REPÚBLICA FEDERATIVA DO BRASIL
MINISTÉRIO DA ECONOMIA
INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL

CARTA PATENTE Nº BR 102013013854-1

O INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL concede a presente PATENTE DE INVENÇÃO, que outorga ao seu titular a propriedade da invenção caracterizada neste título, em todo o território nacional, garantindo os direitos dela decorrentes, previstos na legislação em vigor.

(21) Número do Depósito: BR 102013013854-1

(22) Data do Depósito: 05/06/2013

(43) Data da Publicação Nacional: 24/11/2015

(51) Classificação Internacional: A23G 9/36; A23G 9/46.

(54) Título: SOBREMESAS COM SOJA AERADAS PROBIÓTICAS E/OU SIMBIÓTICAS E SEU PROCESSO DE FABRICAÇÃO

(73) Titular: UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ, Instituição de Ensino e Pesquisa. CGC/CPF: 75101873000190. Endereço: Avenida Sete de Setembro 3165 Rebouças, Curitiba, PR, BRASIL (BR), 80230-901; UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ, Instituição de Ensino e Pesquisa. CGC/CPF: 75095679000149. Endereço: Rua XV de Novembro, 695, Centro, Curitiba, PR, BRASIL(BR), 80020-310

(72) Inventor: MARIA CAROLINA DE OLIVEIRA RIBEIRO; CARLOS RICARDO SOCCOL; LUCIANA PORTO DE SOUZA VANDENBERGHE; MICHELE RIGON SPIER.

Prazo de Validade: 20 (vinte) anos contados a partir de 05/06/2013, observadas as condições legais

Expedida em: 23/02/2021

Assinado digitalmente por:
Liane Elizabeth Caldeira Lage
Diretora de Patentes, Programas de Computador e Topografias de Circuitos Integrados

“SOBREMESAS COM SOJA AERADAS PROBIÓTICAS E/OU SIMBIÓTICAS E SEU PROCESSO DE FABRICAÇÃO”

[1] A presente invenção trata do desenvolvimento de sobremesa com soja aerada probiótica e/ou simbiótica, não fermentada, composta de extrato aquoso de soja e outros ingredientes alimentares, agentes prebióticos ou não, e probióticos (micro-organismos vivos) assim como seu processo de fabricação e uso. Mais especificamente, o produto citado é obtido por processamento adequado, sem fermentação, de extrato aquoso de soja em mistura com outros ingredientes alimentícios (como polpa integral de frutas, açúcares vegetais como sacarose e glicose, sólidos não gordurosos como leite em pó integral e concentrado proteico de soro e ingrediente fonte de gordura como creme de leite), coadjuvantes tecnológicos como agentes emulsificantes e geleificantes e aditivos alimentícios como conservante, agentes prebióticos, adicionados ou não, como inulina e /ou oligofrutose e pela adição das bactérias ácido láticas *Pediococcus acidilactici linhagem B14* e linhagens probióticas de *Lactobacillus acidophilus* em associação. Estes produtos devem ser apresentados na forma, semi-sólida sob refrigeração, pronta para consumo.

FUNDAMENTOS DA INVENÇÃO

[2] O Brasil encontra-se na categoria de mercados emergentes que constituem grande potencial de crescimento para o segmento de alimentos funcionais (BARCELLOS. M.D. de. O processo decisório de compra de alimentos funcionais: uma pesquisa sobre as motivações, atitudes e intenções de consumo no Brasil**. Projeto Universal CNPQ**. Porto Alegre, 2009). Em pesquisa nacional denominada o “Perfil de Consumo de Alimentos no Brasil”, promovida pela Federação das Indústrias do Estado de São Paulo (FIESP) em parceria com o Instituto Brasileiro de Opinião Pública e Estatística (IBOPE), foi verificado forte potencial de crescimento para alimentos que podem trazer algum benefício à saúde, devido a 21% dos consumidores apresentaram tendência de consumo para alimentos associados a “saudabilidade e bem estar”, quanto ao conhecimento de alimentos funcionais, 30% dos consumidores conhece bem e 51% acreditam totalmente que alimentos funcionais podem trazer benefícios à saúde (FIESP/IBOPE. Federação das Indústrias do Estado de São Paulo/ Instituto Brasileiro de Opinião Pública e Estatística. **Pesquisa nacional sobre o perfil de consumo de alimentos no Brasil**, 2010. Disponível em: http<www.abic.com.br> Acesso em: 12/02/2013).

[3] O conceito de alimentos funcionais surgiu no Japão no início da década de 90, que trata de alimentos que, devido aos seus componentes fisiologicamente ativos, podem beneficiar a saúde das pessoas e fornecer nutrição básica (STRINGHETA, P.C. et al. Políticas de

saúde e alegações de propriedades funcionais e de saúde para alimentos no Brasil. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.43, p.181-194, 2007). Não existe uma definição internacionalmente aceita sobre alimentos funcionais (SILVEIRA, T.F.V. da; VIANNA, C.M.de M.; MOSEGUI,G.B.G. Brazilian legislation for functional. **Physis Revista de Saúde Coletiva**, v.19, p.1189-1202, 2009), embora o conceito proposto pelo *European Consensus on Scientific Concepts of Functional Foods* que "um alimento pode ser considerado funcional se for demonstrado o seu efeito em uma ou mais funções alvo do organismo, além de apresentar características nutricionais adequadas, de modo que seja relevante para melhoria da saúde e do bem-estar e/ou redução dos riscos de doenças" (HENSON, S. MASAKURE, O.; CRANFIELD, J. The propensity for consumers to offset health risks through the use of functional foods and nutraceuticals: the case of lycopene. **Food Quality and Preference**, v.19, p. 395-406, 2008) tem obtido ampla aceitação por parte dos consumidores, os quais manifestam um grande interesse sobre as questões de saúde que incluem a alimentação (JONES, P.J.; JEW, S. Functional food development: concept to reality. **Trends in Food Science and Technology**, v.18, p.387-390, 2007).

[4] Devem estar apresentados na forma de alimentos comuns, sendo consumidos em dietas convencionais, porém demonstram capacidade de regular algumas funções corporais de forma a auxiliar na proteção contra doenças como hipertensão, diabetes, câncer, osteoporose e coronariopatias (SOUZA, P.H.M.; SOUZA NETO, M.H.; MAIA, G.A. Componentes funcionais nos alimentos. **Boletim da SBCTA**, v.37, p.127-135, 2003; MORAES, F.P.; COLLA, L.M. Alimentos funcionais e nutracêuticos: definições, legislação e benefícios à saúde. Revista Eletrônica de Farmácia, v.32, p.109-122, 2006. Acesso em: 02 de abril de 2012).

[5] O desenvolvimento de alimentos funcionais tem sido uma prioridade de pesquisa para as indústrias alimentícias; alimentos enriquecidos com compostos saudáveis como probióticos e prebióticos tem sido, a cada dia, mais procurados (RODRIGUES, D.; ROCHA-SANTOS, T.A.P.; PEREIRA, C.I.; GOMES, A.M.; MALCATA, F.X.; FREITAS, A.C. The potencial effect of FOS and inulin upon probiotic bacterium performance in curdled milk matrices. **LWT- Food Science Technology**, v. 44, p.100-108, 2011). O setor da indústria de alimentos que mais oferece opções é o de laticínios, iogurtes, sobremesas e bebidas fermentadas a base de extrato aquoso de soja, onde o estudo da adição de micro-organismos probióticos é crescente (SHAH, N.P.; ALI, J.F.; RAVULA, R.R. Populations of *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium spp*., and *Lactobacillus casei* in commercial fermented milk products. **Bioscience of Microbiota**, v.19, p.35-39, 2000).

[6] Os simbióticos podem ser definidos como uma mistura de probióticos e prebióticos que tem efeito positivo sobre o hospedeiro, melhorando a sobrevivência dos micro-organismos benéficos do trato gastrointestinal, por estimular seletivamente o crescimento e/ou ativar o metabolismo de uma ou um número limitado de bactérias promotoras de saúde (OLIVEIRA, R.P.S.; FLORENCE, A.C.R; SILVA, R.C.; PEREGO, P.; CONVERTI, A.; GIOIELLI, L.A.; OLIVEIRA, M.N. Effect of different prebiotics on the fermentation kinetics, probiotic survival and fatty acids profiles in nonfat symbiotic fermented milk. **International Journal of Food Microbiology**, v.128, p.467-472, 2009). Produtos a base de soja tem recebido considerável atenção devido ao seu papel na prevenção e tratamento de doenças crônicas, como desordens da menopausa, câncer, arteriosclerose e osteoporose, entretanto apresentam limitações comerciais decorrente do sabor desagradável e conteúdo relativamente elevado de rafinose e estaquiose, oligossacarídeos causadores de flatulência (PERES, C.M.; PERES, C.; HERNÁNDEZ-MENDOZA, A.; MALCATA, X. Review on fermented plant materials as carriers and sources of potentially probiotic lactic acid bacteria – with an emphasis on table olives. **Trends in Food Science & Technology**, v.36, p.31-42, 2012). Os produtos a base de soja exemplificam as características que se buscam nos alimentos funcionais, pois possuem proteína em quantidade e qualidade, além de vitaminas, fibras e isoflavonas que melhoram os aspectos de funcionalidade dos alimentos (KRÜGER, R.; KEMPKA, A.P.; OLIVEIRA, D.; VALDUGA, E.; CANSIAN, R.L.; TREICHEL, H.; DI LUCCIO, M. Desenvolvimento de uma bebida láctea probiótica utilizando como substratos soro de leite e extrato hidrossolúvel de soja. **Alimentos e Nutrição**, v.19, p.43-53, 2008).

