuntamente (SHAH, 2007).

Dentre as cepas mais utilizadas em produtos lácteos, estão os micro-organismos *Lactobacillus johnsonii*, *Lactobacillus rhamnosus* GG (ATCC 53103), *Lactobacillus casei* Shirota, *Lactobacillus acidophilus* NCFB 1478, *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* (Bb-12) e *Lactobacillus reuteri* (CHANDAN; KILARA, 2013).

Um probiótico para ser classificado como possuindo boas propriedades tecnológicas, necessita se multiplicar no leite, promover propriedades sensoriais adequadas no produto e ser estável e viável no armazenamento, sendo incorporados em alimentos sem perder sua viabilidade e funcionalidade, resultando em produtos com aroma e textura adequados (OLIVEIRA et al., 2002).

A maior dificuldade de utilizar culturas probióticas nos alimentos é garantir a viabilidade destas cepas durante o processamento, sendo que as condições aplicadas durante a etapa de obtenção dos alimentos como por exemplo altas temperaturas e presença e/ou incorporação de oxigênio, podem ser letais para esses micro-organismos, em especial para cepas de bifidobactérias por ser um micro-organismo estritamente anaeróbio (KEARNEY et al., 1998). Além disso, essas cepas devem ser apropriadas para a produção industrial em larga escala, resistindo às condições de processamento como liofilização ou secagem por *spray drying* (STANTON et al., 2003).

Produtos lácteos como exemplo iogurte e leites fermentados, são os produtos mais comuns utilizados como veículos de probióticos (BANDIEIRA et al., 2013; FORNELLI et al., 2014). Além disso, diferentes queijos como o queijo cheddar (STANTON et al., 2005) e queijo minas (BURITI et al., 2005), flan (FREDERICO et al., 2016) e sorvete (CHIQUETTI et al., 2016) tem sido estudados como veículos para culturas probióticas.

### 2.3.1 Bifidobactéria

As bifidobactérias são micro-organismos anaeróbios, Gram-positivos, não formadores de esporos e não possuem motilidade. As espécies de *Bifidobacterium* são heterofermentativas, produzindo ácido acético e lático na proporção de 3:2. A temperatura ótima de multiplicação varia entre 37°C e 41° C, sendo que o mínimo e máximo da temperatura de multiplicação variam entre 25° - 28°C e 43 - 45° C, respectivamente. Com relação ao pH o valor ideal para este micro-organismo está na faixa entre 6,0 e 7,0, sendo que não ocorre multiplicação em pH abaixo de 4,5 ou acima de 8,5 (SCARDOVI, 1986; SHAH, 2007).

As bifidobactérias foram encontradas e isoladas pela primeira vez em fezes de recém-nascidos em 1899, por Tissier, sendo denominadas de *Bacillus bifidus communis*. O leite materno propicia o surgimento das bifidobactérias a partir do segundo dia de vida, predominando cepas de *Bifidobacterium bifidum* e *Bifidobacterium longum*, alcançando de  $10^9$  a  $10^{11}$  bactérias por grama de fezes. As bifidobactérias estão presentes naturalmente no trato gastrointestinal humano, apresentando populações relativamente estáveis na fase adulta, com declínio na fase de envelhecimento. Entretanto, além da idade, outros fatores, como uso de antibióticos, estresse e dieta influenciam as populações de bifidobactérias encontradas no intestino humano (SHAH, 2007).

As bifidobactérias são capazes de fermentar carboidratos presentes no cólon, utilizando uma vasta gama de substratos, incluindo os mono, oligo e polissacarídeos como fonte de carbono e energia (VERNAZZA, 2006). Como resultado deste metabolismo, as bifidobactérias podem secretar substâncias do tipo bacteriocina que é ativa contra bactérias patogênicas como Clostrídios, *E. coli*, *Listeria*, *Shigella*, *Salmonella* e *Vibrio cholerae* (ROBERFROID, 2005). Segundo Gibson e Roberfroid (1995), o mecanismo aceito de inibição da multiplicação de outras bactérias pelas

bifidobactérias, ocorre através da diminuição do pH decorrente da grande quantidade de produção de ácidos carboxílicos, principalmente acetatos e lactatos, que inibem a colonização do epitélio intestinal por bactérias patogênicas, exercendo efeito protetor contra várias desordens intestinais agudas ou crônicas.

Para Kolida, Tuohy e Gibson (2002) os efeitos benéficos das bifidobactérias são proteção contra infecções entéricas, diminuição de bactérias patogênicas e putrefação, produção de vitaminas, melhora do funcionamento intestinal, redução do pH intestinal, melhora da digestão e absorção de nutrientes e estimulação da imunidade.

No entanto, estes micro-organismos não são muito adaptados ao leite fermentado e sofrem com a presença do oxigênio. Uma das alternativas para aumentar a multiplicação destas bactérias em leites é a adição de prebióticos (TAMINE; MARSHALL; ROBINSON, 1995). Os prebióticos mais utilizados como ingredientes em produtos lácteos fermentados são a inulina e o fruto-oligossacarídeos (FOS), sendo que as bifidobactérias fermentam esses oligossacarídeos preferencialmente a outras fontes de carboidratos, como o amido, a pectina e a polidextrose (FOOKS; FULLER; GIBSON, 1999).

As bifidobactérias mais utilizadas como cepas probióticas são *Bifidobacterium adolescentes*, *Bifidobacterium animalis*, *Bifidobacterium bifidus*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium lactis* e *Bifidobacterium longum* (ANAL; SINGH, 2007).

### 2.3.2 *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12

A cepa de *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12 é uma bactéria que possui formato de Y e catalase-negativa. Inicialmente foi classificada como *Bifidobacterium bifidum*, porém com avanço na engenharia genética, foi reclassificada como *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* (JUGERSEN et al., 2014). A cepa Bb-12 apresenta boa estabilidade e alta tolerância ao oxigênio, ácidos e bile. É muito utilizado na formulação de produtos lácteos, suplementos alimentares e fórmulas para lactentes por ser estável à acidez gastrointestinal além de não alterar o sabor e aparência do produto e conseguir sobreviver em matrizes alimentares até o consumo (JUNGERSEN et al., 2014). Além disso, apresenta forte adesão à mucosa intestinal humana, o que lhe confere grande capacidade de colonização (MOHAN et al., 2006;



GARRIGUES et al., 2010).

Os benefícios deste micro-organismo sobre a saúde humana incluem diminuição do colesterol, prevenção de câncer colorretal, regulação do trânsito intestinal e constipação além da redução da inflamação do intestino (MARGOLLES, SÁNCHEZ, 2012).

## 2.4 Prebióticos

Prebióticos são componentes alimentares não digeríveis que afetam benéficamente o hospedeiro, por estimularem seletivamente a proliferação ou atividade de populações de bactérias desejáveis no cólon. Estes componentes atuam com mais frequência no intestino grosso, embora eles possam ter algum impacto sobre os micro-organismos do intestino delgado (GIBSON; ROBERFROID, 1995; HAULY; MOSCATTO, 2002).

Para ser considerado um prebiótico, a fibra não deve ser hidrolisada por enzimas salivares e digestivas nem ser absorvida no estômago, deve estimular seletivamente crescimento e/ou atividade de bactérias benéficas, como as bifidobactérias e lactobacilos e ser fermentada pela microbiota intestinal (LAVANDA et al., 2011; GIBSON, et al., 2004). Dessa forma, os prebióticos alcançam o cólon sem sofrer alterações, estando disponíveis para serem fermentados, exercendo, desta forma, a atividade bifidogênica (SEKHON; JAIRATH, 2010). As enzimas intestinais humanas não são capazes de hidrolisar as ligações do tipo  $\beta$  (2-1) encontradas na inulina e na oligofrutose, assim, esses polímeros chegam intactos ao cólon (ROBERFROID, 2005).

Os prebióticos alteram a microbiota do cólon intestinal, predominando a cepa de bifidobactérias que metabolizam facilmente o FOS, pelo qual eles tem uma vantagem nutricional em relação a outras microbiotas do cólon que não podem usar inulina (WIELE et al., 2004) além do fato de que mais bifidobactérias residem no cólon humano do que os lactobacilos, e eles exibem preferência por oligossacarídeos (SLAVIN, 2013). Para Saad (2006), a alta especificidade dos FOS como substratos para bifidobactérias resulta da atividade das enzimas  $\beta$ -frutosidades (inulases) que hidrolisam monômeros de frutose.

A inulina e fruto-oligossacarídeo são os prebióticos mais pesquisados devido aos seus efeitos bem estabelecidos (KOLIDA; TUOHY; GIBSON, 2002), sendo

encontrados naturalmente no leite materno e alguns vegetais (BOEHM, 2007).

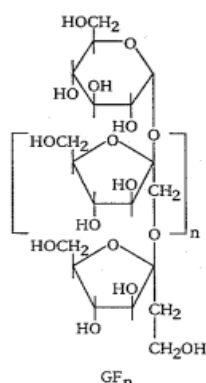
Vários oligossacarídeos classificados como prebióticos podem ser adicionados em alimentos e suplementos industrializados, incluindo fruto-oligossacarídeo, inulina, isomalto-oligossacarídeos, lactilol, lactosucrose, lactulose, oligofrutose, transgalacto-oligossacarídeo e xilo-oligossacarídeo (SEKHON; JAIRATH, 2010).

As matrizes alimentares mais pesquisadas para adição de prebióticos são produtos lácteos como queijo fresco cremoso (BURITI et al., 2008), iogurte (FUCHS et al., 2006; PIMENTEL et al., 2012), sorvete (EL NAGAR et al., 2002), queijo (HENNELY et al., 2006; GIRI et al., 2017) e produtos de panificação como bolo de chocolate (MOSCATTO et al., 2004) e pães (SOUZA-BORGES, 2018), agregando ao produto fibras reduzindo quantidade de gordura e açúcar na elaboração do produto. A inulina, oligofrutose e fruto-oligossacarídeo são quimicamente semelhantes, apresentando as mesmas propriedades nutricionais, porém diferenciam pelo grau de polimerização, sendo a oligofrutose e fruto-oligossacarídeo termos sinônimos utilizados para determinar frutanos do tipo inulina com grau de polimerização inferior a 10 (FORTES; MUNIZ, 2009).

#### 2.4.1 Inulina

A inulina é encontrada naturalmente em vários alimentos, como alho poró, aspargo, chicória, alcachofra de Jerusalém, alho, cebola, trigo, alcachofra, banana, aveia e soja (RASTALL et al., 2000) e é constituída por uma cadeia de moléculas de frutose e uma molécula de glicose terminal (OLIVEIRA et al., 2004), ligados através de ligações  $\beta$  (2 $\rightarrow$ 1) (Figura 1). O grau de polimerização representa o número de repetições de frutose que compõem a molécula, influenciando as propriedades destes ingredientes, como atividade prebiótica, digestibilidade, poder adoçante, capacidade de absorção de água (ROBERFROID, 2005; KELLY 2008; PIMENTEL et al, 2012). O grau de polimerização da inulina (GP) varia de 2-60, com média de 10-12 (NINESS, 1999).

**Figura 1.** Estrutura química da inulina.



Fonte: Roberfroid et al. (1993).

Devido a esta configuração das ligações entre as frutoses, a inulina tem como característica resistir à hidrólise enzimática por enzimas salivares e digestivas. Como resultado não são digeríveis durante a passagem pelo trato gastrointestinal humano, sendo então fermentadas no cólon por bactérias benéficas (KELLY, 2008; ROBERFROID, 2007).

A inulina e o fruto-oligossacarídeos são capazes de estimular a multiplicação de bifidobactérias, contribuindo para bom funcionamento intestinal (GIBSON et al., 1995; GIBSON; ROBERFROID, 1995). O aumento de bifidobactérias foi comprovado através de estudo *in vivo* utilizando inulina e oligofrutose na alimentação de oito voluntários, sendo que 7 dos 8 voluntários apresentaram aumento significativo na contagem de bifidobactérias nas fezes (GIBSON et al., 1995).

A fermentação da inulina e oligofrutose pela microbiota intestinal resulta em aumento da biomassa bacteriana e produção de acetato, propionato e butirato (ácidos graxos de cadeia curta), ácido lático e gases (CO<sub>2</sub> e H<sub>2</sub>). Os ácidos graxos de cadeia curta são absorvidos pela microbiota na mucosa do cólon e o butirato é utilizado pelas células da mucosa intestinal como principal fonte de energia para sua manutenção e importante por ter propriedades anti-tumorais (ROBERFROID et al., 1993). Em estudo realizado por Wiele et al. (2007) comparando-se a ação da oligofrutose e inulina na produção de ácido acético, propionato, butirato e ácidos graxos de cadeia ramificada através de um simulador do ecossistema da microbiota intestinal também conhecido como SHIME (*Simulator of the Human Intestinal Microbial Ecosystem*), observou-se o aumento na produção de propionato e butirato com a administração da inulina nos

cólon ascendentes, transversais e descendentes quando comparado à oligofrutose.

Para Roberfroid (2007), o consumo de frutanos tipo inulina, contribui para uma dieta equilibrada, aumentando o teor de fibras, afetando diversas funções gastrointestinais, como, por exemplo, a composição da microbiota intestinal, funções da mucosa e absorção de minerais, como cálcio, potássio e magnésio e agindo sistemicamente no equilíbrio lipídico e nas funções imunológicas.

A inulina é um prebiótico utilizado em alimentos funcionais, bebidas, iogurtes, biscoitos, coberturas e suplementos dietéticos (KELLY, 2008). No Brasil, a ANVISA determina que a porção do alimento prebiótico pronto para consumo forneça no mínimo 3 g de inulina se for sólido ou 1,5 g se o alimento for líquido (ANVISA, 2008).

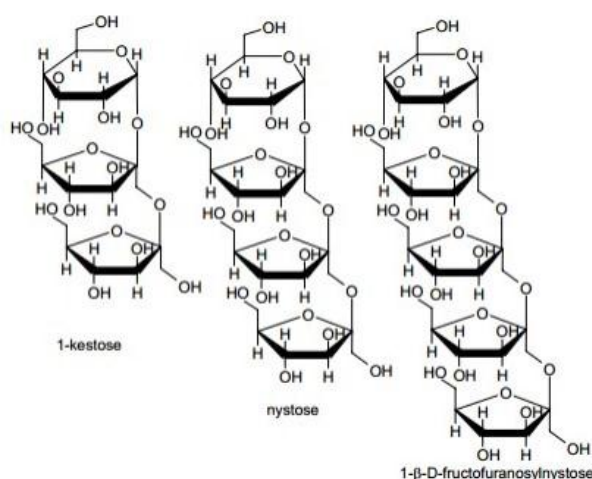
A adição de inulina no alimento pode conferir vantagens nutricionais e tecnológicas (FRANCK, 2002). Uma das características da inulina é ser solúvel em água, não deixando a sensação e aspecto arenoso ou granuloso durante sua ingestão (GOMES et al., 2007). Em estudo realizado por Seolin et al. (2013), com adição de FOS em sorvete como substituto do açúcar, sendo a amostra A 50% de substituição do açúcar por FOS e a amostra B, 100% de substituição do açúcar por FOS, não apresentou diferenças físico-químicas e textura, porém na análise sensorial a aceitação foi maior na amostra A. Para Oliveira et al. (2004), a inulina pode ser incorporada em produtos de panificação e cereais com o objetivo de controle de umidade, consequentemente aumenta a vida de prateleira do produto e controle da viscosidade em bolos e pudins, principalmente com baixos teores de gordura. Quando dissolvida em água, a inulina forma um gel semelhante a gordura, podendo desta forma, substituí-la em alimentos (SILVA, 1996). Para Franck (2002) a adição de inulina em bebidas lácteas, queijo fresco, iogurtes, cremes e sobremesas lácteas, confere cremosidade ao produto e em barras de cereais oferece boas características de ligação.

