



VIABILIDADE DE LACTOBACILLUS CASEI EM BEBIDAS LÁCTEAS FERMENTADAS SIMBIÓTICAS COM ÓLEO DE CÁRTAMO

Letícia Lamas **Dias**¹; Fabiana Kátia Helena de Souza **Trento**²; Maria Isabel **Berto**³; Ariene Gimenes Fernandes **Van Dender**⁴; Patrícia Blumer **Zacarchenco**⁵

Nº 16227

RESUMO

Este trabalho avaliou o efeito da adição de diferentes concentrações de óleo de cártamo (0,5 a 4%) e de polidextrose (1,5 a 4%) na viabilidade de Lactobacillus casei e Streptococcus thermophilus durante a estocagem de bebidas lácteas simbióticas. Na primeira etapa foram realizados ensaios para verificar a seletividade dos meios de cultura LP-MRS e M17 na quantificação seletiva de L. casei e de Str. thermophilus. Na segunda etapa do projeto foram produzidas as 11 formulações da bebida determinadas no planejamento experimental. Nas bebidas lácteas fermentadas adicionadas de óleo de cártamo e polidextrose, após a obtenção e durante os 45 dias de estocagem refrigerada foram realizadas análises de quantificação de células viáveis dos fermentos, de coliformes a 30 e 45°C, além de pH e acidez. Os microrganismos fermentaram a mistura a 42°C, em aproximadamente, 5 horas. Ao final de 45 dias de estocagem refrigerada, as contagens de células viáveis do probiótico nas amostras com diferentes concentrações de óleo de cártamo e polidextrose mantiveram-se acima do que a legislação brasileira exige na porção de consumo para bebidas lácteas (10^8 a 10^9 UFC/200g). Portanto, a adição de óleo de cártamo e polidextrose em diferentes concentrações não influenciou negativamente na viabilidade do probiótico presente nas bebidas lácteas fermentadas estudadas durante a estocagem.

Palavras-chaves: óleo de cártamo, polidextrose, bebida láctea, leite fermentado, probiótico

1. Autor, Bolsista CNPq (PIBIC): Graduação em Engenharia de Alimentos, FAJ, Jaguariúna-SP; leticia_lamasdias@yahoo.com.br
2. Colaborador: Assistente Técnico de PCT (TECNOLAT-ITAL).
3. Colaborador: Pesquisador GEPC-ITAL.
4. Colaborador: Pesquisador TECNOLAT –ITAL
- 5 Orientador: Pesquisador do Instituto de Tecnologia de Alimentos, Campinas-SP; pblumer@ital.sp.gov.br



ABSTRACT

*This study evaluated the effect of the different concentrations of safflower oil (0.5 a 4%) and polydextrose (1.5 a 4%) on the viability of *Lactobacillus casei* and *Streptococcus thermophilus* during the storage of fermented milk beverages. In the first step tests were conducted to verify the selectivity of the medium LP-M17 and MRS for selective quantitation of *L. casei* and *Str. thermophilus*. In the second step of the project the 11 formulations were produced according to the experimental design. In the beverages with safflower oil and polydextrose, after obtaining and during 45 days of refrigerated storage were realized quantification of viable cells of the yeast, coliform 30 and 45 ° C, the pH and acidity. The microorganisms fermented the milk beverages at 42°C in about 5 hours After 45 days of refrigerated storage the viable cells counts of *L. casei* in the fermented milks with different safflower oil and polydextrose concentrations remained above the limits established by the legal parameters of Brazil (10^8 a 10^9 CFU/200g). These results demonstrated that the addition of safflower oil and polydextrose at different concentrations did not affect the viability of probiotic in the beverages during storage.*

Keywords: safflower oil, polydextrose, fermented milk, milk beverage, probiotic.

