



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

MARINA CÍNTIA DE SOUSA

**Obtenção de sobremesa láctea de jabuticaba (*Myrciaria cauliflora* Berg)
com potencial funcional utilizando cepas nativas de *Lactobacillus* sp.**

CAMPINA GRANDE

2016

MARINA CÍNTIA DE SOUSA

**Obtenção de sobremesa láctea de jabuticaba (*Myrciaria cauliflora* Berg)
com potencial funcional utilizando cepas nativas de *Lactobacillus* sp.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual da Paraíba para a obtenção do título de Mestre.

Orientadora:

Prof.^a Dr.^a Flávia Carolina Alonso Buriti

Co-orientadora:

Prof.^a Dr.^a Eliane Rolim Florentino

CAMPINA GRANDE

2016

É expressamente proibida a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano da dissertação.

S725o Sousa, Marina Cíntia de.
Obtenção de sobremesa láctea de jabuticaba (*Myrciaria cauliflora* Berg) com potencial funcional utilizando cepas nativas de *Lactobacillus* sp. [manuscrito] / Marina Cíntia de Sousa. - 2016.
108 p. : il. color.

Digitado.
Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Estadual da Paraíba, Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa, 2016.
"Orientação: Profa. Dra. Flávia Carolina Alonso Burity, Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa".

1. Compostos fenólicos. 2. Antioxidantes naturais. 3. Sobremesas lácteas. 4. Probióticos. 5. Bactérias lácticas. I. Título.
21. ed. CDD 615.375

MARINA CÍNTIA DE SOUSA

**Obtenção de sobremesa láctea de jabuticaba (*Myrciaria cauliflora* Berg)
com potencial funcional utilizando cepas nativas de *Lactobacillus* sp.**

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas
da Universidade Estadual da Paraíba para a
obtenção do título de Mestre.

Aprovada em 31 / 08 / 2016

BANCA EXAMINADORA

Flávia Carolina Alonso Buriti

Prof.^a Dr.^a Flávia Carolina Alonso Buriti (Orientadora)

Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)

Francinalva D. de Medeiros

Prof.^a Dr.^a Francinalva Dantas de Medeiros

Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)

Rossana M.^a F. de Figueirêdo

Prof.^a Dr.^a Rossana Maria Feitosa de Figueirêdo

Universidade Federal de Campina Grande (UFCG)

Dedicatória

À minha mãe Joaquina, minha maior
inspiração e fonte de força.

AGRADECIMENTOS

À Deus pela fonte pela fonte inesgotável de amor, por me fazer saber e sentir a sua presença nos momentos de dificuldades, incertezas e de alegrias e conquistas.

À minha mãe Joaquina pela mão segura e apoio incondicional, ao meu pai (*in memoriam*), combustível dos meus dias, pelos valores repassados e pelo amor plantado, aos meus irmãos Marília e Júnior pelo incentivo e força que nos tornam um só.

À minha tia Jaqueline, minha segunda mãe pelo apoio certo em todos os momentos, dedicação e cuidado.

Aos meus familiares que torcem e vibram a cada conquista.

Ao meu namorado Júnior pela presença, compreensão, alegria nos momentos de dúvida e tristeza.

À minha amiga e companheira de mestrado Carmélia, pelas inúmeras horas dividindo pesquisa, alegrias, tristezas e sonhos.

Aos colaboradores de pesquisa que passaram por mim ao longo desse trabalho: Widson, Suênia, Anna Paula, Siony e tantos outros. Além da contribuição científica, foram criados alguns laços de amizade que levo para a vida.

À minha orientadora, Dr.^a Flávia Carolina, pela orientação, disponibilidade e apoio imprescindíveis para a realização deste trabalho.

Ao Núcleo de Pesquisa e Extensão em Alimentos (NUPEA), à professora Dr.^a Eliane Rolim, co-orientadora, pelo apoio, e aos técnicos de laboratório que muito contribuíram durante a pesquisa.

À Embrapa Caprinos e Ovinos (Sobral-CE), Danisco-DuPont, Purac Sínteses e Usina Giasa-Biosev pelo material gentilmente cedido à pesquisa.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo auxílio financeiro concedido para a realização desta pesquisa.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo auxílio financeiro através da verba PROAP.

À Fundação Parque Tecnológico da Paraíba (PaqTcPB) pelo apoio financeiro ao NUPEA.

A todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

RESUMO

Em função das tendências de mercado, o consumo de alimentos lácteos saudáveis e nutritivos tem aumentado ultimamente. As sobremesas lácteas prontas para consumo têm ganhado comercialização por serem opções interessantes do ponto de vista funcional, nutritivo e sensorial, servindo ainda como matrizes para incorporação de culturas probióticas. Paralelamente, pelo alto teor de componentes nutricionais e funcionais presentes em subprodutos da indústria de alimentos e os impactos ambientais que o descarte inapropriado podem ocasionar, estratégias vem sendo criadas para utilização de tais componentes e sua incorporação em alimentos. A casca da jabuticaba surge como um subproduto rico em nutrientes, e principalmente compostos fenólicos com elevado potencial funcional devido à sua capacidade antioxidante. O objetivo deste estudo foi desenvolver uma sobremesa láctea com potencial funcional adicionada de ingredientes da casca de jabuticaba e utilizando cepas nativas de *Lactobacillus* sp. (*L. mucosae* CNPC 007 e *L. plantarum* CNPC 020, tratamentos T2 e T3, respectivamente) em comparação a uma cultura potencialmente probiótica comercial (*Lactobacillus rhamnosus* LR32, tratamento T1). Foram preparados a partir da casca da jabuticaba o extrato aquoso para obtenção da calda (“*topping*”) e o extrato hidroalcoólico para incorporação na base láctea da sobremesa. Os teores de umidade, sólidos e carboidratos da casca com polpa e sem polpa foram muito semelhantes. O teor de umidade da sobremesa do tratamento T1 foi significativamente maior ($p < 0,05$) comparado aos tratamentos T2 e T3; os valores de lipídios encontrados para os três tratamentos foram baixos e classificam o produto como “de baixo teor de gorduras totais. As populações médias das culturas nativas apresentaram viabilidade comparável (em T3) ou superior (em T2) à cultura comercial do tratamento T1 mostrando que essas culturas são adequadas para incorporação à sobremesa. As pequenas variações de acidez e pH interferiram pouco na viabilidade das culturas. Os resultados de coliformes a 35 °C nas sobremesas foram inferiores a 3 NMP g⁻¹, não sendo, portanto, detectados coliformes a 45 °C. Para *Staphylococcus* coagulase positiva apenas uma amostra de um dos lotes do tratamento T2 aos 14 dias não atendeu ao limite da legislação, apresentando 10³ UFC g⁻¹. Populações de bolores e leveduras iguais ou superiores a 10³ foram observadas apenas nas amostras dos tratamentos T1, aos 21, e T2, aos 7 e 14 dias. Os valores dos parâmetros de textura das sobremesas variaram até os 14 dias de armazenamento, refletindo diretamente nas características sensoriais, com redução das notas da análise sensorial ao longo da estocagem. Houve tendência para aumento do teor de fenólicos, comparando-se o primeiro e o vigésimo primeiro dia de armazenamento para os três tratamentos. Também houve tendência de redução do teor de antocianinas ao longo da estocagem. As três sobremesas apresentaram capacidade antioxidante, a qual sofreu pouca variação durante o período de amostragem estudado. Os três tratamentos mostraram resultados semelhantes e, dessa forma, as culturas nativas podem ser usadas em substituição à cultura comercial na elaboração de sobremesas lácteas com ingredientes derivados da casca da jabuticaba.

Palavras-chave: Fenólicos. Laticínios. Novos ingredientes. Subprodutos. Viabilidade.

ABSTRACT

Due to the market trends, the consumption of healthy and nutritious dairy foods has increased nowadays. The ready-to-eat dairy desserts have gained market as interesting options of functional, nutritious and savory foods, also working as matrices for the incorporation of probiotic cultures. In the same way, the high content of nutritional and functional components present in food industry by-products and the environmental impacts that their improper disposal may result, strategies are being created for the use of such components and their incorporation into food. The jaboticaba's peel is seen as a nutritious by-product, source of phenolic compounds, with high functional potential due to their antioxidant activity. The aim of this study was to develop a milk-based dessert with functional potential added of ingredients from the jaboticaba's peel and using indigenous strains of *Lactobacillus* sp. (*L. mucosae* CNPC 007 and *L. plantarum* CNPC 020, trials T2 and T3, respectively) in comparison with a commercial culture with probiotic potential (*Lactobacillus rhamnosus* LR32, trial T1). Using the jaboticaba's peel, their aqueous extract was used to obtain the topping syrup and their hydroalcoholic extract was incorporated into the dessert milk base. The moisture, solids and total carbohydrates content of the peel with and without the pulp were very similar. The moisture content of the T1 trial was significantly higher ($p < 0.05$) compared to T2 and T3. The fat content in the three trials allowed them be classified as "low in total fat". The average population of indigenous cultures showed viability comparable (in T3) or higher (in T2) than the commercial culture of T1 trial, showing that these cultures are suitable for incorporation in desserts. Slight variations in acidity and pH has resulted in little interference in the viability of lactobacilli cultures. The results of coliforms at 35 °C in the desserts were less than 3 MPN g⁻¹ and, therefore, coliforms at 45 °C were not detected. Only one sample from one batch of T2 trial in the 14th day of storage did not met the requirements of the Brazilian legislation for *Staphylococcus coagulase* positive, showing 10³ CFU g⁻¹. populations of molds and yeasts of 10³ or higher was only observed in samples of trials T1, at 21 days, and T2, at 7 and 14 days. The values of texture parameters in desserts varied up to the 14th day of storage, reflecting directly on the sensory features with a reduction in the scores of the sensory evaluation during the storage. There was a trend for the increasing phenolic content, comparing the sampling days 1 and 21 for the three trials. The anthocyanin content also tended to decrease over the storage. The three dairy desserts showed antioxidant capacity, with slight changes during the studied period. The three trials showed similar results and, therefore, the indigenous cultures can be used to replace the commercial one in the production of dairy desserts with ingredients from the jaboticaba's peel.

Keywords: Phenolics. Dairy. New ingredients. By-products. Viability.

LISTA DE TABELAS

Tabela 4.1 – Proporção de ingredientes para elaboração da calda da casca de jabuticaba.	33
Tabela 4.2 – Formulações dos testes de gelificação do leite com pectina e amido para produção da sobremesa láctea.	34
Tabela 4.3 – Formulações dos testes de adição de calda e açúcar à base láctea.	35
Tabela 4.4 – Formulação do teste de adição de ácido cítrico e extrato hidroalcoólico à base láctea.	36
Tabela 4.5 – Proporção de ingredientes utilizando as pectinas YF789 e YF310.	37
Tabela 4.6 – Ensaio piloto 3. Viabilidade de <i>Lactobacillus rhamnosus</i> frente à adição de ácido cítrico ao produto.	40
Tabela 4.7 – Rendimento da base láctea nos tratamentos T1, T2 e T3.	42
Tabela 5.1 - Proporções de ingredientes utilizadas no preparo da base láctea de todos os tratamentos.	49
Tabela 5.2 – Teores médios de umidade, sólidos totais, cinzas, lipídios, proteínas e carboidratos totais para as frações casca e polpa, casca sem polpa e calda – amostra seca e amostra úmida.	56
Tabela 5.3 – Teores médios de umidade, sólidos totais, cinzas, lipídios, proteínas e carboidratos totais para as sobremesas T1, T2 e T3 (amostra seca e amostra úmida) após um dia de armazenamento sob refrigeração a 4 °C.	58
Tabela 5.4 – Valores de pH e acidez e viabilidade de <i>Lactobacillus</i> sp. nas sobremesas dos tratamentos T1 a T3 ao longo do armazenamento.	60
Tabela 5.5 – Viabilidade de <i>Lactobacillus</i> sp. (\log UFC ml ⁻¹) no inóculo. Valores médios e desvio-padrão e respectiva variação (valores mínimos e máximos observados) para cada tratamento.	62
Tabela 5.6 - Análise microbiológica de contaminantes para as sobremesas lácteas probióticas (tratamentos T1 a T3).	65
Tabela 5.7 - Valores médios de firmeza (N) para os três tratamentos ao longo do tempo de armazenamento.	67
Tabela 5.8 – Valores médios de adesividade (N s) para os três tratamentos ao longo do tempo de armazenamento.	68
Tabela 5.9 – Valores médios de coesividade para os três tratamentos ao longo do tempo de armazenamento.	69
Tabela 5.10 – Valores médios de elasticidade para os três tratamentos ao longo do tempo de armazenamento.	70

Tabela 5.11 – Notas de aceitabilidade da sobremesa láctea medidas através de análises sensoriais durante o período de armazenamento (10, 14 e 21 dias). Os valores são expressos pela média e desvio padrão entre parênteses.....	71
Tabela 6.1 – Proporções de ingredientes utilizadas no preparo da base láctea de todos os tratamentos.....	80
Tabela 6.2 – Valores médios de compostos fenólicos presentes nos tratamentos T1, T2 e T3 ao longo do período de armazenamento do produto a 4 °C. Valores em mg de ácido gálico 100 g ⁻¹ de amostra.....	83
Tabela 6.3 – Teor de antocianinas presentes nos tratamentos T1, T2 e T3 ao longo do período de armazenamento. Valores em mg de antocianinas 100 g ⁻¹	85
Tabela 6.4 – Valores da capacidade antioxidante expressos em % de captação de radicais pelo DPPH nos tratamentos T1, T2 e T3 ao longo do período de armazenamento a 4° C.....	86

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1.....	13
1 INTRODUÇÃO	13
CAPÍTULO 2.....	15
2 REVISÃO DE LITERATURA	15
2.1 Alimentos Funcionais.....	15
2.2 Probióticos	17
2.3 Bactérias lácticas com potencial probiótico.....	20
2.4 Compostos fenólicos como antioxidantes naturais	22
2.5 Jabuticaba	25
2.6 Sobremesas Lácteas.....	27
CAPÍTULO 3.....	28
3 OBJETIVOS	28
3.1 Objetivo geral	28
3.2 Objetivos específicos	28
CAPÍTULO 4.....	29
4 ENSAIOS PILOTOS PARA A OBTENÇÃO DE SOBREMESA LÁCTEA ADICIONADA DE INGREDIENTES OBTIDOS DA CASCA DA JABUTICABA.....	29
4.1 Introdução	29
4.2 Materiais e métodos.....	31
4.2.1 <i>Obtenção e processamento da jabuticaba</i>	31
4.2.2 <i>Obtenção do extrato aquoso da casca de jabuticaba</i>	31
4.2.3 <i>Obtenção do extrato hidroalcoólico da casca da jabuticaba</i>	31
4.2.4 <i>Ensaios pilotos</i>	32
4.2.4.1 Ensaio Piloto 1 - Preparo da calda para incorporação à base láctea e uso como cobertura (“topping”) das sobremesas	32
4.2.4.2 Ensaio Piloto 2 - Definição das proporções dos ingredientes usados no preparo da base láctea das sobremesas para gelificação e dulçor	33

4.2.4.3	Ensaio Piloto 3 - Adição de ácido cítrico e extrato hidroalcoólico à base láctea para melhorar a estabilidade da cor das sobremesas	35
4.2.4.4	Ensaio Piloto 4 - Teste de formulação da sobremesa a partir da adição de ácido láctico e de diferentes pectinas	36
4.2.4.5	Ensaio Piloto 5 - Adição de corante carmim de cochonilha na formulação da sobremesa láctea	37
4.2.5	Rendimento de preparação da base da sobremesa láctea	38
4.3	Resultados e discussão	39
4.3.1	Rendimento das cascas e do extrato hidroalcoólico	39
4.3.2	Ensaio piloto	39
4.3.2.1	Ensaio Piloto 1 - Elaboração da calda.....	39
4.3.2.2	Ensaio Piloto 2 - Definição das proporções dos ingredientes usados no preparo da base láctea.....	40
4.3.2.3	Ensaio Piloto 3 - Adição de ácido cítrico à base láctea	40
4.3.2.4	Ensaio Piloto 4 - Adição de ácido láctico e diferentes pectinas.....	41
4.3.2.5	Ensaio Piloto 5 - Adição de corante carmim de cochonilha	41
4.3.2.6	Rendimento de preparação da base da sobremesa láctea.....	42
4.4	Considerações finais	43
5	DESENVOLVIMENTO, CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA, ANÁLISE SENSORIAL E DE TEXTURA INSTRUMENTAL E VIABILIDADE PROBIÓTICA EM SOBREMESA LÁCTEA ADICIONADA DE INGREDIENTES DA CASCA DA JABUTICABA	44
5.1	Introdução	44
5.2	Materiais e métodos	46
5.2.1	Obtenção e processamento da jabuticaba.....	46
5.2.2	Obtenção do extrato aquoso da casca de jabuticaba	46
5.2.3	Obtenção do extrato hidroalcoólico da casca da jabuticaba	47
5.2.4	Preparo da calda a partir do extrato aquoso da casca de jabuticaba para incorporação à base láctea e uso como cobertura (“topping”) das sobremesas	47
5.2.5	Tratamentos avaliados.....	48
5.2.6	Recuperação das culturas probióticas nativas Lactobacillus mucosae e Lactobacillus plantarum para uso como pré-inóculo	48

5.2.7 Ativação das culturas probióticas para uso como inóculo	48
5.2.8 Preparação da base da sobremesa láctea	49
5.2.9 Tempos de amostragem	50
5.2.10 Determinação da composição centesimal	50
5.2.11 Determinações de pH e acidez	51
5.2.12 Determinações microbiológicas	51
5.2.12.1 Análises efetuadas em todos os lotes produzidos.....	51
5.2.12.2 Análises efetuadas para o lote da análise sensorial	53
5.2.13 Análise de textura instrumental	54
5.2.14 Avaliação Sensorial	54
5.2.15 Análise Estatística	55
5.3 Resultados e discussão	56
5.3.1 Determinação da composição centesimal	56
5.3.2 Parâmetros físico-químicos nas sobremesas lácteas e viabilidade dos micro-organismos potencialmente probióticos	59
5.3.3 Indicadores microbiológicos sanitários nas sobremesas	64
5.3.4 Análise de textura instrumental	66
5.3.5 Análise sensorial	71
5.4 Considerações finais	74
CAPÍTULO 6	75
6 CAPACIDADE ANTIOXIDANTE, TEOR DE COMPOSTOS FENÓLICOS E ANTOCIANINAS EM SOBREMESA LÁCTEA POTENCIALMENTE FUNCIONAL ADICIONADA DE CULTURAS DE LACTOBACILOS E INGREDIENTES OBTIDOS DA CASCA DE JABUTICABA	75
6.1 INTRODUÇÃO	75
6.2 Materiais e métodos	77
6.2.1 Obtenção e processamento da jabuticaba	77
6.2.2 Obtenção do extrato aquoso da casca de jabuticaba	77
6.2.3 Obtenção do extrato hidroalcoólico da casca da jabuticaba	77

6.2.4	<i>Preparo da calda a partir do extrato aquoso da casca de jabuticaba para incorporação à base láctea e uso como cobertura (“topping”) das sobremesas</i>	78
6.2.5	<i>Tratamentos avaliados</i>	78
6.2.6	<i>Recuperação das culturas probióticas nativas Lactobacillus mucosae e Lactobacillus plantarum para uso como pré-inóculo</i>	79
6.2.7	<i>Ativação das culturas probióticas para uso como inóculo</i>	79
6.2.8	<i>Preparação da base da sobremesa láctea</i>	80
6.2.9	<i>Tempos de amostragem</i>	81
6.2.10	<i>Análise de compostos fenólicos totais</i>	81
6.2.11	<i>Determinação da capacidade antioxidante por DPPH</i>	81
6.2.12	<i>Determinação do teor de antocianinas</i>	81
6.2.13	<i>Análise Estatística</i>	82
6.3	Resultados e discussão	83
6.3.1	<i>Análise de compostos fenólicos totais</i>	83
6.3.2	<i>Determinação do teor de antocianinas</i>	84
6.3.3	<i>Determinação da capacidade antioxidante por DPPH</i>	86
6.4	Considerações finais	88
	REFERÊNCIAS	89
	ANEXOS	101

CAPÍTULO 1

1 INTRODUÇÃO

Atraídos cada vez mais pelas tendências de mercado e seguimentação do consumo, as indústrias têm buscado estratégias criativas para diferenciar seus produtos com base na funcionalidade e qualidade superior (BURITI; SAAD, 2014).

As sobremesas lácteas prontas para o consumo têm ganhado mercado por serem opções interessantes do ponto de vista funcional, nutritivo e sensorial, servindo ainda como matrizes para incorporação de culturas probióticas, como apontam os estudos científicos e as opções recentes da indústria alimentícia (BURITI; BEDANI; SAAD, 2016; BURITI; SAAD, 2014).

Os probióticos são micro-organismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem um benefício à saúde do hospedeiro (HILL et al., 2014). As características tecnológicas do produto probiótico devem ser compatíveis com as culturas presentes no meio, para que possam manter-se viáveis durante o tempo de vida de prateleira, de forma a promover a funcionalidade alegada pelo produto (CORRÊA, 2006; VINDEROLA et al., 2008).

As propriedades probióticas são características de cada cepa, e não do gênero ou até mesmo de uma espécie (JANKOVIĆ et al., 2012). Dessa forma, a busca por novas culturas probióticas é importante, pois traz consigo a oportunidade de diversidade de produtos. Além destes benefícios, as cepas probióticas nativas, culturas com potencial probiótico naturais ao local ou à região onde foram isoladas, trazem a oportunidade de negócio para as pequenas indústrias, fazendo chegar à população produtos com menor custo, difundindo para todas as classes sociais a possibilidade de consumo de produtos nutritivos e funcionais (VINDEROLA et al., 2008).

Pelo alto teor de componentes nutricionais e funcionais presentes em subprodutos da indústria de alimentos e os impactos ambientais que o descarte inapropriado pode ocasionar, estratégias vem sendo criadas para utilização de tais componentes (ZAGO, 2014).

A jabuticaba é um fruto muito apreciado e de grande qualidade nutricional, encontrado em todo o Brasil, principalmente no centro-sul. Sua casca é um subproduto descartado nas agroindústrias brasileiras (ZAGO, 2014); porém, é rica

em carboidratos, fibras, vitaminas, sais minerais como ferro, cálcio e fósforo, e principalmente compostos fenólicos, os quais apresentam elevado potencial funcional pela atividade antioxidante, combatendo radicais livres que causam o envelhecimento, e atuando na prevenção de doenças (TEIXEIRA, 2011).

A associação dos benefícios das culturas nativas probióticas e ingredientes obtidos do aproveitamento da casca da jabuticaba poderia garantir a obtenção de um produto tecnológico, inovador, de baixo custo e com efeitos benéficos à saúde do consumidor.

CAPÍTULO 2

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Alimentos Funcionais

A compreensão de que a alimentação humana tem um significado muito maior do que prover os nutrientes necessários para o desenvolvimento do organismo é conhecida há muito tempo. Nesta abordagem, a alimentação assume uma relevância tão grande quanto à linguagem ou à escrita de um povo, possibilitando uma análise das características de uma determinada população ou período através do estudo de seu consumo de alimentos. Desta forma, o alimento passa a ser uma consequência ou um elemento gerador de mudanças sociais e comportamentais (NITZKE, 2012).

Inúmeros fatores influenciam o estilo de vida da população dos últimos 20 anos como o estresse, sedentarismo, adoção de padrões alimentares com elevados níveis de gordura, açúcares e sal e pobres em sais minerais, vitaminas e carboidratos complexos, ocasionando o surgimento de doenças crônicas como problemas cardiovasculares, diabetes, obesidade, osteoporose e câncer. Diante disso, a população passou a assimilar um padrão alimentar com uma maior quantidade de frutas, legumes, grãos, verduras, fibras e alimentos integrais (ROBERFROID, 2000; VIDAL et al., 2012).

O uso de certos alimentos para redução do risco de doenças é considerado a milhares de anos, como citado pelo filósofo grego Hipócrates: “Que teu alimento seja teu medicamento, e teu medicamento teu alimento” (FERREIRA, S., 2009; SALGADO, 2010); entretanto, somente no final deste último século houve o início de uma renovação do interesse por esse assunto. O entendimento de que a alimentação saudável está diretamente ligada à saúde, bem-estar e prevenção de doenças tem levado ao aumento do consumo de alimentos que satisfaçam tais quesitos, além de custo acessível e aspectos sensoriais agradáveis (CORRÊA, 2006; MANTOVANI, 2014).

Tradicionalmente, o alimento tem como finalidade servir de fonte de energia e nutrientes para formação e manutenção de células e tecidos. A alimentação saudável contempla todas as necessidades do indivíduo em termos de macro e micronutrientes utilizados como fonte de energia para o organismo. Contudo o

conceito de alimento deixou de ser apenas um veículo de nutrientes e passou a ser visto também como portador de componentes especiais, que oferecem proteção à saúde (PACHECO; SGARBIERI, 2001).

Um crescente número de trabalhos científicos publicados tem destacado a relação entre dieta e incidência de doenças crônicas ao apontar o extraordinário potencial dos alimentos para manter ou melhorar o estado de saúde dos consumidores (CENCIC; CHINGWARU, 2010; MORAES; COLLA, 2006). As primeiras evidências dos benefícios de alguns alimentos para à saúde surgiram de estudos epidemiológicos que correlacionavam os hábitos alimentares de uma determinada população com a redução da incidência de algumas doenças em relação ao mesmo índice de outros povos (JUDEU; ABUMWEIS; JONES, 2009; PACHECO; SGARBIERI, 2001).

Paralelamente, o aumento da consciência dos consumidores sobre a adoção de hábitos saudáveis para a melhoria da qualidade de vida impulsionou a utilização do termo “alimento funcional” (SALGADO, 2010). A importância dos benefícios dos alimentos funcionais os têm tornado cada vez mais populares (SAAD et al. 2013; VALENCIA, 2015). O termo “alimentos funcionais” foi concebido no Japão na década de 80 através de um programa de governo que possuía o propósito de elaborar alimentos saudáveis em razão de uma população crescente de idosos (MORAES; COLLA, 2006; HENRY, 2010). De acordo com a Resolução nº 18, de 30 de abril de 1999, a definição de alimento com alegação de propriedade funcional no Brasil é: “todo aquele alimento ou ingrediente que, além das funções nutricionais básicas, quando consumido como parte da dieta usual, produz efeitos metabólicos e/ou fisiológicos e/ou efeitos benéficos à saúde, devendo ser seguro para consumo sem supervisão médica” (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 1999a).

Segundo Di Bartolomeo, Startek e Van Den Ende (2013) os alimentos funcionais podem ser definidos como “alimentos naturais ou processados que contêm compostos biologicamente ativos conhecidos que, quando administrados em quantidades definidas, fornecem benefícios à saúde, clinicamente comprovados e documentados, sendo assim, uma importante fonte na prevenção, promoção e tratamento de doenças crônicas da era moderna”. Outros autores (SAAD; BEDANI, 2013; VALENCIA, 2015) apresentam definições semelhantes.

Os alimentos funcionais atuam no âmbito da promoção da saúde e prevenção de doenças. Estes alimentos devem ser consumidos preferencialmente em sua

forma original, associados a uma dieta saudável com frutas, verduras, fibras e alimentos integrais. Alimentos industrializados também podem ser considerados funcionais; entretanto, como geralmente possuem uma concentração menor de componentes funcionais, se comparada às fontes naturais, devem ser ingeridas quantidades maiores para que se possa obter o benefício esperado (VIDAL et al., 2012).

No Brasil, a indústria deve seguir a legislação contemplada pela Resolução nº 19, de 30 de abril de 1999 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária que estabelece as normas e procedimentos para registro de alimentos e/ou ingredientes funcionais. Para se obter o registro de um alimento com alegação de propriedades funcionais e/ou de saúde, deve ser elaborado um relatório técnico-científico bastante detalhado, comprovando os benefícios e a segurança de uso do alimento (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 1999b).

