



## LEITE FERMENTADO: POTENCIAL ALIMENTO FUNCIONAL

---

Marion Pereira da Costa<sup>1\*</sup>, Celso Fasura Balthazar<sup>1</sup>, Rodrigo Vilela de Barros Pinto Moreira<sup>2</sup>, Adriano Gomes da Cruz<sup>3</sup>, Carlos Adam Conte Júnior<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Mestrandos, Faculdade Veterinária da Universidade Federal Fluminense, RJ, Brasil.

<sup>2</sup> Graduando, Faculdade Veterinária da Universidade Federal Fluminense, RJ, Brasil.

<sup>3</sup> Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro (IFRJ), Mestrado Profissional em Ciência e Tecnologia de Alimentos (PGCTA), RJ, Brasil.

<sup>4</sup> Departamento de Tecnologia de Alimentos. Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Rio de Janeiro, Brasil.

\* Autor para correspondência e-mail: marionpdc@hotmail.com

**Recebido em: 06/05/2013 – Aprovado em: 17/06/2013 – Publicado em: 01/07/2013**

---

### RESUMO

O leite fermentado apresenta um elevado potencial no desenvolvimento de novos produtos, principalmente por estar relacionado com a saúde e com a praticidade no consumo. Recentemente, as indústrias de alimentos têm explorado essa matriz devido a suas características, que permite a viabilidade funcional dos ingredientes adicionados, a aceitabilidade dos produtos lácteos, e a relação que os consumidores fazem com o aspecto de saudabilidade. Os alimentos funcionais são todos os alimentos ou bebidas que, consumidos na alimentação diária, podem conferir benefícios fisiológicos específicos, devido à presença de compostos biologicamente ativos. Estes alimentos podem ser classificados de acordo com o alimento em si, ou conforme os componentes bioativos nele presentes como, por exemplo, os probióticos, os prebióticos e os compostos funcionais. Os probióticos são microorganismos vivos, que quando ingeridos em quantidades adequadas conferem benefícios à saúde do hospedeiro. Enquanto os prebióticos são carboidratos seletivamente fermentáveis que permitem modificações específicas na diversidade e/ou na atividade da microbiota gastrointestinal, resultando em benefícios ao bem estar e à saúde do hospedeiro. Neste mesmo contexto de aporte de componentes salutares através da ingestão de alimentos estão inseridos os compostos funcionais, como o ácido linoleico conjugado, o folato, a colina e as poliaminas. Contudo, deve-se salientar que para a obtenção destes benefícios, o consumidor deve ingerir uma dose mínima de consumo diário destes produtos funcionais, associado a um hábito de vida saudável, que inclui a prática de exercícios regulares e uma alimentação balanceada.

**PALAVRAS- CHAVE:** Probióticos, prebióticos, compostos funcionais.

## FERMENTED MILK: POTENTIAL FUNCTIONAL FOOD

### ABSTRACT

The fermented milk has a high potential in the development of new products, particularly related to health and the convenience of use. Recently, the food industry has exploited this matrix due to its characteristics, which allows the functional viability of the added ingredients, the acceptability of dairy products, and the relationship that consumers do with the aspect of healthiness. Functional foods are every foods or beverages consumed in the daily diet, which provide specific physiological benefits due to the presence of biologically active compounds. These foods can be classified according to the food itself or as bioactive components present in it such as, for example, probiotics, prebiotics and functional compounds. Probiotics are live microorganisms, when ingested in adequate amounts confer a health benefit of the host. Whilst prebiotics are fermentable carbohydrates, which allow selectively and specific changes in diversity and/or activity of the gastrointestinal microbiota, resulting in benefits to the wellbeing and health of the host. In this same context, the functional compounds are inserted, such as conjugated linoleic acid, folate, choline and polyamines. However, it should be noted that to obtain these benefits, consumers should intake a minimum dose of daily consumption of these functional products, associated with a habit of healthy lifestyle which includes regular exercise and a balanced diet.

**KEYWORDS:** Probiotics, prebiotic, functional compounds.

### INTRODUÇÃO

O leite fermentado foi produzido pela primeira vez acidentalmente por nômades que estocavam o leite proveniente da ordenha em recipientes ou sacolas feitas de estômago de bode. Esta estocagem era favorecida pelo clima árido e seco da região da Eurásia, o que proporcionou a proliferação de bactérias, as quais modificaram a estrutura daquele alimento, tornando-o sensorialmente atrativo para aqueles indivíduos, além de ser uma forma de conservação do leite (HAENLEIN, 2007; YILDIZ, 2010). Por este motivo, estes países possuem uma longa tradição na elaboração destes derivados lácteos (SAXELIN et al., 2003). Atualmente, os leites fermentados são considerados um produto com elevado potencial para o desenvolvimento de novos produtos, principalmente por estarem associados à saúde, o que vem sendo explorado pelas indústrias de laticínios. Este fator está relacionado com três características: (1) as propriedades tecnológicas da matriz láctea, como permitir a viabilidade funcional de ingredientes adicionados ao produto; (2) a elevada praticidade dos derivados lácteos; (3) e a relação que os consumidores fazem dos produtos lácteos com o aspecto de saudabilidade.

Os produtos lácteos representam o mais importante segmento dos alimentos funcionais, sendo os primeiros nesta categoria de alimentos. Os leites fermentados são os produtos de escolha pela indústria alimentícia como veículo de culturas probióticas e adição de ingredientes prebióticos, sendo considerados comercialmente os principais alimentos que contém estes compostos (SANCHEZ et al, 2009). A legislação brasileira define os leites fermentados como "os produtos resultantes da fermentação do leite pasteurizado ou esterilizado, por fermentos lácticos próprios", o que inclui o iogurte, o leite fermentado ou cultivado, o leite

acidófilo, kefir, kumys e coalhada (BRASIL, 2007).

Dos leites fermentados acrescidos de probióticos, prebióticos ou simbióticos, o iogurte é o mais popular, sendo mundialmente o mais produzido e consumido. Na América Latina, o mercado de iogurtes probióticos cresceu 32% de 2005 a 2007, representando 30% do total do mercado de iogurtes produzidos (GRANATO et al., 2010). Este produto é elaborado a partir da fermentação realizada pelas bactérias *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (BRASIL, 2007; CODEX ALIMENTARIUS, 2010), podendo ser acrescido ou não de outras bactérias ácido-lácticas. Na fermentação do iogurte, inicialmente o *Streptococcus thermophilus* metaboliza a lactose produzindo ácido láctico, que diminui o pH favorecendo o crescimento dos lactobacilos. Por sua vez, o *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* libera, a partir da degradação de proteínas lácticas, diversos aminoácidos, que estimulam o crescimento do cocos. Sendo assim, uma bactéria favorece o desenvolvimento da outra (SIEUWERTS et al., 2010).

## ALIMENTOS FUNCIONAIS

O termo Alimentos Funcionais surgiu primariamente no Japão, por volta dos anos 80, referindo-se àqueles alimentos cujo além de seu valor nutritivo, auxiliavam em funções específicas do corpo, devido alguma substância presente nos mesmos. Naquela época uma das primeiras definições de alimentos funcionais foi proposta pela *Foods for Specified Health Use* (FOSHU) como aqueles alimentos que têm efeito específico sobre a saúde devido a sua constituição química, e que não devem expor, quem os consome, ao risco higiênico ou a saúde (MORAES, 2006). Nestes termos, os alimentos funcionais possuem potencial para promover a saúde através de mecanismos não previstos na nutrição convencional, devendo ser salientado que esse efeito restringe-se à promoção da saúde e não à cura de doenças (ROBERFROID, 2007).

A legislação brasileira não define alimento funcional, mas sim a alegação de propriedade funcional e alegação de propriedade de saúde e estabelece as diretrizes para sua utilização, bem como as condições de registro para os alimentos com alegação de propriedade funcional e/ou, de saúde. A alegação de propriedade funcional engloba o papel metabólico ou fisiológico que o composto tem no crescimento, desenvolvimento, manutenção e outras funções normais do organismo humano, enquanto a de saúde compreende a existência da relação entre o alimento ou ingrediente com doença ou condição relacionada à saúde (ANVISA, 1999).

Estes alimentos podem ser classificados de acordo com o alimento em si, ou conforme os componentes bioativos nele presentes como, por exemplo, as fibras dietéticas, os probióticos, os prebióticos, os compostos funcionais, os fitoquímicos, as vitaminas e os minerais essenciais, carotenóides, peptídeos bioativos, além de ácidos graxos insaturados ômega 3 e 6 (KOMATSU et al., 2008).

