



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
MESTRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

DÉBORA SANTOS DANTAS

Bebida fermentada de leite de coco (*Cocos nucifera*) adicionada de cultura nativa potencialmente probiótica e polpa de jabolão (*Syzygium cumini* (L.) Skeels)

CAMPINA GRANDE

2019

DÉBORA SANTOS DANTAS

Bebida fermentada de leite de coco (*Cocos nucifera*) adicionada de cultura nativa potencialmente probiótica e polpa de jabolão (*Syzygium cumini* (L.) Skeels)

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

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

CAMPINA GRANDE

2019

É expressamente proibido 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 do trabalho.

D192b Dantas, Débora Santos.
Bebida fermentada de leite de coco (*Cocos nucifera*)
adicionada de cultura nativa potencialmente probiótica e polpa
de jabolão (*Syzygium cumini* (L.) Skeels) [manuscrito] /
Débora Santos Dantas. - 2019.
70 p. : il. colorido.
Digitado.
Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) -
Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências
Biológicas e da Saúde , 2019.
"Orientação : Profa. Dra. Flávia Carolina Alonso Buriti ,
Coordenação do Curso de Farmácia - CCBS."
1. Probióticos não-lácteos. 2. Lactobacillus mucosae.
3. Azeitona-preta. 4. Bebida vegetal. I. Título
21. ed. CDD 615.321

DÉBORA SANTOS DANTAS

**BEBIDA FERMENTADA DE LEITE DE COCO (*COCOS NUCIFERA*) ADICIONADA
DE CULTURA NATIVA POTENCIALMENTE PROBIÓTICA E POLPA DE
JAMBOLÃO (*SYZYGIVM CUMINI* (L.) SKEELS)**

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

Aprovado em: 18 / 02 / 2019

Flávia Carolina Alonso Buriti

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

Universidade Estadual da Paraíba

Orientadora

Eliane Rolim Florentino

Prof.^a Dr.^a Eliane Rolim Florentino

Universidade Estadual da Paraíba

Examinadora Interna

Adriana Valéria Arruda Guimarães

Prof.^a Dr.^a Adriana Valéria Arruda Guimarães

Centro Universitário Maurício de Nassau (UNINASSAU)

Examinadora Externa

AGRADECIMENTOS

À Universidade Estadual da Paraíba (UEPB) pelo incentivo, investimento e apoio à pesquisa através da Pró-Reitoria de Pós-Graduação (PRPGP) e do Programa de Incentivo à Pós-Graduação e Pesquisa (PROPESQ).

Ao departamento e ao corpo docente do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas (PPGCF), pela disposição e ensinamentos compartilhados.

À minha orientadora professora Dr.^a Flávia Alonso Buriti pelos ensinamentos, orientações e prontidão durante todo o desenvolvimento e realização do trabalho.

Ao Núcleo de Pesquisa e Extensão e Alimentos (NUPEA/UEPB), ao Laboratório de Genética do Departamento de Biologia (Centro de Ciências Biológicas e da Saúde - CCBS/UEPB), ao Laboratório de Bioquímica do Departamento de Farmácia (CCBS/UEPB), e aos seus respectivos responsáveis, funcionários e técnicos, pela disponibilização do espaço, aparelhos e orientações necessários para realização das análises.

Ao PROPESQ, pelo auxílio financeiro ao projeto, através do edital 2015 da PRPGP.

Ao Laboratório de Análise Sensorial da Unidade Acadêmica de Engenharia de Alimentos (Universidade Federal de Campina Grande – UFCG) pela disponibilização do espaço para realização da análise sensorial.

À Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa Agroindústria de Alimentos) pela realização da análise de isenção da lactose em uma das bebidas controle.

À Embrapa Caprinos e Ovinos pela doação da cepa *Lactobacillus mucosae* CNPC007.

Às empresas de alimentos Prozin Industria E Comercio Ltda, pela doação da enzima Prozyn Lactase, e à Danisco-DuPont, por ceder a cultura *Streptococcus thermophilus* TA40.

Ao conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoa de Nível Superior (CAPES), pelo apoio ao PPGCF e/ou à outros projetos do grupo de pesquisa, portanto, à esta pesquisa de modo indireto.

À Fundação Parque Tecnológico da Paraíba (PaqTcPB) pelo apoio ao NUPEA e ao projeto de modo indireto.

Às professoras Dr.^a Eliane Rolim Florentino, Dr.^a Adriana Valéria Arruda Guimarães e Dr.^a Isanna Menezes Florêncio, pelas contribuições técnicas e científicas oferecidas no decorrer da pesquisa, em especial nas fases de defesa do projeto, qualificação e defesa da dissertação.

Aos colaboradores de pesquisa que contribuíram com a realização de algumas análises, em especial, a Gabriel, Girlênia, Ana Paula e Lisandra.

Aos amigos e colegas do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas pela agradável companhia e troca de experiências.

Aos voluntários que participaram e contribuíram com a análise sensorial, em especial, a minha irmã, Lissandra, que auxiliou na realização durante os três dias.

Aos funcionários do Departamento de Ciência e Tecnologia (CCT/UEPB) pela disponibilidade e auxílio dispensados.

À minha mãe, Leuzinha (*in memoriam*), e também professora pela educação, incentivo e por ter me preparado para seguir com foco nos meus propósitos. Com certeza a minha maior fonte de inspiração. Sua proteção continua a iluminar todos os caminhos que escolho trilhar.

Ao meu pai, Assis, minhas irmãs, Priscila e Lissandra, e minha tia, Nega Lourdes, por total apoio, amor e incentivo durante a minha caminhada acadêmica.

Aos familiares, amigos e colegas de trabalho que ajudaram de alguma forma e torceram para que essa pesquisa se concretizasse.

Agradeço sinceramente a cada um que contribuiu da sua maneira para a realização desse projeto.

À minha mãe (*in memoriam*), Leuzinha.
Minha força maior e fonte de inspiração.
Toda a minha trajetória até aqui tem rastros
da sua luz.

RESUMO

Os alimentos fermentados são utilizados como potenciais produtos que trazem benefícios à saúde desde a antiguidade. Nos últimos tempos, houve um maior interesse dos consumidores por probióticos não lácteos, uma vez que o uso do leite se torna limitado para um número crescente de pessoas alérgicas às suas proteínas, intolerantes à lactose, adeptas a dietas com baixo teor de colesterol ou mesmo veganas. Dessa forma, objetivou-se estudar o potencial funcional e tecnológico de uma bebida fermentada de base vegetal usando leite de coco (*Cocos nucifera*), polpa de jambolão, conhecido também por azeitona-preta (*Syzygium cumini* (L.) Skeels) e cultura nativa potencialmente probiótica de *Lactobacillus mucosae*, comparando seus parâmetros físico-químicos, microbiológicos, higiênico-sanitários, antioxidantes e sensoriais com duas bebidas lácteas (controles), uma com lactose e outra isenta desse dissacarídeo, visto que essas últimas são mais próximas dos produtos de referência no mercado. Três formulações foram produzidas em triplicata cada: BCL (controle 1 – bebida láctea com lactose); BIL (controle 2 – bebida láctea isenta de lactose) e BVC (bebida vegetal de leite de coco). Para todas as bebidas foi empregada a cultura nativa *Lactobacillus mucosae* CNPC007, a cultura *starter* *Streptococcus thermophilus* TA40 e a polpa de jambolão. Após processamento, os produtos foram armazenados a 4±1 °C e analisados semanalmente por 21 dias. A bebida vegetal frente às bebidas lácteas, durante a estocagem, apresentou boa estabilidade quanto ao pH (próximo de 3,6) e acidez (entre 0,41 e 0,39 g de ácido láctico/100 g), população de lactobacilos viáveis entre 7,03 e 8,16 log UFC/mL e potencial atividade antioxidante (próximo de 400 g de produto para a captura de 1 g de DPPH). Dentre os parâmetros avaliados na análise sensorial, cor e aceitação global foram os de maior relevância para a bebida vegetal, alcançando notas de até 8,29 e 7,28, respectivamente, dentro de uma escala de 0 a 10. Dessa maneira, a formulação proposta elaborada nas condições do estudo apresentou-se como uma potencial categoria dentre os alimentos não-lácteos saudáveis e funcionais e como um produto tecnologicamente viável, além de usar uma cultura nativa e uma fruta, normalmente negligenciada pelos brasileiros, que apresenta excelente propriedade antioxidante, possibilitando baratear os custos de produção e garantir um maior acesso aos consumidores para este tipo de produto.

Palavras chave: Alternativas vegetais ao leite. Produtos não-lácteos. *Lactobacillus mucosae*. Azeitona-preta.

ABSTRACT

Fermented products have been used as potential products with benefits to health since the antiquity. In recent times, the consumer interest in non-dairy probiotics has been increased, as the use of milk has become limited due to an increasing number of people allergic to its proteins, intolerant to lactose, adept a to low-cholesterol diet, or even vegans. Thus, the objective of this study was to evaluate the functional and technological potential of a plant-based fermented beverage using coconut milk (*Cocos nucifera*), jambolan (java plum, black plum or jamun) pulp (*Syzygium cumini* (L.) Skeels) and a potentially probiotic indigenous culture of *Lactobacillus mucosae*, comparing its physical-chemical, microbiological, hygienic-sanitary, antioxidant and sensory parameters with two dairy beverages (controls), one with lactose and another free of this disaccharide, since these last two are the most similar to the reference products on the market. Three formulations were produced in triplicate each: BCL (control 1 - dairy beverage with lactose); BIL (control 2 - lactose-free dairy beverage) and BVC (coconut milk plant-beverage). For all beverages, the indigenous culture *Lactobacillus mucosae* CNPC007, the *starter* culture *Streptococcus thermophilus* TA40 and the jambolan pulp were used. After processing, the products were stored at 4 ± 1 ° C and sampled weekly for analysis during 21 days. The plant beverage compared to the dairy ones presented good stability regarding the pH (close to 3.6) and acidity (between 0.41 and 0.39 g lactic acid/100 g), population of viable lactobacilli between 7.03 and 8.16 log CFU/mL and potential antioxidant activity (close to 400 g product to scavenge 1 g DPPH) at all sampling periods. Among the parameters evaluated in the sensory analysis, color and overall acceptance were those of highest relevance for the plant beverage, achieving scores of up to 8.29 and 7.28, respectively, within a scale from 0 to 10. Thus, the plant formulation elaborated under the study conditions showed to be a potential category among healthy and functional non-dairy foods and as a technologically viable product, in addition to the use of indigenous cultures and a commonly neglected fruit by the Brazilian population, which has an high antioxidant capacity, making it possible to reduce the production costs and ensure greater access of this kind of product to the consumers.

Keywords: Plant-based milk alternatives. Non-dairy products. *Lactobacillus mucosae*. Black plum.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
2	OBJETIVOS	13
2.1	Objetivo geral	13
2.2	Objetivos específicos	13
3	REVISÃO DA LITERATURA	14
3.1	Probióticos	14
3.2	Probióticos não-lácteos	16
3.3	Leite de coco (<i>Cocos nucifera</i>)	18
3.4	Bebidas lácteas	19
3.5	Principais razões para dietas com restrições ao leite	19
3.5.1	<i>Intolerância à lactose e alergia à proteína do leite</i>	19
3.5.2	<i>Vegetarianismos e veganismo</i>	20
3.6	<i>Lactobacillus mucosae</i> CNPC007	21
3.7	Jambolão (<i>Syzygium cumini</i>) e compostos fenólicos como antioxidantes naturais	22
4	METODOLOGIA	24
4.1	Local da Pesquisa	24
4.2	Matéria-prima	24
4.3	Obtenção dos frutos e polpa de jambolão	25
4.4	Fabricação das bebidas fermentadas	25
4.4.1	<i>Fabricação de bebidas vegetais probióticas a base de leite de coco</i>	25
4.4.1.1	<i>Ensaio piloto</i>	25
4.4.1.2	<i>Ensaio definitivo</i>	26
4.4.2	<i>Fabricação de bebidas lácteas probióticas</i>	27
4.4.2.1	<i>Fabricação do queijo para obtenção do soro lácteo</i>	27
4.4.2.2	<i>Fabricação de bebidas lácteas</i>	27
4.4.2.3	<i>Fabricação de bebidas lácteas isentas de lactose</i>	28
4.5	Caracterização bromatológica das formulações	28
4.6	Avaliação das características físico-químicas e da viabilidade dos microrganismos probiótico e <i>starter</i> das formulações durante a fermentação e ao longo do armazenamento	28

4.7	Pesquisa de microrganismo indicadores de contaminação	29
4.8	Quantificação dos compostos fenólicos totais e avaliação da atividade antioxidante das formulações	29
4.8.1	<i>Determinação de compostos fenólicos totais</i>	30
4.8.2	<i>Determinação da atividade antioxidante total pela captura do radical DPPH</i>	31
4.8.3	<i>Obtenção do EC₅₀</i>	31
4.9	Análise sensorial das formulações	32
4.10	Análise estatística	33
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	34
5.1	Caracterização bromatológica das formulações	34
5.2	Avaliação das características físico-químicas e da viabilidade dos microrganismos probiótico e <i>starter</i> das formulações durante a fermentação e ao longo do armazenamento	35
5.3	Pesquisa de microrganismos indicadores de contaminação	44
5.4	Quantificação dos compostos fenólicos totais e avaliação da atividade antioxidante das formulações	44
5.5	Análise sensorial das formulações	49
6	CONCLUSÃO	51
	REFERÊNCIAS	52
	APÊNDICES	60
	ANEXOS	66

1 INTRODUÇÃO

De acordo com a Fundação das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura (FAO) e a Organização Mundial da Saúde (OMS) define-se probióticos como "microrganismos vivos, que quando consumidos em quantidades adequadas, conferem um efeito de saúde ao hospedeiro" (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS, 2001). Esse conceito foi considerado como relevante pela *International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics* (ISAPP) e suficientemente adaptável para aplicações atuais, desde que seus benefícios à saúde sejam demonstrados em estudos rigidamente controlados para garantir segurança e eficácia (HILL et al., 2014).

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (2018) adota essa mesma definição em resolução que dispõe sobre os requisitos para comprovação da segurança e dos benefícios à saúde dos probióticos para uso em alimentos. Entre os requisitos estão: a) caracterização e identificação da linhagem do microrganismo; b) estudos científicos que demonstrem uso seguro; c) ausência de eventos adversos relevantes a partir de estudos clínicos; d) ausência de fatores de virulência e patogenicidade; e) ausência de resistência potencialmente transmissível a antibióticos relevantes para saúde humana; f) o benefício à saúde associado ao uso do probiótico deve estar claramente identificado e refletir da forma mais adequada o conjunto de evidência apresentadas.

O tratamento com probióticos envolve a modulação do sistema imunológico tanto em nível local como sistêmico e os efeitos benéficos incluem quer a redução da duração das infecções quer a diminuição da suscetibilidade aos agentes patogênicos (ANTOINE, 2010).

A principal fonte alimentar de probióticos para humanos são leites fermentados e ou produtos lácteos similares (HUSAIN, 2016), porém, questões de saúde como intolerância à lactose e as alergias ao leite, características dos produtos como a gordura elevada e o colesterol e também questões comportamentais como a tendência crescente do vegetarianismo vêm promovendo a pesquisa no campo de produtos probióticos sem leite (KANDYLIS et al., 2016).

Recentemente, outras áreas alimentícias estão envolvidas no ramo de probióticos, como as indústrias de "leite" de oleaginosas, de cereais ou de outras origens vegetais. Os chamados "leites" vegetais têm especial relevância uma vez

que, além de seus benefícios nutricionais e de saúde, contêm compostos prebióticos ou podem ser facilmente adicionados destes componentes (a exemplo do prebiótico inulina), ou de outras fontes de fibras e compostos bioativos (BERNAT et al., 2015).

No entanto, a composição das bebidas probióticas não lácteas pode representar desafios específicos para a sobrevivência desses microrganismos. Para superar esses desafios, técnicas de seleção e proteção das cepas adicionadas desempenham um papel muito importante para a obtenção de um produto estável (GAWKOWSKI; CHIKINDAS, 2013).

Nesse sentido, estudos precisam ser realizados para avaliar a viabilidade do probiótico no produto de base vegetal, a fim de se assegurar que o alimento alternativo aos de base láctea também é capaz de oferecer os microrganismos probióticos ao consumidor nas quantidades recomendadas para demonstrarem os efeitos benéficos à saúde humana.

Segundo dados da literatura, o coco (*Cocos nucifera* (L.)) é uma fruta tropical popular amplamente utilizada para a preparação de diferentes tipos de produtos alimentares. A palavra leite de coco descreve o líquido de cor branca extraído usando a força mecânica da polpa de coco madura com a adição de pouca água que apresenta textura cremosa, sabor suave e aromático (NARATARUKSA et al., 2010; SANFUL, 2009; SHANA et al., 2015).

Sanful (2009) produziu um iogurte a partir de leite de coco e leite de vaca desnatado. A avaliação sensorial indicou que não houve diferenças entre as duas bebidas quanto a todos os atributos de qualidade sensorial. Logo, o coco surge como potencial alternativa saudável ao leite de vaca para produzir produtos probióticos não-lácteos aceitáveis e acessíveis, uma vez que é mais barato, disponível e indicado para o público com restrição alimentar.

Paralelamente, apesar da disponibilidade comercial de cepas probióticas bem caracterizadas, é necessário o estudo de novos microrganismos com propriedades benéficas à saúde para incorporação em alimentos, como, por exemplo, cepas nativas de lactobacilos.