2.2 Probióticos

Destacam-se entre os alimentos funcionais aqueles que contêm probióticos, micro-organismos vivos que quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde como atividade antimicrobiana e antimutagênica, propriedades anticancerígenas, propriedades anti-hipertensivas, efeitos benéficos sobre o metabolismo mineral, especialmente em relação à estabilidade óssea, atenuação de sintomas de doença do intestino e síndrome de Crohn, redução dos sintomas de alergias alimentares, redução dos níveis de colesterol ligado à lipoproteína de baixa densidade (LDL-colesterol), supressão de patógenos, além dos efeitos nutricionais em geral (GRANATO et al., 2010).

Outros benefícios atribuídos aos probióticos incluem o aumento da concentração de ácidos graxos de cadeia curta (acetato, propionato e butirato), produção de ácido linoleico conjugado (CLA), modulação do sistema imune, maior digestibilidade da lactose em indivíduos intolerantes, redução do risco de distúrbios intestinais, aumento da biodisponibilidade de nutrientes, diminuição do risco de doenças atópicas e alergia e prevenção de infecções urogenitais (CORRÊA, 2006; SAAD, 2006; VASCONCELOS et al., 2013).

Estudos indicam que os probióticos, especialmente os pertencentes aos gêneros *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*, são mais utilizados para a produção de alimentos funcionais (MORAES; COLLA, 2006; SAAD, 2006).

De origem grega, a palavra probiótico quer dizer “para a vida”. O conceito de probióticos surgiu no início do século XX quando o cientista Elie Metchnikoff, ganhador do prêmio Nobel, atribuiu a longevidade de camponeses búlgaros à alta ingestão de produtos lácteos fermentados por *Lactobacillus* spp., sugerindo que as bactérias lácticas têm ação inibitória sobre aquelas presentes no intestino, produtoras de toxinas (ANTUNES et al., 2007; PIMENTEL, 2011; VALENCIA, 2015). A partir de então, a utilização de micro-organismos benéficos ao trato gastrointestinal se disseminou, tornando-se popular em nível industrial (PIMENTEL, 2011).

Em 1965 o termo probiótico foi introduzido por Lilly e Stillwell sendo primariamente conhecido como “substâncias secretadas por um micro-organismo para estimular a multiplicação de outro” promovendo, pois, efeito oposto aos antibióticos. Diversas propostas para a definição desse termo foram elaboradas desde então (ANTUNES, et al, 2007; MANTOVANI, 2014). Organizações como a Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura e a Organização Mundial da Saúde propuseram uma definição aceita internacionalmente, na qual os probióticos foram definidos como micro-organismos vivos que quando administrados em quantidades adequadas conferem benefícios à saúde do hospedeiro (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2002).

Tendo em vista a preocupação com a segurança no consumo de probióticos, a Associação Científica Internacional de Probióticos e Prebióticos (ISAPP) reformulou em 2013 a definição de probióticos com pequenas correções gramaticais, da seguinte maneira: "micro-organismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem um benefício à saúde no hospedeiro". Desde então, a definição tem sido amplamente acatada em todo o mundo. A alegação de probiótico deve ser antecedida de investigação científica e clínica, garantindo o consumo de um produto eficaz e seguro (HILL et al., 2014).

Brown (2011), assim como Nogueira e Gonçalves (2011) enumeraram possíveis mecanismos de ação dos probióticos: supressão de células viáveis por meio da produção de compostos antimicrobianos, competição por nutrientes e competição por sítios de adesão; alteração do metabolismo microbiano pelo aumento ou diminuição da atividade enzimática; estímulo da imunidade do hospedeiro através do aumento dos níveis de anticorpos e aumento da atividade dos macrófagos.

Um micro-organismo probiótico deve necessariamente sobreviver às condições gastrintestinais e colonizar o epitélio intestinal, mesmo que temporariamente, influenciando a microbiota intestinal e o seu metabolismo (OLIVEIRA et al., 2002; SAAD, 2006). Portanto, a seleção de bactérias probióticas para uso em alimentos baseia-se em critérios como estabilidade frente ao ácido e à bile, capacidade de aderir à mucosa intestinal, capacidade de colonização, mesmo que temporária, do trato gastrintestinal humano, capacidade de produção de compostos antimicrobianos, capacidade de ser metabolicamente ativo ao nível intestinal, não deve possuir histórico de patogenicidade e resistência aos antibióticos (ARAGON-ALEGRO, 2007; OUWEHAND; SALMINEN; ISOLAURI, 2002; SAAD et al., 2013).

Nesse sentido, Maragkoudakis et al. (2006) isolou vinte e nove cepas de *Lactobacillus* de origem láctea, as quais foram examinadas *in vitro* quanto ao seu potencial probiótico. Algumas cepas foram capazes de sobreviver ao pH 1 ou na presença de pepsina, enquanto todas foram aptas à passagem pelo pH 3, pancreatina e sais biliares. A maioria das culturas era resistente à vancomicina e teicoplanina, mas foi sensível ao cloranfenicol e tetraciclina. Algumas foram capazes de aderir às células Caco-2. Embora nenhuma atividade bactericida tenha sido detectada *in vitro*, as culturas de *Lactobacillus casei* Shiota ACA-DC 6002, *Lactobacillus plantarum* ACA-DC 146 e *Lactobacillus. paracasei* subsp. *tolerans* ACA CC-4037 foram capazes de inibir a adesão de *Escherichia coli* e de *Salmonella typhimurium* às células Caco-2. Eles também induziram a secreção de citocinas anti-inflamatórias por células mononucleares. Segundo os autores, estas três culturas mostraram *in vitro*, portanto, propriedades probióticas desejáveis.

É importante ressaltar que as propriedades tecnológicas são requisitos fundamentais na elaboração de um produto alimentício, pois influenciam diretamente na qualidade final. A seleção de culturas probióticas com boa multiplicação e viáveis durante a vida de prateleira confere funcionalidade, além de influenciar na textura, sabor e aroma. Também é importante o controle de variáveis como pH, acidez, presença de oxigênio, quantidade de inóculo, composição do leite (CORRÊA, 2006; VINDEROLA; REINHEIMER, 2003).

Os produtos lácteos destacam-se como o principal veículo para suplementação de micro-organismos probióticos. Na elaboração de alimentos probióticos é necessário que haja compatibilidade e adaptabilidade entre as cepas

selecionadas e o veículo utilizado, boas propriedades sensoriais, e que as culturas probióticas alcancem uma concentração apropriada durante o armazenamento (usualmente 10^6 - 10^7 UFC g^{-1} ou mL), de modo que cheguem até o consumidor, seu destino final, aptas a desenvolverem os efeitos funcionais esperados de forma segura e eficaz (CORRÊA, 2006; KOMATSU; BURITI; SAAD, 2008).

Com foco na atividade dos probióticos no trato digestório, Koebnick et al. (2003) investigaram o efeito de uma bebida probiótica contendo *Lactobacillus casei* Shirota em sintomas gastrintestinais em pacientes com constipação crônica. Naquele estudo foram mostrados efeitos benéficos como a melhora da consistência das fezes e da constipação ao se comparar o grupo de pacientes que ingeriram diariamente a bebida probiótica por quatro semanas com o grupo placebo.

2.3 Bactérias láticas com potencial probiótico

As bactérias láticas são reconhecidas como um dos grupos de micro-organismos mais importantes para o homem tanto pelo papel que exerce na produção e preservação dos alimentos quanto pelo envolvimento em diferentes aspectos da saúde humana (FERREIRA, C., 2012). Diversos estudos apontam os inúmeros benefícios das bactérias láticas para a saúde (SILVA, B., 2011).

Dentre as bactérias láticas, destacam-se as pertencentes ao gênero *Lactobacillus*. Estes micro-organismos são Gram-positivos, em forma de bastonetes ou cocobacilos, geralmente imóveis, anaeróbios aerotolerantes, catalase negativos, não formadores de esporos, estritamente fermentativos, raramente apresentam patogenicidade, fastidiosos, necessitando de meio rico em carboidratos, aminoácidos, peptídeos, ácidos graxos, sais, derivados de ácidos nucléicos e vitaminas para a sua multiplicação. O gênero *Lactobacillus* pertence ao filo Firmicutes, classe Bacilli, ordem Lactobacillales, família Lactobacillaceae (SILVA, B., 2011).

De acordo com Silva B. (2011), existem mais de 170 espécies pertencentes ao gênero *Lactobacillus*, o qual é amplamente distribuído no ambiente, como em alimentos vegetais e nos tratos geniturinário e gastrintestinal, segundo Antunes et al. (2007). Tais micro-organismos podem sofrer influência de fatores como pH, presença de oxigênio, fatores específicos e interação com outras bactérias (ANTUNES, 2007). Estes micro-organismos, portanto, fazem parte da microbiota normal dos mamíferos, apresentando como principal produto da fermentação o ácido

lático. Algumas espécies também são produtoras de outros ácidos e compostos orgânicos, que aumentam a acidez intestinal, além de substâncias antagonísticas, como as bacteriocinas, que possuem efeito inibitório sobre bactérias Gram-negativas, impedindo a proliferação desses micro-organismos e os seus danos ao epitélio (RODAS et al, 2001; NOGUEIRA; GONÇALVES, 2011). Há ainda espécies de *Lactobacillus* que aumentam a espessura da parede intestinal, por meio da secreção de substâncias, promovendo uma barreira, o que ocasiona uma redução de processos alérgicos e cancerígenos (NOGUEIRA; GONÇALVES, 2011).

Dentre os micro-organismos probióticos, os pertencentes ao gênero *Lactobacillus*, em particular, são capazes de aderirem a receptores específicos na membrana intestinal, não sendo eliminados pelos movimentos peristálticos, competindo desta forma com micro-organismos patogênicos como *Salmonella typhimurium*, *Yersinia enterocolitica* e *Escherichia coli*, que como não se aderem, não promovem alterações no hospedeiro (MARCO, PAVAN, KLEEREBEZEM, 2006; NOGUEIRA; GONÇALVES, 2011).

Guandalini et al. (2000) estudaram o efeito da ingestão diária de *Lactobacillus rhamnosus* GG (aproximadamente 10^{10} UFC/mL) em 291 crianças com idade entre 1 mês e 3 anos, mostrando que houve redução do período de diarreia em 13,6 horas e a incidência de diarreias longas, superiores a uma semana, em 8%. Do mesmo modo, Vanderhoof et al. (1999) observaram a redução em 18% da incidência de diarreia associada a antibióticos, além de diminuir o tempo de sua duração, através da ingestão de 2×10^{10} UFC/g de *Lactobacillus rhamnosus* GG.

Em trabalho de revisão, Souza et al. (2010) mostraram através de diversos estudos que a suplementação materna com *Lactobacillus rhamnosus* na gestação e primeiros meses de vida diminui os riscos de dermatite atópica por aumentar a quantidade de TGF- β 2 no leite e diminuir a sensibilização a alérgenos.

Kujawa-Szewieczek et al. (2015) avaliaram o efeito da *Lactobacillus plantarum* 299v na incidência de infecções por *Clostridium difficile* em pacientes de alto risco tratados com antibióticos, onde se notou uma significativa redução do número de infecções em comparação ao período de doze meses anterior.

Com base nos benefícios à saúde demonstrados nos diferentes estudos, ao longo dos anos o mercado mundial observou uma tendência de crescimento de vendas de alimentos probióticos, uma vez que o aumento da preocupação dos consumidores com a manutenção da saúde através da dieta também foi verificado.

Tendo em vista acompanhar o crescimento do mercado consumidor, a investigação de novas cepas probióticas, além das já existentes no mercado, pode proporcionar diversidade de produção de alimentos que exibam propriedades benéficas à saúde (BRANDÃO, 2008).

Embora haja um número razoável de cepas probióticas bem caracterizadas disponíveis para uso comercial em todo o mundo, o isolamento e caracterização de novas cepas para a formulação de alimentos probióticos ainda se faz necessário, principalmente em países em desenvolvimento, uma vez que ainda há um acesso restrito a micro-organismos probióticos por parte das pequenas indústrias. Nesse sentido, a pesquisa, o desenvolvimento e a incorporação de cepas nativas com potencial probiótico em alimentos funcionais trazem, além dos benefícios à saúde, a possibilidade de produtos com menor custo e com maior acesso da população (VINDEROLA et al., 2008).

2.4 Compostos fenólicos como antioxidantes naturais

Os mecanismos internos de defesa do organismo podem ser complementados pela adição de antioxidantes na dieta (BALASUNDRAM; SUNDRAM; SAMMAN, 2006; DEL RÉ; JORGE, 2012).

Os compostos fenólicos incluem uma diversidade de estruturas amplamente distribuídas na natureza que têm em comum, um anel aromático contendo grupamento hidroxilas, podendo variar de uma simples molécula fenólica a um polímero complexo de alto peso molecular, estar na forma livre ou ligados a açúcares e proteínas (EVERETTE et al., 2010; MORENO, 2010; ZAGO, 2014). Podem ser classificados em dois grupos: os flavonoides que apresentam estrutura química C6-C3-C6 como as antocianinas, e os não flavonoides como os derivados das estruturas químicas C6-C1 (ácido gálico e elágico), C6-C3 (ácido cafeíco e *p*-cumárico) e C6-C2-C6 (*trans*-resveratrol e *cis*-resveratrol) (MORENO, 2010; DEGÁSPARI; WASZCZYNSKY, 2004).

Os compostos fenólicos são formados no metabolismo secundário dos vegetais conferindo vantagens adaptativas às plantas, como a atuação nos papéis de agentes de defesa frente a patógenos, insetos, organismos predadores e competidores (IGNAT; VOLFF; POPA; 2011; ZAGO, 2014). Tais fatores justificam sua presença em maior quantidade nas cascas dos frutos (IGNAT; VOLFF; POPA; 2011). Os compostos fenólicos presentes nos vegetais e frutos podem sofrer variações

relacionadas à quantidade e presença de constituintes em função do clima, estágio de maturação e forma de cultivo. Fatores como tipo de composto, grau de metoxilação, número de hidroxilas influenciam a atividade antioxidante dessas moléculas (MELO et al., 2008; ZAGO, 2014). Nos alimentos, o valor nutricional e as características sensoriais, como cor, textura, amargor e adstringência, podem ser influenciadas por esses compostos (CARVALHO et al. 2012).

Nos animais, tem-se observado que são capazes de reagir com radicais livres, atuando como agentes redutores ou quelantes, formando radicais estáveis. Esse poder de neutralização de radicais dos compostos fenólicos é devido à sua estrutura molecular que, conforme descrito anteriormente, contêm, no mínimo, um anel aromático hidroxilado (ZAGO, 2014). Segundo Gomez-Ruiz et al. (2007) e Zago (2014), também podem agir tanto na etapa de iniciação como na propagação do processo oxidativo.

O processo metabólico promove alterações oxidativas que levam à formação de radicais livres, moléculas instáveis com alta reatividade. A produção de radicais livres é um mecanismo natural e o próprio organismo dispõe de um sistema antioxidante integrado para neutralizá-los. Fatores como radiação, produtos químicos, características ambientais e biológicas são determinantes para o surgimento de radicais livres (ALVES, 2013).

O estresse oxidativo ocorre quando a produção dos radicais livres supera a capacidade do organismo de removê-los provocando danos na forma e estrutura celular, resultando no surgimento de doenças como Alzheimer, câncer, problemas cardiovasculares, desordens inflamatórias e envelhecimento (ALVES, 2013; BARBOSA et al., 2010). Estudos atribuem à presença de compostos fenólicos na alimentação o aumento do gasto energético, redução da oxidação lipídica, diminuição de doenças cardiovasculares e redução de aparecimento de câncer. Devido à composição diversificada dos extratos vegetais, possivelmente, a atividade antioxidante destes seja resultante da ação sinérgica de várias substâncias, pertencentes a diferentes grupos químicos (ALVES et al., 2012).

Em produtos naturais, grande parte das substâncias responsáveis pela coloração pertence à classe dos flavonoides. As antocianinas são amplamente distribuídas no reino vegetal formando um grupo de pigmentos hidrossolúveis (BRILHANTE et al., 2013). Seu espectro de cor vai do vermelho ao azul, apresentando-se também como uma mistura de ambas as cores resultando em tons

de púrpura (DEGÁSPARI; WASZCZYNSKY, 2004). As tonalidades de cor das antocianinas oscilam de acordo com condições intrínsecas, como o pH, temperatura, concentração, tipo de solvente, e presença de oxigênio, além da presença de substâncias nos vegetais capazes de reagir com estes pigmentos de maneira reversível ou irreversivelmente (CONSTANT; STRINGHETA; SANDI, 2002; TEIXEIRA; STRINGHETA; OLIVEIRA, 2008). Muitas frutas, hortaliças, folhas e flores devem sua atrativa coloração a estes pigmentos que se encontram dispersos nos vacúolos celulares (DEGÁSPARI; WASZCZYNSKY, 2004).

O principal interesse das antocianinas na tecnologia de alimentos se refere à conferência de coloração adequada e desejada (DEGÁSPARI; WASZCZYNSKY, 2004), visando atender a consumidores que se propõem a consumir produtos isentos de corantes artificiais dado seu potencial carcinogênico (NETTO, 2009; CAVALCANTI, 2013).

As funções desempenhadas pelas antocianinas estão relacionadas a sua diversidade estrutural destacando-se a proteção à ação da luz, mecanismo de defesa e função biológica e atividade antioxidante (LOPES et al., 2007; BRILHANTE et al., 2012)

Além de minimizar os danos oxidativos nos seres vivos, os antioxidantes também se apresentam como uma alternativa para prevenir a deterioração oxidativa dos alimentos. A oxidação lipídica e de outros componentes que ocorre nos produtos alimentares é uma das principais preocupações em tecnologia de alimentos. Esse tipo de deterioração é responsável por odores e sabores desagradáveis nos produtos, o que leva a diminuição da segurança e qualidade nutricional, causadas pela formação de compostos potencialmente tóxicos. A prevenção da oxidação lipídica possui importância econômica, além de ser essencial para proteger a saúde humana (TSAI et al., 2005; DEL RÉ; JORGE, 2012).

Ainda, como o emprego de antioxidantes sintéticos na indústria de alimentos ou para uso farmacêutico tem sido alvo de questionamentos quanto à inocuidade, devido à possibilidade desses antioxidantes apresentarem alguma toxicidade, a busca de compostos naturais que exibam esta propriedade funcional tem sido cada vez mais intensificada nas pesquisas (DEL RÉ; JORGE, 2012).

Tendo em vista o potencial antioxidante de determinados grupos de compostos fenólicos, o método de pH único permite a quantificação de antocianinas

totais por meio do etanol-ácido clorídrico em pH 1,5 por método espectrofotométrico (TEIXEIRA et al., 2008).

Os métodos para determinação da capacidade antioxidante *in vitro* também constituem uma importante ferramenta, dada a demanda cada vez maior por antioxidantes naturais no âmbito da indústria de alimentos e farmacêutica (ALVES, 2013). Dentre os métodos existentes, destacam-se aqueles que se baseiam na transferência de elétrons onde, por ação de um antioxidante (AH) ou radical (PÉREZ-JIMÉNEZ; SAURA-CALIXTO, 2006). O método DPPH utiliza 2,2-difenil-1-picril-hidrazila que possui cor púrpura é reduzido, formando difenil-picril-hidrazina, de coloração amarela, com conseqüente desaparecimento da absorção, podendo a mesma ser monitorada pelo decréscimo da absorbância (NASCIMENTO et al., 2011; PÉREZ-JIMÉNEZ; SAURA-CALIXTO, 2006).

2.5 Jabuticaba

A jabuticabeira (*Myrciaria cauliflora* Berg), frutífera pertencente à família *Myrtaceae*, originária no Centro-Sul do Brasil, ocorre de forma espontânea em grande parte do país. É cultivada mais comumente em regiões de clima subtropical, podendo também se adaptar a condições tropicais, tolerar o frio e até geadas de curta duração. A planta estende-se, portanto, da região central do Brasil, até, em menor escala, o Nordeste, apesar de nesta região, devido às elevadas temperaturas, a jabuticabeira não frutificar em grande quantidade (BRUNINI et al., 2004; ZICKER, 2011).

A origem do nome da planta vem do tupi, “iapotikaba” significa “fruta em bastão” e “fruto de que se alimenta o jabuti” (SOUZA, 2013). Há duas espécies principais de jabuticabeira: a *Myrciaria cauliflora* (Paulista), com frutos grandes e sésseis e *Myrciaria jaboticaba* (Vell) Berg (Sabará), espécie mais cultivada, com frutos pequenos e doces de pedúnculo escuro (ZICKER, 2011). A jabuticaba tem despertado interesse entre produtores rurais devido à alta produtividade, rusticidade e aproveitamento de todas as frações do fruto (BRUNINI et al., 2004; LIMA, 2009; ZICKER, 2011).

A jabuticaba (*Myrciaria cauliflora* Berg) é, portanto, uma fruta nativa do Brasil que possui fruto tipo baga globosa com 20 a 30mm de diâmetro, com casca avermelhada quase preta, polpa esbranquiçada mucilagínosa, de sabor agridoce e

sub-ácido, apresentando de uma a quatro sementes (BRUNINI et al., 2004; ZICKER, 2011).

Dessa forma, a jabuticaba é uma fruta popular que pode ser encontrada de norte a sul do país (LIMA, 2009; ZICKER, 2011; SILVA, M., 2012). A grande aceitação do fruto tem estimulado a sua produção, que no Brasil aumenta a cada ano (ZICKER, 2011).

A jabuticaba apresenta alto valor nutricional, é rica em fibras, sais minerais, vitamina C e vitaminas do complexo B. Possui ainda, principalmente na casca, altos teores de carotenoides, antocianinas, tocoferóis e compostos fenólicos, de um modo geral, antioxidantes naturais que conferem proteção ao fruto (REZENDE, et al., 2012). A jabuticaba pode ser consumida *in natura* ou na forma de produtos como geleia; da polpa fermentada é produzido licor, vinagre e vinho. (LIMA, 2009; ZICKER, 2011). Os estudos sobre a caracterização química e funcional da jabuticaba ainda são escassos na literatura científica (LIMA et al., 2008; MORENO, 2010).

O comércio do fruto, no período de safra, em feiras livres e mercados, ocorre geralmente em condições precárias. O armazenamento é realizado em caixas de papelão, madeiras ou latas, sob condições ambiente e sem tratamento pós colheita que leva à perda do valor comercial em, no máximo, três dias (ZICKER, 2011).

Destaca-se ainda que na fabricação dos produtos derivados da jabuticaba, geralmente cascas e sementes, que representam aproximadamente 50% do fruto, são desprezadas (LIMA et al, 2008; LIMA, 2009; SILVA, M., 2012). Desse modo, a grande quantidade dos resíduos gerados, aliada à sua qualidade nutricional e funcional, aponta a necessidade de criação de métodos para o seu reaproveitamento (LIMA, 2009; ZICKER, 2011).

Nesse sentido, para a utilização e melhor aproveitamento de todas as partes do fruto é necessário conhecer os seus constituintes e explorar as diversas formas de utilizá-los, agregando-lhe valor. A casca da jabuticaba é um produto natural de alta qualidade com duplo benefício à saúde por ter elevado valor nutricional e propriedades funcionais antioxidantes, fato que reafirma um novo conceito na indústria alimentícia, onde a casca da jabuticaba, tratada anteriormente como resíduo, desponta como um importante produto, pois contém substâncias de alto valor agregado (ANUNCIAÇÃO, 2013; NUNES, 2013; SILVA, M., 2012).

2.6 Sobremesas Lácteas

Ao longo das últimas décadas, a comercialização de sobremesas lácteas prontas para o consumo tem apresentado considerável crescimento. Os ingredientes inovadores e as tecnologias aplicadas nas indústrias de laticínios têm proporcionado novas alternativas às sobremesas clássicas preparadas em casa, permitindo a produção de sobremesas com novos sabores, com maior digestibilidade e maior valor nutritivo. Embora a produção industrial de sobremesas lácteas seja delicada, seu valor nutricional e suas características sensoriais favorecem o seu consumo por grupos de consumidores como crianças e idosos (NIKAEDO; AMARAL; PENNA, 2004; VIDIGAL et al., 2012; VALENCIA, 2015).

As sobremesas de base láctea apresentam em sua composição básica leite, amido, açúcar, flavorizantes, estabilizantes, emulsificantes, geleificantes, espessantes, corantes, aromatizantes, ovos, polpas de frutas ou chocolate e conservantes. As formulações são variáveis devido às combinações dos ingredientes utilizados. Os produtos resultantes são, de modo geral, complexos e a estabilidade destes é bastante dependente da tecnologia utilizada para a fabricação, das características intrínsecas de cada formulação e do armazenamento em condições de refrigeração (NUNES et al., 1998; NIKAEDO; AMARAL; PENNA, 2004).

Destaca-se ainda que as condições de processamento são importantes na preparação das sobremesas, as quais devem ser estabelecidas conforme a formulação do produto e o tipo de leite utilizado na sua fabricação. Basicamente, as etapas do processo de fabricação das sobremesas lácteas incluem o preparo da mistura, tratamento térmico, homogeneização, resfriamento parcial e armazenamento sob refrigeração (NIKAEDO; AMARAL; PENNA, 2004).

CAPÍTULO 3

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Desenvolver uma sobremesa láctea com o aproveitamento da casca de jabuticaba e com potencial probiótico utilizando cepas nativas de *Lactobacillus* sp.

3.2 Objetivos específicos

Os objetivos específicos deste estudo foram:

- a) avaliar a viabilidade de bactérias nativas potencialmente probióticas nas sobremesas contendo extrato hidroalcoólico e calda obtidos com o aproveitamento da casca de jabuticaba ao longo do armazenamento a $4 \pm 1^{\circ}\text{C}$, por até 21 dias;
- b) investigar a compatibilidade destas cepas nativas potencialmente probióticas e a sobremesa láctea em comparação a uma cultura probiótica comercial;
- c) analisar a influência das culturas nativas potencialmente probióticas sobre as características físico-químicas, de textura instrumental e sensoriais das sobremesas lácteas;
- d) quantificar os compostos fenólicos totais e avaliar a capacidade antioxidante *in vitro* do extrato hidroalcoólico, calda e sobremesas lácteas de jabuticaba potencialmente probióticas e sobremesa controle.

CAPÍTULO 4

4 ENSAIOS PILOTOS PARA A OBTENÇÃO DE SOBREMESA LÁCTEA ADICIONADA DE INGREDIENTES OBTIDOS DA CASCA DA JABUTICABA

4.1 Introdução

Tradicionalmente, o alimento tem como finalidade servir de fonte de energia e nutrientes para formação e manutenção de células e tecidos. A alimentação saudável contempla todas as necessidades do indivíduo em termos de macro e micronutrientes utilizados como fonte de energia para o organismo, contudo, o conceito de alimento deixou de ser abordado simplesmente do ponto de vista nutricional e passou a ser encarado como portador de componentes especiais, que oferecem proteção à saúde (PACHECO; SGARBIERI, 2001).

Cada vez mais a população mundial opta por alimentos práticos, de rápido e fácil consumo e que ao mesmo tempo sejam autorrecompensantes e benéficos (MANTOVANI, 2014). As sobremesas lácteas prontas para consumo têm ganhado mercado por serem opções interessantes do ponto de vista funcional, nutritivo e sensorial (BURITI; SAAD, 2014; BURITI; BEDANI; SAAD, 2016), favorecendo o consumo por grupos de consumidores como crianças e idosos (VIDIGAL et al., 2012).

