



República Federativa do Brasil
Ministério da Indústria, Comércio Exterior
e Serviços
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(11) PI 0719796-9 B1

(22) Data do Depósito: 01/10/2007

(45) Data de Concessão: 18/10/2016



(54) Título: PROCESSO PARA AUMENTAR VIABILIDADE DAS BIFIDOBACTÉRIAS DURANTE CONSERVAÇÃO DE PRODUTO ALIMENTÍCIO FRESCO E PRODUTO ALIMENTÍCIO FRESCO

(51) Int.Cl.: A23C 9/12; A23L 1/053; A23L 3/3571; C12N 1/20

(30) Prioridade Unionista: 02/10/2006 FR 06 08613

(73) Titular(es): COMPAGNIE GERVAIS DANONE

(72) Inventor(es): LUC TERRAGNO, FRANÇOIS DEBRU, STÉPHANE HERVE, PHILIPPE TEISSIER

Relatório Descritivo da Patente de Invenção para **"PROCESSO PARA AUMENTAR VIABILIDADE DAS BIFIDOBACTÉRIAS DURANTE CONSERVAÇÃO DE PRODUTO ALIMENTÍCIO FRESCO E PRODUTO ALIMENTÍCIO FRESCO"**.

[001] A presente invenção refere-se à utilização da goma de acácia (ou goma arábica), sozinha ou em associação com um aminoácido sulfurado, para melhorar o aumento e a sobrevivência de bifidobactérias, que entram na fabricação de produtos alimentícios fermentados.

[002] As bifidobactérias fazem parte dos micro-organismos probióticos os mais amplamente utilizados atualmente para a fabricação de diferentes produtos alimentícios, e notadamente produtos lácteos, fermentados.

[003] Definem-se como probióticos "micro-organismos vivos, que, quando consumidos em quantidades adequadas, têm um efeito benéfico sobre a saúde do hospedeiro" (Relatório da consulta mista de especialistas FAO/OMS sobre a avaliação das propriedades sanitárias e nutricionais dos probióticos nos alimentos, 2001). Essa definição implica que, para exercer seu efeito benéfico, o micro-organismo referido deve estar presente em quantidade suficiente no produto pronto para ser consumido. Geralmente, é considerado que essa quantidade deve ser pelo menos igual a 10^7 ufc/ml. A manutenção da viabilidade das bactérias probióticas no decorrer da fabricação, do empacotamento, e da armazenagem dos produtos alimentícios que os contêm constitui, portanto, um elemento essencial da qualidade desses produtos.

[004] As espécies de bifidobactérias as mais empregadas no domínio alimentício são as *Bifidobacterium adolescentis*, *B. bifidum*, *B. breve*, *B. Longum*, *B. animalis* et *B. infantis*.

[005] No âmbito da fabricação de produtos alimentícios fermentados, as bifidobactérias podem ser utilizadas sozinhas; todavia, elas são mais frequentemente, por razões organolépticas e/ou tecnológi-

cas, associadas a outras bactérias ácido-lácticas. Elas são, sobretudo, frequentemente associadas a fermentos do iogurte (*L. bulgaricus* e *S. thermophilus*). Elas podem ser acrescentadas aos produtos já fermentados, ou, mais comumente, misturadas às outras bactérias ácido-lácticas, quando da inseminação do substrato a fermentar.

[006] Nas condições utilizadas, quando da fabricação de produtos alimentícios, o aumento das bifidobactérias é frequentemente lento; além disso, no final da fermentação, é frequentemente difícil manter uma população de bifidobactérias suficiente, por toda a duração de conservação do produto, até seu consumo. Esses problemas podem ser acentuados, caso as bifidobactérias sejam associadas às outras bactérias ácido-lácticas. Devido à baixa competitividade das bifidobactérias em cultura mista, elas têm frequentemente um aumento mais lento em presença de outros fermentos lácticos do que quando são cultivadas sozinhas; da mesma forma, sua sobrevivência no decorrer da conservação do produto fermentado é geralmente pior, notadamente devido ao fato de certas outras bactérias ácido-lácticas continuarem a produzir, dentre outros, ácido láctico. Esse fenômeno, conhecido pelo nome de pós-acidificação, afeta a viabilidade das bifidobactérias presentes no mesmo produto.

[007] Nesse âmbito, parece desejável estimular o aumento e aumentar a viabilidade das bifidobactérias, e, de preferência, fazê-lo, induzindo-se apenas poucos efeitos (positivos ou negativos) ou nenhum sobre o aumento e a viabilidade das bactérias ácido-lácticas às quais essas bifidobactérias são associadas.

[008] Os inventores descobriram que a utilização de goma arábica, quando da fabricação dos produtos fermentados, permitia conseguir esses resultados.

[009] A goma arábica é produzida por exudação de ferimentos dos troncos ou das ramificações de certas espécies de acácia. É um

poli-sacarídeo hidro-solúvel de elevado peso molecular, fortemente ramificado. A goma arábica utilizada como aditivo alimentício (E414) provém exclusivamente de *Acacia seyal* ou de *Acacia Senegal*.

[0010] Foi proposta a utilização da goma arábica para encapsular bactérias probióticas (diversas bifidobactérias e *Lactobacillus paracasei*), a fim de preservá-las do calor e da desidratação, quando da secagem e melhorar sua viabilidade, assim como sua resistência aos sucos gástricos e à bile (Lian et al. 2002; Lian et al. 2003; Hsiao et al. 2004; Desmond et al. 2002).

[0011] Foi também reportado que a ingestão de goma arábica no homem, à razão de 10 gramas por dia, permitia aumentar a população de *Bifidobacterium* e *bacteróides* nas placas; mais recentemente, um estudo similar descreveu um aumento da população total de bactérias ácido-lácticas, e principalmente *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*, após ingestão de 10 a 15 gramas de goma arábica por dia (Wyatt et al. 1986; Cherbut et al. 2003).

[0012] Os inventores constataram que, quando a goma arábica era adicionada *in vitro* a uma cultura contendo bifidobactérias, sozinhas ou com outras bactérias ácido-lácticas, ela estimulava o aumento das bifidobactérias no decorrer da fermentação e aumentava sua duração de vida no decorrer da conservação do produto fermentado; ao contrário, não tinha efeito nenhum ou tinha pouco efeito sobre o aumento e a viabilidade das outras bactérias ácido-lácticas, quando estas estavam presentes. Constataram, além disso, que, caso se acrescente, além disso, a cisteína, os efeitos específicos da goma arábica sobre as bifidobactérias, notadamente sua sobrevida no decorrer da conservação, eram consideravelmente aumentados.

[0013] A presente invenção tem por objetivo um processo para aumentar a viabilidade das bifidobactérias no decorrer da conservação de um produto alimentício fresco fermentado, contendo uma ou várias

cepas de *Bifidobacterium*, caracterizado pelo fato de compreender a adição de goma arábica a esse produto alimentício, antes do final do seu empacotamento.

[0014] De acordo com um modo de aplicação preferido de um processo da presente invenção, esse produto alimentício contém, além disso, uma ou várias cepas de bactérias ácido-lácticas diferentes da *Bifidobacterium*.

[0015] De acordo com um outro modo de aplicação preferido da presente invenção, esse processo compreende, além disso, a adição de pelo menos um aminoácido sulfurado (cisteína ou metionina), de preferência a cisteína, a esse produto alimentício antes do final do seu empacotamento.