A utilização de novas cepas com potencial probiótico possibilita um acesso mais amplo a estes microrganismos, especialmente às pequenas e médias agroindústrias de alimentos em países em desenvolvimento (VINDEROLA, et al., 2008). Isso permitiria menores custos para a obtenção do produto final, viabilizando o seu acesso a um maior número de consumidores.

O uso de uma base vegetal e o uso de cepas nativas com potencial probiótico são, portanto, alternativas para a obtenção de um alimento funcional que não apresente restrições de consumo tanto aos intolerantes à lactose e alérgicos às proteínas do leite, bem como para o consumidor geral que tenha interesse em consumir opções alternativas aos derivados lácteos.

A utilização de jambolão (*Syzygium cumini* (L.) Skeels – família Myrtaceae) no processamento de uma bebida fermentada de base vegetal traz benefícios adicionais ao consumidor por ser uma fruta fonte de compostos fenólicos, com potencial atividade antioxidante, e de fibras alimentares, que juntamente com os probióticos, contribuiria para o bom funcionamento do intestino.

As fibras alimentares e os compostos fenólicos podem tornar mais favoráveis as condições para a multiplicação e sobrevivência das culturas adicionadas ao produto. Igualmente, a biodisponibilidade dos compostos fenólicos ao organismo humano e consequente atividade antioxidante pode ser aumentada em decorrência do metabolismo microbiano, aumentando os efeitos benéficos para a saúde. Outros potenciais benefícios podem ser obtidos em uma bebida fermentada de base vegetal adicionada de uma cultura nativa de lactobacilos e jambolão e merecem ser estudados.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Estudar o potencial funcional e tecnológico de uma bebida fermentada de base vegetal usando leite de coco (*Cocos nucifera*), cultura nativa potencialmente probiótica de *Lactobacillus mucosae* e polpa de jambolão, conhecido também por azeitona-preta (*Syzygium cumini*).

2.2 Objetivos específicos

Este projeto apresenta os seguintes objetivos específicos:

- a) Comparar a bebida de coco com duas formulações lácteas fermentadas (controles), uma com lactose e outra sem esse dissacarídeo, visto que são tipos de bebidas mais próximas às já conhecidas pelos consumidores neste setor de probióticos, sendo estas a base de leite e soro de queijo, e também com polpa de jambolão e cultura nativa potencialmente probiótica de *L. mucosae*;
- b) caracterizar bromatologicamente as diferentes bebidas fermentadas produzidas;
- c) caracterizar bromatologicamente o leite de coco usado;
- d) comparar o potencial fermentativo da base vegetal de coco com duas formulações lácteas;
- e) avaliar e comparar a estabilidade da bebida vegetal com a das bebidas lácteas fermentadas controles durante o armazenamento refrigerado de 21 dias;
- f) avaliar a viabilidade da cultura nativa de *L. mucosae* nas diferentes formulações e o efeito deste microrganismo sobre o teor de compostos fenólicos ao longo do armazenamento;
- g) avaliar sensorialmente as diferentes bebidas fermentadas.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Probióticos

Uma revisão sobre o conceito para probióticos foi realizada por Hill et al. (2014), que consideraram a definição proposta por FAO/OMS e os avanços da pesquisa nos 12 anos anteriores àquela publicação. Para os autores o uso adequado do termo probiótico será útil para orientar clínicos e consumidores na diferenciação dos diversos produtos no mercado.

De acordo com a FAO/OMS define-se probióticos como "microrganismos vivos, que quando consumidos em quantidades adequadas, conferem um efeito de saúde ao hospedeiro" (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS, 2001). Hill et al. (2014) propuseram a adição de alguns requisitos essenciais:

Incluir no quadro para a definição de probióticos espécies microbianas que foram mostradas em estudos devidamente controlados para conferir benefícios à saúde; qualquer reivindicação específica além de "contém probióticos" deve ser ainda fundamentada; manter fora do quadro probiótico culturas vivas, tradicionalmente associadas com alimentos fermentados e para as quais não há provas de benefícios para a saúde; manter indefinidos os transplantes de microbiota fecais fora da estrutura probiótica; novos comensais e consórcios que compõem cepas definidas oriundas de amostras humanas, com provas adequadas de segurança e eficácia, são "probióticos".

Os microrganismos probióticos são predominantemente de origem humana e animal (RIVERA-ESPINOZA; GALLARDO-NAVARRO, 2010) e a principal fonte alimentar para humanos são iogurtes e produtos lácteos (HUSAIN, 2016).

Há evidências clínicas de que alguns probióticos, mas não todos, estimulam a defesa do hospedeiro, como demonstrado por uma menor duração das infecções ou por uma redução da suscetibilidade do hospedeiro aos agentes patogênicos (ANTOINE, 2010). Galdeano et al. (2007) apresentaram um modelo para os mecanismos de imunomodulação intestinal induzida por bactérias probióticas. O estudo mostrou, em parte, a base científica sobre a maneira como os probióticos funcionam e sua possível influência no sistema imunológico intestinal em condições patológicas.

De acordo com Soccol et al. (2010) *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* são os principais grupos probióticos; porém, existem relatos sobre o potencial probiótico de *Pediococcus*, *Lactococcus*, *Bacillus* e leveduras. Algumas das cepas probióticas

identificadas apresentam poderosas propriedades anti-inflamatórias, antialérgicas e outras importantes. Além disso, o consumo de produtos lácteos e não lácteos estimula a imunidade de diferentes maneiras.

Uma meta-análise de estudos randomizados e controlados avaliou se o tratamento com *Lactobacillus* melhora os resultados clínicos em crianças com diarreia infecciosa aguda. O estudo relatou uma redução significativa na duração da diarreia de 0,7 dias nos grupos probióticos em comparação com os controles dentro de um tratamento de dois dias, sugerindo uma alternativa de tratamento eficaz e segura (VAN NIEL et al., 2002).

Nos estudos randomizados os pesquisadores decidem aleatoriamente quais participantes do estudo recebem o novo tratamento e quais recebem placebo. Nos estudos controlados o teste usa um grupo de controle para comparação ou referência, onde os participantes não recebem o novo tratamento, mas recebem um placebo (MACGILL, 2018). Nos estudos de controle randomizado duplo-cego tanto os pesquisadores como os participantes não sabem qual grupo receberá o novo tratamento teste e qual receberá o placebo. Ainda no estudo randomizado duplo-cego, as ações de “cegar” (tanto pacientes como pesquisadores) e “aleatorizar” eliminam, respectivamente, confusões por co-intervenções, que podem levar a estimativa tendenciosa e incorreta do efeito do tratamento e o confundimento por variáveis de base (MISRA, 2012).

Em estudo randomizado duplo cego controlado com 135 indivíduos idosos hospitalizados que receberam antibioticoterapia, Hickson et al. (2007) relataram uma redução da diarreia associada ao uso de antibióticos e causada por *Clostridium difficile*, e a ausência de toxina desse microrganismo nas fezes do grupo probiótico, enquanto havia 17 amostras positivas no grupo controle.

A ingestão de alguns probióticos melhora significativamente as defesas do hospedeiro e a capacidade de lidar com diferentes fatores externos do meio ambiente, infecção ou estresse que enfraquecem parte dos sistemas de defesa. A ação dos probióticos pode ser explicada por um efeito direto sobre a microbiota intestinal, sua composição ou sua função defensiva (resistência de colonização); por um efeito na mucosa intestinal (por exemplo, muco, permeabilidade e defensinas) ou por um efeito sobre o sistema imune e inflamações. No entanto, os probióticos, como outros microrganismos exógenos, são transitórios no intestino, e é necessária uma ingestão regular para proporcionar um benefício sustentável (ANTONIE, 2010).

Muitos estudos nas últimas décadas concluíram que os melhores substratos para a ingestão de probióticos são produtos lácteos. No entanto, a intolerância à lactose, a gordura elevada e o colesterol, as alergias ao leite e também a tendência crescente do vegetarianismo promoveu a pesquisa no campo de produtos probióticos sem leite. (KANDYLIS et al., 2016).

Diante disso, o desenvolvimento de produtos probióticos não lácteos, incluindo matrizes alimentares à base de frutas, vegetais e cereais, tem sido largamente pesquisado. O trabalho de Martins et al. (2013) analisa as principais aplicações de microrganismos probióticos em produtos de origem vegetal e as características que permitem o uso dessas massas alimentares como potenciais portadores de bactérias probióticas.

A fermentação é tradicionalmente usada em todas as regiões do mundo por seus atributos de promoção a saúde e é uma forma antiga de conservação dos alimentos. Os produtos fermentados desfrutam do sucesso em muitos mercados e há um interesse crescente pelas bebidas funcionais em uma perspectiva científica, de consumo e comercial.

Recentemente foram desenvolvidos esforços inovadores para desenvolver bebidas fermentadas probióticas não lácteas de uma variedade de substratos, incluindo leite de soja, cereais e vegetais e sucos de frutas. Há um movimento junto aos consumidores atuais para a seleção de alimentos que oferecem benefícios de saúde, sociais e ambientais, o que incentivou a indústria de alimentos a desenvolver novos produtos e estratégias de mercado. De fato, com a disponibilidade e as melhorias na tecnologia e o crescente interesse dos consumidores em alimentos funcionais, a perspectiva de bebidas fermentadas é mais promissora do que nunca (MARSH et al., 2014).

3.2 Probióticos não-lácteos

Os consumidores têm procurado cada vez mais dietas que promovem a saúde e bem-estar. Entre os alimentos que atendem a essa demanda, aqueles com propriedades funcionais têm atraído a atenção dos consumidores e da indústria de alimentos (MARTINS et al., 2013).

A pesquisa está sendo continuada no desenvolvimento de soluções alternativas aos produtos probióticos à base de leite existindo a preferência por produtos probióticos não lácteos, especialmente usando suco de frutas e/ou de hortaliças como ingredientes principais (KUMAR; VIJAYENDRA; REDDY, 2015).

Frutas e hortaliças processados têm sido boas matrizes e são considerados como substratos ideais para probióticos devido à presença de minerais, vitaminas, antioxidantes e fibras (SOCCOL et al., 2010). Várias espécies de lactobacilos e bifidobacterias apresentam boa tolerância em ambientes ácidos, favorecendo o uso dessas bases na fabricação de bebidas fermentadas. Porém, mais trabalhos são necessários quanto aos sucos fermentados contendo probióticos, pois além da importância da multiplicação e a estabilidade dos microrganismos durante a fermentação e armazenamento, respectivamente, a avaliação sensorial está diretamente associada com a qualidade e aceitação do produto final pelo consumidor, sendo necessário uma seleção adequada dos componentes do substrato (formulação) e composição das cepas (SHORI, 2016).

Atualmente, os produtos probióticos de frutas e vegetais já estão disponíveis nos mercados americano e europeu. Os produtos comerciais incluem frutas e hortaliças fermentados e não fermentados, bebidas probióticas orgânicas e frutos secos enriquecidos com estes microrganismos. Estes produtos têm um apelo saudável, que atrai os consumidores (MARTINS et al., 2013).

Sharma e Mishra (2013) utilizaram como matéria-prima para a produção de bebidas probióticas suco de melão amargo (*Momordica charantia*), suco de caldo de abóbora-d'água (*Lagenaria siceraria*) e cenoura (*Daucus carota*). O suco de vegetais foi fermentado a 30 °C por até 72 h e as alterações na população microbiana, pH, açúcares e acidez titulável foram observadas durante o período de fermentação. A contagem de células viáveis atingiu até 8 log UFC/mL, a partir de uma população inicial de 6 log UFC/mL. A viabilidade das cepas foi determinada durante o tempo de armazenamento a 4 °C dentro de 4 semanas. O suco de vegetais provou ser um meio adequado para a produção de uma bebida probiótica fermentada e pode servir como uma bebida saudável para vegetarianos, particularmente os diabéticos.

A *Plant Based Foods Association* e o *Good Food Institute* divulgaram dados encomendados da Nielsen, uma empresa líder em pesquisa de vendas de varejo, sobre o mercado do setor de alimentos a base de plantas. Nos Estados Unidos, no ano de 2017, as vendas no varejo de alimentos de origem vegetal, a fim de substituir produtos animais, totalizaram 3,1 bilhões de dólares. Do total de vendas de leite e produtos similares, 9,3% compreende as alternativas vegetais a esses alimentos. Os dados apontam esses produtos alternativos a base de plantas

como uma categoria de rápido crescimento, incluindo produtos como “leite vegetal”, bem como produtos não-lacteos similares a queijos e iogurtes. O consumo de produtos vegetais similares ao iogurte aumentou 56% em relação a 2016 (NIELSEN, 2017).

3.3 Leite de coco (*Cocos nucifera* (L.))

O coco, de acordo com a sua classificação botânica, é um fruto da palmeira que pertence à classe *Monocotyledoneae*, ordem *Palmales*, família *Arecaceae*, subfamília *Cocoideae*, gênero *Cocos*, espécie *nucifera*. Esta palmeira também é denominada popularmente como coqueiro, coco-da-bahia ou coqueiro-da-praia no Brasil (MAURO, 2018).

Cocos nucifera (L.) é uma importante fruteira nas regiões tropicais e a fruta pode ser transformada em uma variedade de alimentos e bebidas. Parece haver uma confusão na literatura, na indústria e entre os consumidores em relação aos termos “leite de coco” e “água de coco”, que, por vezes, são utilizados de forma intercambiável. Em 1994, a *Asian and Pacific Coconut Community* (APCC) propôs certas definições para diferentes produtos aquosos de coco: o termo “água de coco” deve referir-se exclusivamente ao endosperma líquido aquoso natural da drupa de *Cocos nucifera* (L.), enquanto o termo “leite de coco” deve referir-se ao produto aquoso, essencialmente sem a fibra, extraídos do endosperma de coco sólido, mas que podem incluir eventualmente água de coco (SEOW; GWEE, 1997).

Segundo a Tabela Brasileira de Composição dos Alimentos (TACO) a composição centesimal do leite de coco apresenta: 78% umidade; 1g proteína; 18,4g de lipídeos; 2,2g carboidratos; 0,7g fibra alimentar e 0,4g cinzas por 100g da parte comestível (UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS, 2011). Belewu e Belewu (2007) apresentam a composição de ácidos graxos do leite de coco, a qual consiste em 56,23% de ácido láurico, 18,30% de mirístico, 8,95% de palmítico, 8,90% de cáprico, 7,30% de oleico e 1,60% de linoleico. Segundo os autores, os ácidos láurico e oleico podem auxiliar na prevenção de doenças coronarianas e aterosclerose.

Nesse sentido, Ekanayaka et al. (2013) reportaram o comportamento do perfil lipídico de indivíduos saudáveis que consumiram suplemento dietético

tradicional contendo leite de coco por 8 semanas, a fim de avaliar o risco cardiovascular. No referido estudo concluiu-se que a gordura de coco mostrou-se benéfica ao diminuir níveis de LDL e aumentar o HDL colesterol, resultados estes que reafirmam o potencial funcional do produto.

3.4 Bebidas lácteas

Entende-se por Bebida Láctea:

O produto lácteo resultante da mistura do leite (in natura, pasteurizado, esterilizado, UHT, reconstituído, concentrado, em pó, integral, semidesnatado ou parcialmente desnatado e desnatado) e soro de leite (líquido, concentrado e em pó) adicionado ou não de produto(s) ou substância(s) alimentícia(s), gordura vegetal, leite(s) fermentado(s), fermentos lácteos selecionados e outros produtos lácteos. A base láctea representa pelo menos 51% (m/m) do total de ingredientes do produto. (BRASIL, 2005).

Essa mesma legislação define Bebida Láctea Fermentada como:

O produto “fermentado mediante a ação de cultivo de microrganismos específicos e/ou adicionado de leite(s) fermentado(s) e que não poderá ser submetido a tratamento térmico após a fermentação. A contagem total de bactérias lácticas viáveis deve ser no mínimo de 10^6 UFC/g, no produto final, para o(s) cultivo(s) láctico(s) específico(s) empregado(s), durante todo o prazo de validade. (BRASIL, 2005).

O desenvolvimento de bebidas lácteas adicionadas de culturas probióticas e polpas ou suco de frutas, além de ser funcional, ter uma boa aceitação e alto valor nutritivo, é uma alternativa para o aproveitamento do soro gerado nas indústrias. Ferreira (2015) desenvolveu uma bebida láctea fermentada sabor pitanga, utilizando culturas probióticas e prebióticos como fruto-oligossacarídeos (FOS), demonstrando viabilidade tecnológica e com potencial de produção pela indústria de produtos lácteos funcionais.

3.5 Principais razões para dietas com restrições ao leite

3.5.1 Intolerância à lactose e alergia à proteína do leite

A lactose é o principal açúcar presente no leite de mamíferos. De acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA):

Quando alimentos contendo lactose são ingeridos, esse açúcar é hidrolisado pela enzima lactase em glicose e galactose. Na maioria dos mamíferos, a atividade da enzima lactase diminui após o desmame. Esse é um fenômeno normal, geneticamente programado e irreversível, conhecido

como hipolactasia primária ou lactase não persistente. Quando indivíduos com hipolactasia primária ingerem alimentos contendo lactose, uma parte deste açúcar não é digerida e atinge o cólon, sendo degradada em ácido láctico, ácido acético, hidrogênio e dióxido de carbono pelas bactérias intestinais. Essa situação é denominada de má digestão de lactose. O aparecimento de sintomas abdominais (ex. dor e distensão abdominal, flatulência, diarreia, náusea, vômitos ou constipação) em função da má digestão de lactose caracteriza a intolerância à lactose. (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2016).

