



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

(21) **PI0613529-3 A2**

(22) Data de Depósito: 11/07/2006
(43) Data da Publicação: 18/01/2011
(RPI 2089)



(51) Int.Cl.:
A23C 9/123
A23C 9/12
A23L 1/211
A23L 1/238
A23B 7/10
A23C 11/10

(54) Título: **PRODUTOS ALIMENTÍCIOS
FERMENTADOS CONTENDO CEPAS PROBIÓTICAS
E SEU PROCEDIMENTO DE PREPARO**

(30) Prioridade Unionista: 13/07/2005 FR 0507528

(73) Titular(es): COMPAGNIE GERVAIS DANONE

(72) Inventor(es): FRANÇOIS DEBRU, JEAN-LUC BLACHON,
LUC TERRAGNO, PHILIPPE TESSIER, STÉPHANE HERVE

(74) Procurador(es): Tavares Propriedade Intelectual
Ltda

(86) Pedido Internacional: PCT FR2006001687 de 11/07/2006

(87) Publicação Internacional: WO 2007/006969 de 18/01/2007

(57) Resumo: PRODUTOS ALIMENTÍCIOS FERMENTADOS CONTENDO CEPAS PROBIÓTICAS E SEU PROCEDIMENTO DE PREPARO. A invenção diz respeito principalmente a um produto alimentício fermentado não sólido contendo fermentos que englobam cerca de $5 \cdot 10^7$, em particular mais do que aproximadamente 10^8 bifidobactérias por grama de produto alimentício fermentado durante um período de conservação de pelo menos 30 dias, em particular de pelo menos 35 dias.

Relatório Descritivo da Patente de Invenção
para “**PRODUTOS ALIMENTÍCIOS FERMENTADOS
CONTENDO CEPAS PROBIÓTICAS E SEU
PROCEDIMENTO DE PREPARO**”.

5 A invenção diz respeito a produtos alimentícios fermentados contendo cepas probióticas e seu procedimento de preparo.

As bifidobactérias fazem parte da flora anaeróbica dominante do cólon. As principais espécies presentes
10 no cólon humano são *Bifidobacterium adolescentis*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum ssp infantis*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium longum*.

As bifidobactérias são bactérias probióticas de seleção. As bactérias do gênero *Bifidobacterium* são utilizadas em
15 diversos produtos atualmente no mercado e são freqüentemente acrescentadas em produtos lácteos que já incluem as bactérias clássicas do iogurte (*Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus bulgaricus*).

O consumo de bifidobactérias é reconhecido
20 como sendo benéfico no processo de restabelecimento da população normal de bifidobactérias nas pessoas que sofreram uma terapia com antibiótico. Este consumo parece também permitir reduzir constipações, prevenir a continuidade de diarreia e diminuir os sintomas da intolerância à lactose.

25 As probióticas são bactérias vivas. A utilização destas bactérias vivas na fabricação de produtos alimentícios tais

como os produtos lácteos é delicada, especialmente com relação às problemáticas de sobrevivência destas bactérias no produto.

80% dos produtos atualmente no mercado que contêm bifidobactérias não respeitam os critérios que permitam sustentar que eles melhoram de forma significativa o trato intestinal das pessoas que os consomem. Uma ingestão diária de pelo menos 10^8 a 10^9 de células vivas foi recomendada como dose mínima que permite ter um efeito terapêutico (Silva A.M., Barbosa F.H., Duarte R., Vieira L.Q., Arantes R.M., Nicole J.R., Effect of Bifidobacterium longum ingestion on experimental salmonellosis in mice, J. Appl. Microbiol. 97 (2004) 29-37). A dose requerida pode depender da cepa probiótica utilizada.

No caso da fabricação de um produto alimentício bioativo que contém bifidobactérias ocorre então o problema de se obter uma população suficiente destas bactérias no produto e de mantê-la ao longo da “vida” do produto.

O problema do tamanho numérico da população de cepas probióticas em um produto fermentado é um problema conhecido (ver especialmente D. Roy, Technological aspects related to the use of bifidobacteria in dairy products, Lait 85 (2005) 29-56, INRA, EDP Sciences).

Diversos motivos foram evocados a este problema entre os quais a diminuição da população durante o armazenamento, o crescimento conturbado destas bactérias a partir de um determinado pH ou simplesmente a má capacidade de crescimento destas bifidobactérias, em particular no leite.

A invenção tem principalmente por objeto fornecer produtos alimentícios fermentados não sólidos contendo uma forte população de bifidobactérias durante todo o período de conservação dos referidos produtos alimentícios fermentados, ou
5 seja, produtos alimentícios fermentados não sólidos contendo bifidobactérias em bom estado fisiológico e apresentando uma taxa de sobrevivência importante ao longo do período de conservação dos referidos produtos alimentícios fermentados, em particular até a data limite de consumo dos produtos.

10 Uma outra finalidade da invenção é fornecer procedimentos de preparo simples a serem implementados para permitir a obtenção dos produtos acima.

Uma outra finalidade da invenção é favorecer o crescimento das bifidobactérias com relação às simbioses
15 clássicas apresentadas nos iogurtes, sendo estas simbioses constituídas classicamente por uma ou mais cepas de *Streptococcus thermophilus* e de *Lactobacillus bulgaricus*.

As finalidades da invenção são realizadas graças à constatação surpreendente efetuada pelos inventores de que uma
20 regulação precisa de um determinado número de parâmetros que interferem classicamente nos procedimentos de preparo de produtos alimentícios fermentados não sólidos permite obter rapidamente após fermentação população de pelo menos 10⁸ bifidobactérias por grama de produto e uma sobrevivência aumentada
25 das bifidobactérias até a data limite de consumo dos produtos,

sem obrigatoriamente modificar o crescimento das outras cepas bacterianas.

A invenção diz respeito a um produto alimentício fermentado não sólido contendo fermentos, os quais
5 contêm bactérias lácticas, comportando cerca de $5 \cdot 10^7$, em particular cerca de 10^8 bifidobactérias por grama de produto alimentício fermentado durante um período de conservação de pelo menos 30 dias, em particular de pelo menos 35 dias.

Por “produto alimentícios fermentado não
10 sólido” entende-se um produto alimentício fermentado que passou por uma etapa de retirada de coágulos e/ou alisamento quando de seu procedimento de preparo e isto antes de sua embalagem.

Um produto alimentício fermentado sólido é um produto que é acondicionado antes da fermentação, fermentação
15 esta que ocorre em um recipiente de acondicionamento. Assim, para o produto lácteo, o leite é levedado e diretamente acondicionado nos frascos onde ele fermenta. Após semeadura, o leite levedado é acondicionado em frascos. Estes frascos passam, em geral, para a estufa durante 3 horas. As bactérias se
20 reproduzem e consomem a lactose que então é transformada parcialmente em ácido láctico, o que modifica a estrutura das proteínas, formando o que chamamos um gel lácteo. Depois estes produtos passam para uma câmara fria ventilada ou um túnel de resfriamento e são armazenados a aproximadamente $4\text{ }^{\circ}\text{C}$.

