



República Federativa do Brasil  
Ministério da Economia  
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) BR 102020021171-4 A2



(22) Data do Depósito: 15/10/2020

(43) Data da Publicação Nacional: 26/04/2022

(54) **Título:** FORMULAÇÃO DE IOGURTE PROBIÓTICO TIPO GREGO SABOR CAJU (ANACARDIUM OCCIDENTALE L.) ACRESCIDO DE CREME E PROCESSO DE OBTENÇÃO

(51) **Int. Cl.:** A23C 9/127; C12R 1/23; A23C 9/133.

(52) **CPC:** A23C 9/127; C12R 1/23; A23C 9/133.

(71) **Depositante(es):** UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO.

(72) **Inventor(es):** NEILA MELLO DOS SANTOS CORTEZ; RIKELYNE GONÇALVES SILVA; GABRIEL CICALES BEVILAQUA; ÍTALO RICARDO DA SILVA NASCIMENTO; GRACILIANE NOBRE DA CRUZ XIMENES; MARCOS UBIRATAM FILGUEIRA OLIVEIRA MENEZES.

(57) **Resumo:** FORMULAÇÃO DE IOGURTE PROBIÓTICO TIPO GREGO SABOR CAJU (Anacardium occidentale L.) ACRESCIDO DE CREME E PROCESSO DE OBTENÇÃO. A presente invenção refere-se à formulação de um iogurte tipo grego probiótico com adição de creme 14% (m/m), que utiliza como ingrediente a polpa de caju 14,5% (m/m). Esse novo produto apresenta-se como um produto diferenciado por aproveitar o pseudofruto do caju na sua formulação. Esta porção do fruto típico da região nordeste do Brasil apresenta elevado valor nutricional, em especial quanto ao teor de vitamina C e fibra. Pouca exploração dentre os produtos pesquisados foram levantados e não possuem a produção de um iogurte concentrado em creme adicionando a polpa de caju conjuntamente. Não há derivados lácteos na literatura equivalente a este estudo. Contudo, alguns resultados de trabalhos similares foram encontrados, usando como base a proteína, para caracterizar o iogurte como grego, ou com uso do caju em bebida láctea fermentada. A associação de um alimento de consumo rápido e prático, como o iogurte, concentrado em creme e saborizado com a polpa in natura do caju (Anacardium occidentale L.), acrescido do probiótico Lactobacillus acidophilus, sugere um alimento funcional completo e inédito.

**FORMULAÇÃO DE IOGURTE PROBIÓTICO TIPO GREGO SABOR CAJU  
(*Anacardium occidentale* L.) ACRESCIDO DE CREME E PROCESSO DE  
OBTENÇÃO**

→ **Campo da invenção**

1. A presente invenção está inserida, de forma abrangente, no setor de produtos lácteos. Consiste na composição e respectiva produção de iogurte tipo grego com adição de cultura probiótica de *Lactobacillus acidophilus* crescido de creme de leite fresco e posteriormente saborizado com a polpa do pseudofruto do caju, *in natura*, macerada (*Anacardium occidentale* L.). Portanto, refere-se, mais especificamente, à produção de um iogurte probiótico com frutas.

→ **Fundamentos da invenção**

2. O iogurte é um produto lácteo, obtido pela fermentação do leite com cultivos pró-simbióticos das bactérias *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus bulgaricus*, sendo o iogurte grego considerado um alimento intermediário entre os leites fermentados tradicionais e os queijos não maturados com alto teor de umidade, podendo ser concentrado em proteína ou em creme. Poucas são as pesquisas de patente em que há similaridade com o desenvolvimento de um iogurte probiótico sabor caju concentrado em creme de leite. Alinhou-se os resultados de alguns estudos com iogurtes concentrados em proteína, tais como: US 20180014550 - “Method for preparing concentrated fermented milk products and fresh cheeses”; WO 2014095543 - “High protein yogurts”; NZ 566552 - “Method of improving the texture of fermented milk”; CN 110692715 A - “Highprotein yoghurt and preparation method thereof”.

