

Elaboração de bebida de extrato de soja sabor morango, pêssigo e uva com *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium lactis*

Larissa Hikari Fujii
Márcia Cristina Furlaneto
Marly Sayuri Katsuda

Juliany Piazzon Gomes
Luciana Fulaneto-Maia

1 Introdução

Os consumidores têm buscado produtos mais saudáveis e que possuam propriedades nutricionais interessantes à saúde, dessa forma, as indústrias alimentícias procuram desenvolver alimentos que sejam práticos e nutritivos. De acordo com Oliveira e Roman (2013), para um alimento ser considerado funcional, além de oferecer a nutrição básica, ele deve ser capaz de beneficiar em uma ou mais funções o organismo, como melhora na saúde, no bem-estar e/ou na redução dos riscos de contrair uma doença.

O uso de probióticos na dieta humana vem sendo amplamente difundido, tanto como suplemento alimentar quanto como na forma de medicamento, pois seu consumo diário promove inúmeros benefícios ao organismo (BARBOSA et al., 2011), considerando-o como um alimento funcional. Ingerir diariamente probióticos pode proporcionar: melhora do funcionamento intestinal, aumentando a absorção de nutrientes; melhora do equilíbrio da microbiota; prevenção e/ou controle de infecções intestinais; modulação do sistema imune; prevenção de alguns tipos de câncer; redução do LDL-colesterol; melhora na digestão da lactose e proteção contra infecções no trato urinário, entre outras ações (BARBOSA, 2007).

Além da ingestão de probióticos, os alimentos podem exercer importante função na qualidade de vida, dentre eles destaca-se a soja, por possuir potencial nutritivo de proteínas, promover benefícios na prevenção de doenças cardiovasculares e cânceres (mama, próstata e cólon), além de auxiliar na redução dos sintomas adversos da menopausa (BARBOSA, 2007).

Dada a importância dos probióticos na saúde humana, este estudo teve como objetivo avaliar a sobrevivência de cultura probiótica mista em suco de soja sabores morango, pêssego e uva.

2 Alimentos funcionais

Atualmente, há um interesse muito grande em relação à função desempenhada pelos alimentos que possuem constituintes que influenciam nas atividades metabólicas e fisiológicas, ou, então, componentes isolados de alimentos que apresentam uma destas particularidades, os quais são denominados como alimentos funcionais (OLIVEIRA, 2013). O conceito de alimentos funcionais surgiu no Japão em meados de 1980, caracterizando os alimentos que, além de fornecerem os nutrientes básicos, possuem componentes que podem beneficiar a saúde dos consumidores (SILVEIRA; VIANNA; MOSEGUI, 2009).

Segundo o programa “Alimentos para Uso Específico de Saúde” (*Foods for Specified Health Use* – FOSHU), implementado pelo Ministério da Saúde e Bem-estar do Japão, definiu-se alimentos funcionais como alimentos que possuem propriedades atuantes nos mecanismos de defesa, prevenção ou tratamento de doenças/distúrbios, melhoria das condições de saúde física, mental ou gerais, ou retardamento do processo de envelhecimento (SILVEIRA; VIANNA; MOSEGUI, 2009).

Diversos autores relatam que um alimento pode ser considerado funcional quando influencia beneficemente em uma ou mais funções no corpo, além dos efeitos nutricionais convencionais (ROBERFROID, 2002). Ainda, Moraes e Colla (2006) relatam que os alimentos funcionais são alimentos ou bebidas consumidas no dia a dia que podem promover melhoras fisiologicamente específicas devido à presença de nutrientes saudáveis. São consumidos em dietas convencionais, no entanto, apresentam a capacidade de auxiliar na prevenção de doenças como hipertensão, diabetes, câncer, osteoporose e coronariopatias.

A Resolução RDC 18/1999 define:

O alimento ou ingrediente que alegar propriedades funcionais ou de saúde pode, além de funções nutricionais básicas, quando se tratar de nutriente, produzir efeitos metabólicos e ou fisiológicos e ou efeitos benéficos à saúde, devendo ser seguro para consumo sem supervisão médica.

2.1 Probióticos

Probióticos são definidos como micro-organismos vivos que possuem a capacidade em melhorar o equilíbrio da microbiota intestinal, produzindo efeitos benéficos ao consumidor. De acordo com a legislação, foi estabelecido que a quantidade mínima para viabilizar o micro-organismo probiótico encontra-se entre 10^8 a 10^9 unidades formadoras de colônias (UFC) na recomendação diária do produto para o consumo (BRASIL, 2008). Os principais micro-organismos reconhecidos pela ANVISA como probióticos são: *Lactobacillus acidophilus*, *casei shirota*, *casei* variedade *rhamnosus*, *casei* variedade *defensis*, *paracasei*, *Lactococcus lactis*, *Bifidobacterium bifidum*, *B. animallis* (incluindo a subespécie *B. lactis*), *B. longum*, *Enterococcus faecium* (BRASIL, 2008).