1. INTRODUÇÃO

O leite é um alimento muito importante na dieta humana, além de deixar o sistema imunológico mais forte e aumentar a resistência óssea. Contudo, contém gorduras saturadas e colesterol. A gordura dos alimentos é fonte de energia, compõe a estrutura de membranas celulares, exerce efeitos na expressão gênica, modifica o metabolismo, crescimento e diferenciação celular (CAMPOS, 2007). O leite, porém, pode ser consumido na sua forma desnatada e ainda, pode ser adicionado de óleos vegetais, como o de cártamo que por sua vez contém benefícios inerentes à saúde. Assim sendo, as bebidas lácteas fermentadas contendo probióticos e prebióticos apresentam benefícios à saúde e também propriedades funcionais conferidas por estes microrganismos e substâncias. Um prebiótico alimentar é definido como um ingrediente seletivamente fermentado que resulta em mudanças específicas na composição e/ou atividade da microbiota gastrointestinal, conferindo benefícios ao hospedeiro (GIBSON et al, 2010). A FAO/ONU (Food and Agriculture Organization/ Organização das Nações Unidas) e a WHO ou



10º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC2016
02 a 04 de agosto de 2016 – Campinas, São Paulo
ISBN 978-85-7029-135-6

OMS (Organização Mundial da Saúde) apresentaram a definição padrão de probióticos isto é, micro-organismos vivos que, administrados nas quantidades adequadas, conferem benefícios ao hospedeiro (JOINT FAO/WHO WORKING GROUP, 2002).

As bebidas lácteas fermentadas são produtos bastante versáteis para a adição de novos ingredientes funcionais. Esta é uma das razões para a escolha deste produto lácteo para a incorporação de óleo de cártamo e polidextrose. A bebida em questão neste estudo foi fermentada não apenas por fermento lácteo tradicional (*Streptococcus thermophilus*), mas também foi utilizado o probiótico *Lactobacillus casei*.

O óleo de cártamo foi escolhido por ser considerado entre os demais óleos, o que apresenta maior teor de gorduras poli-insaturadas. Além disso, o óleo de cártamo é uma fonte importante em α -tocoferóis desempenhando assim potente ação antioxidante (SCHULZE et al, 2014).

No Brasil, segundo a “Lista de alegações de propriedade funcional aprovadas” a polidextrose é considerada uma fibra alimentar que auxilia no funcionamento do intestino. E o consumo dessa fibra deve estar associado a uma alimentação equilibrada e hábitos de vida saudáveis (BRASIL, ANVISA, 2008). Segundo Jie et al. (2000), a polidextrose pode ser também considerada como prebiótico, pois estimula o crescimento de lactobacilos e bifidobactérias e a fermentação contínua ao longo do cólon. Embora em nosso país a polidextrose não possa receber ainda a alegação de propriedade funcional como contribuindo para o equilíbrio da microbiota intestinal, há autores como Patel e Goyal (2012) que afirmaram que a polidextrose é reconhecida como prebiótico.

Este trabalho objetivou avaliar o efeito da adição de diferentes concentrações de óleo de cártamo e de polidextrose na viabilidade de *Lactobacillus casei* e *Streptococcus thermophilus* durante a estocagem de bebidas lácteas fermentadas. Foram realizadas, após a obtenção e durante os 45 dias de estocagem refrigerada, análises de quantificação de células viáveis dos fermentos, de coliformes a 30 e 45°C, além de pH e acidez.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Material

Leite em pó desnatado Itambé; *Lactobacillus casei* (*L. casei* 01 CHR-HANSEN); *Streptococcus thermophilus* (STI-12 CHR-HANSEN); Óleo de cártamo bruto (Pazze); açúcar União; emulsificante - Lygomme FM 4753 (Cargill); Polidextrose – Alibra ingredientes.



2.2. Métodos

2.2.1. Etapa 1: Ensaio com meios de cultura para verificar sua adequação para a quantificação seletiva do *L.casei*

Foram avaliados os meios de cultura M17 e LP-MRS e as condições de incubação descritas em Lima et al (2009) a fim de verificar sua adequação para contagem seletiva de *L.casei* e *Str.thermophilus* em co-cultura.

2.2.2. Etapa 2: Produção da bebida fermentada com o *L. casei* + *Str. thermophilus* adicionados de óleo de cártamo e polidextrose.

No total foram produzidas 11 formulações (F) de bebida fermentada com a adição de diferentes concentrações de óleo de cártamo e polidextrose. Essas concentrações estão especificadas nas Tabelas 1.