#### 2.4.2 Fruto-oligossacarídeos

Fruto-oligossacarídeos (FOS) são frutanos sintetizados a partir da sacarose. Essas moléculas de sacarose são compostas de duas a três subunidades de frutose adicionais incorporadas enzimaticamente através de ligação  $\beta$  (2  $\rightarrow$  1) às subunidades frutose da sacarose (CARABIN; FLAMM, 1999; BIEDRZYCA; BIELECKA, 2004). Apresenta grau de polimerização de 4 enquanto que a inulina tem 10 (GIBSON,

WANG, 1994). O FOS é o nome dado apenas a oligômeros de frutose que são compostos de 1-kestose, nistose e frutofuranosil nistose (Figura 2), em que as unidades de frutose são ligadas na posição  $\beta$  (2  $\rightarrow$  1) da sacarose, o que os distingue dos outros oligômeros (LACHMAN, 2004). São produzidos comercialmente por hidrólise da inulina ou síntese enzimática da sacarose ou lactose (BLAY, 1999).

**Figura 2.** Estrutura química dos principais fruto-oligossacarídeos.



Fonte: Lachman et al. (2004).

Muitas frutas e vegetais contêm oligossacarídeos como o FOS, como por exemplo, cebola, aspargos, trigo, alho, alho-poró, banana, chicória, alcachofra de Jerusalém (MOLI et al., 1996; GIBSON, 2004), mas podem ser produzidos industrialmente para adição em alimentos, através da sacarose pela ação da enzima frutossiltransferase, obtida dos fungos *Aspergillus* sp., *Fusarium* sp. e *Aureobasidium* sp. (PASSOS; PARK, 2003).

O FOS apresenta maior solubilidade que a sacarose, não cristaliza, não precipita e possui um terço do poder adoçante da sacarose, não possuindo odor e cor. Outra característica importante é apresentar menor valor calórico importante para uso em diabéticos, não é cariogênico e aumenta a multiplicação de bifidobactérias no intestino e diminui micro-organismos putrefativos (YUN, 1996). Além disso, o FOS pode ser utilizado em alimentos como função adoçante, modificador de textura e substituto de gordura (MATUSEK et al., 2009). É considerado prebiótico por possuir todas as características necessárias para um ingrediente prebióticos, como por exemplo, resistir à ação de enzimas gastrointestinais, alcançando o cólon, modulando

a microbiota intestinal pelo aumento das populações de bactérias benéficas, contribuindo para saúde e bem-estar (BOMBA et al., 2002). Segundo Gibson (2004), o valor mínimo necessário para contribuir no aumento de bifidobactérias no intestino é de 4 g/dia, porém o valor considerado significativo é de 8 g/dia de FOS.

Segundo Kashyap, Palai e Bhattacharya (2015), a fermentação do FOS resulta em diminuição do pH no cólon, facilitando a absorção de alguns minerais como cálcio e magnésio, melhora do metabolismo lipídico, alívio da constipação e controle da produção de substâncias putrefativas no intestino em homens e animais, mas o uso excessivo do FOS pode provocar inchaço abdominal e flatulências.

Por ser considerado prebiótico com propriedades bifidogênicas, o FOS pode ser adicionado no iogurte e leites fermentados conjuntamente com bactérias probióticas, como por exemplo, cepas pertencentes aos gêneros *Lactobacillus* spp. e *Bifidobacterium* spp. (HUEBNER; WEHLING; HUTKINS, 2007). Assim, prebióticos utilizados de forma isolada ou combinada com probióticos, na forma de simbióticos tem capacidade de melhorar a saúde gastrointestinal de seres humanos (TUOHY et al., 2003).

Devido ao efeito bifidogênico dos prebióticos inulina e FOS, sua utilização em alimentos para substituição da gordura e açúcar e o interesse da indústria em oferecer ao consumidor um alimento funcional este trabalho tem como objetivo produzir iogurtes simbióticos utilizando os prebióticos inulina e FOS e a cepa *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo geral**

Desenvolver diferentes formulações de iogurte integral e desnatado adicionados do micro-organismo probiótico *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12 e os prebióticos inulina e fruto-oligossacarídeo (FOS).

#### **3.2 Objetivos específicos**

Avaliar a adição dos prebióticos inulina e FOS como substitutos de gordura em iogurtes desnatados.

Avaliar a viabilidade da cepa Bb-12 durante 21 dias de armazenamento em iogurtes com e sem adição de prebióticos.

Avaliar a adição dos prebióticos no processo de fermentação do iogurte, verificando parâmetros de pH, acidez e viabilidade das culturas *starters* e Bb-12.

Avaliar a adição dos prebióticos nos parâmetros de pH, acidez e textura dos iogurtes integral e desnatados.

## REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. ALIMENTOS. **Alimentos com alegações de propriedades funcionais e ou de saúde, novos alimentos/ingredientes, substâncias bioativas e probióticos**. 2008. Disponível em: <[http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno\\_lista\\_alega.htm](http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno_lista_alega.htm)>. Acesso em 30 jul.2015.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. ALIMENTOS. **Alimentos com alegações de propriedades funcionais e ou de saúde, novos alimentos/ingredientes, substâncias bioativas e probióticos**. 2016. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/alimentos/alegacoes>>. Atualizado em 22/12/2016. Acesso em 13 de Jan. de 2017.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 46, de 23 de outubro de 2007**. Regulamento técnico de identidade e qualidade de leites fermentados.

BRASIL. **Resolução nº 5, de 13 de novembro de 2000**. Determina a entrada em vigor dos “padrões de identidade e qualidade de leites fermentados”. Disponível em: <[http://www.engetecno.com.br/port/legislacao/leite\\_piq\\_leite\\_fermentado.htm](http://www.engetecno.com.br/port/legislacao/leite_piq_leite_fermentado.htm)>. Acesso em: 11 de março 2017.

ANAL, A.K.; SINGH, H. Recent advances in microencapsulation of probiotics for industrial applications and targeted delivery. **Trends in Food Science and Technology**, Amsterdam, v. 18, n.5, p.240-251, 2007.

ARAI, S. Studies on functional foods in Japan- State of the Art. **Bioscience Biotechnology and Biochemistry**, Tokyo, v.60, n. 1, p. 9-15, 1996.

BANDIEIRA, N.S.; CARNEIRO, I.; SILVA, A.S., HONJOYA, E.R.; SANTANA, E.H.W.; ARAGON-ALEGRO, L.C.; SOUZA, C.H.B. Viability of probiotic *Lactobacillus casei* in yoghurt: defining the best processing step to its addition. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, Caracas, v.63, n.1, p.58-63, 2013.

BIEDRZYCKA, E.; BIELECKA, M. Prebiotic effectiveness of fructans of different degrees of polymerization. **Trends in Food Science & Technology**, Amsterdam, v.15, n.3-4, p.170-175, 2004.

BRASIL - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria nº 398, de 30 de abril de 1999. Regulamento Técnico que Estabelece as Diretrizes Básicas para Análise e Comprovação de Propriedades Funcionais e ou de Saúde Alegadas em Rotulagem de Alimentos. **Diário Oficial da União**, 1999.

BOMBA, A.; NEMCOVÁ, R.; GANCARCIKOVÁ, R.; HERICH, R.; GUBA, P.; MUDRONOVÁ, D. Improvement of the probiotic effect of micro-organisms by their combination with maltodextrins, fructo-oligosaccharides and polyunsaturated fatty acids. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 88, Issue S1, p.S95- S99, 2002.



BOUHNİK, Y.; ACHOUR, L.; PAINEAU, D.; RIOTTOT, M.; ATTAR, A.; BORNET, F. Four-week short chain fructo-oligosaccharides ingestion leads to increasing fecal bifidobacteria and cholesterol excretion in healthy elderly volunteers. **Nutrition Journal**, London, v.6, n.42, p.1-7, 2007.

BURITI, F.C.A.; ROCHA, J.S.; ASSIS, E.G.; SAAD, S.M.I. Probiotic potential of Minas fresh cheese prepared with the addition of *Lactobacillus paracasei*. **LWT- Food Science and Technology**, Amsterdam, v. 38, n.2, p.173-180, 2005.

BURITI, F.C.A.; CARDELLI, H.R.; SAAD, S.M.I. Textura instrumental e avaliação sensorial de queijo cremoso simbiótico: implicações da adição de *Lactobacillus paracasei* e inulina. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v.44, n.1, p. 75-84, 2008.

BLAY, G.L.; MICHEL, C.; BLOTIÈRE, H.M.; CHERBUT, C. Prolonged intake of fructo-oligosaccharides induces a short-term elevation of lactic acid-producing bacteria and a persistent increase in cecal butyrate in rats. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 129, n. 12, p. 2231-2235, 1999.

CANDUCCI, F.; ARMUZZI, A.; CREMONINI, F.; CAMMAROTA, G.; BARTOLOZZI, F.; POLA, P.; GASPARRINI, G.; GASPARRINI, A. et al. A lyophilized and inactivated culture of *Lactobacillus acidophilus* increases *Helicobacter pylori* eradication rates. **Alimentary Pharmacology Therapeutics**, Oxford, v.14, n. 12, p. 1625-1629, 2000.

CARABIN, I.G.; FLAMM, W. G. Evaluation of safety of inulin and oligofructose as dietary fiber. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, Duluth, v.30, n.3, p.268-282, 1999.

CHANDAN, R.C.; KILARA, A. In: **Manufacturing yogurt and fermented milks**. 2 ed. p.528. eds. Wiley- Blackwell. 2013.

CHIQUETTI, R.L.; CASTRO, E.M.; VALÉRIO, G.D.; BERNINI, L.J.; SUGUIMOTO, H.H.; SANTANA, E.H.W.; ALEGRO, L.C.A.; SOUZA, C.H.B. Viability of the probiotic *Lactobacillus acidophilus* La-5 in ice cream: effect of lactose hydrolysis and overrun. **International Food Research Journal**, Malaysia, v. 23, n.6, p. 2631-2637, 2016.

EL NAGAR, G.; CLOWES, G.; TUDORICA, C.M.; KURI, V.; BRENNAN, C.S. Rheological quality and stability of yoc-ice cream with added inulin. **International Journal of Dairy Technology**, Long Hanborough, v.55, n.2, 2002.

FERREIRA, C.L.L.F.; MALTA, H.L.; DIAS, A.S.; GUIMARÃES, A.; JACOB, F.E.; CUNHA, R.M.; CARELI, R.T.; PEREIRA, S.; FERREIRA, S.E.R. Verificação da qualidade físico-química e microbiológica de alguns iogurtes vendidos na região de Viçosa. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 56, p.152-158, 2001.

FERREIRA, M.C.I. Produção e composição do leite de ovelhas Santa Inês e mestiças Lacaune e Santa Inês e desenvolvimento de seus cordeiros. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.27, n.63, p.530-533, 2011.

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

FOOKS, L.J.; GIBSON, G.R. Probiotics as modulators of the gut flora. **The British Journal of Nutrition**, Wallingford, v.88, suppl.1, p. S39-S49, 2002.

FORNELLI, A.R.; BANDIERA, N.S.; COSTA, M.R.; SOUZA, C.H.B.; SANTANA, E.H.W.; SIVIERI, K.; ARAGON-ALEGRO, L.C. Efeito da inulina e da oligofrutose nas características físicoquímicas, microbiológicas e sensoriais de bebidas lácteas simbióticas. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 35, n.6, p.3099-3112, nov./dez.2014.

FORTES, R.C.; MUNIZ, L.B. Efeitos da suplementação dietética com frutooligossacarídeos e inulina no organismo humano: estudo baseado em evidências. **Comunicação em Ciências da Saúde**, Brasília, v.20, n. 3, p. 241-252, jul./set.2009.

FUCHS, R.H.B.; TANAMATI, A.P.C.; ANTONIOLI, C.M.; GASPARELLO, E.A.; DONEDA, I. Utilização de *Lactobacillus paracasei* e cultura iniciadora na obtenção de iogurte suplementado com inulina e oligofrutose. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, Curitiba, v.24, n.1, p.83-98, jan./jun.2006.

FULLER, R. Probiotics in man and animals. **Journal of Applied Bacteriology**, Oxford, v.66, p.365-378, 1989.

FRANK, A. Technological functionality of inulin and oligofructose. **British Journal of Nutrition**, Wallingford, v.87, n.2, p.287-291, 2002.

FREDERICO, C.; PINTO, T.B.; CASTRO, E.M.; SUGUIMOTO, H.H.; SANTANA, E.H.W.; ARAGON-ALEGRO, L.C.; SOUZA, C.H.B. Probiotic dairy dessert supplemented with whey protein concentrate: effect on the viability of *Lactobacillus acidophilus*, on texture, physicochemical and sensory features. **Journal of Food and Nutrition Research**, Slovakia, v. 55, n.1, p. 48-56, 2016.

GARRIGUES, C.; JOHANSEN, E.; PEDERSEN, M.B. Complete genome sequence of *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12, a widely consumed probiotic strain. **Journal of Bacteriology**, Washington, v.192, n.9, p. 2467–2468, 2010.

GIBSON, G.R.; WANG, X. Bifidogenic properties of different types of fructooligossacarídeos. **Food Microbiology**, London, v. 11, p.491-498, 1994.

GIBSON, G.R.; BEATTY, E.R.; WANG, X., CUMMINGS, J.H. Selective stimulation of bifidobacteria in the human colon by oligofructose and inulin. **Gastroenterology**, Philadelphia, v.108, p.975-982, 1995.

GIBSON, G.R.; ROBERFROID, M.B.; Dietary modulation of the human colonic microbiota: Introducing the concept of prebiotics. **The Journal of Nutrition**, Bethesda, v.125, n.6, p.1401-1412, 1995.

GIBSON, G.R.; PROBERT, H.M.; LOO, J.V.; RASTALL, R.A.; ROBERFROID, M.B. Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics. **Nutrition Research Review**, Cambridge, v. 17, p.259-275, 2004.

GIRI, A.; KANAWJIA, S.K.; SINGH, M.P. Efeito da inulina em perfil físico-químico, sensorial, de ácidos graxos e microestrutura de espalhamento de queijo processado. **Journal of Food Science and Technology**, Long Hanborough, v.54, n.8, p. 2443-2451, 2017.

GOMES, C.R.; VISSOTTO, F.Z.; FADINI, A.L.; FARIA, E.V.; LUIZ, A.M. Influência de diferentes agentes de corpo nas características reológicas e sensoriais de chocolates diet em sacarose e light em calorias. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.27, n.3, p.614-623, 2007.

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

HENNELLY, P.J.; DUNNE, P.G.; SULLIVAN, M.O.; O' RIORDAN, E.D. Textural, rheological and microstructural properties of imitation cheese containing inulin. **Journal of Food Engineering**, Kidlington, v. 75, n.3, p.388-395, 2006.

HICKSON, M.; D'SOUZA, A.L.; MUTHU, N.; ROGERS, T.R.; WANT, S.; RAJKUMAR, C.; BULPITT, C.J. Use of probiotic *Lactobacillus* preparation to prevent diarrhoea associated with antibiotics: randomised double blind placebo controlled trial. **British Medical Journal**, London, v. 335, p. 80-83, 2007.