Segundo Nogueira e Gonçalves (2011), para que as bactérias probióticas atuem no organismo, é preciso que estas sejam consumidas vivas e sobrevivam ao entrar em contato com o suco gástrico e sais da bile para, então, poderem agir contra os micro-organismos patogênicos. No entanto, é necessário o consumo contínuo dos produtos com as culturas probióticas, pois o epitélio intestinal passa por uma descamação e renovação celular por períodos, e os probióticos se mantêm no cólon e multiplicam-se, mas não se tornam os colonizadores perenes da mucosa intestinal, onde não são constatados após a interrupção do consumo (ANTUNES et al., 2007).

Stefe, Alves e Ribeiro (2008) relatam que os probióticos produzem inúmeros efeitos como: impedimento de multiplicação e ação patogênica de bactérias nocivas; estimulação do sistema imunológico; redução do colesterol no sangue; anticarcinogênico; tratamento e prevenção de diarreias; melhoras da digestão da lactose em seres humanos; e produção de vitaminas.

A comunidade científica, em parceria com as indústrias alimentícias, tem buscado atender a essa demanda no mercado, investindo em novas tecnologias e produtos, sem alterar as características sensoriais (FRANCO, 2011). De acordo com a ABIAD (2011), a produção de alimentos funcionais é um dos setores alimentícios que mais cresce no mundo. E há estimativas que indicam que no mercado brasileiro o faturamento atingiu 15% do mercado de alimentos e que crescerá aproximadamente 20% ao ano.

Alimentos funcionais podem ser definidos como “alimentos ou ingredientes que produzem efeitos benéficos à saúde, além de suas funções nutricionais básicas” (BVSMS, 2009). A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) define na Resolução 18/1999 que a propriedade funcional é referente à atuação metabólica ou fisiológica dos nutrientes no organismo (BRASIL, 1999). Dentro do mercado de alimentos funcionais, há os probióticos que são definidos como

alimentos contendo micro-organismos que produzem efeitos benéficos sobre a microbiota intestinal e as funções do organismo (THAMER; PENNA, 2005).

Assim, a indústria alimentícia tem inserido as culturas probióticas com o objetivo de incluir novas propriedades benéficas e funcionais aos produtos. Os produtos mais conhecidos e comercializados são os leites fermentados e iogurtes com probióticos, no entanto, existem inúmeros produtos nesta linha de desenvolvimento como sorvetes, manteiga, maionese, entre outros (SAAD, 2006).

Segundo Oliveira et al. (2002), o uso de culturas probióticas para a fabricação de produtos alimentícios deve ser empregado de acordo com o seu desempenho tecnológico. Os probióticos que possuem bom desempenho tecnológico devem demonstrar uma boa multiplicação no produto, promover características sensoriais adequadas, apresentar estabilidade, viabilidade durante o período de armazenamento e, também, deve resultar em produtos com aromas e texturas adequadas.

Leite e seus derivados são bons veículos de cepas probióticas devido às suas propriedades intrínsecas e ao fato de que a maioria dos produtos lácteos é armazenada a temperaturas refrigeradas. Entre os produtos probióticos, as bebidas lácteas foram os primeiros produtos comercializados e, atualmente, são consumidos em quantidades maiores do que as outras bebidas probióticas (SONG et al., 2012).

O iogurte é uma das fontes originais de probióticos e continua a ser um produto probiótico popular. Outros produtos lácteos, incluindo mousse de chocolate, sobremesas congeladas de lácteos fermentados, creme de leite e sorvete podem ser bons veículos de probióticos. No entanto, com o aumento dos consumidores aderente ao vegetarianismo, há também uma procura por produtos probióticos vegetarianos e para pessoas intolerantes à lactose. Assim, nos países desenvolvidos, foram elaborados vegetais fermentados, produtos à base de frutas, de cereais com probióticos (SONG et al., 2012).

Embora haja o desenvolvimento de inúmeros produtos probióticos, ainda não foi desenvolvida uma bebida com extrato de soja probiótica para comercialização.

2.1.1 Características gerais de *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium lactis*

Os micro-organismos probióticos exercem efeitos benéficos ao organismo do hospedeiro quando são ingeridos diariamente em concentrações adequadas. Os mais utilizados são o grupo das bactérias ácido-láticas, como os gêneros *Bifidobacterium* e *Lactobacillus* (KRÜGER et al., 2008).

Os *Bifidobacterium*, em geral, são caracterizados como bacilos gram-positivos, não formadores de esporos, desprovidos de flagelos e aeróbios. São heterofermentativos que produzem ácidos acético e lático. A temperatura ótima para o crescimento varia entre 37 °C a 41 °C e, em relação ao pH ótimo, valores

entre 6 a 7, com ausência de crescimento em pH ácidos entre 4,5 a 5 (GOMES; MALCATA, 1999).