[0016] Define-se no caso por "produto alimentício fermentado" um produto resultante da fermentação de um substrato alimentício apropriado por um fermento que compreende bactérias ácido-lácticas e no qual essas bactérias ácido-lácticas permanecem vivas. Esse produto pode também conter bactérias ácido-lácticas vivas que não participaram da fermentação, mas foram acrescentadas depois desta; pode também conter, se for o caso, micro-organismos utilizáveis na fabricação alimentícia, diferentes das bactérias ácido-lácticas, por exemplo, *Acetobacter* ou lêvedos. O termo "fresco" indica que esse produto não sofreu, após a fermentação, nenhum tratamento, tal como a liofilização ou o dessecamento. Os produtos frescos são geralmente conservados por refrigeração.

[0017] Define-se por "final do empacotamento" o momento do fechamento do conteúdo no qual será conservado o produto fermentado até seu consumo.

[0018] Os substratos alimentícios apropriados para a aplicação da presente invenção são todos aqueles habitualmente utilizáveis para a obtenção de produtos alimentícios fermentados contendo bifidobacté-

rias.

[0019] Pode tratar-se, por exemplo, de um substrato lácteo, que pode ser o leite de vaca, de cabra, de ovelha, de jumento ou de qualquer outro mamífero do qual o leite é utilizável em alimentação humana; esse leite pode eventualmente ter sofrido diferentes tratamentos, permitindo controlar notadamente sua composição em proteínas e em matérias graxas (desnatar, ultrafiltrar, concentrar ou diluir, adicionar frações leiteiras, etc); pode também tratar-se de leite reconstituído, a partir de leite em pó ou de frações leiteiras ou de leite enriquecido com proteínas leiteiras e/ou hidrolisados de proteínas leiteiras.

[0020] Pode tratar-se também de um substrato vegetal, por exemplo, de suco de fruta ou de legume, de leite de soja, de substrato à base de cereais, tais como o trigo, a aveia, o milho, etc.

[0021] Pode tratar-se também de uma mistura ou de misturas de dois ou mais desses substratos.

[0022] Pode também tratar-se de um substrato, tal como uma forragem graxa.

[0023] Se for o caso, esse substrato alimentício pode ser adicionado de diferentes agentes, tais como agentes de textura, de sabor, aromas, etc.

[0024] De maneira clássica, antes da inseminação pelas bactérias escolhidas, esse substrato é tratado termicamente, por exemplo, a 90-95°C durante 5 a 10 minutos, a fim de destruir os eventuais contaminadores bacterianos.

[0025] A ou as cepas de bifidobactérias utilizadas para a aplicação da presente invenção podem ser escolhidas dentre as espécies de bifidobactérias habitualmente utilizadas para o preparo de produtos alimentícios, mencionadas anteriormente. Cepas de bifidobactérias de diferentes espécies podem ser associadas. Espécies preferidas são notadamente *Bifidobacterium animalis*, e, em particular, as subespé-

cies *Bifidobacterium animalis* e *Bifidobacterium animalis lactis*. A título de exemplo, citar-se-á a cepa de *Bifidobacterium animalis lactis* CNCM 1-2494.

[0026] Outras espécies preferidas de bifidobactérias são *B. lactis* BB12 (CHR Hansen), *B. longum* BB536 (Morinaga), *B. breve* CNCM I-2219 (Danone), *B. breve* YIT 4014 (Yakult), *B. infantis* 35624 (Procter & Gamble).

[0027] As outras cepas de bactérias ácido-lácticas podem também ser escolhidas dentre aquelas que são habitualmente utilizadas para o preparo de produtos alimentícios.

[0028] Sua escolha depende do tipo de produto fermentado que se deseja obter:

[0029] A título de exemplos não-limitativos, serão citados:

- lactobacilos, tais como *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus plantarum*, etc.

- fermentos do iogurte, a saber, *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus*, que podem, se for o caso, ser associados a outras espécies de *Lactobacillus*;

- fermentos do kefir, contendo geralmente *Lactobacillus kefir*, associado a bactérias dos gêneros *Leuconostoc*, *Lactococcus* e *Acetobacter* e a lêvedos dos gêneros *Khyveromyces* e *Saccharomyces*;

- as bactérias mesófilas, utilizadas notadamente para a fabricação de queijos, tais como *Lactococcus cremoris*, *Lactococcus lactis*, *Lactococcus diacetylactis* e *Leuconostoc*.

[0030] Pode-se utilizar a goma arábica de *Acacia Senegal* ou *Acacia seyal*, por exemplo, aquelas respectivamente comercializadas pela sociedade CNI sob as denominações FIBREGUM®P e FIBREGUM®PB ou aquelas comercializadas pela sociedade *Kerry Ingredients* ou pela sociedade *ALFRED L. WOLFF GmbH* sob a marca Quick Gum®.

[0031] O(s) aminoácido(s) sulfurado(s) será(ão) utilizado(s) de preferência sob a forma livre, segundo as modalidades descritas no pedido PCT FR2006/001688, depositado em 11 de julho de 2006 em nome de COMPAGNE GERVAIS DANONE; podem-se também utilizar grânulos contendo a cisteína base, similares àqueles descritos no pedido FR 0606421 depositados em 13 de julho de 2006 em nome de COMPAGNE GERVAIS DANONE.

[0032] A quantidade de goma arábica no produto final (isto é, o produto fermentado e empacotado) será geralmente de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 3%, de preferência de aproximadamente 0,2 a aproximadamente 1% em peso. A quantidade de aminoácido(s) sulfurado(s) no produto final pode ir de aproximadamente 5 até aproximadamente 50 mg/l; ela será geralmente de aproximadamente 5 a aproximadamente 20 mg/l, de preferência de aproximadamente 5 a aproximadamente 15 mg/l, e vantajosamente de aproximadamente 5 a aproximadamente 10 mg/l.

[0033] A quantidade de goma arábica utilizada pode vantajosamente ser adaptada em função da taxa protéica visada do produto final, e do acréscimo ou não de aminoácido(s) sulfurado(s).

[0034] No caso de um produto, cuja taxa protéica é superior ou igual a 3,4%, a goma arábica pode ser utilizada sozinha, de preferência, de maneira a se conseguir uma quantidade superior ou igual a 0,5% no produto final; caso se deseje conseguir uma quantidade de goma arábica no produto final inferior a 0,5%, é preferível acrescentar também o(s) aminoácido(s) sulfurado(s).

[0035] No caso de um produto, cuja taxa protéica é inferior a 3,4%, é geralmente preferível utilizar uma combinação de goma de acácia e de aminoácido(s) sulfurado(s), notadamente para se conseguir um efeito ótimo sobre a sobrevivência das bifidobactérias.

[0036] Para se conseguir o efeito desejado sobre a viabilidade das

bifidobactérias, a goma arábica, como o(s) aminoácido(s) sulfurado(s) pode(m) ser acrescentado(s), junto ou separadamente, e em uma ou várias vezes, a qualquer momento da fabricação do produto, antes do fim de seu empacotamento.

[0037] De acordo com um modo de aplicação preferido do processo da presente invenção, ele compreende uma etapa de fermentação de um substrato alimentício por uma ou várias cepas de *Bifidobacterium*, em associação ou não com uma ou várias cepas de várias bactérias ácido-lácticas diferentes de *Bifidobacterium*.