HILL, C.; GUARNER F.; REID, G.; GIBSON, G.R.; MERENSTEIN, D.J.; POT, B.; MORELLI, L.; CANANI, R.B.; FLINT, H.J.; SALMINEN S.; CALDER, P.C.; SANDERS, M.E. The international scientific association for probiotics and prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. **Nature Reviews Gastroenterology Hepatology**, London, v.11, p.506–514, 2014.

HILTON, E.; ISENBERG, H.D.; ALPERSTEIN, P.; FRANCE, K.; BORENSTEIN, M.T. Ingestion of yogurt containing *Lactobacillus acidophilus* as prophylaxis for candidal vaginitis. **Annals of Internal Medicine**, Philadelphia, v.116, n.5, p.353- 357, 1992.

HUEBNER, J.; WEHLING, R.L.; HUTKINS, R.W. Functional activity of commercial prebiotics. **International Dairy Journal**, Amsterdam, v. 17, Issue 7, p.770-775, 2007.

ISHIKAWA, H.; AKEDO, I.; OTANI, T.; SUZUKI, T.; NAKAMURA, T.; TAKEYAMA, I.; ISHIGURO, S.; MIYAOKA, E.; SOBUE, T.; KAKIZOE, T. Randomized trial of dietary fibre and *Lactobacillus casei* administration for prevention of colorectal tumors. **International Journal of Cancer**, New York, v.116, n.5, p.762-767, 2005.

JUNGERSEN, M.; WIND, A.; JOHANSEN, E.; CHRISTENSEN, J.E.; STUER-LAURIDSEN, B.; ESKESEN, D. The science behind the probiotic strain *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12. **Microorganism**, Basel, v.2, p. 92-110, 2014.

KASHYAP, R.; PALAI, T.; BHATTACHARYA, P.K. Kinetics and model development for enzymatic synthesis of fructo-oligosaccharides using fructosyltransferase. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, Heidelberg, v.38, n.12, p.2417- 2426, 2015.

KEARNEY, N.; STANTON, C.; DESMOND, C.; COAKLEY, M.; COLLINS, J.K.; FITZGERALD, G.; ROSS, R.P. Challenges associated with the development of probiotic containing functional foods. In: Farnworth, E.R. **Handbook of fermented functional foods**. 2. ed. eds. Taylor e Francis. 1998. p.26-55.

KELLY, G. Inulin-Type Prebiotics – A Review: Part 1. **Alternative Medicine Review**, Saindpoint, v. 13, n.4, p.315-328, 2008.

KOLIDA, S.; TUOHY, K.; GIBSON, G.R. Prebiotic effects of inulin and oligofructose. **British Journal of Nutrition**, Wallingford, v. 87, suppl.2, p.193-197, 2002.

LACHMAN, J.; HAVRLAND, B.; FERNÁNDEZ, E.C.; DUDJAK, J. Saccharides of yacon [*Smallanthus sonchifolius* (Poepp. et Endl.) H. Robinson] tubers and rhizomes and factors affecting their content. **Plant Soil and Environment**, Prague, v. 50, n.9, p. 383-390, 2004.

LAVANDA, I.; SAAD, S.M.I.; LOBO, A.R.; COLLI, C., Prebióticos y su efecto em la biodsponibilidad del cálcio. **Revista de Nutrição**, Campinas, v.24, n.2, p.333-344, 2011.

LEÃO, M.V.P.; SILVA, C.R.G.; SANTOS, S.S.F.; LEITE, P.G.C. *Lactobacillus rhamnosus* pode alterar a virulência de *Candida albicans*. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, Rio de Janeiro, v.37, n.9, p.417-420, 2015.

LOURENS-HATTING, A.; VILJOEN, B.C. Yogurt as probiotic carrier food. **International Dairy Journal**, Amsterdam, v.11, p.1-17, 2001.

MARGOLLES, A.; SÁNCHEZ, B. Selection of a *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* strain with a decreased ability to produce acetic acid. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.78, n.9, p. 3338-3342, 2012.

MATUSEK, A.; MERÉSZ P.; DIEM LE, T.K.; ORSI, F. Effect of temperature and pH on the degradation of fructo-oligosaccharides. **European Food Research and Technology**, New York, v. 228, Issue 3, pp. 355-365, 2009.

MATSUMOTO, S.; HARA, T.; HORI, T.; MITSUYAMA, K.; NAGAOKA, M.; TOMIYASU, N.; SUZUKI, A.; SATA, M. Probiotic *Lactobacillus*-induced improvement in murine chronic inflammatory bowel disease is associated with the down-regulation of proinflammatory cytokines in lamina propria mononuclear cells. **Clinical and Experimental Immunology**, Oxford, v.140, n.3, p.417–26, 2005.

MITSUOKA, T. Development of functional foods. **Bioscience of microbiota. Food and Health**, Tokyo, v.33, n.3, p. 117-128, 2014.

MOHAN, R.; KOEBNICK, C.; SCHILDT, J.; SCHMIDT, S.; MUELLER, M.; POSSNER, M.; RADKE, M.; BLAUT, M. Effects of *Bifidobacterium lactis* Bb12 supplementation on intestinal microbiota of preterm infants: a double-blind, placebo-controlled, randomized study. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v.44, n.11, p.4025-4031, 2006.

MOLI, C.; FLOURIÉ, B.; OUARNE, F.; GAILING, M-F.; LARTIGUE, S.; GUIBERT, A.; BORNET, F.; GALMICHE, J-P. Digestion, excretion, and energy value of fructooligosaccharides in healthy humans. **The American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v.64, n.3, p.324-328, 1996.

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

MOSCATTO, J.A.; PRUDÊNCIO-FERREIRA, S.H.; HAULY, M.C.O. Farinha de yacon e inulina como ingredientes na formulação de bolo de chocolate. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.24, n.4, p.634-640, 2004.

MUSTAPHA, A.; JIANG, T.; SAVAIANO, D. A. Improvement of lactose digestion by humans following ingestion of unfermented acidophilus milk: influence of bile sensitivity, lactose transport, and acid tolerance of *Lactobacillus acidophilus*. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v. 80, n.8, p. 1537-1545, 1997.

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

NOBAEK, S.; JOHANSSON, M. L.; MOLIN, G.; AHRNÉ, S.; JEPPSSON, B. Alteration of intestinal microflora is associated with reduction in abdominal bloating and pain in patients with irritable bowel syndrome. **American Journal of Gastroenterology**, New York, v. 95, n. 5, p. 1231-1238, 2000.

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**, São Paulo, v.38, n. 1, p.1-16, 2002.

OLIVEIRA, R.A.; PARK. K.J.; CHIRATO, M.; PARK. K.J.B.; NOGUEIRA, R.I. Otimização de extração de inulina de raízes de chicória. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v.6, n.2, p.131-140, 2004.

PARVEZ, K.A.; MALIK, S.; KANGS, A.H.; KIM, H.Y. Probiotics and their fermentes food products are beneficial for health. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v.100, p.1171-1185, 2006.

PASSOS, L. M. L.; PARK, Y. K. Fructooligosacarídeos: implicações na saúde humana e utilização em alimentos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 33, n. 2, p. 385-390, 2003.

PEREIRA, D.I.A.; McCARTNEY, A.L.; GIBSON, G.R. An in vitro study of the probiotic potential of a bile –salt-hydrolyzing *Lactobacillus fermentum* strain, and determination of its cholesterol-lowering properties. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.69, n.8, p.4743-4752, 2003.

PIMENTEL, T.; GARCIA, S.; PRUDENCIO, S. H. Effect of long-chain inulin on the texture profile and survival of *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei* in set yoghurts during refrigerated storage. **International Journal of Dairy Technology**, Long Hanborough, v.65, n.1, p. 104-110, 2012.

PIMENTEL, T.; GARCIA, S.; PRUDENCIO, S. H. Iogurte probiótico com frutanos tipo inulina de diferentes graus de polimerização: características físico-químicas e microbiológicas e estabilidade ao armazenamento. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 33, n.3, p.1059-1070, 2012.

RASTALL, R.A.; FULLER, R.; GASKIN, H.R.; GIBSON, G.R. Colonic Functional Foods. In: GIBSON, G.R; WILLIAMS, C.M. **Functional Foods: Concept to product**. eds. Boca Raton: CRC. Press, 2000, p.1-356.

RIBEIRO, M.M.; MINIM, V.P.R.; MINIM, L.A.; ARRUDA, A.C.; CERESINO, E.B.; CARNEIRO, H.C.F.; CIPRIANO, P. A. Estudo de mercado de Belo Horizonte. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 57, n.2, p. 151-156, 2010.

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

ROBERFROID, M.B. Concepts and strategy of functional food science: The European perspective. **The American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v.71, n.6, p. 1660-1664, 2000.

ROBERFROID, M, B. Introducing inulin-type fructans. **British Journal of Nutrition**, Wallingford, v. 93, suppl.1, p.13-25, 2005.

ROBERFROID, M.B. Inulin-type fructans: Functional food ingredients. **The Journal of Nutrition**, Bethesda, v.137, n.11, p. 2493-2502. 2007.

ROY, D. Technological aspects related to the use of Bifidobacteria in dairy products. **Lait**, London, v.85, p.39-56, 2005.

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

SANDERS, M.E. Overview of functional foods: emphasis on probiotic bacteria. **International Dairy Journal**, Amsterdam, v.8, p.341- 347, 1998.

SEOLIN, V.J.; SCAPIM, M.R.S.; PIERETTE, G.G.; TONON, L.A.C.; MADRONA, G.S. Substituição de sacarose por frutooligossacarídeo em sorvete. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, Ponta Grossa, v.7, n.2, p.106-1073, 2013.

SEKHON, B.S.; JAIRATH, S. Prebiotics, probiotics and synbiotics: na overview. **Journal of Pharmacy Education Research**, Ludhiana, v.1, n.2, 2010.

SILVA, R.F. Use of inulin as a natural texture modifier. **Cereal Foods World**, St. Paul, v.41, n.10, p.792-795, 1996.

SOUZA, C.H.B.; BURITI, F.C.A.; BEHRENS, J.H.; SAAD, S.M.I. Sensory evaluation of probiotic Minas fresh cheese with *Lactobacillus acidophilus* added solely or in co-culture with a thermophilic starter culture. **International Journal of Food Science and Technology**, Long Hanborough, v. 43, n.5, p. 871-877, 2008.

SOUZA-BORGES, P.K.; CONTI-SILVA, A.C. Sensory profile and evaluation of the degree of acceptability of bread produced with inulin and oligofructose. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v.21, 2018.

SCARDOVI, V. Genus *Bifidobacterium*. In: **BERGEY'S manual of systematic bacteriology**. Baltimore: Williams and Wilkins. 1986, p.1418-1434.

SCHREZENMEIR, J.; VRESE, M. Probiotics, prebiotics, and synbiotics—approaching a definition. **The American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v.73, n.2, p. 361-364, 2001.

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

SLAVIN, J. Fiber and Prebiotics: mechanisms and health benefits, **Nutrients**, Switzerland, v.5, n.4, p. 1417-1435, 2013.

STANTON, C.; DESMOND, C.; COAKLEY, M., COLLINS, J.K.; FITZGERALD, G.; ROSS, R.P. Challenges facing development of probiotic-containing functional foods. In: **Handbook of fermented functional foods**. FARNWORTH, E.R., eds. Boca Raton: CRC Press, 2003. p. 27-58.

STANTON, C.; ROSS, R.P.; FITZGERALD, G.F.; VAN SINDEREN, D. Fermented functional foods based on probiotics and their biogenic metabolites. **Current Opinion in Biotechnology**, London, v.16, n.196-203, 2005.

TAMINE, A.Y.; MARSHALL, V.M.E.; ROBINSON, R.K. Microbiological and technological aspects of milks fermented by bifidobacteria. **Journal of Dairy Research**, New York, v.62, p. 151-187, 1995.

TANRIOVER, M.D.; AKSOY, D.Y.; UNAL, S. Use of probiotics in various diseases: evidence and promises. **Polskie Archiwum Medycyny Wewnętrznej**, Poland, v.122, suppl.1, p.72-77, 2012.

TUOHY, K.M.; PROBERT, H.M.; SMEJKAL, C.W.; GIBSON, G.R. Using probiotics and prebiotics to improve gut health. **Drug Discovery Today**, Haywards Heath, v. 8, Issue 15, p. 692- 700, 2003.

TRIBBY, D. Yogurt. In: **The Sensory Evaluation of Dairy Products**. Ed.Danisco, New Century, KS. p. 191- 223, 2009.

VANDENPLAS, Y., HUYS, G.; DAUBE, G. Probiotics: an update. **Jornal de Pediatria**, Rio de Janeiro, v. 91, n.1, p. 6-21, 2015.

VAN DE WATER, J. Yogurt and immunity: the health benefits of fermented milk products that contain lactic acid bacteria. In FARNWORTH, E.R., (Ed.). **Handbook of fermented functional foods**. Boca Raton: CRC Press. 2003, p.113-144.

VERNAZZA, C.L.; GIBSON, G.R.; RASTALL, R.A. Carbohydrate preference, acid tolerance and bile tolerance in five strains of *Bifidobacterium*. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v.100, p. 846-853, 2006.

VITALI, B.; PUGLIESE, C.; BIAGI, E.; CANDELA, M.; TURRONI, S.; BELLEN, G.; DONDEERS, G. G. G.; BRIGIDI, P. Dynamics of vaginal bacterial communities in women developing bacterial vaginosis, candidiasis, or no infection, analyzed by PCR-denaturing gradient gel electrophoresis and real-time PCR. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 73, n. 18, p. 5731–5741, 2007.

ZIEMER, C. J.; GIBSON, G. R. An overview of probiotics, prebiotics and synbiotics in the functional food concept: perspectives and future strategies. **International Dairy Journal**, Amsterdam, v.8, n.5, p.473-479, 1998.

WIELE, T.V.; BOON, N.; POSSEMIERS, S.; JACOBS, H.; WILLY, V. Prebiotic effects of chicory inulin in the simulator of the human intestinal microbial ecosystem. **FEMS Microbiology Ecology**, Amsterdam, v.51, p-143-153, 2004.

WIELE, T.V.; BOON, N.; POSSEMIERS, S.; JACOBS, H.; WILLY, V. Inulin-type fructans of longer degree of polymerization exert more pronounced in vitro prebiotic effects. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v.102, p-452-460, 2007.

YUN, J.W. Fructooligosacharides- occurrence, preparation, and application. **Enzyme and Microbial Technology**, New York, v. 19, p.107-117, 1996.



#### 4. ARTIGO

### **UTILIZAÇÃO DE DIFERENTES PREBIÓTICOS EM IOGURTE NATURAL INTEGRAL E DESNATADO: EFEITO SOBRE AS CARACTERÍSTICAS FÍSICO- QUÍMICAS E MICROBIOLÓGICAS DO PRODUTO**

BAPTISTA, T.F.P.; VIANNA, P.H.S.; MONTEIRO, M.F.; PAULA, L. M.;  
SOUZA, C. H. B\*

Universidade Pitágoras Unopar – Mestrado em Ciência e Tecnologia de Leite e  
Derivados, Rua Marselha, 591, Jardim Piza, 86041-140, Londrina, PR, Brasil.