As espécies de *Lactobacillus* e *Streptococcus thermophilus* estão classificadas como não-patogênicos e não-toxigênicos, gram-positivos, bactérias fermentativas associadas à produção de ácido lático, etanol e outros produtos metabólitos a partir de carboidratos, sendo efetivas para a elaboração de alimentos fermentados (WGO, 2011).

Embora sejam utilizados os micro-organismos *Streptococcus thermophilus* na produção de iogurtes e outros produtos lácteos, estes não estão listados como probióticos de acordo com a legislação brasileira por não apresentarem os efeitos cientificamente comprovados (FERNÁNDEZ, 2015). No entanto, a *World Gastroenterology Organisation Global Guidelines* (2011) relata que a ingestão de *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgaricus* melhora a digestão da lactose e reduz os sintomas relacionados à intolerância à lactose baseado em uma série de estudos nos quais os indivíduos consumiam iogurtes com culturas probióticas.

O *Lactobacillus acidophilus* é caracterizado como forma de bacilo, não formador de esporos, desprovido de flagelos e microaerófilo. As ótimas temperaturas para o seu crescimento variam entre 35 °C a 40 °C e pH de 5,5-6 (GOMES; MALCATA, 1999).

Já o *Streptococcus thermophilus* é classificado como cocos, anaeróbia facultativa, a temperatura ótima varia entre 35 °C a 46 °C e seu pH de 6,5 (BEAL; LOUVET; CORRIEU, 1989; TAYEB, 1984).

Para a atuação dos efeitos benéficos no organismo do hospedeiro, é preciso que ocorra o crescimento e as atividades dos probióticos no intestino. Dessa forma, os micro-organismos devem apresentar características como: possuírem resistência ao suco gástrico, à biliar e às enzimas pancreáticas e digestivas; serem aderentes à mucosa intestinal; apresentar a capacidade de colonização; produzir substâncias antimicrobianas contra os micro-organismos patogênicos e ausência de mutações (RESENDE, 2010).

A *World Gastroenterology Organisation Global Guidelines* (2011) relata o mecanismo de ação dos probióticos, que inclui o consumo e a competição de nutrientes com os micro-organismos patogênicos; alteração do pH do meio intestinal, criando um ambiente desfavorável aos patógenos; produção de bactérias para inibição dos patógenos; estimulação da produção de mucina epitelial e inativação das toxinas produzidas pelos patógenos.

Assim, os efeitos atuam na redução de doenças cardiovasculares, câncer de cólon, inflamação do intestino, síndrome do intestino irritável, encefalopatia hepática; tratamentos para diarreias; eliminação de *Helicobacter pylori*, aumento da imunidade, entre outros benefícios (WGO, 2011).

2.2 Soja

A soja está entre os alimentos que tem se destacado nos últimos anos, pois possui características químicas e nutricionais que podem ser qualificadas como um alimento funcional pela qualidade da proteína, mas também pelo desempenho em auxiliar na prevenção e ações terapêuticas de doenças cardiovasculares, câncer, osteoporose e para a redução dos sintomas da menopausa (HASLER, 1999).

Há vários estudos experimentais e epidemiológicos sobre a ação das isoflavonas naturais como proteção contra várias doenças crônicas. Observou-se que a maior incidência de alguns tipos comuns de câncer (mama, próstata e cólon) e de doenças coronárias atinge, principalmente, as populações ocidentais expostas a quantidades limitadas de isoflavonas de soja (como a genisteína, daidzeína) na dieta (BRANDI, 1997).

As propriedades referentes ao consumo de produtos elaborados com soja foram atribuídas pela presença dos fitoquímicos, destacando-se os inibidores de proteases, fitatos, fitoesteróis, saponina, ácidos fenólicos, lecitina, ácidos graxos insaturados e isoflavonoides. Outros nutrientes, como aminoácidos, fibras, vitaminas, minerais e carboidratos, têm apresentado efeitos benéficos à saúde (RODRIGUES, 2003).

Neste contexto, associam-se os produtos derivados de soja com produtos comuns do cotidiano dos consumidores para incrementar o hábito do consumo da leguminosa. E também a associação destes produtos com frutas tem apresentado uma boa afinidade, melhorando as características visuais e sensoriais, reduzindo os aspectos sensoriais indesejáveis da soja (RODRIGUES, 2003).

2.3 bebida com extrato de soja probiótica

O extrato de soja é um dos produtos mais comuns no cotidiano do consumidor, devido a sua facilidade na utilização de forma direta ou no desenvolvimento de produtos, como sorvetes, um tipo de leite condensado, bebidas, iogurtes, formulados infantis, entre outros, pois apresenta baixo custo e alto teor de proteínas (RODRIGUES, 2003; CABRAL, 1997).

Segundo Rodrigues (2003), para que haja melhor aceitação e consumo dos produtos derivados de soja, são adicionados ingredientes para conferir doçura e/ou aromatizantes para reduzir e mascarar as características sensoriais da soja.