Não há no Brasil uma legislação específica com definição de padrões de identidade e qualidade para sobremesas lácteas. Geralmente apresentam consistência semi-sólida e são constituídas basicamente com: leite, amido, açúcar, flavorizantes, estabilizantes, emulsificantes, geleificantes, espessantes, corantes, aromatizantes, ovos, frutas, polpas de frutas ou chocolate, micro-organismos probióticos, fibras, prebióticos e conservantes, com formulações variáveis em função das combinações dos ingredientes utilizados. São produtos complexos e sua estabilidade depende da tecnologia de fabricação, características intrínsecas de cada ingrediente e armazenamento sob condições refrigeradas (ARAGON-ALEGRO et al., 2007; ARES et al. 2013; SALVIANO et al., 2012).

As condições de processamento são importantes na preparação das sobremesas e devem ser estabelecidas conforme a formulação e o tipo de leite. O processo de fabricação é constituído basicamente das etapas de preparo da mistura,

tratamento térmico, homogeneização, resfriamento parcial e armazenamento sob refrigeração (NIKAEDO; AMARAL; PENNA, 2008).

A jabuticaba (*Myrciaria cauliflora* Berg) é uma fruta nativa do Brasil que pode ser encontrada de norte a sul do país, rica em fibras, sais minerais, vitamina C, vitaminas do complexo B e possui ainda, principalmente na casca, altos teores de carotenoides, antocianinas, tocoferóis e compostos fenólicos de um modo geral, antioxidantes naturais que conferem proteção ao fruto (ZICKER, 2011; REZENDE, et al., 2012). Pode ser consumida *in natura* ou na forma de produtos como geleia; da polpa fermentada é produzido licor, vinagre e vinho. Cascas e sementes são geralmente descartadas, sendo a semente utilizada somente para dar origem às mudas (LIMA, 2009; ZICKER, 2011).

Os antioxidantes apresentam-se como uma alternativa para prevenir a deterioração oxidativa dos alimentos e minimizar os danos oxidativos nos seres vivos. Como o emprego de antioxidantes sintéticos na indústria de alimentos ou para uso farmacêutico tem sido alvo de questionamentos quanto à inocuidade, demonstrando a possibilidade desses antioxidantes apresentarem alguma toxicidade, pesquisas encontram-se voltadas para a busca de compostos naturais que exibam esta propriedade funcional (DEL RÉ e JORGE, 2012).

Para a utilização e melhor aproveitamento das frutas é necessário conhecer os seus constituintes e explorar as diversas formas de utilizá-los, agregando-lhe valor. A casca da jabuticaba é um produto natural de alta qualidade com duplo benefício à saúde por ter elevado valor nutricional e propriedades funcionais antioxidantes, fato que reafirma um novo conceito na indústria alimentícia, onde a casca da jabuticaba, tratada anteriormente como resíduo, desponta como um importante produto, pois contém substâncias de alto valor agregado (ANUNCIAÇÃO, 2013; NUNES, 2013; SILVA, M., 2012).

O desenvolvimento de sobremesa láctea com ingredientes da casca da jabuticaba (*Myrciaria cauliflora* Berg) constitui uma alternativa para agregar valor funcional às sobremesas, além de estimular o reaproveitamento de subproduto do processamento da jabuticaba, resultando na obtenção de um produto tecnológico. O objetivo deste estudo foi realizar ensaios pilotos para a obtenção de sobremesa láctea adicionada de ingredientes obtidos da casca da jabuticaba (*Myrciaria cauliflora* Berg).

4.2 Materiais e métodos

4.2.1 Obtenção e processamento da jabuticaba

Os frutos maduros foram obtidos nas feiras da cidade de Campina Grande-PB entre fevereiro e março de 2015, período da safra de jabuticaba. Estes foram selecionados e colocados em água potável adicionada de água sanitária, de modo a obter uma concentração final de 0,2 g de cloro ativo/L de água (200 ppm), para sanitização durante 30 minutos. Posteriormente, os frutos foram lavados em água corrente onde se procedeu a separação manual da casca, polpa e sementes, os quais foram embalados e congelados. As cascas foram utilizadas para o preparo do extrato hidroalcoólico e da calda de jabuticaba para incorporação nas sobremesas, conforme as descrições apresentadas para os ensaios pilotos.

4.2.2 Obtenção do extrato aquoso da casca de jabuticaba

As cascas foram acidificadas com suco de limão na proporção de 1:2:0,15 (casca: água: suco de limão), a fim de eliminar adstringência atribuída aos taninos. Em seguida, após serem escurridas, foram trituradas em liquidificador (90,5 g de casca com 170 mL de água) e filtradas em rede de nylon para padronização do tamanho das partículas. O extrato aquoso obtido foi utilizado para triturar uma segunda quantidade de cascas utilizando as mesmas proporções (170 g de filtrado para 90,5 g de cascas). O processo foi repetido até que o extrato aquoso da casca de jabuticaba atingisse 2,5 g 100 g⁻¹ de sólidos solúveis. Sendo assim, após a trituração, o extrato aquoso obtido foi usado para produção de calda, usada como *topping* e também para incorporação à base láctea. Por sua vez, o resíduo retido na rede de nylon foi utilizado para a obtenção do extrato hidroalcoólico, também incorporado na base láctea.

O volume de extrato aquoso e as proporções dos demais ingredientes (açúcar e pectina) utilizados no preparo da calda, bem como o detalhamento de sua elaboração para os ensaios pilotos e definitivos, serão apresentados em cada item relativo a estes ensaios.

4.2.3 Obtenção do extrato hidroalcoólico da casca da jabuticaba

A produção do extrato alcoólico foi adaptada da metodologia descrita para o aproveitamento do resíduo da indústria vitivinícola por Cruz (2013). Devido à grande

quantidade de resíduo gerado na produção do extrato aquoso e buscando retirar a maior quantidade possível de compostos bioativos, foi feita a hidratação do resíduo com água destilada por uma hora, em temperatura ambiente, na proporção de duas partes de resíduo para 1 parte de água. Em seguida foram distribuídos 10 g do resíduo hidratado em frascos de Erlenmeyer de 125 mL, os quais foram também adicionados de 90 mL de álcool potável (etanol extra neutro, Usina Giasa, Biosev) hidratado até a concentração de 30% com pH ajustado a 4,0 com ácido cítrico. A suspensão do resíduo em etanol foi levada para o banho de ultrassom (50 rpm) por 2 horas, em temperatura de 50°C. Após este procedimento, a suspensão foi filtrada em rede de nylon e levada para a secagem em estufa com circulação de ar (50 °C) para evaporação do etanol e concentração até atingir a quantidade final de 15 g. O extrato hidroalcoólico foi utilizado a partir do Ensaio Piloto 3 visando o aumento da concentração de compostos fenólicos das sobremesas elaboradas.

4.2.4 Ensaios pilotos

Nesta etapa não foram produzidas replicatas, foi elaborado um produto para cada ensaio piloto correspondente.

4.2.4.1 Ensaio Piloto 1 - Preparo da calda para incorporação à base láctea e uso como cobertura (“topping”) das sobremesas

Para a obtenção de uma calda adequada, tanto para a incorporação à base láctea, como para a cobertura de sobremesas, foi estabelecido que o extrato aquoso deveria ser enriquecido e concentrado até alcançar não menos que 2,5 g 100 g⁻¹ de sólidos solúveis. A finalidade deste ensaio foi obter uma cobertura (*topping*) fluida de consistência encorpada, semelhante às caldas de caramelo e de frutas tradicionalmente empregadas como acompanhamento de sobremesas lácteas. Dessa forma, as proporções dos ingredientes apresentados na Tabela 4.1 foram testadas:

Tabela 4.1 – Proporção de ingredientes para elaboração da calda da casca de jabuticaba.

Ingredientes	Proporção de ingredientes (g 100 g ⁻¹)
Extrato aquoso	78,00
Sacarose ¹	21,58
Pectina ²	0,42
Total	100,00

¹ Açúcar comercial; ² Pectina YF310 (DuPont). Fonte: dados da pesquisa.

Para o preparo da calda, dissolveu-se previamente a pectina em 20 ml de água. Em seguida todos os ingredientes (extrato aquoso, açúcar e a pectina dissolvida) foram colocados na panela e misturados até se dissolverem completamente. O teor de sólidos solúveis foi medido com o auxílio de um refratômetro digital (Catalog No. 13940000, SN: 04764, Reichert Analytical Instruments) no filtrado antes da adição do açúcar e na mistura de ingredientes durante o aquecimento até que se chegasse a 25 g 100 g⁻¹ de sólidos solúveis. No entanto, esta proporção de sólidos solúveis, após o resfriamento da calda, ainda foi considerada insuficiente.

Em nova repetição do processamento de calda, utilizando as proporções de ingredientes deste ensaio (Tabela 4.1), foi atingido o teor de sólidos solúveis de 44 g 100 g⁻¹ que, após o resfriamento, foi considerado excessivo, pois apresentava o aspecto de uma geleia cremosa, não apropriado para uso como *topping* em sobremesas. O teor de sólidos solúveis ideal para uma calda utilizada em sobremesas foi determinado a partir da reconstituição de 50 g da geleia de 44 g 100 g⁻¹ de sólidos solúveis com 39,7 g de água. Esta mistura foi totalmente dissolvida e aquecida até encorpar levemente. O teor de sólidos solúveis foi medido antes do aquecimento e em intervalos de um minuto e meio, nos quais a panela era retirada do aquecimento e resfriada em banho-maria com gelo. A consistência ideal foi obtida quando a calda atingiu o teor de 40,5 g 100 g⁻¹ de sólidos solúveis.

4.2.4.2 Ensaio Piloto 2 - Definição das proporções dos ingredientes usados no preparo da base láctea das sobremesas para gelificação e dulçor

Para a formulação da base láctea das sobremesas, foram testadas inicialmente, as proporções de água, leite em pó e amido utilizadas por Corrêa,

Castro e Saad (2008) em manjar de coco probiótico. Estas proporções foram ajustadas às sobremesas deste projeto ao longo das experimentações.

Nesse sentido, foram testadas seis formulações que serviram de ponto de partida para que fossem estabelecidas as proporções adequadas de ingredientes para a formulação da sobremesa de jabuticaba. Nas quatro primeiras formulações de sobremesa (Tabela 4.2) foi verificada a capacidade de formação de um gel uniforme a partir do leite, amido e pectina.

Tabela 4.2 – Formulações dos testes de gelificação do leite com pectina e amido para produção da sobremesa láctea.

Ingredientes	Proporção de ingredientes			
	Teste 1	Teste 2	Teste 3	Teste 4
Pectina ¹ (g 100 g ⁻¹)	0,4	0,4	0,8	0,8
Amido ² (g 100 g ⁻¹)	4,0	2,0	3,8	1,8
Leite em pó ³ (g 100 g ⁻¹)	7,6	7,6	7,4	7,4
Água (g 100 g ⁻¹)	88	90	88	90
Total (g 100 g ⁻¹)	100	100	100	100

¹ Pectina YF310 (DuPont); ² Amido de milho Maizena (Unilever); ³ Leite em pó desnatado Molico (Nestlé). Fonte: dados da pesquisa.

Para o preparo dos testes, procedeu-se, primeiramente, a diluição do amido em água com auxílio do agitador magnético. O leite foi reconstituído em água e uma pequena quantidade de leite reconstituído foi usada para diluir a pectina até formar um gel uniforme. Em seguida, o restante do leite reconstituído foi adicionado aos poucos ao gel até incorporar totalmente a pectina. Após a total dissolução da pectina no leite, foi adicionado à mistura o amido diluído em água, levemente aquecido. A mistura com todos os ingredientes foi levada ao fogo a 85 °C por quinze minutos ou até o aumento da consistência. Durante o resfriamento, a consistência do produto foi verificada na temperatura de 36-37 °C. Nesta etapa, a gelificação não está totalmente finalizada, sendo desejável aqui apenas uma consistência de creme, uma vez que, em ensaios posteriores o inóculo contendo a cultura probiótica foi adicionado nessa temperatura. O produto foi transferido para potes de plástico com tampa (em polipropileno, com volume útil de, aproximadamente, 150 ml) e sua completa gelificação ocorreu após refrigeração a 4-5 °C.

Nas formulações-teste 5 e 6 (Tabela 4.3) foram incluídas na base láctea a calda da casca da jabuticaba (40,5 g 100 g⁻¹ de sólidos solúveis) e o açúcar (apenas

no Teste 5) a fim de se checar a quantidade de calda incorporada à base para conferir o sabor característico da fruta à sobremesa e a real necessidade de adição de açúcar. As proporções de amido e pectina para a adequada gelificação estavam pré-determinadas após a realização do Teste 4.

Tabela 4.3 – Formulações dos testes de adição de calda e açúcar à base láctea.

Ingredientes	Proporção de ingredientes	
	Teste 5	Teste 6
Pectina ¹ (g 100 g ⁻¹)	0,8	0,8
Amido ² (g 100 g ⁻¹)	1,8	1,8
Leite em pó ³ (g 100 g ⁻¹)	6,92	7,4
Água (g 100 g ⁻¹)	80	40
Calda ⁴ (g 100 g ⁻¹)	10	50
Sacarose ⁵ (g 100 g ⁻¹)	2,48	0,0
Total (g 100 g ⁻¹)	100	100

¹ Pectina YF310 (DuPont); ² Amido de milho Maizena (Unilever); ³ Leite em pó desnatado Mólico (Nestlé); ⁴ 40,5 g 100 g⁻¹ de sólidos solúveis; ⁵ Açúcar comercial. Fonte: dados da pesquisa.

4.2.4.3 Ensaio Piloto 3 - Adição de ácido cítrico e extrato hidroalcoólico à base láctea para melhorar a estabilidade da cor das sobremesas

Devido à instabilidade da cor das sobremesas, que se alterava para marrom ao final das produções em decorrência dos ingredientes presentes e do aquecimento, foi realizado um teste de adição de ácido cítrico e extrato hidroalcoólico à formulação, uma vez que as antocianinas apresentam maior estabilidade em condições ácidas (VON HELBE; SCHWARTZ, 1996). A utilização do extrato hidroalcoólico ocorreu devido à necessidade de se aumentar o rendimento de extração das antocianinas, especialmente aquelas intimamente ligadas à fibra insolúvel da casca, as quais não são extraídas apenas com o emprego de água. Para a preparação da base láctea foi utilizado o mesmo procedimento descrito anteriormente para o Ensaio Piloto 2, sendo que o ácido cítrico foi adicionado antes dos ingredientes serem aquecidos e o extrato hidroalcoólico foi adicionado durante o resfriamento, em temperatura de 40 °C ou menos.

Tabela 4.4 – Formulação do teste de adição de ácido cítrico e extrato hidroalcoólico à base láctea

Ingredientes	Proporção de ingredientes
Pectina ¹ (g 100 g ⁻¹)	0,87
Amido ² (g 100 g ⁻¹)	1,95
Leite em pó ³ (g 100 g ⁻¹)	6,7
Água (g 100 g ⁻¹)	83,0
Sacarose ⁴ (g 100 g ⁻¹)	3,34
Extrato hidroalcoólico (g 100 g ⁻¹)	4,00
Ácido cítrico ⁵ (g 100 g ⁻¹)	0,14
Total (g 100 g ⁻¹)	100,0

¹ Pectina YF310 (DuPont); ² Amido de milho Maizena (Unilever); ³ Leite em pó desnatado Molico (Nestlé); ⁴ Açúcar comercial; ⁵ Sólido, grau alimentício comercial. Fonte: dados da pesquisa.

4.2.4.4 Ensaio Piloto 4 - Teste de formulação da sobremesa a partir da adição de ácido láctico e de diferentes pectinas

Ainda com o objetivo de aumentar a estabilidade da cor da sobremesa, foi testada a adição de ácido láctico na formulação da base láctea. Neste ensaio, devido ao fato de o ácido láctico testado encontrar-se na forma de solução, foi necessário alterar a proporção de ingredientes de forma a se alcançar as mesmas características de gelificação da sobremesa verificadas nos ensaios pilotos anteriores. Para este fim, foram utilizadas as pectinas YF789 e YF310 (DuPont) para as formulações 1 e 2, respectivamente, a fim de verificar qual destas poderia revelar um produto final com consistência e aparência semelhante às obtidas para as sobremesas sem a adição de ácido láctico (Tabela 4.5).

Tabela 4.5 – Proporção de ingredientes utilizando as pectinas YF789 e YF310.

Ingredientes	Proporção de ingredientes	
	Formulação 1	Formulação 2
Pectina YF789 (DuPont) (g 100 g ⁻¹)	0,83	0,0
Pectina YF310 (DuPont) (g 100 g ⁻¹)	0,0	0,83
Amido ¹ (g 100 g ⁻¹)	1,87	1,87
Leite em pó ² (g 100 g ⁻¹)	7,45	7,45
Água (g 100 g ⁻¹)	79	77,5
Sacarose ³ (g 100 g ⁻¹)	6,94	6,94
Extrato (g 100 g ⁻¹)	2,41	4,5
Ácido láctico ⁴ (g 100 g ⁻¹)	1,5	0,96
Total (g 100 g ⁻¹)	100	100

¹ Amido de milho Maizena (Unilever); ² Leite em pó desnatado Molico (Nestlé); ³ Açúcar comercial; ⁴ Ácido láctico alimentício em solução a 85% (Purac Sínteses). Fonte: dados da pesquisa.

Posteriormente, outras formulações foram testadas, mantendo a mesma quantidade de ingredientes, mas com uma menor proporção de água (75,8 g 100 g⁻¹). Foi usado 1,5 mL de ácido láctico para uma quantidade total de 210 g de sobremesa e a pectina YF310 foi escolhida para uso nos ensaios posteriores.

4.2.4.5 Ensaio Piloto 5 - Adição de corante carmim de cochonilha na formulação da sobremesa láctea

Uma vez que a adição de ácido não foi suficiente para manter a estabilidade da coloração da sobremesa, o corante de cochonilha, na proporção utilizada por de Cardarelli et al. (2008) em *petit-suisse* de morango, foi utilizado para atingir a coloração rosácea característica da casca da jabuticaba, como a observada na base láctea antes do aquecimento da calda.

Foram seguidas as mesmas proporções da formulação anterior (0,83 g 100 g⁻¹ de pectina YF310, 75,8 g 100 g⁻¹ de água, 0,96 g 100 g⁻¹ de ácido láctico). Ao término do aquecimento e incorporação da base láctea, em uma faixa de temperatura inferior a 40 °C foi adicionado 84 µl do corante carmim de cochonilha para 155 g de base láctea.

4.2.5 Rendimento de preparação da base da sobremesa láctea

O cálculo do rendimento para a base láctea foi obtido por meio da quantidade total de ingredientes pela quantidade produzida.

A Figura 4.1 mostra a sobremesa láctea de jabuticaba com ingredientes da casca da jabuticaba pronta

Figura 4.1 – Sobremesa láctea com ingredientes da casca da jabuticaba.



4.3 Resultados e discussão

4.3.1 *Rendimento das cascas e do extrato hidroalcoólico*

O rendimento de cascas, depois que as jabuticabas foram despolpadas, foi de 36% de cascas, considerando tanto a retirada da polpa, como das sementes.

Em relação a quantidade inicial, o extrato hidroalcoólico obtido primariamente do resíduo da casca da jabuticaba, teve rendimento de 6%, fato que se deve ao processo que levou à diminuição de volume do extrato a fim de obter a concentração ideal de compostos fenólicos para a quantidade previamente determinada de 15 g.

4.3.2 *Ensaio pilotos*

4.3.2.1 *Ensaio Piloto 1 - Elaboração da calda*

Para a elaboração da calda, a adstringência das cascas foi um fator que precisou ser contornado. O suco de limão foi usado para neutralizar tal característica, já que refletia diretamente nas demais etapas de produção, pois o sabor de jabuticaba tornava-se secundário em relação à forte adstringência. Além do limão, o açúcar foi um ingrediente importante para se chegar ao sabor agradável da calda da casca de jabuticaba.

O açúcar foi uma variável que teve suas proporções testadas em etapas ainda preliminares ao ensaio apresentado de elaboração da calda, já que junto com a casca, proporciona o sabor característico. Mais tarde foi percebido que a adição de pectina poderia aumentar o rendimento da calda ao torná-la mais consistente sem haver elevada perda de água durante o cozimento.

O limite entre a consistência e o rendimento desejável foi obtido ao reconstituir com 44,2 g 100 g⁻¹ de água uma geleia preparada com o extrato aquoso da casca de jabuticaba com 44 g 100 g⁻¹ de sólidos solúveis. Esta proporção de sólidos solúveis após o resfriamento resultou em uma consistência acima do que era esperado para a calda. Com isso, a calda final, com consistência apropriada, apresentou rendimento de 83% e 40,5 g 100 g⁻¹ de sólidos solúveis, considerando a quantidade inicial utilizada de extrato aquoso.

4.3.2.2 Ensaio Piloto 2 - Definição das proporções dos ingredientes usados no preparo da base láctea

Das formulações usadas para avaliar a gelificação do leite com pectina e amido para produção da sobremesa láctea, o Teste 4 foi o que apresentou melhor consistência, pois manteve a estrutura/formato ao desenformar, não sofreu desintegração com a introdução da colher, demonstrou suavidade ao deglutir e liberação de água reduzida durante o armazenamento refrigerado de até 21 dias, além de uma aparência mais próxima das sobremesas lácteas comerciais. Dessa forma, para a elaboração da quinta e sexta formulação, as proporções de ingredientes foram semelhantes, ajustando-se à incorporação da calda e açúcar. A formulação Teste 5, em que foram adicionados os dois ingredientes (calda e açúcar), resultou em um sabor marcante e característico da jabuticaba aliado ao dulçor característico de uma sobremesa, em comparação ao Teste 6, adicionada somente de calda.

4.3.2.3 Ensaio Piloto 3 - Adição de ácido cítrico à base láctea

A adição do ácido cítrico ao produto visou aumentar a estabilidade da cor da sobremesa, característica que foi alcançada com no referido ensaio. No entanto, houve uma preocupação no sentido de que o pH resultante poderia ser prejudicial às bactérias probióticas adicionadas. A Tabela 4.6 mostra a influência do ácido cítrico na viabilidade de *L. rhamnosus*.

Tabela 4.6 – Ensaio piloto 3. Viabilidade de *Lactobacillus rhamnosus* frente à adição de ácido cítrico ao produto.

Sobremesa láctea	pH	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> (UFC/g)
Com ácido cítrico	3,65	$8,9 \times 10^6$
Sem ácido cítrico	5,96	$1,77 \times 10^7$

Fonte: dados da pesquisa

Em decorrência da redução de 0,3 ciclo log da viabilidade do probiótico na sobremesa com ácido cítrico, foi considerado a utilização de um ácido orgânico nas formulações que pudesse ser mais tolerado pelos micro-organismos probióticos. Por esse motivo, as formulações dos ensaios seguintes foram produzidas com ácido

lático, uma vez que este é o principal ácido orgânico produzido pelas bactérias do gênero *Lactobacillus* (AXELSSON, 2004).

4.3.2.4 Ensaio Piloto 4 - Adição de ácido lático e diferentes pectinas

O ácido cítrico, testado no ensaio anterior, é produto do metabolismo de de carboidratos, como a lactose, entre vários outros. No entanto, a via de metabolismo do ácido cítrico não está presente em todas as espécies de *Lactobacillus* (AXELSSON, 2004) e, portanto, as chances desses micro-organismos não tolerarem a presença desse ácido no produto são maiores. Apesar de esse ácido haver conservado a cor da sobremesa láctea, houve uma tendência de redução da viabilidade de *L. rhamnosus* na sua presença. Dessa forma, a utilização de ácido lático poderia torna o ambiente mais natural e propício para as espécies de *Lactobacillus*, já que é o principal produto resultante do metabolismo das culturas lácticas (AXELSSON, 2004; KOMATSU; BURUTI; SAAD; 2008).

Para este ensaio foi utilizado o ácido lático em volume (mL) que apresentasse quantidade do ácido (g) correspondente à usada para o ácido cítrico no ensaio anterior, o que resultou na necessidade de modificar as quantidades de ingredientes adicionados e ofereceu uma oportunidade de testar outro tipo de pectina. No Ensaio Piloto 4, a Formulação 1 que utilizou a pectina YF789 apresentou pH igual a 3,4, coloração fracamente rosada e consistência moderada. A Formulação 2, com pectina YF310, apresentou pH igual a 4,7, coloração mais escura quando comparada à Formulação 1 (que se deve a maior quantidade de extrato adicionado), consistência moderada com presença de alguns grumos, com o sabor mais doce e característico de jabuticaba. O rendimento médio da base láctea para este ensaio foi 72,58%.

Em testes adicionais, foram testados diferentes volumes de ácido lático a fim de que se encontrasse a proporção de ácido necessária para alcançar uma faixa de pH do meio (preferencialmente entre 3,9 e 4,0) que pudesse, simultaneamente, garantir a sobrevivência e multiplicação das culturas de *Lactobacillus* adicionadas e propiciar maior estabilidade da cor (dados não mostrados).

4.3.2.5 Ensaio Piloto 5 - Adição de corante carmim de cochonilha

Os ensaios pilotos realizados com ácido lático mostraram que a cor característica de jabuticaba era obtida na sobremesa láctea ao final da produção,

mas tendia a uma coloração mais escura, não característica, ao longo do armazenamento, mesmo com a redução do pH. Neste ensaio, portanto, a adição do corante natural carmim de cochonilha foi a alternativa encontrada para realçar a cor e aparência do produto ao torná-lo mais róseo e atrativo durante todo o armazenamento das sobremesas.

4.3.2.6 Rendimento de preparação da base da sobremesa láctea

O rendimento final de base láctea referente aos três lotes produzidos para cada tratamento em relação às quantidades de ingredientes utilizadas no preparo é apresentado na Tabela 4.7. As perdas ocorreram principalmente em função do aquecimento da base láctea e adesão à superfície do recipiente.

Tabela 4.7 – Rendimento da base láctea nos tratamentos T1, T2 e T3.

Tratamento	Rendimento (%)
T1 - <i>Lactobacillus rhamnosus</i> ¹	68,5
T2 - <i>Lactobacillus mucosae</i> ²	48,5
T3 - <i>Lactobacillus plantarum</i> ³	61,7

¹ *Lactobacillus rhamnosus* LR32 (DuPont). ² *Lactobacillus mucosae* CNPC 007 (EMBRAPA). ³ *Lactobacillus plantarum* CNPC 020 (EMBRAPA). Fonte: dados de pesquisa.

4.4 Considerações finais

Os ensaios pilotos realizados chegaram a formulação de aparência mais próxima das sobremesas lácteas comerciais.

A produção da calda final para “*topping*” e incorporação no produto alcançou a consistência apropriada ao apresentar 40,5 g 100 g⁻¹ de sólidos solúveis.

Os testes para elaboração da sobremesa resultaram em um produto com sabor marcante e característico da jabuticaba aliado ao dulçor característico de uma sobremesa.

CAPÍTULO 5

5 DESENVOLVIMENTO, CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA, ANÁLISE SENSORIAL E DE TEXTURA INSTRUMENTAL E VIABILIDADE PROBIÓTICA EM SOBREMESA LÁCTEA ADICIONADA DE INGREDIENTES DA CASCA DA JABUTICABA

5.1 Introdução

O entendimento de que a alimentação saudável está diretamente ligada à saúde, bem-estar e prevenção de doenças tem levado ao aumento do consumo de alimentos que satisfaçam tais quesitos, além de custo acessível e aspectos sensoriais agradáveis (CORRÊA, 2006; MANTOVANI et al., 2014).

Dentre esses alimentos incluem-se os probióticos, contendo micro-organismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem um benefício à saúde no hospedeiro (HILL et al., 2014). A administração de forma correta e regular pode garantir a prevenção de patologias, distúrbios do metabolismo gastrointestinal, inibição da carcinogênese, regulação da microbiota intestinal e imunomodulação (MANTOVANI et al., 2014; VASCONCELOS et al., 2013).