Embora seja frequentemente confundida com alergia alimentar ao leite, a intolerância à lactose é uma reação adversa que não envolve o sistema imunológico e ocorre devido à deficiência da enzima lactase, sendo classificada como uma intolerância alimentar (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2016).

Alergia à proteína do leite é uma reação adversa desenvolvida pelo organismo que envolve mecanismos imunes e é desencadeada pela ingestão de frações das proteínas desse alimento, e não pela lactose (TOMÉI, 2016).

A rotulagem de alimentos é mais exigente para os casos de alergia que para os de intolerância. Ambas as condições, tanto intolerância à lactose, como alergia às proteínas do leite, merecem uma atenção minuciosa e descritiva a respeito de suas causas e sintomas, visando esclarecer bem a diferenciação entre as duas para que os portadores, profissionais e cuidadores possam obter satisfatório domínio sobre o tema e realizar um adequado tratamento (TOMÉI, 2016).

Oliveira (2013) cita um estudo realizado no Brasil que concluiu que a incidência de alergia a proteína do leite de vaca é de 2,2% e a prevalência é de 5,7%. No tocante à intolerância à lactose, a incidência foi de 44,11% em um estudo realizado em Joinville-SC com 1.088 indivíduos que apresentavam distúrbios intestinais ou manifestações clínicas suspeitas. No referido estudo, o maior número de casos novos foi encontrado em crianças de zero a dez anos com 23,71% de incidência. Os autores também verificaram que a menor frequência ocorreu em indivíduos a partir dos 40 anos, expressando o menor percentual depois dos 60 anos com 6,71% (PEREIRA FILHO; FURLAN, 2004).

3.5.2 Vegetarianismos e veganismo

Segundo Ruby (2012) a literatura atual indica que o termo "vegetariano" se tornou bastante vago, variando de pessoas que ocasionalmente comem carne, mas se consideram vegetarianas, àquelas que não consomem nenhum produto animal. A

definição proposta por Beardsworth e Keil (1991), que vem sendo utilizada até a presente década, propõe a categorização do termo vegetarianismo, medindo o grau progressivo para o qual os alimentos de origem animal são evitados.

Os vegetarianos do Tipo I são aqueles que se consideram vegetarianos, mas ocasionalmente comem carne vermelha ou frango, tipicamente resultante da indisponibilidade temporária da opção de comida vegetariana, ou do desejo de evitar constrangimentos em ambientes sociais onde a carne é servida. O Tipo II evita o consumo de carne e aves. O Tipo III também evita os peixes. O Tipo IV também exclui os ovos e o Tipo V exclui os produtos lácteos produzidos com coalho (enzimas extraídas do estômago de bezerros jovens). No extremo oposto do espectro estão os vegetarianos do Tipo VI, ou veganos, que consomem apenas alimentos derivados de vegetais, evitando todos os produtos alimentícios derivados de animais (RUBY, 2012).

A Sociedade Vegetariana Brasileira (SVB) define vegetarianismo como um regime alimentar que exclui todos os tipos de carnes e o classifica como: a) ovolactovegetarianismo, quando o indivíduo utiliza ovos, leite e laticínios na sua alimentação; b) lactovegetarianismo, quando utiliza leite e laticínios na sua alimentação; c) ovovegetarianismo, quando utiliza ovos na sua alimentação e d) vegetarianismo estrito, quando não utiliza nenhum produto de origem animal na sua alimentação.

Por sua vez, a filosofia do veganismo prevê o não consumo de qualquer produto que gere exploração e/ou sofrimento animal, adotando o vegetarianismo estrito no âmbito da alimentação. Por este motivo, costuma-se também chamar de “vegano” aquele indivíduo que não consome nenhum alimento de origem animal (carnes, ovos, laticínios, etc.) (SOCIEDADE VEGETARIANA BRASILEIRA, 2017).

Na cartilha “Opção vegana” a SVB define veganismo como:

Um modo de vida que procura excluir, na medida do possível e praticável, todas as formas de exploração e crueldade com os animais. O vegano não consome, assim, nada que tenha origem animal, seja na alimentação, no vestuário, nas atividades de lazer, entre outras práticas da vida cotidiana. (BASTOS et al., 2015, p. 2).

3.6 *Lactobacillus mucosae* CNPC007

Ross et al. (2000) descreveu pela primeira vez a espécie *Lactobacillus mucosae*, isolada do intestino de um porco. O estudo revelou que os novos isolados

representavam uma espécie geneticamente relacionada com *L. reuteri*, *Lactobacillus fermentum* e *Lactobacillus pontis*, que apresentam potencial probiótico.

A espécie *L. mucosae* CNPC007 foi isolada de leite de cabra por pesquisadores da Embrapa Caprinos e Ovinos. Foram identificados genes relacionados à capacidade de adesão à mucosa intestinal e tolerância aos sais biliares, inibição de patógenos no trato gastrointestinal e taxa notavelmente alta de sobrevivência em condições gástricas e entéricas simuladas. Segundo aquele grupo de estudo, um probiótico promissor também deve ser capaz de sobreviver em operações de processamento e armazenamento e, é desejável que sejam otimizados o sabor e a textura do produto final. Em conjunto, os resultados obtidos por aquele grupo de pesquisa sugerem a cepa isolada como potencialmente promissora para aplicação em bebidas funcionais por reunir um conjunto de propriedades probióticas e tecnológicas verificadas por testes *in vitro* (MORAES et al., 2017).

3.7 Jambolão (*Syzygium cumini* (L.) Skeels) e compostos fenólicos como antioxidantes naturais

O *Syzygium cumini* (L.) Skeels (jambolão) também pode ser chamado cientificamente como *Eugenia jambolana* ou *Eugenia cumini* (ARAÚJO, 2014; VEIGAS et al., 2007), pertencente à família Myrtaceae, original da Indonésia, da China e das Antilhas, e encontrado em diversos países, inclusive em grande parte do Brasil nas planícies litorâneas, nas serras e nos planaltos (VIZZOTO; PEREIRA, 2008). O fruto é conhecido popularmente por jambu, amora indiana, ameixa roxa, jamelão, jamun, azeitona-do-nordeste, murta, guapê, azeitona preta, cereja, jalão, kambol, jambuí, azeitona-da-terra e baga de freira (BEZERRA, 2015; VIZZOTO; FETTER, 2009).

Baliga et al. (2011) citam estudos que comprovam uma gama de propriedades farmacológicas do *Syzygium cumini*, tais como antibacteriana, antifúngica, antiviral, anti-genotóxico, anti-inflamatório, anti-ulcerogênico, cardioprotetor, antialérgico, anticancerígeno, quimiopreventivo, radioprotetor, sequestrador de radicais livres, antioxidante, hepatoprotetor, antidiarreico, hipoglicêmico e antidiabético.

Aqil et al. (2012) relataram o elevado potencial quimioprotetor do câncer de *S. cumini*, atribuído às suas atividades antioxidantes, antiproliferativas e antiinflamatórias. Os extratos da polpa e sementes apresentaram alta capacidade de absorção de radicais livres de oxigênio. Seu alto potencial antioxidante também foi refletido pelas atividades de absorção de íons 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolino-6-sulfônico) (ABTS) e 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) e quelantes de íons ferrosos. Também analisaram a atividade antiproliferativa dos extratos de *S. cumini* contra células A549 do câncer de pulmão humano, apresentando significativa atividade antiproliferativa.

Os frutos da espécie *S. cumini*, são tradicionalmente usados para curar uma série de doenças. Banerjee, Dasgupta e De (2005) comprovaram a atividade antioxidante da casca do fruto utilizando diferentes ensaios, como ensaio de eliminação de radical hidroxila, ensaio de eliminação de radical superóxido, ensaio de eliminação de radicais DPPH e ensaio de peroxidação lipídica. Segundo os autores a propriedade antioxidante da casca da fruta pode vir em parte das vitaminas antioxidantes, fenólicos ou taninos e antocianinas presentes na fruta.

Singh et al. (2016) examinaram o extrato de polifenol do fruto *Syzygium cumini* e constataram atividade antimicrobiana de amplo espectro contra cepas patogênicas de referência (*Staphylococcus aureus*, *S. aureus* resistente à metilicina [MRSA], *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* e *Candida albicans*), além de atividade antioxidante para diferentes polifenóis. O ácido gálico e a quercetina apresentaram maior atividade antioxidante (DPPH e ABTS).

4 METODOLOGIA

4.1 Local da Pesquisa

A pesquisa foi realizada no Núcleo de Pesquisa e Extensão em Alimentos (NUPEA) e no Laboratório de Química Analítica Aplicada, ambos do Departamento de Química – Centro de Ciências e Tecnologia, bem como no Laboratório de Genética do Departamento de Biologia e no Laboratório de Bioquímica do Departamento de Farmácia – Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, localizados no Campus I da Universidade Estadual da Paraíba (UEPB), no município de Campina Grande – PB.

4.2 Matéria-prima

A pesquisa contou com a produção de três bebidas fermentadas, uma a base de leite de coco (*Cocos nucifera*) e duas de origem láctea. Para a base da bebida vegetal foram utilizados: endosperma sólido do coco maduro para preparo do leite de coco, amido de milho (Maisena[®], Duryea[®], Unilever) e sacarose (açúcar granulado Estrela, Biosev). Para o preparo das bases lácteas foram usados soro de queijo Minas frescal, leite em pó desnatado (Molico[®], Nestlé[®]), β -galactosidase (Prozyn[®] Lactase) e sacarose (açúcar granulado Estrela, Biosev). Em comum às três formulações usou-se polpa de *S. cumini* (jambolão), cultura iniciadora de *Streptococcus thermophilus* (TA40, DuPont) e cultura nativa potencialmente probiótica de *Lactobacillus mucosae* (CNPC007, fornecida pela Embrapa Caprinos e Ovinos, Sobral, Ceará).

Os ingredientes usados nos três tratamentos encontram-se na Tabela 1.

Tabela 1 –Ingredientes usados em cada tratamento.

(continua)

Ingredientes	Tratamentos		
	BCL	BIL	BVC
Leite de coco	-	-	+
Sacarose	+	+	+

(conclusão)

Amido de milho	-	-	+
Soro de leite	+	+	-
Leite em pó	+	+	-
<i>L. mucosae</i>	+	+	+
<i>S. thermophilus</i>	+	+	+
Polpa de jabolão	+	+	+
β -galactosidase	-	+	-

Fontes: Dados da pesquisa.

BCL – bebida láctea fermentada com lactose; BIL – bebida láctea fermentada isenta de lactose; BVC – bebida vegetal fermentada.

+ – presente ; - – ausente.

4.3 Obtenção dos frutos e polpa de jabolão

O período da coleta dos frutos no estágio de maturação maduro no município de Lagoa Seca - PB aconteceu em fevereiro de 2017, dentro do período de safra que, geralmente, acontece entre outubro a fevereiro, a partir de plantas adultas selecionadas.

Os frutos foram selecionados, pesados, lavados em água corrente, posteriormente, higienizados em água clorada a 200 ppm por 30 minutos e, em seguida, escorridos. Já a polpa foi separada manualmente da semente, triturada em liquidificador doméstico, embalada em sacos de policloreto de polivinila (PVC) e depois selada, tratada termicamente a 85 °C durante 5 minutos e congelados em freezer horizontal doméstico (-18°C).

4.4 Fabricação das bebidas fermentadas

4.4.1 Fabricação de bebidas vegetais probióticas a base de leite de coco

4.4.1.1 Ensaios piloto

O primeiro ensaio piloto contou com a escolha entre o leite de coco caseiro ou comercial (Ducoco[®]) para preparo da bebida fermentada.

Para preparo do leite de coco caseiro foi utilizada a proporção 1:5 (p/v) do endosperma sólido do coco/volume de água potável. Os dois componentes foram misturados em liquidificador doméstico por 5 minutos formando uma suspensão que foi posteriormente filtrada em coador de tecido sintético.

Aos dois tipos de leite foram acrescentados 9% de açúcar até completa solubilização. Em seguida, receberam tratamento térmico a 85 °C por 30 min. Terminado o processo de termização, as duas bases foram resfriadas até atingirem 43 ± 1 °C para adicionar a cultura *starter Streptococcus thermophilus* TA40 na proporção de 0,004 g/100 g e cepa nativa *Lactobacillus mucosae* CNPC007 – previamente ativada em 5mL de caldo MRS a 37 °C por 24h, centrifugada em criotubos de 1,5 mL, com descarte do sobrenadante – na proporção 4 criotubos da centrifugação/L de base vegetal.

As alterações de pH e acidez observadas durante as 6 horas iniciais da fermentação foram bem discretas, então optou-se por esperar 24 horas até finalizar o processo. Os microrganismos *L. mucosae* e *S. thermophilus* multiplicaram-se apenas na base de leite de coco caseiro.

O segundo ensaio ajustou o sabor (aumentou a concentração do açúcar de 9% para 13,5%) e a estabilidade do leite de coco com a adição do espessante amido de milho, testado nas concentrações 1% e 2%.

No terceiro e último ensaio ficou determinado a formulação da base vegetal definitiva: leite de coco, açúcar e amido de milho nas concentrações, respectivamente, 85%, 13,5% e 1,5%.

4.4.1.2 Ensaio definitivo

O leite de coco caseiro foi preparado na proporção 1:5 (p/v) do endosperma sólido do coco/volume de água potável. Os dois componentes foram misturados em liquidificador de uso doméstico por 5 minutos. A suspensão foi filtrada em coador de tecido sintético. Ao leite de coco foram acrescentados o açúcar e amido nas proporções 13,5 e 1,5%, respectivamente, até completa solubilização. Esta mistura recebeu tratamento térmico a 85°C por 30 min, sendo imediatamente resfriada a 43 ± 1 °C para a adição da cultura *starter Streptococcus thermophilus* TA40 na proporção de 0,004 g/100 g e da cepa nativa *Lactobacillus mucosae* CNPC007 – previamente ativada conforme mencionado no item 4.4.1.1 – na proporção 4

criotubos da centrifugação/L de base vegetal. A fermentação durou 24 horas, foi refrigerada a 4 ± 1 °C e logo após, a polpa da fruta (jambolão) foi adicionada na proporção de 15 g/100 g de produto final. A bebida finalizada foi envasada em garrafas plásticas de 200 mL e armazenada a 4 ± 1 °C durante 21 dias. Todo o processo foi realizado em três lotes (triplicatas independentes).

4.4.2 Fabricação de bebidas lácteas probióticas

4.4.2.1 Fabricação do queijo para obtenção do soro lácteo

O soro lácteo foi obtido através do processamento de queijo, de acordo com a metodologia descrita por Florentino (1997), utilizando o método de coagulação enzimática. O leite pasteurizado desnatado (Cariri *Light*, COAPECAL) foi aquecido entre 35 e 37 °C, em seguida, foi acrescentado o coagulante Hannilase (Chr. Hansen), seguindo as orientações do fabricante, e o cloreto de cálcio na proporção de 0,25 g/L. O tempo de coagulação foi de 30 e 40 minutos. Posteriormente, foram realizados cortes no coágulo obtido e agitações a fim de separá-lo do soro. Com auxílio de uma peneira, o soro foi separado e armazenado em garrafas a -18 °C, até o momento do seu uso para preparo das bebidas lácteas.

4.4.2.2 Fabricação de bebidas lácteas

A base láctea foi preparada usando açúcar, leite em pó desnatado e soro do leite nas proporções 8%, 8% e 84%, respectivamente. O soro de queijo passou por tratamento térmico a 85 °C durante 5 minutos para inativação das enzimas coagulantes, evitando assim a coagulação da base láctea. Logo após, acrescentou-se os demais ingredientes, agitando-os até completa dissolução. Esta mistura recebeu tratamento térmico a 85 °C por 15 min, sendo imediatamente resfriada a 43 ± 1 °C para a adição da cultura *starter Streptococcus thermophilus* TA40 na proporção de 0,004 g/100 g e da cultura nativa *Lactobacillus mucosae* CNPC007 – previamente ativada conforme mencionado no item 4.4.1.1, referente aos Ensaios piloto – na proporção 4 criotubos/L de base láctea. A base láctea fermentou até atingir pH igual a 4,5 e foi refrigerada a 4 ± 1 °C. A polpa da fruta (jambolão) foi então adicionada na proporção de 15 g/100 g de produto final.

A bebida finalizada foi envasada em garrafas plásticas de 200 mL e armazenada a 4 ± 1 °C durante 21 dias. Todo o processo foi realizado em três lotes (triplicatas independentes).

4.4.2.3 *Fabricação de bebidas lácteas isentas de lactose*

A base láctea isenta de lactose foi preparada conforme descrito no item 4.4.2.2, e, em seguida, recebeu o tratamento enzimático da β -galactosidas e na proporção de 0,05 mL/L por 24 horas sob refrigeração a 4 ± 1 °C, conforme as instruções do fabricante. Esse processo conferiu a isenção total da lactose na base láctea conforme a legislação vigente (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2017).

A análise por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) foi realizada pela Embrapa Agroindústria de Alimentos (Rio de Janeiro, RJ) e o teor foi inferior ao limite de detecção do método (100 mg/100 g).

Decorrido o tempo de 24 horas, a bebida foi aquecida a 43 ± 1 °C para seguir com a fermentação utilizando a mesma técnica citada. Todo o processo foi realizado em três lotes (triplicatas independentes).