## PROBIÓTICOS

Os probióticos são micro-organismos vivos, que administrados em quantidades adequadas conferem benefícios à saúde do hospedeiro (FAO, 2001). Uma distinção deve ser feita entre culturas probióticas e culturas iniciadoras. Para as culturas serem denominadas probióticas é essencial que sejam comprovados os

seus benefícios à saúde, enquanto para cultura iniciadora é necessário confirmar sua capacidade de fermentar alimentos. Sendo assim, nem toda cultura iniciadora é probiótica, e por este motivo, nem todo alimento fermentado deve ser considerado probiótico (SANDERS, 2009).

Vários gêneros bacterianos e algumas leveduras são utilizados como micro-organismos probióticos, incluindo os gêneros *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Bifidobacterium*, *Propionibacterium*, *Enterococcus* e *Saccharomyces*, no entanto, estudos têm demonstrado que as principais espécies com características probióticas são o *Bifidobacterium* spp., *L. acidophilus* e o *L. casei*. Atualmente, as principais culturas utilizadas pela indústria como probióticos incluem lactobacilos e bifidobactérias que possuem um longo histórico na produção de derivados lácteos e também são encontradas como parte da microbiota gastrointestinal do homem, além da levedura *Saccharomyces cerevisiae Boulardii* (SHAH, 2007).

Os efeitos dos probióticos podem ser classificados em três categorias: (1) capacidade de modular a defesa do hospedeiro; (2) efeito direto sobre outros micro-organismos, comensais ou patogênicos, o que os tornam importantes na prevenção e tratamento de infecções e restauração do equilíbrio da mucosa intestinal; e (3) efeito baseado na eliminação de produtos resultantes do metabolismo microbiano, como toxinas, o que resulta na desintoxicação do intestino de quem os consomem (OELSCHLAEGE, 2010).

### **Mecanismos de ação dos Probióticos**

As bactérias probióticas têm influências múltiplas e diversas no hospedeiro. Os mecanismos de ação dos probióticos consistem principalmente em: competição por nutrientes e locais de adesão; produção de metabólitos antimicrobianos; alterações nas condições ambientais; e modulação da resposta imune do hospedeiro (SAAD et al., 2013; SINGH et al., 2013). O quadro 1 apresenta de forma resumida os principais mecanismos de ação dos micro-organismos probióticos. Apesar das evidências científicas quanto aos mecanismos de ação dos probióticos, ainda existe uma carência na literatura sobre as vias bioquímicas e moleculares que expliquem completamente estes efeitos, como por exemplo, o de aumentarem a função da barreira intestinal (BERMUDEZ-BRITO et al., 2012).

**QUADRO 1** - Mecanismos de ação dos probióticos

<b>Atividade antimicrobiana</b>	<b>Aumentam a função de barreira</b>	<b>Imunomodulação</b>
Diminuição do pH luminal	Aumento na produção de muco	Efeito nas células epiteliais
Secreção de substâncias antimicrobianas	Melhora a integridade da barreira	Efeito nas células dendríticas
Inibição da multiplicação bacteriana	-	Efeito nos monócitos e macrófagos
Bloqueio da adesão bacteriana às células epiteliais	-	Efeito nos linfócitos

Fonte: Adaptado de HART et al., 2009.

patogênicas, devido inicialmente à competição por sítios de ligação e por nutrientes. Sendo assim, as bactérias patogênicas não conseguem se ligar aos receptores celulares, e são eliminadas. As que conseguem se fixar nas células intestinais têm a multiplicação e desenvolvimento limitados, devido à competição por nutrientes (O'HARA & SHANAHAN, 2007; SHERMAN et al., 2009). Além disso, os probióticos que colonizam o intestino sintetizam compostos, tais como bacteriocinas, ácidos orgânicos voláteis (TEJERO-SARIÑENA et al., 2012) e peróxido de hidrogênio (ATASSI & SERVIN, 2010) que influenciam a instalação e permanência de patógenos. Estes micro-organismos também modulam o sistema imune, devido à inibição da resposta inflamatória no intestino, uma vez que os probióticos inibem o fator de ativação (nuclear-κB), aumentam a atividade das células K, induzem a secreção de citocinas e contribuem para a maturação de células dendríticas (CORREIA et al., 2012).

Atualmente, tem se estudado os mecanismos de ação dos probióticos quanto aos efeitos anticarcinogênicos. Acredita-se que estes ocorrem através de (1) inibição de bactérias responsáveis por converter substâncias pré-carcinogênicas (como os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos e as nitrosaminas) em carcinogênicas; (2) inibição direta na formação de células tumorais; e (3) capacidade de ligação e/ou inativação de substâncias carcinogênicas (DENIPOTE et al., 2010). RAFTER (2003) sugere vários mecanismos de atuação, incluindo o estímulo da resposta imune do hospedeiro (por aumentar a atividade fagocitária, a síntese de IgA e a ativação de linfócitos T e B), a ligação e a degradação de compostos com potencial carcinogênico, alterações qualitativas e/ou quantitativas na microbiota intestinal envolvidas na produção de carcinógenos e de promotores (ex: degradação de ácidos biliares), produção de compostos antitumorígenos ou antimutagênicos no cólon (como o butirato), alteração da atividade metabólica da microbiota intestinal, alteração das condições físico-químicas do cólon com diminuição do pH e efeitos sobre a fisiologia do hospedeiro.

### ***Benefícios à saúde***

Uma série de benefícios à saúde são atribuídos aos produtos que possuem probióticos, incluindo: atividade antimicrobiana; controle de micro-organismos patogênicos (LAHTINEN et al., 2012); hidrólise da lactose; modulação da constipação; atividade antimutagênica e anticarcinogênica (DENIPOTE et al., 2010; KUMAR et al., 2011); redução do colesterol sanguíneo, melhora do quadro de pacientes com diabetes tipo 2 (resistência a insulina) e obesidade (ARONSSON et al., 2010; AN et al., 2011; NAITO et al., 2011); modulação do sistema imune; melhora na doença inflamatória do intestino; e supressão de *Helicobacter pylori* infection (SHAH, 2000; MYLLYLUOMA et al., 2005; SALMINEN et al., 2010). Alguns destes benefícios já são bem estabelecidos, como a modulação da constipação e hidrólise da lactose, enquanto outros benefícios têm mostrado resultados promissores em modelos animais, necessitando ainda de mais estudos clínicos.

Deve-se salientar que estes benefícios à saúde são transmitidos por linhagens probióticas específicas, e não por espécie ou gênero específicos. E ainda, que cada linhagem está relacionada com um determinado benefício. Desta forma, nenhuma cepa irá fornecer todos os benefícios propostos. Como por exemplo, o *Lactobacillus casei* linhagem Shirota, no qual há evidências suficientes que apoiam a

visão de que sua administração por via oral é capaz de auxiliar na digestão e absorção dos nutrientes e restabelecer o equilíbrio normal da microbiota intestinal (CATS et al., 2003). Outros fatores relevantes são adição de misturas de culturas probióticas, ao invés de cepas individuais (CHAPMAN & GIBSON, 2011), e o número de células viáveis destes micro-organismos no produto comercializado.

## PREBIÓTICOS

Os prebióticos são substâncias seletivamente fermentáveis que permitem modificações específicas na composição e/ou na atividade da microbiota gastrointestinal, resultando em benefícios ao bem estar e à saúde do hospedeiro (ROBERFROID, 2007; WANG, 2009). Qualquer alimento que contem carboidrato, principalmente oligossacarídeos, pode ser classificado como um prebiótico, desde que atendam a dois critérios: não serem hidrolizados ou absorvidos no trato gastrointestinal, e serem fermentados por um número limitado de micro-organismos, como por exemplo, as bifidobactérias e os lactobacilos (GIBSON & ROBERFROID, 2008).

Os principais prebióticos utilizados pela indústria de alimentos mundial são as oligofrutoses, os fruto-oligossacarídeos (FOS), a inulina, os isomalto-oligossacarídeos (IMO), os glico-oligossacarídeos (GOS) e os trans-galacto-oligossacarídeos (TOS). Dentre os citados, a inulina e os fruto-oligossacarídeos são os mais estudados (SIRÓ et al., 2008), e ainda são os únicos nos quais a alegação de efeito sobre a composição da microbiota intestinal é permitida no Brasil. A inulina e o fruto-oligossacarídeo pertencem a uma classe de carboidratos denominados frutanos, que são considerados ingredientes funcionais, uma vez que exercem influência sobre os processos fisiológicos e bioquímicos no organismo, resultando em melhoria da saúde e redução no risco de ocorrência de diversas enfermidades (ROBERFROID, 2007).