A busca por novas cepas potencialmente probióticas é vista como importante (DOS SANTOS et al., 2015); entretanto, as propriedades capazes de resultar em benefícios à saúde do consumidor são características de cada cepa, e não podem ser extrapoladas para micro-organismos do mesmo gênero ou da mesma espécie (JANKOVIĆ et al. 2012). A descoberta de novas cepas nativas com potencial probiótico traz a possibilidade de sua incorporação nas formulações, resultando em produtos com menor custo e maior acesso por parte da população e das pequenas indústrias (VINDEROLA et al., 2008).

Os probióticos pertencentes ao gênero *Lactobacillus* estão entre os mais conhecidos (BALLUS et al. 2010; JANKOVIĆ et al. 2012) e estão entre os mais comumente encontrados nos produtos lácteos devido às características favoráveis para a multiplicação e sobrevivência desses micro-organismos (SAXELIN et al., 2003). De modo semelhante, os alimentos lácteos são considerados o principal veículo para fornecimento de probióticos, dadas as características do leite, sua composição química, efeito tamponante e protetor. Existem ainda fatores que influenciam a multiplicação dos micro-organismos probióticos e sua sobrevivência

nos alimentos tais como açúcares, pH do meio, teor de gordura, concentração e tipo de proteína (KOMATSU; BURITI; SAAD, 2008; VALENCIA, 2015).

Pesquisas têm mostrado que a adição de ingredientes fontes de compostos fenólicos em produtos lácteos tem favorecido ainda mais a multiplicação desses micro-organismos (HERVERT-HERNANDEZ et al., 2009; DOS SANTOS et al., 2016); em estudo de Hervert-Hernandez et al. (2009) foi verificado que os fenólicos presentes no extrato do bagaço de uva e suco podem estimular a multiplicação de *Lactobacillus acidophilus* CECT903.

Paralelamente, as culturas probióticas devem agregar à matriz alimentar propriedades sensoriais adequadas, do mesmo modo que o produto precisa oferecer condições para o desenvolvimento dos probióticos, conservando-os viáveis e funcionais até a chegada no trato gastrintestinal, principalmente na porção final (SAAD, 2006; VASCONCELOS et al., 2013). As sobremesas lácteas têm mostrado grande potencial de mercado, levadas pela tendência de consumo de produtos saudáveis e funcionais, além do baixo teor de gordura e das características sensoriais agradáveis, tornando-as atraentes para todos os grupos etários (BURITI; BEDANI; SAAD, 2016).

Do mesmo modo, o reaproveitamento de resíduos agroindustriais, principalmente as cascas, tem se revelado uma nova tendência da indústria de alimentos. A jabuticaba é uma fruta nativa do Brasil, podendo ser consumida *in natura* ou na forma de geleia e doces. As cascas dessa fruta, antes descartadas, são ricas em nutrientes, compostos bioativos com atividade antioxidante e pigmentos naturais, atendendo as necessidades de uma indústria alimentícia que busca ingredientes e alternativas inovadoras para um mercado de consumidores cada vez mais conscientes e exigentes (SILVA, M., 2012; ZICKER, 2011).

A sobremesa láctea de jabuticaba contendo culturas nativas de lactobacilos com potencial probiótico é proposta como um produto inovador, capaz de proporcionar os benefícios dessas culturas, dos nutrientes do produto e dos compostos bioativos com atividade antioxidante dos ingredientes da casca da jabuticaba, que também pode agir sobre as culturas, aumentando a sua sobrevivência durante a vida de prateleira, bem como atuar no organismo humano prevenindo doenças e promovendo a saúde.

O objetivo deste estudo foi desenvolver uma sobremesa láctea adicionada de geleia da casca de jabuticaba e caracterizar os atributos físico-químicos, sensoriais,

de textura instrumental, além de verificar a viabilidade de culturas probióticas nesse produto.

5.2 Materiais e métodos

5.2.1 Obtenção e processamento da jabuticaba

Os frutos maduros foram obtidos nas feiras da cidade de Campina Grande-PB entre fevereiro e março de 2015, período da safra de jabuticaba. Estes frutos foram selecionados e colocados em água potável adicionada de água sanitária, de modo a obter uma concentração final de 0,2 g de cloro ativo/L de água (200 ppm), para sanitização durante 30 minutos. Posteriormente, os frutos foram lavados em água corrente. Foi realizada a separação manual da casca, polpa e sementes, os quais foram embalados e congelados. As cascas foram utilizadas para o preparo do extrato hidroalcoólico e da calda de jabuticaba para incorporação nas sobremesas, conforme as descrições que serão apresentadas. Para o rendimento das cascas, calculou-se a massa total das jabuticabas pela massa de cascas após o despulpamento.

5.2.2 Obtenção do extrato aquoso da casca de jabuticaba

As cascas foram acidificadas com suco de limão na proporção de 1:2:0,15 (casca: água: suco de limão), a fim de eliminar adstringência atribuída aos taninos. Em seguida, após serem escurridas, foram trituradas em liquidificador (90,5 g de casca com 170 mL de água) e filtradas em rede de nylon (abertura de, aproximadamente, 0,300 mm) para padronização do tamanho das partículas. O extrato aquoso obtido foi utilizado para triturar uma segunda quantidade de cascas utilizando as mesmas proporções (170 g de filtrado para 90,5 g de cascas). O processo foi repetido até que o extrato aquoso da casca de jabuticaba atingisse 2,5 g 100 g⁻¹ de sólidos solúveis. Sendo assim, após a trituração, o extrato aquoso obtido foi usado para produção de calda, usada como *topping* e também para incorporação à base láctea. Por sua vez, o resíduo retido na rede de nylon foi utilizado para a obtenção do extrato hidroalcoólico, também incorporado na base láctea.

5.2.3 Obtenção do extrato hidroalcoólico da casca da jabuticaba

A produção do extrato alcoólico foi adaptada da metodologia descrita para o aproveitamento do resíduo da indústria vitivinícola por Cruz (2013). Devido à grande quantidade de resíduo gerado na produção do extrato aquoso e buscando retirar a maior quantidade possível de compostos bioativos, foi feita a hidratação do resíduo com água destilada por uma hora, em temperatura ambiente, na proporção de duas partes de resíduo para 1 parte de água. Em seguida foram distribuídos 10 g do resíduo hidratado em frascos de Erlenmeyer de 125 mL, os quais foram também adicionados de 90 mL de álcool potável (etanol extra neutro, Usina Giasa, Biosev) hidratado até a concentração de 30% com pH ajustado a 4,0 com ácido cítrico. A suspensão do resíduo em etanol foi levada para o banho de ultrassom (50 rpm) por 2 horas, em temperatura de 50 °C. Após este procedimento, a suspensão foi filtrada em rede de nylon e levada para a secagem em estufa com circulação de ar (50 °C) para evaporação do etanol e concentração até atingir a quantidade final de 15 g. O extrato hidroalcoólico foi utilizado visando o aumento da concentração de compostos fenólicos das sobremesas elaboradas.

5.2.4 Preparo da calda a partir do extrato aquoso da casca de jabuticaba para incorporação à base láctea e uso como cobertura (“topping”) das sobremesas

Para a obtenção de uma calda adequada, tanto para a incorporação à base láctea, como para a cobertura de sobremesas, foi estabelecido em ensaios preliminares que o extrato aquoso deveria ser enriquecido e concentrado até alcançar não menos que 2,5 g 100 g⁻¹ de sólidos solúveis. A finalidade deste ensaio foi obter uma cobertura (*topping*) fluida de consistência encorpada, semelhante às caldas de caramelo e de frutas tradicionalmente empregadas como acompanhamento de sobremesas lácteas.

O extrato aquoso (240 mL), obtido foi adicionado de açúcar (27 g 100 g⁻¹) e pectina (0,4 g 100 g⁻¹, previamente dissolvida em 37 g de água), e aquecido até obtenção de uma calda contendo 40,5 g 100 g⁻¹ de sólidos solúveis. Esta calda foi adicionada previamente nas embalagens e também incorporada na formulação das sobremesas.

5.2.5 Tratamentos avaliados

Foram avaliados três tratamentos de sobremesa produzidas com calda e extrato hidroalcoólico obtidos da casca de jabuticaba, sendo: T1 – adicionado de cultura potencialmente probiótica comercial de *Lactobacillus rhamnosus* LR32, DuPont (formulação probiótica padrão); T2 – produzida com a cultura nativa potencialmente probiótica de *Lactobacillus mucosae* CNPC 007, EMBRAPA; e T3 – produzida com a cultura nativa potencialmente probiótica de *Lactobacillus plantarum* CNPC 020, EMBRAPA.

5.2.6 Recuperação das culturas probióticas nativas *Lactobacillus mucosae* e *Lactobacillus plantarum* para uso como pré-inóculo

As cepas nativas de *L. mucosae* CNPC 007 e *L. plantarum* CNPC 020 foram fornecidas na forma liofilizada pela Embrapa Caprinos e Ovinos (Sobral – CE). Estas cepas nativas foram previamente isoladas de leite de cabra e avaliadas quanto ao potencial probiótico (resistência às condições do trato gastrintestinal, desconjunção dos sais biliares, susceptibilidade a antibióticos, multiplicação no leite, entre outros testes) pelos pesquisadores daquela instituição.

Para uso no presente estudo, cada cultura nativa foi multiplicada, separadamente, em 10 mL de caldo de Man Rogosa Sharpe (MRS), em tubos de ensaio estéreis, a 36 °C por 24 horas. Finalizado este período, as culturas foram agitadas em vórtex, distribuídas em microtubos de 1,5 ml e levadas à centrifugação, a fim de que se separasse a cultura sedimentada dos demais componentes. O sobrenadante foi descartado e, para a recuperação das culturas, o precipitado foi lavado com solução salina por três vezes para completa retirada do material usado para a liofilização e do caldo MRS. As culturas contidas no microtubos (pré-inóculo) foram armazenadas sob refrigeração para serem ativadas em leite previamente a adição às sobremesas.

5.2.7 Ativação das culturas probióticas para uso como inóculo

O leite em pó desnatado (Molico, Nestlé) utilizado para o preparo dos inóculos foi reconstituído, conforme as instruções do fabricante, distribuído em tubos de ensaio estéreis, e tratado termicamente a 85 °C por 30 minutos. Cada tubo de ensaio estéril foi adicionado de 11 mL de leite reconstituído para o tratamento térmico e preparo dos inóculos, considerando 10 mL de inóculo a serem adicionados

à base láctea e 1 mL para as análises microbiológicas da viabilidade de *Lactobacillus* do inóculo. Após o tratamento térmico do leite e resfriamento a 37 °C, para o inóculo do tratamento T1, foram adicionados 0,22 g da comercial liofilizada de *Lactobacillus rhamnosus* LR32. Para os inóculos dos tratamentos T2 e T3, foram adicionadas as quantidades do pré-inóculo, preparado nos microtubos, das culturas nativas, *Lactobacillus mucosae* CNPC 007 e *Lactobacillus plantarum* CNPC 020, respectivamente.

5.2.8 Preparação da base da sobremesa láctea

Na preparação da base láctea da sobremesa foram utilizados amido de milho, leite em pó, açúcar, água, calda, pectina, extrato hidroalcoólico, ácido láctico e corante carmim de cochonilha nas proporções apresentadas na Tabela 5.1.

Tabela 5.1 - Proporções de ingredientes utilizadas no preparo da base láctea de todos os tratamentos.

Ingredientes	Proporção
Leite em pó ¹ (g 100 g ⁻¹)	8,0
Sacarose ² (g 100 g ⁻¹)	6,78
Água (g 100 g ⁻¹)	78,8
Amido ³ (g 100 g ⁻¹)	2,1
Pectina ⁴ (g 100 g ⁻¹)	0,9
Extrato hidroalcoólico (g 100 g ⁻¹)	1,0
Corante carmim de cochonilha (g 100 g ⁻¹)	0,04
Ácido láctico ⁵ (g 100 g ⁻¹)	0,58
Calda ⁶ (g 100 g ⁻¹)	1,8
Total (g 100 g ⁻¹)	100

¹ Leite em pó desnatado Molico (Nestlé); ² Açúcar comercial; ³ Amido de milho Maizena (Unilever); ⁴ Pectina YF310 (DuPont); ⁵ Ácido láctico alimentício em solução a 85% (Purac Sínteses); ⁶ Calda obtida a partir do extrato aquoso da casca da jabuticaba contendo 40,5% de sólidos solúveis. Fonte: dados da pesquisa.

As proporções de ingredientes foram testadas previamente por meio de ensaios pilotos. As sobremesas de cada tratamento (T1, T2, T3) foram produzidas em três diferentes lotes (triplicatas independentes). Outros três lotes de cada

tratamento foram preparados exclusivamente para a análise sensorial. Cada lote da sobremesa foi produzido obtendo-se em média 2 kg. Foram considerados 3% (110 g) de perda para cada tratamento ao longo do processamento.

O amido foi previamente dissolvido em parte da água por meio do agitador magnético. A pectina foi solubilizada aos poucos no leite e adicionada aos demais ingredientes. O ácido láctico foi adicionado à base antes de levá-la ao aquecimento. O açúcar foi acrescentado quando a temperatura da base láctea atingiu 65 °C durante o aquecimento. A base láctea foi aquecida a 85 °C até o aumento da consistência. Antes de desligar o aquecimento a calda foi incorporada à base láctea. Durante o resfriamento, quando a temperatura da base láctea atingiu 40 °C, colocou-se o corante carmim de cochonilha e o extrato hidroalcoólico. Por fim, ao atingir a temperatura de 37 °C, foram adicionados os inóculos das culturas de *Lactobacillus* de acordo com cada tratamento (*L. rhamnosus*, *L. mucosae* e *L. plantarum* em T1, T2 e T3, respectivamente). As bases lácteas foram acondicionadas em embalagens de polipropileno, com tampa, contendo a calda utilizada como acompanhamento e cobertura (*topping*). Cada pote continha 85 g de base láctea e 15 g de calda. Para o lote 4, correspondente à análise sensorial das sobremesas, foram utilizadas as mesmas proporções correspondentes a um total de 35 g de amostra e, dessa forma, cada pote continha em média 29,75 g de base láctea e 5,25 g de calda.

5.2.9 Tempos de amostragem

As sobremesas lácteas foram mantidas sob refrigeração a 4 ± 1 °C e analisadas após 1, 7, 14 e 21 dias de armazenamento para obtenção dos parâmetros físico-químicos (pH e acidez), as análises microbiológicas e de textura instrumental. Para a análise de composição centesimal das sobremesas lácteas, foram utilizadas as amostras congeladas no primeiro dia de armazenamento. A análise sensorial foi realizada após 10, 14 e 21 dias de armazenamento das amostras dos três lotes preparados exclusivamente para esse fim, sendo utilizado um lote de cada tratamento em cada tempo de amostragem.

5.2.10 Determinação da composição centesimal

Para a composição centesimal das sobremesas lácteas foram realizadas, em triplicata, as determinações de:

- umidade e sólidos totais, a partir da secagem de 2 g de amostra em estufa a vácuo a 70 °C (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008);
- cinzas, determinada pela incineração de 2 g de amostra utilizando mufla a 550° até a total eliminação de matéria orgânica (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008);
- lipídeos, pelo método de Folch et al. (1957);
- proteínas, pela análise de conteúdo de nitrogênio pelo método de micro-Kjeldahl, usando o fator de conversão de 6,38, para leite e derivados (AOAC INTERNATIONAL, 2003);
- carboidratos totais, calculado por diferença para se obter 100% da composição total (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS, 2003).

As mesmas determinações foram realizadas para obter a composição centesimal da casca jabuticaba com e sem polpa, bem como da calda utilizada na fabricação das sobremesas.

5.2.11 Determinações de pH e acidez

Os dados de pH foram obtidos por meio do pHmetro (Modelo Tec5, Tecnal), onde as determinações eram realizadas diretamente nos produtos. Os valores de acidez titulável foram determinados em duplicata, segundo as normas do Instituto Adolfo Lutz (2008). Para este fim, foram retiradas alíquotas de 10 g de sobremesa láctea, nas quais foram adicionados 50 mL de água destilada e cinco gotas de fenolftaleína. Após homogeneização, a titulação foi realizada com hidróxido de sódio 0,1 N. Os resultados de acidez titulável foram expressos em g de ácido láctico 100 g⁻¹.

5.2.12 Determinações microbiológicas

5.2.12.1 Análises efetuadas em todos os lotes produzidos

Decorridos o tempo de armazenamento, porções de 25 g do produto foram homogeneizadas com 225 g de solução salina a 0,85 g 100 ml⁻¹ (em condições de assepsia). Diluições subsequentes foram preparadas usando o mesmo diluente.

Determinação de *Lactobacillus* sp.

Para a análise de *Lactobacillus* sp., alíquotas de 1 mL de cada diluição das amostras foram transferidas para placas de Petri estéreis. Em seguida, foi adicionado ágar MRS (DE MAN; ROGOSA; SHARPE, 1960), fundido e resfriado a cerca de 45 °C para semeadura em profundidade. Após homogeneização e solidificação do ágar, as placas foram incubadas a 37 °C por 72 horas.

Determinação de coliformes a 35 °C e a 45 °C

A análise de coliformes a 35 °C foi feita por meio da inoculação de alíquotas da amostra em caldo lactosado verde brilhante a 2 g 100 ml⁻¹, enquanto que a análise de coliformes a 45 °C foi realizada pela inoculação de alíquotas do caldo lactosado verde brilhante de resultado positivo para coliformes a 35 °C em caldo EC. Nesta metodologia, a presença de gás no tubo de Durham e ou turbidez no meio evidenciam a fermentação da lactose por micro-organismos do grupo dos coliformes.

Para estas análises, utilizou-se 1mL das diluições seriadas 10⁻¹, 10⁻² e 10⁻³ em três séries de três tubos contendo caldo lactosado verde brilhante a 2 g 100 ml⁻¹, totalizando 9 tubos, sendo três tubos para cada diluição. Os tubos foram incubados em estufa a 35 °C por 24-48 horas e confirmados quanto a presença de turbidez e produção de gás nos tubos de Durham (mínimo 1/10 do volume total do tubo de Durham). O número de tubos positivos foi anotado em cada série de diluição e os resultados apresentados conforme a tabela de tubos múltiplos positivos.

Dos tubos positivos para coliformes a 35 °C, uma alíquota foi transferida, com auxílio da alça de platina, para tubos contendo caldo EC que foram incubados em estufa a 45 °C por 24-48 horas. A confirmação da presença de coliformes a 45 °C é feita a partir da observação da turbidez no meio e/ou produção de gases nos tubos de Durham (mínimo 1/10 do volume total do tubo de Durham). O número de tubos positivos foi anotado para cada série de diluição e os resultados apresentados conforme a tabela de tubos múltiplos positivos (BRASIL, 2003).

Determinação de bolores e leveduras

Para a análise de bolores e leveduras, alíquotas de 0,1 mL de cada diluição das amostras foram transferidas para placas de Petri contendo ágar batata acidificado com ácido tartárico (1,5 ml de ácido tartárico 10 g 100 ml⁻¹ em 10 ml de

ágar) para semeadura em superfície, com auxílio da alça de Drigalski. Após a completa absorção da diluição das amostras, as placas foram incubadas a 25 °C (temperatura ambiente), por 72 horas. O número de colônias de cada placa foi multiplicado por 10 UFC g⁻¹ para a apresentação do resultado final (BRASIL, 2003).

Determinação de *Staphylococcus coagulase positiva*

Para a análise de *Staphylococcus coagulase positiva*, alíquotas de 0,1 mL de cada diluição das amostras foram transferidas para placas de Petri contendo ágar sal manitol para semeadura em superfície, com auxílio da alça de Drigalski. Após a completa absorção da diluição das amostras, as placas foram incubadas em temperatura de 36 ± 1 °C por 48 horas. O número de colônias típicas de *Staphylococcus coagulase positiva* de cada placa foi multiplicado por 10 UFC g⁻¹ para a apresentação do resultado final. Colônias típicas *Staphylococcus coagulase positiva* apresentam coloração amarela com zonas também amarelas ao redor, enquanto que *Staphylococcus coagulase negativa* colônias rosadas ou vermelhas sem alteração de cor no meio de cultura (HIMEDIA, 2015).

5.2.12.2 Análises efetuadas para o lote da análise sensorial

Para o lote 4 referente à análise sensorial das sobremesas lácteas, além das análises de contaminantes descritas acima, também foram realizadas as contagens de *Bacillus cereus* e *Salmonella* sp.

Determinação de *Bacillus cereus*

Para as análises de *Bacillus cereus* foram utilizadas alíquotas de 25 g de amostra em 225 mL de água peptonada a 0,1 g 100 ml⁻¹, realizando-se diluições decimais seriadas subsequentes. Com o auxílio da alça de Drigalski, foi distribuído 0,1 mL de cada diluição seriada na superfície do meio ágar manitol gema de ovo polimixina (MYP). As placas foram incubadas a 30 °C durante 24-48 horas. Colônias típicas de *Bacillus cereus* foram analisadas através de testes bioquímicos e morfológicos visando à confirmação da presença do micro-organismo. Os valores foram expressos em UFC g⁻¹ de amostra examinada (SILVA et al., 2007).

Determinação de *Salmonella* sp.

Para a determinação qualitativa de *Samonella* sp. foram pesados 25 g de amostra em 225 g de água peptonada, em condições de assepsia. Em seguida, foi realizado o enriquecimento por meio da incubação a 35 °C por 24 horas. Em seguida, com auxílio de uma alça de platina foram retiradas alçadas da amostra e realizadas estrias no meio de cultura diferencial para *Salmonella* RajHans. Colônias típicas de *Salmonella* sp. produzem ácido a partir do propileno glicol presente no meio de cultura. Na presença do ácido, o indicador BC também presente no meio muda de cor, e as colônias típicas de *Salmonella* sp. são visualizadas em coloração rosa (maioria das espécies) a vermelha (*S. typhimurium* e *S. enteritidis*) (HIMEDIA, 2011).

5.2.13 Análise de textura instrumental

O perfil de textura das sobremesas T1, T2 e T3 foi determinado através de teste de dupla compressão de amostras em duplicata com peso constante (100 g), contidas nas embalagens plásticas utilizando cilindro de alumínio de 36 mm de diâmetro, em analisador de textura TA.XTplus (Stable Micro Systems). Os dados foram coletados e analisados através do programa “Exponent Version 6.1.4.0” (Stable Micro Systems). Foram analisados os atributos firmeza, coesividade, adesividade e elasticidade. Foram empregados os seguintes parâmetros distância e velocidade de compressão de 10 mm e 1mm s⁻¹, respectivamente, bem como distância de retorno de 30 mm.

5.2.14 Avaliação Sensorial

A análise sensorial do presente projeto foi aprovada pelo Comitê de Ética da UEPB (Certificado de Apresentação para Apreciação Ética - CAAE 43591315.2.0000.5187). As sobremesas lácteas de jabuticaba foram submetidas à análise sensorial, onde foram investigados os atributos sabor, consistência, aparência, cor e aceitação global, usando a escala hedônica híbrida de 11 pontos variando de 10 (“gostei muitíssimo”) a 0 (“desgostei muitíssimo”) (VILLANUEVA; DA SILVA, 2009). A avaliação foi feita por trinta e oito pessoas em cada sessão, previamente selecionadas quanto ao interesse e hábito de consumo de produtos lácteos adicionado de frutas. Este público foi composto, principalmente, por estudantes, funcionários e professores. Conforme descrito anteriormente, para a

realização da análise sensorial, as sobremesas foram previamente analisadas no primeiro dia de armazenamento quanto aos parâmetros microbiológicos sanitários coliformes a 35 °C, coliformes a 45 °C, *Staphylococcus* coagulase positiva, bolores e leveduras, além da pesquisa de *Salmonella* sp. e de *Bacillus cereus*, de modo a garantir a segurança dos provadores. O CAAE e a ficha do teste de aceitabilidade utilizado para as análises encontram-se nos Anexos.

5.2.15 Análise Estatística

Os três lotes foram produzidos em triplicata para cada tratamento. Por meio do programa Statistica 8.0 (Statsoft), os resultados das análises foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey, com nível de 5% de significância. Previamente à ANOVA, os dados foram checados para homogeneidade de variância usando o teste de Bartlett. Quando essa premissa não foi verificada, os testes não paramétricos equivalentes foram realizados.

5.3 Resultados e discussão

5.3.1 Determinação da composição centesimal

Na Tabela 5.2 é apresentada a composição centesimal da casca de jabuticaba, com e sem polpa, e da calda utilizada para a incorporação nas sobremesas e cobertura.

Tabela 5.2 – Teores médios de umidade, sólidos totais, cinzas, lipídios, proteínas e carboidratos totais para as frações casca e polpa, casca sem polpa e calda – amostra seca e amostra úmida.

Parâmetro	Amostras		
	Casca e polpa	Casca	Calda
Umidade (g 100 g ⁻¹)	75,17	74,5	55,61
Sólidos totais (g 100 g ⁻¹)	24,83	25,50	44,39
Cinzas AU (g 100 g ⁻¹)	1,22	0,47	0,73
Cinzas AS (g 100 g ⁻¹)	4,93	1,83	1,64
Lipídios AU (g 100 g ⁻¹)	0,94	1,57	1,1
Lipídios AS (g 100 g ⁻¹)	3,79	6,16	2,48
Proteínas AU (g 100 g ⁻¹)	1,66	0,47	2,65
Proteínas AS (g 100 g ⁻¹)	6,69	1,84	5,98
Carboidratos totais AU (g 100 g ⁻¹)	21,01	22,99	39,91
Carboidratos totais AS (g 100 g ⁻¹)	84,60	90,17	89,91

Fonte: Dados da pesquisa

AU = amostra úmida. AS = amostra seca.

Nota-se que os teores de umidade, sólidos e carboidratos totais da casca com polpa e sem polpa são muito semelhantes; o teor de cinzas e proteínas da casca é menor, já o teor lipídico da casca sem polpa é maior. No preparo da calda há maior concentração do teor de proteínas da casca, certamente liberados no extrato aquoso. O teor lipídico também mostrou ser pouco mais concentrado em relação à casca, porém não chega a ser igual à proteína, provavelmente devido à pouca solubilização no extrato aquoso; o lipídio transferido para a calda provavelmente ainda estaria aderido à matriz dos pequenos fragmentos de casca.

Lima et al. (2008) realizaram a caracterização química de duas variedades, Paulista e Sabará de jabuticaba e suas frações, mostrando que os teores de proteína bruta (cascas: 1,10 g 100 g⁻¹ e 1,16 g 100 g⁻¹; polpa: 0,44 g 100 g⁻¹ e 0,47 g 100 g⁻¹; fruto inteiro: 0,88 g 100 g⁻¹ e 0,92 g 100 g⁻¹ para Paulista e Sabará, respectivamente) e lipídeos (cascas: 0,68 g 100 g⁻¹ e 0,57 g 100 g⁻¹; polpa: 0,21 g 100 g⁻¹ e 0,06 g 100 g⁻¹; fruto inteiro: 0,44 g 100 g⁻¹ e 0,42 g 100 g⁻¹ para Paulista e Sabará, respectivamente) foram baixos. Naquele estudo, os teores de cinzas não variaram entre as frações, com exceção das cascas da variedade Sabará, que apresentaram maiores teores (4,39 g 100 g⁻¹). Ao observar a Tabela 5.2, nota-se que o valor de proteína das cascas do presente estudo foi superior àqueles encontrados para as duas variedades estudadas pelos outros autores.