4.5 **Caracterização bromatológica das formulações**

As análises de teor de sólidos, cinzas, lipídios (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008) e proteínas (OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS OF AOAC INTERNATIONAL, 2003) foram realizadas nos produtos congelados no dia seguinte à fabricação, em triplicata. O teor de carboidratos totais das amostras foi obtido por diferença (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS, 2003).

4.6 **Avaliação das características físico-químicas e da viabilidade dos microrganismos probiótico e *starter* das formulações durante a fermentação e ao longo do armazenamento**

As seguintes análises foram realizadas nas bebidas durante o período da fermentação, no dia seguinte à fabricação e após 7, 14 e 21 dias:

- a) pH e acidez titulável - métodos 017/IV e 426/IV (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008);
- b) *Lactobacillus* sp., de acordo com Oliveira et al. (2001);
- c) *S. thermophilus*, de acordo com o método descrito por Richter e Vedamuthu (2001).

Amostras dos três lotes de cada base láctea e vegetal antes e após a fermentação e das bebidas resultantes (no dia seguinte à fabricação e após 7, 14 e 21 dias de armazenamento refrigerado) foram congeladas a -18°C para a obtenção dos extratos para a quantificação de fenólicos totais e realização do ensaio com DPPH.

Um lote adicional de cada tratamento foi produzido especificamente para a análise sensorial e mantido sob refrigeração por 21 dias.

4.7 Pesquisa de microrganismo indicadores de contaminação

No dia seguinte à fabricação dos produtos destinados à análise sensorial foram realizadas as análises para contagem de coliformes totais e de coliformes termotolerantes em meio de cultura Ágar Vermelho Violeta Bile Lactose (VRBA) seguindo os padrões estabelecidos pelo Ministério da Agricultura (BRASIL, 2003) e a pesquisa de *Salmonella*, utilizando o meio RajHans (HIMEDIA, 2011).

4.8 Quantificação dos compostos fenólicos totais e avaliação da atividade antioxidante das formulações

Os procedimentos de preparação dos extratos, apresentados nos próximos parágrafos, foram realizados segundo recomendações de Santos et al. (2017) com as adaptações também mencionadas a seguir.

Como previamente informado, foram analisadas as amostras congeladas a -18°C de três lotes das três formulações antes e após a fermentação (T0 e Tf, respectivamente) e das respectivas bebidas fermentadas após 1, 7, 14 e 21 dias de armazenamento.

Para cada amostra foram recolhidas 5 alíquotas em criotubos de 2mL, contendo aproximadamente 0,2500 g da bebida pesados em balança analítica e 1

mL de metanol acidificado – na proporção de 100 µL de ácido clorídrico P.A. para cada 100 mL de metanol – totalizando \pm 1,2500 g por criotubo. Em seguida, as amostras foram homogeneizadas em agitador de tubos (vórtex), sendo logo após recobertas com papel alumínio para evitar a incidência de luz e acondicionadas sob refrigeração a 4 °C por no mínimo 12 horas.

Após esse tempo de armazenamento, as amostras foram agitadas no vórtex e centrifugadas em centrífuga refrigerada Eppendorf (5810R, Eppendorf), na rotação de 13500 \times g, por 5 minutos na temperatura de 4 °C. Posteriormente, transferiu-se os sobrenadantes dos 5 criotubos de cada bebida para 1 balão volumétrico de 10 mL e os precipitados foram submetidos a duas lavagens. Na primeira lavagem, adicionou-se em cada criotubo 250 µL da solução de metanol acidificado, agitou-se no vortex e centrifugou-se na mesma rotação, duração e temperatura inicial. Novamente o sobrenadante foi transferido para o mesmo balão volumétrico. A segunda lavagem prosseguiu da mesma maneira; entretanto, o volume adicionado de solvente por criotubo foi de 170 µL. Logo depois, os balões foram aferidos com metanol acidificado.

De cada balão volumétrico, após aferição e homogeneização, foi retirado 1,5 mL para um novo criotubo e sujeito a uma nova centrifugação diferindo das demais apenas no tempo, sendo este de 1 minuto.

4.8.1 Determinação de compostos fenólicos totais

A análise de compostos fenólicos totais foi realizada no escuro e em temperatura ambiente, utilizando o extrato obtido nas centrifugações, seguindo a metodologia de Santos et al. (2017) com adaptações. Em tubos cônicos de centrífuga de 15 mL foram adicionados em sequência 60 µL da amostra, 2.340 µL de água destilada e 150 µL do reagente Folin – Ciocalteu (Sigma-Aldrich). Em seguida, agitou-se até a completa homogeneização e estes ficaram em repouso durante 8 minutos.

Após este tempo, adicionou-se 450 µL de uma solução aquosa de carbonato de sódio (Na_2CO_3) a 30%. Os tubos foram novamente agitados e aguardou-se 30 minutos. Passado o último tempo de repouso, a absorbância foi medida em espectrofotômetro (Spectrum Meter SP-2000UV) no comprimento de onda de 750 nm, sendo este anteriormente zerado com metanol acidificado.

A prova controle utilizada nesta análise foi preparada da mesma maneira acima descrita, porém, utilizando 60 µL de metanol acidificado (na proporção de 100 mL de metanol para 94 µL de ácido clorídrico apenas para o controle) no lugar da amostra.

4.8.2 Determinação da atividade antioxidante total pela captura do radical DPPH

A atividade antioxidante total pela captura do radical livre DPPH foi realizada a partir de adaptações dos procedimentos de Rufino et al. (2007). A princípio, preparou-se 25 mL da solução mãe de DPPH pesando-se em balança analítica 0,0020 g deste e diluindo-o em álcool etílico P.A. Para cada amostra foram utilizados 3 tubos cônicos de centrífuga, realizando-se 3 diluições diferentes. Foram pipetados 2,95 mL, 2,90 mL e 2,80 mL da solução de DPPH nos tubos e em seguida adicionados 0,05 mL, 0,10 mL e 0,20 mL da amostra, respectivamente. A prova controle foi preparada da mesma forma, sendo que ao invés da amostra foi adicionado etanol P.A. na mesma quantidade.

Depois das amostras serem adicionadas aos tubos, leu-se imediatamente os valores da absorbância de cada solução em um espectrofotômetro (Spectrum Meter SP-2000UV) zerado com etanol P.A., em comprimento de onda em 517 nm. A leitura foi efetuada após 0, 30 e 60 minutos da adição da amostra. Com base nos resultados, calculou-se a porcentagem de sequestro de radicais DPPH e o EC₅₀ para cada amostra. A porcentagem de sequestro de radicais DPPH foi calculada de acordo com a equação (1):

$$\% \text{ de sequestro de DPPH} = \frac{(ABS_{C60\text{min}} - ABS_{A60\text{min}})}{ABS_{C60\text{min}}} \times 100$$

Onde

ABS_{C60 min}: absorbância do controle no tempo de 60 min;

ABS_{A60 min}: absorbância da amostra no tempo de 60 min.

4.8.3 Obtenção do EC₅₀

O EC_{50} refere-se à concentração necessária para inibir 50% da concentração inicial do radical DPPH.

O EC_{50} foi obtido a partir de cálculos de retorno do ensaio de calibração com diferentes concentrações de DPPH e das equações obtidas a partir da massa de DPPH análogo à metade da absorvância do controle, dos gráficos de dispersão das absorvâncias das diferentes amostras nas diferentes concentrações de extrato, segundo relatado no protocolo de Rufino et al. (2007), apresentando o resultado final em g de amostra/g de DPPH captado.

4.9 Análise sensorial das formulações

A análise sensorial das bebidas fermentadas foi realizada em um único lote, após 7, 14 e 21 dias de armazenamento, através de teste de aceitabilidade, utilizando a escala hedônica híbrida de 11 pontos (0 = desgostei muitíssimo, 5 = não gostei nem desgostei, 10 = gostei muitíssimo) (LAWLESS; HEYMANN, 1999; VILLANUEVA; DA SILVA, 2009), com foco nas características sabor, dulçor, aparência, consistência, cor e aceitação global. O termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) e o modelo da ficha de avaliação sensorial usados nas análises encontram-se nos Apêndices C e D, respectivamente. Participaram 43 voluntários adultos saudáveis (provadores não treinados), de ambos os sexos, em cada dia de análise, totalizando 129 voluntários, adultos, de ambos os sexos, com idade entre 18 e 65 anos. Não participaram do estudo pessoas com histórico de alergia, intolerância a alimentos ou doença crônica (como diabetes, hipotireoidismo, hipertireoidismo, hipertensão ou outras), que estivessem fazendo tratamento médico, gripadas, resfriadas ou indispostas e que tivessem entrado em contato, há menos de 1 hora antes das sessões, com materiais, alimentos ou cosméticos de cheiro forte. As amostras de aproximadamente 20 mL das três diferentes formulações (láctea, láctea zero lactose e vegetal) foram codificadas com 3 dígitos aleatórios e foram servidas, monadicamente, em temperatura de refrigeração (aproximadamente 4 °C). Com a finalidade de se obter maiores informações sobre as características sensoriais das bebidas fermentadas, os provadores foram instruídos a relatar os atributos sensoriais que mais apreciaram e que menos gostaram nas amostras, atributos estes relacionados ao sabor, textura, aparência e aroma. A análise foi realizada após aprovação do projeto pelo Comitê de Ética da Universidade Estadual da

Paraíba. O certificado de apresentação para apreciação se encontra em anexos (Anexo 1).

4.10 Análise estatística

O delineamento experimental para o processamento das diferentes formulações de bebidas no laboratório foi inteiramente casualizado, utilizando-se um esquema fatorial 3×4 , constituído de 3 tipos de combinações em termos de ingredientes (base láctea com lactose, base láctea sem lactose e base vegetal) elaborados para a produção das bebidas (BCL, BIL e BVC, respectivamente, todos na presença de *L. mucose* e polpa de jambolão) e de 4 tempos (1, 7, 14 e 21 dias após o processamento), com 3 repetições.

Os dados foram apresentados como média \pm desvio padrão. Para a estatística, foi usado o programa Statistica 8.0, onde os resultados foram primeiramente analisados quanto à normalidade usando o teste de Shapiro-Wilk e quanto à homogeneidade de variâncias usando o teste de Cochran, Hartley e Bartlett. Em casos onde a normalidade e/ou homogeneidade de variâncias foram confirmadas, os dados foram analisados através de análise de variância, considerando $p < 0,05$, utilizando o teste de Tukey para a avaliação dos contrastes. Nos casos em que não foram confirmadas a normalidade e/ou homogeneidade de variâncias, os dados foram analisados através de testes não paramétricos equivalentes também considerando $p < 0,05$, como Kruskal-Wallis, Mann-Whitney U, Friedman e Wilcoxon.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Caracterização bromatológica das formulações

A caracterização bromatológica se deu mediante os resultados obtidos para os parâmetros umidade, sólidos totais, cinzas, lipídeos, proteínas e carboidratos, conforme consta na Tabela 2.

Tabela 2 – Composição centesimal (média \pm desvio padrão) das formulações BCL, BIL e BVC, obtida das amostras congeladas no primeiro dia de armazenamento.

Bebidas	Teor de umidade (%)	Teor de cinzas (%)	Teor de lipídeos (%)	Teor de proteínas (%)	Teor de carb.* (%)
Base úmida					
BCL	79,33 \pm 0,365 ^A	1,11 \pm 0,138 ^B	0,25 \pm 0,066 ^A	2,24 \pm 0,218 ^C	17,07 \pm 0,423 ^B
BIL	79,56 \pm 0,542 ^A	1,06 \pm 0,059 ^B	0,31 \pm 0,080 ^A	2,01 \pm 0,217 ^B	17,06 \pm 0,446 ^B
BVC	79,71 \pm 0,631 ^A	0,26 \pm 0,043 ^A	3,44 \pm 0,809 ^B	0,99 \pm 0,214 ^A	15,59 \pm 0,694 ^A
Base seca					
BCL	20,67 \pm 0,365 ^A	5,35 \pm 0,666 ^B	1,23 \pm 0,319 ^A	10,82 \pm 1,05 ^C	61,93 \pm 1,54 ^B
BIL	20,44 \pm 0,542 ^A	5,18 \pm 0,289 ^B	1,52 \pm 0,391 ^A	9,83 \pm 1,06 ^B	63,02 \pm 1,736 ^B
BVC	20,29 \pm 0,631 ^A	1,31 \pm 0,213 ^A	15,99 \pm 4,52 ^B	4,92 \pm 1,06 ^A	57,50 \pm 5,26 ^A

Fonte: Dados da pesquisa.

BCL – bebida láctea fermentada com lactose; BIL – bebida láctea fermentada isenta de lactose; BVC – bebida vegetal fermentada.

Letras maiúsculas diferentes (A, B ou C) na mesma coluna representam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as formulações.

*Teor de carboidratos

Entre as formulações lácteas com lactose (BCL) e isenta (BIL) houve diferença significativa apenas para o teor de proteínas, tanto na base úmida como na base seca ($p < 0,05$), enquanto que a bebida vegetal (BVC) diferiu os parâmetros cinzas, lipídeos, proteínas e carboidratos quando comparados aos dois tratamentos, resultado este esperado por se tratar de produtos distintos quanto à composição.

Teores de cinzas, proteínas e carboidratos da formulação BVC apresentaram valores significativamente menores ($p < 0,05$) quando comparados aos teores das duas formulações lácteas, diferente do teor de lipídeos que foi

significativamente superior ($3,44 \pm 0,809\%$), uma vez que a formulação vegetal tem como ingrediente básico o leite de coco (*Cocos nucifera*) rico em gordura (Tabela 3). Segundo Sethi, Tyagi e Anurag (2016), os “leites vegetais” não são nutricionalmente comparáveis ou equivalentes ao leite bovino, pois diferem no teor de proteína e outros nutrientes, porém podem oferecer alternativas aos consumidores devido aos componentes funcionais com propriedades de saúde.

Segundo a Tabela Brasileira de Composição dos Alimentos (TACO) a composição centesimal do leite de coco apresenta: 78% umidade; 1g proteína; 18,4g de lipídeos; 2,2g carboidratos; 0,7g fibra alimentar e 0,4g cinzas por 100g da parte comestível (UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS, 2011).

Essas diferenças estatísticas observadas para os parâmetros centesimais podem ser explicadas pela variação de composição entre a base vegetal e as duas bases lácteas, de maneira que à medida que a quantidade de um nutriente aumenta, como a concentração de lipídeos no leite de coco e na bebida vegetal, os outros diminuem.

Tabela 3 – Composição centesimal (média \pm desvio padrão) do leite de coco usado no preparo da bebida vegetal.

Base	Parâmetros				
	Teor de umidade (%)	Teor de cinzas (%)	Teor de lipídeos (%)	Teor de proteínas (%)	Teor de carb.* (%)
Úmida	$91,01 \pm 1,53$	$0,136 \pm 0,024$	$5,46 \pm 0,494$	$1,04 \pm 0,01$	2,35
Seca	$8,99 \pm 1,54$	$1,51 \pm 0,095$	$60,81 \pm 5,49$	$11,58 \pm 0,102$	26,10

Fonte: Dados da pesquisa.

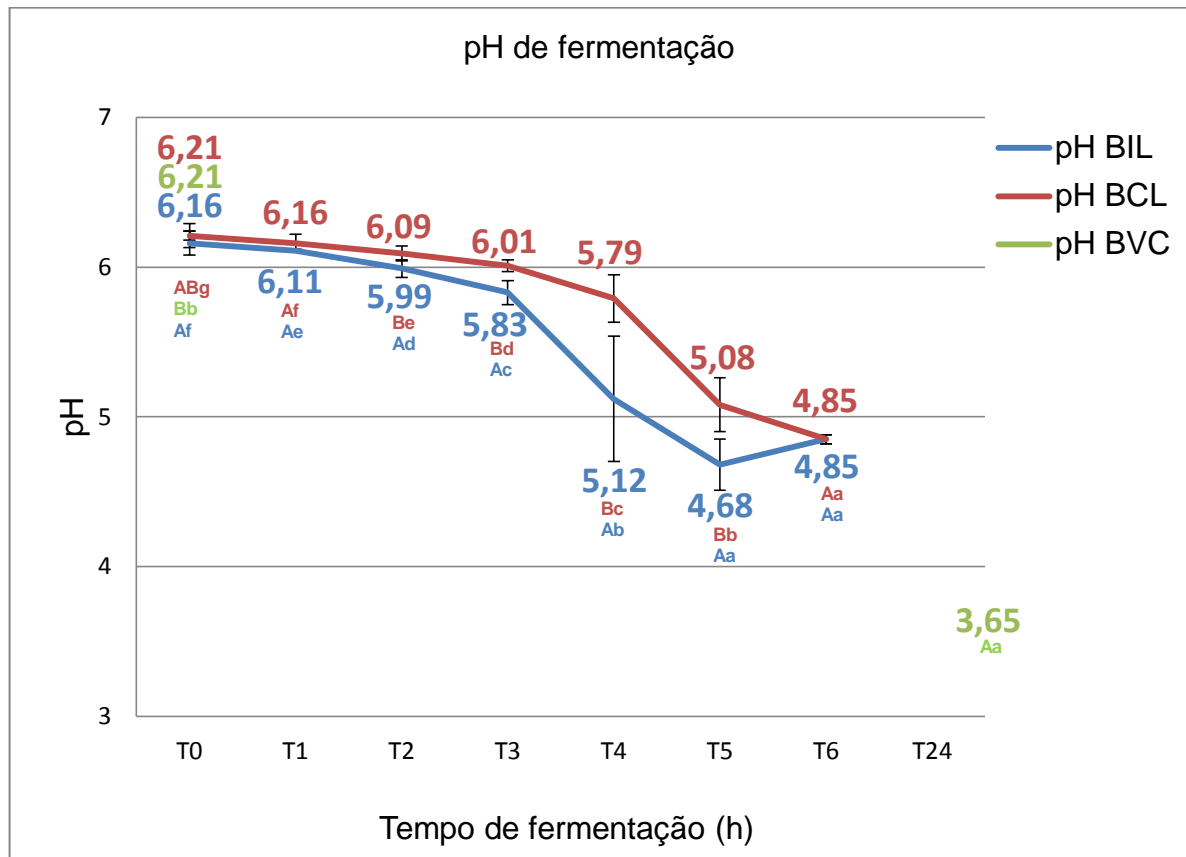
*Teor de carboidratos

5.2 Avaliação das características físico-químicas e da viabilidade dos microrganismos probiótico e *starter* das formulações durante a fermentação e ao longo do armazenamento

A avaliação das características físico-químicas das formulações encontram-se em termos de pH e acidez titulável obtidos durante a fermentação.