Conhecendo as inúmeras propriedades e benefícios que a soja oferece, é interessante a introdução desta em alimentos de consumo diário para que seja implantada de forma progressiva na alimentação da população brasileira. Uma das formas de introduzir este alimento na dieta é por meio de sucos de frutas com extrato de soja, onde tem sido muito aceito pelos consumidores (RODRIGUES, 2003).

De acordo com Barbosa (2007), há pesquisas que foram realizadas em que apresentam os oligossacarídeos (estaquiose e rafinose) presente no extrato de soja, que pode ser utilizado como um substrato adequado para o crescimento e desenvolvimento bioquímico de bactérias probióticas, proporcionando um alimento com as propriedades nutricionais potencializadas e, também, como um diferencial para os nichos da população que demonstram alergias e/ou distúrbios alimentares pela ingestão de leite de vaca.

3 Materiais e métodos

Trata-se de uma pesquisa experimental que avaliou a sobrevivência de cultura probiótica mista em suco de soja sabores morango, pêssego e uva ao longo de 30 dias de estocagem sob refrigeração. Este estudo foi realizado no ano de 2016 na Universidade Tecnológica Federal do Paraná – campus Londrina.

3.1 Objeto em estudo

A cultura probiótica utilizada neste estudo (SACCO®) continha as bactérias *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium lactis*. Os micro-organismos encontravam-se liofilizados em envelope na concentração de $2,5 \times 10^{10}$, $3,2 \times 10^9$ e $3,1 \times 10^9$ UFC/g, respectivamente.

Os sucos com extrato de soja foram desenvolvidos nos sabores morango, pêssego e uva da Mais Vita (Yoki®), sendo isentos de conservantes com adição de açúcar e edulcorante artificial de sucralose em suas composições, sendo obtidos no comércio local de Londrina-PR.

3.2 Métodos

Um volume de 800 mL de cada suco foi acondicionado em frascos estéreis, e a estes foi depositado todo o conteúdo do envelope da cultura mista de probióticos. A bebida foi armazenada sob refrigeração a 4 °C, durante o período de análise.

Após o inóculo da bactéria, nos tempos T0, T24, T360 e T720 horas, foi retirado 1 mL do produto e procedeu-se a diluição seriada. A contagem celular se deu pelo método de profundidade (*pour-plate*) em meio MRS (*Man Rogosa Sharpe*) ágar. As placas foram incubadas por 72 horas a 37 °C, em jarras de anaerobiose com sistema gerador de atmosfera com teor reduzido de oxigênio e aumentado de gás carbônico Anaerobac®. O cálculo de UFC/mL foi obtido pela contagem do número de células, multiplicado por 10^1 e pela diluição plaqueada. Controle negativo foi realizado com a bebida com extrato de soja sem inóculo bacteriano.

O pH foi determinado pela leitura direta em potenciômetro, calibrados com soluções tampão pH 4,0 e pH 7,0, nos mesmos tempos citados acima. O procedimento metodológico foi realizado de acordo com Instituto Adolfo Lutz (2008).

Para análise de acidez, 10 mL da bebida foi acrescentada em 100 mL de água destilada, com posterior homogeneização, e foram adicionados de 4 a 5 gotas da solução de fenolftaleína a 1% e titulado com solução de hidróxido de sódio 0,1 N, até o aparecimento de coloração rósea persistente por aproximadamente 30 segundos, segundo a Instrução Normativa n. 68 do MAPA (BRASIL, 2006).

Os sólidos solúveis foram analisados por meio do teor de açúcar presente na bebida e foram determinados por meio da leitura do refratômetro, sendo este calibrado com água destilada nos mesmos tempos do item 4.2.2, de acordo com Instituto Adolfo Lutz (IAL, 1985).

4 Resultados e discussão

O presente trabalho avaliou a sobrevivência de cultura probiótica mista em suco de soja sabores morango, pêsego e uva, armazenados sob refrigeração. No procedimento realizado, o inóculo inicial de cada micro-organismo foi $2,0 \times 10^7$, $2,5 \times 10^6$ e $2,4 \times 10^6$ das bactérias *S. thermophilus*, *L. acidophilus* e *B. lactis*, respectivamente. A Figura 1 apresenta o aspecto do suco após o inóculo bacteriano.

Por se tratar de uma cultura liofilizada e a fim de evitar contaminações, não se procedeu a reativação celular; ainda, como o objetivo deste trabalho foi verificar a viabilidade celular no produto, também foi inoculado na concentração considerada para um probiótico (mínimo de 10^8 UFC/mL).



Figura 1 – Aspecto dos sucos de morango, pêsego e uva, após o inóculo bacteriano

Fonte: Autoria própria

Durante o período de estocagem, uma alíquota foi retirada e foi determinada a UFC/mL da cultura probiótica mista (Figura 2).