As frações da casca, polpa e suco de jabuticaba (*Myrciaria cauliflora* Berg) da variedade Sabará foram caracterizadas por Moreno (2010). Os teores de cinzas (2,53 g 100 g⁻¹ e 4,44 g 100 g⁻¹ para polpa e casca, respectivamente) foram ligeiramente maiores que os encontrados neste estudo para as frações casca e polpa e apenas casca, enquanto que os teores de umidade daqueles autores (84 g 100 g⁻¹, 88,9 g 100 g⁻¹ e 83 g 100 g⁻¹, para polpa, suco e casca, respectivamente) foram compatíveis com outros estudos, embora mais elevados que o verificado neste trabalho para as frações casca e polpa e apenas casca. Ainda no estudo de Moreno (2010), a polpa destacou-se pela quantidade de fibras, principalmente solúveis. Naquele estudo, a acidez titulável foi de 0,94 g de ácido cítrico 100 g⁻¹ de polpa e o pH foi de 3,7 tanto na polpa fresca e como no suco. Os autores ainda verificaram que a casca da jabuticaba mostrou quantidade expressiva de antocianinas; no suco houve presença de outros fenólicos, o que justificaria seu alto poder antioxidante.

Os resultados da composição centesimal das sobremesas são apresentados na Tabela 5.3.

Tabela 5.3 – Teores médios de umidade, sólidos totais, cinzas, lipídios, proteínas e carboidratos totais para as sobremesas T1, T2 e T3 (amostra seca e amostra úmida) após um dia de armazenamento sob refrigeração a 4 °C.

Parâmetros	T1 - <i>L. rhamnosus</i> LR32		T2 - <i>L. mucosae</i> CNPC 007		T3 - <i>L. plantarum</i> CNPC 020	
	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão
Umidade (g 100 g ⁻¹)	75,33B	0,29	71,65A	0,25	72,34A	0,28
Sólidos Totais (g 100 g ⁻¹)	24,67A	0,29	28,35B	0,26	27,66B	0,28
Cinzas AU (g 100 g ⁻¹)	0,828A	0,067	0,892B	0,096	0,916B	0,14
Cinzas AS (g 100 g ⁻¹)	3,36B	0,29	3,15A	0,33	3,31B	0,50
Lipídios AU (g 100 g ⁻¹)	0,460A	0,007	0,415A	0,009	0,507B	0,007
Lipídios AS (g 100 g ⁻¹)	1,86B	0,032	1,46A	0,037	1,83B	0,027
Proteínas AU (g 100 g ⁻¹)	3,09A	0,26	3,24B	0,08	3,21B	0,10
Proteínas AS (g 100 g ⁻¹)	12,54B	0,25	11,43A	0,24	11,60A	0,28
Carboidratos totais AU (g 100 g ⁻¹)	20,28 A	0,33	23,80B	0,20	23,03B	0,28
Carboidratos totais AS (g 100 g ⁻¹)	82,24 A	0,50	83,96B	0,37	83,26B	0,56

Fonte: Dados da pesquisa

Valores médios de triplicata para cada tratamento com desvio padrão.

AU = amostra úmida. AS = amostra seca.

A, B na mesma linha indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) para os diferentes tratamentos.

O teor de umidade do tratamento T1 (*L. rhamnosus* LR32) foi significativamente maior ($p < 0,05$) comparado aos tratamentos T2 e T3, embora os ingredientes e o processo de produção tenham sido os mesmos. A etapa de cozimento, na qual pode haver variação na perda de água, pode ter sido uma influência para o resultado obtido. Tal variação provavelmente resultou nas diferenças significativas ($p < 0,05$) observadas entre as amostras em relação aos teores dos demais componentes (sólidos totais, cinzas, lipídeos, proteínas e carboidratos totais) das sobremesas nos tratamentos T1, T2 e T3. Os valores de lipídios encontrados para os três tratamentos foram baixos e classificam o produto como “de baixo teor de gorduras totais” já que o limite estabelecido segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (2012) é de 3 g de gorduras totais na porção de referência do produto, sendo 120 g para sobremesas lácteas (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2003). Dessa forma, a alegação de sobremesa com quantidade reduzida de gorduras pode ser considerada um atrativo maior para aqueles indivíduos que já consomem produtos com propriedades probióticas.

Comparando-se a composição destes produtos com o obtido para a jabuticaba (Tabela 5.2), o teor de umidade da casca e da casca com polpa foram próximos aos valores encontrados na sobremesa láctea. As cinzas na amostra úmida da casca e calda mostraram-se inferiores aos teores dos produtos. Os lipídeos das sobremesas foram menores que àqueles presentes nas frações analisadas; para as proteínas e carboidratos das sobremesas foram revelados maiores teores, comparados as frações do fruto.

5.3.2 Parâmetros físico-químicos nas sobremesas lácteas e viabilidade dos micro-organismos potencialmente probióticos

Os resultados dos valores de pH e acidez titulável, bem como da viabilidade de *Lactobacillus* sp., ao longo do armazenamento das sobremesas dos tratamentos T1 a T3 são apresentados na Tabela 5.4.

Tabela 5.4 – Valores de pH e acidez e viabilidade de *Lactobacillus* sp. nas sobremesas dos tratamentos T1 a T3 ao longo do armazenamento.

Parâmetro	Tempo (dias)	T1 (<i>L. rhamnosus</i> LR32)		T2 (<i>L. mucosae</i> CNPC 007)		T3 (<i>L. plantarum</i> CNPC 020)	
		Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão
pH	1	5,26Aa	0,04	6,53Aa	0,32	5,30Aa	0,16
	7	5,21Aa	0,04	5,43Aa	0,04	5,44Aa	0,05
	14	5,22Aa	0,03	5,36Aa	0,19	5,32Aa	0,09
	21	5,36Aa	0,09	5,23Aa	0,08	5,38Aa	0,12
Acidez titulável (g ácido lático 100 g ⁻¹)	1	0,50Aa	0,06	0,52Aa	0,02	0,49Ab	0,05
	7	0,51Aa	0,05	0,48Aab	0,03	0,49Ab	0,02
	14	0,48Aa	0,05	0,47Ab	0,01	0,50Ab	0,04
	21	0,49Ba	0,05	0,47ABb	0,01	0,42Aa	0,05
<i>Lactobacillus</i> sp. (log UFC g ⁻¹)	1	6,89ABa	0,83	6,79Ba	0,20	6,42Aa	0,19
	7	6,38Aa	0,16	6,64Ba	0,20	6,48ABa	0,07
	14	6,39Aa	0,15	6,68Ba	0,13	6,42Aa	0,08
	21	6,34Aa	0,08	6,59Ba	0,16	6,34Aa	0,19

Fonte: Dados de pesquisa.

A, B na mesma linha indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) para os diferentes tratamentos no mesmo tempo.

a, b na mesma coluna indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) para o tempo no mesmo tratamento.

Considerando a viabilidade dos micro-organismos e os parâmetros físico-químicos ao longo do armazenamento, houve uma tendência ao aumento de pH e diminuição da acidez, bem como à diminuição da viabilidade de *L. rhamnosus*, *L. mucosae* e *L. plantarum*, com exceção do tratamento T2 (*L. mucosae*) que, diferente de T1 e T3, mostrou redução de pH, apesar de não significativa ($p > 0,05$). Por outro lado, houve diminuição significativa da acidez ($p < 0,05$) no tratamento T2 entre o primeiro e o décimo quarto dia e no tratamento T3 entre o décimo quarto e vigésimo primeiro dia. Entre os tratamentos, foi verificada diferença significativa entre os tratamentos T1 e T3 no vigésimo primeiro dia quanto a acidez titulável ($p < 0,05$), sendo que a acidez foi mais elevada em T1 e menor em T3 no final do armazenamento. As pequenas variações de pH e acidez durante o armazenamento, interferiram pouco na viabilidade das espécies testadas.

A viabilidade média de *Lactobacillus* sp., considerando os três lotes produzidos, foi superior a $6 \log \text{UFC g}^{-1}$ para os três tratamentos. Os valores médios mais elevados foram verificados no início do armazenamento para os tratamentos T1 e T2, com as culturas de *L. rhamnosus* LR32 e *L. mucosae* CNPC007, respectivamente. A partir do sétimo dia de armazenamento, o tratamento T2 apresentou os maiores valores de *Lactobacillus* sp. Dessa forma, o tratamento T2 diferiu significativamente de T3 ao longo de todo o armazenamento, exceto no sétimo dia, também diferindo de T1 a partir do sétimo dia de armazenamento ($p < 0,05$).

Durante o período de armazenamento houve uma tendência à diminuição das populações de *Lactobacillus* sp., porém essa redução não foi significativa ao longo do tempo para nenhum dos tratamentos ($p < 0,05$).

A viabilidade média da cultura no inóculo também serviu de referência para as populações de *Lactobacillus* sp. nos produtos nos dias subsequentes. Os resultados da viabilidade de *Lactobacillus* sp. obtidos para o inóculo dos tratamentos T1 a T3 são apresentados na Tabela 5.5.

Tabela 5.5 – Viabilidade de *Lactobacillus* sp. (log UFC ml⁻¹) no inóculo. Valores médios e desvio-padrão e respectiva variação (valores mínimos e máximos observados) para cada tratamento.

Tratamentos	Média	Desvio Padrão	Variação
T1 (<i>L. rhamnosus</i> LR32)	10,91B	0,69	9,34 - 11,40
T2 (<i>L. mucosae</i> CNPC 007)	9,11A	0,13	8,99 - 9,34
T3 (<i>L. plantarum</i> CNPC 020)	9,15A	0,22	8,96 - 9,78

A, B na mesma coluna indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) para os diferentes tratamentos.

Fonte: Dados de pesquisa.

Verificou-se que a viabilidade das culturas nativas nos inóculos dos tratamentos T2 (*L. mucosae*) e T3 (*L. plantarum*) foram menores e diferiram significativamente ($p < 0,05$) comparada à cultura probiótica comercial *L. rhamnosus* no tratamento T1. Por outro lado, os valores de *Lactobacillus* sp. observados para todos os tratamentos no primeiro dia de armazenamento refletiram uma redução de viabilidade em relação às populações encontradas no inóculo. Considerando que a população de *Lactobacillus* sp. do inóculo foi da ordem de 9 a 11 log UFC ml⁻¹ ($10^9 - 10^{11}$ UFC/ml) e que 10 ml do inóculo foram utilizados na produção de cerca de 2 kg de formulação de cada tratamento, eram esperados que 2 kg de cada produto contivesse 10 a 12 log UFC ($10^{10} - 10^{12}$ UFC/ml) o que equivaleria a uma viabilidade próxima de 5×10^8 UFC/ml (8,7 log) UFC g⁻¹ de *Lactobacillus* sp. no produto final do tratamento T1 e superior a 5×10^6 (6,7 log) UFC g⁻¹ em T2 e T3. Apenas o tratamento T2 alcançou viabilidade de *Lactobacillus* sp. próxima do esperado no primeiro dia de armazenamento.

Tanto durante a produção, como durante o armazenamento, a perda da viabilidade de *Lactobacillus* sp. estaria relacionada à ambientação das culturas aos componentes e pH da formulação e às condições de armazenamento, como a temperatura, o que resultaria em uma seleção de micro-organismos mais resistentes e viáveis. Os lotes diferentes também podem apresentar variações em função das perdas de produção, já que devem ser considerados fatores como nutrientes presentes nas formulações e rendimento.

Apesar da perda da viabilidade de *Lactobacillus* sp. durante o processamento, a viabilidade no produto final (primeiro dia) permaneceu acima do recomendado para populações de micro-organismos em produtos com alegações probióticas. A

incubação das culturas em leite antes da adição à sobremesa, portanto, proporcionou desenvolvimento adequado para as espécies nativas analisadas. Do mesmo modo, as populações das três espécies avaliadas estiveram dentro dos parâmetros considerados para micro-organismos probióticos em alimentos. De modo geral, tem sido estabelecido que um alimento pode ser considerado probiótico se contiver uma população de 10^6 a 10^8 UFC g ou ml^{-1} de produto final ou o consumo diário de 10^8 a 10^9 UFC, considerando a porção de produto normalmente ingerida em cada ocasião de consumo (MARTINEZ et al., 2015). No caso específico de sobremesas lácteas, segundo os padrões adotados no Brasil, considera-se 120 g o tamanho de referência da porção de cada ocasião de consumo (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2003). Ressalta-se que previamente à adição de micro-organismos com tais alegações, estudos científicos e clínicos devem ser realizados para a garantia da viabilidade no produto e eficácia no organismo (HILL et al., 2014). Assim, a dose mínima diária deve ser 6 a 7 log UFC g^{-1} ou ml^{-1} para obter os benefícios atribuídos aos micro-organismos com eficácia comprovada.

As populações médias das culturas nativas apresentaram viabilidade comparável (*L. plantarum* CNPC 020) ou superior (*L. mucosae* CNPC 007) à cultura comercial (*L. rhamnosus* LR32) mostrando que essas culturas são adequadas para serem incorporadas em alimentos.

A sobremesa láctea com ingredientes da casca de jabuticaba mostrou ser um veículo adequado para adição das culturas probióticas testadas ao se comparar as quantidades de micro-organismos probióticos com aqueles recomendados pela literatura, apesar da menor viabilidade observada quando comparada a outros produtos.

Em estudo realizado por Silva et al. (2012) foi verificada a viabilidade de *Lactobacillus casei* na produção de um flan de chocolate após 1 e 15 dias, no qual a população de *L. casei* foi maior que 10^9 UFC/g durante a vida de prateleira do produto. Em trabalho realizado por Heenan et al. (2004), com sobremesa gelada vegetariana não fermentada, foi observado que durante seis meses, as culturas incorporadas à formulação - *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei*, *Bifidobacterium lactis* e *L. rhamnosus* - sobreviveram ao armazenamento com populações iguais ou acima de 10^7 UFC g^{-1} .

Rosa et al. (2016) estudou a viabilidade de *L. acidophilus* em sobremesa láctea de chocolate e açaí sobre patógenos mostrando que as populações no primeiro e vigésimo oitavo dias variaram de 8,25 a 8,7 UFC 25 g⁻¹. Costa (2014) desenvolveu um sorvete simbiótico de açaí e estudou, entre outras características, a viabilidade de *L. rhamnosus* GG ao longo de seu armazenamento a -18° por até 112 dias. Naquele estudo, as populações do micro-organismo se mantiveram estáveis e entre 8 e 9 log UFC/g para todas as formulações, durante todo período de armazenamento. Os resultados daqueles autores corroboraram com estudo realizado por Paula (2012) que verificou a viabilidade de cepas potencialmente probióticas de *L. rhamnosus* e *L. paracasei* em sorvetes com leite de cabra e polpa de cajá. Neste último estudo, todas as formulações apresentaram populações médias de *Lactobacillus* spp. acima de 8 log UFC g⁻¹ e estáveis durante 84 dias de armazenamento a -18°C, apesar dos valores de pH dos sorvetes serem inferiores a 4,5.

5.3.3 Indicadores microbiológicos sanitários nas sobremesas

As sobremesas lácteas probióticas foram submetidas às análises de qualidade sanitária para coliformes a 35 °C, *Staphylococcus* coagulase positiva, bolores e leveduras.

A Tabela 5.6 exhibe os resultados para os três lotes de sobremesa dos tratamentos T1 a T3 ao longo do armazenamento refrigerado.

Tabela 5.6 - Análise microbiológica de contaminantes para as sobremesas lácteas probióticas (tratamentos T1 a T3).

Parâmetro	Tempo (dias)	Variação (valores mínimos – máximos)		
		T1 (<i>L. rhamnosus</i> LR32)	T2 (<i>L. mucosae</i> CNPc 007)	T3 (<i>L. plantarum</i> CNPc 020)
Coliformes a 35 °C (NMP g ⁻¹)	1	<3	<3	<3
	7	n.d.	n.d.	n.d.
	14	n.d.	n.d.	n.d.
	21	n.d.	n.d.	n.d.
<i>Staphylococcus</i> coagulase positiva (UFC g ⁻¹)	1	<100 - <1000	<100 - <1000	<100 - <1000
	7	<100 - <1000	100 - <1000	<100 - <1000
	14	<100 - <1000	<100 - 1000	<100 - <1000
	21	100 - <1000	<100 - <1000	<100 - <1000
Bolors e leveduras (UFC g ⁻¹)	1	<100 - <1000	<100 - <1000	<100 - <1000
	7	<100 - <1000	<100 - 2000	<100 - <1000
	14	<100 - <1000	<100 - 1000	<100 - <1000
	21	<100 - 1000	<100 - <1000	<100 - <1000

Fonte: Dados de pesquisa.

NMP = número mais provável; n.d. = não determinado (as análises de coliformes a 35°C não foram efetuadas a partir do sétimo dia de armazenamento por terem sido inferiores a 3 NMP ml⁻¹ no primeiro dia).

Todos os tratamentos analisados apresentaram, nos três lotes produzidos, resultados de coliformes a 35 °C inferiores a 3 NMP g⁻¹. Dessa forma, não foram detectados coliformes a 45 °C em nenhuma das amostras analisadas. Para *Staphylococcus* coagulase positiva, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (2001) estabelece que a população desse micro-organismo em sobremesas lácteas pasteurizadas refrigeradas não deve ultrapassar 5 × 10² UFC g⁻¹. Esse limite foi atendido para *Staphylococcus* coagulase positiva, exceto em uma amostra de um dos lotes do tratamento T2 aos 14 dias que apresentou 10³ UFC g⁻¹. A faixa de pH igual ou inferior a 6,0 das sobremesas não foi suficiente para impedir a multiplicação desse contaminante, já que foram observadas populações de 10² a 10³ UFC g⁻¹ em algumas amostras dos tratamentos T1 e T2 durante o período de armazenamento de 21 dias.

A legislação brasileira não estabelece limites de bolores e leveduras em sobremesas lácteas. No entanto, este parâmetro foi avaliado devido às condições ambientais que podem favorecer a presença desses micro-organismos nos produtos. No presente estudo, populações de bolores e leveduras iguais ou superiores a 10^3 foram observadas apenas nas amostras do tratamento T1 aos 21 dias e do tratamento T2 aos 7 e 14 dias. Buriti; Castro e Saad (2010), em um estudo sobre o perfil de textura e características sensoriais de mousses de goiaba contendo a cepa probiótica *L. acidophilus* La-5 e a fibra prebiótica oligofrutose, verificaram a presença de bolores e leveduras em algumas amostras, porém não superior a 5×10^2 UFC g⁻¹, ao longo de 21 dias de armazenamento. Naquele estudo, os resultados de coliformes a 35 °C e *Staphylococcus* coagulase positiva estavam dentro dos limites estabelecidos pela legislação brasileira.

Em cada período de amostragem dos três tratamentos do lote destinado à avaliação sensorial, as análises de coliformes a 35 °C, *Staphylococcus* coagulase positiva, *Salmonella* sp. e *Bacillus cereus* indicaram resultados inferiores ao limite de detecção dos métodos utilizados para a pesquisa de cada micro-organismo e, dessa forma, as amostras estavam seguras para serem servidas aos provadores.

5.3.4 Análise de textura instrumental

Segundo Szczesniak (2002) a textura é a manifestação sensorial e funcional das propriedades estruturais, mecânicas e de superfície dos alimentos detectadas através dos sentidos da visão, audição e tato.

Os testes de análise instrumental baseiam-se, geralmente na força de compressão, simulando a mastigação entre os molares. A amostra é submetida a duas corridas ou “mordidas”, simulando a mastigação. Quando o pistão deforma a amostra, o movimento do suporte é detectado e uma curva de força-compressão é traçada. A partir dessa curva, obtêm-se os parâmetros primários - dureza, coesividade, adesividade, elasticidade e secundários - fraturabilidade, mastigabilidade e gomosidade, que compõe as características mecânicas dos alimentos (BURITI, 2005), como as sobremesas lácteas.

A dureza ou firmeza é a força necessária para realizar uma determinada deformação, podendo ser definida também como a força requerida para comprimir a sobremesa entre os dentes molares ou entre a língua e o palato (ponto de

deformação ou penetração) (BURITI, 2005). Na Tabela 5.7 são apresentados os dados de firmeza obtidos para as sobremesas ao longo do armazenamento.

Tabela 5.7 - Valores médios de firmeza (N) para os três tratamentos ao longo do tempo de armazenamento.

Tratamento	Dia 1		Dia 7		Dia 14		Dia 21	
	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP
T1	1,39Aa	0,27	1,55Aab	0,30	2,05Ac	0,37	1,98Abc	0,58
T2	1,77ABa	0,49	2,03ABab	0,41	2,64ABc	0,56	2,48ABbc	0,42
T3	2,12Ba	0,74	2,49Bab	0,56	3,19Bc	0,71	2,64Bbc	0,92

Fonte: Dados de pesquisa.

A, B na mesma coluna indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) para os diferentes tratamentos.

a,b na mesma na mesma linha indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) ao longo dos dias de armazenamento.

DP = Desvio-padrão. Tratamento T1 = sobremesa adicionada de *L. rhamnosus* LR32; Tratamento T2 = sobremesa adicionada de *L. mucosae* CNPC 007; Tratamento T3 = sobremesa adicionada de *L. plantarum* CNPC 020.

Foi observado que, nos três tratamentos, os valores de firmeza aumentaram durante o tempo de armazenamento, tendo seu valor mais alto no décimo quarto dia, o qual diferiu significativamente do dia 1 ($p < 0,05$), notando-se também uma diminuição, ainda que pequena, não significativa, no vigésimo primeiro dia ($p > 0,05$). A sobremesa T1, adicionada de *L. rhamnosus* LR32 apresentou os menores valores de firmeza, enquanto que a sobremesa T3 com *L. plantarum* CNPC 020 mostrou-se mais firme durante o período de análise, diferindo significativamente de T1 ($p < 0,05$).

Em estudo realizado por Corrêa (2006) também foi verificado o aumento da firmeza ao longo do armazenamento para amostras de manjar de coco probiótico, característica atribuída à retrogradação do amido assim como ao açúcar e gordura presentes. Nas sobremesas lácteas, o aumento de firmeza pode ser atribuído ao açúcar, proteínas do leite, pectina e retrogradação do amido. A retrogradação é um processo que ocorre após o armazenamento e resfriamento do amido gelatinizado, no qual as interações das moléculas do polissacarídeo com a água do gel vão perdendo energia, fortalecendo as ligações de hidrogênio entre as hidroxilas das unidades glicosídicas. Dessa forma, as cadeias do amido se reassociam em um estado mais ordenado, formando áreas cristalinas (LOBO; SILVA, 2003).

O aumento da firmeza dá-se também pela retenção de água pela matriz ou desidratação do produto, ocasionando a sinérese (dessora), com elevação da rigidez da estrutura pelo aumento do teor de sólidos. Para a sobremesa, foi observada perda de água (sinérese).

A adesividade é o trabalho necessário para superar as forças atrativas entre a superfície do alimento e outras superfícies em que o alimento entra em contato, ou ainda, a força requerida para remover o alimento que aderiu ao céu da boca, geralmente o palato, mas também lábios e dentes durante a mastigação (BURITI, 2005). Na Tabela 5.8 são apresentados os dados de adesividade (em módulo) das sobremesas ao longo do armazenamento.

Tabela 5.8 – Valores médios de adesividade (N s) para os três tratamentos ao longo do tempo de armazenamento.

Trata- mento	Dia 1		Dia 7		Dia 14		Dia 21	
	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP
T1	0,84Ab	0,18	0,60Aa	0,24	0,59Aa	0,11	0,63Aab	0,24
T2	0,86Ab	0,26	0,79Aab	0,35	0,59Aa	0,14	1,05Bb	0,52
T3	1,78Aa	1,10	1,88Ba	1,12	0,73Aa	0,57	1,24ABa	1,67

Fonte: Dados de pesquisa.

A, B na mesma coluna indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) para diferentes tratamentos.

a,b na mesma na mesma linha indicam diferenças significativas ao longo do armazenamento.

DP = Desvio-padrão. Tratamento T1 = sobremesa adicionada de *L. rhamnosus* LR32; Tratamento T2= sobremesa adicionada de *L. mucosae* CNPC 007; Tratamento T3 = sobremesa adicionada de *L. plantarum* CNPC 020.

Pode-se verificar uma tendência à redução da adesividade ao longo do armazenamento para todos os tratamentos. Houve redução significativa da adesividade no dia 14 quando comparada ao dia 1 para os tratamentos T1 e T2 ($p < 0,05$), com aumento não significativo para T1 ($p > 0,05$) e significativo para T2 no dia 21 comparado ao dia 14 ($p > 0,05$). O tratamento T3 apresentou maior adesividade durante o armazenamento, diferindo significativamente de T1 no sétimo dia e de T2 no vigésimo primeiro dia.

A diminuição da adesividade ao longo da vida de prateleira pode estar associada à maior possibilidade de quebra da estrutura das sobremesas e à diminuição do pH ante à incorporação das bactérias lácticas como mostra o estudo realizado por Corrêa (2006). Naquele estudo, também foi observada grande

variabilidade de valores da adesividade e, dos quatro tratamentos estudados pela autora, dois apresentaram efetiva redução da adesividade ao longo do tempo.

A coesividade é a medida da deformação do material antes de se romper ao ser comprimido entre os dentes (SZCZESNIAK, 2002). Os dados de coesividade para as sobremesas lácteas analisadas são apresentados na Tabela 5.9.

Tabela 5.9 – Valores médios de coesividade para os três tratamentos ao longo do tempo de armazenamento.

Trata- mento	Dia 1		Dia 7		Dia 14		Dia 21	
	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP
T1	0,59Ab	0,07	0,52Ab	0,02	0,49Aa	0,03	0,52Aab	0,02
T2	0,65Ab	0,04	0,59Ab	0,14	0,47Aa	0,05	0,49Aa	0,01
T3	0,58Ab	0,07	0,51Ab	0,05	0,44Aa	0,07	0,52Ac	0,05

Fonte: Dados de pesquisa.

A, B na mesma coluna indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) para diferentes tratamentos.

a,b na mesma na mesma linha indicam diferenças significativas ao longo do armazenamento.

DP = Desvio-Padrão. Tratamento T1 = sobremesa adicionada de *L. rhamnosus* LR32; Tratamento T2= sobremesa adicionada de *L. mucosae* CNPC 007; Tratamento T3 = sobremesa adicionada de *L. plantarum* CNPC 020.

Os valores de coesividade não apresentaram diferenças significativas entre os três tratamentos durante o tempo de armazenamento ($p > 0,05$). Por outro lado, houve uma tendência à diminuição da coesividade dos tratamentos durante o armazenamento, com uma maior e significativa redução no décimo quarto dia ($p < 0,05$), seguida de um pequeno aumento para todos os tratamentos, porém significativo ($p < 0,05$) para T3. A adição de açúcar permite que a sobremesa sofra menos deformações, mantendo a estabilidade durante o tempo de armazenamento. A diminuição da coesividade durante o armazenamento, ainda que pequena, pode estar relacionada à perda de atração intermolecular entre os ingredientes, ocasionando a dessora (CORRÊA, 2006).

Embora a pectina tenha como propriedade melhorar a textura do produto e evitar a dessora (sinérese) em alimentos gelificados à base de leite contendo ou não amido, sua presença não foi suficiente para impedir tal evento.

Produtos com alta coesividade apresentam valores próximos a 1. A sobremesa apresentou a partir do décimo quarto dia valores de coesividade menores que 0,5, tendendo a um produto de média para baixa coesividade.

A elasticidade é a razão na qual um material deformado volta a sua condição não deformada após remoção da força de deformação; o grau ao qual um produto retorna a sua condição inicial após ser pressionado entre os dentes (SZCZESNIAK, 2002). Na Tabela 5.10 é apresentado o perfil de elasticidade para os três tratamentos de sobremesa.

Tabela 5.10 – Valores médios de elasticidade para os três tratamentos ao longo do tempo de armazenamento.