\* Autor para correspondência: C. H. B. Souza

E-mail: cinthia@kroton.com.br

Tel.: +55 43 3371-7993

Fax: +55 43 3371-7834

## Resumo

Um alimento pode ser considerado funcional se for demonstrado que o mesmo pode afetar benéficamente uma ou mais funções alvo no corpo, sendo os probióticos e prebióticos incluídos neste contexto. Os iogurtes foram reformulados para incluir cepas probióticas e fibras prebióticas em adição aos organismos do iogurte convencional, por conferir benefícios à saúde do consumidor. O objetivo deste trabalho foi produzir diferentes formulações de iogurte utilizando leite integral e desnatado com adição de cepa de *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* e prebióticos e 2% de inulina e FOS, além de avaliar a fermentação, analisar pH e acidez, contagens de Bb-12 e textura. As análises de viabilidade do probiótico, pH, acidez e textura, foram realizadas semanalmente durante 21 dias, durante o armazenamento dos iogurtes (5°C). No resultado de fermentação, os iogurtes contendo prebióticos aceleraram o processo de fermentação do iogurte em 1 hora comparado com o controle, mantendo as contagens de Bb-12 acima de  $10^8$  UFC/g. As contagens de Bb-12 na fermentação mantiveram acima de  $10^8$  UFC/g, alcançando  $10^9$  UFC/g nos iogurtes desnatados com adição de inulina e FOS. Na análise de pH e acidez, não houve diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) nas formulações contendo prebióticos e controle. Com relação as populações de Bb-12, apresentaram valores  $10^8$  UFC/g em iogurtes integrais e desnatados, alcançando  $10^9$  UFC/g nos iogurtes integrais contendo prebióticos, porém este valor não apresentou diferença significativa ( $p < 0,05$ ). Os parâmetros de dureza, adesividade e gomosidade, apresentaram diferenças significativas dos valores em iogurtes integrais e desnatados, sendo que os menores valores foram encontrados para iogurtes desnatados, e que a adição de prebióticos em iogurtes desnatados não foi suficiente para manter a matriz do iogurte, pois a sinérese foi maior nestas formulações. No iogurte integral, os valores de dureza e gomosidade em iogurtes contendo prebióticos não apresentaram diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) e adesividade apresentou-se maior em iogurte contendo FOS apresentando diferença significativa ( $p > 0,05$ ) no 7 e 21° dia de armazenamento. Estes resultados demonstram que Bb-12 é viável para a inserção nessa matriz alimentar e que a adição de prebióticos não afeta a viabilidade de Bb-12, mantendo os valores de pH e acidez dentro do padrão recomendado pela legislação. Além disto, a inulina melhorou os parâmetros de textura em iogurtes desnatados, comparado com o FOS, apresentando diferenças significativas nos valores ( $p < 0,05$ ).

Palavra-chave: Alimentos funcionais. Fermentação. *Bifidobacterium*.

## 1 Introdução

Um alimento pode ser considerado funcional se for demonstrado que o mesmo pode afetar benéficamente uma ou mais funções alvo no corpo, além de possuir os adequados efeitos nutricionais, de maneira que seja tanto relevante para o bem-estar e a saúde quanto para a redução do risco de uma doença, sendo os probióticos e prebióticos incluídos neste contexto (ROBERFROID, 2002).

Probióticos “são micro-organismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios ao hospedeiro” (HILL et al., 2014). Nos últimos anos, os iogurtes foram reformulados para incluir cepas probióticas em adição aos organismos do iogurte convencional, pois a adição de micro-organismos probióticos conferem benefícios à saúde do consumidor (LOURENS-HATTINGH; VILJOEN, 2001). Para o produto ser considerado probiótico, deve atender alguns requisitos específicos, sendo que a quantidade mínima estabelecida para exercer propriedade funcional, deve ser comprovada no final do prazo de validade do produto e nas condições de uso, armazenamento e distribuição (ANVISA, 2016).

Entre os efeitos causados pelo uso de probióticos podem ser citados o efeito na melhor absorção dos nutrientes pelo sistema gastrointestinal, melhora dos sintomas de intolerância à lactose, redução do colesterol, melhora da motilidade intestinal, redução de incidência de tumores (SANDERS, 1993), metabolismo da lactose, absorção do cálcio e síntese de vitaminas (FULLER et al., 1992), infecções urogenitais, síndrome do intestino irritável, doenças inflamatórias do intestino, fibrose (VARAVALLO et al, 2008).

A fim de auxiliar na manutenção e aumentar a viabilidade dos micro-organismos probióticos adicionados em alimentos, pode-se adicionar à mesma matriz alimentar substâncias prebióticas (KELLY, 2008; ROBERFROID, 2007); como a inulina, um dos prebióticos mais estudados em alimentos (SAAD et al., 2011) e fruto-oligossacarídeos atuando como substrato, servindo de alimento para a microbiota intestinal ajudando elas se multiplicarem (HIDAKA et al., 1986). Entretanto, deve-se assegurar que a adição destes compostos não afete a qualidade do produto, considerando os parâmetros físico-químicos e sensoriais (CRUZ et al., 2009).

Desta forma, o objetivo deste trabalho foi produzir diferentes formulações de iogurte utilizando leite integral e desnatado com adição de cepa de *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* e diferentes prebióticos, como inulina e fruto-oligossacarídeo, e

avaliar processo de fermentação do iogurte das diferentes formulações produzidas e suas características físico-químicas, microbiológicas e de textura.

## 2 Material e Métodos

### 2.1 Ingredientes para fabricação do iogurte

Para as produções das diferentes formulações de iogurte natural propostas neste trabalho foram utilizados os seguintes ingredientes: leite integral UHT (Tirol, Treze Tílias, Brasil), leite desnatado UHT (Tirol, Treze Tílias, Brasil), leite em pó desnatado (Molico, Nestlé, Araçatuba, Brasil), cultura *starter* contendo *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (YO-MIXTM 496 LYO 100 DCU, Danisco, Dange, França), cultura probiótica composta por *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12 (Christian Hansen, Valinhos, Brasil), inulina (Orafti, Oreya, Bélgica) e fruto-oligossacarídeo (FOS) (Shandong Bailong Chuangyuan Bio-Technology Co.,Ltd, Yucheng, Shandong, China).

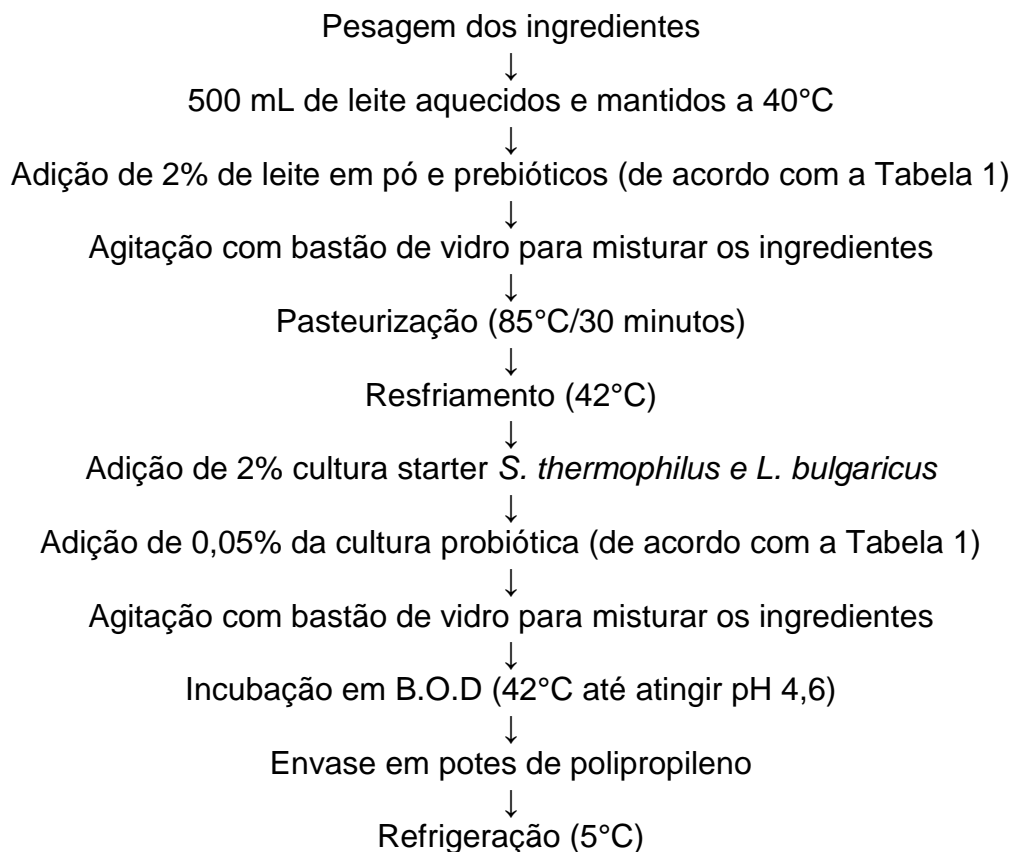
### 2.2 Etapas para produção do iogurte

Foram desenvolvidas diferentes formulações de iogurte, de acordo com a Tabela 1. Cada formulação (F1, F2 e F3) foi produzida com dois tipos de leite (separadamente): desnatado e integral, de acordo com a Figura 3.

**Tabela 1.** Variáveis empregadas na fabricação dos iogurtes com leite integral e desnatado.

Iogurtes	Formulações			
	Probiótico <sup>1</sup>	Inulina <sup>2</sup>	FOS <sup>3</sup>	Leite em pó <sup>4</sup>
F1	+	+	-	+
F2	+	-	+	+
F3	+	-	-	+

+ = Presença; - = Ausência; <sup>1</sup> *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* (Bb-12); <sup>2</sup> Beneo GR: 92% Inulina + 8% (glicose + frutose+ sacarose); Grau de polimerização >10 (Orafti, Oreya, Bélgica); <sup>3</sup> Fruto-oligossacarídeo: Grau de polimerização >4 (Shandong Bailong Chuangyuan Bio-Technology Co.,Ltd, Yucheng, Shandong, China); <sup>4</sup> Leite em pó desnatado (Molico, Nestlé, Araçatuba, Brasil).



**Figura 1.** Fluxograma de produção dos iogurtes

Para identificação do valor de pH, foram preparadas amostras separadas, com volume de 20 mL cada. O pH dessas amostras foi aferido utilizando-se pHmetro (Tecnal) a cada 30 minutos durante 2 horas. Após este período, o pH foi verificado a cada 15 minutos. Após atingir o pH 4,6, o produto foi retirado da BOD, colocado em banho de gelo e homogeneizado manualmente utilizando-se uma espátula de polipropileno até atingir a temperatura de 4°C. O produto foi evasado em potes de polipropileno próprios para alimentos (Galvanotek Embalagens, Carlos Barbosa, Brasil) com capacidade de 50 mL, previamente sanitizados com água clorada. O produto foi armazenado sob refrigeração a 5°C. Todas as formulações foram produzidas em triplicata.

### 2.3 Período de armazenamento e amostragem

As formulações desenvolvidas foram armazenadas refrigeradas a 5°C durante 21 dias para realização das análises. As análises microbiológicas e físico-químicas foram realizadas semanalmente.

## 2.4 Análises microbiológicas

Decorridos os tempos de armazenamento descritos no item 2.3, porções de 25 gramas de iogurte (retiradas em condições de assepsia) foram homogeneizadas com 225 mL de água peptonada 0,1% (diluição  $10^{-1}$ ) utilizando-se Bag Mixer (Interscience, Saint Nom, França). Diluições decimais subsequentes foram preparadas, utilizando o mesmo diluente. Para a contagem de *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* (Bb-12), alíquotas de 1mL de cada diluição das amostras foram transferidas para placas de Petri estéreis. Em seguida, foi adicionado ágar MRS (De Man, Rogosa e Sharp) (Himedia, Mumbai, Índia) adicionado de 2% de cloreto de lítio (AMRESCO, Solon, Ohio) e 3% de propionato de sódio (Sigma Aldrich, São Paulo, Brasil) (LP-MRS) fundido e resfriado a 45°C (LAPIERRE; UNDELAND; COX, 1992). Após a homogeneização e endurecimento do ágar, as placas foram incubadas a 37°C por 3 dias em anaerobiose (BD GasPak EZ Anaerobe Container System, Dublin, Irlanda).

Para a contagem de *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*, alíquotas de 1mL de cada diluição das amostras foram transferidas para placas de Petri estéreis. Em seguida, foi adicionado ágar M17 lactosado (Sigma-Aldrich, Sto. Louis, EUA) fundido e resfriado a 45°C. Após a homogeneização e endurecimento do ágar, as placas foram incubadas a 37°C por 3 dias em aerobiose.

Para a contagem de *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, alíquotas de 1mL de cada diluição das amostras foram transferidas para placas de Petri estéreis. Em seguida, foi adicionado ágar MRS (Himedia) acidificado com ácido acético glacial (pH 5,4), fundido e resfriado a 45°C. Após a homogeneização e endurecimento do ágar, as placas foram incubadas a 37°C por 3 dias em anaerobiose. (BD GasPak EZ Anaerobe Container System).

Todas as determinações foram realizadas em duplicata. Os resultados foram expressos em UFC/mL.

## **2.5 Análises físico-químicas**

### **2.5.1 Acidez livre titulável e pH**

Para todas as formulações desenvolvidas, foram realizadas as análises de acidez livre titulável determinada através de titulação das amostras com solução Dornic (Merck, Darmstadt, Alemanha) na presença de indicador (fenolftaleína). O pH foi determinado utilizando-se pHmetro (Tecnal, Piracicaba, Brasil), nos períodos descritos no item 2.3. Todas as determinações foram realizadas em triplicata.

### **2.5.2 Avaliação do perfil de textura**

A determinação do perfil de textura (TPA) foi realizada nos períodos de armazenamento descritos no item 2.3. Foram avaliados os seguintes parâmetros: dureza, elasticidade, coesividade, mastigabilidade, gomosidade e adesividade. A análise foi realizada em analisador de textura Texture Analyser CT3 (Brookfield, Middleboro, EUA), controlado por computador. Os dados foram coletados através do software Texture CT v1.4 build 17 (Brookfield). Para a realização dos testes, os produtos foram mantidos em suas embalagens originais sob temperatura de 5°C. O probe utilizado é constituído de material acrílico, com 38,1 mm de diâmetro. A análise foi realizada em quadruplicata, obedecendo às seguintes condições: distância = 10 mm; velocidade de pré e pós teste = 2,0 mm/s e velocidade de teste = 1 mm/s (DOMAGALA et al., 2005).

## **2.6 Fermentação**

Para análise de fermentação em iogurte, após a produção (conforme descrito no item 2.2), 50 mL de cada formulação de iogurte (retiradas em condições de assepsia) foram incubados em BOD (Tecnal) à 42°C até atingir pH 4,6. As amostras foram utilizadas para avaliar a fermentação através da mensuração dos seguintes parâmetros: produção de ácido láctico (%) a cada 30 minutos e multiplicação de *S. thermophilus*, *L. bulgaricus* e *B. animalis* Bb-12 a cada 1 hora. As determinações foram realizadas de acordo com o descrito nos itens 2.4 e 2.5.1.

## **2.7 Análise estatística**

A comparação de resultados entre os diferentes tratamentos para cada período de armazenamento e entre os diferentes períodos de armazenamento para cada tratamento foi feita através de Análise de Variância (ANOVA). Previamente a realização da análise de variância, foi avaliada a normalidade dos resultados, através do teste de Shapiro-Wilks, adotando-se um valor de  $\alpha$  de 0,05. Da mesma forma, foi analisada a homogeneidade de variâncias entre os diferentes tratamentos, através do teste de Brown-Forsythe, com  $\alpha$  de 0,05.