A inulina, oligofrutose e os FOS são quimicamente similares, diferindo apenas pelo grau de polimerização, ou seja, pelo número de unidades de monossacarídeos que compõem a molécula (DAVIDSON & CARVALHO, 2007). Estes compostos apresentam importância nutricional e tecnológica, podendo ser utilizados em alimentos, tanto como suplemento, quanto como substitutos de macronutrientes. Como suplementos, são adicionados devido as suas propriedades nutricionais, aumentando o teor de fibra dos produtos. Em outras aplicações, são adicionados para permitirem alegações de propriedade funcional, como aquelas relacionadas à atividade bifidogênica (propicia o crescimento das bifidobactérias). Além disso, podem ser utilizados como substitutos de macronutrientes, sendo a inulina e o FOS utilizados para substituir gordura e açúcar, respectivamente (COUSSEMENT, 1999). Por não apresentarem sabores residuais e não contribuírem significativamente para a viscosidade dos alimentos é possível utilizá-los em concentrações elevadas, originando produtos com alta concentração de fibras e semelhantes em aparência e sabor aos convencionais (NINESS, 1999).

### *Inulina*

A inulina é um carboidrato polidisperso, constituído de subunidades de frutose (2 a 150), ligadas entre si e a uma glicose terminal. É uma fibra solúvel, fermentável e não digerível pela  $\alpha$ -amilase e por enzimas hidrolíticas, como a sacarase e a

maltase, desta forma não é absorvida na parte superior do trato gastrointestinal, fornecendo substrato para as bactérias do intestino grosso (CARABIN & FLAMM, 1999). Este composto é muito utilizado na indústria alimentícia com o intuito de obter produtos com menor teor de gordura. Em altas concentrações, a inulina tem propriedade de formação de gel quando misturada à água ou leite, resultando em estrutura cremosa que pode ser incorporada em alimentos para substituir até 100% da gordura (FRANCK, 2002). A produção comercial da inulina ocorre a partir da extração de raízes de chicória (*Cichorium intybus*). É comercializada na forma de pó branco, sem odor, de sabor neutro e alta pureza. Não contém glúten, gordura, proteína e ácido fítico, podendo apresentar apenas pequenas quantidades de alguns minerais e sais (ROBERFROID, 2005). Atualmente, é empregada em diversos produtos, como, por exemplo, produtos lácteos e de panificação, bebidas, cereais, entre outros (MEYER et al., 2011).

CRUZ et al., (2010) demonstraram que a inulina pode substituir a gordura em produtos lácteos, sem alterar as propriedades sensoriais dos mesmos. Fato este que é corroborado por PIMENTEL, GARCIA & PRUDENCIO (2012) que utilizaram a inulina de cadeia longa como substituto de gordura na elaboração de iogurtes naturais desnatados obtendo características texturais (firmeza, coesividade, adesividade e gomosidade) e sensoriais (aceitabilidade) semelhantes aos iogurtes integrais. Além disso, OLIVEIRA et al. (2011) demonstraram que a suplementação de leite desnatado com inulina, mesmo em baixas concentrações, melhora significativamente o crescimento e viabilidade de *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus rhamnosus* e *Bifidobacterium lactis* em leite fermentado desnatado.

### **Fruto-oligossacarídeos**

A oligofrutose e os FOS são termos sinônimos utilizados para denominar frutanos do tipo inulina com grau de polimerização inferior (CARABIN & FLAMM, 1999), caracterizados como uma inulina de cadeia curta, não digerível, obtida a partir da hidrólise enzimática (VILLEGAS & COSTELL, 2007). Seus nomes derivam de oligossacarídeos compostos predominantemente de frutose. O termo oligofrutose é mais frequentemente empregado na literatura para descrever inulinas de cadeia curta, obtidas por hidrólise parcial da inulina da chicória. O termo FOS tende a descrever misturas de frutanos do tipo inulina de cadeia curta, sintetizados a partir da sacarose (DAVIDSON & CARVALHO, 2007). Portanto os fruto-oligossacarídeos consistem de moléculas de sacarose, compostas de duas ou três subunidades de frutose adicionais, incorporadas enzimaticamente, através de ligação  $\beta(2\rightarrow1)$  à subunidade frutose da sacarose (KOLIDA & GIBSON, 2008).

As oligofrutoses e os FOS são encontrados na forma de pó ou xaropes incolores e têm propriedades tecnológicas semelhantes às do açúcar e xaropes de glicose, apresentando maior quantidade de açúcares livres quando comparados a inulina. São dificilmente utilizados sozinhos como substitutos de açúcar, mas sim combinados com edulcorantes atingindo desta forma os níveis de doçura desejáveis. Em derivados lácteos, principalmente iogurtes com frutas, melhoram o sabor das frutas, a estabilidade e também reduzem a sinérese (COUSSEMENT, 1999; FRANCK, 2002; ROBERFROID, 2005).

## **Benefícios à saúde**

Com relação aos benefícios à saúde proporcionados pela ingestão de frutanos tipo inulina, é comprovado que em humanos há melhoria das funções intestinais e da microbiota residente, visto que são capazes de promover o crescimento e/ou atividade de bactérias específicas e regular a microbiota do intestino grosso, além de inibir o crescimento de micro-organismos patogênicos (QIANG et al., 2009; TÁRREGA et al., 2010). Aumento na absorção de minerais, principalmente o cálcio, aumentando a mineralização óssea (DEMIGNÉ et al., 2008; GIBSON & ROBERFROID, 2008). Outros benefícios, como sensação de saciedade com potenciais consequências positivas para controle de peso (PARNELL & REIMER, 2009), efeito estimulador do sistema imunológico (LOMAX & CALDER, 2009), diminuição no colesterol sanguíneo (JACKSON & LOVEGROVE, 2012) e efeito anticarcinogênico (GURINENI et al., 2010; RAMAN et al., 2013) ainda vêm sendo estudados pela comunidade científica.

## **CONSUMO DIÁRIO DE PROBIÓTICOS E PREBIÓTICOS**

As bactérias probióticas só apresentam efeitos biológicos no ambiente intestinal se atingirem um número mínimo. No entanto, a dose de probióticos necessária, varia segundo a cepa envolvida e o tipo de produto elaborado. Por este motivo, é difícil estabelecer uma dose aplicada para todos os probióticos, o ideal seria estabelecer uma dosagem para cada linhagem baseada em estudos clínicos em humanos. Contudo, diversos autores consideram, no caso do consumo de 100g de produtos lácteos diário, a faixa de  $10^7$  a  $10^9$  UFC  $g^{-1}$  de micro-organismos probióticos viáveis um número recomendável (VINDEROLA & RENHEIMER, 2000; SHAN 2000; TAMINE et al., 2005). Quanto à dose prebiótica, alguns autores afirmaram que de 5 g/dia de inulina, oligofrutose ou FOS pode ser considerada suficiente para alterar benéficamente a microbiota do cólon, no entanto este valor pode chegar a 8 g/dia em casos específicos (MANNING & GIBSON, 2004; GIBSON, 2007; KOLIDA et al., 2007). Deve-se levar em consideração que a administração conjunta de prebióticos e probióticos (simbióticos) possui efeito superior ao quando são administrados separadamente (DENIPOTE et al., 2010). Especificamente em relação ao Brasil, a Comissão Tecnocientífica de Assessoramento em Alimentos Funcionais e Novos Alimentos, instituída junto à Câmara Técnica de Alimentos têm avaliado os produtos com alegações de propriedades funcionais e/ou de saúde aprovados no país (ANVISA, 1999). A recomendação brasileira mais recente para alimentos probióticos é com base na porção diária de micro-organismos viáveis que devem ser ingeridos para efeitos funcionais, sendo o mínimo estipulado de  $10^8$  a  $10^9$  UFC  $dia^{-1}$ . Quanto aos alimentos prebióticos, a recomendação diária mínima de fruto-oligossacarídeos (FOS) e de inulina é de 3 g destes compostos para alimentos sólidos e de 1,5 g para alimentos líquidos (ANVISA, 2008).

## **COMPOSTOS FUNCIONAIS**

### ***Ácido Linoleico conjugado***

O ácido linoleico conjugado (*Conjugated linoleic acid* - CLA) é uma molécula de ácido graxo insaturado com 18 carbonos e duas insaturações, sendo possível



formar 56 isômeros geométricos. Contudo, atualmente, dois isômeros são relacionados com os efeitos benéficos deste grupo, o C18:2 *cis-9, trans-11* por sua atividade anticarcinogênica e o C18:2 *trans-10, cis-12* por sua atividade lipolítica. Alguns estudos em modelos animais têm relacionado outros efeitos benéficos do ácido linoleico conjugado à saúde humana, como a redução da aterosclerose, prevenção e tratamento do *diabetes mellitus* não dependente de insulina, propriedades antitrombóticas, efeitos imunoestimulatório, efeito antioxidante e aumento da massa muscular magra (PARK, 2009; SAILAS & FRIEDRICH, 2009).