25 Exemplos de produtos alimentícios fermentados não sólidos são: os iogurtes batidos ou os iogurtes para beber.

Por “fermentos” entendemos um conjunto de bactérias, especialmente bactérias destinadas à fermentação e/ou bactérias com valor probiótico.

O período de conservação ou de armazenamento do produto alimentício fermentado é o período imediatamente posterior ao término do processo de preparo do produto alimentício fermentado e sua embalagem. Quando deste período de conservação, o produto alimentício fermentado é habitualmente conservado a uma temperatura compreendida entre aproximadamente 4 e 10 °C.

O produto alimentício fermentado acima mencionado contém cerca de $5 \cdot 10^7$, em particular cerca de 10^8 bifidobactérias por grama de produto alimentício fermentado, em particular durante um período de conservação de pelo menos 35 dias e mais particularmente durante um período de conservação de pelo menos 40 dias. Mais particularmente, o produto alimentício fermentado acima mencionado contém cerca de $5 \cdot 10^7$, em particular cerca de 10^8 bifidobactérias por grama de produto alimentício fermentado até a data limite de consumo do produto.

As datas limites de consumo dependem das durações legais de conservação fixadas pela legislação em vigor, que podem tipicamente variar de 15 a 50 dias, a partir da data de fabricação. A título de exemplo, a duração legal de conservação é geralmente de 30 dias para os produtos lácteos frescos.

Uma população de bifidobactérias que seja superior ou igual a 10^8 UFC/g na data limite de consumo (D.L.C.)

do produto conservado entre 4 e 10° C pode ser considerada como uma população suficiente de bifidobactérias, considerando as recomendações médicas relativas ao aporte em bifidobactérias na alimentação.

5 A invenção diz respeito, mais particularmente, ao produto alimentício fermentado tal como definido acima, no qual a relação entre o número de bifidobactérias contidas no produto alimentício fermentado após o período de conservação e o número de bifidobactérias contidas no produto alimentício no
10 início do período de conservação de pelo menos 30 dias, em particular de pelo menos 35 dias, é de cerca de 0,2 a aproximadamente 0,8, em particular de cerca de 0,3 a aproximadamente 0,7, em particular de cerca de 0,4 a aproximadamente 0,5.

15 Em outras palavras, a taxa de sobrevivência das bifidobactérias contidas no produto alimentício fermentado entre o início do período de conservação (ou seja, o término do procedimento de preparo) e o término do período de conservação está compreendido entre 20 e 80%, em particular entre 30 e 70%
20 e, em particular, entre 40 e 50%.

O referido período de conservação é de pelo menos 30 dias, em particular de pelo menos 35 dias, mais particularmente de pelo menos 40 dias ou se estende até a data limite de consumo do produto alimentício fermentado.

25 A invenção diz respeito igualmente a um produto alimentício fermentado não sólido conservado durante

um período de conservação de pelo menos 30 dias, em particular de pelo menos 35 dias, a uma temperatura de cerca de 4 a aproximadamente 10 °C, contendo fermentos comportando mais de aproximadamente 10^8 bifidobactérias por grama de produto alimentício fermentado.

Mais particularmente, a invenção diz respeito a um produto alimentício fermentado não sólido conservado durante um período de conservação de pelo menos 30 dias, em particular de pelo menos 35 dias, em particular de pelo menos 40 dias, a uma temperatura de pelo menos 12 °C ou de pelo menos 10° C, contendo fermentos com cerca de $5 \cdot 10^7$, em particular cerca de 10^8 bifidobactérias por grama de produto alimentício fermentado.

A invenção diz respeito, mais particularmente, a um produto alimentício fermentado tal como definido acima, contendo cerca de $5 \cdot 10^7$, em particular cerca de 10^8 bifidobactérias por grama de produto alimentício fermentado no início do período de conservação.

Produto alimentício fermentado de acordo com uma das reivindicações 1 a 4, no qual as bifidobactérias contidas no produto alimentício fermentado são do tipo *Bifidobacterium animalis*, especialmente *Bifidobacterium animalis animalis* e/ou *Bifidobacterium animalis lactis* e/ou *Bifidobacterium breve* e/ou *Bifidobacterium longum* e/ou *Bifidobacterium infantis* e/ou *Bifidobacterium bifidum*.

Vantajosamente, o produto alimentício fermentado tal como definido acima é preparado à base de sumo vegetal e particularmente de suco de fruta ou de sumo de legume, tal como de suco de soja, ou de produto lácteo, e, particularmente, de leite de vaca e/ou de leite de cabra.

O referido produto alimentício fermentado pode igualmente ser à base de leite de ovelha ou de leite de camelo ou de leite de égua.

Por sumo vegetal entende-se um sumo realizado a partir de extratos vegetais, particularmente de soja, de tonyu, de aveia, de trigo, de milho...

Exemplos de sumos de legume são: o sumo de tomate, o sumo de beterraba, o sumo de cenoura...

Exemplos de sumos de fruta são: o sumo de maçã, de laranja, de morango, de pêsego, de abricó, de ameixa, de framboesa, de amora, de groselha, de abacaxi, de limão, de agrumes, de manga, de banana, de kiwi, de pêra, de cereja, de maracujá, de fruta exótica, o sumo multifrutas...

De acordo com o modo de realização benéfico, o produto alimentício fermentado tal como definido acima é tal que os fermentos contêm bactérias lácticas, em particular um ou mais bactérias do género *Lactobacillus spp.* e especialmente *Lactobacillus delbrueckii bulgaricus* e/ou *Lactobacillus casei* e/ou *Lactobacillus reuteri* e/ou *Lactobacillus acidophilus* e/ou *Lactobacillus helveticus* e/ou *Lactobacillus plantarum* e/ou bactérias do tipo *Lactococcus cremoris* e/ou *Streptococcus*

thermophilus e/ou *Lactococcus lactis* e/ou uma ou mais bactérias do gênero *Leuconostoc*.

De acordo com um modo de realização benéfico, o produto alimentício fermentado tal como definido
5 acima é tal que os fermentos contêm bactérias lácticas que apresentam entre elas um fenômeno simbiótico.

Por “fenômeno simbiótico” entende-se uma relação entre diferentes tipos de bactérias lácticas que são capazes de criar uma assistência mútua entre elas e de aumentar suas
10 atividades de fermentação.

De acordo com um modo de realização benéfico, a proporção das bifidobactérias nos fermentos contidos no produto alimentício fermentado tal como definido acima é de cerca de 20 a aproximadamente 80%, particularmente de cerca de
15 30 a aproximadamente 70%, particularmente de cerca de 40 a aproximadamente 60% e particularmente de cerca de 50%.

Por “produção de bifidobactérias nos fermentos”, entende-se a proporção das bifidobactérias com relação ao número total de bactérias incluídas no produto
20 alimentício fermentado, ou seja, com relação à totalidade das bifidobactérias e das outras bactérias, particularmente as bactérias *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*...

O bom equilíbrio numérico entre as bifidobactérias e as outras cepas bacterianas no produto
25 alimentício fermentado após o procedimento de preparo e a manutenção substancial deste equilíbrio durante o período de

conservação são os fatores que essencialmente garantem a qualidade do produto alimentício.

Uma proporção de 50% de bifidobactérias constitui um bom compromisso entre as problemáticas de custo (as bifidobactérias custam caro) e as problemáticas de obtenção de uma população correta de bifidobactérias.