Trata- mento	Dia 1		Dia 7		Dia 14		Dia 21	
	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP
T1	0,94Aa	0,003	0,95Aa	0,03	0,96Aa	0,04	0,96Aa	0,03
T2	0,89Aa	0,08	0,89Aab	0,07	0,96Ab	0,02	0,94Aab	0,02
T3	0,93Aa	0,03	0,94Ab	0,03	0,96Ab	0,02	0,94Aab	0,03

Fonte: Dados de pesquisa.

A, B na mesma coluna indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) para diferentes tratamentos.

a, b na mesma na mesma linha indicam diferenças significativas ao longo do armazenamento.

DP = Desvio-padrão. Tratamento T1 = sobremesa adicionada de *L. rhamnosus* LR32; Tratamento T2= sobremesa adicionada de *L. mucosae* CNPC 007; Tratamento T3 = sobremesa adicionada de *L. plantarum* CNPC 020.

Os valores de elasticidade para os três tratamentos tenderam ao aumento durante o armazenamento, não apresentando diferenças significativas entre as sobremesas ($p > 0,05$). Mesmo sem diferir significativamente das demais sobremesas ($p > 0,05$), o tratamento T1 apresentou os maiores valores de elasticidade durante todo o tempo de estocagem. Os maiores valores de elasticidade, para todas as amostras, ocorreram no décimo quarto dia. Houve aumento significativo da elasticidade durante o armazenamento para os tratamentos T2 e T3, respectivamente, no décimo quarto e sétimo dia quando comparado ao dia 1 ($p < 0,05$). A elasticidade aos 14 dias no tratamento T3 ainda se mostrou significativamente elevada em relação ao primeiro dia ($p < 0,05$).

Sobremesas com pouca elasticidade revelam tendência a se quebrar quando desenformados (CORRÊA, 2006). Os dados das sobremesas deste estudo apontam para um produto com boa elasticidade já que apresentaram valores elevados, próximos a 1.

5.3.5 Análise sensorial

Os parâmetros avaliados no teste de aceitabilidade da análise sensorial da sobremesa láctea probiótica de jabuticaba, encontram-se na Tabela 5.11.

Tabela 5.11 – Notas de aceitabilidade da sobremesa láctea medidas através de análises sensoriais durante o período de armazenamento (10, 14 e 21 dias). Os valores são expressos pela média e desvio padrão entre parênteses.

Parâmetros	Trata- mento	Dia 10		Dia 14		Dia 21	
		Média	DP	Média	DP	Média	DP
Sabor	T1	6,85Ab	2,53	5,90Aab	2,52	5,7Aa	2,47
	T2	7,4Ab	2,08	6,66Aab	2,37	6,03Aa	2,49
	T3	6,66Aa	1,80	6,71Aa	2,72	5,71Aa	2,65
Consistência	T1	6,44Aa	2,56	6,09Aa	2,32	6,38Aa	6,38
	T2	7,13Aa	2,09	7,08Aa	2,12	6,43Aa	2,14
	T3	6,58Aa	1,88	6,89Aa	2,22	6,32Aa	2,16
Aparência	T1	6,71Aa	2,32	5,99Aa	2,31	6,38Aa	2,30
	T2	6,73Ab	2,31	6,74Aab	2,28	5,84Aa	1,99
	T3	6,45Aa	2,13	6,31Aa	2,25	6,18Aa	2,27
Cor	T1	6,68Aa	2,13	6,4Aa	2,19	6,44Aa	2,09
	T2	7,14Aa	2,09	7,08Aa	2,12	6,43Aa	2,14
	T3	6,66Aa	2,07	6,34Aa	2,18	6,37Aa	2,26
Aspecto global	T1	6,71Aa	2,16	5,94Aa	2,43	5,82Aa	2,16
	T2	7,14Ab	1,88	6,79Aab	2,13	6,13Aa	1,85
	T3	6,71Aa	1,58	6,69Aa	1,99	6,18Aa	2,32

Fonte: Dados de pesquisa

A, B na mesma coluna indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) para diferentes tratamentos

a,b na mesma na mesma linha indicam diferenças significativas ao longo do armazenamento

DP = Desvio-Padrão. Tratamento T1 = sobremesa adicionada de *L. rhamnosus* LR32; Tratamento

T2= sobremesa adicionada de *L. mucosae* CNPC 007; Tratamento T3 = sobremesa adicionada de *L.*

plantarum CNPC 020.

Considerando que os valores extremos 0 e 10 da escala hedônica híbrida representam “desgostei muitíssimo” e “gostei muitíssimo”, sendo a posição central 5 “não gostei nem desgostei” (VILLANUEVA; DA SILVA, 2009), a maioria dos valores médios de aceitabilidade pelos provadores segundo a classificação na escala hedônica ficou situada entre 6 e 7 e poderia ser interpretada como “gostei ligeiramente”. Não houve diferenças significativas entre os três tratamentos, dentro de um mesmo dia de armazenamento, para os parâmetros avaliados ($p > 0,05$).

Contudo foi observada uma tendência à diminuição das notas ao longo dos dias de armazenamento dos produtos. O tratamento T2, com a cultura de *L. mucosae* CNPC007, obteve o melhor desempenho sensorial em todos parâmetros avaliados no décimo dia de armazenamento, com redução significativa para sabor ($p < 0,05$), aparência e aspecto global, entre os dias 10 e 21 ($p < 0,05$). O Tratamento 2 mostrou também menor acidez e firmeza aos 10 dias, o que pode estar relacionado ao desejo dos consumidores por um produto mais cremoso e menos ácido.

Mesmo sem diferenças significativas, os resultados obtidos para a sobremesa contendo *L. mucosae* CNPC 007 mostram que as culturas probióticas nativas podem ser uma alternativa aos probióticos comerciais em novos produtos, especialmente de pequenas empresas, cooperativas e agroindústrias familiares que podem encontrar dificuldades para adquirir/comprar cepas comercializadas por multinacionais.

Para os três tratamentos avaliados ao longo do período de armazenamento, a característica que os provadores mais gostaram foi o sabor da sobremesa, reportado como “doce”, “suave” e “novo” da jabuticaba. Na avaliação alguns se mostraram ainda “surpresos” pelo modo como as cascas foram utilizadas para conferir o “sabor característico” do produto.

A característica que os avaliadores menos gostaram, considerando os três dias de armazenamento, foi a aparência, pois houve perda de cor da calda, descaracterizando visualmente a sobremesa. A pouca estabilidade de cor atribuída aos pigmentos presentes na casca da jabuticaba foi umas das preocupações iniciais do trabalho, tendo sido realizados ensaios voltados à minimização dessa perda, como adição de ácido láctico que proporciona maior estabilidade de cor; corroborando com estudo realizado por Saito (2014) que observou, entre outros aspectos, a variação de cor nas formulações de queijo *petit suisse* adicionadas de prebióticos (inulina e oligofrutose) e corante natural obtido a partir da casca da jabuticaba ($p \leq 0,05$) relacionando tal fato a degradação de compostos presentes, como as antocianinas.

Outro aspecto pontuado foi a dessora, ocasionada pela diminuição da coesividade durante o armazenamento (CORRÊA, 2006). Ainda que os ingredientes adicionados, como a pectina, sejam capazes de melhorar a coesividade e conter a água presente no produto, evitando a sinérese, estes não foram suficientes para impedir tal fato.

O aumento da firmeza está relacionado à desidratação do produto que também leva a sinérese durante o armazenamento, o que pode ter resultado na diminuição da aceitabilidade sensorial. Em estudo de Vidigal et al. (2012), no qual foi avaliada a melhora da qualidade sensorial de sobremesa láctea *diet* utilizando concentrado proteico do soro, foi verificada a redução da aceitabilidade conforme o aumento da firmeza, não afetando, contudo, a viabilidade tecnológica para participação do mercado de produtos lácteos *diet*. Os dados daqueles autores corroboram com os resultados verificados por Oliveira et al. (2004), que avaliaram a aceitabilidade sensorial de pudins e flans comerciais, observando que a maior firmeza apresenta relação com o menor índice de aceitação.

5.4 Considerações finais

Este estudo permitiu o conhecimento da viabilidade de diferentes cepas de *Lactobacillus* sp. com potencial probiótico em sobremesa elaborada com o uso do resíduo da jabuticaba. Os resultados obtidos para as populações de *Lactobacillus* sp. foram considerados satisfatórios até o vigésimo primeiro dia em todos os tratamentos avaliados. Dessa forma, a sobremesa láctea de jabuticaba mostrou ser um veículo adequado para adição das culturas potencialmente probióticas testadas ao se comparar as quantidades de micro-organismos probióticos presentes com os níveis recomendados pela literatura.

As pequenas variações de pH e acidez durante o armazenamento interferiram pouco na viabilidade das espécies testadas.

A alegação de sobremesa láctea com quantidade reduzida de gorduras pode ser vista como mais um atrativo para aqueles indivíduos que já consomem produtos com propriedades probióticas.

De forma geral, os parâmetros de textura do produto variaram até o décimo quarto dia de armazenamento, refletindo diretamente nas características sensoriais, que tiveram desempenho sensorial menor ao longo da estocagem.

CAPÍTULO 6

6 CAPACIDADE ANTIOXIDANTE, TEOR DE COMPOSTOS FENÓLICOS E ANTOCIANINAS EM SOBREMESA LÁCTEA POTENCIALMENTE FUNCIONAL ADICIONADA DE CULTURAS DE LACTOBACILOS E INGREDIENTES OBTIDOS DA CASCA DE JABUTICABA

6.1 INTRODUÇÃO

É cada vez mais crescente e notório a importância de alimentos antioxidantes na prevenção de certas doenças (PEREIRA; VIDAL; CONSTANT, 2009). O uso de certos alimentos para redução do risco de doenças é considerado a milhares de anos FERREIRA, S., 2009; SALGADO, 2010); entretanto, somente no final do último século houve o início de uma renovação do interesse por esse assunto. Naquele período, o aumento da consciência dos consumidores sobre a adoção de hábitos saudáveis para a melhoria da qualidade de vida impulsionou a utilização do termo “alimento funcional” (SALGADO, 2010). Em consequência disso, houve um aumento do consumo de alimentos que além dos aspectos nutricionais, possuem propriedades funcionais, atribuídas a presença de substâncias fisiologicamente ativas, através de suas propriedades antioxidantes (HENRY, 2010).

Os compostos fenólicos são oriundos do metabolismo secundário dos vegetais e estão relacionados à proteção do fruto contra micro-organismos e pragas, o que justifica sua presença em maior quantidade nas cascas (IGNAT; VOLF; POPA, 2011). Na maioria dos vegetais os compostos fenólicos constituem os antioxidantes mais abundantes (EVERETTE et al., 2010).

Investigações científicas apontam que o consumo regular de alimentos ricos em compostos fenólicos tem papel importante na diminuição dos riscos de doenças (HABAUZIT; MORAND, 2012; VAUZOUR et al., 2010). Segundo Alves (2013) o teor de compostos fenólicos é um bom indicador da capacidade antioxidante da grande maioria das frutas.

Para um melhor aproveitamento do potencial dos compostos bioativos presentes nas frutas é necessário estudo aprofundado sobre as fontes e formas de utilização (SILVA, 2012; OLIVEIRA et al., 2012). O Brasil, como um país de grande biodiversidade, possui diversos alimentos, frutas tropicais que podem trazer benefícios à saúde (OLIVEIRA et al., 2012). Paralelamente, a indústria tem buscado

alternativas para utilização dos subprodutos agroindustriais em razão do alto teor de nutrientes e compostos bioativos presentes, além de redução do impacto ambiental que o descarte incorreto pode causar (DAMIANI et al., 2011; ZAGO, 2014).

A jabuticaba (*Myrciaria cauliflora* Berg) contém grande quantidade de fenólicos e surge como uma importante alternativa para incorporação a uma matriz alimentar (SILVA, 2012). A jabuticaba, fruta nativa do Brasil, é rica em fibras, sais minerais, vitaminas e compostos fenólicos, principalmente na casca, antioxidantes naturais que conferem proteção ao fruto (REZENDE, et al., 2012). A jabuticaba pode ser consumida *in natura* ou utilizada para produção de doces, geleias e compotas (SILVA, 2012; ZICKER, 2011). No entanto, cascas e sementes, que representam aproximadamente 50% do fruto, são geralmente desprezadas (LIMA et al, 2008; LIMA, 2009; SILVA, 2012).

Nesse sentido, a casca da jabuticaba apresenta-se como um produto natural de alta qualidade com duplo benefício à saúde por ter elevado valor nutricional e propriedades funcionais antioxidantes (ANUNCIAÇÃO, 2013; NUNES, 2013; SILVA, 2012).

As sobremesas lácteas prontas para consumo têm ganhado mercado por serem opções interessantes do ponto de vista funcional, nutritivo e sensorial, funcionando ainda como matrizes para incorporação de culturas probióticas, como apontam os estudos científicos e as opções recentes da indústria alimentícia (BURITI; SAAD, 2014; BURITI; BEDANI; SAAD, 2016).

Os probióticos são micro-organismos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem um benefício à saúde no hospedeiro (HILL et al., 2014). Quando utilizados de forma contínua, promovem benefícios ao consumidor como melhora das atividades gastrintestinais, imunomodulação, produção de bacteriocinas (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2002; NOGUEIRA; GONÇALVES, 2011).

Estudos têm mostrado propriedades antioxidantes atribuídas a certos probióticos como capacidade de prevenção do estresse oxidativo e da oxidação da LDL (SAVINI et al., 2013).

O objetivo deste estudo foi determinar a capacidade antioxidante, teor de compostos fenólicos e antocianinas em sobremesa láctea potencialmente funcional

adicionada de culturas de lactobacilos e ingredientes obtidos da casca de jabuticaba (*Myrciaria cauliflora* Berg).

6.2 Materiais e métodos

6.2.1 Obtenção e processamento da jabuticaba

Os frutos maduros foram obtidos nas feiras da cidade de Campina Grande-PB entre fevereiro e março de 2015, período da safra de jabuticaba. Estes frutos foram selecionados e colocados em água potável adicionada de água sanitária, de modo a obter uma concentração final de 0,2 g de cloro ativo/L de água (200 ppm), para sanitização durante 30 minutos. Posteriormente, os frutos foram lavados em água corrente. Foi realizada a separação manual da casca, polpa e sementes, os quais foram embalados e congelados. As cascas foram utilizadas para o preparo do extrato hidroalcoólico e da calda de jabuticaba para incorporação nas sobremesas.

6.2.2 Obtenção do extrato aquoso da casca de jabuticaba

As cascas foram acidificadas com suco de limão na proporção de 1:2:0,15 (casca: água: suco de limão), a fim de eliminar adstringência atribuída aos taninos. Em seguida, após serem escorridas, foram trituradas em liquidificador (90,5 g de casca com 170 mL de água) e filtradas em rede de nylon (abertura de, aproximadamente, 0,300 mm) para padronização do tamanho das partículas. O extrato aquoso obtido foi utilizado para triturar uma segunda quantidade de cascas utilizando as mesmas proporções (170 g de filtrado para 90,5 g de cascas). O processo foi repetido até que o extrato aquoso da casca de jabuticaba atingisse 2,5 g 100 g⁻¹ de sólidos solúveis. Sendo assim, após a trituração, o extrato aquoso obtido foi usado para produção de calda, usada como *topping* e também para incorporação à base láctea. Por sua vez, o resíduo retido na rede de nylon foi utilizado para a obtenção do extrato hidroalcoólico, também incorporado na base láctea.

6.2.3 Obtenção do extrato hidroalcoólico da casca da jabuticaba

A produção do extrato alcoólico foi adaptada da metodologia descrita para o aproveitamento do resíduo da indústria vitivinícola por Cruz (2013). Devido à grande quantidade de resíduo gerado na produção do extrato aquoso e buscando retirar a

maior quantidade possível de compostos bioativos, foi feita a hidratação do resíduo com água destilada por uma hora, em temperatura ambiente, na proporção de duas partes de resíduo para 1 parte de água. Em seguida foram distribuídos 10 g do resíduo hidratado em frascos de Erlenmeyer de 125 mL, os quais foram também adicionados de 90 mL de álcool potável (etanol extra neutro, Usina Giasa, Biosev) hidratado até a concentração de 30% com pH ajustado a 4,0 com ácido cítrico. A suspensão do resíduo em etanol foi levada para o banho de ultrassom (50 rpm) por 2 horas, em temperatura de 50 °C. Após este procedimento, a suspensão foi filtrada em rede de nylon e levada para a secagem em estufa com circulação de ar (50 °C) para evaporação do etanol e concentração até atingir a quantidade final de 15 g. O extrato hidroalcoólico foi utilizado visando o aumento da concentração de compostos fenólicos das sobremesas elaboradas.

6.2.4 Preparo da calda a partir do extrato aquoso da casca de jabuticaba para incorporação à base láctea e uso como cobertura (“topping”) das sobremesas

O extrato aquoso (240 mL), obtido foi adicionado de açúcar (27 g 100 g⁻¹) e pectina (0,4 g 100 g⁻¹, previamente dissolvida em 37g de água), e aquecido até obtenção de uma calda contendo 40,5 g 100 g⁻¹ de sólidos solúveis. Esta calda foi adicionada previamente nas embalagens e também incorporada na formulação das sobremesas.

6.2.5 Tratamentos avaliados

Foram avaliados três tratamentos de sobremesa produzidas com calda e extrato hidroalcoólico obtidos da casca de jabuticaba, sendo: T1 – adicionado de cultura potencialmente probiótica comercial de *Lactobacillus rhamnosus* LR32, DuPont (formulação probiótica padrão); T2 – produzida com a cultura nativa potencialmente probiótica de *Lactobacillus mucosae* CNPC 007, EMBRAPA; e T3 – produzida com a cultura nativa potencialmente probiótica de *Lactobacillus plantarum* CNPC 020, EMBRAPA; e o T4 – tratamento controle sem adição de calda e extrato hidroalcoólico e sem probióticos.

6.2.6 Recuperação das culturas probióticas nativas *Lactobacillus mucosae* e *Lactobacillus plantarum* para uso como pré-inóculo

As cepas nativas de *L. mucosae* CNPC 007 e *L. plantarum* CNPC 020 foram fornecidas na forma liofilizada pela Embrapa Caprinos e Ovinos (Sobral – CE). Estas cepas nativas foram previamente isoladas de leite de cabra e avaliadas quanto ao potencial probiótico (resistência às condições do trato gastrintestinal, desconjunção dos sais biliares, susceptibilidade a antibióticos, multiplicação no leite, entre outros testes) pelos pesquisadores daquela instituição.

Para uso no presente estudo, cada cultura nativa foi multiplicada, separadamente, em 10 mL de caldo de Man Rogosa Sharpe (MRS), em tubos de ensaio estéreis, a 36 °C por 24 horas. Finalizado este período, as culturas foram agitadas em vórtex, distribuídas em microtubos de 1,5 ml e levadas à centrifugação, a fim de que se separasse a cultura sedimentada dos demais componentes. O sobrenadante foi descartado e, para a recuperação das culturas, o precipitado foi lavado com solução salina por três vezes para completa retirada do material usado para a liofilização e do caldo MRS. As culturas contidas no microtubos (pré-inóculo) foram armazenadas sob refrigeração para serem ativadas em leite previamente à adição às sobremesas.

6.2.7 Ativação das culturas probióticas para uso como inóculo

O leite em pó desnatado (Molico, Nestlé) utilizado para o preparo dos inóculos foi reconstituído, conforme as instruções do fabricante, distribuído em tubos de ensaio estéreis, e tratado termicamente a 85 °C por 30 minutos. Cada tubo de ensaio estéril foi adicionado de 11 mL de leite reconstituído para o tratamento térmico e preparo dos inóculos, considerando 10 mL de inóculo a serem adicionados à base láctea e 1 mL para as análises microbiológicas da viabilidade de *Lactobacillus* do inóculo. Após o tratamento térmico do leite e resfriamento a 37°C, para o inóculo do tratamento T1, foram adicionados 0,22 g da comercial liofilizada de *Lactobacillus rhamnosus* LR32. Para os inóculos dos tratamentos T2 e T3, foram adicionadas as quantidades do pré-inóculo, preparado nos microtubos, das culturas nativas, *Lactobacillus mucosae* CNPC 007 e *Lactobacillus plantarum* CNPC 020, respectivamente.

6.2.8 Preparação da base da sobremesa láctea

Na preparação da base láctea da sobremesa foram utilizados amido de milho, leite em pó, açúcar, água, calda, pectina, extrato hidroalcoólico, ácido láctico e corante carmim de cochonilha nas proporções apresentadas na Tabela 6.1 As sobremesas de cada tratamento (T1, T2, T3) foram produzidas em três diferentes lotes (triplicatas independentes). Cada lote da sobremesa foi produzido obtendo-se em média 2 kg. Foram considerados 3% (110 g) de perda para cada tratamento ao longo do processamento.

Tabela 6.1 – Proporções de ingredientes utilizadas no preparo da base láctea de todos os tratamentos.

Ingredientes	Proporção
Leite em pó ¹ (g 100 g ⁻¹)	8,0
Sacarose ² (g 100 g ⁻¹)	6,78
Água (g 100 g ⁻¹)	78,8
Amido ³ (g 100 g ⁻¹)	2,1
Pectina ⁴ (g 100 g ⁻¹)	0,9
Extrato hidroalcoólico (g 100 g ⁻¹)	1,0
Corante carmim de cochonilha (g 100 g ⁻¹)	0,04
Ácido láctico ⁵ (g 100 g ⁻¹)	0,58
Calda ⁶ (g 100 g ⁻¹)	1,8
Total (g 100 g ⁻¹)	100

¹ Leite em pó desnatado Molico (Nestlé); ² Açúcar comercial; ³ Amido de milho Maizena (Unilever); ⁴ Pectina YF310 (DuPont); ⁵ Ácido láctico alimentício em solução a 85% (Purac Sínteses); ⁶ Calda obtida a partir do extrato aquoso da casca da jabuticaba contendo 40,5% de sólidos solúveis. Fonte: dados da pesquisa.

O amido foi previamente dissolvido em parte da água por meio do agitador magnético. A pectina foi solubilizada aos poucos no leite e adicionada aos demais ingredientes. O ácido láctico foi adicionado antes do aquecimento da base. O açúcar foi acrescentado quando a temperatura da base láctea atingiu 65 °C durante o aquecimento. A base láctea foi aquecida a 85 °C até o aumento da consistência. Antes de desligar o aquecimento a calda foi incorporada à base láctea. Durante o resfriamento, quando a temperatura da base láctea atingiu 40 °C, colocou-se o corante carmim de cochonilha e o extrato hidroalcoólico. Por fim, ao atingir a

temperatura de 37 °C, foram adicionados os inóculos das culturas de *Lactobacillus* de acordo com cada tratamento (*L. rhamnosus*, *L. mucosae* e *L. plantarum* em T1, T2 e T3, respectivamente). As bases lácteas foram acondicionadas em embalagens de polipropileno, com tampa, contendo a calda utilizada como acompanhamento e cobertura (*topping*). Cada pote continha 85 g de base láctea e 15 g de calda.

6.2.9 Tempos de amostragem

As sobremesas lácteas foram mantidas sob refrigeração a 4 ± 1 °C por 21 dias. Amostras das sobremesas dos três tratamentos de cada lote foram congeladas após 1, 7, 14 e 21 dias de armazenamento para a realização das análises de teor de compostos fenólicos, antocianinas e atividade antioxidante. A concentração de fenólicos e a atividade antioxidante também foram avaliadas no extrato hidroalcoólico e na calda produzidos com a casca de jabuticaba.

6.2.10 Análise de compostos fenólicos totais

Para determinação de teor de fenólicos totais da sobremesa e extrato hidroalcoólico foi utilizada a metodologia descrita por dos Santos et al. (2016) para produtos lácteos e extratos, utilizando o método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu e ácido gálico (AG) como padrão. Os resultados foram expressos em mg AG 100 g^{-1} de amostra, obtidos a partir da curva padrão produzida previamente.

6.2.11 Determinação da capacidade antioxidante por DPPH

A determinação da capacidade antioxidante foi realizada utilizando o método DPPH, segundo Blois (1958) e Brand-Willians et al. (1995), com modificações descritas por Karaaslan et al. (2011). O decaimento da absorbância das amostras (Aam) foi correlacionado ao decaimento da absorbância do controle (AC), resultando na porcentagem de sequestro de radicais livres (% SRL), que foi expressa pela equação (1):

$$\% \text{ SRL} = [(AC - A_{am}) \times AC^{-1}] \times 100 \quad (1)$$

6.2.12 Determinação do teor de antocianinas

O teor de antocianinas totais foi determinado segundo a metodologia descrita por Francis (1982). Utilizou-se a solução extratora de etanol puro contendo HCl 1,5N

(85:15 v / v). As amostras de sobremesas T1, T2, T3, T4 (controle), calda e extrato hidroalcoólico foram adicionadas à mistura etanol-ácido e deixadas por 24 horas em condições refrigeradas e protegidas da luz; em seguida, foram filtradas em papel qualitativo e levadas à leitura a 535 nm em espectrofotômetro (Modelo UV-1800, Shimadzu). Os resultados foram apresentados em mg de antocianina 100g^{-1} de amostra através da equação (2):

$$\text{Antocianinas (mg } 100 \text{ g}^{-1}) = (\text{fator de diluição} \times \text{absorbância}) / 98,2 \quad (2)$$

6.2.13 Análise Estatística

Os resultados obtidos para os três lotes de cada tratamento foram analisados por meio do programa Statistica 8.0 (Statsoft). Os resultados das análises foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey, com nível de 5% de significância. Previamente à ANOVA, os dados foram checados quanto à homogeneidade de variância usando o teste de Bartlett. Quando essa premissa não foi verificada, os testes não paramétricos equivalentes foram realizados.

6.3 Resultados e discussão

6.3.1 Análise de compostos fenólicos totais

Para o extrato hidroalcoólico, o valor médio de fenólicos obtido foi de 50241,7 mg de ácido gálico 100 g⁻¹ de amostra. O teor de fenólicos da calda, produzida a partir do extrato aquoso da casca da jabuticaba, foi de 3220 mg de ácido gálico 100 g⁻¹ de amostra. A menor quantidade de fenólicos na calda em relação ao extrato hidroalcoólico pode estar relacionada à menor eficácia de extração de fenólicos no meio aquoso, assim como a influência presença de outros ingredientes, como pectina, açúcar, água, utilizados no seu preparo.

A Tabela 6.2 apresenta os valores de compostos fenólicos totais para os tratamentos T1, T2 e T3 ao longo dos dias de armazenamento.

Tabela 6.2 – Valores médios de compostos fenólicos presentes nos tratamentos T1, T2 e T3 ao longo do período de armazenamento do produto a 4 °C. Valores em mg de ácido gálico 100 g⁻¹ de amostra.

Trata- mento	Dia 1		Dia 7		Dia 14		Dia 21	
	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP
T1	78,12Aa	4,27	79,45Aa	2,65	91,11Ab	8,88	92,25Ab	5,92
T2	78,63Aa	3,95	86,12Bb	2,94	81,91Aab	2,49	93,10Ac	4,79
T3	76,45Aa	1,35	86,12Bbd	1,54	80,39Ac	0,06	88,61Abd	4,14

Fonte: Dados da pesquisa

A, B na mesma coluna indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) para diferentes tratamentos.

a,b na mesma na mesma linha indicam diferenças significativas ao longo do armazenamento.

DP = Desvio-Padrão. Tratamento T1 = sobremesa adicionada de *L. rhamnosus* LR32; Tratamento T2= sobremesa adicionada de *L. mucosae* CNPC 007; Tratamento T3 = sobremesa adicionada de *L. plantarum* CNPC 020.