O CLA faz parte dos ácidos graxos presente no tecido dos mamíferos, e nestes é formado endogenamente pela glândula mamária através da dessaturação do ácido graxo vacênico (C18:1) pela enzima  $\Delta^9$  dessaturase (PARK, 2009). Os ruminantes além da sua produção endógena, possuem também a capacidade de absorver o ácido linoleico conjugado sintetizado pela biohidrogenação incompleta de ácidos graxos poliinsaturados através do metabolismo da bactéria *Butyrivibrio fibrisolvens* presente em seu rúmen (KIM et al., 2000). Os humanos, por ter o sistema digestivo diferente dos ruminantes, não possuem esta bactéria, apresentando predominantemente os isômeros C18:1 *trans-7* e C18:1 *trans-11* produzidos pela ação da  $\Delta^9$  dessaturase. No entanto, ainda não há evidências científicas de efeitos benéficos à saúde por estes isômeros (PARK, 2009).

Os isômeros do ácido linoleico conjugado (*cis-9, trans-11; trans-10, cis-12*) presentes no leite dos ruminantes podem ser considerados antiaterogênicos (BASSET et al., 2010; WANG et al., 2010) e favorecem a saúde de indivíduos que os consomem (HUSVÉTH et al., 2010). Todavia, NUNES & TORRES (2010) relataram que a ingestão de ácidos graxos, especificamente os isômeros de ácido linoleico conjugado, pela população brasileira é estimada em 36mg/dia, o que está abaixo do consumido por outras populações. O isômero *cis-9, trans-11* de ácido linoleico conjugado é o mais abundante em produtos lácteos e está presente em maiores concentrações na gordura do leite de ovelha e seus derivados que em outras espécies, como vaca e cabra (OSTROVSKY et al., 2009; REVILLA et al., 2009; DEVLE et al., 2012). A estratégia que vem sendo apontada como alternativa tecnológica para aumentar a concentração de CLA nestes produtos seria a adição de micro-organismos probióticos com capacidade de sintetizar estes compostos (RODRÍGUEZ-ALCALÁA et al., 2011).

### **Folato**

Folato, termo geral utilizado para os derivados do ácido fólico, consiste em uma vitamina do complexo B, a vitamina B<sub>9</sub>, que participa em diferentes vias metabólicas, estando envolvida em funções essenciais do metabolismo celular, tais como, replicação e reparação do DNA, e síntese de nucleotídeos, aminoácidos e outras vitaminas. Estes compostos variam de acordo com o estado de oxidação, a substituição de um carbono do anel de pteridina, e o número de resíduos glutamatos. Estas alterações estão associadas às diferentes propriedades físico-químicas dos mesmos, o que vai influenciar na biodisponibilidade, podendo ser diretamente absorvido ou não no trato gastrointestinal (SYBESMA et al., 2003). A deficiência de folato está relacionada também com alguns malefícios à saúde, como anemia megaloblástica, fator de risco para alguns tipos de cânceres, e no caso de gestantes pode originar os defeitos no tubo neural do feto (DE CASTRO et al., 2010).

Apesar de o folato ter grande importância fisiológica, o homem não é capaz de sintetizá-lo, o que o torna um componente essencial da dieta (VAN DER PUT et al., 2001). Este está presente em alguns alimentos, sendo esses considerados como fonte natural desta vitamina. No entanto, o ácido fólico é principalmente encontrado em alimentos fortificados e suplementos dietéticos (BAILEY et al., 2010). Alguns dados sugerem que o aumento do folato natural dos alimentos é benéfico para a prevenção de alguns tipos de câncer, distúrbios neuropsiquiátricos, processos tromboembólicos e doenças cardiovasculares (MUSKIET & KEMPERMAN, 2006; GILBODY et al., 2007), no entanto, acredita-se que o aumento da ingestão de ácido fólico sintético pode estar relacionado ao aumento do risco de câncer colorretal (HIRSCH et al., 2009), e comprometimento cognitivo (MORRIS et al., 2005), além de mascarar a deficiência de vitamina B<sub>12</sub> e a leucemia (IYER & TOMAR, 2009; BAILEY et al., 2010). Por isso, existe a necessidade de encontrar estratégias tecnológicas visando elevar os níveis naturais de folatos nos alimentos.

Estes compostos naturais são produzidos por várias plantas e por alguns micro-organismos (SHOHAG et al., 2011; D'AIMMO et al., 2012), por isso, legumes e produtos lácteos são as principais fontes de folato para o homem. Alguns autores vêm relatando que as bactérias ácido lácticas, principal grupo bacteriano utilizado como probiótico, possuem a capacidade de sintetizar o ácido fólico e seus derivados. Por este motivo os produtos lácteos fermentados, especialmente iogurtes, são relatados por conter elevadas quantidades de folato (FORSSSEN et al., 2000; SYBESMA et al., 2003), o que resulta diretamente da produção adicional de folato por estas bactérias

A preocupação com a ingestão de folato por órgãos governamentais tem sido direcionada principalmente para mulheres em fase reprodutiva e por gestantes, pois esta vitamina ajuda a prevenir os defeitos do tubo neural no feto, tais como a espinha bífida e a anencefalia (PITKIN, 2007). De tal forma que a *American College of Obstetricians and Gynecologists*, a *American Academy of Pediatrics* (ACOG, 2002) e a *March of Dimes* empreenderam um programa de educação pública sobre folato e defeitos do tubo neural. O *Institute of Medicine* recomenda que todas as mulheres capazes de engravidar devem consumir 0,4 mg de ácido fólico por dia a partir de suplementos ou alimentos fortificados, além de folato consumido a partir de uma dieta variada (INSTITUTE OF MEDICINE NATIONAL ACADEMY PRESS, 1998).

### **Colina**

A colina ou fator lipotrófico é um composto, no qual a função final é ser fonte de grupos metil para reações de metilação. É encontrada tanto em células animais como vegetais, e pode se apresentar de três formas: colina livre; acetilcolina; ou lecitina em fosfolípídeos. Esta substância reage com a acetil coenzima A, atuando como precursor da acetilcolina (SHIAU & LO, 2000) e da fosfatidilcolina (BENDER, 2003). A colina tem funções nos tecidos como um componente da lecitina e pode ser incorporada diretamente no 1,2-diglicerídeo após a fosforilação por ATP e formação de difosfolina de citidina. É um nutriente essencial em dietas de vários vertebrados, incluindo humanos, cães, gatos, suínos, ratos, coelhos, aves e peixes (KASPER et al., 2000).

A colina é importante para a integridade estrutural da membrana celular, a neurotransmissão colinérgica, a sinalização transmembrana e o transporte de lípidos

e colesterol, por ser um precursor para a acetilcolina, fosfolípidos, e o doador de metilo betaína. Como folato, uma vez que a colina é oxidada para a betaína, pode proporcionar unidades de um carbono na conversão de homocisteína a metionina, gerando S-adenosil-metionina. Contudo, apesar do papel da colina e da betaína como doadores de metila no metabolismo, poucos estudos examinam as associações entre o consumo de colina e betaína e o risco de câncer (JOHANSSON et al., 2009; ZHANG et al., 2013). LEE et al., (2010) não encontraram nenhuma associação entre a ingestão de colina e betaína e o risco de câncer colorretal em homens. Enquanto RICHMAN et al., (2012) associaram a ingestão de colina ao aumento do risco de câncer de próstata.

Seres humanos saudáveis, com níveis normais de folato e vitamina B<sub>12</sub>, mas com uma dieta deficiente em colina podem desenvolver esteatose hepática, danos no fígado ou dano muscular, estes desapareceram quando a colina é reestabelecida à dieta (FISCHER et al., 2007; RESSEGUIE et al., 2007), além de elevações nos marcadores de danos no DNA e no gene de expressão dos linfócitos (DA COSTA et al., 2006). No caso de mulheres durante a gestação, há maior risco do recém nascido apresentar um defeito do tubo neural ou na fenda palatina (SHAW et al., 2006). ZEISEL & COSTA (2009) concluem com sua revisão, a necessidade imediata de aumentar a conscientização entre os profissionais de saúde e os consumidores da importância da ingestão de colina, uma vez que esta é uma substância essencial. A colina pode ser adquirida a partir da dieta e via biossíntese *de novo* através da metilação de fosfatidiletanolamina, a fosfatidilcolina. O *Institute of Medicine* recomenda que a ingestão diária de colina seja de 425 e 550 mg para mulheres e homens, respectivamente, principalmente durante o período de gravidez e lactação (INSTITUTE OF MEDICINE, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES, 1998).