[7] Sabe-se que as propriedades funcionais dos alimentos podem ser influenciadas tanto pela matriz alimentar, quanto pelo micro-organismo probiótico veiculado (RANADHEERA, R.D.C.S.; BAINES, S.K.; ADAMS, M.C. Importance of food in probiotic efficacy. **Food Research International**, v.43, p.1-7, 2010). Portanto, aliado à utilização do extrato aquoso de soja no desenvolvimento de novos produtos com características funcionais, as proteínas do soro de leite, frutanos de cadeia longa tipo inulina e de cadeia curta como oligofrutose podem ser empregados com sucesso na obtenção de matrizes alimentares para veicular micro-organismos probióticos. Como exemplo destas matrizes alimentares sólidas e semi-sólidas para probióticos, pode-se citar iogurte, queijos, sorvetes, margarina, maionese, requeijão, sobremesas, entre outros.

[8] A definição aceita atualmente foi proposta pela *Food and Agriculture Organization of United Nations* (FAO) e *World Health Organization* (WHO), como micro-organismos vivos que

quando administrados em quantidades adequadas conferem benefícios à saúde do hospedeiro (WOHLGEMUTH, S.; LOH, G.; BLAUT, M. Recent developments and perspectives in the investigation of probiotic effects. **International Journal of Medical Microbiology**, v.300, p. 3-10, 2010). As características essenciais para uma cepa ser considerada probiótica são: ser reconhecida como segura *Generally Recognized as Safe* (GRAS), apresentar viabilidade durante processamento e armazenamento, ter efeito antagonista frente à patógenos, ser tolerante à presença e variações de acidez e sais biliares, possuir capacidade de aderência ao epitélio intestinal do hospedeiro (PAN, X.; CHEN, F.; WU, T.; TANG, H.; ZHAO, Z. The acid, bile tolerance and antimicrobial property of *Lactobacillus acidophilus* NIT. **Food Control**, v.20, p.598-602, 2009), assim como apresentar resistência frente às condições do sistema gastrointestinal (amilases da cavidade oral, baixo pH do estômago, secreções biliares e suco pancreático excretados na região duodenal) (HERNANDEZ-HERNANDEZ, O.; MUTHAIYAN, A.; MORENO, F.J.; MONTILLA, A.; SANZ, M.L.; RICKE, S.C. Effect of prebiotic carbohydrates on the growth and tolerance of *Lactobacillus*. **Food Microbiology**, v.30, p.355-361, 2012) para poder colonizar temporariamente o intestino (OLIVEIRA, C.P. de; SILVA, J.A. da. Leite fermentado probiótico e suas implicações na saúde. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v.6, p.25-31, 2011).

[9] Uma ampla variedade de espécies e gêneros é considerada potencialmente probiótica (VASILEJIC, T.; SHAH, N.P. Probiotics – from Metchinikof to bioactives. International Dairy Journal, v.18, p.714-728, 2008). Atualmente, as bactérias usadas como probióticos são quase exclusivamente a partir de fontes humana ou animal, por exemplo, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* ou mesmo *Enterococcus* (OGIER, J.C.; SERROR, P. Safety assessment of dairy microorganism: the *Enterococcus* genus. **International Journal of Food Microbiology**, v.126, p.291-301, 2008; PERES, C.M.; PERES, C.; HERNÁNDEZ-MENDOZA, A.; MALCATA, X. Review on fermented plant materials as carriers and sources of potentially probiotic lactic acid bacteria – with na emphasis on table olives. **Trends in Food Science & Technology,** v.36, p.31-42, 2012). Entretanto, além dos lactobacilos, espécies de *Pediococcus, Leuconostoc e Lactococcus* também fazem parte da flora intestinal de humanos e animais, sendo que do gênero *Pediococcus* as cepas mais comumente isoladas na flora intestinal humana são *Pediococcus acidilactici* e *Pediococcus pentosaceus* (PAPAGIANNI, M.; ANASTASIADOU, S.; Encapsulation of *Pediococcus acidilactici* cells in corn and olive oil microcapsules emulsified by peptides and stabilized with xanthan in oil-in-water emulsions: studies on cell viability under gastro-intestinal simulating conditions. **Enzyme and Microbial Technology**, v.45, p.514-522, 2009).

[10] A maioria dos estudos sobre as propriedades fisiológicas de cepas que podem ser empregadas como probióticas, tratam de micro-organismos originários de cavidades internas, humana ou animal considerando que devido à origem, estas bactérias possam colonizar melhor o trato gastrointestinal humano/animal (MONTEAGUDO-MERA, A. RODRÍGUEZ-APARICIO, L.; RÚA, J.; MARTÍNEZ-BLANCO, H.; NAVASA, N.;GARCÍA-ARMESTO, M.R.; FERRERO, M.A. *In vitro* evaluation of physiological probiotic properties of different lactic acid bacteria strains of dairy and human origin. **Journal of Functional Foods**, v.4, p.531-541, 2012).

[11] Os pediococos são encontrados em ambientes ricos em açúcares fermentescíveis, como materiais vegetais e alimentos fermentados, especialmente picles e carnes conservadas (ZHANG, B.; TONG, H.; DONG, X. *Pediococcus cellicola* sp. nov., a novel lactic acid coccus isolated from a distilled-spirit-fermenting cellar. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v.55, p.2167-2170, 2005), porém têm sido isolados em alguns tipos de queijos (GURIRA, O.Z.; BUYS. E.M. Characterization and antimicrobial activity of *Pediococcus* species isolated from South African farm-style cheese. **Food Microbiology**, v.22 p.159-168, 2005). São empregados como micro-organismos benéficos no contexto da microbiologia de alimentos e da pecuária (HAAKENSEN, M.; VICKERS, D.M.; ZIOLA, B. Susceptibility of *Pediococcus* isolates to antimicrobial compounds in relation to hop-resistance and beer-spoilage. **BMC Microbiology**, v. 9, n.190, p.1-7, 2009), podendo ser usados como culturas *starter* ou como probióticos (KLARE, I.; KONSTABEL, C.; WERNER, G.; HUYS, G.; VANKERCKHOVEN, V.; KAHLMETER, G.; HILDEBRANDT, B.; MÜLLER-BERTLING, S.; WITTE, W.; GOOSSENS, H. Antimicrobial susceptibilities os *Lactobacillus*, *Pediococcus* and *Lactococcus* human isolates and cultures intended for probiotic or nutritional use. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v.59, p.900-912, 2007). Na literatura, ainda são micro-organismos pouco estudados, entretanto o interesse parece estar aumentando tanto na comunidade científica, quanto na indústria. Sendo que, nos últimos anos muitos artigos importantes têm sido publicados, assim como suplementos contendo *Pediococcus* spp. tem entrado no mercado de nutracêuticos (PAPAGIANNI, M.; ANASTASIADOU, S.; Encapsulation of *Pediococcus acidilactici* cells in corn and olive oil microcapsules emulsified by peptides and stabilized with xanthan in oil-in-water emulsions: studies on cell viability under gastro-intestinal simulating conditions. **Enzyme and Microbial Technology**, v.45, p.514-522, 2009).

[12] Entre as bactérias láticas do gênero *Lactobacillus* a espécie *Lactobacillus acidophilus*, apresenta particular interesse devido ao fato da maioria de seus membros ocuparem importantes ambientes, como o trato gastrointestinal de humanos e animais (JAFAREI, P.;

EBRAHIMI, M.T. *Lactobacillus acidophilus* cell structure and application. **African Journal of Microbiology Research**, v.54, p.4033-4042, 2011).

[13] Amplamente empregado em produtos lácteos fermentados, sendo considerado de interesse industrial e médico (AHMED Z.; WANG, Y.; CHENG, Q.; IMRAN, M. *Lactobacillus acidophilus* bacteriocin, from production to their application: an overview. **African Journal of Biotechnology**, v.9, n.20, p.2843-2850, 2010), pois apresenta como principais funções a proteção contra patógenos, auxílio na digestão da lactose, elevação no padrão nutricional dos alimentos, estimulação da resposta imune intestinal e regulação dos níveis de colesterol no organismo (MALGANHA, L.C. **Efeito da inclusão de leite em pó e açúcar sobre a viabilidade de bcatérias probióticas em leite fermentado desnatado**. 62 f. Dissertação (Mestrado e Zootecnia) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2010).