De acordo com a RDC nº 54/2012 (rotulagem nutricional complementar), para o alimento ter a declaração de alto conteúdo de fibra precisa conter 5g por porção e para ser fonte precisa conter 2,5 g por porção. Como a porção para bebida láctea fermentada de acordo com a RDC nº 359/2003 é de 200g ou mL, o nível mínimo de polidextrose foi definido em 1,5% para que, na porção, tenha-se em média 3g/200mL. O nível máximo de polidextrose de 4% foi estabelecido pois níveis maiores, somados aos dos sólidos lácteos (leite em pó desnatado) e demais sólidos da mistura (açúcar e óleo de cártamo) atingiriam valores inadequados para o correto desenvolvimento do processo fermentativo. Tamime e colaboradores (1999) já abordaram estes parâmetros de teor de sólidos adequados para iogurtes batidos, categoria em que se encaixam as bebidas lácteas fermentadas deste projeto. Quanto às concentrações de óleo de cártamo estabeleceu-se o mínimo em 0,5% de modo que uma porção tradicional da bebida (200mL) contivesse, ao menos, 1g de óleo de cártamo, quantidade média de uma cápsula já existente no mercado. O nível máximo de 4% de óleo de cártamo foi estabelecido em testes preliminares devido ao sabor intenso desagradável deste óleo.

O preparo da mistura a ser fermentada foi realizado do seguinte modo: (a) suspensão dos ingredientes desidratados (leite em pó desnatado 10%, açúcar 10%, emulsificante 0,4% e polidextrose) em água; (b) homogeneização com *mixer* (Walita); (c) adição de óleo de cártamo; (d) homogeneização com *mixer* novamente; (e) aquecimento a 60º C; (f) homogeneização a 250bar



em homogeneizador de duplo pistão; (g) tratamento térmico a 85° C/ 5 min; (h) resfriamento a 40-42° C; (i) adição dos fermentos *L. casei* (5%) e *Str. thermophilus* (2%); (j) fermentação por 5 a 6 horas a 40-42° C até pH 4,8; (k) resfriamento a 4°C; (l) embalagem e estocagem.

Tabela 1. Concentrações de óleo de cártamo e polidextrose das 11 formulações de bebida láctea fermentada

Formulações	Óleo de cártamo (%)	Porcentagem do ingrediente - Prebiótico (%)
1	1	1,9
2	3,5	1,9
3	1	3,6
4	3,5	3,6
5	0,5	2,8
6	4	2,8
7	2,3	1,5
8	2,3	4
9	2,3	2,8
10	2,3	2,8
11	2,3	2,8

2.2.3. Etapa 3: Análises das bebidas lácteas fermentadas e sem adição de fermentos

As amostras das bebidas foram analisadas para quantificação de coliformes a 30° e 45°C segundo, respectivamente, as metodologias ISO 4831 (2006) e ISO 7251 (2005) após o 1° e 45° dia de fabricação. Também foram realizadas as análises de quantificação de *L.casei* e *Str. thermophilus* segundo Lima *et al* (2009), pH e acidez titulável segundo IAL (2005) nas bebidas após 1, 10, 21, 30 e 45 dias de produção. As amostras de bebidas sem adição de fermentos foram analisadas para quantificação de coliformes a 30° e 45°C segundo, respectivamente, as metodologias ISO 4831 (2006) e ISO 7251 (2005) e para quantificação de bactérias lácticas totais segundo Frank, Yousef (2004) após o 1° e 45° dia de fabricação. Estas amostras também foram avaliadas quanto ao pH e acidez (IAL, 2005) no 1° dia após a fabricação.

2.2.4. Etapa 4: Metodologia do tratamento dos resultados dos planejamentos experimentais

A metodologia de planejamento experimental (RODRIGUES E IEMA, 2014) foi aplicada para avaliação do efeito das concentrações de óleo de cártamo (%) e de polidextrose nas formulações da bebida láctea. Foi feito um planejamento fatorial composto central (PFCC) de dois



nveis, considerando essas duas variáveis independentes, perfazendo um total de 11 formulações: 4 interações de primeira ordem (níveis -1 e +1), 4 formulações nos níveis axiais $-\alpha_{PF}$ e $+\alpha_{PF}$ (-1,41 e +1,41) e 3 formulações da condição central (nível “0”). As Tabelas 1 e 2 mostram a concentração de óleo de cartamo e polidextrose utilizada em cada nível do planejamento.