A colina e os ésteres de colina são amplamente encontrados em alimentos, no entanto, os produtos de origem animal possuem maior concentração de colina do que produtos de origem vegetal. Ovos, carne, frango, peixe e leite são fontes de colina, fornecendo pelo menos 10% da porcentagem diária necessária (GLENN et al., 2008). Em ruminantes a produção de compostos metilados para o leite é alta, sendo cerca de 3-5g/d e 0,10-0,15 g/d de colina livre no leite de vacas e cabras, respectivamente (PINOTTI et al., 2008), sendo o leite e seus derivados fonte de colina para o homem.

### ***Poliaminas***

As poliaminas, espermina e espermidina, são aminas alifáticas que são essenciais a todas as células vivas (OKAMOTO et al., 1997), estando presentes em bactérias e fungos, em plantas, em vírus, e em células de mamíferos. Tradicionalmente, são classificadas dentro do grupo de aminas biogênicas, no entanto, devido às suas funções biológicas específicas, estão se tornando um grupo peculiar (KALAC & KRAUSOV, 2005). Para o homem, existem três possíveis fontes de poliaminas, (1) biossíntese de aminoácidos; (2) captação de poliaminas pré-formadas a partir da dieta; e, (3) as poliaminas pré-formadas pela microbiota intestinal (WALLACE, 1996).

As poliaminas estão envolvidas em diversos processos vitais como síntese de DNA, RNA e proteínas, na proliferação e no crescimento celular, na estabilidade da membrana, na resposta ao estresse e retardamento da senescência. Desempenham funções celulares exclusivas, como iniciação e controle da translação de RNAm para

síntese protéica (BARDÓCZ et al., 1995; SEILER, 2003). Estas aminas são também eficientes sequestradoras de radicais livres, podendo inibir a peroxidação lipídica e retardar a senescência, além de possuírem implicações na renovação e funcionalidade do trato digestivo e na maturação da mucosa intestinal (MOINARD et al., 2005).

Em fetos e em recém-nascidos há uma alta necessidade de poliaminas, visto que estas estão associadas a fatores de crescimento no lúmen, promoção da maturação intestinal, diminuição da permeabilidade da mucosa a macromoléculas e prevenção de alergias alimentares, possuindo um importante papel no crescimento celular e no desenvolvimento do sistema digestivo. Por isto ocorre um aumento considerável da síntese de poliaminas nas glândulas mamárias durante a gravidez e a lactação (DELOYER et al., 2001; DELOYER et al., 2005).

As poliaminas estão presentes em diversos alimentos, e em quantidades variáveis, originado-se, principalmente, a partir da descarboxilação de aminoácidos, tais como a arginina e a ornitina (BAUZA et al., 2007). Isto explica porque são encontradas em elevadas concentrações em produtos alimentares fermentados, como os leites fermentados (BARDÓCZ et al., 1993). Os produtos lácteos contêm principalmente espermidina, e como o leite, são as principais fontes de poliaminas para os recém-nascidos (MOINARD et al., 2005). Comparando com leite de outros mamíferos, como o homem e o bovino, o leite de cabra possui maior concentração total (PŁOSZAJ et al., 1997) dessas aminas. Entretanto, no leite o conteúdo de poliaminas é variável, em função da degradação que ocorre em consequência da atividade da enzima poliamina oxidase (LOSER, 2000). A utilização de bactérias produtoras de poliaminas em produtos lácteos fermentados poderia ser uma estratégia de elevar as concentrações destes compostos em alimentos destinados a recém-nascido e crianças.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nos últimos anos, as modificações nas tendências alimentares indicaram o maior interesse dos consumidores por uma dieta mais saudável. Estas variações são influenciadas pela mudança no estilo de vida, e pela crescente preocupação com a saúde, e prevenção de doenças por parte da população. Neste contexto os alimentos funcionais ganharam espaço no mercado mundial, representados principalmente pelos produtos lácteos, tendo os leites fermentados maior destaque. Estes produtos são os mais utilizados para a incorporação de culturas probióticas e ingredientes prebióticos, uma vez que permitem a viabilidade funcional destes componentes. A produção de compostos funcionais por micro-organismos, que podem ou não ser probióticos, se apresenta como uma alternativa interessante na elaboração de leites fermentados funcionais. No entanto, cabe ressaltar que somente através de uma alimentação balanceada e hábito de vida saudável associados a um consumo diário mínimo destes produtos funcionais serão alcançados os efeitos benéficos propostos.

## REFERÊNCIAS

ANVISA (1999). AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA Resolução nº 18, de 30 de abril de 1999. Aprova o **Regulamento Técnico que estabelece as diretrizes básicas para análise e comprovação de Propriedades Funcionais**

**e/ou Saúde alegadas em rotulagem de alimentos.** Ministério da Saúde, Brasília.

ANVISA (2008). AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA **Alimentos com alegações de propriedades funcionais e ou de saúde, novos alimentos/ingredientes, substâncias bioativas e probióticos: lista de alegações de propriedade funcional aprovadas.** Disponível em: [http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno\\_lista\\_alega.htm](http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno_lista_alega.htm). Acessado em: 17 de janeiro de 2010.

AMERICAN COLLEGE OF OBSTETRICIANS AND GYNECOLOGISTS – AMERICAN ACADEMY OF PEDIATRICS. **Guidelines for perinatal care.** 5<sup>th</sup> ed. Washington,DC: ACOG, p.75–77, 2002.

AN, H. M.; PARK, S.Y.; LEE, K.; KIM, J.R.; CHA, M.K.; LEE, S.W.; LIM, H.T.; KIM, K.J.; HA, N.J. Anti-obesity and lipid lowering effects of *Bifidobacterium* spp. in high fat diet induced obese rats. **Lipids Health Dis.**, v.10, p.116, 2011.

ARONSSON, L.; HUANG, Y.; PARINI, P.; KORACH-ANDRÉ, M.; HÅKANSSON, J.; GUSTAFSSON, J.; PETTERSSON, S.; ARULAMPALAM, V.; RAFTER, J. Decreased fat storage by *Lactobacillus paracasei* is associated with increased levels of angiopoietin-like 4 protein (ANGPTL4). **PLoS ONE**, v.5, 2010.

ATASSI, F.; SERVIN, A. L. Individual and co-operative roles of lactic acid and hydrogen peroxide in the killing activity of enteric strain *Lactobacillus johnsonii* NCC933 and vaginal strain *Lactobacillus gasseri* KS120.1 against enteric, uropathogenic and vaginosis-associated pathogens. **FEMS Microbiol. Letters**, v.304, n.1, p.29-38, 2010.

BAILEY R. L.; DODD, K.W.; GAHCHE, J.J.; DWYER, J.T.; MCDOWELL, M.A.; YETLEY, E.A.; SEMPOS, C.A.; BURT, V.L.; RADIMER, K.L.; PICCIANO, M.F. Total folate and folic acid intake from foods and dietary supplements in the United States: 2003–2006. **Am. J. Clin. Nutr.**, v.91. p.231–237, 2010.

BARDÓCZ, S.; GRANT, G.; BROWN, D.S.; RALPH, A.; PUSZTAI, A. Polyamines in food – implications for growth and health. **J. Nutr. Biochem.**, v.4, p.66–71, 1993.

BARDÓCZ, S. Polyamines in food and their consequences for food quality and human health. **Trends Food Sci. Technol.**, v. 6, p. 341-346, 1995.

BASSET, C. M.; EDEL, A.L.; PATENAUDE, A.F.; MCCULLOUGH, R.S.; BLACKWOOD, D.P.; CHOUINARD, P.Y.; PAQUIN, P.; LAMARCHE, B., PIERCE, G.N. Dietary vaccenic acid has antiatherogenic effects in LDRr mice. **J. Nutr.**, v.140, p.18–24, 2010.

BAUZA, T.; KELLY, M. T.; BLAISE, A. Study of polyamines and their precursor amino acids in Grenache noir and Syrah grapes and wine of the Rhone Valley. **Food Chem.**, v.105, p.405–413, 2007.

BENDER, D.A. Nutritional biochemistry of the vitamins. 2.ed. Cambridge, USA:

**Cambridge University Press**, p.488, 2003.

BERMUDEZ-BRITO, M.; PLAZA-DÍAZ, J.; MUÑOZ-QUEZADA, S.; GÓMEZ-LLORENTE, C.; ANGEL GIL, A.; Probiotic Mechanisms of Action. **Ann. Nutr. Metab.**, v.61, p.160–174, 2012.

BRASIL (2007). MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO (MAPA) Instrução Normativa nº 46, de 23 de outubro de 2007. Adota o **Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de leites fermentados**. Diário oficial da República Federativa do Brasil, Brasília.

CARABIN, I. G.; FLAMM, W. G. Evaluation of safety of inulin and oligofructose as dietary fiber. **Regul. Toxicol. Pharmacol.**, v.30, p.268-282, 1999.