3. Também foram evidenciadas patentes em que a elaboração do iogurte concentrado se baseou no uso de gordura animal ou vegetal, em diferentes formulações, que não se enquadram à patente em análise. Nessas pesquisas levantadas temos o CN 106665838 A - “Additive-free yogurt prepared from light cream and preparation method thereof”, que utilizou em sua composição proteína do soro, creme *light* e queijo em pó como base para concentração do iogurte. Também, na patente CN 104705400 A - “Processing process for fat replacing type yoghurt”, utilizando adição de óleos vegetais para aumentar o teor de gordura, diferindo da patente em questão, onde a base de concentração foi creme de leite (origem animal). O estudo CN 109924266 A - “Yogurt fat composition and preparation method thereof”, utilizou, na sua formulação, de 20 a 30% de gordura e outros compostos para concentração, como emulsificante e substâncias coloidais, se distanciando da presente patente por esta utilizar somente compostos lácteos sem nenhum outro aditivo para melhorar a consistência do produto iogurte grego. A patente JP H0614707 A - “Preparation of concentrated yogurt by static fermentation” apresentou, na composição do iogurte, variações nos teores de gordura de 2 a 7% (m/m), porém, trata-se de um iogurte natural sem sabor.

4. Outra base de estudo na pesquisa de anterioridade foi através dos termos relativos a iogurtes probióticos, ou seja, iogurtes que podem ser acompanhados de forma complementar por outras Bactérias Lácticas (BL) que, por sua atividade, contribuem para a determinação das características do produto final. Para receber a nomenclatura de “alimento probiótico”, os leites fermentados e iogurtes devem conter no mínimo  $10^7$  células viáveis por grama ou mililitro do produto. Na pesquisa, foram encontradas algumas patentes como: CN 103583692 A - “Symbiotic functional highprotein greek yogurt utilizing polymeric whey protein as main thickening agent and preparation method thereof”,

produto simbiótico que difere da presente patente por esta não utilizar em sua composição nenhuma fonte de probióticos; WO 2015193845 - “Acidophilic yoghurt”, que produziu um iogurte com a junção da cultura acidófila; e a patente BR 10 2017 021031 - “Desenvolvimento de um composto probiótico a partir do caju (*Anacardium occidentale* L.)”, que elaborou um composto probiótico não-lácteo a partir do fruto caju.

5. Por fim, realizou-se pesquisas relativas a iogurtes saborizados com frutas, porém, das selecionadas, nenhuma patente utilizou o pseudofruto de caju como ingrediente: BR 10 2017 023103 8 A2 - “Processo de elaboração de iogurte grego caprino simbiótico adicionado de geleia de kiwi (*Actinidia deliciosa*) e maçã verde (*Pirus malus*, L.)”; BR 10 2017 020778 1 - “iogurte tipo grego adicionado de geleia extra de pitanga”. Na procura do uso da fruta caju como sabor e ingrediente utilizado em leites fermentados obtivemos apenas a patente BR 10 2015 014709 0 A2 - “Bebida láctea fermentada probiótica à base de soro de leite e polpa de caju”, sendo esta uma bebida láctea utilizando leite e soro de leite, alimento distinto do iogurte tipo grego concentrado em creme, com maior concentração em sólidos lácteos.

#### → Descrição da invenção

6. O passo-a-passo descrito a seguir exemplifica uma maneira de obtenção do produto final, sem limitar a adaptação de outras metodologias para obtê-lo. A presente invenção refere-se ao processo de obtenção de iogurte tipo grego concentrado em gorduras adicionado de polpa de caju, compreendendo as seguintes etapas:

a) Separar as castanhas dos pseudofrutos de caju (*Anacardium occidentale* L.) e higienizá-los a partir do seguinte procedimento: lavar os pseudofrutos com detergente neutro; enxaguá-los com água potável corrente; imergi-los em solução de hipoclorito de sódio 200ppm por

30±1 minutos; enxaguá-los com água destilada; imergi-los em solução de ácido acético 10% (v/v) por 20±1 minutos; imergi-los em água destilada por 10±1min.

b) Obter a polpa do pseudofruto de caju higienizado obtido em (a) a partir das seguintes etapas: trituração em um *mixer* por 5±1 minutos; filtração em peneira para remoção parcial da fibra de caju.

c) Em um recipiente metálico, homogenizar lentamente leite UHT desnatado, 8% (m/m) de açúcar refinado, 2% (m/m) de leite em pó desnatado, creme de leite fresco padronizado a 35% (m/m) de gordura.