Os resultados numéricos das análises de acidez de todos os dias de vida de prateleira (1, 10, 21, 30 e 45 dias) foram apresentados em forma gráfica (resultados *versus* tempo de vida de prateleira) (Figura 1), recurso que permitiu a avaliação da tendência desse parâmetro ao longo do tempo para cada formulação produzida. Essa tendência também subsidiou a discussão dos resultados, entendimento dos efeitos das variáveis e a definição do tempo de vida de prateleira do produto. Em artigos futuros serão apresentados os dados do planejamento experimental ajustados à modelos preditivos e as superfícies de resposta.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Etapa 1: Ensaio com meios de cultura para verificar sua adequação para a quantificação seletiva do *L.casei*

Não houve desenvolvimento de colônias de *Str. thermophilus* no ágar LP-MRS. No entanto, este ágar LP-MRS apresentou contagens elevadas para *L. casei* em separado. Assim, verificou-se a adequação do ágar LP-MRS para contagem seletiva do probiótico *L. casei* na presença de *Str. thermophilus*. Do mesmo modo, o ágar M17 mostrou-se adequado para a contagem seletiva de *Str. thermophilus* na presença de *L. casei*. A importância da verificação da efetividade de meios seletivos para contagens em separado de bactérias do fermento láctico tradicional e probióticas pode ser verificada em trabalhos desde a década de 1970 até os anos mais recentes como é o caso dos trabalhos de Lena et al (2015), Karimi et al (2012) e Faleiro et al (2015).

3.2. Etapa 3: Resultados das contagens microbianas, pH e acidez das bebidas lácteas com óleo de cártamo e polidextrose fermentadas por *L. casei* + *Str. thermophilus*

Nas Tabelas 2 e 3, a seguir estão apresentados os resultados das contagens de células viáveis do probiótico, o pH e a acidez das bebidas lácteas fermentadas.

Amostras das 11 formulações das bebidas com óleo de cártamo e polidextrose fermentados por *L. casei* e *Str. thermophilus* foram avaliadas também para a presença de coliformes, contudo,



10º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC2016
02 a 04 de agosto de 2016 – Campinas, São Paulo
ISBN 978-85-7029-135-6

as contagens para estes grupos de microrganismos ficaram abaixo do limite de detecção do método.

Tabela 2. Contagens de *L. casei* (UFC/g) em LP-MRS das formulações (F) com diferentes concentrações de óleo de cártamo e polidextrose.

Resultado das contagens (UFC/ g)											
Tempo de estocagem (dias)	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9	F10	F11
1	$8,3 \times 10^8$	$6,6 \times 10^8$	$1,9 \times 10^8$	$4,0 \times 10^7$	$1,0 \times 10^8$	$1,9 \times 10^8$	$2,0 \times 10^7$	$1,0 \times 10^8$	$4,5 \times 10^8$	$4,0 \times 10^7$	$1,4 \times 10^8$
10	$5,3 \times 10^8$	$4,9 \times 10^8$	$3,1 \times 10^8$	$9,0 \times 10^7$	$8,0 \times 10^7$	$8,0 \times 10^7$	$2,0 \times 10^7$	$5,0 \times 10^7$	$3,5 \times 10^8$	$2,0 \times 10^7$	$2,4 \times 10^8$
21	$4,6 \times 10^8$	$3,7 \times 10^8$	$5,4 \times 10^8$	$4,0 \times 10^7$	$9,0 \times 10^7$	$2,5 \times 10^8$	$1,0 \times 10^7$	$5,0 \times 10^7$	$2,2 \times 10^8$	$3,0 \times 10^7$	$1,3 \times 10^8$
30	$4,6 \times 10^8$	$3,7 \times 10^8$	$7,0 \times 10^8$	$4,0 \times 10^7$	$8,0 \times 10^7$	$1,0 \times 10^8$	$4,0 \times 10^7$	$3,0 \times 10^7$	$1,4 \times 10^8$	$1,0 \times 10^7$	$1,7 \times 10^8$
45	$1,4 \times 10^9$	$9,5 \times 10^8$	$8,8 \times 10^8$	$4,0 \times 10^7$	$4,0 \times 10^7$	$3,0 \times 10^7$	$1,0 \times 10^7$	$4,0 \times 10^7$	$1,3 \times 10^8$	$2,0 \times 10^7$	$1,8 \times 10^8$