[0038] Nesse caso, a fim de estimular o aumento das *Bifidobacterium*, a adição de pelo menos uma parte da quantidade total do(s) aminoácido(s) sulfurado(s), é feita previamente a essa fermentação. Quando a quantidade de goma arábica prevista no produto final é inferior a 0,5%, é preferível que a totalidade da goma arábica seja acrescentada previamente à fermentação; quando a quantidade de goma arábica prevista no produto final é de 0,5% a 1%, a quantidade de goma arábica acrescentada previamente à fermentação representa, de preferência, de 50 a 100% da quantidade total utilizada; quando a quantidade de goma arábica prevista no produto final é superior a 1%, a quantidade de goma arábica acrescentada previamente à fermentação representa, de preferência, de 20 a 100% da quantidade total utilizada. Da mesma forma, quando a quantidade de aminoácido(s) sulfurado(s) prevista no produto final é de 5 a aproximadamente 10 mg/l, a quantidade de aminoácido(s) sulfurado(s) acrescentada previamente à fermentação representa, de preferência, de 80 a 100% da quantidade total utilizada; quando a quantidade de aminoácido(s) sulfurado(s) prevista no produto final é superior a 10 mg/l, a quantidade de aminoácido(s) sulfurado(s) acrescentada previamente à fermentação representa, de preferência, de 20 a 100% da quantidade total utilizada.

[0039] De acordo com uma modalidade particularmente vantajosa

desse modo de aplicação, pelo menos uma parte dos aminoácidos sulfurados utilizados é acrescentada, quando da inseminação pelas bactérias, sob a forma de grânulos contendo a cisteína base conforme descrito no pedido FR 0606421, e contendo pelo menos uma das cepas de *Bifidobacterium* utilizadas.

[0040] Um processo, de acordo com a invenção, pode compreender várias etapas de fermentação, efetuadas separadamente, utilizando associações diferentes de bactérias ácido-láticas, e/ou substratos alimentícios de natureza diferente. Essas etapas de fermentação são geralmente efetuadas em paralelo, e seus produtos são, em seguida, misturados. É possível que uma dessas fermentações separadas utilize um fermento que não compreende bifidobactérias. Nesse caso, não é necessário efetuar a fermentação em presença de goma arábica ou da combinação goma arábica/aminoácido(s) sulfurado(s); todavia, é possível acrescentar, junto ou separadamente, a goma arábica como o(s) aminoácido(s) sulfurado(s), antes, durante ou após a fermentação, a fim de encontrá-los na mistura dos produtos de fermentação.

[0041] No âmbito do processo da invenção, a quantidade de bifidobactérias utilizada para a inseminação do substrato alimentício é de aproximadamente 10^6 a aproximadamente $2 \cdot 10^7$ UFC por ml de substrato. Quando as bifidobactérias são utilizadas para fermentar um substrato conjuntamente com outras bactérias ácido-láticas, elas representam geralmente de aproximadamente 20 a aproximadamente 75%, de preferência, de aproximadamente 30 a aproximadamente 50%, e de maneira particularmente preferida de aproximadamente 35 a aproximadamente 40%, da população bacteriana presente no *inoculum* utilizado.

[0042] A quantidade de bifidobactérias no produto final, imediatamente após fermentação e empacotamento (isto é, nas quatro horas que seguem o fim da fermentação), é de pelo menos $1 \cdot 10^8$, de prefe-

rência da ordem de $2 \cdot 10^8$ a 10^9 UFC por ml de produto.

[0043] Quando das bifidobactérias são acrescentados a um produto fermentado por outras bactérias ácido-lácticas, a quantidade acrescentada é também ajustada de maneira a se conseguir também uma população de pelo menos $1 \cdot 10^8$, de preferência da ordem de $2 \cdot 10^8$ a 10^9 UFC por ml de produto.

[0044] O processo, de acordo com a invenção, é utilizável para a fabricação de uma grande variedade de produtos frescos fermentados, e pode ser aplicado sem modificação, ou efetuando-se apenas modificações menores, das modalidades usuais de preparo desse tipo de produtos.

[0045] As figuras 1 a 5 esquematizam, a título de exemplos não-limitativos, a aplicação do processo da invenção no âmbito do preparo de diversos produtos lácteos fermentados.

[0046] A figura 1 esquematiza o preparo de um produto fermentado de tipo iogurte misturado.

[0047] A figura 2 esquematiza o preparo de um produto fermentado de tipo iogurte para beber.

[0048] A figura 3 esquematiza o preparo de um produto fermentado contendo fermentos do iogurte e fermentos do kefir.

[0049] A figura 4 esquematiza o preparo de um produto fermentado, contendo fermentos do iogurte e fermentos utilizados na fabricação de queijos.

[0050] A figura 5 esquematiza o preparo de um produto fermentado de tipo iogurte firme.

[0051] A presente invenção tem também por objeto produtos alimentícios fermentados e notadamente produtos lácteos fermentados e/ou à base de substrato vegetal, capazes de serem obtidos pelo processo, de acordo com a invenção.

[0052] A presente invenção tem também por objeto produtos ali-

mentícios fermentados sob a forma de forragens graxas que podem entrar na composição de barras de cereais e de biscoitos.

[0053] Produtos alimentícios fermentados, de acordo com a invenção, contêm de 0,1 a 3%, de preferência de 0,2 a 1% em peso de goma arábica, e, vantajosamente, contêm também aproximadamente 5 a aproximadamente 50 mg/l de aminoácido(s) sulfurado(s) de preferência de cisteína.

[0054] Eles contêm também, imediatamente, após fermentação e empacotamento, pelo menos $1 \cdot 10^8$, de preferência da ordem de $2 \cdot 10^8$ a 10^9 UFC de bifidobactérias por ml de produto. De preferência, após 28 dias de conservação entre 4 e 10°C, pelo menos 4 0% de bifidobactérias presente ao final da fermentação estão ainda vivos nesses produtos.

[0055] Produtos particularmente preferidos contêm de 0,2 a 1% em peso de goma arábica, e de 5 a 10 mg/l de cisteína, após 35 dias de conservação entre 4 e 10%, pelo menos 30% das bifidobactérias presentes no final da fermentação estão ainda vivas nesses produtos. De maneira particularmente preferida, trata-se de produtos fermentados, de tipo iogurte para beber, contendo de 2 a 3,5% de proteínas.

[0056] A presente invenção será melhor compreendida com o auxílio do complemento de descrição que vai ser feito a seguir, que se refere a exemplos não-limitativos, ilustrando a aplicação do processo, de acordo com a invenção, para estimular o aumento e aumentar a sobrevida de bifidobactérias cultivadas em presença de fermentos do iogurte.

Exemplo 1

Efeito da Goma de Acácia sobre o aumento e a sobrevida das Bifidobactérias em um produto láctico

Protocolo Experimental

[0057] A fórmula escolhida para a experimentação é um leite com

uma taxa protéica de 4,4% e uma taxa de 3,5% de matérias graxas, obtida por re-hidratação de leite em pó. É uma fórmula que dá normalmente uma população em bifidobactérias pequena.

[0058] Duas doses de goma de acácia (FIBREGUM®B) foram testadas: 0,5% e 1% em peso no produto acabado. A goma de acácia é incorporada, quando da re-hidratação. O tempo de re-hidratação é de 1 hora.

[0059] O leite adicionado de goma de acácia foi tratado termicamente, de acordo com o seguinte protocolo:

[0060] preaquecimento a 55°C,

[0061] pasteurização a 95%, durante 6 minutos,

[0062] pré-resfriamento a 40°C, resfriamento a 4°C.