[14] A definição atual diz que prebióticos são ingredientes fermentados seletivamente que promovem alterações específicas na composição e/ou atividade da microflora gastrointestinal, proporcionando bem estar e saúde ao hospedeiro (ROBERFROID, M. Prebiotics: the concept revisited. **Journal of Nutrition**, v.137, p.830S-837S, 2007). Vários ingredientes alimentares têm sido propostos como potenciais prebióticos, entretanto evidências científicas para o cumprimento dos pré-requisitos necessários para atender a essa classificação só existem para quatro ingredientes como inulina, oligofrutose, lactulose e galacto-oligossacarídeos (ROBERFROID, M.B. Prebiotics: concept, definition, criteria, methodologies, and products. In: GIBSON, G.R.; ROBERFROID, M.B. **Handbook of prebiotics**. Boca Raton: CRC, 2008).

[15] Entre as ações dos prebióticos está o fortalecimento da normobiose pela modificação seletiva na composição da microbiota intestinal, melhoria na formação das fezes devido ao aumento da capacidade de retenção de água e gelificação do material fecal, promove efeitos fisiológicos benéficos tanto no cólon quanto em outras regiões extraintestinais e redução no risco de disbiose assim como patologias sistêmicas associadas ao intestino (ESPÍRITO SANTO, A.P. do; PEREGO, P.; CONVERTI, A.; OLIVEIRA, M.N. Influence of food matrices on probiotic viability – a review focusing on the fruity bases. **Trends in Food Science & Technology**, v.22, p.377-385, 2011).

[16] A soja é considerada uma excelente fonte proteica, com uma das melhores composições de aminoácidos essenciais entre as proteínas de origem vegetal e alta digestibilidade (92-100%), também possui em sua composição compostos com ação antioxidante como tocoferóis, fosfolipídeos, aminoácidos livres e peptídeos de baixo peso

molecular (MORAES, C.S.; PASTORE, G.M.; SATO, H.H.; PARK, Y.K. **Isoflavonas de soja e suas atividades biológicas**. São Paulo: Livraria Varela, 2009).

[17] As características químicas e nutricionais qualificam a soja como um alimento funcional, pois além da qualidade de sua proteína, pode ser utilizada de forma preventiva e terapêutica no tratamento de doenças cardiovasculares, câncer, osteoporose e sintomas de menopausa (SILVA, M.C. P. da; LADEIRA, A.M.; GARCIA, D.; FURLAN, M.R. Isoflavona. **Thesis**, s/v, p.31-59, 2009).

[18] No Brasil, considerado segundo maior produtor de soja do mundo, a produção na safra 2010/2011 foi de 75,0 milhões de toneladas. Deste total produzido, 44% seguem para exportação na forma *in natura*, 7% permanecem nos estoques e 49% é encaminhado para o processamento dos mais variados produtos, como exemplo, farelo, óleo de soja refinado, lecitina, proteína texturizada de soja e concentrado proteico de soja (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS PRODUTORES DE SOJA/ MATO GROSSO. **Os usos da soja: destino e uso da soja brasileira**. Disponível em:<http://www.aprosoja. com.br/sobre-a-soja> Acesso em: 03/11/12).

[19] O extrato aquoso de soja, popularmente denominado de "leite" de soja, é o produto de maior aceitação pelos consumidores ocidentais (ROSSI, E.A.; CAVALLINI, D.C.U.; MANZONI, M.S.J.; ROSSI, P.R. Produtos probióticos e prebióticos à base de soja. In: SAAD, S.M.I.; CRUZ, A.G. da; FARIA, J. de A. F. **Probióticos e Prebióticos em alimentos: fundamentos e aplicações tecnológicas**. 1.ed. São Paulo: Livraria Varela, 2011). Este produto pode ser obtido por diluição de extrato de soja em pó, podendo este ser obtido a partir de grãos inteiros ou do farelo desengordurado, em água potável ou por técnicas de extração já patenteadas como exemplo têm-se a patente **US 6,254,000**.

[20] Atualmente, o extrato aquoso de soja é definido pela Resolução RDC n° 268 de 22 de setembro de 2005 que trata do "Regulamento técnico para produtos protéicos de origem vegetal" que define que produtos protéicos de origem vegetal são alimentos obtidos a partir de partes protéicas de espécie(s) vegetal (is), podendo ser apresentados em grânulo, pó, líquido, ou outras formas com exceção daquelas não convencionais para alimentos, e como requisito específico, o teor protéico mínimo de 40,0 e 3,0% ($g.100g^{-1}$) para extrato de soja na forma de pó e aquoso, respectivamente (BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 268, de 22 de setembro de 2005. **Regulamento técnico para produtos protéicos de origem vegetal**. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 23 set. de 2005).

[21] O extrato aquoso de soja é reconhecido pelo seu alto valor nutricional devido as suas

proteínas de qualidade, mas também por conter isoflavonas que são compostos bioativos que têm sido amplamente associados com a prevenção de doenças crônicas, como arterosclerose, câncer, osteoporose e desordens decorrentes da menopausa (EWE, J.A.; ABDULLAH, W.N.W.; BHAT, R.; KARIM. A.A.; LIONG, M.T. Enhanced growth of lactobacilli and bioconversion of isoflavones in biotin-supplemented soymilk upon ultrasound-treatment. **Ultrasonics Sonochemistry**, v.19, p.160-173, 2012).

[22] Aspectos legais acerca da invenção: a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) pela Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) n° 91 de 18 de outubro de 2000, que trata do "Regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de alimento com soja" define que alimento com soja é o produto cuja principal fonte de proteínas é proveniente da soja (BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 91, 18 de outubro de 2000. **Regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de alimento com soja**. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 20 out. de 2000).

[23] Alimentos probióticos são definidos como produtos alimentícios que contém micro-organismos probióticos viáveis, em população suficiente, incorporados em uma matriz adequada (CRUZ, A G.; ANTUNES, A.E.C.; SOUSA, A.L.O.P.; FARIA, J.A.F.; SAAD, S.M.I. Ice-cream as a probiotic food carrier. **Food Research International**, v.42, p.1233-1239, 2009). No Brasil a ANVISA por meio da "Lista de alegações de propriedade funcional aprovadas" determina que a quantidade mínima viável para os probióticos deve estar situada na faixa de 10^8 a 10^9 UFC (8-9 log UFC) na recomendação diária do produto pronto para consumo conforme indicação do fabricante e as cepas aceitas como probióticas: *Lactobacillus acidophilus, Lactobacillus casei shirota, Lactobacillus casei var. rhamnosus, Lactobacillus casei var. defensis, Lactobacillus paracasei, Lactococcus Lactis, Bifidobacterium bifidum, Bifidobacterium animallis (inclui subsp lactis), Bifidobacterium longum e Enterococcus faecium* (BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Comissão técnico-científica de assessoramento em alimentos funcionais e novos alimentos. **Lista de alegações de propriedade funcional aprovadas**, 2008).

[24] Ainda de acordo com a "Lista de alegações de propriedade funcional aprovadas" determina como ingredientes prebiótico inulina e fruto-oligossacarídeos (FOS) e a alegação de produto prebiótico pode ser utilizada desde que a porção do produto pronto para consumo forneça no mínimo 3g, do ingrediente prebiótico, se o alimento for sólido ou 1,5g se o alimento for líquido.

[25] De acordo com a Resolução RDC n° 359 de 23 de dezembro de 2003 que trata do

"Regulamento técnico de porções de alimentos embalados para fins de rotulagem nutricional" a porção de produto pronto para o consumo de sobremesas lácteas é de 120g (BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC n° 359, de 23 de dezembro de 2003. **Regulamento técnico de porções de alimentos embalados para fins de rotulagem nutricional**. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 26 dez. de 2003).

[26] A adição de aditivos químicos e coadjuvantes de tecnologia apropriados para sobremesas deve estar de acordo com a Resolução RDC nº 388 de 05 de agosto de 1999 que trata do "Regulamento técnico que aprova o uso de aditivos alimentares, estabelecendo suas funções e seus limites máximos para a categoria de alimentos 19- sobremesas (outras sobremesas com ou sem gelatina, com ou sem amidos, com ou sem gelificantes)" (BRASIL Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 388, de 05 de agosto de 1999. **Regulamento técnico que aprova o uso de aditivos alimentares, estabelecendo suas funções e seus limites máximos para a categoria de alimentos 19-sobremesas**. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 09 ago. de 1999).