De acordo com um modo de realização particular, o produto alimentício fermentado conforme a invenção se apresenta sob a forma de um produto alimentício fermentado batido ou de um produto alimentício fermentado para beber ou de um produto alimentício fermentado infantil.

Por “produto [...] batido” entende-se um produto, particularmente um lei, levedado, fermentado, misturado mecanicamente depois acondicionado. A fermentação de tal produto não é efetuada em frasco mais em mistura, em cubas. O leite coalhado é batido depois resfriado antes de ser acondicionado em potes, que são armazenados no frio. Por coalhada entende-se uma massa sólida de proteínas especialmente de leite.

Por “produto [...] para beber” entende-se um produto em forma substancialmente líquida. Um produto para beber é um produto tal que, após a etapa de fermentação mecânica, o produto é batido nas cubas antes de ser embalado.

Por “produto [...] infantil” entende-se um produto adaptado às necessidades de alimentação, com fraco teor de proteínas e gordura.

O referido produto alimentício fermentado pode ser particularmente um iogurte ou iogurte sólido, batido ou para beber ou uma barra contendo a matéria láctea, kefir, um biscoito com camada láctea, uma água contendo probióticos...

5 Além disto, a invenção se refere igualmente a um procedimento de preparo de um produto alimentício fermentado a partir de uma matéria de partida, comportando as seguintes etapas sucessivas:

- uma etapa de germinação de uma matéria de
10 partida, eventualmente pasteurizada, por inoculação de fermentos de germinação contendo cerca de $4 \cdot 10^6$ a aproximadamente $1 \cdot 10^7$ bifidobactérias por ml de partida, para obter uma matéria levedada,

- uma etapa de fermentação da matéria levedada
15 obtida na etapa precedente, de forma que a temperatura de início de fermentação seja de cerca de 36 a aproximadamente 38 °C, a temperatura de fim de fermentação seja de cerca de 37 a aproximadamente 39 °C e o tempo de fermentação seja de cerca de 8 a aproximadamente 11 horas, para obter uma matéria
20 fermentada,

- uma etapa de resfriamento intermediário da
matéria fermentada obtida na etapa precedente, de forma que o
tempo de resfriamento intermediário é de cerca de 1:30 h a
aproximadamente 2 horas e a temperatura de resfriamento
25 intermediário é de cerca de 4 a aproximadamente 18 °C para obter
uma matéria pré-resfriada,

- uma etapa de armazenamento da matéria pré-resfriada obtida na etapa precedente, de forma que o tempo de armazenamento seja inferior a aproximadamente 15 horas, para obter uma matéria armazenada,

5 - uma etapa de resfriamento final da matéria armazenada obtida na etapa precedente, de forma que a temperatura de início de resfriamento final seja inferior a aproximadamente 21 °C e a temperatura de término de resfriamento final seja de cerca de e a aproximadamente 6 °C para
10 obter um produto alimentício fermentado.

Os fermentos utilizados para levedar a matéria de partida são geralmente obtidos pelo crescimento de bifidobactérias em um meio de cultura e em condições tais que quando a população de bifidobactérias chegar à confluência, ele
15 contenha 10^8 a 10^9 bifidobactérias por ml de meio de cultura. Verifica-se então que de acordo com a invenção, a quantidade de fermentos utilizada no início corresponde a aproximadamente 0,1% da dose de bifidobactérias classicamente utilizada.

Por “fermentação” entende-se uma reação
20 bioquímica que consistem em liberar energia a partir de um substrato orgânico, sob a ação de microorganismos. Trata-se de um procedimento de transformação de uma matéria-prima pelos microorganismos, transformação esta que produz então a biomassa e os metabólitos. Em particular, a fermentação láctica é
25 um processo anaeróbico de consumo da lactose pelas bactérias

dos fermentos, o que provoca a formação de ácido lático e uma diminuição do pH.

A invenção se origina da constatação surpreendente efetuada pelos inventores que a regulação dos parâmetros de tempo, de temperatura e de população inicial de bifidobactérias nas gamas acima citadas permite melhorar a resistência das bifidobactérias e sua capacidade de sobreviver. As bifidobactérias contidas no produto alimentício fermentado após o procedimento de preparo da invenção ficam em um melhor estado fisiológico que se os referidos parâmetros fossem fixados em valores situados fora das gamas acima, o que permite a um maior número destas bifidobactérias sobreviver durante a conservação do produto alimentício fermentado que segue.

Além disto, a regulação dos referidos parâmetros nas gamas acima referidas permite economias substanciais, especialmente de tempo e de energia.

Descartando-se as gamas fixadas segundo a invenção, a taxa de sobrevivência das bifidobactérias durante a conservação é desfavoravelmente alterada.

O procedimento de preparo acima mencionado permite a obtenção de produtos alimentícios fermentados não sólidos.

De forma benéfica, os fermentos contêm bactérias lácticas.

De acordo com um modo de realização particular, o procedimento de preparo de um produto alimentício

fermentado segundo a invenção é tal que as bifidobactérias são selecionadas dentre as bactérias do tipo *Bifidobacterium animalis*, particularmente *Bifidobacterium animalis animalis* e/ou *Bifidobacterium animalis lactis* e/ou *Bifidobacterium breve* e/ou
5 *Bifidobacterium longum* e/ou *Bifidobacterium infantis* e/ou *Bifidobacterium bifidum*.

De acordo com um modo de realização particular, o procedimento de preparo de um produto alimentício fermentado segundo a invenção é tal que as bifidobactérias são
10 selecionadas dentre as bactérias do tipo *Bifidobacterium animalis*.

Vantajosamente, o tempo de resfriamento intermediário no procedimento de preparo de um produto alimentício fermentado segundo a invenção é de cerca de 1:30 h.

Vantajosamente, o tempo de armazenamento no
15 procedimento de preparo de um produto alimentício fermentado segundo a invenção é inferior ou igual a aproximadamente 12 horas, particularmente é igual a aproximadamente 12 horas.

Vantajosamente, a temperatura de fim de resfriamento final no procedimento de preparo de um produto
20 alimentício fermentado segundo a invenção é de cerca de 4° C.

De acordo com o modo de realização particular do procedimento de preparo de um produto alimentício tal como definido acima, os fermentos de germinação contêm bactérias lácticas, em particular uma ou mais bactérias do gênero
25 *Lactobacillus spp.* e particularmente *Lactobacillus delbrueckii bulgaricus* e/ou *Lactobacillus casei* e/ou *Lactobacillus reuteri*

e/ou *Lactobacillus acidophilus* e/ou *Lactobacillus helveticus* e/ou *Lactobacillus plantarum* e/ou bactérias do tipo *Lactococcus cremoris* e/ou *Streptococcus thermophilus* e/ou *Lactococcus lactis* e/ou uma ou mais bactérias do gênero *Leuconostoc*.

5 De forma benéfica, as bactérias lácticas apresentam entre elas um fenômeno simbiótico.

De acordo com um modo de realização particular do procedimento de preparo de um produto alimentício tal como definido acima, a proporção das bifidobactérias nos
10 fermentos de germinação é de cerca de 20 a 75%, particularmente de cerca de 30 a 50%, particularmente de cerca de 35 a 40%, particularmente de cerca de 37,5%.