UFC/ g – Unidade formadora de colônia por grama de amostra

As contagens de *Str. thermophilus* em todas as bebidas, mesmo aos 45 dias de estocagem refrigerada, ficaram ao redor de 10^8 UFC/g.

A adição de óleo de cártamo não afetou negativamente a viabilidade das células do probiótico *L. casei*. As contagens deste probiótico após 45 dias de estocagem refrigerada se mantiveram entre 10^7 e 10^9 UFC/ g. Considerando a porção de consumo para bebidas lácteas constante da Portaria 359/2003 (ANVISA) como sendo de 200g ou mL e também a determinação para contagens de probióticos na porção do alimento (10^8 a 10^9 UFC na porção) determinada na “Lista de alegações de propriedade funcional” (BRASIL, 2003) (BRASIL, 2008), todas as bebidas lácteas deste estudo atendem esta exigência.

A possibilidade de adição de óleo de cártamo sem alterações na viabilidade do probiótico é importante para definir o uso deste ingrediente com benefícios a saúde em bebidas lácteas fermentadas probióticas contendo *L. casei*.

Os valores de acidez verificados após a fabricação e ao longo de 45 dias de estocagem refrigerada das bebidas fermentadas contendo óleo de cártamo ficaram dentro da faixa preconizada na Instrução Normativa nº 46/2007 que é de 0,6 a 2,0g ácido láctico/ 100g (BRASIL, 2007).



Tabela 3. Resultados das análises de acidez¹ (% de ácido láctico/ 100g produto) e pH das bebidas lácteas fermentadas com *L. casei* e *Str. thermophilus* e com adição de diferentes teores de óleo de cártamo e polidextrose durante 45 dias de estocagem.

Formulações	Acidez / pH									
	Dia 1		Dia 10		Dia 21		Dia 30		Dia 45	
	Acidez	pH	Acidez	pH	Acidez	pH	Acidez	pH	Acidez	pH
1	0,798± 0,003	4,55	0,922± 0,006	4,40	0,951± 0,003	4,33	0,992± 0,002	4,20	1,020± 0,007	4,11
2	0,806± 0,011	4,72	0,906± 0,017	4,47	0,987± 0,004	4,35	0,991± 0,024	4,22	1,030± 0,006	4,12
3	0,788 ± 0,003	4,67	0,964± 0,004	4,38	0,927± 0,018	4,25	1,025± 0,005	4,20	1,053± 0,004	4,09
4	0,780± 0,013	4,83	0,839± 0,003	4,49	0,863± 0,004	4,40	0,880± 0,004	4,43	0,878± 0,002	4,32
5	0,773± 0,001	4,83	0,748± 0,016	4,53	0,807± 0,005	4,62	0,897± 0,005	4,31	0,801± 0,001	4,42
6	0,949± 0,052	4,46	0,893± 0,010	4,23	0,91± 0,001	4,37	0,901± 0,010	4,40	0,923± 0,006	4,25
7	0,689± 0,007	4,85	0,691± 0,001	4,69	0,734± 0,003	4,59	0,743± 0,006	4,59	0,756± 0,005	4,50
8	0,674± 0,003	4,85	0,719± 0,010	4,64	0,752± 0,006	4,53	0,771± 0,003	4,49	0,783± 0,008	4,39
9	0,883± 0	4,53	0,866± 0,007	4,29	0,936± 0,007	4,43	0,898± 0,005	4,35	1,003± 0,005	4,32
10	0,741± 0,001	4,84	0,768± 0,003	4,57	0,787± 0,003	4,49	0,793± 0,004	4,51	0,810± 0,003	4,38
11	0,827± 0,015	4,59	0,940± 0,027	4,40	0,932± 0,012	4,33	0,985± 0,012	4,20	1,032± 0,0004	4,16

¹ média de três determinações

3.3. Avaliação da tendência da resposta acidez ao longo da vida de prateleira das bebidas lácteas

A Figura 1 mostra o comportamento da variável resposta acidez nos dias de vida de prateleira avaliados.