ESTADO DA TÉCNICA

[27] Diferentes estudos a respeito da composição e métodos de processamento de sobremesas aeradas ou não, com soja ou não, probióticas, prebióticas e simbióticas ou não, têm sido realizados e relatados na forma de: a) Revisões bibliográficas que abordam tecnologias e ingredientes para obtenção de produtos relacionados: FOLEGATTI, M.I.S. **Estudo do efeito do uso de diferentes agentes aerantes e gelificantes e do processamento nas características físicas e sensoriais e na estabilidade do produto mousse de maracujá**. Campinas: Unicamp, v.1, 203p, 2001; BURITI, F.C.A.; CRUZ, A.G.; SAAD, S.M.I. Sobremesas lácteas refrigeradas probióticas e prebióticas. In: SAAD, S.M.I.; CRUZ, A.G.; FARIA, J.A.F. (Org.). **Probióticos e prebióticos em alimentos: fundamentos e aplicações tecnológicas**. São Paulo: Varela, v.1, p.389-406, 2011. b) Artigos científicos que tratam da adição e otimização de determinados ingredientes na formulação de sobremesa láctea aerada: FOLEGATTI-MATSUURA, M.I.S.; MATSUURA, F.C.A.U.; MENEZES, H.C. de. Otimização da formulação de mousse de maracujá. I. Emprego de gelatina de agente aerante. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, s/v, s/p, 2006; FOLEGATTI-MATSUURA, M.I.S.; MATSUURA, F.C.A.U.; MENEZES, H.C. de. Otimização da formulação de mousse de maracujá. II. Emprego de concentrado protéico de soro (CPS) e caseinato de cálcio como agente aerante. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, s/v, s/p, 2006; FOLEGATTI-MATSUURA, M.I.S.; MATSUURA, F.C.A.U.;

MENEZES, H.C. de. Otimização da formulação de mousse de maracujá. III. Estabilidade do produto mousse de maracujá elaborado com diferentes agentes aerantes. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, s/v, s/p, 2006; OHATA, S.M.; ZACARCHENCO, P.B.; AULER, F.; ANTUNES, A.J. Adição de concentrado protéico de soro (CPS) em mousse de maracujá. **Revista de Ciências Exatas e Naturais**, v.7, p.53-66, 2005; CARDARELLI, H.R.; ARAGON-ALEGRO, L.C.; ALEGRO, J.H.A.; CASTRO, I.A. de; SAAD, S.M.I. Effect of inulin and *Lactobacillus paracasei* on sensory and instrumental texture properties of functional chocolate mousse. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.88, p.1318-1324, 2008. c) Artigos de pesquisas que abordam as características tecnológicas e sensoriais, assim como a manutenção da viabilidade de cepas probióticas em sobremesas lácteas aeradas, durante o período de armazenamento tanto refrigerado, quanto sob congelamento: ARAGON-ALEGRO, L.C.; ALEGRO, J.H.A.; CARDARELLI, H.R.; CHIU, M.C.; SAAD, S.M.I. Potentially probiotic and symbiotic chocolate mousse. **Lebensmittel Wissenschaft und Technologie**, v.40, p.669-675, 2007; BURITI, F.C.A.; KOMATSU, T.R.; SAAD, S.M.I. Activity of passion fruit (*Passiflora edulis*) and guava (*Psidium guajava*) pulps on *Lactobacillus acidophilus* in refrigerated mousses. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.38, p.315-317, 2007; BURITI, F.C.A.; CASTRO I.A.; SAAD, S.M.I. Effects of refrigeration, freezing and replacement of milk fat by inulin and whey protein concentrate on texture profile and sensory acceptance of symbiotic guava mousses. **Food Chemistry**, v.123, p.1190-1197, 2010; BURITI, F.C.A.; CASTRO, I.A.; SAAD, S.M.I. Viability of *Lactobacillus acidophilus* in symbiotic guava mousse and its survival under *in vitro* simulated gastrointestinal conditions. **International Journal of Food Microbiolgy**, v.137, p.121-129, 2010; CORRÊA, S.B.M.; CASTRO, I.A.; SAAD, S.M.I. Probiotic potential and sensory properties of coconut flan supplemented with *Lactobacillus paracasei* and *Bifidobacterium lactis*. **International Journal of Food Science and Technology**, v.43, p.1560-1568, 2008. d) Artigos de pesquisas sobre a otimização de formulação, avaliação da viabilidade de bactérias probióticas adicionadas e de características físico-químicas e sensoriais de sobremesas a base de soja: GRANATO, D.; RIBEIRO, J.C.B.; CASTRO I.A.; MASSON, M.L. Sensory evaluation and physicochemical optimisation of soy-based desserts using response surface methodology. **Food Chemistry**, v.121, p.899-906, 2010; HEENAN, C.N.; ADMS, M.C.; HOSKEN, R.W.; FLEET, G.H. Survival and sensory acceptability of probiotic microrganisms in a nonfermented frozen vegetarian dessert. **Lebensmittel Wissenschaft und Technologie,** v.37, p.461-466, 2004. e) Trabalho de pesquisa apresentado em evento científico, que visa o desenvolvimento de sobremesa aerada de origem láctea e não láctea sem a adição de micro-organismos probióticos: KUCK, L.S.; ALVES,

F.G.; SOMACAL, S.; MOREIRA, A.S.; VENDRUSCOLO, C. T. Desenvolvimento de mousse de mirtilo (*Vaccinium ashei reade*) livre de ingredientes de origem animal. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 19., ENCONTRO DE PÓS-GRADUAÇÃO, 12., MOSTRA CIENTÍFICA, 2., 2010, Pelotas. **Anais...** Pelotas: UFPel, 2010.

[28] Quanto às patentes, existem as relacionadas com sobremesas aeradas não-lácteas como: **US 4244981** (*Non-dairy, aerated frozen dessert containing citrus juice vesicles*), **US 4368211** (*Composition for aerated frozen desserts containing uncooked fruit puree and method of preparation*), **US 4335155** (*Composition for aerated frozen desserts containing fruit puree and method of preparation*) e **GB1495750** (*Aerated dessert*), que descrevem os ingredientes da formulação que variam de suco a purê de frutas, agentes de aeração estáveis à acidez, estabilizantes como pectina, amido não gelatinizado ou gomas, emulsificantes como várias fontes de ésteres de ácidos graxos, malto dextrina como agente de corpo, entre outros. Os métodos de obtenção consistem de batimento e congelamento estático e/ou congelamento agitado.

[29] Como sobremesas aeradas lácteas adicionadas de micro-organismos ou não, têm-se as patentes: **PI 0703859-3** (Sobremeas lácteas aeradas probióticas e/ou prebióticas, seu processo de fabricação e uso), **LU 87958** (*Milk-based mousse prods. - contg. lactic acid bactéria, esp. for three-layer dessert*), sendo a primeira adicionada da cepa *Lactobacillus acidophilus* La-5, prebióticos inulina e fruto-oligossacarídeo, e o método de obtenção consiste em batimento para aeração mecânica e refrigeração ou congelamento estático. No segundo caso, a sobremesa é obtida com características levemente ácidas, sendo adicionada de várias culturas láticas como *Streptococcus cremories*, *Streptococcus lactis*, *Streptococcus diacetylactis* e/ou *Lactococcus cremories*, e/ou *Streptococcus thermophilus*, podendo conter espécies probióticas; **US 5112626** (*Aerated frozen dessert compositions and produtcs*) que trata da composição base para sobremesas aeradas congeladas, sendo formulada com proteínas do leite, agente adoçante, amido parcialmente hidrolisado e água; **GB 2241421** (*Milky mousse*) obtenção de produto aerado após ter sido submetido a etapas como concentração, fermentação com culturas lácteas e ultrafiltração; **PI 0515863-0** (Musse estável na prateleira) alimento obtido pela aeração com gás inerte de uma base formada por leite condensado adoçado e adicionado de agente estabilizante e hidrocoloide; e **RU 2212809** (*Milk dessert production method*) envolve processo de obtenção de produtos alimentícios de estrutura aerada de base láctea adicionado de polpa ou purê de frutas, vegetais ou frutas e vegetais, sem a adição de bactérias láticas.

[30] Como sobremesas lácteas, não aeradas, adicionada de micro-organismos, as patentes relacionadas são: **RU 2174320** (*Composition for milk dessert preparing*), **PI 0705773-3** (Sobremesas lácteas probióticas e/ou prebióticas, seu processo de fabricação e uso), **NZ 501787** (*Frozen dessert comprising ice cream containing probiotic lactic acid bacteria and a support free of bacteria containing fermentable fibres*), **US 6399124** (*Frozen dessert containing lactic acid bacteria*).

[31] Para as patentes relacionadas à sobremesa não aerada, com base não láctea, adicionada de micro-organismos ou não: **JP 2002262803** (*Method for producing soybean milk dessert*) aborda o método de produção de sobremesa obtida com extrato aquoso de soja (leite de soja) adicionada de fonte de gordura e para obtenção do estado semi-sólido é acrescentada uma substância comercial denominada "Bittern" composta pelos sais de sulfato, cloreto e brometo de magnésio; **RU 2308838** (*Method for dessert production*) que trata do método de mistura, agitação, homogeneização e pasteurização dos componentes creme normalizado, fonte de açúcar e um agente estabilizante que depois de resfriados recebem um cultura de bifidobactérias; **KR 100772585** (*Method for preparing gelled fermenten composition of soybean milk*) compreende método de obtenção de leite de soja fermentado por bactérias dos gêneros *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc* e *Bifidobacterium* e geleificado; e **PI 0504056** (Alimento funcional, composição probiótica, composição alimentícia e processo de produção de alimento funcional fermentado a base de soja contendo agentes probióticos e prebióticos) trata da obtenção de sobremesa a base de soja fermentada por micro-organismos associados probióticos dos gêneros *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* e espécies de *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Lactococcus lactis* e *Pediococcus acidilactici*.