Após a aplicação dos testes citados e a realização da ANOVA, foram utilizados testes para observação dos contrastes entre as médias (quando a análise de variância for significativa), considerando-se um nível de significância  $p < 0,05$  (BARROS NETO et al., 2001; BOWER, 1998a; BOWER, 1998b; CALLEGARI-JACQUES, 2003).

Para realização das análises foi utilizado o pacote estatístico Statistica, versão 13.1 para Windows (StatsoftInc, Tulsa, Estados Unidos da América).

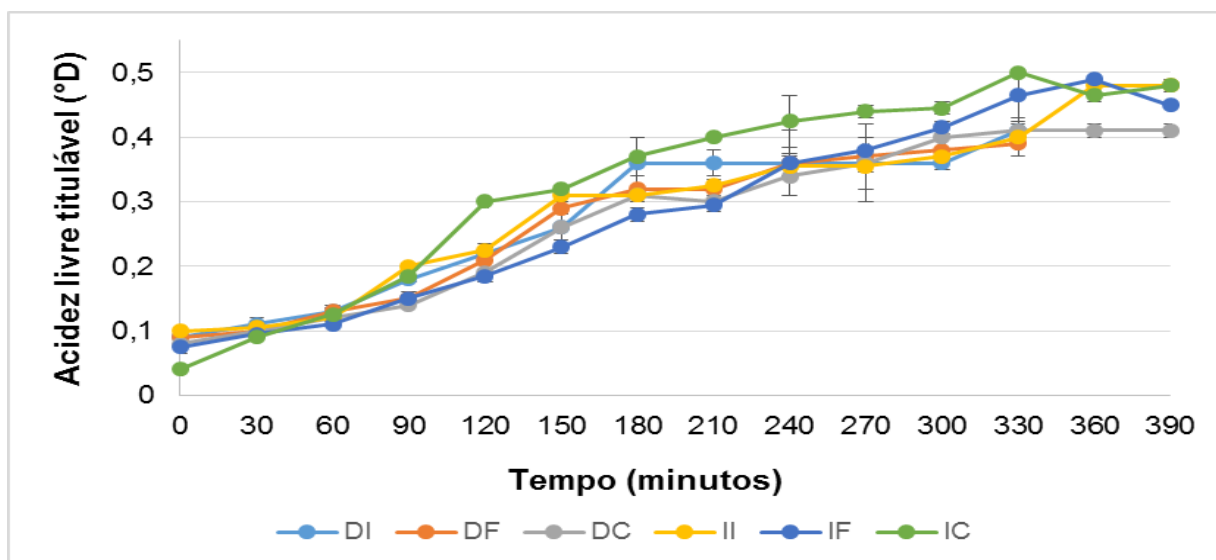
## **3. Resultados e Discussão**

### **3.1. Fermentação**

As Figuras 2 e 3 apresentam os valores de pH e acidez no processo de fermentação dos iogurtes contendo a cepa Bb-12 com e sem adição dos prebióticos inulina e FOS em iogurtes integrais e desnatados.

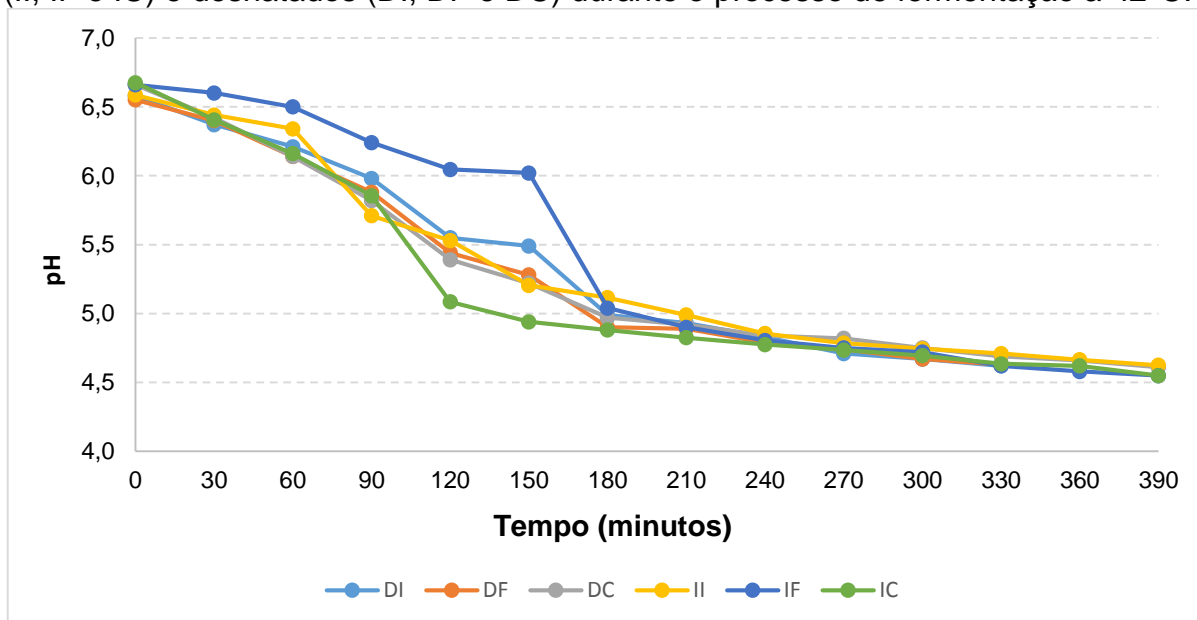


**Figura 2.** Valores de acidez livre titulável (média  $\pm$  desvio padrão) obtidos para os iogurtes\* integrais (II, IF e IC) e desnatados (DI, DF e DC) durante o processo de fermentação a 42°C.



\* II = iogurte integral contendo inulina; IF = iogurte integral contendo FOS; IC = iogurte integral controle; DI = iogurte desnatado contendo inulina; DF = iogurte desnatado FOS; DC = iogurte desnatado controle.

**Figura 3.** Valores de pH (média  $\pm$  desvio padrão) obtidos para os iogurtes\* integrais (II, IF e IC) e desnatados (DI, DF e DC) durante o processo de fermentação a 42°C.



\* II = iogurte integral contendo inulina; IF = iogurte integral contendo FOS; IC = iogurte integral controle; DI = iogurte desnatado contendo inulina; DF = iogurte desnatado FOS; DC = iogurte desnatado controle.

De acordo com as figuras 2 e 3 (fermentação dos iogurtes integral e desnatado), a adição dos prebióticos inulina e FOS em iogurte desnatado, reduziu o tempo de fermentação quando comparado com as formulações controle. Houve uma diminuição do pH e aumento da acidez durante todo o processo de fermentação.

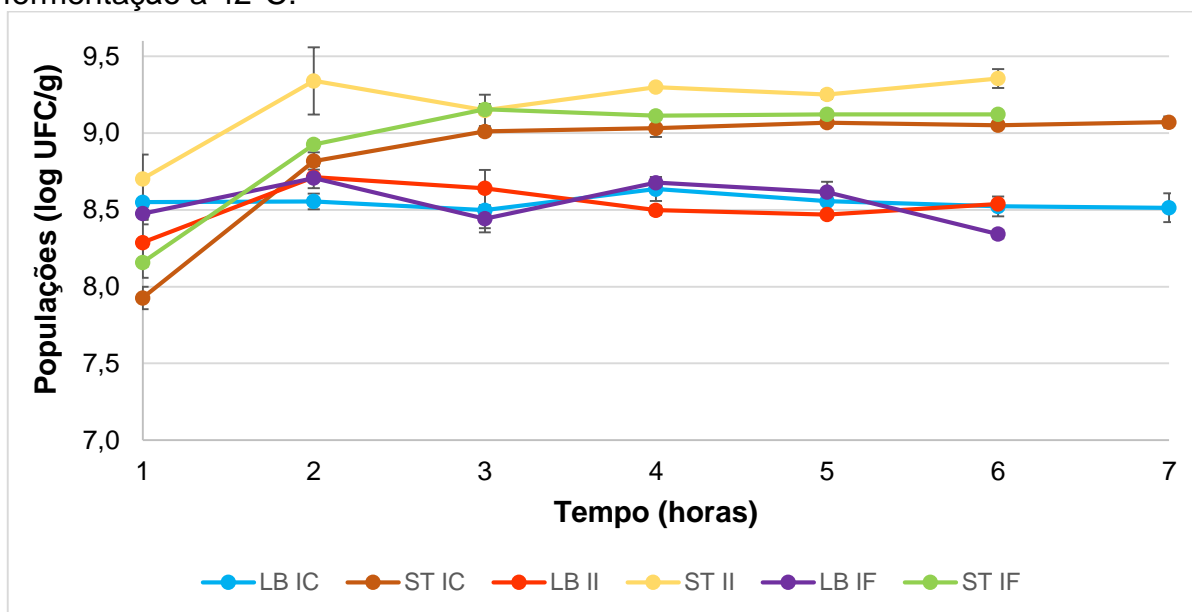
Segundo Karsheva et al. (2013), o processo de diminuição do pH e elevação da acidez durante a fermentação do iogurte é benéfica, pois está associada a melhora da viscosidade aparente do produto. A acidez inicial dos iogurtes variou de 0,05 a 0,1° D e final próximo de 0,5° D. Já para pH os valores iniciais foram próximos de 6,5 e diminuiram durante o processo de fermentação em todas as formulações até atingir o pH final de 4,6.

Nos gráficos de acidez e pH pode –se observar que as formulações com adição de inulina e FOS em iogurte desnatado, acelerou o processo de fermentação, atingindo o pH final de 4,6, uma hora antes quando comparado com as outras formulações.

Similarmente, estudo realizado por Oliveira et al. (2013), com adição de inulina e FOS em leite simbiótico desnatado, acelerou o processo de fermentação quando comparado com o controle, sem adição de prebióticos, resultado semelhante ao encontrado neste trabalho. Este fato provavelmente deve-se ao fato de que os prebióticos exercem atividade bifidogênica, sendo utilizados como substrato para as bactérias, produzindo compostos orgânicos que diminuem o pH e aumentam a acidez do produto, acelerando o processo de fermentação.

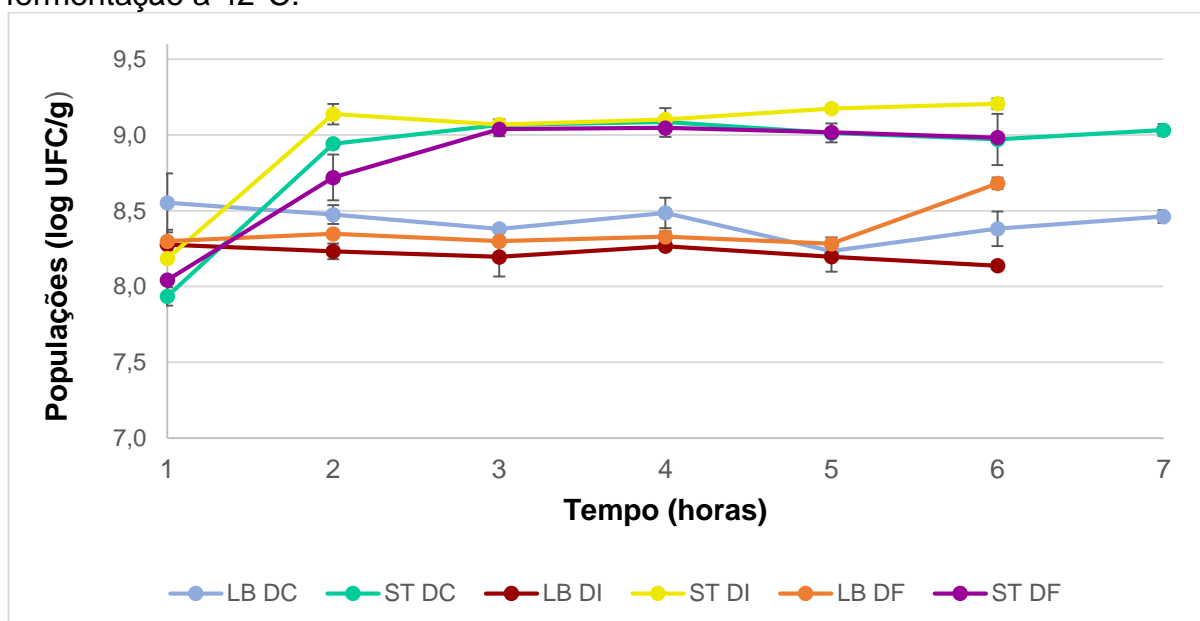
Resultado semelhante foi encontrado por Oliveira et al. (2009b), onde a adição de inulina em leites fermentados desnatados acelerou o processo de fermentação exercendo efeito bifidogênico, além de preservar a viabilidade durante o armazenamento de *Bifidobacterium animalis*. As contagens de *S. thermophilus* e *L. bulgaricus* se mantiveram em  $10^8$  a  $10^9$  UFC/g durante o período de fermentação dos iogurtes integrais e desnatados, não sofrendo influência dos prebióticos utilizados (Figuras 4 e 5).

**Figura 4.** Populações de *Lactobacillus bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus* (média  $\pm$  desvio padrão) observadas para o iogurte integral\*, durante o processo de fermentação a 42°C.



\* LBIC = *L. bulgaricus* no iogurte integral controle; STIC = *S. thermophilus* no iogurte integral controle; LBII = *L. bulgaricus* no iogurte integral contendo inulina; STII = *S. thermophilus* no iogurte integral contendo inulina; LBIF = *L. bulgaricus* no iogurte integral contendo FOS; STIF = *S. thermophilus* no iogurte integral FOS.

**Figura 5.** Populações de *Lactobacillus bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus* (média  $\pm$  desvio padrão) observadas no iogurte desnatado\*, durante o processo de fermentação a 42°C.

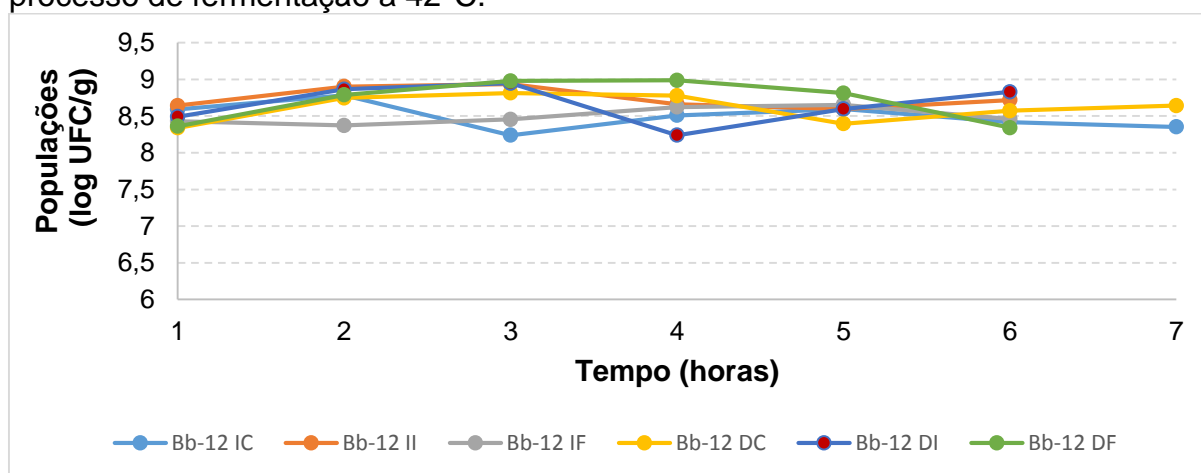


\* LBDC = *L. bulgaricus* no iogurte desnatado controle; STDC = *S. thermophilus* no iogurte desnatado controle; LB DI = *L. bulgaricus* no iogurte desnatado contendo inulina; STDI = *S. thermophilus* no iogurte desnatado I contendo inulina; LBDF = *L. bulgaricus* no iogurte desnatado contendo FOS; STDF = *S. thermophilus* no iogurte desnatado FOS.