d) Pasteurizar a mistura aquecendo-a a 80°C ± 2°C por 30 ± 2 minutos seguida de rápido resfriamento em cuba de gelo até atingir a temperatura final de 44,0°C ± 1,0°C.

e) Adicionar fermento lácteo probiótico liofilizado (Direct Vat Set) contendo *L. acidophilus* LAFIT® LA-10 (1 x 10<sup>12</sup>UFC/g) juntamente com o fermento lácteo cultura de iogurte (*S. thermophilus* e *L. bulgaricus*) (1 x 10<sup>12</sup> UFC/g).

f) Transferir a mistura para frascos de vidro estéreis e encubá-los em estufa com temperatura controlada de 44,0°C ± 1,0°C.

g) Realizar medições de pH a cada hora até atingir pH 4,2 a 4,6.

h) Submeter o produto à temperatura de refrigeração (4,0°C ± 1,0°C) por 24±1h e adicionar a polpa de caju obtida em (b) na concentração de 14,5% (m/v) e homogeneizar lentamente e armazenar o produto sob refrigeração (4,0°C ± 1,0°C).

7. Como consequência do processo, em um segundo aspecto, a inovação se refere à composição de um iogurte compreendendo: 12% a 15% em peso de creme de leite 35% de matéria gorda (m/m), o que correspondeu a um iogurte com 6% de gordura caracterizando-o como iogurte grego com creme; 2% em peso de leite em pó desnatado para contribuir na concentração e textura do produto; 14,5% de adição de ingrediente não-lácteo, a polpa de caju concentrada, para manter o

produto padronizado em creme e validá-lo como iogurte grego em creme; 8% (m/m) de açúcar refinado (não-lácteo) para auxiliar o processo de fermentação, assim como manter a doçura do produto e o balanceamento da formulação para iogurte grego com creme e adição de 2% da cepa probiótica de *Lactobacillus acidophilus* a fim de conferir ao produto fermentado iogurte adicionado de probiótico.

→ **Exemplos de concretizações da invenção**

8. Inicialmente foi realizado o controle do processo fermentativo do iogurte com creme. O tempo de fermentação para o iogurte foi de 6 horas e 30 minutos. O pH e a acidez obtidos durante a fermentação estão expressos na Tabela 1, para o iogurte concentrado em creme.

Tabela 1 - pH e acidez no acompanhamento da fermentação do iogurte com creme

Tempo (min)	pH	Acidez (°D)
60	6,28 ± 0,02	23,00 ± 1,41
120	5,75 ± 0,02	36,00 ± 0,00
180	5,00 ± 0,03	59,00 ± 1,41
240	4,86 ± 0,01	66,00 ± 1,41
300	4,78 ± 0,01	72,00 ± 0,00
330	4,77 ± 0,03	82,50 ± 0,71
360	4,70 ± 0,01	78,00 ± 4,24
390	4,63 ± 0,01	80,00 ± 0,71

9. Podemos afirmar que a acidificação e a coagulação da proteína do leite ocorreram dentro do esperado no processo de fermentação da lactose na ação simbiótica entre as bactérias do fermento do iogurte *S. thermophilus* e *L. bulgaricus*. O pH próximo a 5,7 (em duas horas de

fermentação) mantém condição para a ação do *L. acidophilus*, cepa probiótica utilizada na formulação do iogurte, o que contribuiu no aceleração da acidificação. Assim como a verificação das características físico-químicas da fermentação do iogurte com creme, também foi avaliada a curva de crescimento cinético do *Lactobacillus acidophilus*, considerado um dos principais micro-organismos probióticos utilizado na produção de iogurte (Cruz, 2019). O seu crescimento durante a fermentação foi quantificado e os dados obtidos foram expressos na Tabela 2.

Tabela 2 - Resultados da contagem do *Lactobacillus acidophilus* ao longo da fermentação do iogurte tipo grego com creme

Tempo (h)	Contagem de <i>Lactobacillus acidophilus</i> (logUFC/g)
1	5,30
2	5,68
3	6,76
4	5,95
5	6,18
6	6,20
7	6,47

10. Após a adição da polpa de caju foi realizado o controle físico-químico do produto final e os valores da composição centesimal do iogurte grego probiótico sabor caju estão descritos na Tabela 3.