Os teores médios de fenólicos apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos 2 e 3 ($p < 0,05$) no sétimo dia de armazenamento. Houve aumento significativo de fenólicos, comparando-se o primeiro e vigésimo primeiro dia de armazenamento para os três tratamentos ($p < 0,05$). A sobremesa T2, com incorporação de *Lactobacillus mucosae* CNPC 007, obteve os maiores níveis de fenólicos durante o armazenamento. O tratamento T4 (controle) mostrou a presença de 25,41 mg de ácido gálico 100 g⁻¹ de amostra, valor inferior àqueles encontrados para os três tratamentos aos quais foram adicionadas as culturas probióticas e ingredientes obtidos da casca da jabuticaba. A presença de fenólicos no tratamento

controle deve-se à alimentação dos bovinos, rica nesses compostos, que passam para o leite durante a lactação (PETIT et al., 2009)

O aumento do teor de fenólicos nas sobremesas probióticas de jabuticaba durante o armazenamento e os valores superiores ao tratamento controle, podem estar relacionados a uma interação positiva entre os fenólicos totais, o micro-organismo probiótico e a matriz alimentar, indicando um produto com propriedades tecnológicas adequadas, já que este tipo de interação é desejável em alimentos funcionais. Nesse sentido, Sagdic et al. (2012) também verificaram, entre outros aspectos, uma boa interação entre *Lactobacillus casei* Shirota e compostos fenólicos com propriedades antioxidantes (ácido gálico, elágico e extratos de diferentes frutos) usados na produção de um sorvete funcional com teor de fenólicos de 136,7-326,93 mg de ácido gálico 100 g⁻¹ de amostra.

O teor de fenólicos obtido para os diferentes produtos é dependente da concentração de fenólicos das jabuticabas *in natura*. Vieites et al. (2011) observaram decréscimo nos conteúdos de fenólicos totais em jabuticabas ao longo do armazenamento sob diferentes temperaturas, sendo que a temperatura de 12 °C foi a que melhor preservou o conteúdo no final dos trinta dias de experimento, contendo em média 3228 mg ácido gálico 100 g⁻¹ de amostra. O decréscimo pode ser atribuído às alterações provocadas pelo amadurecimento que ocasiona a hidrólise de glicosídeos, oxidação e polimerização de fenóis livres (ROBARDS et al., 1999; VIEITES et al., 2011).

6.3.2 Determinação do teor de antocianinas

O teor de antocianinas para a calda da casca de jabuticaba foi de 1,90 mg 100 g⁻¹ e para o extrato hidroalcoólico 40,73 mg 100 g⁻¹. O teor de antocianinas segundo Teixeira, Stringheta e Oliveira (2008) foi de 492,74 mg 100 g⁻¹ para a casca da jabuticaba e Kukoski et al. (2006) observaram valores médios que variaram de 111,2 mg 100 g⁻¹ a 420,09 mg 100 g⁻¹. Os valores encontrados na literatura para a jabuticaba, mostram-se maiores aos encontrados neste trabalho, o que pode estar relacionado a oxidação e transformação em outros fenólicos durante a extração, além da forte ligação dos pigmentos a matriz, reduzindo a eficiência do processo.

Nas frutas que apresentam casca removível como a jabuticaba, as antocianinas concentram-se nos vacúolos celulares, dificultando por vezes o seu acesso (AGATI et al., 2007; CIPRIANO, 2011); a natureza dos constituintes das

moléculas de antocianinas pode determinar a eficiência da extração, que tem sido favorecida por meio do uso de solventes alcoólicos acidificados, ao facilitar a penetração do solvente nos tecidos, além de aumentar a estabilidade dos extratos por dificultar o aparecimento de fungos que degradam os pigmentos (MACZ-POP et al, 2006), o que justifica os valores do extrato hidroalcoólico superiores a calda produzida a partir do extrato aquoso.

A quantidade de antocianinas, fenólicos totais, antioxidantes ou qualquer outro aspecto da composição de frutos, podem influenciados por fatores como período de cultivo, nutrientes e solo levando a diferenças até mesmo em uma mesma espécie (ZICKER, 2011).

A Tabela 6.3 mostra o teor de antocianinas para os três tratamentos de sobremesa durante o armazenamento.

Tabela 6.3 – Teor de antocianinas presentes nos tratamentos T1, T2 e T3 ao longo do período de armazenamento. Valores em mg de antocianinas 100 g⁻¹.

Tratamento	Dia 1		Dia 7		Dia 14		Dia 21	
	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP
1	0,73Aa	0,04	0,62Aa	0,09	0,64Aa	0,16	0,64Aa	0,11
2	0,57Aa	0,13	0,57Aa	0,11	0,51Aa	0,09	0,50Aa	0,05
3	0,56Aa	0,11	0,56Aa	0,08	0,54Aa	0,15	0,51Aa	0,15

Fonte: dados da pesquisa

A, B na mesma coluna indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) para diferentes tratamentos.

a,b na mesma na mesma linha indicam diferenças significativas ao longo do armazenamento.

Desvio-Padrão. Tratamento T1 = sobremesa adicionada de *L. rhamnosus* LR32; Tratamento T2= sobremesa adicionada de *L. mucosae* CNPC 007; Tratamento T3 = sobremesa adicionada de *L. plantarum* CNPC 020.

Não houve diferenças significativas entre os tratamentos, e para o mesmo tratamento ao longo dos dias ($p > 0,05$). Foi observada uma tendência a redução, embora sem diferenças significativas, para os tratamentos ao longo do tempo.

As antocianinas são pigmentos naturais que podem substituir os corantes sintéticos utilizados na indústria de alimentos e farmacêutica, devido ao caráter tóxico que tem revelado; entretanto, são compostos pouco estáveis que podem ser influenciados pela estrutura química, pH, temperatura, luz, presença de oxigênio, degradação enzimática e interações entre os componentes do alimento (CIPRIANO, 2011; FRANCIS, 1989).

O grau de hidroxilação afeta a estabilidade das antocianinas por torná-las menos estáveis, já a metoxilação aumenta a estabilidade (FRANCIS, 1989). A degradação das antocianinas ocorre por vários mecanismos, podendo ocorrer durante o processamento e estocagem de alimentos levando à formação de produtos de escurecimento insolúveis ou de produtos solúveis incolores (CIPRIANO, 2011; GEOCZE, 2007).

O tratamento controle (T4), apresentou 0,216 mg 100 g⁻¹ de antocianinas, quantidade inferior aos tratamentos com ingredientes da casca da jabuticaba e probióticos.

6.3.3 Determinação da capacidade antioxidante por DPPH

A calda e extrato hidroalcoólico produzidos com a casca de jabuticaba apresentaram 93,75% e 96,28% de capacidade antioxidante, respectivamente. Os valores elevados de captação de radicais livres revelam dois ingredientes para uso em alimentos com grande potencial para prevenção de doenças crônicas e promoção da saúde.

Nascimento et al. (2011) mostraram a diferença de percentual de atividade antioxidante de *Bauhinha variegata* L. em diferentes épocas do ano, deixando clara a ação de tais fatores.

A Tabela 6.4 mostra a capacidade antioxidante (% DPPH) das sobremesas lácteas de jabuticaba.

Tabela 6.4 – Valores da capacidade antioxidante expressos em % de captação de radicais pelo DPPH nos tratamentos T1, T2 e T3 ao longo do período de armazenamento a 4° C.

Trata- mento	Dia 1		Dia 7		Dia 14		Dia 21	
	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP
1	86,76Aa	2,19	87,15Aa	1,69	84,97Aa	0,91	86,86Aa	2,37
2	96,63Aa	0,22	96,78Aa	2,63	97,37Aa	0,7	95,63Aa	1,94
3	85,66Aa	1,47	85,22Aa	1,37	85,52Aa	0,31	86,41Aa	1,47

Fonte: Dados da pesquisa

A, B na mesma coluna indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) para diferentes tratamentos.

a,b na mesma na mesma linha indicam diferenças significativas ao longo do armazenamento.

DP = Desvio-padrão. Tratamento T1 = sobremesa adicionada de *L. rhamnosus* LR32; Tratamento

T2= sobremesa adicionada de *L. mucosae* CNPC 007; Tratamento T3 = sobremesa adicionada de *L.*

plantarum CNPC 020.

O tratamento T2 apresentou maior capacidade antioxidante, embora não tenham sido observadas diferenças significativas entre todas as sobremesas estudadas, assim como ao longo dos dias de armazenamento ($p > 0,05$). Esse fato possivelmente ocorreu em função do teor de fenólicos totais no produto com a incorporação da espécie nativa *L. mucosae* CNPC 007 (T2) ter sido ligeiramente maior que os demais, embora também não significativo ($p > 0,05$). No entanto, alguns autores citam que o conteúdo de componentes fenólicos totais pode não estar obrigatoriamente envolvido na quantificação da atividade antioxidante, mas que a quantidade de fenólicos totais solúveis no meio em que se encontra é um indicativo (JACOBO-VELASQUÉZ; CISNEROS-ZEVALLOS, 2009).

Gjorgievski et al. (2014) determinaram a capacidade antioxidante pelo método DPPH em leites fermentados adicionados de culturas lácticas e probióticas, onde foi observado o aumento da capacidade antioxidante a partir da incorporação das culturas de iogurte *Lactobacillus bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus* ou das culturas *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium* que partiram de valores iniciais de 6,3% (sem adição das culturas) e ao final de quinze dias de estocagem apresentaram 47,42%, 54,55%, 52,64% e 45,31% de capacidade antioxidante, respectivamente, notando que a presença de micro-organismos probióticos foi determinante para esse aumento.

Os valores de capacidade antioxidante dos iogurtes probióticos fermentados foram menores que aqueles encontrados nas sobremesas T1, T2 e T3 o que pode estar relacionado à presença de antioxidantes dos ingredientes da casca da jabuticaba.

O tratamento controle (T4) no qual não houve adição do extrato hidroalcoólico, calda e probiótico, não foi detectada capacidade antioxidante. Assim, a adição de ingredientes da casca da jabuticaba foi fundamental para que as sobremesas apresentassem capacidade antioxidante.

6.4 Considerações finais

Houve tendência para aumento do teor de fenólicos, comparando-se o primeiro e vigésimo primeiro dia de armazenamento para os três tratamentos.

O teor de antocianinas também apresentou tendência à diminuição ao longo da estocagem.

A atividade antioxidante para os três tratamentos sofreu pouca variação durante esse período.

Embora sem diferenças significativas, para parâmetros como teor de fenólicos e capacidade antioxidante, os tratamentos contendo as culturas nativas tenderam a um desempenho igual ou superior àquele com a cultura comercial.

A calda comparada ao extrato hidroalcoólico, mostrou menor desempenho para os parâmetros analisados; da mesma forma ocorreu para o tratamento controle em relação aos tratamentos contendo probióticos e os ingredientes da jabuticaba.

REFERÊNCIAS

- AGATI, G.; MEYER, S.; MATTEINI, P.; CEROVIC, Z. G. Assessment of anthocyanins in grape (*Vitis vinifera* L.) berries using a noninvasive chlorophyll fluorescence method. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, p. 1053-1061, 2007.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução RDC n.º 12, de 02 de janeiro de 2001. Aprova o Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 10 jan. 2001. Seção 1, p. 45-53.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução RDC nº18, de 30 de abril de 1999. Diretrizes básicas para análise e comprovação de propriedades funcionais e ou de saúde alegadas em rotulagem de alimentos, **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 10 dez. 1999a, Seção 1, p.23-24.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução RDC nº19, de 30 de abril de 1999. Aprova o Regulamento Técnico de procedimentos para registro de alimento com alegação de propriedades funcionais e ou de saúde em sua rotulagem. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 10 dez. 1999a, Seção 1, p.32.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução RDC n.º 359, de 23 de dezembro de 2003. Regulamento técnico de porções de alimentos embalados para fins de rotulagem nutricional. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 26 dez. 2003. Seção 1, p. 28-32.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução RDC n.º 54, de 12 de novembro de 2012. Dispõe sobre o regulamento técnico sobre Informação nutricional complementar. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 13 nov. 2012. Seção 1, p. 122.
- ALVES, A. M. **Caracterização física e química, compostos bioativos e capacidade antioxidante de frutas nativas do cerrado**. 2013. 65 f. Dissertação – (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal de Goiás, Goiania, 2013.
- ALVES, A. P. C.; CORRÊA, A. D.; MARQUES, T. R.; RAMOS, V. O.; SIMÃO, A. A.; LAGE, F. F. Compostos fenólicos e potencial antioxidante de diferentes extratos de farinha de cascas de jabuticaba. CONGRESSO BRASILEIRO DE QUÍMICA, 52., 2012, Recife.
- ANTUNES, A. E. C.; SILVA, E. R. A.; MARASCA, E. T. G.; MORENO, I.; LERAYER, A. L. S. Probióticos: agentes promotores de saúde. **Nutrire: Revista da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição**, v. 32, n. 3, p. 103-122, dez. 2007.
- AOAC INTERNATIONAL. **Official methods of analysis**. 17.ed, 2.rev. Gaithersburg: AOAC International, 2003.

- ARAGON-ALEGRO, L. C.; ALEGRO, J. H. A.; CARDELLI, H. R.; CHIU, M. C.; SAAD, S. M. I. Probiotic and synbiotic chocolate mousse. **LWT - Food Science and Technology**, v. 40, n. 4, p.669-675, 2007.
- ARES, F.; ARRARTE, E.; LEÓN, T.; ARES, G.; GÁMBARO, A. Development of functional milk desserts enriched with resistant starch based on consumers perception. **Food Science and Technology International**, v. 18, n. 5, p. 465-475, 2013.
- ASSUNÇÃO, S. Extrato da casca da jabuticaba prolonga a vida de probióticos. **Jornal da Unicamp**, ano 2013, n. 553, p. 1, 2013.
- AXELSSON, L. Lactic acid bacteria: classification and physiology. In: SALMINEN, S.; OUWEHAND, A. **Lactic acid bacteria: microbiological and functional aspects**. 3.ed. New York: Marcel Dekker, 2004. p. 1-66.
- BALASUNDRAM, N.; SUNDRAM, K.; SAMMAN, S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial byproducts: antioxidant activity, occurrence, and potential uses. **Food Chemistry**, v. 99, n. 1, p.191-203, 2006.
- BALLUS, C.A.; KLAJN, V. M.; CUNHA, M. F.; OLIVEIRA, M. L.; FIORENTINI. Aspectos científicos e tecnológicos do emprego de culturas probióticas na elaboração de produtos lácteos fermentados: revisão. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 28, n. 1, p. 85-96, 2010.
- BARBOSA, K. B. F.; COSTA, N. M. B.; ALFENAS, R. C. G.; PAULA, S. O. MINIM, V. P. R.; BRESSAN, J. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de Nutrição**, v. 23, n. 4, p. 629-643, 2010.
- BRANDÃO, S. C. C. Produtos lácteos probióticos, prebióticos, simbióticos e o mercado nacional e internacional. In. SIMPOSIO INTERNACIONAL: PREBIÓTICOS E PROBIÓTICOS EM PRODUTOS LÁCTEOS, 2008, Campinas.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa n.º 62, de 27 de agosto de 2003. Métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para o controle de produtos de origem animal. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 18 set. 2003. Seção 1, p.14-51.
- BRILHANTE, S. E. T.; NETO, F. B.; ALCÂNTARA, L. A.; BERTINI, L. M. Determinação do teor de antocianinas e sua influência na variação da coloração dos extratos de flores do oeste potiguar. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DO IFRN, 9., 2013, Currais Novos. **Anais...** Currais Novos: IFRN, 2013.
- BROWN, M. Modes of action of probiotics: recent developments. **Journal of Animal and Veterinary Advances**, v. 10, n. 14, p. 1895-1900, 2011.
- BRUNINI, M. A.; OLIVEIRA, A. L.; SALANDINI, C. L.; BAZZO, F. R. Influência de embalagens e temperatura no armazenamento de jabuticabas (*Myrciaria jabuticaba* (Vell) Berg) cv 'Sabara'. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 24, n. 3, p. 378-383, 2004.

BURITI, F. C. A. **Desenvolvimento de queijo fresco cremoso simbiótico**. 2005. 73 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica)– Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

BURITI, F. C. A.; BEDANI, R.; SAAD, S. M. I. Probiotic and Prebiotic Dairy Desserts. In: WATSON, R. R.; PREEDY, V. R. **Probiotics, Prebiotics and Synbiotics**. Amsterdam: Elsevier, 2016. p. 345-360.

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 synbiotic guava mousses. **Food Chemistry**, v. 123, p.1190-1197, 2010.

BURITI, F. C. A; SAAD, S. M. I. Chilled milk-based desserts as emerging probiotic and prebiotic products. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 54, p. 139-150, 2014.

CARDARELLI, H. R.; BURITI, F. C. A.; CASTRO, I. A.; SAAD, S. M. I. Inulin and oligofructose improve sensory quality and increase the probiotic viable count in potentially symbiotic *petit-suisse* cheese. **LWT – Food Science Technology**, v. 41, p. 1037-1046, 2008

CARVALHO, M. L.; SILVA, B. R.; SILVA, M. M.; CARCARÁ, K. A. V.; AMORIM, R. R. Estudo comparativo entre a quantidade de fenólicos totais presentes em folhas e cálices de *Hibiscus sabdariffa* L. In: CONGRESSO NORTE NORDESTE DE PESQUISA E INOVAÇÃO, 7., 2012, Palmas. **Anais...** Palmas: IFTO, 2012.

CAVALCANTI, R. N. **Extração de antocianinas de resíduo de jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*) utilizando líquido pressurizado e fluido supercrítico: caracterização química, avaliação econômica e modelagem matemática**. 2013. 197 p. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2013.

CENCIC, A.; CHINGWARU, W. The role of functional foods, nutraceuticals, and food supplements in intestinal health. **Nutrients**, v. 2, n. 6, p. 611-625, 2010.

CIPRIANO, P. A. **Antocianinas de açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) e casca de jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*) na formulação de bebidas isotônicas**. 2011. 131f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2011.

CONSTANT, P. B. L.; STRINGHETA, P. C.; SANDI, D. Corantes alimentícios. **Boletim do Centro de Pesquisas e Processamento de Alimentos**, v. 20, n. 2, p. 203-220, 2002.

CORRÊA, S. B. M. **Desenvolvimento de manjar branco potencialmente probiótico**. 2006. 92 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica). Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

CORRÊA, S. 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 Technology**, v. 43, p.1560-1568, 2008.

COSTA, M. G. M. **Desenvolvimento de sorvete simbiótico de açaí (*Euterpe oleracea*) com *Lactobacillus rhamnosus* GG e resistência do probiótico em um modelo de digestão gastrointestinal *in vitro***. 2014. 183 f. Tese (Doutorado em Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014.

CRUZ, A. P. G. **Recuperação de compostos bioativos a partir de resíduos da indústria vitivinícola**. 2013. 202 f. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) – Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2013.

DAMIANI, C.; VILAS BOAS, E. V. B.; ASQUIERI, E. R.; LAGE, M. E.; OLIVEIRA, R. A.; SILVA, F. A.; PINTO, D. M.; RODRIGUES, L. J.; SILVA, E. P.; PAULA, N. R. F. Characterization of fruits from the savanna: araçá (*Psidium guinnensis* Sw.) and marolo (*Annona crassiflora* Mart.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 31, n. 3, p. 723-729, 2011.

DE MAN, J.D., ROGOSA, M., A. SHARPE, M.E.: A medium for the cultivation of lactobacilli. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 23, p. 130-135, 1960.

DEGÁSPARI, C. H.; WASZCZYNSKY, J. N. Propriedades antioxidantes de compostos fenólicos. **Visão Acadêmica**, v. 5, p. 33-40, 2004.

DEL RÉ, P. V; JORGE, N. Especiarias como antioxidantes naturais: aplicações em alimentos e implicação na saúde. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 14, n. 2, p. 389-399. 2012.

DI BARTOLOMEO, F.; STARTEK, J. B.; VAN DEN ENDE, W. Prebiotics to fight diseases: reality or fiction? **Phytotherapy Research**, v. 27, p. 1457-1473, 2013.

DOS SANTOS, K. M. O.; DE OLIVEIRA, I. C.; LOPES, M. A. C.; CRUZ, A. P. G.; BURITI, F. C. A.; CABRAL, L. M. Addition of grape pomace extract to probiotic fermented goat milk: the effect on phenolic content, probiotic viability and sensory acceptability. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 2016. doi: 10.1002/jsfa.7836.

DOS SANTOS, K. M. O.; VIEIRA, A. D. S.; BURITI, F. C. A.; NASCIMENTO, J. C. F.; MELO, M. E. S.; BRUNO, L. M.; BORGES, M. F.; ROCHA, C. R. C.; LOPES, A. C. S.; FRANCO, B. D. G. M.; TODOROV, S. D. Artisanal Coalho cheeses a source of beneficial *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus rhamnsosus* strains. **Dairy Science and Technology**, v. 25, p. 209-230, 2015.

EVERETTE, J. D.; BRYANT, Q. M.; GREEN, A. M.; ABBEY, Y. A.; WANGILA, G. W.; WALKER, R. B. Thorough study of reactivity of various compound classes toward the

Folin-Ciocalteou reagent. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, p. 8.139-8.144, 2010.

FERREIRA, C. L. L. F. Grupo de bactérias lácticas e aplicação tecnológica de bactérias probióticas. In: **Prebióticos e probióticos: atualização e prospecção**. Rio de Janeiro: Rubio, 2012. p. 1-28.

FERREIRA, S. R. G. Nutrição não sai de moda. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**, v. 53, n. 5, p. 483-484, 2009.

FOLCH, J.; LEES, M.; STANLEY, G. H. S. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. **Journal of Biological Chemistry**, v. 226, p.497-509, 1957.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS; WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Guidelines for the evaluation of probiotics in food**. London, Ontario, Canadá, 2002. Disponível em: <http://www.who.int/foodsafety/fs_management/en/probiotic_guidelines.pdf>. Acesso em: 20 jul. 2016.

FRANCIS, F. J. Food colorants: anthocyanins. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 28, p. 273-314, 1989.

GEOCZE, A. C. **Influência da preparação do licor de jabuticaba (*Myrciaria jabuticaba* Vell Berg) no teor de compostos fenólicos**. 2007. 80 p. Dissertação (Mestrado em Ciências de Alimentos) – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Geras, Belo Horizonte, 2007.

GJORGIEVSKI, N.; TOMOVSKA, J.; DIMITROVSKA, G.; MAKARIJOSKL, B.; SHARIATI, M. A. Determination of the antioxidant activity in yogurt. **Journal of Hygienic Engineering and Design**, v. 8, p. 88-92, 2014.

GÓMEZ-RUIZ, J.A.; LEAKE, D. S.; AMES, J. M. In vitro antioxidant activity of coffee compounds and their metabolites. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, n. 17, p. 6962-6969, 2007.

GRANATO, D.; BRANCO, G. F.; CRUZ, A. G.; FARIA, J. D. F.; SHAH, N. P. Probiotic dairy products as functional foods. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 9, p.455-470, 2010.

GUANDALINI, S.; PENSABENE, L.; ZIKRI, M. A.; DIAS, J. A.; CASALI, L. G.; HOEKSTRA, H.; KOLACEK, S.; MASSAR, K.; MICETIC-TURK, D.; PAPAPOPOULOU, A.; SOUSA, J. S.; SANDHU, B. SZAJEWSKA, H.; WEIZMAN, Z. *Lactobacillus* GG administered in oral rehydration solution to children with acute diarrhoea: a multicenter European trail. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, v. 30, n. 1, p. 454-460, 2000.

HABAUZIT, V.; MORAND, C. Evidence for a protective effect of polyphenols-containing foods on cardiovascular health: an update for clinicians. **Therapeutic Advances in Chronic Disease**, v. 3, n. 2, p. 87-106, 2012.

HEENAN, C. N.; ADAMS, M. C.; HOSKENA, R.W.; FLEET, G.H. Survival and sensory acceptability of probiotic microorganisms in a nonfermented frozen vegetarian dessert. **LWT - Food Science and Technology**, v. 37, p. 461-466, 2004.

HILL, C.; GUARNER, F.; REID, G.; GIBSON, G. R.; MERENSTEIN, D. J.; POT, B.; MORELLI, L.; CANANI, R. B.; FLINT, H. J.; SALMINEN, S.; CALDER, P. C.; SANDERS, M. E. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. **Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology**, v. 11, p. 506–514, 2014.

HIMEDIA. **Manitol salt agar**. Mumbai, 2015. Technical Data M118.

HIMEDIA. **Salmonella differential agar**. Mumbai, 2011. Technical Data M1078.

IGNAT, I.; VOLF, I.; POPA, V. I. A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. **Food Chemistry**, v. 126, p. 1821-1835, 2011.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4 ed., 1 ed. digital. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. 1020 p.

JACOBO-VELÁZQUEZ, D. A.; CISNEROS-ZEVALLOS, L. Correlations of antioxidant activity versus phenolic content revisited: A new approach in data analysis for food and medicinal plants. **Journal of Food Science**, New York, v. 74 n. 9, p. R107 - R113, 2009.

JANKOVIĆ, T.; FRECE, J.; ABRAM, M.; GOBIN, I. Aggregation ability of potential probiotic *Lactobacillus plantarum* strains. **International Journal of Sanitary Engineering**, v. 6, n. 1, p. 19-24, 2012.

JUDEU, S.; ABUMWEIS, S. S; JONES, P. J. Evolution of the human diet: linking our ancestral diet to modern functional foods as a means of chronic disease prevention. **Journal of Medicinal Food**, v. 12, n. 5, p. 925-934, 2009.

KOEBNICK, C.; WAGNER, I.; LEITZMANN, P.; STERN, U.; ZUNFT, H. J. F. Probiotic beverage containing *Lactobacillus casei* Shirota improves gastrointestinal symptoms in patients with chronic constipation. **Canadian Journal Gastroenterology**, v. 17, n. 11, p. 655-659, 2003.

KOMATSU, T. R.; BURITI, F. C. A.; SAAD, S. M. I. Inovação, persistência e criatividade superando barreiras no desenvolvimento de alimentos probióticos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 44, n. 3, p. 330-347, 2008.

KUJAWA-SZEWIECZEK, A.; ADAMCZAK, H.; KWIECIEŃ K.; DUDZICZ, S.; GAZDA, H.; WIĘCEK, A. The effect of *Lactobacillus plantarum* 299v on the incidence of *Clostridium difficile* infection in high risk patients treated with antibiotics. **Nutrients**, v. 7, n. 12, p.10179-10188, 2015.

KUKOSKI, E. M. Frutos tropicais silvestres e polpas de frutas congeladas: atividade antioxidante, polifenóis e antocianinas. **Ciência Rural**, v. 36, n. 4, p. 1283-1287, 2006.

LIMA, A. J. B. **Caracterização e atividade antioxidante da jabuticaba [*Myrciaria cauliflora* (Mart.) O. Berg]**. 2009. 159 p. Tese (Doutorado em Agroquímica) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, [2009].

LIMA, A. J. B.; CORREA, A. D.; ALVES, A. P. C.; ABREU, C. M. P.; BARROS, A. M. D. Caracterização química do fruto jabuticaba (*Myrciaria cauliflora* Berg) e de suas frações. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, v. 58, n. 4, p. 416-421, 2008.

LOBO, A. R.; SILVA, G. M. L. Amido resistente e suas propriedades físico-químicas. **Revista de Nutrição**, v. 16, n. 2, p. 219-225, 2003.

LOPES, T. J.; XAVIER, M. F.; QUADRI, M. G. N.; QUADRI, M. B. Antocianinas: uma breve revisão das características estruturais e da estabilidade. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 13, n. 3, p. 291-297, 2007.

MACZ-POP, H. J. H.; RIVAS-GONZALO, J. C.; PEREZ-ALONSO, J. J.; GONZALEZPARAMÁS, A. M. Natural occurrence of free anthocyanin aglycones in beans (*Phaseolus vulgaris*). **Food Chemistry**, v. 94, p. 448-456, 2006.