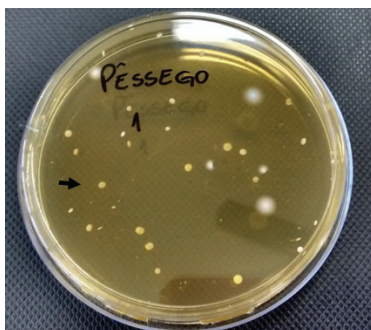


Figura 2 – Representação das placas contendo as colônias de cultura probiótica mista após 72 h de incubação. Seta indica colônia bacteriana

Fonte: Autoria própria

A Figura 3 apresenta os resultados da UFC/mL nos sucos acrescidos de bactérias probióticas. Embora o preparado tenha permanecido sob refrigeração, observou-se um aumento no número de células durante o armazenamento, ou seja, houve o desenvolvimento microbiano até 15 dias de estocagem em todos os sabores de suco. Com 30 dias de estocagem, continuou o desenvolvimento celular no suco de morango, decaindo nos sucos de pêsego e não sendo mais recuperado no suco de uva.

Embora o objetivo do trabalho fosse verificar a viabilidade da cultura probiótica durante período de estocagem, foi obtido um resultado positivo ao saber que os micro-organismos estavam em multiplicação. Ainda, o produto mostrou-se promissor para o desenvolvimento desses micro-organismos em sucos de soja, podendo posteriormente ser ajustado para chegar à concentração exigida pela legislação (10^8 a 10^9 UFC) para ser considerada como alimento probiótico.

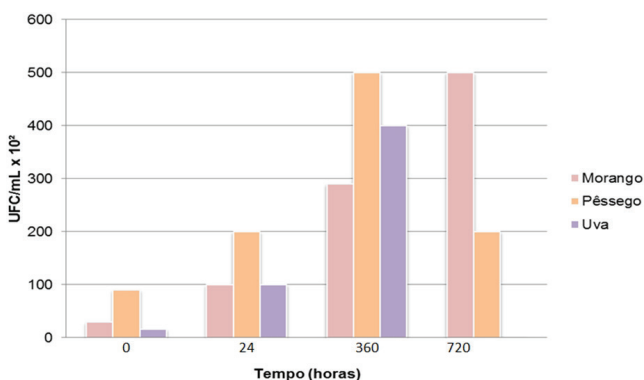


Figura 3 – Desenvolvimento celular de cultura de bactéria probiótica mista durante a estocagem sob refrigeração em suco de soja saborizado; dados expressos em UFC/mL de produto

Fonte: Autoria própria

Ao contrário dos resultados obtidos por Haully, Fuchs e Ferreira (2005), verificou-se que com 21 dias de armazenamento, o número de bactérias lácticas em iogurte de soja teve um decréscimo considerável. Segundo Macedo et al. (2008), a redução da viabilidade de bactérias probióticas pode estar relacionada com vários fatores como a acidez do produto, taxa de oxigênio, entrada de oxigênio pela embalagem, compostos antimicrobianos, entre outros.

De acordo com Gomes e Malcata (1999), há vários estudos que indicam o uso de culturas mistas contendo *Bifidobacterium* sp, *L. acidophilus* e *S. Thermophilus*, pois promovem algumas vantagens como “melhores taxas de crescimento, redução do tempo de fermentação, ausência de certos defeitos sensoriais e um aumento do valor nutritivo dos produtos finais”.

Há inúmeras vantagens das ações dos probióticos durante a fabricação de produto lácteo, tais como auxiliar na conservação do leite por meio da produção de ácido láctico e de outros elementos antimicrobianos, desenvolver qualidades sensoriais desejadas, aumentar os valores nutricionais do produto e promover propriedades benéficas ao organismo (OLIVEIRA, 2013).

No entanto, é preciso que os micro-organismos estejam viáveis no alimento durante o *shelf-life*, como demonstrado em nosso estudo. Também foram monitorados o pH e a acidez dos preparados. Os resultados estão apresentados nas Figuras 4 e 5.

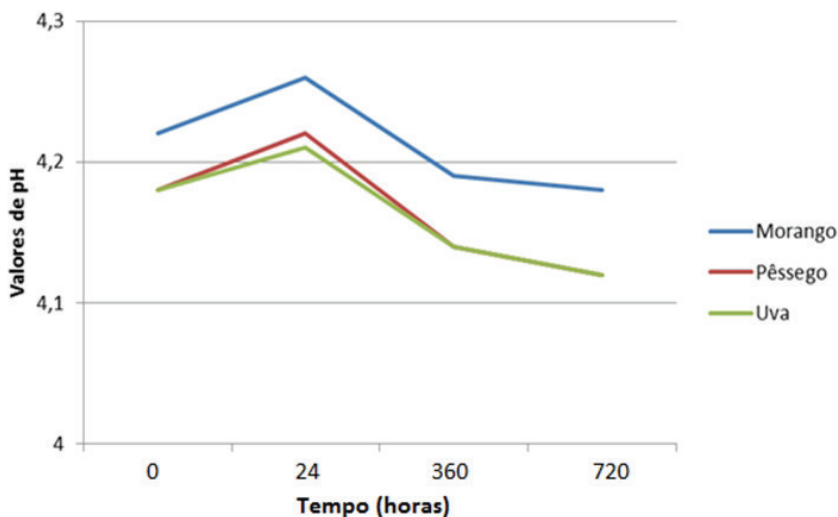


Figura 4 – Valores de pH dos sucos de soja saborizados contendo bactérias probióticas