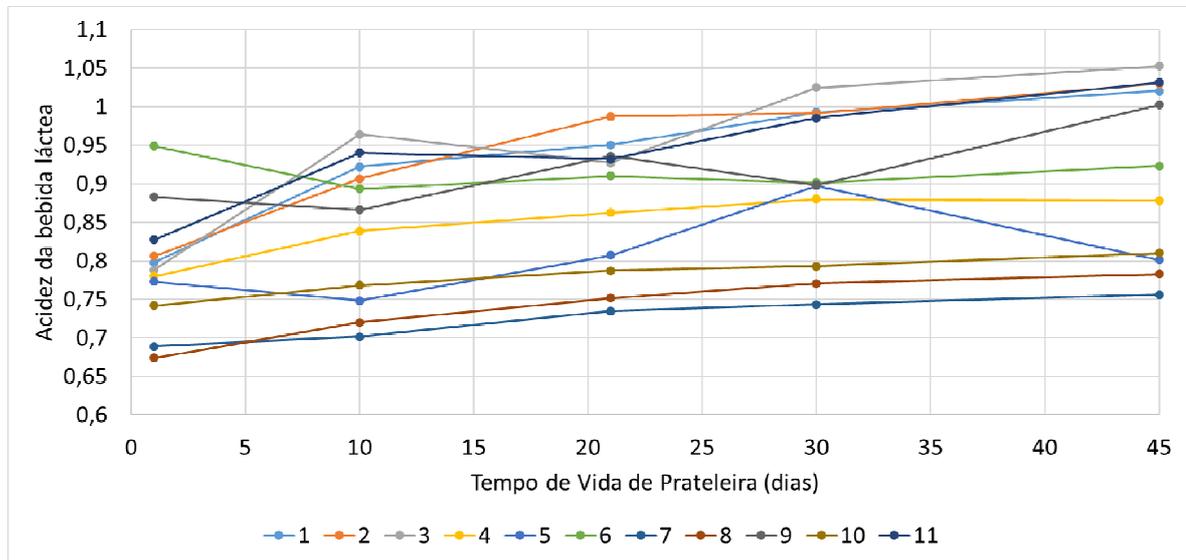


Figura 1. Resultados de acidez de cada uma das 11 formulações do planejamento experimental nos dias de vida de prateleira analisados (1, 10, 21, 30 e 45 dias)

Valores muito baixos de pH e muito altos de acidez podem comprometer a aceitabilidade de bebidas lácteas fermentadas e também a viabilidade de probióticos presentes. Contudo, os valores de pH e acidez verificados ao longo dos 45 dias de estocagem refrigerada das bebidas fermentadas neste estudo não atingiram níveis que afetassem a viabilidade do probiótico, que foi bastante adequada. Os dados obtidos para pH e acidez no presente projeto foram semelhantes àqueles encontrados por Espírito Santo (2012) em sua tese onde avaliou iogurtes probióticos com fibras. Também nos trabalhos de Zacarchenco, Massaguer-Roig (2004, 2006), Miguel, Rossi (2003) com leites fermentados os valores de pH e acidez se assemelham.

3.4. Resultados das contagens microbianas, pH e acidez das bebidas lácteas com óleo de cártamo e polidextrose sem adição de fermentos

Na tabela 4, a seguir estão apresentados os resultados de pH e acidez nas bebidas lácteas com óleo de cártamo e polidextrose sem adição de fermentos



10º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC2016
02 a 04 de agosto de 2016 – Campinas, São Paulo
ISBN 978-85-7029-135-6

Tabela 4. Resultados das análises de acidez (^oDornic) e pH das bebidas com adição de diferentes teores de óleo de cártamo e povidexrose após 1 dia de produção.