CATS, A.; KUIPERS, E.J.; BOSSCHAERT, M.A.; POT, R.G.; VANDENBROUCKE-GRAULS, C.M.; KUSTERS, J.G. Effect of frequent consumption of a Lactobacillus casei-containing Milk drink in Helicobacter pylori-colonized subjects. **AP&T**, v.17, n.3, p.429-435, 2003.

CHAPMAN, C. M. C.; GIBSON, G. R. Health benefits of probiotics: are mixtures more effective than single strains? **Eur. J. Nutr.**, v.50, p.1-17, 2011.

CODEX STAND 243-2003. Codex Standart for fermented milk. 2ed. Codex **Alimentarius Comission**, Belgium: 2010, 11p.

CORREIA, M. I. T. D.; LIBOREDO, J. C.; CONSOLI, M. L. D. The role of probiotics in gastrointestinal surgery. **Nutrition**, v.28, n.3, p.230-234, 2012.

COUSSEMENT, P. A. A. Inulin and oligofructose: safe intakes and legal status. **J. Nutr.**, v.129, p.1412S-1417S, 1999.

CRUZ, A. G.; CADENA, R.S.; WALTER, E.H.M.; MORTAZAVIAN, A.M.; GRANATO, D.; FARIA, J.A.F.; BOLINI, H.M.A. Sensory analysis: relevance for prebiotic, probiotic, and synbiotic product development. **Compr. Rev. Food Sci. Food Safety**, v.9, n.4, p.358–373, 2010.

D'AIMMO, M.R.; MATTARELLI, P.; B. BIAVATI, B.; CARLSSON, N.G.; ANDLID, T. The potential of bifidobacteria as a source of natural folate. **Journal of Applied Microbiology**, v.112, p.975–984, 2012.

DA COSTA, K.A.; NICULESCU, M.D.; CRACIUNESCU, C.N.; FISCHER, L.M.; ZEISEL, S.H. Choline deficiency increases lymphocyte apoptosis and DNA damage in humans. **Am. J. Clin. Nutr.**, v.84, p.88–94, 2006.

DAVIDSON, P.; CARVALHO, G. Ecologia e disbiose intestinal. In: PASCHOAL V.; NAVES, A.; FONSECA, A. B. B. L. **Nutrição Clínica Funcional: dos princípios a prática clínica**. São Paulo: Valeria Paschoal, 2007.

DE CASTRO, S.C.; LEUNG, K.Y.; SAVERY, D.; BURREN, K.; ROZEN, R.; COPP, **ENCICLOPÉDIA BIOSFERA**, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.9, N.16; p. 1400 2013

A.J.; GREENE. N.D. Neural tube defects induced by folate deficiency in mutant curly tail (*Grhl13*) embryos are associated with alteration in folate one-carbon metabolism but are unlikely to result from diminished methylation. **Birth Def. Res.**, v.88, part A, p.612-618, 2010.

DELOYER, P.; PEULEN, O.; DANDRIFOSSE, G. Dietary polyamines and non-neoplastic growth and disease. **Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.**, v.13, p. 1027, 2001.

DELOYER, P.; PEULEN, O.; DANDRIFOSSE, G. Nitric oxide synthase inhibition reduces the O<sub>2</sub> cost of force development in rat hindlimb muscles pump perfused at matched convective O<sub>2</sub> delivery. **Exp. Physiol.**, v.90, p.901, 2005.

DEMIGNÉ, C.; JACOBS, H.; MOUNDRAS, C.; DAVICCO, M.J.; HORCAJADA, M.N.; BERNALIER, A.; COXAM, V. Comparison of native or reformulated chicory fructans, or non-purified chicory, on rat cecal fermentation and mineral metabolism. **Eur. J. Nutr.**, v.47, p.366-374, 2008.

DENIPOTE, F. G.; TRINDADE, E. B. S. M.; BURINI, R. C. Probióticos e prebióticos na atenção primária ao câncer de cólon. **Arq. Gastroenterol.**, v.47, n.1, 2010.

DENIPOTE, F. G.; TRINDADE, E. B. SANTOS M.; BURINI, R. ROBERTO C. Probióticos e prebióticos na atenção primária ao câncer de cólon. **Arq. Gastroenterol.**, v.47, n.1, 2010

DEVLE, H.; VETTI, I.; NAESS-ANDRESEN, C. F.; RUKKE, E.O.; VEGARUD, G.; EKEBERG, D. A comparative study of fatty acid profiles in ruminant and non-ruminant milk. **Eur. J. Lip. Sci. Techn.**, 7p, 2012.

FISCHER, L.M.; DA COSTA, K.A.; KWOCK, L.; STEWART, P.W.; LU, T.S.; STABLER, S.P.; ALLEN, R.H; ZEISEL, S.H. Sex and menopausal status influence human dietary requirements for the nutrient choline. **Am. J. Clin. Nutr.**, v.85, p.1275–1285, 2007.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS; WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO) (2001). Evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria: Report of a Joint Food and Agriculture Organization of the United Nations. Disponível em: [//ftp.fao.org/es/esn/food/probio\\_report\\_en.pdf](http://ftp.fao.org/es/esn/food/probio_report_en.pdf). Acessado em: 10 de novembro de 2012.

FORSSÉN, K.M.; JÄGERSTAD, M.I.; WIGERTZ, K.; WITTHÖFT, C.M. Foliates and Dairy Products: A Critical Update. **J. Am. Col. Nutr.**, vol.19, n.2, p.100S–110S, 2000.

FRANCK, A. Technological functionality of inulin and oligofructose. **Br. J. Nutr.**, v.87, S2, p.S287-S291, 2002. [fao.org/es/esn/food/probio\\_report\\_en.pdf](http://ftp.fao.org/es/esn/food/probio_report_en.pdf). Acessado em 10 novembro 2012.

GIBSON, G. R. Functional foods: probiotics and prebiotics. **Culture**, v. 28, n.2, p. 1-

7, 2007.

GIBSON, G. R.; ROBERFROID, M. B. Concluding remarks. In: GIBSON, G. R.; ROBERFROID, M. B. Handbook of prebiotics. **London: CRC Press**, 2008. p. 471-473.

GILBODY, S.; LEWIS, S.; LIGHTFOOT, T. Methylene tetrahydrofolate reductase (MTHFR) genetic polymorphisms and psychiatric disorders: A HuGE review. **American Journal of Epidemiology**, v.165, p.1–13, 2007.

GLENN, M.J.; KIRBY, E.D.; GIBSON, E.M.; WONG-GOODRICH, S.J.; MELLOTT, T.J.; BLUSZTAJN, J.K.; WILLIAMS, C.L. Age-related declines in exploratory behavior and markers of hippocampal plasticity are attenuated by prenatal choline supplementation in rats. **Brain Res.**, v.1237, p.110–123, 2008.

GOURINENI, V.P.; VERGHESE, M.; BOATENG, J. Anticancer effects of prebiotics synergy1<sup>®</sup> and soybean extracts: possible synergistic mechanisms in caco-2 cells. **Int. J. Canc. Res.**, v.6, n.4, p.220-233, 2010.

GRANATO, D.; BRANCO, G.F.; CRUZ, A.G.; FARIA, J.A.J.; SHAH, N.P. Probiotic dairy products as functional foods. **Comp. Rev. Food Sci. Food Safety**, v.9, p.455-470, 2010.

HAENLEIN, G.F.W. About evolution of goat and sheep milk production. **Small Rum. Res.**, v.68, p.3-6, 2007.

HART, A.L.; Kamm, M.A.; Stagg, A.J.; Knight, S.C. Mechanisms of Action of Probiotics: Recent Advances. **Inflamm Bowel Dis**, v.15, n.2, 2009.

HUSVETH, F.; GALAMB, E.; GAAL, T.; DUBLECZ, K.; WAGNER, L.; PAL, L. Milk production, milk composition, liver lipid contents and C18 fatty acid composition of milk and liver lipids in Awassi ewes fed a diet supplemented with protected cis-9, trans-11 and trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid (CLA) isomers. **Small Rum. Res.**, v.94, p.25-31, 2010.

INSTITUTE OF MEDICINE, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES. Choline. Dietary reference intakes for folate, thiamin, riboflavin, niacin, vitamin B12, pantothenic acid, biotin, and choline. Washington DC: **National Academies Press**, p.390–422, 1998.

IYER R.; TOMAR S.K. Folate: a functional food constituent. **J Food Sci**, v.74, p.114–22, 2009.

JACKSON, K. G.; LOVEGROVE, J. A. Impact of probiotics, prebiotics and sinbiotics on lipid metabolism in humans. **Nutr. Aging**, v.1, n.3-4, 2012.

JOHANSSON, M.; VAN GUELPEN, B.; VOLLSET, S.E.; HULTDIN, J.; BERGH, A.; KEY, T.; MIDTTUN, O.; HALLMANS, G.; UELAND, P.M.; STATTIN, P. One-carbon metabolism and prostate cancer risk: prospective investigation of seven circulating B vitamins and metabolites. **Can. Epidemiol. Biom. Prev.**, v.18, p.1538, 2009.