Fonte: Autoria própria

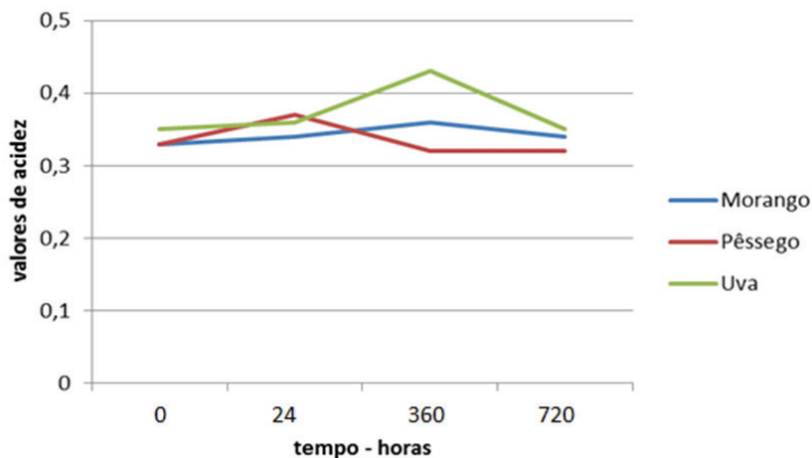


Figura 5 – Valores de acidez (B) dos sucos de soja saborizados contendo bactérias probióticas

Fonte: Autoria própria

Observamos que posterior à adição dos probióticos, com 360 horas, o pH apresentou valores menores do que a mensuração inicial. Barbosa (2007) sugere que este valor se deve ao processo fermentativo, corroborando com nossos experimentos onde neste tempo apresentou elevada contagem de bactérias probióticas.

De acordo com Beal, Louvet e Corrieu (1989), a redução do pH em iogurtes armazenados em temperatura de 4 °C relaciona-se com a pós-acidificação do meio devido ao consumo de carboidratos e produção do ácido lático apresentando a fermentação dos micro-organismos durante o armazenamento.

Santo et al. (2010) avaliou a influência da adição de polpa de açaí de iogurtes com culturas probióticas de *L. acidophilus*, *B. animalis* subespécie *lactis* e *B. longum*, e observou que no 28º dia de armazenamento, o pH variou entre 4,20 a 4,33. Assim como Gallina et al. (2011) analisou o leite pasteurizado com inoculação do fermento de *S. thermophilus*, *L. bulgaricus* e *Bifidobacterium* spp após o período de 28 dias armazenado em temperaturas de 4 a 6 °C com pH de 4,13.

Os dados de acidez também corroboram com os dados de crescimento bacteriano desta pesquisa. Donkor et al. (2006) observou o efeito da acidificação sobre o iogurte probiótico ao longo do período de armazenamento em temperaturas de refrigeração que houve um declínio significativo no pH e aumento da acidez.

Também foi constatado no trabalho de Haully, Fuchs e Ferreira (2005) o aumento da acidez com o tempo de armazenamento, havendo diferença entre o produto após a fermentação e o produto no 21º dia de armazenamento a 4 °C. Ao contrário de Jardim (2012), no qual não foi observada diferença expressiva da acidez durante o período de armazenamento em refrigeração até 28 dias, ou seja, a bebida obteve um comportamento constante da acidez em função do tempo.

Na Tabela 1 estão apresentados os dados de valores de sólidos solúveis dos sucos. Observou-se que a concentração de sólidos solúveis variou durante o armazenamento do produto. Com os dados obtidos não pudemos estabelecer uma correção de utilização de oligossacarídeos presentes no suco em relação ao desenvolvimento microbiano. Contudo, nos estudos realizados por Barbosa (2007), houve redução dos sólidos solúveis, sugerindo o consumo de substratos como oligossacarídeos (rafinose e estaquiose) presentes naturalmente na soja.

Tabela 1 – Valores de sólidos solúveis dos sucos de sabor morango, pêsego e uva

Tempo(h)	Morango (°Brix)	Pêssego (°Brix)	Uva (°Brix)
0	4,5	8	4,75
24	6	9,25	5,75
360	5,75	8,75	5,75
720	4	8,25	5

Fonte: Autoria própria.