[0063] O leite é, então, armazenado a 4°C até sua utilização (nas 24 horas que se seguem).

Preparo para inoculação:

[0064] 40 minutos antes da inoculação, o leite é temperado a 38°C.

[0065] Para a inseminação, o seguinte *inoculum* é utilizado:

Streptococcus termophilus + *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *Bulgaricus* + *Bifidobacterium animalis* SSP *lactis* (CNCM : I-2494), à razão de 5.10^6 UFC/ml de *Streptococcus termophilus*, de 5.10^6 UFC/ml de *Lactobacillus Bulgaricus* e de 1.10^7 UFC/ml de *Bifidobacterium animalis*.

[0066] Após inoculação, o leite é mergulhado de novo no banho-maria a 38°C. A fermentação é seguida no CINAC® (YSEBAERT) até um pH de descamação (4,8).

Descamação, alisamento, empacotamento:

[0067] Com pH = 4,8, o leite fermentado é alisado e resfriado a 20°C (seja 6 litros/h) com filtro com malhas de 500 µm. É em seguida empacotado em recipientes de 125 ml, depois colocado no túnel frio (4°C) durante uma noite. Na manhã seguinte, os recipientes são trans-

feridos a 10°C e o acompanhamento microbiológico é feito até o D28. As separações são feitas em triplo (3 medidas por teste) segundo o método à dicloxacilina descrito por Grand et al., 2203.

Resultados

[0068] Os resultados são ilustrados pela Tabela I, que indica as populações de *Bifidobacterium animalis* nos dias 1, 14 e 28, pela tabela II, que resume as percentagens de sobrevida no dia 14 e no dia 28, e pela figura 6 que representa a evolução em percentagem da sobrevida 2 das bifidobactérias em função do tempo.

Tabela I

	Pop D1 UFC/ml	Pop D14 UFC/ml	Pop D28 UFC/ml
Prova	2,30E + 08	1,15E + 08	3,00E + 07
Acácia 1%	2,20E + 08	1,50E + 08	1,20E + 08

Tabela II

	Fim da fermentação	D + 14	D + 28
	D1	D14	D28
Prova	100	50	13
Goma Acácia 1%	100	68	45,5

[0069] Esses resultados mostram nitidamente uma melhoria da sobrevida da população bacteriana no D + 28 em presença de 1% de goma de acácia (as populações no D + 1 do teste prova e do teste acácia sendo estatisticamente não diferentes).

[0070] A 0,5% de goma de acácia o efeito é menor (resultados não-ilustrados), mas continua significativo.

Exemplo 2

Efeito da Associação da Goma da Acácia e da Cisteína sobre o aumento e a sobrevida de Bifidobactérias em um produto láctico.

Protocolo Experimental

[0071] Um iogurte para beber (2,8% de proteínas) é fabricado por re-hidratação de leite em pó, e adicionado de 0,8% (em peso) de goma de acácia, conforme descrito no exemplo 1 acima. Esse tipo de produto foi escolhido para os testes, à medida que é aquele que apresenta mais problemas em termos de manutenção de população de bifidobactérias durante a armazenagem. O leite re-hidratado adicionado de goma de acácia é tratado termicamente, conforme descrito no exemplo 1 acima, e homogeneizado (150-200 bárias).

[0072] Após resfriamento a 38-40°C, *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *Bulgaricus* são acrescentados à razão de $5 \cdot 10^6$ UFC/ml de *Streptococcus thermophilus*, de $5 \cdot 10^6$ UFC/ml de *Lactobacillus bulgaricus*. *Bifidobacterium animalis* ssp. *Lactis* I-2494 é acrescentado sob a forma de fermento com inseminação direta, tais como aqueles descritos no pedido FR 0606421 suplementado em cisteína ou não. O fermento suplementado utilizado corresponde ao acréscimo de $1,92 \cdot 10^7$ UFC/ml de *Bifidobacterium animalis* e 6,9 mg/l de cisteína.

[0073] Após a inoculação, a fermentação é feita a 38°C e seguida no CINAC® (YSEBAERT) até o pH de descamação ($4,3 < \text{pH} < 4,4$).

[0074] A descamação é feita por estiramento e resfriamento entre 10-20 °C, depois mistura.

[0075] O produto é, em seguida, empacotado em recipientes, depois colocado no túnel frio (4°C)

[0076] Contagens de populações são, em seguida, realizadas em 2 horas de armazenagem a 15°C, depois 2, 8, 14, 28 e 37 dias de armazenagem a 10°C.

Resultados

[0077] Os resultados são ilustrados para a tabela III abaixo, e pela figura 7, que representa o acompanhamento da população de bifidobactérias, em função de tempo.

[0078] Esses resultados mostram um efeito muito nítido da goma de acácia, e da associação goma de acácia + cisteína sobre o aumento das bifidobactérias. No caso da associação goma de acácia + cisteína, observa-se, além disso, um efeito particularmente nítido sobre a sobrevivência das bifidobactérias no decorrer da conservação.

	Teste de acácia	Teste 2 acácia + cisteína	Controle	Prova cisteína
Goma de acácia	0,8%	0,8%	0%	0%
Equivalente puro de cisteína	0 mg/l	6,9 mg/l	0 mg/l	6,9 mg/l
Bifidus inoculados	1,92 E + 7 UFC/g	1,67 E + 7 UFC/g	1,92 E + 7 UFC/g	1,67 E + 7 UFC/g
Número de bifidus em 2 h de armazenagem	2,3 E + 8 UFC/g	5,4 E + 8 UFC/g	1,3 E + 8 UFC/g	2,1 E + 8 UFC/g
Número de bifidus no D+2	1,0 E + 8 UFC/g	3,5 E + 8 UFC/g	ND	1,2 E + 8 UFC/g
Número de bifidus no D+8	2 E + 8 UFC/g	3,9 E + 8 UFC/g	1,3 E + 8 UFC/g	1,8 E + 8 UFC/g
Número de bifidus no D+14	1,2 E + 8 UFC/g	4,2 E + 8 UFC/g	6,9 E + 7 UFC/g	1,4 E + 8 UFC/g
Número de bifidus no D+28	5,2 E + 7 UFC/g	2,5 E + 8 UFC/g	3,9 E + 7 UFC/g	8,8 E + 7 UFC/g
Número de bifidus no D+37	4,4 E + 7 UFC/g	2,0 E + 8 UFC/g	3,2 E + 7 UFC/g	7,8 E + 7 UFC/g

ND: não determinado

[0079] A mesma experiência foi reproduzida com produto a 2,7% de proteínas, contendo 0,8% de goma de acácia, e inseminado com um fermento suplementado em cisteína, correspondendo ao acréscimo de $1,90 \cdot 10^7$ UFC/ml de *Bifidobacterium animalis* e 7 mg/l de cisteína.

[0080] Os resultados são ilustrados pela tabela IV.

[0081] Esses resultados confirmam o efeito da goma de acácia e sobretudo da associação goma de acácia + cisteína sobre a sobrevivência das bifidobactérias. 52 dias após a inoculação, as bifidobactérias que sobreviveram são, com efeito, duas vezes mais numerosas no produto adicionado de goma de acácia, e dez vezes mais numerosas no produto adicionado de goma de acácia e de cisteína do que no produto controle.