Por “proporção das bifidobactérias nos fermentos de germinação” entende-se a proporção das
15 bifidobactérias com relação à totalidade das bactérias inoculadas quando da etapa de germinação.

Esta proporção corresponde à uma otimização em termos de custo e de concentração final de bifidobactérias, considerando que quanto mais a concentração de bifidobactérias
20 aumenta no início, mais elas ganham a competição em termos de crescimento com relação às outras cepas dos fermentos, e mais a concentração ótima de bifidobactérias é alcançada rapidamente.

De acordo com um modo de realização particular do procedimento de preparo de um produto alimentício
25 tal como definido acima, a matéria de partida é à base de sumo vegetal e especialmente de sumo de fruta ou de legume, tal como

de soja, ou de produto lácteo, constituído em particular por leite de vaca e/ou leite de cabra.

A matéria de partida pode igualmente conter leite de ovelha e/ou de camelo e/ou de égua.

5 Caso o produto alimentício fermentado seja um produto lácteo, a matéria de partida pode conter leite, leite em pó, açúcar, mistura de leite e de sumo vegetal, mistura de leite e de sumo de fruta, mistura de leite e de amido.

Conforme um modo de realização particular, o
10 procedimento de preparo de um produto alimentício fermentado nos termos da invenção comporta uma etapa suplementar de misturação entre a etapa de fermentação e a etapa de resfriamento intermediário, permitindo obter, a partir da matéria fermentada obtida na etapa de fermentação, uma matéria fermentada
15 levedada.

Por “misturação” entende-se um procedimento de agitação mecânica com a ajuda de um misturador com turbina ou com hélice. Trata-se de uma etapa determinante para a untuosidade do produto, particularmente o lácteo. Se a misturação
20 for muito violenta, pode-se produzir uma incorporação de ar e uma separação do soro. Se a misturação for insuficiente, produz nele o risco de se tornar posteriormente muito espesso.

De acordo com um modo de realização particular, o procedimento de preparo de um produto alimentício
25 fermentado conforme a invenção comporta uma etapa de

pasteurização antes da etapa de fermentação, permitindo obter, a partir da matéria de partida, uma matéria de partida pasteurizada.

Por “pasteurização” entende-se o método usual no campo da conservação dos alimentos que consiste em um aquecimento rápido sem ferver, acompanhado de um resfriamento brusco, o que permite a destruição da maioria das bactérias, conservando parcialmente as proteínas.

Conforme um modo de realização benéfico do procedimento de preparo de um produto alimentício fermentado de acordo com a invenção, a matéria de partida pasteurizada é uma matéria de partida pasteurizada, reaquecida, facultativamente homogeneizada, e resfriada, obtida a partir de uma matéria bruta, contendo o referido procedimento antes da etapa de fermentação as seguintes etapas sucessivas:

- uma etapa de padronização em matéria gordurosa da matéria bruta de forma a obter uma matéria padronizada,

- uma etapa de enriquecimento em matéria seca da matéria padronizada obtida na etapa precedente, de forma a obter uma matéria enriquecida,

- uma etapa de pré-aquecimento da matéria enriquecida obtida na etapa precedente, de forma a obter uma matéria de partida,

- uma etapa de pasteurização e de reaquecimento da matéria de partida obtida na etapa precedente, de forma a obter uma matéria pasteurizada e reaquecida,

- uma etapa facultativa de homogeneização da matéria pasteurizada e reaquecida obtida na etapa precedente, de forma a obter uma matéria pasteurizada, reaquecida e facultativamente homogeneizada,

5 - uma etapa de resfriamento inicial da matéria pasteurizada, reaquecida e facultativamente homogeneizada obtida na etapa precedente, de forma a obter uma matéria de partida pasteurizada, reaquecida, facultativamente homogeneizada e resfriada.

10 Por “padronização em matéria gordurosa” entende-se uma etapa de colocação em nível pré-determinado da quantidade da matéria gordurosa presente na matéria de partida.

O enriquecimento em matéria seca consiste no acréscimo de proteínas e de matéria gordurosa para modificar a
15 firmeza do coalho.

O reaquecimento consiste em um aquecimento rápido do leite e permite destruir a flora microbiana vegetativa, sendo as formas patogênicas. Sua duração típica é de 4 a 10 minutos, particularmente de 5 a 8 minutos, e particularmente de
20 cerca de 6 minutos.

Por “homogeneização” entende-se a dispersão da matéria gordurosa na matéria de tipo leite em pequenos glóbulos gordurosos. A homogeneização é efetuada por exemplo em uma pressão de 100 a 280 bar, especialmente de 100 a 250
25 bar, especialmente de 100 a 200 bar, especialmente de aproximadamente 200 bar. Esta etapa de homogeneização é

meramente facultativa. Ela está particularmente ausente no processo de produção de produtos com 0% de matéria gordurosa.

Conforme um modo de realização benéfico, o procedimento de preparação de um produto alimentício fermentado de acordo com a invenção comporta após a etapa de resfriamento final, uma etapa de conservação do produto alimentício fermentado a uma temperatura compreendida entre aproximadamente 4 e 10 °C.

De acordo com um modo de realização benéfico, o procedimento de preparação de um produto alimentício fermentado conforme a invenção comporta uma etapa de acréscimo de uma preparação intermediária simultaneamente à etapa de germinação ou entre a etapa de germinação e a etapa de fermentação, de forma a obter, a partir da matéria levedada, uma matéria levedada completada, ou após a etapa de fermentação, de forma a obter, a partir da matéria fermentada, uma matéria fermentada completada, a referida preparação intermediária contendo uma preparação de frutas e/ou de cereais e/ou de aditivos tais como aromas e corantes.

A preparação intermediária pode particularmente ser engrossada (fibras solúveis e insolúveis, alginatos, carragenanos, goma xantana, pectina, amido, particularmente em forma de gelatina, goma gelana, celulose e seus derivados, goma de guar e de carouba, inulina) ou edulcorantes (aspartame, acesulfame K, sacarina, sacarose, ciclamato) ou conservantes.

Exemplos de aromas são: o aroma de maçã, laranja, morango, kiwi, coco...

Exemplos de corantes são: o beta caroteno, o carmim, o vermelho de cochonilha.

5 Além disto, o preparo de frutas acima referido pode conter frutas inteiras ou em pedaços ou em geléia ou em compota, permitindo, por exemplo, obter iogurtes com frutas.

A preparação intermediária pode ainda conter extratos vegetais (soja, arroz...).

10 A invenção diz respeito igualmente a um produto alimentício fermentado tal como obtido a partir de um dos procedimentos definidos acima.

Breve descrição das figuras

15 A **figura 1** representa a carta de tolerância correspondente ao efeito da temperatura de fermentação em função da quantidade de bifidobactérias no início.

20 Abscissa: quantidade de bifidobactérias inoculadas em 10^7 CFU/ml; coordenada: temperatura de fermentação em grau Celsius. Negro: quantidade de bifidobactérias inferior a $5 \cdot 10^7$ CFU/ml; sombras finas: quantidade de bifidobactérias compreendida entre $5 \cdot 10^7$ e 10^8 CFU/ml; sombras espessas: quantidade de bifidobactérias superior a 10^8 CFU/ml. A medida é efetuada em final de fermentação.