[32] Como produtos disponíveis para o consumidor existem atualmente no Brasil a sobremesa láctea aerada refrigerada de queijo denominada de *Creamcake* da marca Danúbio, disponível no sabor chocolate com cobertura de geléia de morango ou na sua forma natural com cobertura de geléia de morango ou maracujá, pode ser encontrada com outras coberturas na versão *light*. Este produto possui em sua formulação fermentos lácteos, porém que não apresentam caráter probiótico. A marca Sadia, comercializa na sua linha de sobremesas *Miss Daisy*, o produto *frozen mousse* nos sabores chocolate com raspas de chocolate, chocolate com coco e coco ralado e maracujá com calda de maracujá, sem características funcionais. Para produtos refrigerados a base de soja, há disponível a linha *Naturis* da marca Batavo, na forma de sobremesa cremosa de soja sabor chocolate e sobremesa geleificada (flan) de soja

sabor caramelo. A marca Danone, comercializa na linha *Activia* de iogurtes probióticos, os produtos iogurte de Ameixa com toque de soja e Frutas Vermelhas com toque de soja que caracterizam produtos lácteos formulados com preparados de frutas e extrato de soja e adicionados de fermentos lácteos e a linhagem probiótica *Bifidobacterium animalis* DN 173010.

DESCRIÇÃO DA ABORDAGEM DO PROBLEMA TÉCNICO

[33] Avaliando a documentação relacionada sobre o assunto e produtos disponíveis no mercado, pode ser observado o crescente interesse do consumidor em adquirir alimentos que promovam bem-estar. Embora os produtos lácteos sejam considerados os principais carreadores de micro-organismos probióticos e ingredientes prebióticos, é necessário investigar novas formas de disponibilizar alimentos funcionais ao consumidor. Uma alternativa, ainda pouco explorada, é o desenvolvimento de produtos funcionais exclusivamente de soja ou formulados em associação com matérias-primas de origem láctea.

[34] Desta forma, foi verificada no estado da técnica a existência de uma lacuna para o desenvolvimento de alimentos probióticos/simbióticos de base mista (láctea/soja), não fermentados, com características de sobremesa aerada conservada sob refrigeração e seu processo de fabricação. Assim como, a utilização de uma cultura associada com linhagens probióticas de *Lactobacillus acidophilus* e do *Pediococcus acidilactici* B14, linhagem investigada com propriedades probióticas. Neste sentido a presente invenção pretende desenvolver uma sobremesa funcional, mais especificamente probiótica ou simbiótica, formulada com extrato aquoso de soja, produtos de origem animal e adicionada ou não de ingredientes prebióticos e que possuam micro-organismos vivos, mais especificamente uma sobremesa com soja aerada em combinação com cepas de bactérias ácido láticas com características probióticas e a adição, ou não, de substâncias prebióticas na forma pura ou associada. Possibilitando disponibilizar ao consumidor, atento as condições de bem-estar, um alimento funcional alternativo e inovador aos encontrados no mercado, pela simbiose entre agentes prebióticos e probióticos (alimento simbiótico), pela sua estrutura aerada e pela sua origem não exclusivamente láctea ou vegetal.

[35] A presente invenção se refere à composição alimentícia semi-sólida e aos alimentos derivados a partir dessa composição, assim como seu processo de produção, nos quais os ingredientes utilizados são: extrato de soja em pó, água potável, micro-organismos probióticos, agentes prebióticos ou não, sacarose, xarope de glicose de milho, concentrado proteico de soro, leite em pó desnatado, creme de leite, polpa integral de frutas, aditivos

químicos e coadjuvantes de tecnologia.

[36] Os micro-organismos probióticos da invenção são representados pelas linhagens probióticas da espécie de *Lactobacillus acidophilus* e pela linhagem B14 de *Pediococcus acidilactici* que apresenta propriedades probióticas, devendo ser aplicados na forma de mistura nas composições desta invenção.

[37] Os agentes de ação prebiótica, adicionados ou não, na forma pura ou em mistura, são pertencentes ao grupo dos oligossacarídeos. Mais especificamente os prebióticos nas formas líquidas ou sólidas comerciais da presente invenção são: oligofrutose e inulina (Orafti®). Nesta invenção as fibras solúveis cumprem a função tanto de agentes prebióticos, quanto de textura.

[38] Os demais ingredientes alimentares utilizados são edulcorantes vegetais como xarope de glicose de milho e sacarose, sólidos não gordurosos do leite como concentrado proteico de soro e leite em pó desnatado e compostos gordurosos como creme de leite e polpa de frutas.

[39] Os aditivos alimentícios e coadjuvantes de tecnologia como o conservante sorbato de potássio, geleificantes como gelatina, os emulsificantes e polpa integral de frutas, utilizados na presente invenção, são amplamente empregados no processamento de alimentos, mais especificamente de sobremesas lácteas. De caráter opcional podem ser incluídos nesta invenção corantes, saborizantes, aromatizantes, acidulantes, preparados e/ou pedaços de frutas ou outros confeitos.

[40] A produção de alimentos a base de soja, seja ele funcional ou não, tem sido extensivamente detalhada em trabalhos científicos, de pesquisa, processos industriais e patentes. Entretanto a composição funcional e o processamento de sobremesas aeradas, não fermentadas, refrigeradas utilizando matérias-primas de origem animal e vegetal não foram relatados até o momento.

[41] **A – Preparo do extrato aquoso de soja**: o extrato aquoso de soja pode ser obtido por processo convencional como proposto pela patente US 6,254,000 ou pela diluição direta do extrato de soja em pó em água potável. Se obtido por reconstituição, a diluição deve ser de 14 a 20% (p/p) de extrato de soja em pó em água potável.

[42] **B - Preparo da cultura lática associada**: a cultura lática, utilizada diretamente na sobremesa, deve ser obtida com extrato aquoso de soja suplementado com 0,5 a 1,5% (p/v) de glicose, seguido de esterelização. Em seguida adicionado das culturas de *Lactobacillus acidophilus* e *Pediococcus acidilactici B14,* associadas no momento do uso, na concentração de

5,0 a 10,0% (v/v). A incubação é realizada a 35-40°C por 16-24 horas.

[43] **C- Processamento de sobremesa aerada funcional:** a mistura base deve ser elaborada pela adição de 30 a 40% de extrato aquoso de soja, 16 a 25% de ingrediente fonte de gordura, 10 a 15% de edulcorantes, 3 a 7% sólidos não gordurosos, 3,0 a 8,0% dos agentes prebióticos puros ou em mistura ou não, e geleificante autorizado pelas Boas Práticas de Fabricação como *quantum satis*. Esta mistura base deve ser submetida à agitação por ter tempo suficiente para obter homogeneização completa. A mistura deve ser mantida por até 24 horas sob temperatura de refrigeração, podendo permanecer sob baixa agitação ou em sistema estático. Após este período, esta mistura base deve ser submetida ao aquecimento por 63- 66°C por 30 minutos, seguido de resfriamento para 35-40°C. Na mistura resfriada deve ser adicionada a cultura lática na proporção de 2,5 a 5,0%, 15 a 24% de polpa de frutas, agente conservante de acordo com a legislação vigente e agentes emulsificantes em quantidade suficiente para obter efeito desejado. Após a adição do restante dos ingredientes esta mistura deve ser submetida ao processo de aeração mecânica por aproximadamente 5-10 minutos e em seguida deve ser envasada em embalagens individuais e mantidas em temperatura de refrigeração por até 28 dias.

Exemplo 1. Avaliação das propriedades probióticas do *Pediococcus acidilactici* linhagem B14

[44] A cepa de *Pediococcus acidilactici* linhagem B14, pertencente ao banco de cepas do Departamento de Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia da Universidade Federal do Paraná, foi avaliada quanto as suas propriedades probióticas. Sendo observada a capacidade de produção de ácido lático na forma racêmica 1,4:1 (L:D), índice de sobrevivência de 44,49% em pH 2,5 e 70,8% em 0,3% de sais biliares para o tempo de 180 minutos. Apresentou tolerância aos antimicrobianos vancomicina, cefotaxima, penicilina G, cefalexina e neomicina, assim como antagonismo aos patógenos *Escherichia coli* ATCC 25922, *Bacillus cereus* ATCC 33018, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P e *Salmonella sp.* A simulação *in vitro* da passagem pelo sistema gastrointestinal (360 min) resultou em 65,82% e 97,45% de sobrevivência nos pHs de 2,0 e 4,0 no suco gástrico, respectivamente. Quanto à capacidade de adesão, foi obtida a aderência de 64 bactérias/100 células HRT-18 (ATCC CCL-244) de adenocarcinoma humano.

Exemplo 2. Desenvolvimento de cultura associada com *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356

[45] O desenvolvimento da cultura associada com *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356, resultou em uma taxa máxima de crescimento de 0,513 h^{-1} atingida em 10 horas de fermentação, produtividade em ácido lático de 0,42 $g.L^{-1}.h^{-1}$, acidez total de 0,772 $g.L^{-1}$ em extrato aquoso de soja suplementado com 1,0% (p/v) de glicose e índice de sobrevivência,

após a passagem pelo trato gastrointestinal (360 min) em pH 2,0 e 4,0, de 57,28 e 92,39% respectivamente.