	Teste 3	Teste cisteína	Teste acácia	Controle
Goma de acácia	0,8%	0%	0,8%	0%
Equivalente puro de cisteína	7 mg/l	7 mg/l	0 mg/l	0 mg/l
Bifidus inoculados	1,90 E + 07 UFC/g	1,90 E + 07 UFC/g	1,90 E + 07 UFC/g	1,90 E + 07 UFC/g
Número de bifidus em D+2	4,70 E + 08 UFC/g	1,05 E + 08 UFC/g	1,50 E + 08 UFC/g	7,00 E + 07 UFC/g
Número de bifidus no D+8	2,50 E + 08 UFC/g	9,00 E + 07 UFC/g	1,00 E + 08 UFC/g	7,00 E + 07 UFC/g
Número de bifidus no D+14	3,40 E + 08 UFC/g	7,00 E + 07 UFC/g	5,00 E + 07 UFC/g	3,00 E + 07 UFC/g
Número de bifidus no D+21	2,40 E + 08 UFC/g	4,00 E + 07 UFC/g	6,00 E + 07 UFC/g	3,00 E + 07 UFC/g
Número de bifidus no D+28	1,20 E + 08 UFC/g	2,00 E + 07 UFC/g	3,00 E + 07 UFC/g	9,00 E + 06 UFC/g
Número de bifidus no D+35	1,00 E + 08 UFC/g	6,00 E + 06 UFC/g	1,00 E + 07 UFC/g	5,00 E + 06 UFC/g
Número de bifidus no D+52	3,00 E + 07 UFC/g	3,00 E + 06 UFC/g	6,00 E + 06 UFC/g	3,00 E + 06 UFC/g

Referências Bibliográficas

- Lian et al.; Survival of Bifidobacteria after spray-drying. International Journal of Food Microbiology, 2002, vol. 74, Nº 1/2, p. 79-86.
- Lian et al.; Viability of microencapsulated bifidobacteria in simulated gastric juice and bile solution. International Journal of Food Microbiology, 2003 vol. 86, nº 3, p. 293-301.
- Hsiao et al. 2004; Effect of packaging conditions and temperature on viability of microencapsulated bifidobacteria during storage. Journal of Science of Food and Agriculture, 2004, vol. 84, nº 2, p. 134-139.
- Desmond et al. 2002. Improved survival of Lactobacillus paracasei NFBC 338 in spray-dried powders containing gum acacia. Journal of Applied Microbiology, 2002, vol. 93, p. 1003-1011.
- Wyatt et al. 1986; A change in human faecal flora in response to inclusion of gum arabic in the diet. British Journal of Nutrition, 1986, vol. 55, nº 2, p. 261-266.
- Cherbut et al. 2003; Acacia gum is a bifidogenic dietary fibre with high digestive tolerance in healthy humans. Microbial Ecology in Health and Disease, 2003, vol. 15, nº 1, p. 43-50.
- Grand et al., 2003; Quantitative analysis and molecular identification of bifidobacteria strains in probiotic milk products. European Food Research and Technology, vol. 217, p. 90-92

REIVINDICAÇÕES

1. Processo para aumentar a viabilidade das bifidobactérias durante a conservação de um produto alimentício fresco fermentado, contendo uma ou várias cepas de *Bifidobacterium*, caracterizado pelo fato de que compreende a adição de goma arábica ao referido produto alimentício antes do final de seu empacotamento, e em que a concentração final da goma arábica no referido produto alimentício é de 0,1 a 3% em peso.

2. Processo de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que o referido produto alimentício contém adicionalmente uma ou várias cepas de bactérias ácido-lácticas diferentes da *Bifidobacterium*.

3. Processo, de acordo com a reivindicação 1 ou 2, caracterizado pelo fato de que compreende adicionalmente a adição de pelo menos um aminoácido sulfurado ao referido produto alimentício antes do final do seu empacotamento.

4. Processo de acordo com a reivindicação 3, caracterizado pelo fato de que o referido aminoácido sulfurado é cisteína.

5. Processo de acordo com a reivindicação 3 ou 4, caracterizado pelo fato de que o(s) aminoácido sulfurado(s) é(são) adicionados de maneira que sua concentração final seja de 5 até 50 mg/l.

6. Processo de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 5, caracterizado pelo fato de que compreende uma etapa de fermentação de um substrato alimentício apropriado por um fermento que compreende uma ou várias cepas de *Bifidobacterium* eventualmente associadas com pelo menos uma cepa de uma bactéria ácido-láctica diferente da *Bifidobacterium* e em que a fim de estimular o crescimento das referidas *Bifidobacterium*, a adição de pelo menos uma parte da quantidade total de goma arábica, e eventualmente pelo menos uma parte da quantidade total de aminoácido sulfurado é feita

antes da referida etapa de fermentação.

7. Processo de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 6, caracterizado pelo fato de que o referido produto fermentado contém pelo menos uma cepa de *Bifidobacterium animalis*.

8. Processo de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 7, caracterizado pelo fato de que as bactérias ácido-lácticas diferentes da *Bifidobacterium* compreendem uma ou várias cepas de *Streptococcus thermophilus* e uma ou várias cepas de *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgaricus*.

9. Produto alimentício fermentado, caracterizado pelo fato de que pode ser obtido por um processo como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 8.

10. Produto alimentício fermentado de acordo com a reivindicação 9, caracterizado pelo fato de que é um produto lácteo fermentado.

11. Produto alimentício fermentado de acordo com a reivindicação 9, caracterizado pelo fato de que é um produto à base de substrato vegetal fermentado.

12. Produto alimentício fermentado de acordo com a reivindicação 9, caracterizado pelo fato de que é um recheio a base de gordura.