25 A **figura 2** representa a carta de tolerância correspondente ao efeito da temperatura de resfriamento

dos produtos antes do armazenamento final a 10 °C em função do tempo de espera antes do resfriamento a 20 °C. Abscissa: tempo de espera do alisamento (em horas); coordenada: temperatura de resfriamento antes do armazenamento final (em °C). Sombras finas: quantidade de bifidobactérias compreendida entre $5 \cdot 10^7$ e 10^8 CFU/ml; sombras espessas: quantidade de bifidobactérias superior a 10^8 CFU/ml. A medida é efetuada 35 dias após a fermentação.

10 A **figura 3** representa a carta de tolerância correspondente ao efeito da temperatura de resfriamento dos produtos antes do armazenamento final a 10° C em função da temperatura de fermentação. Abscissa: temperatura de fermentação (°C); coordenada: temperatura de resfriamento quando do armazenamento final (°C). Preto: quantidade de bifidobactérias inferior a $5 \cdot 10^7$ CFU/ml; sombras finas: quantidade de bifidobactérias compreendida entre $5 \cdot 10^7$ e 10^8 CFU/ml; sombras espessas: quantidade de bifidobactérias superior a 10^8 CFU/ml. A
15 medida é efetuada 35 dias após a fermentação.
20

Exemplo 1

Para comprovar que as gamas de diferentes parâmetros tais como definidos acima correspondem a uma otimização frente à sobrevivência das bifidobactérias durante a
25 conservação, preparamos um iogurte batido padrão, fazendo variar cada fator independentemente. Cada fator é testado em um

nível baixo (observado -1), um nível médio (observado 0) e um nível alto (observado +1). A lista dos parâmetros testados consta no quadro 1 abaixo:

Quadro 1

	Fatores	Nível baixo (-1)	Nível médio (0)	Nível alto (+1)
crescimento do bifido	Inoculação de bifidobactérias	10^6 CFU/ml	10^7 CFU/ml	5.10^7 CFU/ml
	Tempo de fermentação	6,5 h	8,25 h	10 h
	Temperatura de fermentação	36° C	38° C	40° C
Sobrevida do bifido	Tempo de espera Alisamento após a fermentação	0,33 h	1 h	2,5 h
	Temperatura de resfriamento (alisamento)	15° C	17,5° C	20° C
	Tempo de armazenamento tampão após alisamento	1 h	12 h	20 h
	Temperatura de acondicionamento	15° C	17,5° C	20° C
	Temperatura de resfriamento – armazenamento dos produtos	4° C	7° C	10° C

5

A partir das diferentes experimentações, fazemos a correlação dos fatores e estabelecemos as cartas de tolerância frente ao crescimento e a sobrevida das bifidobactérias,

que correspondem às projeções das quantidades de bifidobactérias obtidas para cada parâmetro: ver figuras 1 a 3.

Em particular, na figura 2 constatamos que se os produtos não forem resfriados rapidamente de forma suficiente (tempo de espera em cuba de fermentação muito elevado), há uma perda de bifidobactérias. Na figura 3, constatamos que se os produtos não forem resfriados corretamente entre 4° e 6° C, a perda em bifidobactérias a J+35 é importante.

Exemplo 2

10 Testes industriais são efetuados em 3000 litros.

1° grupo de testes:

Controle 1: temperatura de fermentação 39° C;
tempo de armazenamento 24 h.

Controle 2: temperatura de fermentação 40° C.

15 Teste 1: Temperatura de fermentação 37° C,
resfriamento 6° C.

(controle 1 + controle 2: leite + leite em pó)

2° grupo de testes:

Controle 3: temperatura de fermentação 39° C.

20 Controle 4: temperatura de fermentação 40° C.

Teste 2: todos os parâmetros são selecionados nas gamas reivindicadas, ou seja:

Inoculação de bifidobactérias: $1 \cdot 10^7$ UFC/ml;

Tempo de fermentação: 9:40 h

25 Temperatura de fermentação: 37° C

Tempo de resfriamento intermediário: 1:30 h

Temperatura de armazenagem tampão após alisamento: 12 h;

Temperatura de resfriamento final: 6° C.

(Controle 3 e controle 4: leite + leite em pó +
5 preparo de frutas acrescentado ao final da fabricação).

Os resultados são apresentados nos quadros 2 e 3 abaixo, onde está indicada a população de bifidobactérias em CFU/ml.

Quadro 2

	Fim fermentação	J + 1	J + 21	J + 35
Controle 1	$1,0 \cdot 10^8$	$1,0 \cdot 10^8$	$5,0 \cdot 10^7$	$3,0 \cdot 10^7$
Controle 2	$3,0 \cdot 10^7$	$6,0 \cdot 10^7$	$3,0 \cdot 10^7$	$3,0 \cdot 10^7$
Teste 1	$1,7 \cdot 10^8$	$1,7 \cdot 10^8$	$2,0 \cdot 10^8$	$1,4 \cdot 10^8$

10

Quadro 3

	Fim fermentação	J + 1	J + 35
Controle 3	$1,9 \cdot 10^8$	$1,5 \cdot 10^8$	$7,0 \cdot 10^7$
Controle 4	$2,0 \cdot 10^7$	$2,0 \cdot 10^7$	$2,0 \cdot 10^7$
Teste 2	$5,0 \cdot 10^8$	$3,8 \cdot 10^8$	$2,1 \cdot 10^8$

Nestes quadros, J corresponde ao término da fermentação, J + 1 corresponde a 1 dia de armazenamento.

REIVINDICAÇÕES

1. Produto alimentício fermentado não sólido contendo fermentos, CARACTERIZADO pelo fato de que contêm bactérias lácticas, comportando mais de aproximadamente 5.10⁷, em particular mais de aproximadamente 10⁸ bifidobactérias por grama de produto alimentício fermentado durante um período de conservação de pelo menos 30 dias, em particular de pelo menos 35 dias.

2. Produto alimentar fermentado de acordo com a reivindicação 1, CARACTERIZADO pelo fato de que a relação entre o número de bifidobactérias contidas no produto alimentício fermentado após o período de conservação e o número de bifidobactérias contidas no produto alimentício fermentado no início do período de conservação de pelo menos 30 dias, em particular de pelo menos 35 dias, é de cerca de 0,2 a 0,8, em particular de cerca de 0,3 a 0,7, em particular de cerca de 0,4 a 0,5.

3. Produto alimentício fermentado não sólido CARACTERIZADO pelo fato de que é conservado durante um período de conservação de pelo menos 30 dias, em particular de pelo menos 35 dias, a uma temperatura de cerca de 4 a 10° C, contendo fermentos comportando mais de aproximadamente 5.10⁷, em particular mais de aproximadamente 10⁸ bifidobactérias por grama de produto alimentício fermentado.

4. Produto alimentício fermentado de acordo com uma das reivindicações 1 a 3, CARACTERIZADO pelo fato

de conter mais de aproximadamente 5.10^7 , em particular mais de aproximadamente 10^8 bifidobactérias por grama de produto alimentício fermentado no início do período de conservação.