Tabela 3 - Composição centesimal para o iogurte tipo grego concentrado em creme e adicionado de polpa de caju

Parâmetro	Conteúdo (%)
Umidade	82,19 ± 0,24

Cinzas	0,75 ± 0,03
Gordura	6,05 ± 0,07
Proteínas	3,09 ± 0,03
Carboidratos	7,92 ± 0,11

11. Na Tabela 3 verificou-se que o novo produto se enquadra no estabelecido na Instrução Normativa nº 4 que determina que o iogurte com creme deve ter no mínimo 6% de gordura e 2,9% de proteína.

12. Também foi avaliado durante o período de *shelf-life* os valores de pH, acidez e teor de vitamina C (Ácido Ascórbico - AA) durante os 35 dias de armazenamento, como apresentado na Tabela 4.

Tabela 4 - pH, acidez e concentração de vitamina C (AA) durante o tempo de armazenamento do iogurte tipo grego probiótico com creme sabor caju

Tempo (dias)	pH	Acidez (° D)	Vitamina C (mgAA/100g)
0	4,61 ± 0,01	102,54 ± 0,00	102,54 ± 0,00
7	4,68 ± 0,01	86,26 ± 2,82	86,26 ± 2,82
14	4,46 ± 0,01	84,64 ± 5,64	84,64 ± 5,64
21	4,44 ± 0,01	72,88 ± 2,74	72,88 ± 2,74
28	4,22 ± 0,01	63,37 ± 2,74	63,37 ± 2,74
35	4,35 ± 0,01	58,62 ± 2,74	58,62 ± 2,74

13. O iogurte está sujeito ao decréscimo de pH e consequentemente ao aumento da acidez devido à produção contínua de ácidos, pelas BL, durante a estocagem do produto. O ácido ascórbico (AA) está presente em média, nos sucos industrializados com 40mg AA/100g e o valor recomendado para ingestão diária dessa vitamina é de 25-30mg por 1.000 kcal ingerida. Podemos observar que a inovação

do iogurte grego sabor caju apresentou valores elevados durante todo armazenamento. Esta prática de atender a recomendação diária está associada à ausência de anemia.

14. Com base no controle microbiológico do iogurte grego probiótico com creme sabor caju seguindo o que pede as legislações, foi obtido um produto de excelente qualidade. Analisando os resultados obtidos, tanto para a polpa adicionada, como para o iogurte pronto, comparando com os parâmetros estabelecidos pela legislação, pode-se concluir que ocorreu uma correta manipulação e higiene em todos os processos de produção garantindo um alimento seguro.

15. A contagem do probiótico durante o período de armazenamento avaliado pode ser observado na Tabela 5. De acordo com o encontrado na IN n° 46 o iogurte deve conter em sua formulação, o mínimo uma contagem de UFC/mL de  $10^6$  durante toda vida útil do produto, fator que foi atendido pelo produto.

Tabela 5 - Contagem das bactérias lácticas durante o período de armazenamento do iogurte tipo grego adicionado de creme sabor caju

Tempo (dias)	Concentração de Bactérias Lácticas (UFC/g)
0	$1,67 \times 10^6$
7	$4,54 \times 10^6$
14	$3,27 \times 10^6$
21	$5,76 \times 10^6$
28	$3,66 \times 10^6$
35	$4,14 \times 10^6$

16. Os resultados, Tabela 5, evidenciam a viabilidade da cepa probiótica durante todo o período de armazenamento do produto sob refrigeração a  $4^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ , permanecendo, portanto, em concentração

acima da mínima requerida pela legislação brasileira. A estabilidade da cultura de *L. acidophilus* pode ser afetada pela produção de metabólitos pelos demais microrganismos presentes, como ácidos orgânicos e peróxido de hidrogênio. A manutenção das bactérias lácteas pode ser afetada pela composição química do iogurte, atrapalhando no crescimento dos microrganismos.