Formulações	pH	Acidez ¹
1	6,67	20,2701
2	6,63	22,2477
3	6,64	20,7645
4	6,50	18,9329
5	6,63	19,9999
6	6,62	18,7301
7	6,55	16,5872
8	6,53	16,5872
9	6,64	19,8824
10	6,54	16,2521
11	6,64	21,7533

¹ média de três determinações, resultado obtido em ^oDornic.

Amostras das 11 formulações das bebidas lácteas com óleo de cártamo e povidexrose sem adição de fermento foram avaliadas para a presença de coliformes e bactérias lácticas totais, contudo, as contagens para estes grupos de microrganismos ficaram abaixo dos limites de detecção dos métodos.

4. CONCLUSÃO

Ao final de 45 dias de estocagem refrigerada as contagens de células viáveis de *L. casei* + *Str. thermophilus* nas bebidas lácteas fermentadas com diferentes concentrações de óleo de cártamo e povidexrose mantiveram-se acima do que a “Lista de alegações de propriedade funcional aprovadas” da ANVISA determina para probióticos na porção de consumo que é de 200g ou mL para bebidas lácteas. Isto demonstra que a adição do óleo de cártamo nas concentrações avaliadas para estes microrganismos não influenciou sua viabilidade durante estocagem, o que é importante para definir o uso deste ingrediente com benefícios a saúde em bebidas lácteas fermentadas probióticas contendo *L. casei*.



10º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC2016
02 a 04 de agosto de 2016 – Campinas, São Paulo
ISBN 978-85-7029-135-6

5. AGRADECIMENTOS

Ao CNPq pela bolsa PIBIC e pela bolsa de Produtividade em Desenvolvimento Tecnológico e Extensão Inovadora - DT 2012 (Processo: 310370/2012-4) concedidas.

6. REFERÊNCIAS

BRASIL. ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RESOLUÇÃO - RDC Nº 54, DE 12 DE NOVEMBRO DE 2012. Regulamento Técnico sobre Informação Nutricional Complementar. Disponível em www.anvisa.gov.br.

BRASIL. ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Alimentos com Alegações de Propriedades Funcionais e ou de Saúde, Novos Alimentos/Ingredientes, Substâncias Bioativas e Probióticos, Lista de alegações de propriedade funcional aprovadas 2008 disponível em http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno_lista_alega.htm>. Acessado em 12/01/2016

BRASIL. MAPA. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Instrução Normativa Nº 46, DE 23 DE OUTUBRO DE 2007. Aprova Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados. D.O.U. - Diário Oficial da União; Poder Executivo, de 24 de outubro de 2007, Seção 1, Página 5. 2007

BRASIL. MAPA. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Instrução Normativa Nº 16, DE 23 DE AGOSTO DE 2005. Aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Bebida Láctea. D.O.U. - Diário Oficial da União; Poder Executivo, de 24 de agosto de 2005, Seção 1, Página 7. 2005.

BRASIL. ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 359, de 23 de dezembro de 2003. Aprova Regulamento Técnico de Porções de Alimentos Embalados para Fins de Rotulagem Nutricional. D.O.U. - Diário Oficial da União; Poder Executivo, de 26 de dezembro de 2003

CAMPOS TBF. A suplementação crônica com ácido linoléico conjugado promove redução da massa adiposa e compromete a sensibilidade à insulina no tecido adiposo branco periepidimal. Tese de Doutorado. São Paulo: USP; 2007.

ESPIRITO SANTO, A.P. Desenvolvimento de iogurte probiótico com adição de polpa de frutos brasileiros e fibra dietética total. Doutorado em Tecnologia Bioquímica-farmacêutica. Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Universidade Estadual de São Paulo. 2012.