5 5. Produto alimentício fermentado de acordo com uma das reivindicações 1 a 4, CARACTERIZADO pelo fato de que as bifidobactérias contidas no produto alimentício fermentado são do tipo *Bifidobacterium animalis*, particularmente *Bifidobacterium animalis animalis* e/ou *Bifidobacterium animalis lactis* e/ou *Bifidobacterium breve* e/ou *Bifidobacterium longum*
10 e/ou *Bifidobacterium infantis* e/ou *Bifidobacterium bifidum*.

6. Produto alimentício fermentado de acordo com uma das reivindicações 1 a 5, CARACTERIZADO pelo fato de que é preparado com base em sumo vegetal e especialmente em sumo de fruta ou sumo de legume, tal como sumo de soja, ou
15 de produto lácteo, e, particularmente, de leite de vaca e/ou leite de cabra.

7. Produto alimentício fermentado de acordo com uma das reivindicações 1 a 6, CARACTERIZADO pelo fato de que os fermentos contêm bactérias lácticas, em particular uma
20 ou mais bactérias do gênero *Lactobacillus spp.* e especialmente *Lactobacillus delbrueckii bulgaricus* e/ou *Lactobacillus casei* e/ou *Lactobacillus reuteri* e/ou *Lactobacillus acidophilus* e/ou *Lactobacillus helveticus* e/ou *Lactobacillus plantarum* e/ou bactérias do tipo *Lactococcus cremoris* e/ou *Streptococcus*
25 *thermophilus* e/ou *Lactococcus lactis* e/ou uma ou mais bactérias do gênero *Leuconostoc*.

8. Produto alimentício fermentado de acordo com uma das reivindicações 1 a 7, CARACTERIZADO pelo fato de que os fermentos contêm bactérias lácticas que apresentam entre elas um fenômeno simbiótico.

5 9. Produto alimentício fermentado de acordo com uma das reivindicações 1 a 8, CARACTERIZADO pelo fato de que a proporção das bifidobactérias nos fermentos é de cerca de 20 a aproximadamente 80%, particularmente de cerca de 30 a aproximadamente 70%, particularmente de cerca de 40 a
10 aproximadamente 60% e particularmente de cerca de 50%.

10. Produto alimentício fermentado de acordo com uma das reivindicações 1 a 9, CARACTERIZADO pelo fato de que se apresenta sob a forma de um produto alimentício fermentado batido ou de um produto alimentício fermentado para
15 beber ou de um produto alimentício fermentado infantil.

11. Procedimento de preparo de um produto alimentício fermentado a partir de uma matéria de partida, CARACTERIZADO pelo fato de conter as seguintes etapas sucessivas:

20 - uma etapa de germinação de uma matéria de partida, eventualmente pasteurizada, por inoculação de fermentos de germinação contendo cerca de $4 \cdot 10^6$ a aproximadamente $1 \cdot 10^7$ bifidobactérias por ml de partida, para obter uma matéria levedada,

25 - uma etapa de fermentação da matéria levedada obtida na etapa precedente, de forma que a temperatura de início

de fermentação seja de cerca de 36 a aproximadamente 38 °C, a temperatura de fim de fermentação seja de cerca de 37 a aproximadamente 39 °C e o tempo de fermentação seja de cerca de 8 a aproximadamente 11 horas, para obter uma matéria fermentada,

- uma etapa de resfriamento intermediário da matéria fermentada obtida na etapa precedente, de forma que o tempo de resfriamento intermediário é de cerca de 1:30 h a aproximadamente 2 horas e a temperatura de resfriamento intermediário é de cerca de 4 a aproximadamente 18 °C para obter uma matéria pré-resfriada,

- uma etapa de armazenamento da matéria pré-resfriada obtida na etapa precedente, de forma que o tempo de armazenamento seja inferior a aproximadamente 15 horas, para obter uma matéria armazenada,

- uma etapa de resfriamento final da matéria armazenada obtida na etapa precedente, de forma que a temperatura de início de resfriamento final seja inferior a aproximadamente 21 °C e a temperatura de término de resfriamento final seja de cerca de e a aproximadamente 6 °C para obter um produto alimentício fermentado.

12. Procedimento de preparação de um produto alimentício fermentado de acordo com a reivindicação 11, CARACTERIZADO pelo fato de que as bifidobactérias sejam selecionadas dentre as bactérias do tipo *Bifidobacterium animalis*, particularmente *Bifidobacterium animalis animalis* e/ou

Bifidobacterium animalis lactis e/ou *Bifidobacterium breve* e/ou *Bifidobacterium longum* e/ou *Bifidobacterium infantis* e/ou *Bifidobacterium bifidum*.

13. Procedimento de preparação de um produto alimentício fermentado de acordo com uma das reivindicações 11 ou 12, CARACTERIZADO pelo fato de que as bifidobactérias sejam selecionadas dentre as bactérias do tipo *Bifidobacterium animalis*.

14. Procedimento de preparação de um produto alimentício fermentado de acordo com uma das reivindicações 11 a 13, CARACTERIZADO pelo fato de que o tempo de resfriamento intermediário é de cerca de 1:30 h.

15. Procedimento de preparação de um produto alimentício fermentado de acordo com uma das reivindicações 11 a 14, CARACTERIZADO pelo fato de que o tempo de armazenamento seja inferior ou igual a aproximadamente 12 horas, particularmente seja igual a aproximadamente 12 horas.

16. Procedimento de acordo com uma das reivindicações 11 a 15 CARACTERIZADO pelo fato de que a temperatura de término de resfriamento final seja de aproximadamente 4° C.

17. Procedimento de preparação de um produto alimentício fermentado de acordo com uma das reivindicações 11 a 16, CARACTERIZADO pelo fato de que os fermentos de germinação contêm bactérias lácticas, em particular

uma ou mais bactérias do gênero *Lactobacillus spp.* e especialmente *Lactobacillus delbrueckii bulgaricus* e/ou *Lactobacillus casei* e/ou *Lactobacillus reuteri* e/ou *Lactobacillus acidophilus* e/ou *Lactobacillus helveticus* e/ou
5 *Lactobacillus plantarum* e/ou bactérias do tipo *Lactococcus cremoris* e/ou *Streptococcus thermophilus* e/ou *Lactococcus lactis* e/ou uma ou mais bactérias do gênero *Leuconostoc*.

18. Procedimento de preparação de um produto alimentício fermentado de acordo com as
10 reivindicações 11 a 17, CARACTERIZADO pelo fato de que a proporção das bifidobactérias nos fermentos de germinação seja de cerca de 20 a aproximadamente 75%, particularmente de cerca de 30 a aproximadamente 50%, particularmente de cerca de 35 a aproximadamente 40%, particularmente de cerca de
15 37,5%.

19. Procedimento de preparação de um produto alimentício fermentado de acordo com uma das reivindicações 11 a 18, CARACTERIZADO pelo fato de que a matéria de partida seja à base de sumo vegetal e particularmente
20 de sumo de fruta ou de legume, tal como sumo de soja, ou de produto lácteo, constituído em particular por leite de vaca e/ou leite de cabra.