Exemplo 3. Preparo do extrato aquoso de soja

[46] O extrato aquoso de soja pode ser obtido por processo convencional ou pela diluição direta do extrato de soja em pó em água potável. De acordo com a RDC nº 268 de 22 de setembro de 2005 que trata do "Regulamento técnico para produtos protéicos de origem vegetal" (BRASIL, 2005), o extrato aquoso de soja deve apresentar no mínimo 3,0% (p/p) de proteínas. Portanto a diluição deve ser realizada de acordo com o teor proteico da matéria-prima utilizada, assim como o efeito desejado. O extrato de soja em pó obtido de grãos inteiros deve ser reconstituído em água potável, preferivelmente a 15,5% (p/p) (teor proteico de aproximadamente 6,2%).

Exemplo 4. Preparo da cultura lática associada

[47] Inicialmente as culturas láticas, na forma isolada, de *Lactobacillus acidophilus* e *Pediococcus acidilactici* linhagem B14, devem ser reativadas em caldo Man, Rogosa e Sharpe (MRS) na concentração de 1,0% (v/v) em 37°C por aproximadamente 16 horas. As culturas láticas, para serem adicionadas na sobremesa, devem ser cultivadas em extrato aquoso de soja suplementado com glicose, preferivelmente a 0,5 % (p/v) e esterelizado a 121°C por 5 minutos. Na sequencia, as culturas de *Lactobacillus acidophilus* e *Pediococcus acidilactic B14* devem ser adicionadas, na proporção de 1:1, em concentração de 5,0% (v/v). Deve ser realizada incubação a 37°C por 24 horas.

Exemplo 5. Obtenção da sobremesa com soja aerada com *Lactobacillus acidophilus* e *Pediococcus acidilactici* linhagem B14 com agentes prebióticos ou não, puros ou em mistura

[48] A mistura base para elaboração da sobremesa deve ser constituída de: extrato aquoso de soja na concentração de 33,5% (p/p), 18,5% (p/p) de creme de leite (20% gordura), 1,25% (p/p) de xarope de glicose de milho e 11,0% (p/p) de sacarose, 3,43% (p/p) de leite em pó desnatado e 1,0% (p/p) de concentrado proteico de soro (80% proteína), 5,0% (p/p) de inulina e oligofrutose na forma de mistura (proporção de 1:1) ou pura e gelatina em pó como agente geleificante autorizado pelas Boas Práticas de Fabricação como *quantum satis*, preferivelmente 1,25% (p/p). Esta mistura base deve ser submetida à homogeneização (1500-2000 rpm) por tempo suficiente para obter dissolução completa dos ingredientes. A mistura pode ser mantida por até 24 horas sob temperatura de refrigeração (± 4°C), podendo permanecer sob agitação (150-200 rpm) ou em sistema estático. Após este período, esta mistura base deve ser submetida ao aquecimento por 63-66°C por 30 minutos, seguido de

resfriamento para 35-40°C, preferivelmente 35°C. Na mistura resfriada deve ser adicionada a cultura lática preferivelmente na concentração de 3,0% (p/p) com população de aproximadamente 10 a 11 log UFC/mL de *Lactobacillus acidophilus* e *Pediococcus acidilactici* B14 associados na proporção 1:1, 20% de polpa integral de frutas e agente emulsificante na concentração de 2,0% (p/p) e o conservante sorbato de potássio na concentração de 0,07% (p/p). Após a adição do restante dos componentes esta mistura deve ser submetida ao processo de aeração mecânica por aproximadamente 8 a 10 minutos, com velocidade de aproximadamente 500 rpm e em seguida deve ser envasada em embalagens individuais estéreis de polipropileno, preferivelmente de 100 mL e mantidas em temperatura de refrigeração (± 4°C) por até 28 dias. Nestas condições de processamento obtêm-se contagens de 7,75 a 7,20 log UFC/g ou 9,82 a 9,26 log UFC/120g da sobremesa. Opcionalmente podem ser adicionados ao final do processo de aeração pedaços/ preparados de frutas ou confeitos.

[49] Quanto às características legais consideradas para o desenvolvimento da presente invenção, pode-se destacar: na presente invenção o teor total de proteínas é representado por proteínas de origem vegetal (soja) e animal (leite e gelatina), sendo que 45% são provenientes da soja e o restante dividido em 36% de proteínas do leite e 19% de proteínas da gelatina. Desta forma, a invenção pode ser denominada de **sobremesa com soja aerada**. Conforme estabelece a RDC nº 91 de 18 de outubro de 2000.Embora a espécie *Pediococcus acidilactici* não conste na lista de micro-organismos probióticos aceitos pela legislação brasileira, esta espécie tem sido aplicada extensivamente na forma de cultivos *starter* na fabricação de alimentos cárneos e vegetais, aplicada como micro-organismo probiótico em produtos alimentícios em outros países, assim como comercializada na forma de suplementos alimentares para humanos e animais.

[50] Quanto à linhagem B14, os dados obtidos pelo depositante indicam sua potencialidade probiótica, portanto quando associada a uma linhagem probiótica da espécie *Lactobacillus acidophilus* (aceita pela legislação brasileira vigente) apresentou, durante o período de vida de prateleira proposto, uma população de 9,82 a 9,26 log UFC/120g, estando acima da quantidade mínima estabelecida. Desta forma, a **sobremesa com soja aerada pode ser considerada probiótica** conforme estabelece a "Lista de alegações de propriedade funcional aprovadas".

[51] A quantidade total de agentes prebióticos quando adicionados, na forma pura ou associada, foi de 5,0% o que representa uma concentração de 6,0g de prebióticos para a porção de produto pronto para consumo. Desta forma, a sobremesa com soja aerada

probiótica adicionada de ingredientes prebióticos' pode ser considerada **sobremesa com soja aerada simbiótica**, conforme a estabelece a "Lista de alegações de propriedade funcional aprovadas".

[52] Quanto à porção pronta para consumo para a sobremesa com soja aerada probiótica/simbiótica, como não está contemplada a modalidade sobremesas com soja na legislação referente, por similaridade, foi considerada a quantidade de **120g para porção de produto pronto para consumo**, indicada para sobremesas lácteas. Conforme estabelece a RDC n° 359 de 23 de dezembro de 2003.

[53] O sorbato de potássio foi adicionado como agente conservante na concentração de 0,07% (p/p) o que representa 0,05% (p/p) em ácido sórbico, a gelatina foi utilizada como agente gelificante autorizado pelas Boas Práticas de Fabricação (BPF) como *quantum satis,* assim como o agente emulsificante cumprindo as exigências estabelecidas pela RDC nº 388 de 05 de agosto de 1999 que trata do "Regulamento técnico que aprova o uso de aditivos alimentares, estabelecendo suas funções e seus limites máximos para a categoria de alimentos 19- sobremesas (outras sobremesas com ou sem gelatina, com ou sem amidos, com ou sem gelificantes)" (BRASIL, 1999).

[54] O relato desta invenção foi apresentado com o propósito de ilustração e descrição. Além disso, esta descrição não tenciona limitar a invenção à forma aqui revelada. Em conseqüência, variações e modificações compatíveis com os ensinamentos anteriormente mencionados, e a habilidade ou conhecimento da técnica relevante, estão inseridos no escopo da presente invenção.

[55] Assim sendo, as modalidades acima descritas tencionam melhor explicar os modos conhecidos para a prática da invenção e para permitir que os técnicos na área utilizem a invenção em tais, ou outras, modalidades e com várias modificações necessárias pelas aplicações específicas ou usos da presente invenção. É a intenção que a presente invenção inclua todas as modificações e variações da mesma, dentro do escopo descrito no relatório e nas reivindicações anexas.

BREVE DESCRIÇÃO DOS GRÁFICOS

[56] A seguir faz-se referência aos Gráficos que acompanham este relatório descritivo, para melhor entendimento e ilustração do mesmo, onde se vê:

[57] O **Gráfico 1** demonstra, pela viabilidade celular em log de Unidades Formadoras de Colônia por mL de meio de cultivo (log UFC/mL), a resistência apresentada pelo *Pediococcus acidilactici* linhagem B14, ao sistema gastrointestinal simulado *in vitro* nas condições de suco

gástrico em pH 2,0 (1) e 4,0 (2), nos tempos de 0 a 360 minutos.

[58] O **Gráfico 2** demonstra, pela viabilidade celular em log UFC/mL, a resistência apresentada pela cultura associada de *Lactobacillus acidophilus* linhagem ATCC 4356 e *Pediococcus acidilactici* linhagem B14 ao sistema gastrointestinal simulado *in vitro* nas condições de suco gástrico em pH 2,0 (1) e 4,0 (2), nos tempos de 0 a 360 minutos.

[59] O **Gráfico 3** apresenta a viabilidade, em log UFC/mL, da cultura associada de *Lactobacillus acidophilus* linhagem ATCC 4356 e *Pediococcus acidilactici* linhagem B14 na sobremesa com soja aerada simbiótica, durante 1, 7, 14, 21 e 28 dias sob temperatura de refrigeração.