De acordo com a ANVISA, para o produto lácteo ser considerado iogurte deve conter contagens mínimas de  $10^7$  UFC/g de *S. thermophilus* e *L. bulgaricus* no produto (BRASIL, 2000), o que pôde ser constatado neste trabalho.

Em estudo realizado por Akalin et al. (2004), sobre viabilidade e atividade de bifidobactéria em iogurtes contendo FOS, mostram que a viabilidade e contagens de células viáveis de *S. thermophilus*, diminuíram ligeiramente durante o armazenamento de 21 dias, porém *L. bulgaricus*, teve uma diminuição maior quando comparado com *S. thermophilus*. Em média, a sobrevivência de *S. thermophilus* foi maior do que *L. bulgaricus*. Já para Saccaro (2008), sobre fermentação em leites fermentados, a contagem da cultura iniciadora *S. thermophilus* apresentou as contagens mais elevadas mesmo após os 21 dias de estocagem refrigerada. A Figura 6 representa as contagens de Bb-12 durante processo de fermentação dos iogurtes.

**Figura 6.** Populações de *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12 observadas (média  $\pm$  desvio padrão) obtidos para os iogurtes\* integrais e desnatados durante o processo de fermentação a 42°C.



IC = iogurte integral controle; II = iogurte integral contendo inulina; IF = iogurte integral contendo FOS; DC = iogurte desnatado controle; DI = iogurte desnatado contendo inulina; DF = iogurte desnatado contendo FOS.

Para todas as formulações considerando os iogurtes integrais e desnatados, houve um aumento da cultura Bb-12 durante o processo de fermentação do iogurte. Em todas as formulações as contagens de Bb-12 mantiveram acima de  $10^8$  UFC/g, porém atingindo  $10^9$  UFC/g durante o processo de fermentação nas formulações contendo inulina e FOS, diferentemente da formulação controle, que manteve as contagens abaixo de  $10^9$  UFC/g. No final da fermentação houve uma pequena

diminuição de Bb-12 em iogurte contendo FOS quando comparado com a inulina, que apresentou um aumento da contagem de Bb-12 no final do processo de fermentação. O tempo médio de fermentação para os iogurtes contendo prebióticos foi de 6 horas, sendo que o iogurte controle foi de 7 horas. Portanto, sugere-se que a adição de prebióticos favoreceu a multiplicação da cepa Bb-12, influenciando o processo de aceleração de fermentação do iogurte. Este fato é de grande importância para a indústria de alimentos que busca produtos inovadores, buscando diminuir o tempo de produção sem comprometer a qualidade do produto.

Para todas as formulações de iogurte integral e desnatado, a adição de inulina e FOS pode ter influenciado a multiplicação da cultura probiótica, que apresentou populações superiores quando comparado ao iogurte controle. Tais resultados podem ser confirmados observando-se os resultados de acidez e pH onde a produção de iogurte desnatado utilizando os prebióticos inulina e FOS aceleraram o processo de fermentação, comparado com o controle. Houve uma diminuição do pH e aumento da acidez durante o processo de fermentação. Sendo que o pH 4,6 do iogurte foi atingido antes nas formulações contendo inulina e FOS.

De acordo com pesquisa realizada por Oliveira et al. (2013), os efeitos dos prebióticos inulina e FOS em leite com baixo teor de gordura, sobre o perfil de fermentação e crescimento de *L. acidophilus*, *L. bulgaricus*, *L. rhamnosus* e *Bifidobacterium lactis* em co-cultura com *S. thermophilus*, mostra que a acidificação e viabilidade da cultura *Bifidobacterium lactis* foi positivamente influenciada pela adição dos prebióticos inulina e FOS. Já no processo de fermentação, o FOS acelerou a acidificação mais rapidamente do que a inulina, mostrando-se uma boa alternativa para acelerar processo de fermentação e melhorar a produção de produtos lácteos funcionais. Além disto, a cepa de *B. lactis*, foi a cultura mais estimulada pela presença da inulina e FOS, resultado semelhante ao que foi encontrado neste trabalho. Estes resultados demonstram que a interação entre probiótico e prebiótico foi positiva neste estudo, o que está de acordo com a definição proposta por Gibson e Roberfroid (1995). Resultado semelhante foi observado por Oliveira et al. (2009a), no processo de fermentação em leite fermentado desnatado, onde a contagem de Bb-12 foi maior em leite fermentado contendo oligofrutose.

Em estudo realizado com adição de fruto-oligossacarídeos em iogurte produzido com extrato hidrossolúvel de soja, os prebióticos foram responsáveis pela manutenção da viabilidade das bactérias probióticas até o 28º dia de armazenamento,

em nível superior ao necessário para caracterizar um alimento probiótico. O iogurte suplementado apresentou pH de 4,63 e acidez de 0,37%, maior viscosidade, coesividade e adesividade e menor dureza que o iogurte sem suplementação. O índice de aceitação do iogurte de soja suplementado com prebióticos foi de 71,20%.

### **3.2 Análises pH e acidez livre titulável**

Os valores de pH e acidez se mantiveram próximos para todas as formulações de iogurte integral e desnatado, demonstrando que a incorporação do micro-organismo Bb-12 e os prebióticos inulina e fruto-oligossacarídeo não alteraram estes parâmetros físico-químicos dos iogurtes desenvolvidos (Tabela 2).

**Tabela 2.** Valores de pH e acidez (média  $\pm$  desvio padrão) obtidos para os iogurtes integrais e desnatados F1 (adição de Bb-12\*+ inulina), F2 (adição de Bb-12\* e FOS) e F3 (controle) após 7, 14 e 21 dias de armazenamento a 5° C.

logurtes	Armazenamento (dias)	pH	Acidez (°D)
<b>**F1I</b>	7	4,51 $\pm$ 0,10 <sup>Aa</sup>	0,50 $\pm$ 0,04 <sup>Aa</sup>
	14	4,76 $\pm$ 0,15 <sup>Bb</sup>	0,52 $\pm$ 0,02 <sup>Aa</sup>
	21	4,61 $\pm$ 0,11 <sup>Cb</sup>	0,50 $\pm$ 0,02 <sup>Aa</sup>
<b>**F2I</b>	7	4,51 $\pm$ 0,11 <sup>Ab</sup>	0,50 $\pm$ 0,01 <sup>Aa</sup>
	14	4,76 $\pm$ 0,11 <sup>Bb</sup>	0,50 $\pm$ 0,02 <sup>Aa</sup>
	21	4,60 $\pm$ 0,10 <sup>Cb</sup>	0,50 $\pm$ 0,02 <sup>Aa</sup>
<b>**F3I</b>	7	4,48 $\pm$ 0,16 <sup>Aa</sup>	0,52 $\pm$ 0,02 <sup>Aa</sup>
	14	4,77 $\pm$ 0,10 <sup>Bb</sup>	0,53 $\pm$ 0,04 <sup>Aa</sup>
	21	4,62 $\pm$ 0,04 <sup>Cb</sup>	0,51 $\pm$ 0,02 <sup>Aa</sup>
<b>**F1D</b>	7	4,64 $\pm$ 0,04 <sup>Aa</sup>	0,47 $\pm$ 0,02 <sup>Aa</sup>
	14	4,59 $\pm$ 0,05 <sup>Bb</sup>	0,50 $\pm$ 0,01 <sup>Aa</sup>
	21	4,60 $\pm$ 0,06 <sup>Bb</sup>	0,51 $\pm$ 0,02 <sup>Aa</sup>
<b>**F2D</b>	7	4,70 $\pm$ 0,05 <sup>Aa</sup>	0,46 $\pm$ 0,01 <sup>Aa</sup>
	14	4,69 $\pm$ 0,03 <sup>Ba</sup>	0,48 $\pm$ 0,01 <sup>Aa</sup>
	21	4,66 $\pm$ 0,04 <sup>Ba</sup>	0,49 $\pm$ 0,02 <sup>Aa</sup>
<b>**F3D</b>	7	4,66 $\pm$ 0,08 <sup>Aa</sup>	0,49 $\pm$ 0,02 <sup>Aa</sup>
	14	4,62 $\pm$ 0,03 <sup>Ba</sup>	0,50 $\pm$ 0,03 <sup>Aa</sup>
	21	4,60 $\pm$ 0,05 <sup>Ba</sup>	0,51 $\pm$ 0,01 <sup>Aa</sup>

\**Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*.

A,B,C: letras maiúsculas diferentes sobrescritas na mesma coluna indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre as diferentes formulações avaliadas no mesmo período de armazenamento, para cada parâmetro.

a,b,c: letras minúsculas diferentes sobrescritas na mesma coluna indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre os diferentes períodos de armazenamento para uma mesma formulação e um mesmo parâmetro. \*\*F1I: iogurte integral com inulina; F2I: iogurte integral com FOS; F3I: iogurte integral controle; F1D: iogurte desnatado com inulina; F2D: iogurte desnatado com FOS; F3D: iogurte desnatado controle.

Neste estudo, os valores de pH e acidez mantiveram-se próximos tanto no iogurte integral quanto no desnatado. De acordo com a Tabela 2 não houve diferenças significativas nos valores de pH comparando as diferentes formulações de iogurte integral e desnatado com e sem adição de prebióticos no mesmo período de armazenamento de 7, 14 e 21 dias ( $p > 0,05$ ). Entretanto, a adição de inulina no iogurte

integral e desnatado alterou significativamente ( $p < 0,05\%$ ) os valores de pH entre o 7° e 14° dia de armazenamento, diferentemente dos iogurtes adicionados de FOS e o iogurte controle. Os valores de acidez não apresentaram diferenças significativas ( $p > 0,05$ ) comparando as diferentes formulações no mesmo período de armazenamento e entre os diferentes dias de armazenamento da mesma formulação. Portanto a adição de prebióticos mostrou-se uma ótima opção na incorporação de iogurte, devido seus benefícios nutricionais sem afetar os valores de pH e acidez do produto. Sendo que um produto muito ácido pode levar à rejeição por parte dos consumidores. Conforme o Padrão de Identidade e Qualidade de Leite Fermentado, (Resolução nº 5, de 13 de novembro de 2000), a acidez total (g/ácido láctico/100g), para iogurte deve estar entre 0,6 e 2,0, portanto todas as amostras estão dentro do padrão recomendado (BRASIL, 2007).

Segundo Tamime e Robinson (1999) valores de pH entre 4,6 - 4,7 conduzem a formação de um gel, o iogurte, devido a ação do ácido láctico resultante da fermentação que contribui para a desestabilização da micela de caseína, provocando sua coagulação. Valores inferiores podem favorecer a contração do coágulo devido a redução da hidratação das proteínas, causando o dessoramento no iogurte, o que pode levar a rejeição por parte dos consumidores, sendo que todas as amostras de iogurte integral e desnatado com ou sem adição de prebióticos manteve o pH durante período de armazenamento acima de 4,5.

Em estudo realizado por Guven et al. (2005), com iogurte desnatado adicionado de inulina e probiótico *Bifidobacterium* sp., observou-se que o mesmo não apresentou diferenças significativas entre os valores de pH durante o período de armazenamento de 15 dias.

Entretanto, em estudo realizado por Ahmadi et al. (2014), em sorvete de iogurte, com adição do probiótico *Lactobacillus acidophilus* La-5 e o prebiótico FOS, houve diminuição do pH e aumentou da acidez durante o armazenamento à  $-18^{\circ}\text{C}$  no período de 60 dias, sendo que a suplementação de FOS influenciou significativamente o pH e acidez. Porém, em estudo realizado por Mazloomi et al. (2011), em iogurte desnatado com adição de *Lactobacillus acidophilus* e 1 e 2% inulina, não apresentou alteração significativa nos valores de pH e acidez durante 14 dias de armazenamento quando comparado com o controle sem adição do probiótico.

Para Rezaei et al. (2014), o iogurte congelado contendo 2% de inulina, e cepa probiótica *Lactobacillus acidophilus* La-5 e *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*



apresentou pH significativamente mais baixo e maior acidez que o iogurte controle somente com probióticos. O mesmo resultado foi apresentado por Akalin et al. (2004), onde os valores de pH em iogurtes contendo *Bifidobacterium animalis* e fruto-oligossacarídeo foi menor do que o iogurte sem prebiótico durante o período de armazenamento de 28 dias.

### 3.3 Análise das populações de *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12.

As formulações F1, F2 e F3 apresentaram populações de Bb-12 acima de 7,00 log UFC/g durante todo o período de 21 dias (Tabela 3).

**Tabela 3.** Populações de *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12 (média  $\pm$  desvio-padrão) obtidas para os iogurtes integral após 7, 14 e 21 dias de armazenamento a 5°C.

Formulações	Populações de Bb-12 (log UFC/g)		
	7	14	21
*F1I	8,09 $\pm$ 0,05 <sup>Aa1</sup>	8,76 $\pm$ 0,00 <sup>Ba1</sup>	9,06 $\pm$ 0,18 <sup>Ca1</sup>
*F2I	8,21 $\pm$ 0,16 <sup>Aa1</sup>	8,59 $\pm$ 0,10 <sup>Ba1</sup>	9,05 $\pm$ 0,11 <sup>Ca1</sup>
*F3I	8,38 $\pm$ 0,06 <sup>Aa1</sup>	8,14 $\pm$ 0,12 <sup>Ab1</sup>	8,95 $\pm$ 0,10 <sup>Ba1</sup>
*F1D	8,86 $\pm$ 0,13 <sup>Aa2</sup>	8,78 $\pm$ 0,10 <sup>Aa1</sup>	8,41 $\pm$ 0,43 <sup>Aa2</sup>
*F2D	8,94 $\pm$ 0,32 <sup>Aa1</sup>	8,79 $\pm$ 0,11 <sup>Aa1</sup>	8,68 $\pm$ 0,11 <sup>Ab2</sup>
*F3D	9,01 $\pm$ 0,23 <sup>Aa2</sup>	8,73 $\pm$ 0,19 <sup>Bb2</sup>	8,67 $\pm$ 0,19 <sup>Bb2</sup>

<sup>A,B,C</sup>: letras maiúsculas diferentes sobrescritas na mesma linha indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre os diferentes períodos de armazenamento para uma mesma formulação.

<sup>a,b</sup>: letras minúsculas diferentes sobrescritas na mesma coluna indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) para produtos integrais e para produtos desnatados em um mesmo período de armazenamento.

<sup>1,2</sup>: números diferentes sobrescritos em uma mesma coluna indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) comparando-se a mesma formulação produzida com leite integral e com leite desnatado para um mesmo período de armazenamento.

\*F1I: iogurte integral simbiótico, com adição de Bb-12, inulina e leite em pó; F2I: iogurte integral simbiótico, com adição de Bb-12, FOS e leite em pó; F3I: iogurte integral simbiótico com adição de Bb-12 e leite em pó; F1D: iogurte desnatado simbiótico, com adição de Bb-12, inulina e leite em pó; F2D: iogurte desnatado simbiótico, com adição de Bb-12, FOS e leite em pó e F3D: iogurte desnatado simbiótico, com adição de Bb-12 e leite em pó.