20. Procedimento de preparação de um produto alimentício fermentado de acordo com uma das
25 reivindicações 11 a 19, CARACTERIZADO pelo fato de conter uma etapa suplementar de misturação entre a etapa de

fermentação e a etapa de resfriamento intermediário, permitindo obter, a partir da matéria fermentada obtida na etapa de fermentação, uma matéria fermentada batida.

21. Procedimento de preparação de um
5 produto alimentício fermentado de acordo com uma das reivindicações 11 a 20, CARACTERIZADO pelo fato de conter uma etapa de pasteurização antes da etapa de germinação, permitindo obter, a partir da matéria de partida, uma matéria de partida pasteurizada.

10 22. Procedimento de preparação de um produto alimentício fermentado de acordo com uma das reivindicações 11 a 21, CARACTERIZADO pelo fato de que a matéria de partida pasteurizada é uma matéria de partida pasteurizada, reaquecida, facultativamente homogeneizada e resfriada, obtida a partir de
15 uma matéria bruta, o referido procedimento compreendendo antes da etapa de germinação as seguintes etapas sucessivas:

- uma etapa de padronização em matéria gordurosa da matéria bruta de forma a obter uma matéria padronizada,

20 - uma etapa de enriquecimento em matéria seca da matéria padronizada obtida na etapa precedente, de forma a obter uma matéria enriquecida,

- uma etapa de pré-aquecimento da matéria enriquecida obtida na etapa precedente, de forma a obter uma
25 matéria de partida,

- uma etapa de pasteurização e de reaquecimento da matéria de partida obtida na etapa precedente, de forma a obter uma matéria pasteurizada e reaquecida,

5 - uma etapa facultativa de homogeneização da matéria pasteurizada e reaquecida obtida na etapa precedente, de forma a obter uma matéria pasteurizada, reaquecida e facultativamente homogeneizada,

10 - uma etapa de resfriamento inicial da matéria pasteurizada, reaquecida e facultativamente homogeneizada obtida na etapa precedente, de forma a obter uma matéria de partida pasteurizada, reaquecida, facultativamente homogeneizada e resfriada.

23. Procedimento de preparação de um produto alimentício fermentado de acordo com uma das reivindicações 11
15 a 22, CARACTERIZADO pelo fato de conter após a etapa de resfriamento final uma etapa de conservação do produto alimentício fermentado a uma temperatura compreendida entre cerca de 4 a 10 °C.

24. Procedimento de preparação de um produto
20 alimentício fermentado de acordo com uma das reivindicações 11 a 23, CARACTERIZADO pelo fato de compreender uma etapa de acréscimo de uma preparação intermediária simultaneamente à etapa de germinação ou entre a etapa de germinação e a etapa de fermentação, de forma a obter, a partir da matéria levedada, uma
25 matéria levedada completada, ou após a etapa de fermentação, de forma a obter, a partir da matéria fermentada, uma matéria

fermentada completada, a referida preparação intermediária contendo uma preparação de frutas e/ou de cereais e/ou de aditivos tais como aromas e corantes.

25. Produto alimentício fermentado
- 5 CARACTERIZADO pelo fato de ser obtido a partir do procedimento conforme definido em uma das reivindicações 11 a 24.