Os valores de pH estão apresentados na Figura 1.

Figura 1 – Valores de pH obtidos para os tratamentos BCL, BIL e BVC durante a fermentação.



Fonte: dados da pesquisa.

pH BCL – pH de fermentação bebida láctea fermentada com lactose.

pH BIL – pH de fermentação bebida láctea fermentada isenta de lactose.

pH BVC – pH de fermentação bebida vegetal fermentada.

Letras maiúsculas diferentes representam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as formulações.

Letras minúsculas diferentes representam diferenças significativas ($p < 0,05$) dentro de cada formulação.

Nas três formulações observou-se que o pH diminuiu com o tempo de fermentação e apresentou diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os tratamentos BIL e BVC no tempo T0. A partir do T2 o tratamento BCL apresentou valores significativamente maiores ($p < 0,05$) que os encontrados para BIL.

Durante as 6 horas iniciais da fermentação da base vegetal os valores de pH praticamente não mudaram e, por esse motivo, foi escolhido o tempo final da fermentação (TF) de 24 horas. Enquanto que o tempo necessário para as bases lácteas atingirem $\text{pH} \pm 4,5$ foi de 6 horas. Um estudo de otimização da fermentação de bebida à base de leite de coco por *Lactobacillus reuteri* DMS 17938 e LR 92 observou o comportamento do pH por 48 horas e o produto fermentado com a linhagem DMS 17938 se estabilizou após 24 horas (MAURO,

2018). No presente estudo, os valores atingidos foram semelhantes ao encontrado por aquela autora para a linhagem DMS 17938, que apresentou pH inicial 6,45 e final 3,32. Porém o tempo estabelecido para término da fermentação no estudo de otimização daquela autora foi de 15 horas, pois o *L. reuteri* havia atingido a fase estacionária do crescimento bacteriano (MAURO, 2018).

Entre os tempos de fermentação de cada formulação houve diferenças estatísticas significativas conforme Figura 1. A bebida BCL diferiu significativamente ($p < 0,05$) em todos os tempos. A bebida BIL variou significativamente ($p < 0,05$) do T0 ao T5, de forma que tempo de 6 horas não foi atingido por todos os lotes, talvez esse comportamento tenha interferido no resultado, inclusive no leve aumento do pH no tempo final. A bebida BVC variou significativamente no T0 e T24.

Os dados referentes à acidez estão apresentados na Figura 2. Houve um aumento do ácido láctico com o tempo de fermentação nas três formulações. A acidez em T0 foi significativamente menor ($p < 0,05$) para a bebida vegetal. Entre os tratamentos lácteos a base BIL apresentou acidez significativamente maior que BCL a partir do T2 ($p < 0,05$).

No metabolismo das bactérias do ácido láctico a lactose (um dissacarídeo) é um dos principais açúcares do leite utilizado e sua absorção é facilitada pela presença de uma permease nestas bactérias, via sistema fosfotransferase fosfolpiruvato-dependente (PTS) (SILVA, 2011).

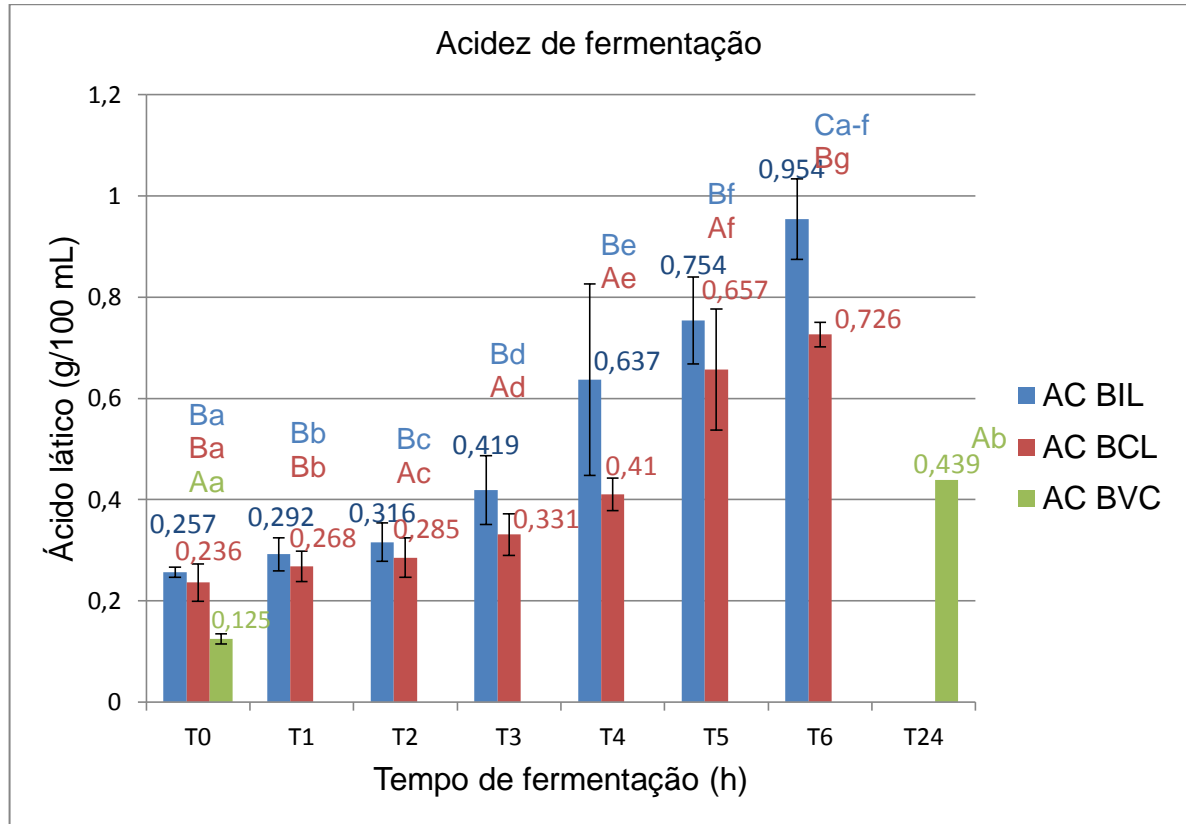
A molécula de lactose é clivada produzindo galactose (ou galactose-6-fosfato) e glicose (pronta a iniciar o ciclo do metabolismo da glicose). Por sua vez, a galactose sofre uma fosforilação formando diacetilhidroxiacetona, que acaba por entrar no metabolismo da glicose, via homo ou heterofermentativa (SILVA, 2011). Na base BIL a lactose é previamente hidrolizada pela β -galactosidase, disponibilizando mais rapidamente moléculas de glicose no início da fermentação, o que favorece o metabolismo do ácido láctico e conseqüente aumento de acidez ao final do processo.

O comportamento da acidez na BCL diferiu significativamente ($p < 0,05$) em todos os tempos, no tratamento BIL variou significativamente ($p < 0,05$) do T0 ao T5 e na BVC entre o T0 e T24.

O pH e a acidez da base vegetal chegou a 3,65 e 0,439 g de ácido láctico/100g, respectivamente, no T24. Valor de pH próximo ao encontrado por Sharma e Mishra (2013) que utilizaram como matéria-prima para a produção de

bebidas probióticas não-lácteas suco de melão amargo (*Momordica charantia*), suco de caldo de abóbora-d'água (*Lagenaria siceraria*) e cenoura (*Daucus carota*).

Figura 2 – Valores de acidez obtidos para os tratamentos BCL, BIL e BVC durante a fermentação.



Fonte: dados da pesquisa.

AC BCL – Acidez de fermentação bebida láctea fermentada com lactose.

AC BIL – Acidez de fermentação bebida láctea fermentada isenta de lactose.

AC BVC – Acidez de fermentação bebida vegetal fermentada.

Letras maiúsculas diferentes representam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as formulações.

Letras minúsculas diferentes representam diferenças significativas ($p < 0,05$) dentro de cada formulação.

Nas bases lácteas, em T6, o pH atingiu 4,85 para as duas formulações e a acidez esteve entre 0,7 e 0,9 g de ácido láctico/100g, assim como os valores apresentados por Busanello (2014).

A avaliação de vida de prateleira dos produtos conta com o acompanhamento dos valores de pH e acidez titulável ao longo do armazenamento de 21 dias conforme a Tabela 4, uma vez que valores elevados de acidez ou valores de pH muito baixos podem conferir alterações sensoriais que prejudiquem sua aceitação (FERREIRA, 2015).

Tabela 4 – Valores de pH e acidez titulável (média \pm desvio padrão) obtidos para os tratamentos BCL, BIL e BVC armazenadas sob refrigeração (4 ± 1 °C) por até 21 dias.

Tratamentos	Período de armazenamento (dias)			
	1	7	14	21
	pH			
BCL	5,08 \pm 0,137 ^{Bc}	4,74 \pm 0,166 ^{Bb}	4,50 \pm 0,082 ^{Ba}	4,45 \pm 0,056 ^{Ba}
BIL	5,02 \pm 0,173 ^{Bd}	4,67 \pm 0,071 ^{Bc}	4,47 \pm 0,044 ^{Bb}	4,42 \pm 0,041 ^{Ba}
BVC	3,58 \pm 0,029 ^{Aa}	3,67 \pm 0,045 ^{Ab}	3,67 \pm 0,018 ^{Ab}	3,58 \pm 0,015 ^{Aa}
	Ácido láctico (g/100 mL)			
BCL	0,62 \pm 0,045 ^{Ba}	0,66 \pm 0,090 ^{Ba}	0,74 \pm 0,024 ^{Bb}	0,87 \pm 0,025 ^{Bc}
BIL	0,70 \pm 0,053 ^{Ca}	0,73 \pm 0,027 ^{Bab}	0,74 \pm 0,035 ^{Bac}	0,84 \pm 0,035 ^{Bd}
BVC	0,41 \pm 0,012 ^{Ab}	0,43 \pm 0,016 ^{Ac}	0,40 \pm 0,023 ^{Aab}	0,39 \pm 0,020 ^{Aa}

Fontes: Dados da pesquisa.

BCL – bebida láctea fermentada com lactose; BIL – bebida láctea fermentada isenta de lactose; BVC – bebida vegetal fermentada.

Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna representam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as formulações no mesmo tempo.

Letras minúsculas diferentes na mesma linha representam diferenças significativas ($p < 0,05$) na mesma formulação em diferentes tempos.

Por outro lado, o pH ideal além de agregar na aceitação sensorial, também confere o meio ideal para sobrevivência dos probióticos e combate microrganismos patogênicos, como salmonelas, clostrídios e deteriorantes (LIU e al., 2006).

A bebida BVC apresentou pH significativamente menor ($p < 0,05$) do primeiro ao último dia de armazenamento quando comparados com as bebidas BCL e BIL. A bebida vegetal pode ter oferecido um ambiente nutricional favorável à multiplicação dos microrganismos e, conseqüentemente, a diminuição do pH durante o prazo analisado na pesquisa.

O pH do tratamento BCL apresentou diferença significativa ($p < 0,05$) entre os dias 1 e 7. O pH da bebida BIL diminuiu significativamente ($p < 0,05$) ao longo do armazenamento, enquanto a bebida BVC se manteve estável nos dias 7 e 14 e voltou ao valor inicial no último dia de armazenamento.

A acidez diferiu significativamente ($p < 0,05$) entre as três bebidas no primeiro dia de armazenamento e para os dias 7, 14 e 21 foi significativamente menor apenas para a bebida BVC.

A viabilidade de *L. mucosae* nas amostras está apresentada na Tabela 5.

Tabela 5 – Populações de *Lactobacillus mucosae* CNPC007 (log UFC/g) (média ± desvio padrão) obtidas para os tratamentos BIL, BCL e BVC.

Tempos de amostragem	Tratamentos		
	BCL	BIL	BVC
T0	6,63 ± 0,165 ^{Aa}	6,81 ± 0,113 ^{Bcb}	7,03 ± 0,091 ^{Ca}
TF	7,13 ± 0,243 ^{Ac}	7,00 ± 0,142 ^{Ae}	8,15 ± 0,096 ^{Bc}
TFJ	7,21 ± 0,275 ^{Ac}	7,02 ± 0,124 ^{Aef}	8,16 ± 0,105 ^{Bc}
1	7,31 ± 0,223 ^{Bd}	6,91 ± 0,108 ^{Adb}	8,14 ± 0,090 ^{Ccb}
7	7,06 ± 0,190 ^{Ac}	6,81 ± 0,399 ^{Ac}	8,11 ± 0,163 ^{Bc}
14	7,07 ± 0,120 ^{Bca}	6,62 ± 0,450 ^{Ab}	8,24 ± 0,112 ^{Cd}
21	6,99 ± 0,152 ^{Ab}	6,55 ± 0,679 ^{Aa}	8,07 ± 0,108 ^{Bb}

Fontes: Dados da pesquisa.

BCL – bebida láctea fermentada com lactose; BIL – bebida láctea fermentada isenta de lactose; BVC – bebida vegetal fermentada T0 – Tempo inicial da fermentação (0h); TF – Tempo final da fermentação (24h); TFJ – Tempo final da fermentação + adição da polpa de jambolão (24h); D1, D7, D14 e D21, dias de armazenamento.

Letras maiúsculas diferentes na mesma linha representam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as formulações no mesmo tempo.

Letras minúsculas diferentes na mesma coluna representam diferenças significativas ($p < 0,05$) na mesma formulação em diferentes tempos

As populações de *L. mucosae* (Tabela 5) diferiram significativamente ($p < 0,05$) entre as três formulações nos tempos T0, D1 e D14, enquanto que nos demais as bebidas lácteas não diferiram significativamente entre si ($p > 0,05$), mas ambas diferiram da bebida vegetal ($p < 0,05$).

A população do probiótico na bebida de leite de coco ao longo da fermentação e armazenamento apresentou faixa entre 7,03 e 8,16 log UFC/mL e foi significativamente superior ($p < 0,05$) ao verificado para o mesmo microrganismo nas bebidas lácteas BIL e BCL em todos os períodos de amostragem, sugerindo que a matriz vegetal e o tempo de fermentação utilizados melhorou a viabilidade do *Lactobacillus*.

De acordo com a lista de linhagens probióticas para uso em suplementos publicada pela ANVISA, as linhagens autorizadas foram *Bacillus coagulans* GBI-30, *Bifidobacterium lactis* HN019 e *Lactobacillus reuteri* DSM 17938, sendo que a quantidade mínima viável destas cepas a serem consumidas para contribuição com a saúde gastrointestinal deve ser de 10^8 UFC/dia, com exceção da cepa de

bifidobactéria que deve ser de 10^9 UFC/dia (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2017).

Ouwehand (2017) concentra em seu artigo de revisão estudos de meta-análises que investigaram a relação dose-resposta de probióticos em intervenções humanas. Pesquisas sobre o efeito dos probióticos na diarreia associada a antibióticos (DAA) e recuperação fecal parecem sugerir uma relação dose-resposta. Tanto as metanálises como os estudos dedicados de dose-resposta relatam consistentemente uma menor incidência de DAA, com uma dose maior de probióticos (superior a 10^{10} UFC/dia). Isto não significa que se possa extrapolar para além dos intervalos testados, mas recomenda que outros ensaios investiguem se é possível um efeito maior com doses mais elevadas.

Quanto à recuperação fecal, estudos que testaram doses variando de 10^7 a 10^{11} UFC/dia relataram um efeito dose-dependente (GIANOTTI et al., 2010; LARSEN et al., 2006; SAXELIN; PESSI; SALMINEN, 1995). O estudo realizado por Gianotti et al. (2010) indicou que a dose de 10^9 UFC/dia, a mais alta nos ensaios desses autores, estava associada ao aumento de lactobacilos fecais. Parece, portanto, provável que a recuperação fecal de probióticos seja dose-dependente.