As formulações F1, F2 e F3 apresentaram valores acima do recomendado para ser considerado um alimento probiótico, independentemente do tipo de leite utilizado na produção dos iogurtes (integral ou desnatado) (Tabela 3). Observou-se diferenças

significativas ( $p < 0,05$ ) nas contagens de Bb-12, comparando as diferentes formulações e os dois tipos de leites empregados nas produções (integral e desnatado). Observou-se aumento das contagens de Bb-12 nos iogurtes integrais com adição de prebióticos ao término do armazenamento (dia 21), com diferença estatisticamente significativa entre o dia 7 e 21 ( $p < 0,05$ ). Esse comportamento não foi observado para os iogurtes desnatados. As contagens de Bb-12 nos iogurtes integrais e desnatados mantiveram-se acima de 8 log UFC/g no final do período de armazenamento, porém os iogurtes integrais apresentaram populações superiores no dia 21 ( $p < 0,05$ ). A incorporação do prebiótico no iogurte mostra-se uma boa opção devido aos benefícios do consumo destas fibras para a saúde, como citado por Gibson et al. (1995) e Gibson e Roberfroid (1995) onde os prebióticos inulina e FOS são capazes de contribuir para o bom funcionamento do intestino, sendo capazes de estimular as bifidobactérias intestinais. Para Kearney et al. (1998), a maior dificuldade de utilizar bactérias probióticas nos alimentos é garantir a viabilidade destas cepas, em especial a bifidobactéria, sendo que estas, são inativadas quando expostas à ácidos e oxigênio durante o processamento dos produtos lácteos. O mesmo fato foi relatado por Dave e Shah (1998), onde relata que o crescimento e viabilidade da bifidobactéria pode ser alterado pela presença de oxigênio.

Em estudo de Pimentel et al. (2012) não foi observado influência significativa da adição de inulina em iogurte na viabilidade de bactérias probióticas. De acordo com estes autores, a multiplicação e a manutenção da viabilidade de culturas probióticas na presença de inulina, varia de acordo com o grau de polimerização. Além disto, algumas cepas são específicas na fermentação deste carboidrato, enquanto outras cepas preferem outros substratos. Neste estudo, porém, pode-se observar que a viabilidade da cepa foi mantida tanto no iogurte suplementado com inulina e FOS quanto no iogurte controle, resultado semelhante ao encontrado neste trabalho. Diferentemente, em estudo realizado por Gustaw, Kordowska- Wiater e Koziol (2011), a adição de inulina e FOS aumentou o número de *Bifidobacterium sp.* quando comparado com o iogurte controle, provavelmente devido ao efeito prebiótico dos mesmos.

Resultado semelhante foi encontrado em Ozer et al. (2005), onde a adição do prebiótico inulina aumentou a viabilidade de *Bifidobacterium bifidus* quando comparado com *Lactobacillus acidophilus* La-5 em iogurte suplementado com inulina.

Em estudo realizado por Oliveira et al. (2009b), utilizando diferentes prebióticos em leite fermentado desnatado, comparou a multiplicação dos probióticos *L. acidophilus*, *L. rhamnosus* e *B. lactis*, contendo maltodextrina, oligofrutose e polidextrose. Pode-se observar neste estudo que as maiores contagens foram com os prebióticos oligofrutose e polidextrose, sendo que a cepa de *B. lactis* foi a mais estimulada na presença do prebiótico.

Em estudo realizado por Akalin, Fenderya e Akbulut (2004), a adição de frutanos tipo inulina apresentou efeito protetor sobre bactérias probióticas, incluindo aumento de sua sobrevivência e atividade durante armazenamento, sendo que as contagens de *B. animalis* e *B. longum* foram maiores nas formulações contendo FOS, enquanto a cepa de *Bifidobacterium animalis* apresentou melhor estabilidade no iogurte durante o período de armazenamento do que *Bifidobacterium longum*. Isto pode sugerir, que a cadeia do FOS sendo menor do que a de inulina facilite o consumo pela bactéria probiótica, considerando que o crescimento e viabilidade da cultura probiótica varia com o grau de polimerização da cadeia prebiótica e da cepa utilizada (MAKRAS et al., 2005). Jayamanne e Adams (2006), em estudo realizado com diferentes marcas comerciais de iogurte contendo diferentes cepas de bifidobactérias (incluindo *B. longum*, *B. breve*, *B. bifidum*, *B. adolescentes*, *B. longum* subsp. *infantis* e *B. animalis* spp. *lactis*), nove entre dez marcas apresentavam bifidobactéria em níveis superiores a  $10^6$  UFC/g. Durante período de armazenamento todas as cepas com exceção da *Bifidobacterium animalis* spp. *lactis* diminuíram as contagens abaixo de  $10^6$  UFC/g em 7 dias de armazenamento a 4°C. Além disto, a cepa de *Bifidobacterium animalis* spp. *lactis* apresentou maior tolerância a ácidos e alteração de pH. De acordo com Jugersen et al. (2014), a cepa de Bb-12 expressa boa estabilidade e apresenta alta tolerância ao oxigênio, ácidos e bile. Sendo muito utilizado em produtos lácteos por sobreviver no alimento até o consumo.

### 3.4 Textura

Na Tabela 4 são apresentados os parâmetros de textura dureza, adesividade e gomosidade avaliados das diferentes formulações de iogurte integral e desnatado nos parâmetros desenvolvidos. Considerando-se as formulações contendo iogurte com leite integral e desnatado, todos os parâmetros avaliados de dureza, adesividade e gomosidade no iogurte desnatado apresentaram as médias bem abaixo comparado

com o iogurte integral, mesmo nas formulações com adição de inulina e FOS, que são utilizados como substitutos de gordura em alimentos, especialmente em lácteos.

**Tabela 4.** Avaliação dos parâmetros dureza, adesividade e gomosidade (média  $\pm$  desvio-padrão) obtido para os iogurtes integral e desnatado após 7, 14 e 21 dias de armazenamento a 5° C.

Formulação	Tempo (dias)	Dureza (N)	Adesividade (MJ)	Gomosidade (N)
*F1I	7	0,50 $\pm$ 0,06 <sup>Aa</sup>	1,90 $\pm$ 0,76 <sup>Aa</sup>	0,36 $\pm$ 0,06 <sup>Aa</sup>
	14	0,52 $\pm$ 0,11 <sup>Aa</sup>	2,30 $\pm$ 0,56 <sup>Ab</sup>	0,39 $\pm$ 0,07 <sup>Aa</sup>
	21	0,54 $\pm$ 0,08 <sup>Aa</sup>	1,80 $\pm$ 0,04 <sup>Aa</sup>	0,45 $\pm$ 0,11 <sup>Ab</sup>
*F2I	7	0,55 $\pm$ 0,11 <sup>Aa</sup>	2,30 $\pm$ 0,60 <sup>Ba</sup>	0,35 $\pm$ 0,10 <sup>Aa</sup>
	14	0,54 $\pm$ 0,07 <sup>Aa</sup>	2,00 $\pm$ 0,58 <sup>Aa</sup>	0,40 $\pm$ 0,10 <sup>Ab</sup>
	21	0,60 $\pm$ 0,07 <sup>Aa</sup>	2,30 $\pm$ 0,43 <sup>Ba</sup>	0,45 $\pm$ 0,12 <sup>Ab</sup>
*F3I	7	0,52 $\pm$ 0,06 <sup>Aa</sup>	1,90 $\pm$ 0,57 <sup>Aa</sup>	0,34 $\pm$ 0,12 <sup>Aa</sup>
	14	0,57 $\pm$ 0,09 <sup>Aa</sup>	2,10 $\pm$ 0,55 <sup>Ab</sup>	0,32 $\pm$ 0,12 <sup>Ba</sup>
	21	0,50 $\pm$ 0,13 <sup>Aa</sup>	1,80 $\pm$ 0,84 <sup>Aa</sup>	0,34 $\pm$ 0,08 <sup>Ba</sup>
*F1D	7	0,32 $\pm$ 0,03 <sup>Aa</sup>	0,40 $\pm$ 0,31 <sup>Aa</sup>	0,28 $\pm$ 0,06 <sup>Aa</sup>
	14	0,34 $\pm$ 0,63 <sup>Aa</sup>	0,40 $\pm$ 0,14 <sup>Aa</sup>	0,28 $\pm$ 0,03 <sup>Aa</sup>
	21	0,33 $\pm$ 0,09 <sup>Aa</sup>	0,40 $\pm$ 0,38 <sup>Aa</sup>	0,30 $\pm$ 0,10 <sup>Aa</sup>
*F2D	7	0,29 $\pm$ 0,02 <sup>Ba</sup>	0,30 $\pm$ 0,12 <sup>Ba</sup>	0,25 $\pm$ 0,03 <sup>Aa</sup>
	14	0,28 $\pm$ 0,03 <sup>Ba</sup>	0,40 $\pm$ 0,17 <sup>Ab</sup>	0,26 $\pm$ 0,04 <sup>Aa</sup>
	21	0,29 $\pm$ 0,04 <sup>Ba</sup>	0,30 $\pm$ 0,37 <sup>Ba</sup>	0,26 $\pm$ 0,06 <sup>ABa</sup>
*F3D	7	0,26 $\pm$ 0,04 <sup>Ca</sup>	0,70 $\pm$ 0,41 <sup>Ca</sup>	0,19 $\pm$ 0,06 <sup>Ba</sup>
	14	0,28 $\pm$ 0,04 <sup>Ca</sup>	0,50 $\pm$ 0,19 <sup>Bb</sup>	0,23 $\pm$ 0,02 <sup>Ab</sup>
	21	0,28 $\pm$ 0,03 <sup>Ba</sup>	0,45 $\pm$ 0,29 <sup>Cc</sup>	0,23 $\pm$ 0,07 <sup>Bb</sup>

<sup>A,B,C</sup>: letras maiúsculas diferentes sobrescritas na mesma coluna indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre as diferentes formulações avaliadas no mesmo período de armazenamento, para cada parâmetro.

<sup>a,b,c</sup>: letras minúsculas diferentes sobrescritas na mesma coluna indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre os diferentes períodos de armazenamento para uma mesma formulação e um mesmo parâmetro.

\*F1I: iogurte integral simbiótico com adição de Bb-12, inulina e leite em pó, F2I: iogurte integral simbiótico com adição de Bb-12, FOS e leite em pó; F3I: iogurte integral com adição de Bb-12 e leite em pó; F1D: iogurte desnatado simbiótico com adição de Bb-12, inulina e leite em pó; F2D: iogurte desnatado simbiótico com adição de Bb-12, FOS e leite em pó e F3D: iogurte desnatado com adição de Bb-12 e leite em pó.

A adição de prebióticos nos iogurtes desnatados não aumentou os parâmetros de dureza, adesividade e gomosidade para valores próximos do iogurte integral, sugerindo que a gordura presente no iogurte integral é importante para manutenção da matriz do iogurte evitando a sinérese durante o período de armazenamento.

No parâmetro dureza em iogurte integral, a adição de FOS apresentou maiores médias, nos dias 7, 14 e 21, quando comparado com as formulações contendo inulina e controle, porém esta diferença não foi significativa ( $p > 0,05$ ). No iogurte desnatado, a dureza apresentou maior média na formulação contendo inulina, apresentando diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) neste parâmetro para as formulações comparando o iogurte com FOS e controle, nos dias 7, 14 e 21 dias.

A adesividade em iogurte integral apresentou-se maior, em iogurte contendo FOS no 7° e 21° dia apresentando diferenças significativas ( $p > 0,05\%$ ) quando comparado com iogurte contendo inulina e controle.

Em iogurtes desnatados, o parâmetro adesividade apresentou as menores médias, principalmente nas formulações contendo inulina e FOS, sendo que o iogurte controle apresentou maior valor de adesividade. Houve diferenças significativas no parâmetro adesividade ( $p < 0,05$ ) no 7°, 14° e 21° dia de armazenamento quando comparado as diferentes formulações (F1, F2 e F3) no mesmo período de armazenamento de 7, 14 e 21 dias.

Nos parâmetros de gomosidade, as médias foram maiores em iogurtes contendo prebióticos. Não houve diferenças significativas nos valores de gomosidade nos iogurtes contendo prebióticos, comparando inulina e FOS. Porém no iogurte controle as médias de gomosidade foram menores quando comparado com os iogurtes contendo prebióticos apresentando diferença significativa nos valores no 7° e 21° dia de armazenamento dos iogurtes. Os valores de gomosidade do iogurte desnatado ficaram abaixo dos iogurtes integrais, mesmo nas formulações contendo prebióticos. No iogurte desnatado a maior média de gomosidade foi encontrado no iogurte contendo inulina, FOS e controle, respectivamente. Porém este aumento da gomosidade em iogurte contendo prebióticos não apresentou diferença significativa ( $p > 0,05\%$ ) nos dias de armazenamento.

Os parâmetros de dureza, adesividade e gomosidade em iogurtes desnatados apresentaram valores abaixo dos iogurtes integrais mesmo as formulações adicionadas de prebióticos, inulina e FOS. Porém a inulina, influenciou positivamente os parâmetros de dureza e adesividade, apresentando diferença significativas

( $p < 0,05\%$ ) quando comparado com o prebiótico FOS, que apresentou as menores médias destes parâmetros. Esta diferença nos parâmetros apresentados pode favorecer a sinérese nos iogurtes, provavelmente pela redução do conteúdo de gordura do produto. Este fato pôde ser observado nos iogurtes desnatados durante o período de armazenamento, sendo que a sinérese foi maior em iogurtes desnatados do que nos integrais (Figura 7 e 8). Este defeito pode provocar rejeição por parte dos consumidores, pela quantidade de soro no produto no momento do consumo. Apesar da inulina e FOS serem considerados substâncias higroscópicas, pode-se observar nos iogurtes grande quantidade de soro nas formulações com os prebióticos nos iogurtes desnatados.



**Figura 7.** Iogurte integral com prebiótico



**Figura 8.** Iogurte desnatado com prebiótico

Fonte: Dos autores (2016)

Análise de textura em amostra comercial de iogurte probiótico sabor morango, contendo cepa de *Bifidobacterium animalis*, realizada para comparação com os produtos desenvolvidos neste trabalho, apresentou parâmetros de dureza de 0,49N, adesividade de 3,2 MJ e gomosidade de 0,31 N. Estes valores estão próximos dos apresentados na Tabela 4 para os iogurtes integrais desenvolvidos, sendo que apresenta como diferencial da amostra comercial, a presença dos prebióticos, que contribuem para a saúde do consumidor, causando efeitos na microbiota intestinal, como melhora da constipação pelos seus efeitos sobre o bolo fecal, além dos efeitos sistêmicos no organismo pelo consumo destas fibras.

De acordo com os valores apresentados nas tabelas de textura pôde-se observar que a gordura do leite foi essencial para aumentar os valores de dureza, adesividade e gomosidade em comparação com os iogurtes desnatados. Apesar de utilizar os prebióticos inulina e FOS como substitutos de gordura, não houve um

aumento considerável nas médias apresentadas dos parâmetros de dureza, adesividade e gomosidade. Apesar de não existir legislação específica para textura em iogurtes, valores menores de adesividade, gomosidade e dureza podem influenciar as características sensoriais dos produtos, comprometendo a qualidade e aceitabilidade do produto frente aos consumidores.