KALAC, P.; KRAUSOVÁ, P. A review of dietary polyamines: formation, implications growth and health and occurrence in foods. **Food Chem.**, v.90, p. 219-230, 2005.

KASPER, C.S.; WHITE, M.R.; BROWN, P.B. Choline is required by Tilapia when methionine is not in excess. **Journal of Nutrition**, v.130, p.238-242, 2000.

KIM, W. J.; LIU, R. H. Increase of conjugated linoleic acid content in milk by fermentation with lactic acid bacteria. **J. Food Sci.**, v.67, n.5, p.1731–1737, 2002.

KOLIDA, S.; GIBSON, G. R. The prebiotic effect: review of experimental and human data. In: GIBSON, G. R.; ROBERFROID, M. B. Handbook of prebiotics. **London: CRC Press**, 2008. p.69-92.

KOLIDA, S.; MEYER, D.; GIBSON, G. R. A double-blind placebo – controlled study to establish the bifidogenic dose of inulin in healthy humans. **Eur. J. Clin. Nutr.**, v. 61, n. 10, p. 1189-1195, 2007.

KOMATSU, T. R.; BURITI, F. C. A.; SAAD, S. M. I. Inovação, persistência e criatividade superando barreiras no desenvolvimento de alimentos probióticos. **Rev. Br. Ciênc. Farm.**, v.44, n.3, p.330-332, 2008.

KUMAR, M.; VERMA, V.; NAGPAL, R.; KUMAR, A.; BEHARE, P.V.; SINGH, B.; AGGARWAL, P.K. Anticarcinogenic effect of probiotic fermented milk and Chlorophyllin on aflatoxin-B1 induced liver carcinogenesis in rats. **Br. J. Nutr.**, v.107, p.1006–1016, 2011.

LAHTINEN, S.J.; FORSSTEN, S.; AKO, J.; GRANLUND, L.; RAUTONEN, N.; SALMINEN, S.; VIITANEN, M.; OUWEHAND, A.C. Probiotic cheese containing *Lactobacillus rhamnosus* HN001 and *Lactobacillus acidophilus* NCFM modifies subpopulations of fecal lactobacilli and *Clostridium difficile* in the elderly. **Age (Dordr)**, v.34, p.133–143, 2012.

LEE, J.E.; GIOVANNUCCI, E.; FUCHS, C.S.; WILLETT, W.C.; ZEISEL, S.H.; CHO, E. Choline and betaine intake and the risk of colorectal cancer in men. **Can. Epidemiol. Biom. Prev.**, v.19, n.3, p.884-887, 2010.

LOMAX, A.; CALDER, P. C. Prebiotics, immune function, infection and inflammation: a review of the evidence. **Br. J. Nutr.**, v.101, p.633-658, 2009.

LÖSER, C. Polyamines in human and animal milk. **Bri. J. Nutr.**, v.84, suppl.1, p.S55-S58, 2000.

MANNING, T. S.; GIBSON, G. R. Prebiotics. **Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol.**, v.18, n.2, p.287-298, 2004.

MEYER, D.; BAYARRI, S.; TÁRREGA, A.; COSTELL, E. Inulin as texture modifier in dairy products. **Food Hydr.**, v.25, p.1881-1890, 2011.

MOINARD, C.; CYNOBER, I.; BANDIT, J. P. Polyamines: metabolism and implications in human diseases. **Clin. Nutr.**, v. 24, p. 184-187, 2005.

MORAES, F. Alimentos funcionais e nutracêuticos: definições, legislação e benefícios à saúde. **Rev. Eletr. Farm.**, v. 3, n. 2, p. 109-122, 2006.

MUSKIET, F.A.J.; KEMPERMAN, R.F.J. Folate and long-chain polyunsaturated fatty acids in psychiatric disease. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v.17, p. 717-727, 2006.

MYLLYLUOMA, E.; VEIJOLA, L.; AHLROOS, T.; TYNKKYNEN, S.; KANKURI, E.; VAPAATALO, H.; RAUTELIN, H.; KORPELA, R. Probiotic supplementation improves tolerance to Helicobacter pylori eradication therapy - a placebo-controlled, double-blind randomized pilot study. **AP&T**, v.21, p.1263-1272, 2005.

NAITO, E.; YOSHIDA, Y.; MAKINO, K.; KOUNOSHI, Y.; KUNIHIRO, S.; TAKAHASHI, R.; MATSUZAKI, T.; MIYAZAKI, K.; ISHIKAWA, F. Beneficial effect of oral administration of Lactobacillus casei strain Shirota on insulin resistance in diet-induced obesity mice. **J. Appl. Microbiol.**, v.110, p.650-657, 2011.

NINESS, K. R. Inulin and oligofructose: what are they? **J. Nutr.**, v.129, suppl.7, p.1402S-1406S, 1999.

NUNES, J. C.; TORRES, A. G. Fatty acid and CLA composition of Brazilian dairy products, and contribution to daily intake of CLA. **J. Food Comp. Anal.**, v.23, p.782-789, 2010.

O'HARA, A. M.; SHANAHAN, F. Mechanisms of action of probiotics in intestinal diseases. **Sci. W. J.**, v.7, p.31-46, 2007.

OELSCHLAEGER, T. A. Mechanisms of probiotic actions – A review. **Int. J. Med. Microbiol.**, v.300, p.57-62, 2010.

OKAMOTO, A.; SUGI, E.; KOIZUMI, Y.; YANAGIDA, F.; UDAKA, S. Polyamine content of ordinary foodstuffs and various fermented foods. **Biosci. Biotechnol. Biochem.**, v.61, p.15824, 1997.

OLIVEIRA, R. P. S.; PEREGO, P.; OLIVEIRA, M. N.; CONVERTI, A. Effect of inulin as a prebiotic to improve growth and counts of a probiotic cocktail in fermented skim milk. **LWT - Food Sci. Technol.**, v.44, n.2, p.520-523, 2011.

OSTROVSKÝ, I.; PAVLÍKOVÁ, E.; BLAŠKO, J.; GÓROVÁ, R.; KUBINEC, R.; MARGETÍN, M.; SOJÁK, L. Variation in fatty acid composition of ewes' milk during continuous transition from dry winter to natural pasture diet. **Int. Dairy J.**, v.19, n.9, p.545-549, 2009.

PARK, Y. Conjugated linoleic acid (CLA): good or bad trans fat? **J. Comp. Anal.**, v.22, p.S4-S12, 2009.

PARNELL, J. A.; REIMER, R. A. Weight loss during oligofructose supplementation is associated with decreased ghrelin and increased peptide YY in overweight and obese adults. **Am. J. Clin. Nutr.**, v.89, p.1751-1759, 2009.

PIMENTEL, T.; GARCIA, S.; PRUDENCIO, S. H. Effect of long-chain inulin on the texture profile and survival of *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei* in set yoghurts during refrigerated storage. **Int. J. Dairy Techn.**, v.65, n.1, p. 104-110, 2012.

PINOTTI, L.; CAMPAGNOLI, A.; D'AMBROSIO, F.; SUSCA, F.; INNOCENTI, M.; REBUCCI, R.; FUSI, E.; CHELI, F.; SAVOINI, G.; DELL'ORTO, V.; BALDI, A. Rumen protected choline and vitamin E supplementation in periparturient dairy goats: effects on milk production and folate, vitamin B12 and vitamin E status. **Animal**, v.2, p.1019–1027, 2008.

PITKIN, R. M. Folate and neural tube defects 1, 2, 3. **Am. Soc. Clin. Nutr.**, v.85, n.1, p.1855-1885, 2007.

PLOSZAJ, T.; RYNIOWICZ, Z.; MOTYL, T. Polyamines in goat's colostrums and milk. **C. B. P.**, v.118, n.1, p.45-52, 1997.

QIANG, X.; YONGLIE, C.; QIANBING, W. Health benefit application of functional oligosaccharides. **Carbohydr. Polym.**, v.77, p.435-441, 2009.

RAFTER, J. Probiotics and colon cancer. **Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol.**, v.17, p.849-59, 2003.

RAMAN, M. Potential of probiotics, prebiotics and synbiotics for management of colorectal cancer. **Landes Biosci.**, v.4, n.3, 2013.

RESSEGUIE, M.; SONG, J.; NICULESCU, M.D.; DA COSTA, K.A.; RANDALL, T.A.; ZEISEL, S.H. Phosphatidylethanolamine N-methyltransferase (PEMT) gene expression is induced by estrogen in human and mouse primary hepatocytes. **FASEB J.**, v.21, p.2622–2632, 2007.