FALEIRO, L.R. et al. Evaluation of culture media for selective enumeration of Bifidobacterium spp. in combination with different strains of Streptococcus thermophilus isolated from commercial yogurt starter cultures. African Journal of Microbiology Research, Vol.9, February 2015, Pages 373-281

FRANK, J. F.; Yousef, A. E. Tests for groups of microorganisms. In: WEHR, H. M. e FRANK, J. F. (ed). Standards Methods for the examination of dairy products, 17th. American Public Health Association, Washington, D.C., 2004. Chapter 8. p. 227-247

GIBSON GR, SCOTT KP, RASTALL RA, TUOHY KM, HOTCHKISS A, DUBERT-FERRANDON A, GAREAU M, MURPHY EF, SAULNIER D, LOH G, MACFARLANE S, DELZENNE N, RINGEL Y, KOZIANOWSKI G, DICKMANN R, LENOIR-WIJNKOOP I, WALKER C, BUDDINGTON R. Dietary prebiotics: current status and new definition. FoodSciTechnol Bull 7:1–19, 2010



10º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC2016
02 a 04 de agosto de 2016 – Campinas, São Paulo
ISBN 978-85-7029-135-6

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Métodos físico-químicos para análise de alimentos.4. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2005, p. 827, 828, 851, 852, 855, 856, 865

ISO 4831. Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the detection and enumeration of coliforms -- Most probable number technique, 3rd Ed. The International Organization for Standardization, 2006.

ISO 7251. Microbiology of food and animal stuffs – Horizontal method for the detection and enumeration of presumptive *Escherichia coli* – Most probable number technique. 3rd Ed. The International Organization for Standardization, 2005

JIE, Z. et al. Studies on the effects on the povidone intake on physiologic functions on Chinese people. American Journal of Clinical Nutrition, v. 72, n. 6, p. 1503-1509, 2000.

JOINT FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION/WORLD HEALTH ORGANIZATION Working Group (2002) Guidelines for the evaluation of probiotics in food. <http://www.fao.org/es/esn/food/>

KARIMI, R.; MORTAZAVIAN, A.M.; AMIRI-RIGI, A. Selective enumeration of probiotic microorganisms in cheese. Food Microbiology, Volume 29, Issue 1, February 2012, Pages 1–9

LENA, M.D. et al. A selective medium for isolation and accurate enumeration of *Lactobacillus casei*-group members in probiotic milks and dairy products. International Dairy Journal, Volume 47, August 2015, Pages 27–36

LICHT, T.R.; EBERSBACH, T.; FRØKIÆR, H.. Prebiotics for prevention of gut infections. Trends in Food Science & Technology, v. 23, p. 70-82, 2012

LIMA, K.G.C.; KRUGER, M.F.; BEHRENS, J.; DESTRO, M.T.; LANDGRAF, M.; FRANCO, B.D.G.M. Evaluation of culture media for enumeration of *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* and *Bifidobacterium animalis* in the presence of *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus*. Food Science and Technology, v. 42, p. 491–495, 2009.

MIGUEL, D.P.; E.A. ROSSI. VIABILIDADE DE BACTÉRIAS ÁCIDO LÁTICAS EM SORVETES DE IOGURTE DURANTE O PERÍODO DE ESTOCAGEM. Alim. Nutr., Araraquara, v.14, n.1, p. 93-96, 2003

PATEL, S.; GOYAL, A. The current trends and future perspectives of prebiotics research: a review. 3Biotech (2012) 2:115–125

RODRIGUES, M.I.; IEMMA, A.F. Planejamento de experimentos & otimização de processos. 3. ed. Campinas: CEAFFA, 2014. 358p.

SCHULZE, B.N.; SCHULTZ, C.; ULBRICH, A.Z.; BERTIN, R.L. Efeito da Suplementação de Óleo de Cártamo sobre o Perfil Antropométrico e Lipídico de Mulheres com Excesso de Peso Praticantes de Exercício Físico. Revista Brasileira de Ciências da Saúde, Volume 18 Suplemento 4 Páginas 89-96 2014

TAMIME, A. Y.; ROBINSON, R.K. YOGHURT: Science and Technology. Washington: CRC Press. 2^a edição. 1999

ZACARCHENCO, Patrícia Blumer; MASSAGUER-ROIG, Salvador. Properties of *Streptococcus thermophilus* fermented milk containing variable concentrations of *Bifidobacterium longum* and *Lactobacillus acidophilus*. Brazilian Journal of Microbiology, v. 37, n. 3, p. 338-344, 2006.