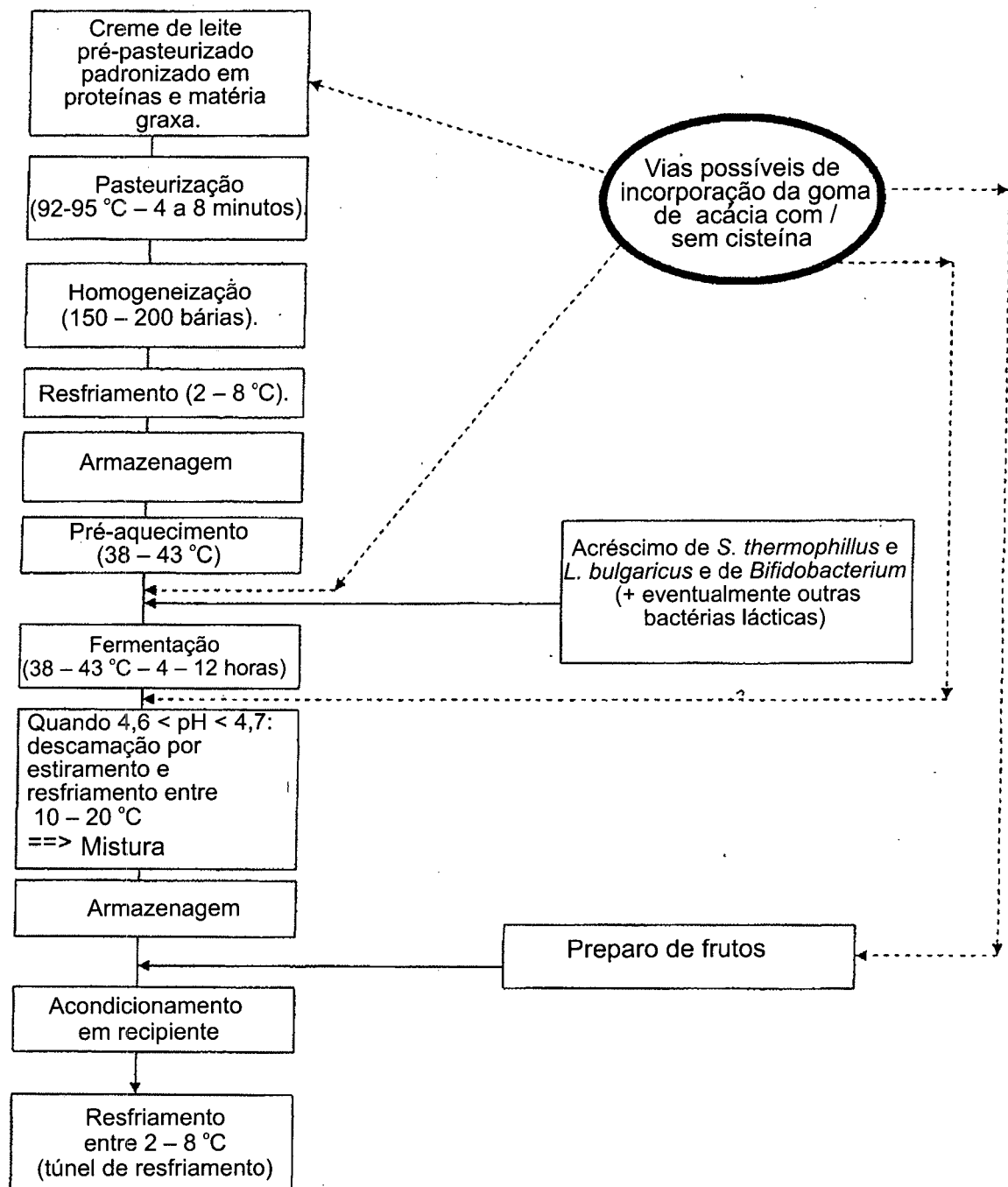


FIG. 1

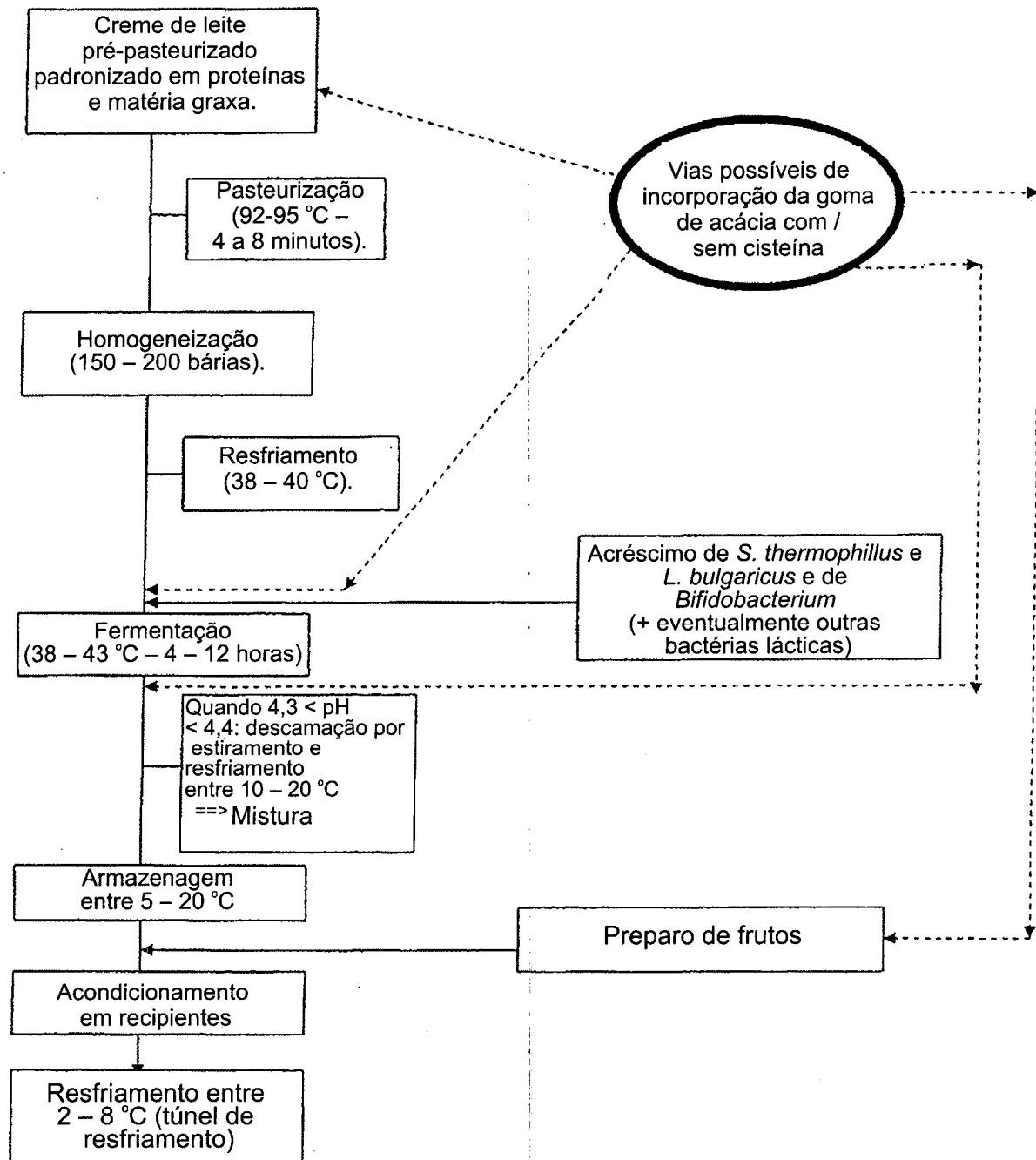


FIG. 2

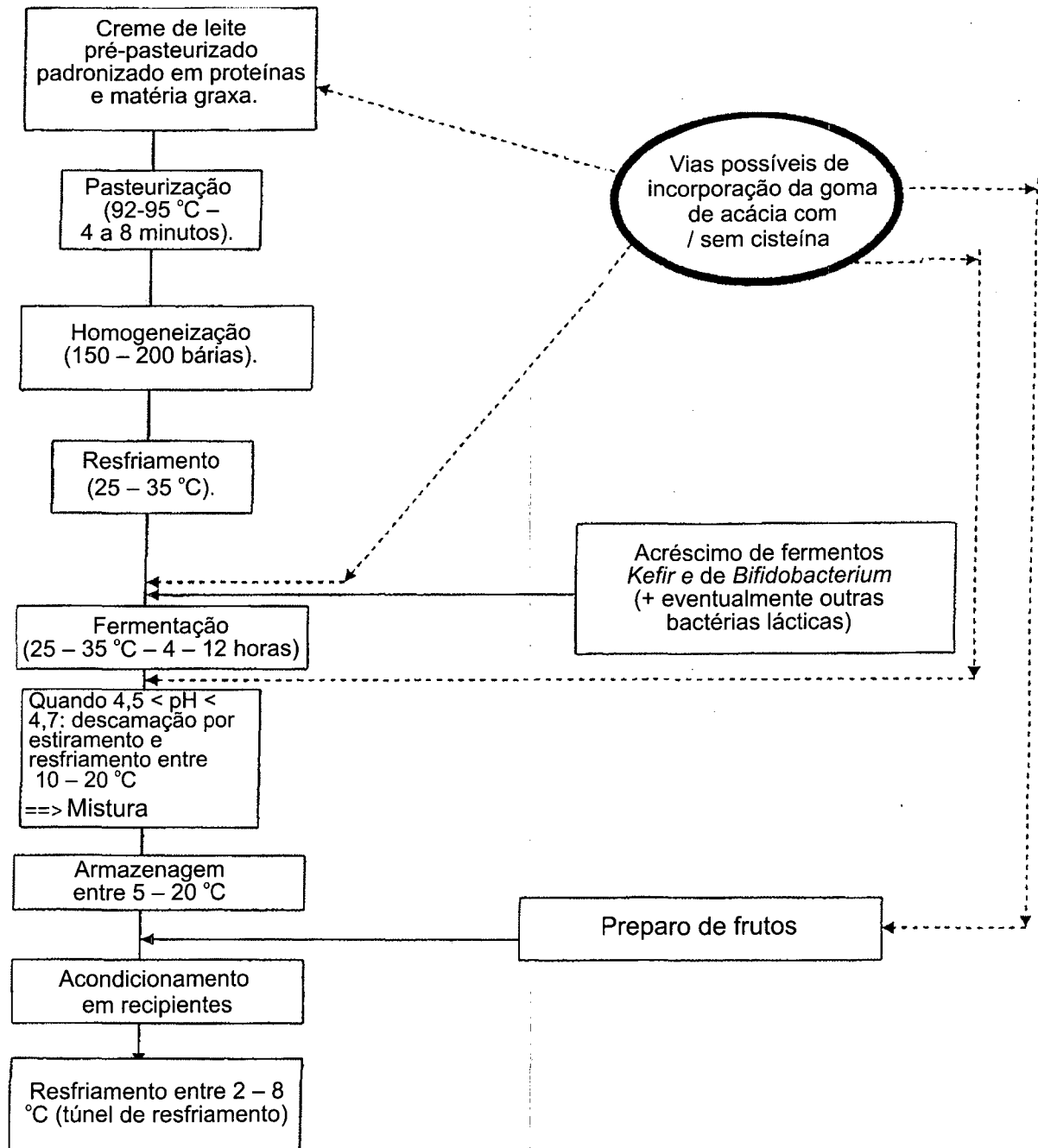


FIG. 3