REVILLA, I.; LURUEÑA-MARTÍNEZ, M.A.; BLANCO-LOPEZ, M.A.; VIÑUELA-SERRANO, J.; VIVAR-QUINTANA, A.M.; PALACIOS, C. Changes in ewe's milk composition in organic versus conventional dairy farms. **Czech. J. Food Sci.**, v.27, p.S263–S266, 2009.

RICHMAN, E.L.; KENFIELD, S.A.; STAMPFER, M.J.; GIOVANNUCC, E.L.; ZEISEL, S.H.; WILLETT, W.C.; CHAN, J.M. Choline intake and risk of lethal prostate cancer: incidence and survival. **Am. J. Clin. Nutr.**, v.96, n.4, p.855-863, 2012.

ROBERFROID, M. Introducing inulin-type fructans. **Br. J. Nutr.**, v.93, suppl. 1, p.S13-S25, 2005.

ROBERFROID, M. Prebiotics: the concept revisited. **J. Nutr.**, v.137, p.830S–837S, 2007.

RODRIGUÉZ-ALCALÁ, L. M. et al. Quantitative and qualitative determination of CLA produced by *Bifidobacterium* and lactic acid bacteria by combining spectrophotometric and Ag<sup>+</sup>-HPLC techniques. **Food Chem.**, v.125, n.4, p.1373-1378, 2011.

SAAD, N.; DELATTRE, C.; URDACI, M.; SCHMITTER, J.M.; BRESSOLIER, P. An overview of the last advances in probiotic and prebiotic field. **LWT – Food Sci. Techn.**, v.50, p.1-16, 2013.

SAILAS, B.; FRIEDRICH, S. Conjugated linoleic acids as functional food: An insight into their health benefits, a Review. **Nutr. Metabol.**, v.6, p.36, 2009.

SALMINEN, S.; NYBOM, S.; MERILUOTO, J.; COLLADO, M.C.; VESTERLUND, S.; EL-NEZAMI, H. Interaction of probiotics and pathogens—benefits to human health? **Curr. Opin. Biotechn.**, v.21, p.157–167, 2010.

SANCHEZ, B.; REYES-GAVILÁN, C.G.L.; MARGOLLES, A.; GUEIMONDE, M. Probiotic fermented milks: present and future. **Int. J. Dairy Techn.**, v. 62, p. 1-10, 2009.

SANDERS, M. E. How do we know when something called "probiotic" is really a probiotic? A guideline for consumers and Health care Professionals. **Funct. Food Rev.**, v.1, n.1, p.3-12, 2009.

SAXELIN, M.; KORPELA, R.; MAYRA-MAKINEN, A. Introduction: classifying functional dairy products. In: MATTILA-SANDHOLM, T; WOODHEAD, S. M. Functional dairy products. **Publishing Limited**, UK, p. 1-16, 2003.

SEILER, N. Thirty years of polyamine-related approaches to cancer therapy. Retrospect and prospect. Selective enzyme inhibitors. **Curr. Drug Targ.**, v. 4, p. 537-564, 2003.

SHAH, N. P. Probiotic bacteria: selective enumeration and survival in dairy foods. **J. Dairy Sci.**, v.83, n.4, p.894-907, 2000.

SHAW, G. M.; CARMICHAEL, S.L.; LAURENT, C.; RASMUSSEN, S.A. Maternal nutrient intakes and risk of orofacial clefts. **Epidemiology**, v.17, p.285–291, 2006.

SHAH, N. P. Functional cultures and health benefits. **Int. Dairy J.**, v.17, p.1262-1277, 2007.

SHIAU, S.Y.; LO, P.S. Dietary choline requirements of juvenile hybrid tilapia *Oreochromis niloticus* x *O. aureus*. Nutrient Requirements – Short Communication, **Journal of Nutrition**, p.100-103, 2000.

SHERMAN, P. M.; OSSA, J. C.; JOHNSON-HENRY, K. Unraveling mechanisms of action of probiotics. **Nutr. Clin. Pract.**, v.24, n.10, p.1-6, 2009.

SHOHAG MJ, WEI YY, YU N, ZHANG J, WANG K, PATRING J, HE ZL, YANG XE.

Natural Variation of Folate Content and Composition in Spinach (*Spinacia oleracea*) Germplasm. **Agric. Food Chem.**, v.59, p.12520–12526, 2011.

SIEUWERTS, S.; MOLENAAR, D.; VAN HIJUM, S.A.F.T.; BEERTHUYZEN, M.; STEVENS, M.J.A.; JANSSEN, P.W.M.; INGHAM, C.J.; BOK, F.A.M.; VOS, W.M.; VLIEG, J.E.T.V.H. Mixed-culture transcriptome analysis reveals the molecular basis of mixed-culture growth in *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus*. **Appl. Environ. Microbiol.**, v.76, n.23, p.7775-7784, 2010.

SINGH, A.; HACINI-RACHINEL, F.; GOSONI, M.L.; BOURDEAU, T.; HOLVOET, S.; DOUCET-LADEVEZE, R.; BEAUMONT, M.; MERCENIER, A.; NUTTEN, S. Immune-modulatory effect of probiotic *Bifidobacterium lactis* NCC2818 in individuals suffering from seasonal allergic rhinitis to grass pollen: an exploratory, randomized, placebo-controlled clinical trial. **European Journal of Clinical Nutrition**, v.67, p.161-167, 2013.

SIRÓ, I.; KÁPOLNA, E.; KÁPOLNA, B.; LU-GASI, A. Functional food. Product development, marketing and consumer acceptance - A review. **Appetite**, v.51 p.456-467, 2008.

SYBESMA, W.; STARRENBURG, M.; TIJSSELING, L.; HOEFNAGEL, M. H. N.; HUGENHOLTZ, J. Effects of cultivation conditions on folate production by lactic acid bacteria. **Applied and Environmental Microbiology**, v.69, n.8, p.4542–4548, 2003.

TAMIME, A. Y.; SAARELA, M.; SØNDERGAARD, A.K.; MISTRY, V.V.; SHAH, N.P. Production and Maintenance of Viability of Probiotic Micro-organisms in Dairy Products. In: TAMIME, A. Probiotic Dairy Products. Oxford: **Blackwell Publishing Ltd**, 234p. cap.3, p.39-72, 2005.

TÁRREGA, A.; ROCAFULL, A.; COSTELL, E. Effect of blends of short and long-chain inulin on the rheological and sensory properties of prebiotic low-fat custards. **LWT – Food Sci. Technol.**, 43, 556–562. 2010.

TEJERO-SANIÑENA, S.; BARLOW, J.; COSTABILE, A.; GIBSON, G.R.; ROWLAND, I. In vitro evaluation of the antimicrobial activity of a range of probiotics against pathogens: evidence for the effects of organic acids. **Anaerobe**, v.18, p.530-538, 2012.

VAN DER PUT, N. M.; VAN STRAATEN, H. W.; TRIJBELS, F. J.; BLOM, H. J. Folate, homocysteine and neural tube defects: an overview. **Experimental Biology and Medicine** (Maywood), n.226, p. 243–270, 2001.

VILLEGAS, B.; COSTELL, E. Flow behavior of inulin-milk beverages. Influence of inulin average chain length and of milk fat content. **Int. Dairy J.**, 17, 776–781. 2007.

VINDEROLA, C. G.; BAILO, N.; REINHEIMER, J. A. Survival of probiotic microflora in Argentinian yoghurts during refrigerated storage. **Food Res. Int.**, v.33, p.97-102, 2000.

WALLACE, H. M. Polyamines in human health. **Proc. Nutr. Soc.**, v.55, p.419-431, 1996.

WANG, Y. Prebiotics: Present and future in food science and technology. **Food Res. Int.**, v.42, p.8–12, 2009.

WANG, Y.; JACOME-SOSA, M.M.; VINE, D.F.; PROCTOR, S.D. Beneficial effects of vaccenic acid on postprandial lipid metabolism and dyslipidemia: impact of naturaltrans-fats to improve CVD risk. **Lipid Techn.**, v.22, p.103–106, 2010.

YILDIZ, F. Overview of Yogurt and other fermented dairy products. In: \_\_\_\_\_. Development and manufacture of yogurt and other functional dairy products. USA: **Ed. CRC Press - Taylor & Francis Group**, 2010. 454p.

ZEISEL, S. H.; DA COSTA, K. Choline: na essential nutrient for public health. **Nutr. Rev.**, v.67, n.11, p.615-623, 2009.

ZHANG, C.; PAN, M.; LI, B., WANG, L.; MO, X.; CHEN, Y.; LIN, F.; HO, S. S. Choline and betaine intake is inversely associated with breast cancer risk: a two-stage case-control study in China. **Can. Sci.**, v.104, n.2, p.250-258, 2013.