[60] O **Gráfico 4** apresenta a distribuição das notas dos julgadores para a aceitabilidade da sobremesa com soja aerada simbiótica de 1 (A) e 28 (B) dias de armazenamento refrigerado. Sendo as notas: desgostei muitíssimo (1), desgostei muito (2), desgostei moderadamente (3), nem gostei/nem desgostei (4), gostei moderadamente (5), gostei muito (6), gostei muitíssimo (7).

REIVINDICAÇÕES

1. SOBREMESAS COM SOJA AERADAS PROBIÓTICAS E/OU SIMBIÓTICAS, **caracterizadas por** conter os seguintes ingredientes e aditivos alimentícios.

a. 33,5% de extrato aquoso de soja a 15,5%;

b. 20% de polpa integral de qualquer fruta, na forma pura ou em mistura com outras frutas e vegetais;

c. 18,5% de creme de leite com 20% de gordura;

d. 11% de sacarose;

e. 5% de agentes prebióticos, na forma de mistura (proporção de 1:1) ou isolada de inulina e/ou oligofrutose;

f. 3,43% de leite em pó desnatado;

g. 3% de cultura lática obtida com a associação (proporção 1:1) das bactérias ácido láticas *Pediococcus acidilactici* B14 e linhagens probióticas d*e Lacotbacillus acidophilus*, preparada na concentração de 5%;

h. 2% de agentes emulsificantes;

i. 1,25% de xarope de glicose de milho;

j. 1,25% de gelatina em pó como agente geleificante;

k. 1% de concentrado proteico de soro com 80% de proteína;

l. 0,07% de conservante como sorbato de sódio ou potássio ou benzoato de sódio ou potássio;

2. SOBREMESAS COM SOJA AERADAS PROBIÓTICAS E/OU SIMBIÓTICAS, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizadas por** ser um alimento funcional, não fermentado, com soja, contendo uma associação de bactérias ácido láticas *Pediococcus acidilactici* B14 e linhagens probióticas d*e Lacotbacillus acidophilus*.

3. SOBREMESAS COM SOJA AERADAS PROBIÓTICAS E/OU SIMBIÓTICAS, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizadas por** ser um alimento funcional, não fermentado, com soja, contendo uma associação de bactérias ácido láticas *Pediococcus acidilactici* B14 e linhagens probióticas d*e Lacotbacillus acidophilus* e com a adição de um ou mais ingredientes prebióticos.

4. SOBREMESAS COM SOJA AERADAS PROBIÓTICAS E/OU SIMBIÓTICAS, de acordo com a reivindicação 3, **caracterizadas por** ser uma sobremesa aerada, com extrato aquoso de soja, ingredientes alimentares, aditivos alimentícios e coadjuvantes de tecnologia, contendo uma associação de bactérias ácido láticas *Pediococcus acidilactici* B14 e linhagens probióticas d*e Lacotbacillus acidophilus*, sendo a inulina o agente prebiótico.

5. SOBREMESAS COM SOJA AERADAS PROBIÓTICAS E/OU SIMBIÓTICAS, de acordo com a reivindicação 3, **caracterizadas por** ser uma sobremesa aerada, com extrato aquoso de soja, ingredientes alimentares, aditivos alimentícios e coadjuvantes de tecnologia, contendo uma associação de bactérias ácido láticas *Pediococcus acidilactici* B14 e linhagens probióticas d*e Lacotbacillus acidophilus*, sendo a oligofrutose o agente prebiótico.

6. SOBREMESAS COM SOJA AERADAS PROBIÓTICAS E/OU SIMBIÓTICAS, de acordo com a reivindicação 3, **caracterizadas por** ser uma sobremesa aerada, com extrato aquoso de soja, ingredientes alimentares, aditivos alimentícios e coadjuvantes de tecnologia, contendo uma

associação de bactérias ácido láticas *Pediococcus acidilactici* B14 e linhagens probióticas d*e Lacotbacillus acidophilus* e inulina associada com oligofrutose como agentes prebióticos.

7. SOBREMESAS COM SOJA AERADAS PROBIÓTICAS E/OU SIMBIÓTICAS, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizadas por** aditivos alimentícios e confeitos ser opcionalmente representados por: corantes, saborizantes, aromatizantes, acidulantes, pedaços e preparados de frutas ou confeitos em geral.

8. PROCESSO DE FABRICAÇÃO DE SOBREMESAS COM SOJA AERADAS PROBIÓTICAS E/OU SIMBIÓTICAS, conforme definidas na reivindicação 1, **caracterizado por** possuir as seguintes etapas: A- Preparo do extrato aquoso de soja a 15,5%; B- Preparo da cultura lática associada a 5%, na proporção de 1:1 de *Pedicoccus acidilactici* B14 e linhagens probióticas de *Lactobacillus acidophilus*; C – Obtenção da sobremesa com soja aerada não fermentada, sendo: mistura dos ingredientes da base (33,5% de extrato aquoso de soja a 15,5%, 18,5% de creme de leite com 20% de gordura, 1,25% de xarope de glicose de milho, 11% de sacarose, 3,43% de leite em pó desnatado, 1% de concentrado proteico de soro de leite com 80% de proteína, 5% de inulina e/ou oligofrutose na forma pura ou misturada (proporção 1:1) e 1,25% de gelatina em pó); pasteurização lenta (63-66ºC/30 minutos); resfriamento a 35ºC, adição dos demais ingredientes (3% de cultura lática associada, 20% de polpa integral de fruta, 2% de agente emulsificante e 0,07% de conservante sorbato de potássio); aeração mecânica a 500 rpm por 8 a 10 minutos; envase e resfriamento a 4ºC.

9. PROCESSO DE FABRICAÇÃO DE SOBREMESAS COM SOJA AERADAS PROBIÓTICAS E/OU SIMBIÓTICAS, de acordo com a reivindicação 8, **caracterizado pelo** processo de mistura da etapa C poder ocorrer por até 24 horas em refrigeração, sob sistema agitado ou estático.

10. PROCESSO DE FABRICAÇÃO DE SOBREMESAS COM SOJA AERADAS PROBIÓTICAS E/OU SIMBIÓTICAS, de acordo com a reivindicação 8, **caracterizado pela** aeração que poder ser realizada por variados métodos de incorporação de ar, não necessariamente mecânico.