5 Conclusão

As bebidas à base de suco de soja saborizado mostraram-se eficientes para a manutenção celular de cultura probiótica mista durante o período de armazenamento. Houve ainda crescimento celular durante o período de estocagem, inclusive com 30 dias de refrigeração para os sucos sabor morango e pêsego.

Embora a contagem celular não tenha atingido a concentração exigida para ser considerado um probiótico, este estudo mostrou que o extrato de soja pode ser utilizado como substrato para o desenvolvimento das bactérias probióticas, proporcionando um aumento em seu potencial de propriedades funcionais.

Referências

ABIAD. Associação Brasileira da Indústria de Alimentos para Fins Especiais e Congêneres. **Saiba as diferenças e benefícios dos alimentos probióticos, prebióticos e simbióticos**, 2011. Disponível em: <<http://www.abiad.org.br/index.php/sala-de-imprensa/releases-pautas-e-artigos/28-saiba-as-diferencas-e-beneficios-dos-alimentos-probioticos-prebioticos-e-simbioticos-110111>> Acesso em: 10 mai. 2015.

- ANTUNES, A. E. C. et al. Probióticos: Agentes promotores de saúde. **Nutrire**, São Paulo, v. 32, n. 3, p. 103-122, dez. 2007.
- BARBOSA, E. G. **Prevalência de bactéria probiótica *L. acidophilus* – NCFM em extrato de soja fermentado e saborizado com sacarose e polpa de pêssego.** 2007. 73f. Monografia (Especialização em Ciência e Tecnologia Agroindustrial) – Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2007.
- BARBOSA, F. H. F. et al. Probióticos – micro-organismos a favor da vida. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, Paraíba, v. 11, n. 1, p. 11-21, 2011.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução RDC nº 18, 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 da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 3 mai. 1999.
- _____. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Resolução n. 5, de 13 novembro de 2000. Padrões de identidade e qualidade (PIQ) de leites fermentados. **Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 14 dez. 2006.
- _____. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Alimentos com alegações de propriedades funcionais e ou de saúde**, 2008. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/wps/content/Anvisa+Portal/Anvisa/Inicio/Alimentos/Assuntos+de+Interesse/Alimentos+Com+Alegacoes+de+Propriedades+Funcionais+e+ou+de+Saude>> Acesso em: 10 mai. 2015.
- BEAL, C.; LOUVET, P.; CORRIEU, G. Influence of controlled pH and temperature on the growth and acidification of pure cultures of *Streptococcus thermophilus* 404 and *Lactobacillus bulgaricus* 398. **Appl. Microbiol Biotechnol**, Thiverval-Grignon, v. 32, p. 148-154, 1989.
- BRANDI, M. L. Natural and Synthetic Isoflavones in the Prevention and Treatment of Chronic Diseases. **Calcif Tissue Int**, New York, v. 61, p. S5-S8. 1997.
- BVSMS. Biblioteca Virtual em Saúde. **Alimentos funcionais**, 2009. Disponível em: <http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/dicas/220_alimentos_funcionais.html> Acesso em: 9 mai. 2015.

- CABRAL, L. C.; WANG, S. H.; ARAUJO, F. B.; MAIA, L. H. Efeito da pressão de homogeneização nas propriedades funcionais do leite de soja em pó, 1997. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20611997000300018> Acesso em: 17 set. 2015.
- DONKOR, O. N.; HENRIKSSON, A.; VASILJEVIC, T.; SHAH, N. P. Effect of acidification on the activity of probiotics in yoghurt during cold storage. *International Dairy Journal, Barking*, v. 16, n. 10, p. 1181-1189, 2006.
- FERNÁNDEZ, L. C. Desenvolvimento de sorvetes probióticos à base de extrato solúvel de soja. 2015. 89f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia Industrial na área de concentração de Microbiologia Aplicada) – Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, 2015.
- FRANCO, R. C. J. Obtenção de maionese de iogurte probiótica com fitosteróis. 2011. 74 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Processos Químicos) – Escola de Engenharia Mauá do Centro Universitário, Instituto Mauá de Tecnologia, São Caetano do Sul, 2011.
- GALLINA, D. A. et al. Caracterização de leites fermentados com e sem adição de probióticos e prebióticos e avaliação da viabilidade de bactérias lácticas e probióticas durante a vida-de-prateleira. *UNOPAR Cient. Ciênc. Biol. Saúde*. São Paulo, v. 13, n. 4, p. 239-44, 2011.
- GOMES, A. M. P.; MALCATA, F. X. Boletim de Biotecnologia. Agentes probióticos em alimentos: aspectos fisiológicos e terapêuticos, e aplicações tecnológicas, 1999. Disponível em: <www.spbt.pt/getfile.aspx?tipo=pub&fileid=8> Acesso em: 20 mai. 2016.
- HASLER, C. M. *Functional Foods: Their Role in Disease Prevention and Health Promotion*, 1999 – Disponível em: <<http://www.nutriwatch.org/04Foods/ff.html>> Acesso em: 17 set. 2015.
- HAULY, M. C. O.; FUCHS, R. H. B.; PRUDENCIO-FERREIRA, S. H. Suplementação de iogurte de soja com frutooligosacarídeos: características probióticas e aceitabilidade. *Rev. Nutr.*, Campinas, v. 18, n. 5, p. 613-622, set./out., 2005.
- IAL – Instituto Adolfo Lutz (São Paulo). Normas analíticas do instituto Adolfo Lutz. In: _____. *Métodos físico-químicos para análise de alimentos*. 3. ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 1985. p. 18-21.