Um dos trabalhos citados Ouwehand (2017) analisa a eficácia dose-resposta de uma fórmula probiótica de *Lactobacillus acidophilus* CL1285 e *Lactobacillus casei* LBC80R para DAA e profilaxia para diarreia associada a *Clostridium difficile* (DACD) em 255 pacientes adultos internados. O estudo foi do tipo multicêntrico, randomizado, duplo-cego e controlado por placebo, onde os participantes foram randomizados em um dos três grupos: duas cápsulas probióticas por dia (Pro-2, n = 86); uma cápsula probiótica e uma cápsula de placebo por dia (Pro-1, n = 85) ou duas cápsulas de placebo por dia (n = 84). Cada cápsula probiótica continha 50 bilhões de UFC de organismos vivos. A profilaxia probiótica começou dentro de 36 h da administração inicial de antibióticos, continuado por 5 dias após a última dose de antibiótico, e os pacientes foram seguidos por mais 21 dias. A fórmula probiótica usada neste estudo foi bem tolerada e eficaz para reduzir o risco de DAA e, em particular, DACD em pacientes hospitalizados utilizando antibióticos. Um efeito de variação da dose foi mostrado com 100 bilhões de UFC/dia, produzindo resultados superiores e conferindo menos eventos gastrointestinais em comparação com 50 bilhões de UFC/dia (GAO et al., 2010).

Larsen et al. (2006) investigaram os efeitos dose-resposta da suplementação com *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* (BB-12) e *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* (CRL-431) sobre lipídios no sangue, recuperação de fezes e hábitos intestinais em 75 adultos jovens saudáveis. Os voluntários foram distribuídos aleatoriamente em cinco grupos que receberam placebo ou uma mistura dos dois probióticos na concentração de 10^8 , 10^9 , 10^{10} ou 10^{11} UFC/dia durante 3 semanas de intervenção. O diário relatando hábitos intestinais e bem-estar (distensão abdominal, flatulência e cefaleia) foi mantido por 7 semanas e lipídios sanguíneos, recuperação fecal de BB-12 e CRL-431, bem como microflora fecal foi testada antes, imediatamente e 2 semanas após intervenção. A recuperação fecal de BB-12 aumentou significativamente ($p < 0,001$) com o aumento da dose. No grupo que recebeu 10^{11} UFC/dia, o microrganismo BB-12 foi recuperado de 13 de 15 voluntários e houve um aumento linear significativo na consistência fecal (fezes mais soltas) com aumento da dose de probiótico ($p = 0,018$). Altas doses de probióticos foram bem toleradas. Conclui-se que houve uma recuperação dose-dependente de BB-12 nas fezes.

Diante dos trabalhos citados, pode-se notar que as dosagens de probióticos testadas a partir de 10^7 UFC/dia apresentaram resultados para recuperação fecal e considerando também a quantidade mínima viável exigida para as linhagens aprovadas pela ANVISA (10^8 e 10^9 UFC/dia), verifica-se que a viabilidade atingida para *Lactobacillus mucosae* na bebida vegetal do presente estudo até o último período de amostragem analisado se encontraria dentro das faixas consideradas como de importância fisiológica ao organismo humano. A partir disso, se faz necessário realizar pesquisas *in vivo* utilizando cepas probióticas nativas veiculadas em bebidas fermentadas para testar dosagens que confirmem benefícios à saúde dos consumidores.

As populações de *S. thermophilus* estão apresentadas na Tabela 6.

A viabilidade da cultura *starter* apresentou diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as três formulações apenas no TF (tempo final da fermentação). Nos demais tempos ambas as bebidas lácteas apresentaram viabilidade desse microrganismo significativamente superior ($p < 0,05$) à da bebida BVC, com cerca de 9 log UFC/mL entre os tempos TF e D21.

Tabela 6 – Populações de *S. thermophilus* TA40 (log UFC/g) (média ± desvio padrão) obtidas para os tratamentos BIL, BCL e BVC, obtidas durante a fermentação e sob refrigeração (4 ± 1 °C) por até 21 dias.

Tempos de amostragem	Tratamentos		
	BCL	BIL	BVC
T0	6,22 ± 0,162 ^{Ba}	6,37 ± 0,234 ^{Ba}	5,42 ± 0,133 ^{Aabc}
TF	8,96 ± 0,429 ^{Bb}	9,30 ± 0,067 ^{Cc}	5,19 ± 0,751 ^{Ab}
TFJ	8,91 ± 0,474 ^{Bb}	9,16 ± 0,128 ^{Bbc}	5,20 ± 0,655 ^{Ab}
1	8,94 ± 0,431 ^{Bbc}	9,12 ± 0,103 ^{Bbc}	5,30 ± 0,729 ^{Acb}
7	9,16 ± 0,136 ^{Bd}	9,06 ± 0,116 ^{Bb}	5,37 ± 0,697 ^{Aca}
14	9,16 ± 0,270 ^{Bbc}	9,03 ± 0,136 ^{Bb}	5,12 ± 0,919 ^{Aabc}
21	9,10 ± 0,156 ^{Bbc}	8,99 ± 0,106 ^{Bb}	5,04 ± 0,985 ^{Aa}

Fontes: Dados da pesquisa.

BCL – bebida láctea fermentada com lactose; BIL – bebida láctea fermentada isenta de lactose; BVC – bebida vegetal fermentada; T0 – Tempo inicial da fermentação (0h); TF – Tempo final da fermentação (24h); TFJ – Tempo final da fermentação + adição da polpa de jambolão (24h); D1, D7, D14 e D21, dias de armazenamento.

Letras maiúsculas diferentes na mesma linha representam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as formulações no mesmo tempo.

Letras minúsculas diferentes na mesma coluna representam diferenças significativas ($p < 0,05$) na mesma formulação em diferentes tempos.

O comportamento de *S. thermophilus* em produtos lácteos tem sido relatado da seguinte maneira:

O início da fermentação (acidez < 20 °D) favorece o desenvolvimento do *Streptococcus thermophilus*, estimulado por alguns aminoácidos livres (especialmente a valina), produzidos pelo *Lactobacillus bulgaricus*, provocando um aumento da acidez. Nessa fase, o *Streptococcus thermophilus* libera ácido fórmico, que é estimulante do desenvolvimento do *Lactobacillus bulgaricus*. Ao se atingir aproximadamente 46 °D, o meio torna-se pouco propício ao *Streptococcus thermophilus*, favorecendo o rápido desenvolvimento do *Lactobacillus bulgaricus*, que produz acetaldeído, o principal responsável pelo aroma característico do iogurte. (CHAGAS, 2012).

De acordo com a citação, pode-se sugerir que a baixa viabilidade do *S. thermophilus* na base vegetal advém da ausência de aminoácidos ou outros nutrientes comuns no leite necessário para a produção de ácido láctico ao final da fermentação. Porém, esse comportamento não interferiu no crescimento do *Lactobacillus mucosae*.

5.3 Pesquisa de microrganismos indicadores de contaminação

As três formulações probióticas destinadas à avaliação sensorial foram submetidas às análises de qualidade sanitária para coliformes totais a 35 °C, 45 °C e *Salmonella*. Todas apresentaram valores abaixo do aceitável pela legislação seguindo os parâmetros exigidos para bebidas lácteas e para leite de coco (BRASIL, 2001; 2005).

5.4 Quantificação dos compostos fenólicos totais e avaliação da atividade antioxidante das formulações

Os resultados das análises de compostos fenólicos totais e sequestro de radicais DPPH são apresentados na Tabela 7.

O teor de compostos fenólicos (Tabela 7) não diferiu estatisticamente ($p>0,05$) entre os três tratamentos considerando um mesmo período de amostragem. Mesmo não havendo diferenças significativas entre as bebidas, é importante ressaltar a qualidade dos compostos fenólicos presentes no coco, fruto usado no preparo da base vegetal.

Mahayothee et al. (2016) investigaram as atividades antioxidantes e identificou os compostos fenólicos existentes na água e no endosperma sólido do coco em três diferentes estágios de maturidade, isto é, 180, 190 e 225 dias após a polinização de duas áreas de plantio na Tailândia. O conteúdo fenólico total e os índices de atividade antioxidante aumentaram com a maturação do coco de 180 para 190 dias após a polinização e, em seguida, diminuíram ou permaneceram inalterados aos 225 dias após a polinização. As quantidades de compostos fenólicos encontrados na água foram menores que as do endosperma sólido. Os compostos fenólicos identificados foram os ácidos salicílico, *p*-hidróxido benzóico, siríngico, *m*-cumárico, *p*-cumárico, gálico, caféico e as catequinas. Estes compostos devem contribuir consideravelmente para as atividades antioxidantes dessas partes do fruto.

Ocho-Velasco, Cruz-González e Guerrero-Beltrán (2014) encontraram para o leite de coco preparado na concentração 2:1 (m de endosperma do coco: v de água destilada) um teor de compostos fenólicos de 12,8 mg de ácido gálico/100 mL, e mesmo sendo um leite de coco mais concentrado seu valor foi inferior ao

encontrado neste trabalho para as médias de valores da base vegetal de leite de coco nos tempos T0 e TF, as quais foram $22,19 \pm 9,79$ e $20,83 \pm 7,67$ de ácido gálico/100 g, respectivamente (Tabela 7).

Tabela 7 – Teor de fenólicos totais e Sequestro de radicais DPPH obtidos para as para as amostras BIL, BCL e BVC antes, após a fermentação e durante o armazenamento.

Tempos de amostragem	Tratamentos		
	BCL	BIL	BVC
Teor de fenólicos totais (mg Eq de ácido gálico/100 g de amostra)			
T0	$15,91 \pm 4,10^{Aa}$	$18,19 \pm 3,11^{Aa}$	$22,19 \pm 9,79^{Aa}$
TF	$16,79 \pm 1,85^{Aa}$	$15,96 \pm 2,28^{Aa}$	$20,83 \pm 7,67^{Aa}$
D1	$35,45 \pm 3,20^{Ab}$	$33,78 \pm 2,51^{Ab}$	$39,37 \pm 3,27^{Ab}$
D7	$39,60 \pm 3,96^{Ab}$	$34,98 \pm 4,43^{Abc}$	$41,45 \pm 5,71^{Abc}$
D14	$39,41 \pm 4,82^{Ab}$	$37,67 \pm 4,06^{Abc}$	$43,28 \pm 2,14^{Ac}$
D21	$39,97 \pm 11,29^{Ab}$	$41,74 \pm 2,90^{Ac}$	$41,06 \pm 1,10^{Ab}$
Sequestro de radicais DPPH (%)			
T0	$17,66 \pm 3,39^{Aa}$	$13,69 \pm 2,18^{Aa}$	$29,09 \pm 10,24^{Aa}$
TF	$13,56 \pm 5,31^{Aa}$	$15,06 \pm 4,06^{Aa}$	$34,88 \pm 2,00^{Aa}$
D1	$28,06 \pm 2,20^{Ab}$	$34,48 \pm 13,66^{Ab}$	$39,51 \pm 2,53^{Ab}$
D7	$32,02 \pm 4,68^{Ab}$	$35,32 \pm 14,22^{Ab}$	$38,57 \pm 2,45^{Ab}$
D14	$36,57 \pm 10,81^{Ab}$	$42,78 \pm 7,97^{Ab}$	$41,21 \pm 2,38^{Ab}$
D21	$38,58 \pm 7,48^{Ab}$	$38,40 \pm 14,93^{Ab}$	$38,42 \pm 6,02^{Ab}$

Fontes: Dados da pesquisa.

BCL – bebida láctea fermentada com lactose; BIL – bebida láctea fermentada isenta de lactose; BVC – bebida vegetal fermentada.

T0 – Tempo inicial da fermentação (0h); TF – Tempo final da fermentação (24h); D1, D7, D14 e D21, dias de armazenamento.

Letras maiúsculas diferentes na mesma linha representam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as formulações no mesmo tempo.

Letras minúsculas diferentes na mesma coluna representam diferenças significativas ($p < 0,05$) na mesma formulação em diferentes tempos.

As bases lácteas e vegetal nos tempos T0 e TF de todas as formulações obtiveram os menores valores de fenólicos, resultado esperado por não terem recebido a adição da polpa de jambolão. Com a presença da fruta, as bebidas dos três tratamentos apresentaram valores de fenólicos significativamente maiores

quando comparados às respectivas bases ($p < 0,05$). Os valores de fenólicos, ao longo do armazenamento (D1 a D21), da bebida BCL não diferiram estatisticamente ($p > 0,05$), enquanto que no tratamento BIL o teor de fenólicos do D21 ($41,74 \pm 2,90$ mg Eq de ácido gálico/100 g de amostra) foi significativamente maior ($p < 0,05$) que o D1 ($33,78 \pm 2,51$). Já a bebida BVC apresentou uma maior concentração no D14 ($41,21 \pm 2,38$), diferindo significativamente dos dias D1 e D21 ($p < 0,05$). É possível que, após adição da polpa da fruta, reações com outros componentes presentes na bebida continuem acontecendo ao longo do armazenamento, de modo a favorecer as variações no teor de fenólicos.

Mauro (2018) desenvolveu um produto fermentado por *Lactobacillus reuteri* LR 92 em leite de coco na proporção 1:3 (m/v) de polpa de coco maduro em água com e sem adição de polpa de morango. O produto de leite de coco apresentou no primeiro dia de armazenamento $4,09 \pm 0,10$ mg de equivalente de ácido gálico/100 mL e o produto com adição da polpa de morango apresentou nesse mesmo tempo $29,37 \pm 0,63$ mg de equivalente de ácido gálico/100 mL. No mesmo estudo, ao longo do armazenamento de 30 dias, o teor de compostos fenólicos não variou estatisticamente no produto contendo apenas o leite de coco, ao contrário do que continha polpa de morango que diminuiu após 15 dias. Esse fenômeno também foi observado por Oliveira et al. (2015) em iogurte com adição de morango.

Cavararo et al. (2018) comparam o kefir fermentado em leite, adicionado ou não de geleia de goiaba, e mostram que este doce de fruta agregou compostos bioativos ao produto lácteo estudado, assim como foi observado no presente trabalho com a adição da polpa do jambolão nas bases lácteas e vegetal fermentadas. Ainda segundo Cavararo et al. (2018), também é preciso considerar que as proteínas e polissacarídeos produzidos pelas bactérias lácticas do kefir somaram valor nutricional aos compostos bioativos oriundos da fruta, resultando em um produto alimentício capaz de contribuir para a saúde dos consumidores.

No presente estudo, o sequestro de radicais DPPH (Tabela 7) também não diferiu estatisticamente entre os tratamentos ($p > 0,05$) considerando um mesmo período de amostragem. No entanto, observou-se que as bebidas de todas as formulações até o último dia de armazenamento (D1 a D21) obtiveram valores significativamente superiores ($p < 0,05$) aos de suas respectivas bases lácteas e vegetal (tempos T0 e TF). Dessa forma, a adição da polpa de jambolão evidencia o aumento do sequestro de radicais DPPH para todas as bebidas.

Tabela 8 – Valores de EC₅₀ e Valores de capacidade antioxidante total obtidos para as amostras BIL, BCL e BVC antes, após a fermentação e durante o armazenamento.

Tempos de amostragem	Tratamentos		
	BCL	BIL	BVC
Valores de EC ₅₀ (g de bebida/L)			
T0	26,02 ± 10,76 ^{Bd}	26,54 ± 9,06 ^{Bd}	14,15 ± 2,22 ^{Ab}
TF	18,50 ± 1,41 ^{Bd}	22,41 ± 6,74 ^{Bd}	11,26 ± 1,48 ^{Aab}
D1	14,22 ± 1,26 ^{Bc}	12,91 ± 3,38 ^{ABcb}	10,02 ± 0,63 ^{Aa}
D7	11,10 ± 1,90 ^{Aab}	9,40 ± 1,90 ^{Aa}	10,17 ± 1,16 ^{Aa}
D14	12,30 ± 3,18 ^{Abc}	9,00 ± 1,98 ^{Aab}	10,05 ± 1,11 ^{Aa}
D21	10,98 ± 1,56 ^{Aa}	12,20 ± 4,04 ^{Ac}	10,29 ± 1,67 ^{Aa}
Valores de capacidade antioxidante total (g de bebida/g de DPPH)			
T0	1242,63 ± 439,95 ^{Bd}	1211,98 ± 239,26 ^{Be}	673,45 ± 131,13 ^{Ab}
TF	868,74 ± 60,16 ^{Bc}	1063,06 ± 335,77 ^{Bde}	538,68 ± 105,08 ^{Aab}
D1	714,22 ± 97,29 ^{Bb}	676,44 ± 85,94 ^{Bcd}	473,37 ± 35,78 ^{Aa}
D7	555,42 ± 98,20 ^{Aa}	509,69 ± 16,28 ^{Aa}	482,46 ± 74,32 ^{Aa}
D14	716,70 ± 119,23 ^{Bb}	525,91 ± 82,03 ^{Ab}	472,57 ± 31,66 ^{Aa}
D21	623,33 ± 56,88 ^{Ba}	604,52 ± 93,07 ^{Bc}	483,62 ± 49,97 ^{Aa}

Fontes: Dados da pesquisa.

BCL – bebida láctea fermentada com lactose; BIL – bebida láctea fermentada isenta de lactose; BVC – bebida vegetal fermentada; T0 – Tempo inicial da fermentação (0h); TF – Tempo final da fermentação (24h); 1, D7, D14 e D21, dias de armazenamento.

Letras maiúsculas diferentes na mesma linha representam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as formulações no mesmo tempo.

Letras minúsculas diferentes na mesma coluna representam diferenças significativas ($p < 0,05$) na mesma formulação em diferentes tempos.

O EC₅₀ refere-se à concentração necessária para inibir 50% da concentração inicial de DPPH, logo, quanto menor a concentração do produto, maior seu potencial antioxidante. Segundo os valores (g de bebida/L) apresentados na Tabela 8, houve diferenças estatísticas significativas entre os tratamentos. Nos tempos T0 e TF, a base vegetal apresentou valores significativamente menores ($p < 0,05$) em relação às bases lácteas.