GRÁFICO 1

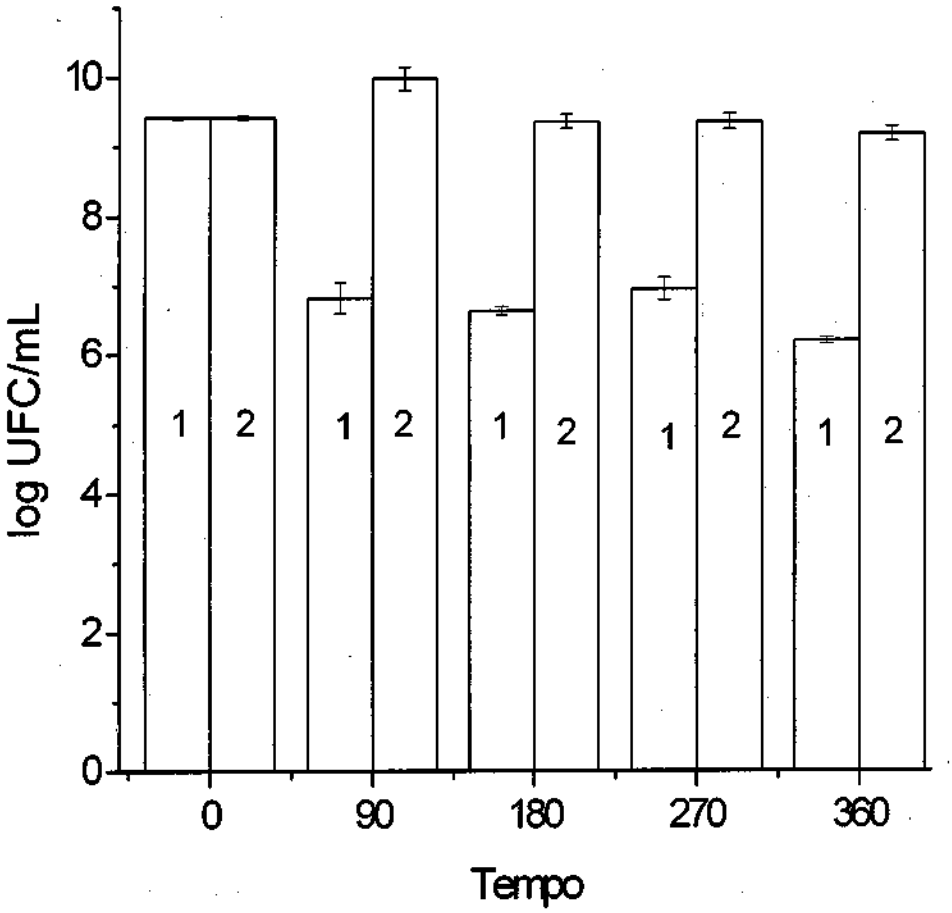


GRÁFICO 2

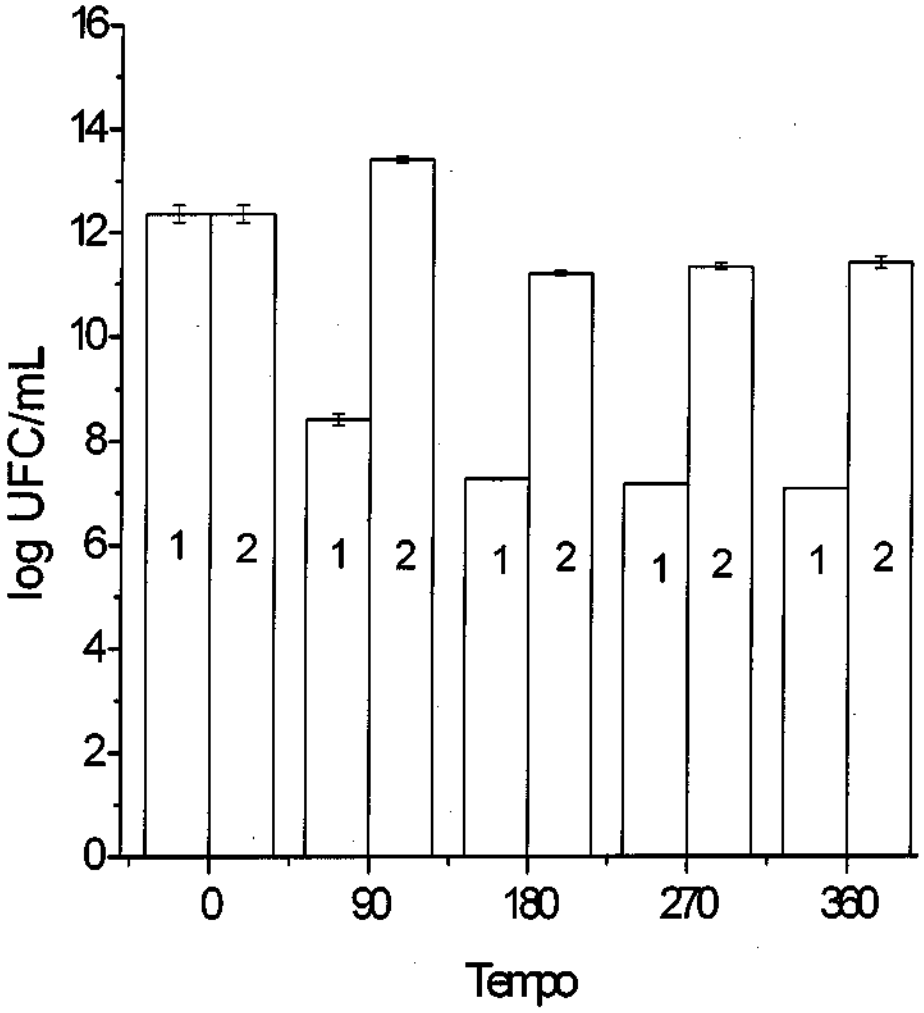


GRÁFICO 3

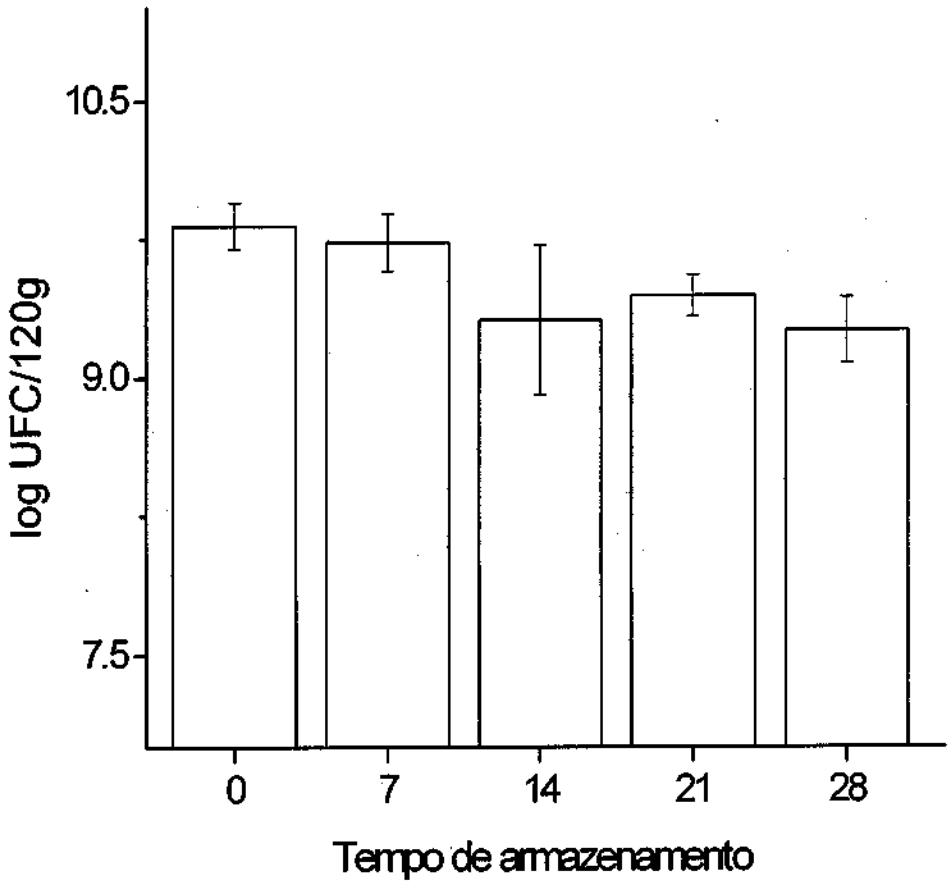
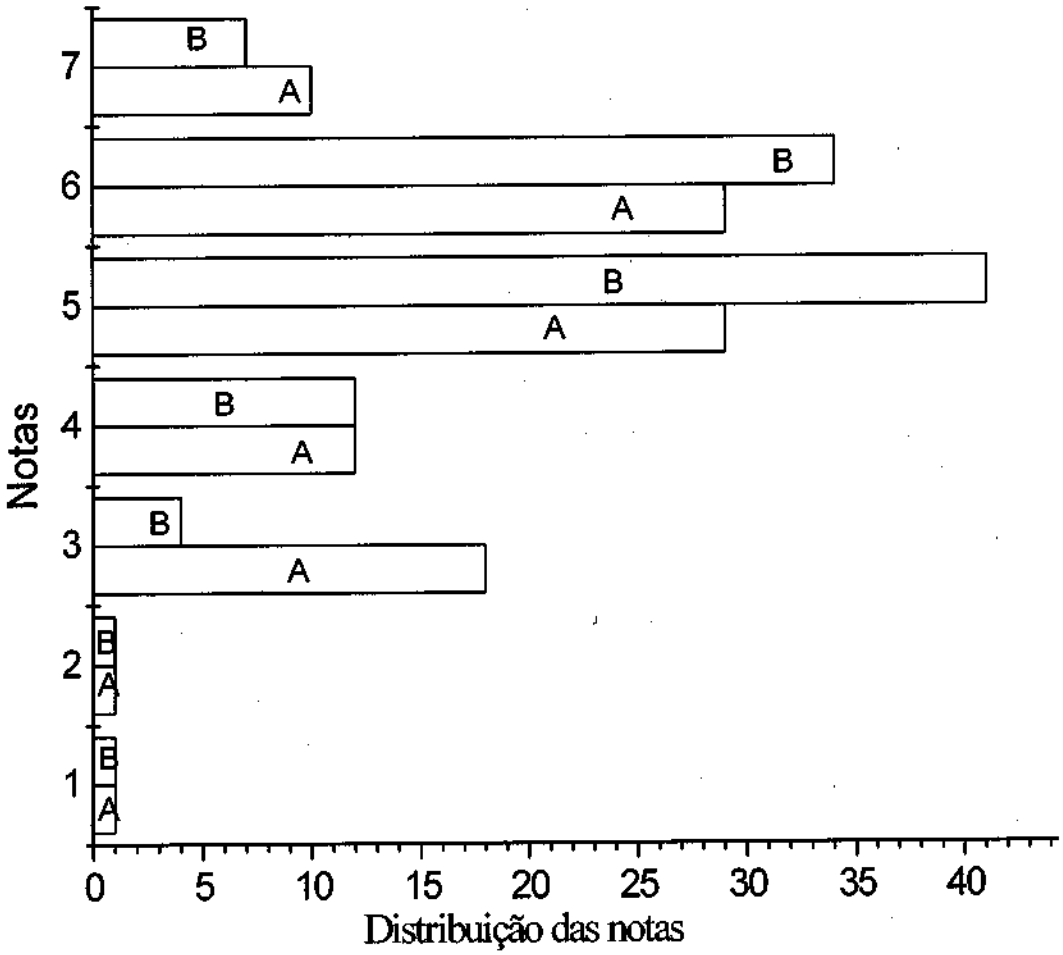


GRÁFICO 4


Notas
7
6
5
4
3
2
1
B
A
0
5
10
15
20
25
30
35
40
Distribuição das notas