Em estudo realizado com adição de inulina com diferentes graus de polimerização em iogurte desnatado natural como substituto de gordura, resultou em produtos com características texturais (firmeza, coesividade, adesividade e gomosidade semelhantes aos iogurtes integrais (PIMENTEL, 2009; PIMENTEL et al., 2012).

Em estudo realizado por Gustaw et al. (2011), em iogurtes contendo 1% dos prebióticos inulina e FOS a adição de 1% de FOS causou aumento significativo na viscosidade e dureza com relação ao iogurte sem prebiótico. Porém não houve diferença significativa nos parâmetros de textura em iogurtes contendo inulina e FOS durante período de 21 dias.

Para Haully et al. (2005), a adição de FOS em iogurte de soja, apresentou menores valores de dureza e maior viscosidade, coesividade e adesividade do que em iogurte sem prebióticos.

Segundo Aryana e McGrew (2007), em estudo sobre análise de textura em iogurte desnatado com adição de *Lactobacillus casei* e inulina comparando os diferentes comprimentos de cadeia, verificaram que a inulina com maior comprimento de cadeia, conhecido como inulina HP, apresentou menor sinérese quando comparado com o iogurte controle, e melhor textura e corpo do iogurte, não afetando a viscosidade e valores de pH e acidez.

Estes resultados apresentados pelo estudo de Aryana e McGrew (2007), são de extrema importância para este trabalho, pois o objetivo foi produzir um iogurte com teor de gordura reduzido, utilizando como substituto da gordura diferentes prebióticos, sem alterar os parâmetros reológicos do produto. Porém o resultado encontrado utilizando inulina e FOS em iogurtes desnatados foi um iogurte com valores baixos de dureza, adesividade e gomosidade além de maior sinérese quando comparado com o iogurte integral.

Resultado semelhante ao estudo de Aryana e McGrew (2007), foi encontrado por Passephol et al. (2008), sobre os efeitos da inulina de diferentes comprimentos de cadeia em iogurtes desnatados, armazenado por 28 dias à 4° C, todos os iogurtes

contendo inulina apresentaram valores mais baixos de firmeza quando comparado com iogurte controle. Porém a inulina com maior comprimento de cadeia (HP), demonstraram um comportamento reológico mais próximo do iogurte controle integral.

Para Pimentel et al. (2012), o iogurte prebiótico desnatado utilizando inulina com maior comprimento de cadeia, os valores de firmeza, coesividade, adesividade e gomosidade, foram semelhantes ao iogurte integral, indicando que a inulina pode ser utilizada como substituto de gordura.

## CONCLUSÃO

O desenvolvimento de diferentes formulações de iogurte simbiótico utilizando cepa de *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12 e prebiótico inulina e FOS, mostrou-se uma boa alternativa para indústria de alimentos, pois a viabilidade dos probióticos permaneceu elevada até o final do período de armazenamento estudado e a adição dos prebióticos acelerou o processo de fermentação dos iogurtes, sem alteração dos parâmetros físico-químicos. Os resultados de textura mostram que a inulina mostrou-se uma boa opção como substituto de gordura no iogurte desnatado quando comparado com o prebiótico FOS. Nos iogurtes integrais, a gordura favoreceu os parâmetros reológicos dos iogurtes durante período de armazenamento. Já que os iogurtes integrais apresentaram menor sinérese quando comparado ao iogurte desnatado, mesmo nas formulações contendo prebióticos. Os iogurtes desenvolvidos atenderam as recomendações da ANVISA, permitindo que os sejam considerados alimentos funcionais, sendo uma opção saudável para o consumidor.

## REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. ALIMENTOS. **Alimentos com alegações de propriedades funcionais e ou de saúde, novos alimentos/ingredientes, substâncias bioativas e probióticos**. 2008. Disponível em: [http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno\\_lista\\_alega.htm](http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno_lista_alega.htm). Acesso em 30 jul.2015.

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



AKALIN, A.S.; GÖNÇ, S.; ÜNAL, G.; FENDERYA, S. Effects of fructooligosaccharides and whey protein concentrate on the viability of starter culture in reduced-fat probiotic yogurt during storage. **Journal of Food Science**, Champaign, v.72, n.7, 2007a.

AKALIN, A.S.; TOKUSOGLU, O.; GONC, S.; AYCAN, S. Occurrence of conjugated linoleic acid in probiotic yogurts supplemented with fructooligosaccharide. **International Dairy Journal**, Amsterdam, v.17, n.9, p. 1089-1095, 2007b.

AKIN, M.B.; AKIN, M.S.; KIRMACI, Z. Effects of inulin and sugar levels on the viability of yogurt and probiotic bacteria and the physical and sensory characteristics in probiotic ice-cream. **Food Chemistry**, Amsterdam, v.104, n.1., p. 93-99, 2007.

APORTELA-PALACIOS, A.; SOSA-MORALES, M. E.; VÉLEZ-RUIZ, J. F. Rheological and physicochemical behavior of fortified yogurt, with fiber and calcium. **Journal of Texture Studies**, Trumbull, v. 36, n. 3, p. 333- 349, 2005.

ARYANA, K.J.; MCGREW, P. Quality attributes of yogurt with *Lactobacillus casei* and various prebiotics. **LWT-Food Science and Technology**, Long Hanborough, v. 40, issue 10, p. 1808-1814, 2007.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento e da Reforma Agrária, Resolução nº 5 de 13 de novembro de 2000. Oficializa os “Padrões de Identidade e Qualidade (PIQ) de Leites Fermentados. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 2000.

BOWER, J.A. Statistics for food science – V: ANOVA and multiple comparisons (part B). **Nutrition and Food Science**, Londres, v. 28, n. 1, p. 41-48, 1998a.

BOWER, J.A. Statistics for food science – V part C: non-parametric ANOVA. **Nutrition and Food Science**, Londres, v. 28, n. 2, p. 102-108, 1998b.

CALLEGARI-JACQUES, S.M. **Bioestatística: princípios e aplicações**. São Paulo: Artmed, 2003.

COAKLEY, M., ROSS, R.P., NORDGREN, M., FITZGERALD, G., DEVERY, R., STANTON, C. Conjugated linoleic acid biosynthesis by human-derived Bifidobacterium species. **Journal of Applied Microbiology**, v.94, p.138–145, 2003

CRUZ, A.G.; ANTUNES, A.E.C.; SOUSA, A.L.O.P.; FARIA, J.A.F.; SAAD, S.M.I. Ice-cream as a probiotic food carrier. **Food Research International**, Ottawa, v.42, Issue 9, p. 1233-1239, 2009.

DAVE, R.I., SHAH, N.P. Ingredient supplementation effects on viability of probiotic bacteria in yogurt. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v.81, p.2804-2816, 1998.

DOMAGALA, J.; SADY, M.; GREGA, T.; BONCZAR, G. Rheological properties and texture of yoghurts when oat-maltodextrin is used as a fat substitute. **International Journal of Food Properties**, v.9, issue 1, 2006.

DUBOC, P.; MOLLET, B. Applications of exopolisaccharides in the dairy industry. **International Dairy Journal**, Amsterdam, v. 11, p. 759-768, 2001.

GIBSON, G.R.; ROBERFROID, M.B.; Dietary modulation of the human colonic microbiota: Introducing the concept of prebiotics. **The Journal of Nutrition**, v.125, n.6, p.1401-1412, 1995.

GUSTAW, W.; KORDOWSKA-WIATER, M.; KOZIOL, J. The influence of selected prebiotics on the growth of lactic acid bacteria for bio-yoghurt production. **Acta Scientiarum Polonorum**, v.10, n.4, p.255-466, 2011.

GUVEN, M.; YASAR, K.; KARACA, O.B.; HAYALOGLU, A. The effect of inulin as a fat replacer on the quality of set-type low-fat yogurt manufacture. **International Journal of Dairy Technology**, v. 58, n.3, p.180-184, 2005.

HAULY, M.C.O.; FUCHS, R.H.B.; PRUDENCIO-FERREIRA, S.H. Soymilk yogurt supplemented with fructooligosaccharides: probiotic properties and acceptance. **Revista de Nutrição**, Campinas, v.18, n.5, 2005.

HIDAKA, H.; EIDA, T.; TAKIZAWA, T.; TOKUNAGA, T.; TASHIRO, Y. Effects of fructooligosaccharides on intestinal flora and human health. **Bifidobacteria and Microflora**, Sugamo, v. 5, n.1, p. 37-50, 1986.

JELEN, P.; LUTZ, S. Functional milk and dairy products. In: MAZZA, G., ed. Functional foods: biochemical and processing aspects. Lancaster: **Technomic Publishing**, Lancaster, p.357-381 1998.

GREG KELLY, N.D. Inulin-type prebiotics – A review: Part 1. **Alternative Medicine Review**, v. 13, n. 4, p. 315-329, 2008.

JAYAMANNE, V.S.; ADAMS, M.R. Determination of survival, identity and stress resistance of probiotic bifidobacteria in bio-yoghurts. **Letters in Applied Microbiology**, Oxford, v. 42, 189–194, 2006.

JUNGERSEN, M.; WIND, A.; JOHANSEN, E.; CHRISTENSEN, J.E.; STUER-LAURIDSEN, B.; ESKESEN, D. The science behind the probiotic strain *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12. **Microorganism**, Basel, v.2, p. 92-110, 2014.

KARSHEVA, M.; PASKOV, V.; TROPICHEVA, R.; GEORGIEVA, R.; DANOVA, S. Physicochemical parameters and rheological properties of yoghurts during the storage. **Journal of Chemical Technology and Metallurgy**, v.48, n.5, p. 483-488, 2013.

LAPIERRE, S., UNDELAND, P., COX, L.J. Lithium chloride-sodium propionate agar for the enumeration of Bifidobacteria in fermented dairy products. **Journal of Dairy Science**. v. 75, Issue 5, p.1192-1196, 1992.

LAVANDA, I.; SAAD, S.M.I.; LOBO, A.R.; COLLI, C., Prebióticos y su efecto em la biodsponibilidad del cálcio. **Revista de Nutrição**, Campinas, v.24, n.2, p.333-344, 2011.

LOURENS-HATTING, A.; VILJOEN, B.C. Yogurt as probiotic carrier food. **International Dairy Journal**. v.11, p.1-17, 2001.

MAKRAS, L., VAN ACKER, G., DE VUYST, L. *Lactobacillus casei* subsp. *casei* 8700:2 degrades inulin-type fructans exhibiting different degrees of polymerization. **Applied and Environmental Microbiology**. v.71, p. 6531–6537, 2005.

MARTINEZ-VILLALUENGA, C.; FRIAS, J.; VIDAL- VALVERDE, C.; GÓMEZ, R. Raffinose family oligosaccharides from lupin seeds as prebiotics: application in Dairy Products. **Journal of Food Protection**, Ames, v.68, p.1246-1252, 2005.

MAZLOOMI, S.M.; SHEKARFOROUSH, S. S.; EBRAHIMNEJAD, H.; SAJEDIANFARD, J. Effect of adding inulin on microbial and physicochemical properties of low fat probiotic yogurt. **Iranian Journal of Veterinary Research. Shiraz University**. v. 12, n.2, 2011.

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

OLIVEIRA, R.P.S., FLORENCE, A.C.R., SILVA, R.C., PEREGO, P., CONVERTI, A., GIOIELLI, L.A., OLIVEIRA, M.N. Effects of diferentes prebiotics on the fermentation kinetics, probiotics survival and fatty acids profiles in nonfat symbiotic fermented milk. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam v. 128, p.467-472, 2009a

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. **LWT-Food Science and Technology**, v.42, n.5, p.1015-1021, 2009b.

OLIVEIRA, R.P.S.; CASAZZA, A.A.; ALIAKBARIAN, B.; PEREGO, P.; CONVERTI, A.; OLIVEIRA, M.N. Influence of fructooligosaccharides on the fermentation profile and viable counts in a symbiotic low fat milk. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.44, n.2, p.431-434, 2013a.

OZER, D.; AKIN, S.; OZER, B.; Effect of inulin and lactulose on survival of *Laccctobacillus acidophilus* La-5 and *Bifidobacterium bifidum* BB-02 in *Acidophilus-Bifidus* yoghurt. **Food Science and Technology International**, v. 11, p.19-24, 2005.

PASSEPHOL, T.; PEQUENO, D.M.; SHERKAT, F. Rheology and texture of set yogurt as affected by inulin addition. **Journal of Texture Studies**, v. 39, n.6, p. 617- 634, 2008.

PIMENTEL, T.C. **logurte probiótico com inulina como substituto de gordura**. 2009. 154 p. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos), Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2009.

PIMENTEL, T.C.; GARCIA, S.; PRUDÊNCIO, S.H. Effect of long-chain inulin on the texture profile and survival of *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei* in set yoghurts during refrigerated storage. **International Journal of Dairy Technology**, v.65, n.1, 2002.

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

ROBERFROID, M.B. Inulin-type fructans: functional food ingredients. **The Journal of Nutrition**, v.137, n.11, p. 2493-2502. 2007.

SAAD, S.M.I. et al. Probióticos e prebióticos em alimentos: Aspectos tecnológicos, legislação e segurança no uso. In: SAAD, S.M.I.; CRUZ, A.G. da; FARIA, J. de A.F. **Probióticos e prebióticos em alimentos: Fundamentos e aplicações tecnológicas**. 1ed. São Paulo: Varela, 2011. cap. 1. p. 23-50.

SANDERS, M.E. Effect of consumption of lactic culture on human healthy. In: Kinsella, J.E. **Advances in Food and Nutrition Research**, eds. Academic Press. v.37, 1993.

SZCZESNIAK, A.S. Texture is a sensory property. **Food Quality and Preference**, v.13, p. 215-225, 2002.

TAMIME, A. Y.; ROBINSON, R. K. Yoghurt science and technology.p.619, 1999.

VANDENPLAS, Y., HUYS, G., DAUBE, G. Probiotics: An update. **Journal of Pediatrics**, v.91, n.1, p. 6-21, 2015.

VARAVALLO, M.A.; THOMÉ, J. N.; TESHIMA, E. Application of probiotic bacteria for prevention and treatment of gastrointestinal diseases. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, Londrina, v. 29, n. 1, p. 83-104, jan./jun. 2008.

## CONCLUSÃO GERAL

O desenvolvimento de diferentes formulações de iogurte simbiótico utilizando cepa de *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12 e prebiótico inulina e FOS, mostrou-se uma boa alternativa para indústria de alimentos, pois a viabilidade dos probióticos permaneceu elevada até o final do período de armazenamento estudado, porém não exerceu efeitos significativos quando comparado com o iogurte controle, sem adição de prebióticos. A adição dos prebióticos acelerou o processo de fermentação dos iogurtes em 1 hora quando comparado com o iogurte controle, sem alteração dos parâmetros físico-químicos. Os resultados de textura mostram que a inulina se mostrou uma boa opção como substituto de gordura no iogurte desnatado quando comparado com o prebiótico FOS. Nos iogurtes integrais, a gordura favoreceu

os parâmetros reológicos dos iogurtes durante período de armazenamento. Já que os iogurtes integrais apresentaram menor sinérese quando comparado ao iogurte desnatado, mesmo nas formulações contendo prebióticos. Os iogurtes desenvolvidos atenderam as recomendações da ANVISA, mantendo viabilidade do probiótico durante armazenamento de 21 dias com adicional das fibras prebióticas, permitindo que os sejam considerados alimentos funcionais, sendo uma opção saudável para o consumidor.