O maior potencial antioxidante do leite de coco poderia ser explicado pelo fato deste produto ser de origem vegetal, o qual contém naturalmente um teor maior

de compostos fenólicos conforme Tabela 7. Embora sua concentração não tenha diferido estatisticamente dos valores obtidos para as bases lácteas ($p > 0,05$), supõe-se que os tipos de fenólicos presentes no tratamento BVC podem facilitar o sequestro de DPPH, de maneira que apresentam uma estrutura que garanta essa maior capacidade de captação de radicais livres.

Para as bebidas com jambolão, no primeiro dia após a adição desta fruta (D1) o tratamento BVC obteve menor EC_{50} em comparação à BCL e BIL, tendo diferido estatisticamente de BCL neste período de amostragem ($p < 0,05$). Nos demais tempos, as três formulações não diferiram estatisticamente entre si ($p > 0,05$).

Considerando um mesmo tratamento ao longo do armazenamento, observou-se que a formulação BCL apresentou valores de EC_{50} significativamente mais baixos nos dias D7 e D21, sugerindo uma influência sobre a capacidade antioxidante não apenas na polpa do jambolão, mas também das interações de outros componentes do produto, incluindo o efeito dos microrganismos, durante o tempo analisado. A bebida BIL atingiu os melhores valores nos dias D7 e D14, os quais diferiram significativamente dos demais períodos dentro desse tratamento ($p < 0,05$).

O aumento do EC_{50} no último dia analisado do tratamento BIL pode estar associado à complexação dos compostos fenólicos com proteínas presentes no produto, possibilitando perda de grupos hidroxilas, conseqüentemente, reduzindo seu potencial antioxidante (LIBARDI, 2010). Os valores de EC_{50} no tratamento BVC não variaram significativamente de D1 a D21 ($p > 0,05$) e, dessa forma, este foi o produto que apresentou maior estabilidade quanto a esse parâmetro ao longo do armazenamento.

Os valores de capacidade antioxidante total (g de bebida/g de DPPH) reportam a massa de produto necessária para diminuir um grama de DPPH. Nos tempos T0, TF, D1 e D21 foi necessário uma quantidade significativamente menor da bebida BVC, quando comparada às bebidas lácteas BCL e BIL, para a captura de 1 g desse radical ($p < 0,05$, Tabela 8). Os dados reforçam, portanto, a importância de utilizar produtos de origem vegetal por representarem uma excelente fonte de nutrientes e garantirem o potencial antioxidante até o último dia de armazenamento. As diferenças estatísticas da capacidade antioxidante total para os tempos de armazenamento dentro de um mesmo tratamento foram as mesmas para as respostas do EC_{50} (g de bebida/L) já comentadas. No presente trabalho o preparo do

leite, a cultura, a escolha da fruta e todas outras condições propostas contribuíram para a estabilidade do potencial antioxidante da bebida ao longo dos 21 dias, sem perdas significativas.

5.5 Análise sensorial das formulações

Os resultados da análise sensorial para as diferentes formulações podem ser observados na Tabela 9.

Considerando a maioria dos valores médios, para todas as bebidas, entre 6 e 7, pode-se interpretar o resultado como “gostei ligeiramente”, assim como o faz Sousa (2016) em seu trabalho com sobremesa láctea de jabuticaba (*Myrciaria cauliflora* Berg) com potencial funcional.

Tabela 9 – Médias para os atributos sensoriais avaliados pelo teste de aceitação das formulações estudadas.

(continua)

Formulações	Atributos	Armazenamento (dias)		
		7	14	21
BCL	Sabor	7,05 ± 2,17 ^{Aa}	6,83 ± 1,94 ^{Aa}	6,73 ± 2,60 ^{Aa}
	Dulçor	7,09 ± 2,24 ^{Aa}	7,11 ± 1,76 ^{Aa}	6,78 ± 2,23 ^{Aa}
	Consistência	7,33 ± 1,83 ^{Aa}	7,69 ± 1,75 ^{Ba}	7,48 ± 2,23 ^{Ba}
	Aparência	7,86 ± 1,62 ^{Ba}	7,90 ± 1,60 ^{Ba}	7,36 ± 2,28 ^{Aa}
	Cor	8,03 ± 1,64 ^{Aa}	7,83 ± 1,54 ^{Aa}	7,77 ± 2,28 ^{Aba}
	A. global*	7,48 ± 1,82 ^{Ba}	7,01 ± 1,95 ^{Aa}	7,04 ± 2,63 ^{Aa}
BIL	Sabor	6,63 ± 1,69 ^{Aa}	6,84 ± 2,40 ^{Aa}	6,71 ± 2,24 ^{Aa}
	Dulçor	7,08 ± 1,98 ^{Aa}	7,18 ± 2,43 ^{Aa}	7,30 ± 2,10 ^{Aa}
	Consistência	6,80 ± 2,40 ^{Aa}	6,81 ± 2,32 ^{Aa}	6,46 ± 2,15 ^{Aa}
	Aparência	7,11 ± 1,58 ^{Aa}	7,20 ± 2,35 ^{Ba}	7,11 ± 1,86 ^{Aa}
	Cor	8,07 ± 1,38 ^{Aa}	8,20 ± 1,86 ^{Aa}	7,58 ± 1,89 ^{Aa}
	A. global*	6,68 ± 1,89 ^{Aa}	6,76 ± 2,72 ^{Aa}	6,91 ± 1,74 ^{Aa}

(conclusão)

BVC	Sabor	7,08 ± 2,90 ^{Aa}	5,57 ± 3,16 ^{Aa}	6,97 ± 2,55 ^{Aa}
	Dulçor	6,91 ± 2,80 ^{Aa}	6,37 ± 2,57 ^{Aa}	7,18 ± 2,32 ^{Aa}
	Consistência	6,46 ± 3,18 ^{Aa}	5,58 ± 3,18 ^{Aa}	6,16 ± 2,58 ^{Aa}
	Aparência	7,26 ± 2,99 ^{Aa}	5,97 ± 2,69 ^{Aa}	7,36 ± 2,44 ^{Aa}
	Cor	8,14 ± 2,38 ^{Aa}	7,45 ± 2,39 ^{Aa}	8,29 ± 2,12 ^{Ba}
	A. global*	7,28 ± 2,61 ^{Ba}	5,97 ± 2,95 ^{Aa}	6,65 ± 2,67 ^{Aa}

Fontes: Dados da pesquisa.

BCL – bebida láctea fermentada com lactose; BIL – bebida láctea fermentada isenta de lactose; BVC – bebida vegetal fermentada.

D7, D14 e D21, dias de armazenamento.

*A. global – Aceitação global

Mauro (2018) produziu duas bebidas de leite de coco fermentada, uma com adição de polpa de morango e outra sem, e reporta que todos os atributos (cor, sabor, textura, aroma e aceitação global) receberam notas acima de 7, correspondendo a “gostei ligeiramente”. As médias das notas variaram de 7,25 a 8,18. A mesma autora afirma:

Os consumidores brasileiros geralmente não têm o hábito de consumir leites vegetais fermentados devido à escassez destes no mercado, sendo a opção mais comum os derivados de soja. Portanto os escores de aceitação global obtidos para os produtos à base de leite de coco mostram resultados satisfatórios e promissores no desenvolvimento destes novos produtos funcionais. (MAURO, 2018, f. 92).

Houve diferenças ao comparar os três tratamentos dentro de um mesmo dia de armazenamento, para alguns dos parâmetros avaliados. As bebidas BVC e BCL apresentaram notas significativamente superiores ($p < 0,05$) para os atributos cor e aceitação global, nos dias 21 e 7, respectivamente. A aparência das bebidas lácteas no dia 14 foi mais bem avaliada ($p < 0,05$), enquanto que para consistência, apenas BCL apresentou significância superior para os dias D14 e D21.

De maneira geral, observa-se uma influência positiva da bebida vegetal, quanto ao desempenho sensorial, diante das amostras lácteas, sugerindo que a aceitabilidade se configura equivalente às bebidas a base de leite e soro, mais conhecidas pelos julgadores. Assim, este alimento probiótico, proposto aos consumidores que apresentam qualquer tipo de restrição aos lácteos, seja fisiológica ou comportamental, mostra-se como alternativa potencialmente viável.

6 CONCLUSÃO

Diante dos resultados, foi observado que a matriz de leite de coco e o tempo de fermentação utilizado para essa bebida melhorou a viabilidade de *L. mucosae* com população entre 7 e 8 log UFC/mL durante a fermentação e armazenamento, resultado dentro da faixa considerada como de importância fisiológica ao organismo humano e superior à viabilidade do mesmo microrganismo nas bebidas lácteas, que são produtos mais próximos aos já disponibilizados no mercado. A viabilidade desse microrganismo se manteve constante durante todo o período de armazenamento mesmo com a adição da polpa de jambolão, mostrando que a associação de ingredientes utilizada nessa bebida não interferiu na estabilidade da cultura nativa potencialmente probiótica de *L. mucosae* na formulação. A partir disso, se faz necessário realizar pesquisas *in vivo* utilizando cepas probióticas nativas veiculadas em bebidas fermentadas para testar dosagens que confirmem benefícios à saúde dos consumidores.

Assim como para o potencial probiótico, o potencial antioxidante da bebida de coco se mostrou estável em todas as análises até o último dia de armazenamento. Os dados para EC₅₀ para a bebida vegetal reportam melhores valores entre o fim da fermentação e o primeiro dia de armazenamento diante do observado para as formulações lácteas com e sem lactose, destacando o potencial antioxidante já na matriz vegetal, por se tratar de um produto que apresenta naturalmente uma fonte rica de fenólicos e outros nutrientes.

Diante de um mercado consumidor que cresce em busca de alternativas aos produtos do leite, entre eles os fermentados e probióticos, sugere-se que a substituição da base láctea pela base vegetal de coco possa vir a ser uma opção nutritiva e com potencial de aceitação sensorial, visto que o leite de coco é tecnologicamente viável para um produto funcional.

Porém, para permitir que o leite a base de plantas seja usado como alternativa nutricionalmente equivalente ao leite bovino por população que apresenta qualquer restrição a este último, será necessário intensificar estudos quanto à fortificação adequada e a manutenção da biodisponibilidade de nutrientes ao longo do armazenamento.

REFERÊNCIAS

- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (Brasil). Gerência de Avaliação de Risco e Eficácia para Alegações. Gerência Geral de Alimentos. **Perguntas e respostas sobre rotulagem de alimentos alergênicos**. Brasília, DF: ANVISA, 2016.40 p.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (Brasil). **Probióticos: construção da lista de linhagens probióticas**. Brasília, DF, 2017, p.14.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (Brasil). Resolução RDC nº 135, de 09 de fevereiro de 2017. Aprova o Regulamento Técnico referente a alimentos para fins especiais, para dispor sobre os alimentos para dietas com restrição de lactose. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, ano 154, n. 29, p. 44, 9 fev. 2017.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (Brasil). Resolução RDC nº 241, de 26 de julho de 2018. Dispõe sobre requisitos para comprovação da segurança e dos benefícios à saúde dos probióticos para uso em alimentos. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, ano 155, n. 144, p. 97, 27 jul. 2018.
- ANTOINE, J.M. Probiotics: beneficial factors of the defense system. **Proceedings of the Nutrition Society**, Cambridge, v. 69, n. 3, p. 429-433, 2010.
- AQIL, F.; GUPTA, A.; MUNAGALA, R.; JEYABALAN, J.; KAUSAR, H. Antioxidant and antiproliferative activities of anthocyanin/ellagitannin-enriched extracts from *Syzygium cumini* L. (jamun, the indian blackberry). **Nutricion and Cancer**, Abingdon, n. 63, v. 3, p. 428-438, 2012.
- ARAÚJO, A. L. M. **Polpa de jambolão (*Syzygium cumini*) desidratada por liofilização e secagem em leito de jorro: caracterização físico-química e funcional e impacto da secagem**. 2014. 92 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Centro de Tecnologia, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2014.
- BALIGA, M. S.; BHAT, H. P.; BALIGA, B. R. V.; WILSON, R.; P. L. Phytochemistry, traditional uses and pharmacology of *Eugenia jambolana* Lam. (Black plum): a review. **Food Research International**, Essex, v. 44, n. 7, p. 1776-1789, 2011.
- BANERJEE, A.; DASGUPTA, N.; DE, B. In vitro study of antioxidant activity of *Syzygium cumini* fruit. **Food Chemistry**, Barking, v. 90, p. 727-733, 2005.
- BASTOS, B. E. N.; NETO, J. A.; SANTOS, R. L.; BARRETO, T. F. **Opção vegana: orientações para inclusão de opções veganas em restaurantes, bares, cafeterias, lanchonetes e hotéis**. Recife: SBV, 15 p., 2015.
- BEARDSWORTH, A. D.; KEIL, E. T. Vegetarianism, veganism and meat avoidance: Recent trends and findings. **British Food Journal**, Bradford, v. 93, n. 4, p. 19–24, 1991.

BELEWU, M. A.; BELEWU, K. Y. Comparative psysico-chemical evalution of tiger-nut soybean and coconut milk sources. **International Journal of Agriculture & Biology**, Faisalabad, v. 9, n. 5, 2007.

BERNAT, N.; CHÁFER, M.; CHIRALT, A.; GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, C. **Food Science and Technology International**, Thousand Oaks, v. 21, n. 6, p. 440-453, 2015.

BEZERRA, M. F. **Polpa de jambolão (*Eugenia jambolana* Lam.) fresca e desidratada**: características físico-químicas, bioativas e funcionais, efeitos biológicos em *Caenorhabditis eleganse* uso para produção de frozen yogurt caprino probiótico. 2015. 195 f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Centro de Tecnologia, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2015.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Instrução normativa n. 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**: seção 1, Brasília, DF, ano 140, n. 181, p. 14-51,18 set. 2003.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Instrução normativa n. 16 de 23 de agosto de 2005. Aprova o regulamento técnico de identidade e qualidade de bebida láctea. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, ano 142, n. 163, p. 8, 24 ago. 2005.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Aprova o Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, ano 139, n. 7, p. 40- 53, 2 jan. 2001.

BUSANELLO, M. P. **Desenvolvimento de bebida láctea prebiótica com cajá-manga (*Spondias dulcis*)**. 2014. 51 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Curso Superior de Tecnologia em Alimentos) – Universidade Federal do Paraná, Francisco Beltrão, 2014.

CAVARARO, C. S.; JÚNIOR, J. P. S.; DOMINGUES, J. R.; CHIAPPINI, C. C. J. Development and sensory acceptance of kefir with guava jelly and evaluation of bioactive compounds. **Demetra: Food, Nutrition & Health**, Rio de Janeiro, v. 13, n. 2, p. 503-515, 2018.

CHAGAS, L. M. **Influência de *Streptococcus thermophilus* produtor de exopolissacarídeos em iogurte natural com baixo teor de lactose**. 2012. 48 f. Dissertação (Mestrado em Ciências e Tecnologia do Leite) – Universidade Norte do Paraná, Londrina, 2012.

EKANAYAKA, R. A.; EKANAYAKA, N. K.; PERERA, B.; DE SILVA, P. G. S. M. Impact of traditional dietary supplement with coconut milk and soya milk on the lipid profile in normal free living subjects. **Journal of Nutrition and Metabolism**, Cairo, v. 2013, 2013.

FERREIRA, T. A. **Desenvolvimento de bebida lactea fermentada sabor pitanga (*Eugenia uniflora* L.) com característica probiótica e simbiótica.** 2015. 81 f. Dissertação (Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2015.

FLORENTINO, E. R. **Produção de Queijo coalho com leite pasteurizado.** Campina Grande: UEPB, 1997.

FOOD AND AGRICULTURAL ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS AND WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria.** Rome: FAO, p. 56. 2001.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **Food energy: methods of analysis and conversion factors.** Report of a technical workshop. Rome: FAO, 2003. 87 p. (FAO Food and Nutrition Paper, 77).

GALDEANO, C. M.; LEBLANC, A. M.; VINDEROLA, G.; BONET, M. E. B.; PERDIGÓN, G. Proposed model: mechanisms of immune modulation induced by probiotic bacteria. **Clinical Vaccine Immunology**, Washington, v. 14, n. 5, p. 485-492, 2007.

GAO, X. W.; MUBASHER, M.; FANG, C. Y.; REIFER, C.; MILLER, L. E. Dose-response efficacy of a proprietary probiotic formula of *Lactobacillus acidophilus* CL1285 and *Lactobacillus casei* LRC80R for antibiotic-associated diarrhea and *Clostridium difficile*-associated diarrhea prophylaxis in adult patients. **American Journal of Gastroenterology**, New York, v. 105, n. 7, p. 1636-1641, 2010.

GAWKOWSKI, D.; CHIKINDAS, M. L. Non-dairy probiotic beverages: the next step into human health. **Beneficial Microbes**, Wageningen, v. 4, p. 127-122, 2013. DOI: 10.3920/BM2012.0030.

GIANOTTI, L., MORELLI, L., GALBIATI, F., ROCCHETTI, S., COPPOLA, S., BENEDEUCE, A., GILARDINI, C., ZONENSCHAIN, D., NESPOLI, A. AND BRAGA, M. A randomized double-blind trial on perioperative administration of probiotics in colorectal cancer patients. **World Journal of Gastroenterology**, Beijing, v. 16, p. 167-175, 2010.