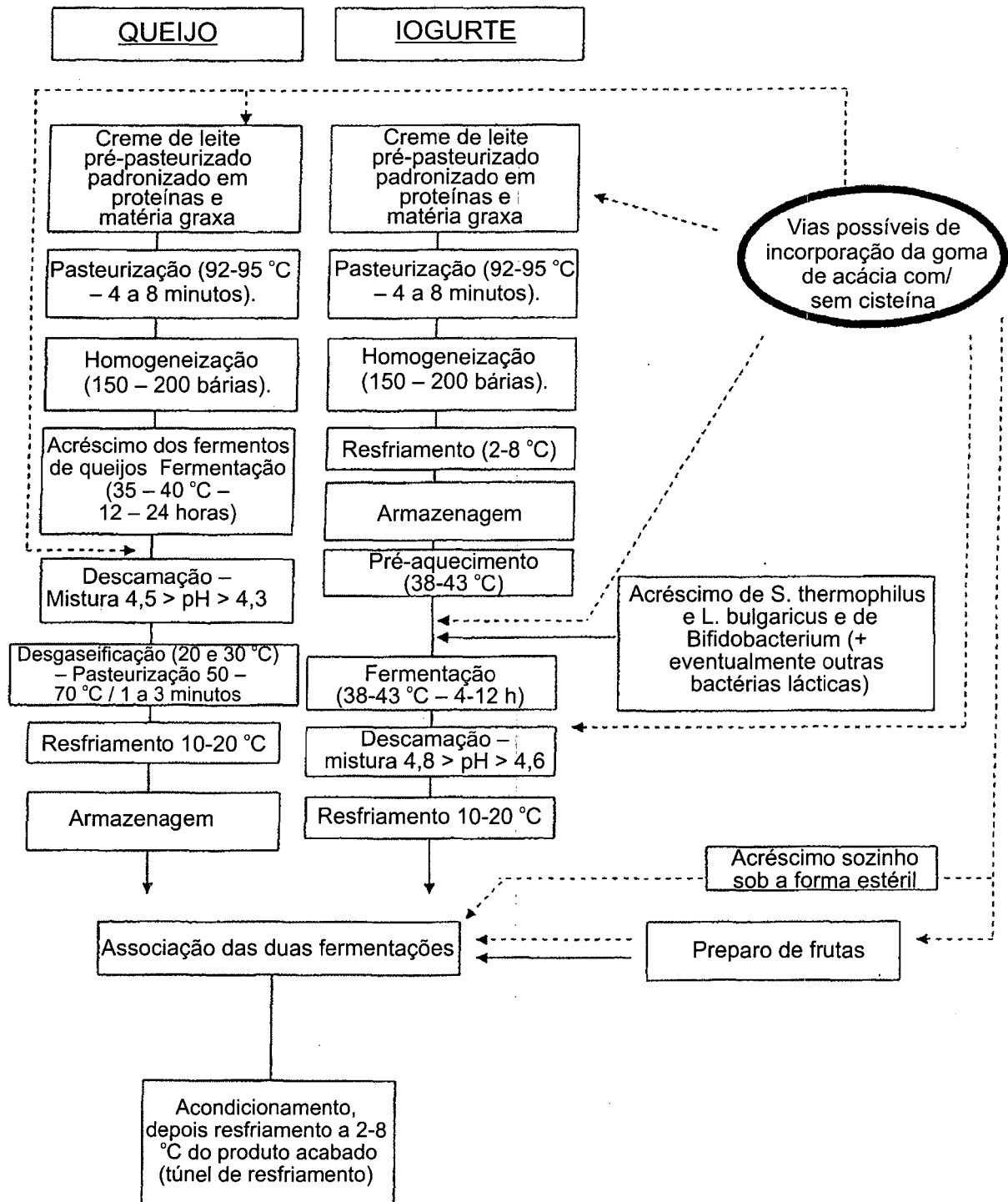


FIG. 4

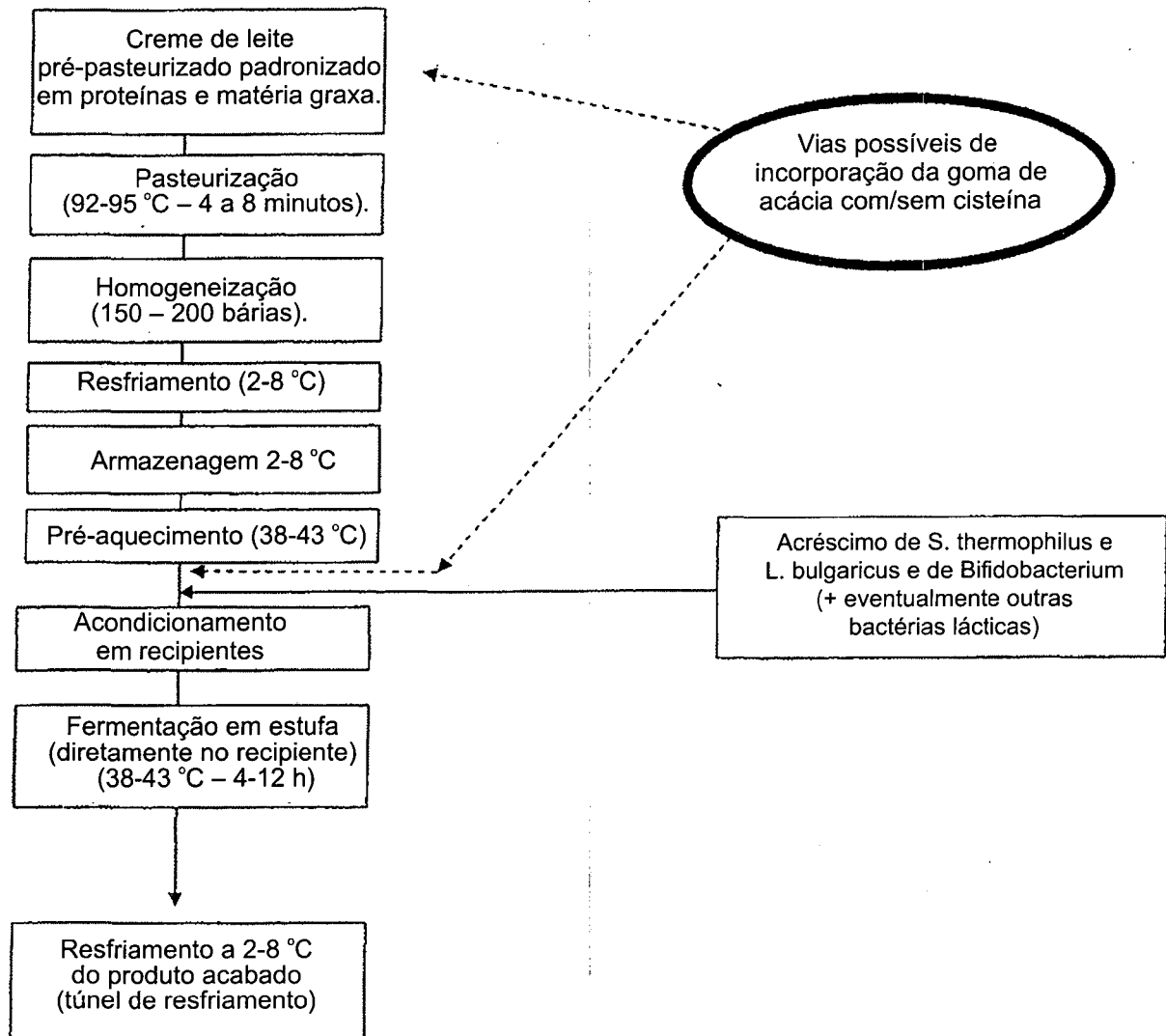


FIG. 5

Evolução em % da sobrevivência das bifidobactérias em um produto leiteiro fresco