MANTOVANI, F. D. **Bebida e Sobremesas Lácteas Probióticas: Viabilidade do *Lactobacillus casei* nos Produtos e Sua Resistência em Condições Simuladas do Trato Gastrointestinal Humano**. 2014. 55 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia do Leite) – Centro de Pesquisa em Ciências Agrárias, Universidade Norte do Paraná, Londrina, 2014.

MANTOVANI, F. D.; KIMURA, A. B. LIMA, K. C.; SOUZA, C. H. B.; SANTANA, E. H. W.; ARAGON-ALEGRO, L. N. Bebida e sobremesas lácteas probióticas: viabilidade de *Lactobacillus casei* nos produtos e sua resistência em condições simuladas do trato gastrointestinal humano. In: CONGRESSO LATINO AMERICANO DE MICROBIOLOGIA E HIGIENE DE ALIMENTOS, 12., 2014, Foz do Iguaçu. **Blucher Food Science Proceedings**, v. 1, n. 1, p. 447-448, 2014.

MARAGKOUidakisa, P. A.; ZOUMPOPOULOUA, G.; MIARISA, C.; KALANTZOPOULOSA, G.; POTB, B.; TSAKALIDOU, E. Probiotic potential of *Lactobacillus* strains isolated from dairy products. **International Dairy Journal**, v. 16, p. 189-199, 2006.

MARCO, M. L.; PAVAN, S.; KLEEREBEZEM, M. Towards understanding molecular modes of probiotic action. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 17, p. 204-210, 2006.

MARTINEZ, R. C. R.; BEDANI, R.; SAAD, S. M. I. Scientific evidence for health effects attributed to the consumption of probiotics and prebiotics: an update for current perspectives and future challenges. **British Journal of Nutrition**, n. 114, p. 1993-2015, 2015.

MELO, E. A.; MACIEL, M. I. S.; DE LIMA, V. L. A. G.; NASCIMENTO, R. J. Capacidade antioxidante de frutas. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 44, n. 2, p. 193-201, 2008.

MORAES, F.P.; COLLA, L.M; Alimentos funcionais e nutracêuticos: definições, legislação e benefícios à saúde. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 3, n. 2, p.109-122, 2006.

MORENO, L. R. **Caracterização físico-química e potencial funcional da polpa, suco e casca de *Myrciaria cauliflora* Berg (Jabuticaba Sabará)**. 2010. 87 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2010.

NASCIMENTO, J. C.; LAGE, L. F. O.; CAMARGOS, C. R. D.; AMARAL, J. C.; COSTA, L. M.; SOUSA, A. N.; OLIVEIRA, F. Q. Determinação da atividade antioxidante pelo método DPPH e doseamento de flavonoides totais em extratos de folhas da *Bauhinia variegata* L. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 92, n. 4, p. 327-332, 2011.

NETTO, R. C. M. Dossiê corantes. **Food Ingredients Brasil**, n. 9, p. 40-59 2009.

NIKAEDO, P. H. L.; AMARAL, F. F.; PENNA, A. L. B. Caracterização tecnológica de sobremesas lácteas achocolatadas cremosas elaboradas com concentrado proteico de soro e misturas de gomas carragena e guar. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 40, n. 3, p. 397-404, 2004.

NITZKE, J. A. Alimentos funcionais: uma análise histórica e conceitual. In: **Agronegócio: panorama, perspectivas e influência do mercado de alimentos certificados**. Curitiba: Appris, 2012, p. 11-23.

NOGUEIRA, J. C. R.; GONÇALVES, M. C. R. Probióticos: revisão da literatura. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**, v. 15, n. 4, p. 487-492, 2011.

NUNES, M. C.; MURATA, L. T. F.; ALCÂNTARA, M. R. S.; GERMANO, M. I. S.; GERMANO, P. M. L. Avaliação das sobremesas lácteas: características que podem comprometer a garantia de qualidade, **Higiene Alimentar**, v. 12, n. 58, p. 41-48, 1998.

OLIVEIRA, A. P. V.; FRASSON, K.; ALMEIDA, T. C. A.; BENASSI, M. T. Aceitação de sobremesas lácteas dietéticas e formuladas com açúcar: teste afetivo e mapa de preferência interno. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 24, n. 4, p. 627-633, 2004.

OLIVEIRA, M. N.; SIVIERI, K.; ALEGRO, J. H. A.; SAAD, S. M. I. Aspectos tecnológicos de alimentos funcionais contendo probióticos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.38, n. 1, p.1-21, 2002

OLIVEIRA, V. B.; YAMADA, L. T.; FAGG, C. W.; BRANDÃO, M. G. L. Native foods from Brazilian biodiversity as a source of bioactive compounds. **Food Research International**, v. 48, n. 1, p. 170-179, 2012.

PACHECO, M.T.B.; SGARBIERI, V.C. Alimentos Funcionais: conceituação e importância na saúde humana. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE OS BENEFÍCIOS DA SOJA PARA A SAÚDE HUMANA, 2001. Londrina. **Anais...** Londrina: Embrapa Soja, 2001. (Documentos, 169).

PAULA, C. M. **Utilização de bactérias do grupo *Lactobacillus casei* no desenvolvimento de sorvete potencialmente probiótico de leite de cabra e polpa de cajá (*Spondias mombin*)**. 2012. 84 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2013.

PEREIRA, A. L. F.; VIDAL, T. F.; CONSTANT, P. B. L. Antioxidantes alimentares: importância química e biológica. **Nutrire: Revista da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição**, v. 34, n. 3, p. 231-247, 2009.

PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. Effect of solvent and certain food constituents on different antioxidant capacity assays. **Food Research International**, v. 39, p. 791-800, 2006.

PETIT, H. V.; CÔRTEZ, C.; SILVA, D. The interaction of monensin and flaxseed hulls on ruminal and milk concentration of the mammalian lignan enterolactone in late-lactating dairy cows. **Journal of Dairy Research**, v. 76, p. 475-482, 2009.

PIMENTEL, T. C. Probióticos e Benefícios à Saúde. **Revista Saúde e Pesquisa**, v. 4, n. 1, p. 101-107, jan./abr. 2011.

REZENDE, L. C.; MOREIRA, B. O.; SOARES, D. C.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. Fenólicos totais e atividade antioxidante de diferentes partes da jabuticaba. In: SIMPOSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 22., 2012, Bento Gonçalves.

ROBARDS, K.; PRENZLER, P. D.; TUCKER, G.; SWATSITANG, P.; GLOVER, W. Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. **Food Chemistry**, London, v. 66, p. 401-436, 1999.

ROBERFROID, M. B. Concepts and strategy of functional food science: the European perspective. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 71, p. 1660S-1664S, 2000.

RODAS, M. A. B.; RODRIGUES, R. M. M. S; SAKUMA. H.; TAVARES, L. Z.; SGARBI, C. R; LOPES, W. C. C. Caracterização físico-química, histológica e viabilidade de bactérias lácticas em iogurtes com frutas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 21, n. 3, p. 304-309, 2001.

ROSA, L. J. B.; L. M. R., ESPER; CABRAL, J. P. L. G.; FRANCO, R. M.; CORTEZ, M. A. S. Viabilidade de micro-organismo probiótico *Lactobacillus acidophilus* na sobremesa de chocolate leite e sua ação contra os agentes patogênicos de origem alimentar. **Revista Ciência Rural**, Santa Maria, v. 46, n. 2, p. 368-374, 2016.

SAAD, S. M. I. Probióticos e prebióticos: o estado da arte. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 42, n. 1, 2006.

SAAD, S. M. I.; BEDANI, R. Alimentos funcionais probióticos e prebióticos. In: Tirapegui, J. (Ed). **Nutrição e Aspectos Atuais**. 3. ed. São Paulo: Atheneu. 2013. cap. 21, p. 241-356.

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

SAGDIC, O.; OZTURK, I.; CANKURT, H. Interaction between some phenolic compounds and probiotic bacterium in functional Ice cream production. **Food and Bioprocess Technology**, v. 5, p. 2964, 2012.

SAITO, T. **Efeito da adição de extrato de casca de jabuticaba nas características físico-químicas e sensoriais de queijo petit suisse**. 2014. 99 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, 2014.

SALGADO, J. M. Alimentos funcionais: o que são, para que servem e como identificá-los. In: RAMIRES, J. A. F. **Viva com mais saúde**. São Paulo: Phorte; São Paulo: EdUSP, 2010. p. 15-28.

SALVIANO, A. T. M.; SANTOS, E. P.; GARCIA, R. V.; MEDEIROS JÚNIOR, F. C. Desenvolvimento e aceitabilidade de sobremesa fermentada caprina sabor manga. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 14, n. 2, p. 185-190, 2012.

SÁNCHEZ-MORENO, C.; LARRAURI, J.A.; SAURA-CALIXTO, F. A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.76, p.270-276, 1998.

SAVINI, I.; CATANI, M. V.; EVANGELISTA; GASPERI, V.; AVIGLIANO, L. Obesity-associated oxidative stress: strategies finalized to improve redox state. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 14, n. 5, p. 10497-10538, 2013.

SAXELIN, M.; KORPELA, R.;MÄYRÄ-MÄKINEN, A. Functional dairy products. In: SMIT, G. **Dairy processing: improving quality**. Boca Raton: CRC, 2003. p. 229-245.

SILVA, B. C. **Seleção de Bactérias Lácticas com Potencial Probiótico para Uso como Veículos Vacinais Orais Contra a Leptospirose Canina**. 2011. 90 f. Dissertação (Mestrado em Genética) – Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas, Belo Horizonte, 2011.

SILVA, M. C. **Aproveitamento do resíduo de jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) para obtenção de pigmentos com propriedades funcionais**. 2012. Dissertação (Mestrado em Ciências da Engenharia de Alimentos) – Departamento de Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2012.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. E. A.; TANIWAKI, M. H.; SANTOS, R. F. S.; GOMES, R. A. R. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**, 3 ed. São Paulo, 2007.

SILVA, A. S.; HONJOYA, E. R.; INAY, O. M.; COSTA, M. R.; SOUSA, C. H. B.; SANTANA, E. H. W.; SUGUIMOTO, H. H.; ARAGON-ALEGRO, L. C. Viabilidade de *Lactobacillus casei* em flan de chocolate e sua sobrevivência em condições gastrintestinais simuladas. **Semina Ciências Agrárias**, v. 33, n. 6, p. 3163-3170, 2012. Suplemento 2.

SOUZA, F. S.; COCCO, R. R.; SAMI, R. O. S.; MALLOZI, M. C.; SOLÉ, D. Prebióticos, probióticos e simbióticos na prevenção e tratamento das doenças alérgicas. **Revista Paulista de Pediatria**. v. 28, n. 1, p. 86-97, 2010.

SOUZA, J. A. **Avaliação do hidrolisado hemicelulósico da casca de jabuticaba para a obtenção de xilitol por *Candida guilliermondii***. 2013. 47 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Moleculares) – Unidade Universitária de Ciências Exatas e Tecnológicas, Universidade Estadual de Goiás, Anápolis, 2013.

SZCZESNIAK, A. S. Texture is a sensory property. **Food Quality and Preference**, v. 13, p. 215-225, 2002.

TEIXEIRA, L. M.; STRINGHETA, P. C.; OLIVEIRA, F. A. Comparação de métodos para quantificação de antocianinas. **Revista Ceres**, v. 55, n. 4, p. 297-304, 2008.

TEIXEIRA, L. N.; STRINGHETA, P. C.; OLIVEIRA, F. A. Comparação de métodos para quantificação de antocianinas. **Revista Ceres**, v. 55, p. 297-304, 2008.

TEIXEIRA, N. C. **Desenvolvimento, caracterização físico-química e avaliação sensorial de suco de jabuticaba (*Myrciaria jaboticaba* (Vell) Berg)**. 2011. 139 f. Dissertação (Mestrado em Farmácia) – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, 2011.

TIEMI, S. **Efeito da adição de extrato de casca de jabuticaba nas características físico-químicas e sensoriais de queijo petit suisse**. 2014. 99 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, 2014.

TSAI, T.H.; TSAI, P.J.; SU, S.C. Antioxidant and anti-inflammatory activities of several commonly used spices. **Journal of Food Science**, v. 70, n. 1, p. 93-7, 2005.

VALENCIA, M. S. **Desenvolvimento de sobremesa láctea cremosa de chocolate adicionada de fruto-oligossacarídeo e *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* LBC 81**. 2015. 69f. Dissertação (Mestrado em Nutrição) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2015.

VANDERHOOF, J. A.; WHITNEY, D. B.; ANTONSON, D. L.; HANNER, T. L.; LUPO, J. V.; JOVEM, R. J. *Lactobacillus* GG in the prevention of antibiotic-associated diarrhea in children. **Journal of Pediatrics**, v. 135, n. 5, p. 356-368, 1999.

VASCONCELOS, C. M. L. MARTINS, J. F. L.; RAFAEL, V. C.; FERREIRA, C. L. L. F. Desenvolvimento e avaliação sensorial de sobremesa láctea potencialmente simbiótica. **Revista Institucional Laticínios Candido Tostes**. v. 68, n. 391, p. 11-17, 2013.

VAUZOUR, D.; RODRIGUEZ-MATEOS, A.; CORONA, G.; ORUNA-CONCHA, M. J.; SPENCER, J. P. E. Polyphenols and human health: prevention of disease and mechanisms of action. **Nutrients**, v. 2, n. 11, p.1106-1131, 2010.

VIDAL, A. M.; DIAS, D. O; MARTINS, E. S. M; R. S. OLIVEIRA, R. M. S. NASCIMENTO; M. G. S. CORREIA. A ingestão de alimentos funcionais e sua contribuição para a diminuição da incidência de doenças. **Cadernos de Graduação: Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 1, n. 15, p. 43-52, 2012.

VIDIGAL, M. C. T. R.; MINIM, V. P. R.; BERGER, E. C.; RAMOS, A. M.; MINIM, L. A. Concentrado proteico do soro melhora a qualidade sensorial de sobremesa láctea *diet*. **Ciência Rural**, v. 42, n. 12, p. 2272-2279, 2012.

VIEITES, R. L.; DAIUTO, E. R.; MORAES, M. R.; NEVES, L. C.; CARVALHO, L. R. Caracterização físico-química, bioquímica e funcional da jaboticaba armazenada soluço Diferentes temperaturas. **Revista Brasileira Fruticultura**, Jaboticabal, v. 33, n. 2, p. 362-375, 2011.

VILLANUEVA, N. D. M.; DA SILVA, M. A. A. P. Comparative performance of the nine-point hedonic, hybrid and self-adjusting scales in the generation of internal preference maps. **Food Quality and Preference**, v.20, n.1, p.1-12, 2009.

VINDEROLA, G.; CAPELLINI, B.; VILLARREAL, F.; SUAREZ, V.; QUIBERONI, A.; REINHEIMER, J. Usefulness of a set of simple in vitro tests for the screening and identification of probiotic candidate strains for dairy use. **LWT - Food Science and Technology**, v. 41, p. 1678-1688, 2008.

VON HELBE, J.H.; SCHWARTZ, S.J. Colorants. In: FENNEMA, O.R. **Food chemistry**. 3.ed. New York: Marcel Dekker, p.651-723, 1996.

ZAGO, M. F. C. **Aproveitamento de resíduo agroindustrial de jaboticaba no desenvolvimento de formulação de cookie para a alimentação escolar**. 2014. 124 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Goiás, 2014.

ZICKER, M. C. **Obtenção e Utilização do Extrato Aquoso de Jaboticaba (*Myrciaria Jaboticaba (Vell) Berg*) em Leite Fermentado: Caracterização Físico-Química e Sensorial**. 2011. 139 f. Dissertação (Ciência de Alimentos) – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, 2011.

ANEXOS

Aprovação do Comitê de Ética

Saúde



FLÁVIA CAROLINA ALONSO BURITI - Pesquisador | V3.0

Cadastros

Sua sessão expira em: 39min 47

DETALHAR PROJETO DE PESQUISA

DADOS DA VERSÃO DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Obtenção de sobremesa láctea de jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) com potencial probiótico utilizando cepas nativas de *Lactobacillus* sp.
Pesquisador Responsável: FLÁVIA CAROLINA ALONSO BURITI
Área Temática:
Versão: 2
CAAE: 43591315.2.0000.5187
Submetido em: 05/05/2015
Instituição Proponente: Universidade Estadual da Paraíba - UEPB
Situação da Versão do Projeto: Aprovado
Localização atual da Versão do Projeto: Pesquisador Responsável
Patrocinador Principal: Universidade Estadual da Paraíba - UEPB



Comprovante de Recepção: PB_COMPROVANTE_RECEPCAO_461373

DOCUMENTOS DO PROJETO DE PESQUISA

- ↳ Versão Atual Aprovada (PO) - Versão 2
 - ↳ Projeto Original (PO) - Versão 2
 - ↳ Documentos do Projeto
 - ↳ Declaração de Pesquisadores - Submis
 - ↳ Folha de Rosto - Submissão 1
 - ↳ Informações Básicas do Projeto - Subm
 - ↳ Outros - Submissão 1
 - ↳ Projeto Detalhado / Brochura Investigaç
 - ↳ TCLE / Termos de Assentimento / Justif
 - ↳ Apreciação 1 - Universidade Estadual da P
 - ↳ Projeto Completo

Tipo de Documento	Situação	Arquivo	Postagem	Ações
-------------------	----------	---------	----------	-------

LISTA DE APRECIÇÕES DO PROJETO

Apreciação *	Pesquisador Responsável *	Versão *	Submissão *	Modificação *	Situação *	Exclusiva do Centro Coord. *	Ações
PO	FLÁVIA CAROLINA ALONSO BURITI	2	05/05/2015	17/06/2015	Aprovado	Não	

HISTÓRICO DE TRÂMITES

Apreciação	Data/Hora	Tipo Trâmite	Versão	Perfil	Origem	Destino	Informações
PO	17/06/2015 12:41:39	Parecer liberado			Universidade Estadual da Paraíba - UEPB / Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa - PRPGP		
PO	17/06/2015 12:41:15	Parecer do colegiado emitido			Universidade Estadual da Paraíba - UEPB / Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa - PRPGP	Universidade Estadual da Paraíba - UEPB / Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa - PRPGP	
PO	17/06/2015 12:40:59	Parecer do relator emitido			Universidade Estadual da Paraíba - UEPB / Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa - PRPGP	Universidade Estadual da Paraíba - UEPB / Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa - PRPGP	
PO	09/06/2015 14:01:34	Aceitação de Elaboração de Relatoria			Universidade Estadual da Paraíba - UEPB / Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa - PRPGP	Universidade Estadual da Paraíba - UEPB / Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa - PRPGP	
PO	14/05/2015 13:08:23	Confirmação de Indicação de Relatoria			Universidade Estadual da Paraíba - UEPB / Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa - PRPGP	Universidade Estadual da Paraíba - UEPB / Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa - PRPGP	
PO	14/05/2015 13:07:32	Indicação de Relatoria			Universidade Estadual da Paraíba - UEPB / Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa - PRPGP	Universidade Estadual da Paraíba - UEPB / Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa - PRPGP	
PO	14/05/2015 13:07:16	Aceitação do PP			Universidade Estadual da Paraíba - UEPB / Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa - PRPGP	Universidade Estadual da Paraíba - UEPB / Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa - PRPGP	
PO	05/05/2015 14:10:03	Submetido para avaliação do CEP		Pesquisador Principal	PESQUISADOR RESPONSAVEL	Universidade Estadual da Paraíba - UEPB / Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa - PRPGP	
PO	06/04/2015 12:12:13	Parecer liberado			Universidade Estadual da Paraíba - UEPB / Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa - PRPGP	Universidade Estadual da Paraíba - UEPB / Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa - PRPGP	

« « Ocorrência 1 a 10 de 16 registro(s) » »

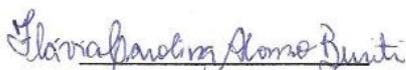
Documentação encaminhada para a apreciação ética

DECLARAÇÃO DE CONCORDÂNCIA COM PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Obtenção de sobremesa láctea de jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) com potencial probiótico utilizando cepas nativas de *Lactobacillus sp.*

Eu, Flavia Carolina Alonso Buriti, Professor(a) do Curso de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, nível de Mestrado, da Universidade Estadual da Paraíba, portador(a) do RG: 28.195.169-X, declaro que estou ciente do referido Projeto de Pesquisa e comprometo-me em acompanhar seu desenvolvimento no sentido de que se possam cumprir integralmente as diretrizes da Resolução Nº. 466/12 do Conselho Nacional de Saúde do Ministério da Saúde/Comissão Nacional de Ética em Pesquisa, que dispõe sobre Ética em Pesquisa que envolve Seres Humanos.

Campina Grande, 03 de junho de 2015



Flavia C. A. Buriti

Pesquisador Responsável

Orientador



Marina Cinthia de Sousa

Orientando

Documentação encaminhada para a apreciação ética

TERMO DE COMPROMISSO DO PESQUISADOR RESPONSÁVEL EM CUMPRIR OS TERMOS DA RESOLUÇÃO 466/12 DO CNS/MS

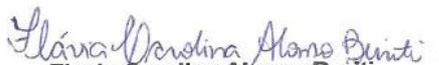
Pesquisa: Obtenção de sobremesa láctea de jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) com potencial probiótico utilizando cepas nativas de *Lactobacillus* sp.

Eu, Flavia Carolina Alonso Buriti, Professor(a) do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, nível de Mestrado, da Universidade Estadual da Paraíba, portador(a) do RG: 28.195.169-X e CPF: 218.157.358-13 comprometo-me em cumprir integralmente as diretrizes da Resolução Nº. 466/12 do Conselho Nacional de Saúde do Ministério da Saúde/Comissão Nacional de Ética em Pesquisa, que dispõe sobre Ética em Pesquisa que envolve Seres Humanos.

Estou ciente das penalidades que poderei sofrer caso infrinja qualquer um dos itens da referida resolução.

Por ser verdade, assino o presente compromisso.

Campina Grande, 03 de junho de 2015


Flavia Carolina Alonso Buriti

Pesquisador Responsável

Documentação encaminhada para a apreciação ética

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO-TCLE

(OBS: para o caso de pessoas maiores de 18 anos e que não estejam inseridas nas hipóteses de vulnerabilidade que impossibilitam o livre discernimento com autonomia para o exercício dos atos da vida civil).

Pelo presente Termo de Consentimento Livre e Esclarecido eu, _____, em pleno exercício dos meus direitos me disponho a participar da Pesquisa “**Obtenção de sobremesa láctea de jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) com potencial probiótico utilizando cepas nativas de *Lactobacillus* sp.**”.

Declaro ser esclarecido e estar de acordo com os seguintes pontos:

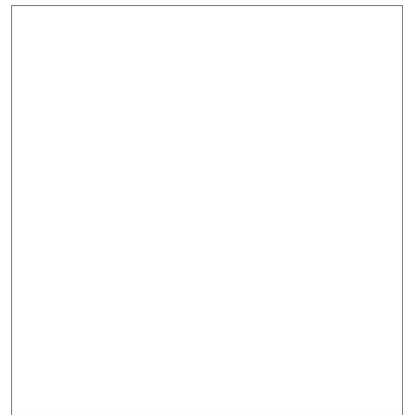
- O trabalho **Obtenção de sobremesa láctea de jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) com potencial probiótico utilizando cepas nativas de *Lactobacillus* sp.** terá como objetivo geral desenvolver uma sobremesa láctea probiótica adicionada de uma formulação de geleia produzida com a casca de jabuticaba.
- Ao voluntário só caberá a autorização para a participação da análise sensorial e preenchimento da ficha do teste de aceitabilidade e não haverá nenhum risco ou desconforto ao voluntário.
- Ao pesquisador caberá o desenvolvimento da pesquisa de forma confidencial; entretanto, quando necessário for, poderá revelar os resultados ao médico, indivíduo e/ou familiares, cumprindo as exigências da Resolução Nº. 466/12 do Conselho Nacional de Saúde/Ministério da Saúde.
- O voluntário poderá se recusar a participar, ou retirar seu consentimento a qualquer momento da realização do trabalho ora proposto, não havendo qualquer penalização ou prejuízo para o mesmo.
- Será garantido o sigilo dos resultados obtidos neste trabalho, assegurando assim a privacidade dos participantes em manter tais resultados em caráter confidencial.
- Não haverá qualquer despesa ou ônus financeiro aos participantes voluntários deste projeto científico e não haverá qualquer procedimento que possa incorrer em danos físicos ou financeiros ao voluntário e, portanto, não haveria necessidade de indenização por parte da equipe científica e/ou da Instituição responsável.
- Qualquer dúvida ou solicitação de esclarecimentos, o participante poderá contatar a equipe científica nos números (083) 3315-3360 e (083) 98797-0427 com Flávia Carolina Alonso Buriti.
- Ao final da pesquisa, se for do meu interesse, terei livre acesso ao conteúdo da mesma, podendo discutir os dados, com o pesquisador, vale salientar que este documento será impresso em duas vias e uma delas ficará em minha posse.

- Desta forma, uma vez tendo lido e entendido tais esclarecimentos e, por estar de pleno acordo com o teor do mesmo, dato e assino este termo de consentimento livre e esclarecido.

Assinatura do pesquisador responsável

Assinatura do Participante

Assinatura Dactiloscópica do participante da pesquisa
(OBS: utilizado apenas nos casos em que não seja possível a coleta da assinatura do participante da pesquisa).



Ficha para teste de aceitabilidade

Nome: _____

Data: _____

__/__/____

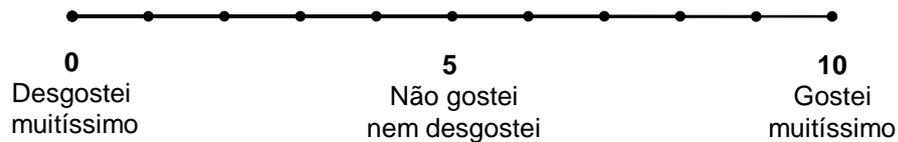
Sexo: Masc. () Fem. ()

Idade: _____

Produto: Sobremesa láctea de jabuticaba - Código: _____

Prove a amostra e marque com um **x** nas escalas abaixo a sua nota para cada característica (sabor, consistência, aparência, cor e aceitação global).

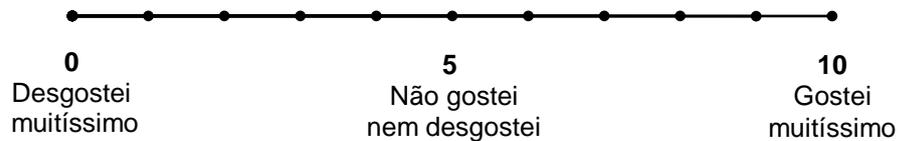
SABOR:



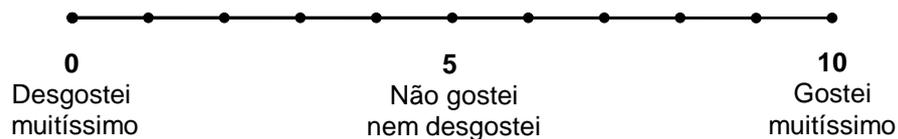
CONSISTÊNCIA:



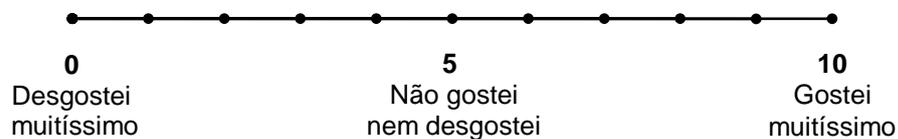
APARÊNCIA:



COR:



ACEITAÇÃO GLOBAL:



Cite a característica que você **mais** gostou na amostra. Comente.

♥ _____

Cite a característica que você **menos** gostou na amostra. Comente.

⊗ _____