- _____. Procedimentos e determinações gerais. In:_____. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 1. ed. digital. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. p. 85-160.
- JARDIM, F. B. B. **Desenvolvimento de bebida láctea probiótica carbonatada: características físico-químicas, microbiológicas e sensoriais**. 2012. 136f. Tese (Doutorado em Alimentos e Nutrição) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Araraquara, 2012.
- KRÜGER, R. et al. Desenvolvimento de uma bebida láctea probiótica utilizando como substratos soro de leite e extrato hidrossolúvel de soja. **Alim. Nutr.**, Araraquara, v. 19, n. 1, p. 43-53, jan./mar. 2008.
- MACEDO, L. N. et al. Efeito prebiótico do mel sobre o crescimento e viabilidade de *Bifidobacterium ssp.* e *Lactobacillus ssp.* em leite. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28, n. 4, p. 935-942, out./dez. 2008.
- MORAES, F. P.; COLLA, L. M. Alimentos funcionais e nutracêuticos: definições, legislação e benefícios à saúde. **Revista Eletrônica de Farmácia**, Passo Fundo, v. 3, n. 2, p. 109-122, 2006.
- NOGUEIRA, J. C. R.; GONÇALVES, M. C. R. Probióticos – Revisão da Literatura. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**, v. 15, n. 4, p. 487-492, 2011.
- OLIVEIRA, A. F.; ROMAN, J. A. Alimentos Funcionais. In:_____. **Nutrição para Tecnologia e Engenharia de Alimentos**, Curitiba: CRV, 2013. p. 151-164.
- OLIVEIRA, M. E. G. **Queijo de coalho caprino adicionado de bactérias lácticas: elaboração, caracterização e avaliação *in vitro* de potencial probiótico**. 2013. 154f. Tese (Doutorado em Nutrição) – Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2013.
- OLIVEIRA, M. N. et al. Aspectos tecnológicos de alimentos funcionais contendo probióticos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. v. 38, n. 1, mar. 2002.
- RESENDE, A. **Probióticos**, 2010. Disponível em: <<http://blogdasmicro.blogspot.com.br/2010/04/probioticos.html>>. Acesso em: 20 mai. 2016.
- ROBERFROID, M. Functional food concept and its application to prebiotics. **Digest Liver Dis**. v. 34, n. 2, p. S105-S110, 2002.

- RODRIGUES, R. S. Caracterização de extratos de soja obtidos de grãos, farinha integral e isolado protéico visando à formulação e avaliação biológica (em coelhos) de bebida funcional à base de extrato de soja e polpa de pêssegos. Tese (Doutorado em Tecnologia em Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2003.
- SAAD, S. M. I. Probióticos e prebióticos: o estado da arte. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. v. 42, n. 1, p. 1-16, mar. 2006.
- SANTO, A. P. E. et al. Açai pulp addition improves fatty acid profile and probiotic viability in yoghurt. **International Dairy Journal**, Amsterdam, v. 20. p. 415-422, 2010.
- SILVEIRA, T. F. V.; VIANNA, C. M. M.; MOSEGUI, G. B. G. Brazilian legislation for functional. **Revista de Saúde Coletiva**. Rio de Janeiro, v. 19, n. 4, p. 1189-1202, 2009.
- SONG, D. et al. Probiotics. In: SONG, D.; IBRAHIM, S.; HAYEK, S. **Recent application of probiotics in food and agricultural science**. 1ª ed. Croatia: InTech, 2012. p. 3-36.
- STEFE, C. A.; ALVES, M. A. R.; RIBEIRO, R. L. Probióticos, prebióticos e simbióticos – artigo de revisão. **Saúde & Ambiente**, Duque de Caxias, v. 3, n. 1, p. 16-33, jan.-jun. 2008.
- TAYEB, J.; BOURILLANNE, C.; DESMAZEAUD, M. J. Computerized control of growth with temperature in a mixed culture of lactic acid bacteria. **Journal of Fermentation Technology**, Jooy-en-Josas, v. 62, p. 461-470, 1984.
- THAMER, K. G.; PENNA, A. L. B. Efeito do teor de soro, açúcar e de frutooligossacarídeos sobre a população de bactérias lácticas probióticas em bebidas fermentadas. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São José do Rio Preto, v. 41, n. 3, jul.-set. 2005.