fermentado por *B. animalis* + *St. thermophilus* + *Lb. bulgaricus*

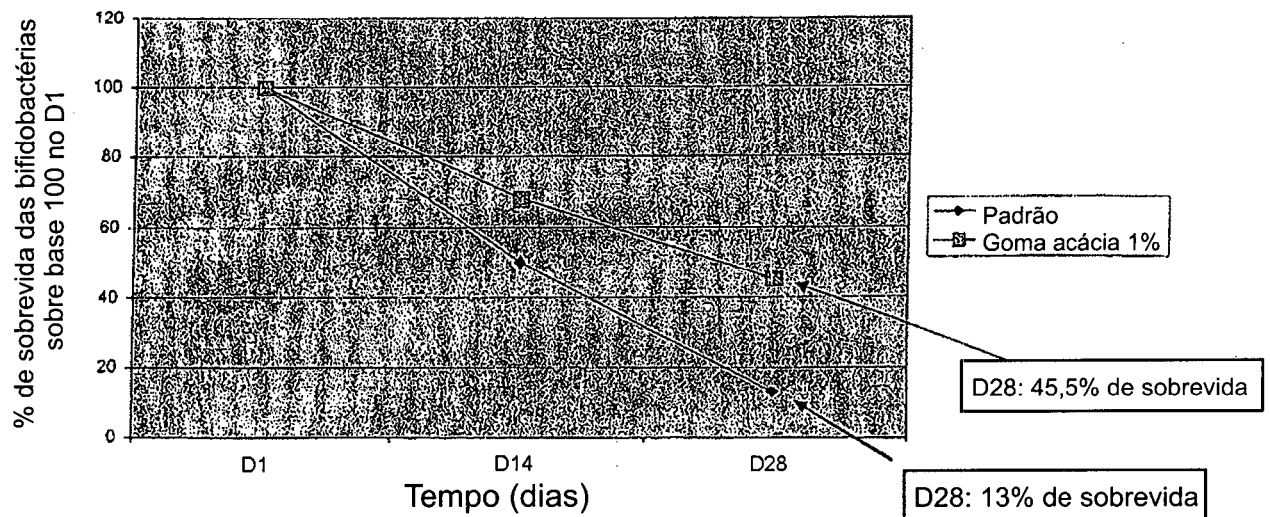


FIG. 6

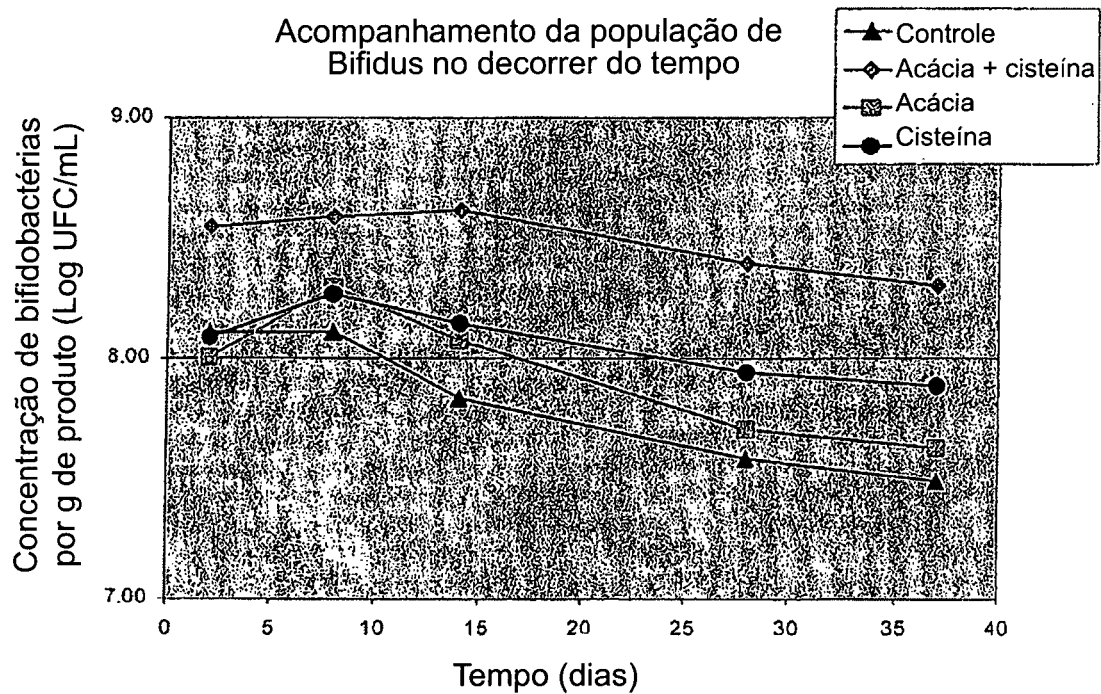


FIG. 7