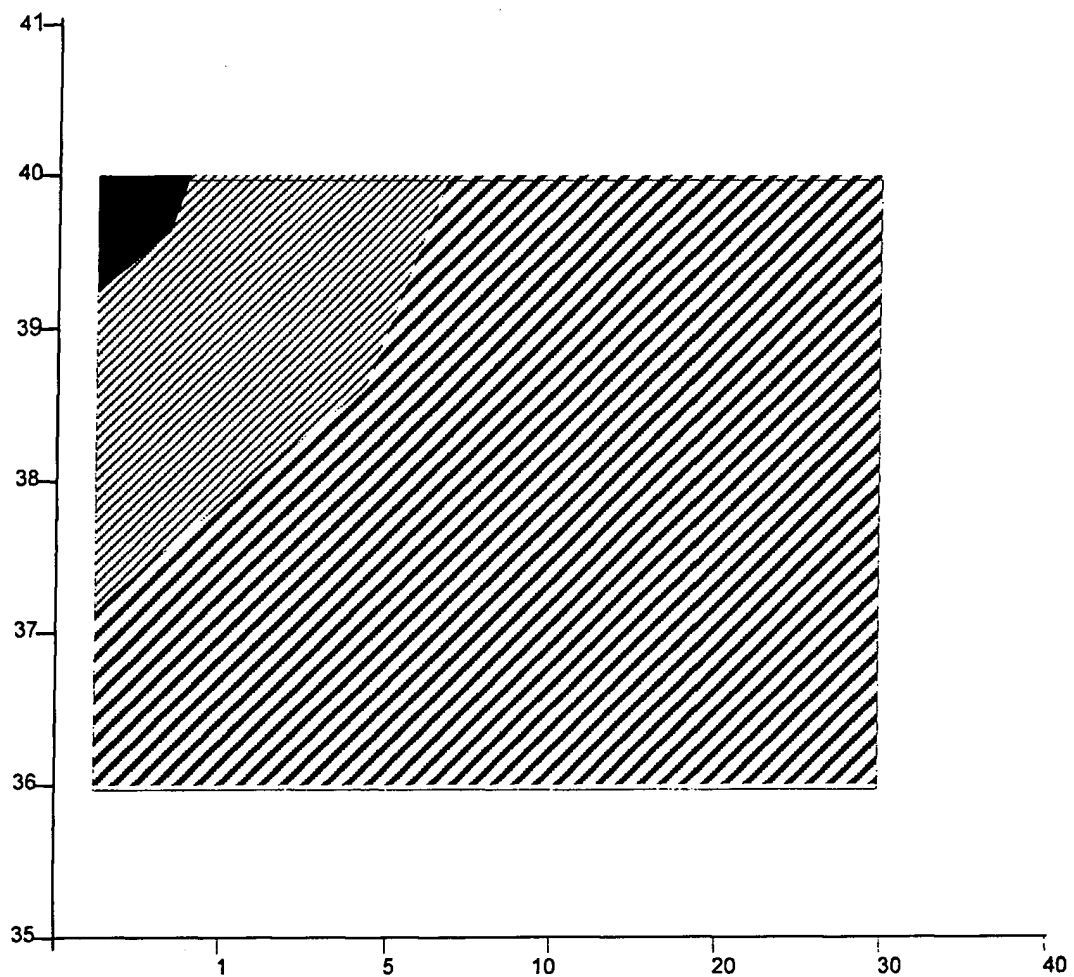


Figura 1

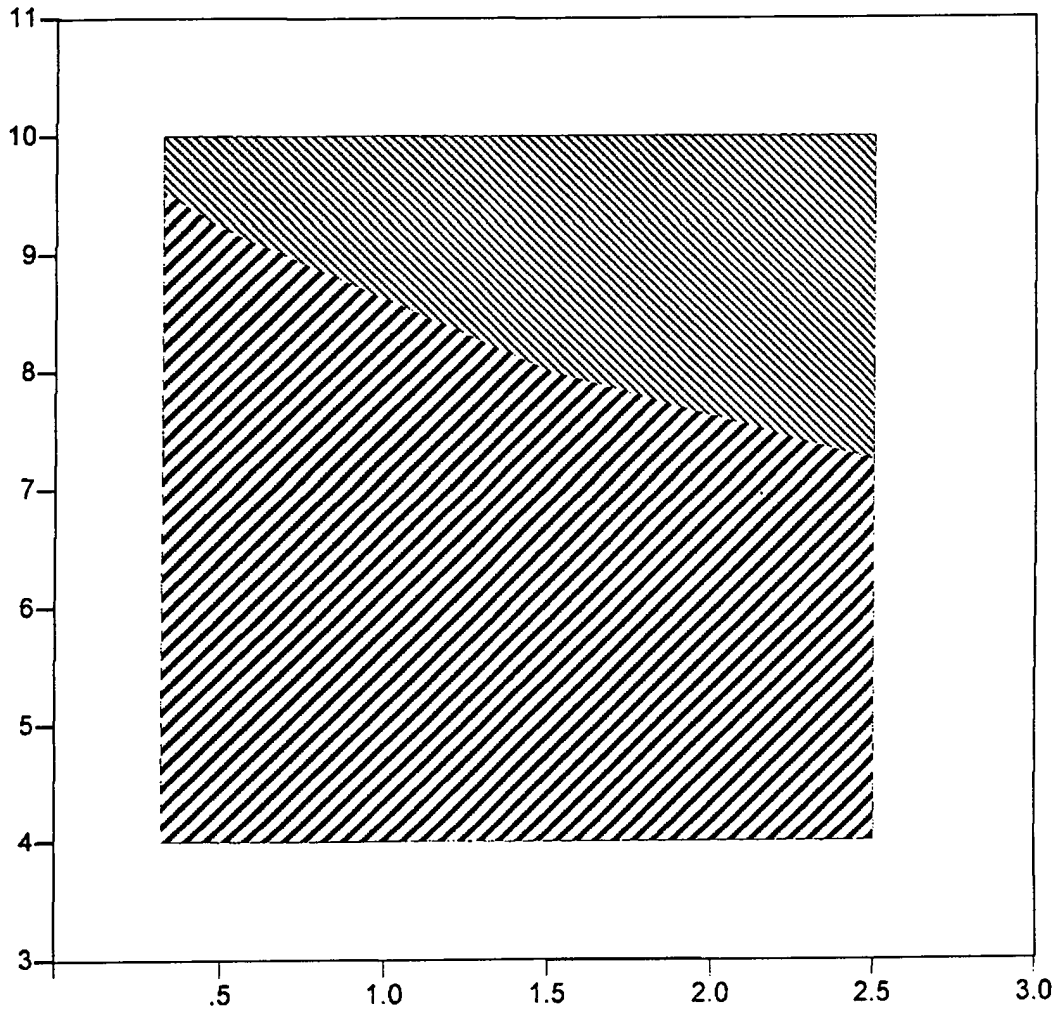


Figura 2

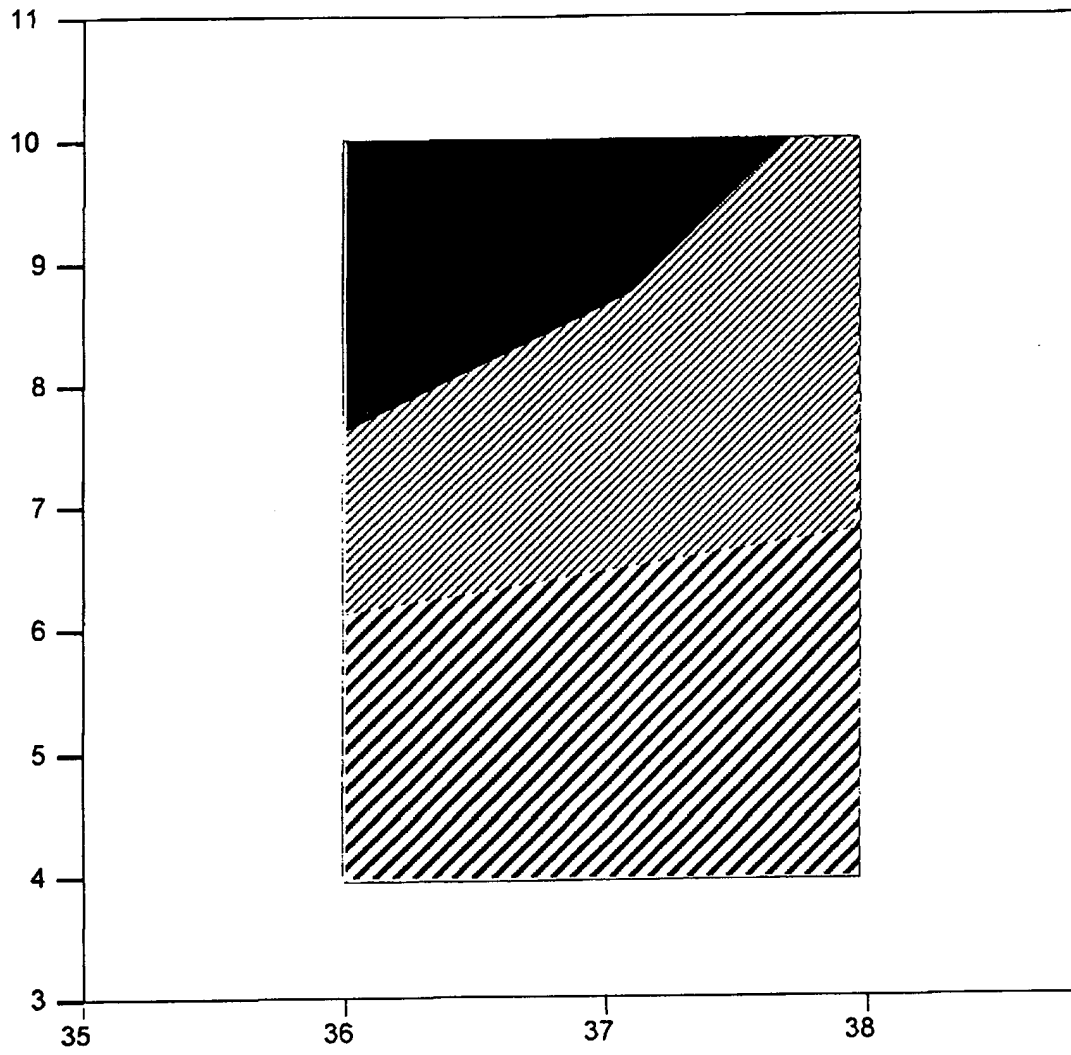


Figura 3

RESUMO

Patente de Invenção para “**PRODUTOS ALIMENTÍCIOS FERMENTADOS CONTENDO CEPAS PROBIÓTICAS E SEU PROCEDIMENTO DE PREPARO**”.

5 A invenção diz respeito principalmente a um produto alimentício fermentado não sólido contendo fermentos que englobam cerca de $5 \cdot 10^7$, em particular mais do que aproximadamente 10^8 bifidobactérias por grama de produto alimentício fermentado durante um período de conservação de
10 pelo menos 30 dias, em particular de pelo menos 35 dias.