## REIVINDICAÇÕES

- 1) Iogurte tipo grego caracterizado por compreender creme de leite, cultura probiótica de *Lactobacillus acidophilus* e polpa de caju (*Anacardium occidentale* L).
- 2) Iogurte, de acordo com a Reivindicação 1, caracterizado por ser elaborado com leite UHT integral ou desnatado.
- 3) Iogurte, de acordo com a Reivindicação 1, caracterizado por compreender preferencialmente uma proporção de 12 a 15% de creme de leite, 14,5% de polpa de caju, 2% de leite em pó desnatado e 8% de açúcar em relação à massa de leite utilizado.
- 4) Iogurte, de acordo com a Reivindicação 1, caracterizado por compreender as culturas de fermento lácteo (*Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus bulgaricus*) e de *Lactobacillus acidophilus* na concentração de  $10^{12}$  UFC/g.
- 5) Processo de produção do iogurte, definido na Reivindicação 1, caracterizado por compreender as seguintes etapas:
  - a) Separar as castanhas dos pseudofrutos de caju (*Anacardium occidentale* L) e higienizá-los a partir do seguinte procedimento: lavar os pseudofrutos com detergente neutro; enxaguá-los com água potável corrente; imergi-los em solução de hipoclorito de sódio 200ppm por  $30 \pm 1$  minutos; enxaguá-los com água destilada; imergi-los em solução de ácido acético 10% (v/v) por  $20 \pm 1$  minutos; imergi-los em água destilada por  $10 \pm 1$  min;
  - b) Com o pseudofruto de caju higienizado, obtido em (a), produzir a polpa a partir da trituração em um processador de alimentos por  $5 \pm 1$  minutos seguida de filtração em peneira para remoção parcial da fibra de caju;

- c) Em um recipiente metálico, homogenizar, lentamente, leite UHT e adicionar, de acordo com a Reivindicação 3, açúcar refinado, leite em pó desnatado e creme de leite fresco padronizado;
- d) Pasteurizar a mistura aquecendo-a a  $80^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  por  $30 \pm 2$  minutos seguida de rápido resfriamento em cuba de gelo até atingir a temperatura final de  $44,0^{\circ}\text{C} \pm 1,0^{\circ}\text{C}$ ;
- e) Adicionar à mistura obtida em (d), de acordo com a Reivindicação 4, os fermentos lácteos liofilizados probióticos de *Lactobacillus acidophilus* e de iogurte (*Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus bulgaricus*);
- f) Transferir a mistura, obtida em (e), para frascos de vidro estéreis e encubá-los em estufa com temperatura controlada de  $44,0^{\circ}\text{C} \pm 1,0^{\circ}\text{C}$ ;
- g) Realizar medições de pH na mistura encubada obtida em (f) a cada hora até atingir pH inferior a 4,6;
- h) Submeter o produto, obtido em (g), à temperatura de refrigeração ( $4,0^{\circ}\text{C} \pm 1,0^{\circ}\text{C}$ ) por  $24 \pm 1$ h;
- i) Adicionar a polpa de caju, obtida em (b), de acordo com a Reivindicação 3, e homogenizar lentamente;
- j) Armazenar o produto, obtido em (i), sob refrigeração ( $4,0^{\circ}\text{C} \pm 1,0^{\circ}\text{C}$ ).

**RESUMO****FORMULAÇÃO DE IOGURTE PROBIÓTICO TIPO GREGO SABOR CAJU  
(*Anacardium occidentale* L.) ACRESCIDO DE CREME E PROCESSO DE  
OBTENÇÃO**

A presente invenção refere-se à formulação de um iogurte tipo grego probiótico com adição de creme 14% (m/m), que utiliza como ingrediente a polpa de caju 14,5% (m/m). Esse novo produto apresenta-se como um produto diferenciado por aproveitar o pseudofruto do caju na sua formulação. Esta porção do fruto típico da região nordeste do Brasil apresenta elevado valor nutricional, em especial quanto ao teor de vitamina C e fibra. Pouca exploração dentre os produtos pesquisados foram levantados e não possuem a produção de um iogurte concentrado em creme adicionando a polpa de caju conjuntamente. Não há derivados lácteos na literatura equivalente a este estudo. Contudo, alguns resultados de trabalhos similares foram encontrados, usando como base a proteína, para caracterizar o iogurte como grego, ou com uso do caju em bebida láctea fermentada. A associação de um alimento de consumo rápido e prático, como o iogurte, concentrado em creme e saborizado com a polpa *in natura* do caju (*Anacardium occidentale* L.), acrescido do probiótico *Lactobacillus acidophilus*, sugere um alimento funcional completo e inédito.