HICKSON, M.; D'SOUZA, A. L.; MUTHU, N.; ROGER, t. R.; WANT, S.; RAJKUMAR, C.; BULPITT, C. J. Use of probiotic *Lactobacillus* preparation to prevent diarrhea associated with antibiotics: randomised double blind placebo controlled trial. **British Medical Journal**, London, v. 335, p. 80–85, 2007.

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 & Hepatology**, London, v. 11, p. 506-514, 2014.

HIMEDIA. **Salmonella diferencial agar (twin pack) (RajHans medium) M1078**. Mumbai, jan. 2011. (Technical data).

HUSAIN, S. Clinical applications of probiotics. **International Journal of Advanced Biological Research**, Vengayapalayam, v. 6, n. 3, p. 427-434, 2016.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos químicos e físicos para análise de alimentos**. 4. ed. São Paulo, p. 1020, 2008.

KANDYLIS, P.; PISSARIDI, K.; BEKATOROU, A.; KANELLAKI, M.; KOUTINAS, A. A. Dairy and non-dairy probiotic beverages. **Current Opinion in Food Science**, Amsterdam, v. 7, p. 58-63, 2016.

KUMAR, B. V.; VIJAYENDRA, S. V. N.; REDDY, O. V. S. Trends in dairy and non-dairy probiotic products - a review. **International Journal of Food Science & Technology**, Oxford, v. 52, n. 10, p. 6112–6124, 2015.

LARSEN, C.N.; NIELSEN, S.; KAESTEL, P.; BROCKMANN, E.; BENNEDSEN, M.; CHRISTENSEN, H.R.; ESKESEN, D.C.; JACOBSEN, B.L; MICHAELSEN, K.F. Dose-response study of probiotic bacteria *Bifidobacterium animalis* subs plactis BB-12 and *Lactobacillus paracasei* subsp *paracasei* CRL-341 in healthy young adults. **European Journal of Clinical Nutrition**, Basingstoke, v. 60, p. 1284-1293, 2006.

LAWLESS, H.T.; HEYMANN, H. **Sensory evaluation of foods: principles and practices**. Gaithersburg: Aspen, p. 827, 1999.

LIBARDI, S. H. **Atividade antioxidante da vanila e do ácido vanílico e o efeito da complexação por proteínas do soro do leite na desativação de radicais e ferrilmioglobina em condições simulando o trato gastrointestinal**. 2010. 90 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Universidade de São Paulo, São Carlos, 2010.

LIU, D. M.; YANG, X-Q.; LIANG, S.-Z.; WANG, J. S. Survivability of *Lactobacillus rhamnosus* during the preparation of soy cheese. **Food Technology and Biotechnology**, Zagreb, v. 44, p. 417-422, 2006.

MACGILL, M. Whats is a randomized controlled trial?. **Medical News Today**, Brighton, 4 dez. 2018. Disponível em: <https://www.medicalnewstoday.com/articles/280574.php>. Acesso em: 31 jan. 2018.

MAHAYOTHEE, B.; KOOMYART, I.; KHUWIJITJARU, P.; SIRIWONGWILAICHAT, P; NAGLE, M.; MÜLLER, J. Phenolic compounds, antioxidant activity, and medium chain fatty acids profiles of coconut water and meat at different maturity stages. **International Journal of Food Properties**, Philadelphia, v. 19, p. 2041-2051, 2016.

MARSH, A. J.; HILL, C.; ROSS, R. P.; COTTER, P. D. Fermented beverages with health-promoting potential: past and future perspectives. **Trends in Food Science & Technology**, Cambridge, v. 38, p. 112-124, 2014. DOI: 10.1016/j.tifs.2014.05.002.

MARTINS, E. M. F.; RAMOS, A. M.; VANZELA, E. S. L.; STRINGHETA, P. C.; PINTO, C. L. O.; MARTINS, J. M. Products of vegetable origin: a new alternative for the consumption of probiotic bacteria. **Food Research International**, Essex, v. 51, p. 764-770, 2013.

MAURO, C. S. I. **Desenvolvimento de bebida à base de leite de coco fermentado**. 2018. 112 f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2018.

MISRA, S. Randomized double blind placebo control studies, the “gold standard” in intervention based studies. **Indian Journal of Sexually Transmitted Diseases and AIDS**, Mumbai, v. 33, n. 2, p. 131-134, 2012.

MORAES, G. M. D.; ABREU, L. R. EGITO, A. S.; SALLES, H. O.; SILVA, L. M. F.; NERO, L. A.; S. D. TODOROV; SANTOS, K. M. O. functional properties of *Lactobacillus mucosae* strains isolated from brazilian goat milk. **Probiotics and Antimicrobial Proteins**, New York, v. 9, p. 235-245, 2017.

NARATARUKSA, P.; PICHITVITTAYAKARN, W.; HEGGS, P.; TIA, S.; Fouling behavior of coconut milk at pasteurization temperature. **Journal of Thermal Science and Engineering**, New York, v. 30, p. 1387-1395, 2010.

NIELSEN. Plant based foods sales experience 8.1 percent growth over past year. **PRWeb**: Online Visibility from Vocus, San Francisco, 2017. Disponível em: <http://www.prweb.com/releases/2017/09/prweb14683840.htm>. Acesso em: 03 fev. 2019.

OCHOA-VELASCO, C. E.; CRUZ-GONZÁLEZ, M.; GUERRERO- BELTRÁN, J. Á. Ultraviolet-C light inactivation of *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium* in coconut (*Cocos nucifera* L.) milk. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, Amsterdam, v. 26, p. 199-204, 2014.

OFFICIAL METHODS of analysis of the AOAC International. 17.ed, 2.rev. Gaithersburg: AOAC International, 2 v, 2003.

OLIVEIRA A.; ALEXANDRE, E. M. C.; COELHO, M.; LOPES, C.; ALMEIDA, D. P. F.; PINTADO, M. Incorporation of strawberries preparation in yoghurt: impact on phytochemicals and milk proteins. **Food Chemistry**, New York, v. 171, p. 370-378, 2015

OLIVEIRA, M. N.; SODINI, I.; REMEUF, F.; CORRIEU, G. Effect of milk supplementation and culture composition on acidification, textural properties and microbiological stability of fermented milks containing probiotic bacteria. **International Dairy Journal**, Amsterdam, v. 11, p. 935-942, 2001.

OLIVEIRA, V. C. D. **Alergia à proteína do leite de vaca e intolerância à lactose: abordagem nutricional e percepções dos profissionais da área de saúde**. 2013. 105 f. Dissertação (Programa Mestrado Profissional em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados) – Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2013.

OUWEHAND, A. C. A review of dose-responses of probiotics in human studies. **Beneficial Microbes**, Wageningen, v. 8, n. 2, p. 143-151, 2017.

PEREIRA FILHO, D.; FURLAN, S. A. Prevalência de intolerância à lactose em função da faixa etária e do sexo: experiência do laboratório Dona Francisca, Joinville (SC). **Revista Saúde e Ambiente**, Joinville, v. 5, n. 1, p. 24-30, 2004.

RICHTER, R. L.; VEDAMUTHU, E. R. **Milk and milk products**. In: COMPENDIUM OF THE METHODS FOR MICROBIOLOGICAL EXAMINATION OF FOODS. 4. ed. Washington: American Public Health Association, p. 483-495, 2011.

RIVERA-ESPINOZA, Y.; GALLARDO-NAVARRO, Y. Non-dairy probiotic products. **Food Microbiology**, London, v. 27, p. 1-11, 2010.

ROSS, S.; KARNER, F.; AXELSSON, L.; JONSSON, H. L. *Lactobacillus mucosae* sp. nov., a new species with in vitro mucus-binding activity isolated from pig intestine. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, Reading, v. 50, p. 251-258, 2000. DOI: 10.1099 / 00207713-50-1-251.

RUBY, M. B. Vegetarianism: a blossoming field of study. **Appetite**, Pasig, v. 58, p. 141-150, 2012.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; MORAIS, S. M.; SAMPAIO, C. G.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. D. **Metodologia científica**: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, p. 4, 2007. (Comunicado Técnico, 127).

SANFUL, R. E. Promotion of coconut in the production of yoghurt. **African Journal of Food Science**, Nairobi, v. 3, n. 5, p. 147-149, 2009.

SANTOS, K. M.; OLIVEIRA, I. C.; LOPES, M. A. C.; CRUZ, A. P. G.; BURITI, F. C. A.; CABRAL, L. M. Adição de extrato de bagaço de uva ao leite de cabra fermentado probiótico: efeito sobre o conteúdo fenólico, viabilidade probiótica e aceitabilidade sensorial. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 97, n. 4, p. 1108-1115, 2017.

SAXELIN, M.; PESSI, T.; SALMINEN, S. Fecal recovery following oral administration of *Lactobacillus* strain GG (ATCC 53103) in gelatine capsules to healthy volunteers. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 25, p. 199-203, 1995.

SEOW, C. C.; GWEE, C. N. Coconut milk: chemistry and technology. **International Journal of Food Science and Technology**, Oxford, v. 32, p. 189-201, 1997.

SETHI, S.; TYAGI, S. K.; ANURAG, R. K. Plant-based milk alternatives an emerging segment of functional beverages: a review. **Journal of food science and technology**, Amsterdam, v. 53, n. 9, p. 3408-3423, 2016.

SHANA, SRIDHAR, R.; ROOPA, B. S.; VARADARAJ, M. C.; VIJAYENDRA, S. V. N. Optimization of a novel coconut milk supplemented dahi - a fermented milk product

of Indian subcontinent. **Journal of Food Science and Technology**, Amsterdam, v.52, n.11, p.7486-7492, 2015.

SHARMA, V.; MISHRA, H. N. Fermentation of vegetable juice mixture by probiotic lactic acid bacteria. **Nutrafoods**, Milano, v. 12, n. 1, p. 17-22, 2013.

SHORI, A. B. Influence of food matrix on the viability of probiotic bacteria: a review based on dairy and non-dairy beverages. **Food Bioscience**, Amsterdam, v. 13, p. 1-8, 2016.

SILVA, L. J. M. **Isolamento e caracterização bioquímica das bactérias do ácido láctico do queijo São Jorge DOP**. 2011. 135 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia e Segurança Alimentar) – Departamento de Ciências Agrárias, Universidade dos Açores, Angra do Heroísmo, 2011.

SINGH, J. P.; KAUR, A.; SINGH, N.; NIM, L.; SHEVKANI, K.; KAUR, H.; ARORA, D. S. In vitro antioxidant and antimicrobial properties of jambolan (*Syzygium cumini*) fruit polyphenols. **Food Science and Technology**, Amsterdam, v. 65, p. 1025-1030, 2016.

SOCCOL, C. R.; VANDENBERGHE, L. P. S.; SPIER, M. R.; MEDEIROS, A. B. P.; YAMAGUISHI, C. T.; LINDNER, J. D.; PANDEY, A.; THOMAZ-SOCCOL, V. The potential of probiotics. **Food Technology and Biotechnology**, Zagreb, v. 48, p. 413-434, 2010.

SOCIEDADE VEGETARIANA BRASILEIRA. **Vegetarianismo**, São Paulo, 2017. Disponível em: <https://www.svb.org.br/vegetarianismo1/o-que-e>. Acesso em: 28 jan. 2018.

SOUSA, C. S. **Obtenção de sobremesa lacteal de jabuticaba (*Myrciaria cauliflora* Berg)**. 2016. 110 f. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2016.

TOMÉI, M. C.M. Lactose: intolerância, alergia e rotulagem de alimentos. **Revista Científica Multidisciplinar Núcleo do Conhecimento**, São Paulo, v. 9. P. 99-110, 2016. ISSN:2448-0959.

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS. Núcleo de estudo e pesquisa em alimentação. **Tabela brasileira de composição dos alimentos: TACO**. 4. ed. revisada e ampliada. Campinas: UNICAMP, 2011.

VAN NIEL, C. W.; FEUDTNER, C.; GARRISON, M. M.; CHRISTAKIS, D. A. Lactobacillus therapy for acute infectious diarrhea in children: a meta-analysis. **Pediatrics**, Elk Grove Village, v. 109, n. 4, p. 678-684, 2002.

VEIGAS, J. M.; NARAYAN, M. S.; LAXMAN, P. M.; NEELWARNE, B. Chemical nature, stability and bioefficacies of anthocyanins from fruit peel of *Syzygium cumini* Skeels. **Food Chemistry**, London, v. 105, n. 2, p. 619-627, 2007.

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**, New York, v. 20, 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**, Amsterdam, v. 41, p. 1678-1688, 2008.

VIZZOTTO, M.; FETTER, M. R. **Jambolão**: o poderoso antioxidante. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2009, (Site cultivar). Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CPACT-2010/12299/1/jambolao-Marcia.pdf>>. Acesso em: 22 outubro 2018.

VIZZOTTO, M.; PEREIRA, M. C. **Caracterização das propriedades funcionais do jambolão**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2008. 26 p. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 79).

APÊNDICES

APÊNDICE A
DECLARAÇÃO DE CONCORDÂNCIA COM PROJETO DE PESQUISA

Titulo da Pesquisa: Avaliação da estabilidade de bebida fermentada de leite de coco (*Cocos nucifera*) adicionada de cultura nativa potencialmente probiótica e jambolão (*Syzygium cumini*)

Eu, Flavia Carolina Alonso Buriti, Professora do Curso de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, nível de Mestrado, da Universidade Estadual da Paraíba, portadora do RG: 28.195.169-X SSP/SP, 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, 23 de junho de 2017.

Flávia Carolina Alonso Buriti
Pesquisadora responsável
Orientadora

Débora Santos Dantas
Orientanda

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

Pesquisa: Avaliação da estabilidade de bebida fermentada de leite de coco (*Cocos nucifera*) adicionada de cultura nativa potencialmente probiótica e jambolão (*Syzygium cumini*)

Eu, Flavia Carolina Alonso Buriti, Professora do Curso de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, nível de Mestrado, da Universidade Estadual da Paraíba, portadora do RG: 28.195.169-X SSP/SP 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, 23 de junho de 2017

Flavia Carolina Alonso Buriti
Pesquisadora Responsável

APÊNDICE C
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 “Avaliação da estabilidade de bebida fermentada de leite de coco (*Cocos nucifera*) adicionada de cultura nativa potencialmente probiótica e jambolão (*Syzygium cumini*)”.

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

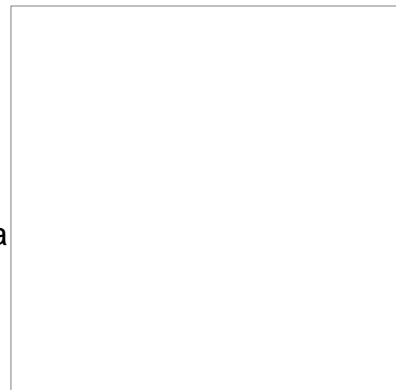
- a) o trabalho terá como objetivo geral formular uma bebida fermentada com propriedade funcional de base vegetal usando leite de coco (*Cocos nucifera*), polpa de jambolão (*Syzygium cumini*) e cultura nativa potencialmente probiótica de *Lactobacillus mucosae*;
- b) ao voluntário só caberá a autorização para a participação da análise sensorial e preenchimento da ficha do teste de diferença e não haverá nenhum risco ou desconforto ao voluntário;
- c) 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;
- d) 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;
- e) será garantido o sigilo dos resultados obtidos neste trabalho, assegurando assim a privacidade dos participantes em manter tais resultados em caráter confidencial;
- f) 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;
- g) qualquer dúvida ou solicitação de esclarecimentos, o participante poderá contatar a equipe científica no número (083) 33153360 e (083) 987970427 com Flávia Carolina Alonso Buriti.
 - h) ao final da pesquisa, se for do meu interesse, terei livre acesso ao conteúdo da mesma, podendo discutir os dados, como pesquisador, vale salientar que este documento será impresso em duas vias e uma delas ficará em minha posse;
 - i) 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 pesquisa do 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).



APÊNDICE D – MODELO DE FICHA PARA ANÁLISE SENSORIAL

Ficha para teste de aceitabilidade

Nome: _____ Data: __/__/____

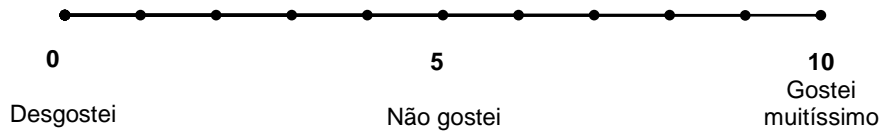
Sexo: Masc. () Fem. ()

Idade: _____

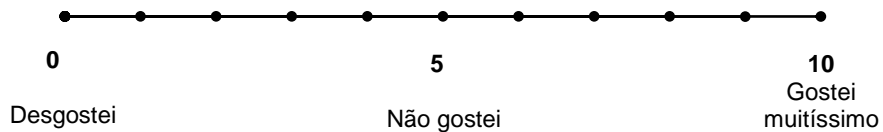
Produto: Bebida fermentada de jambolão - Código: _____

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

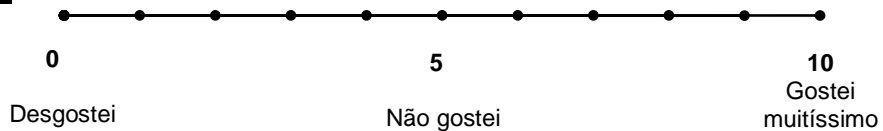
SABOR:



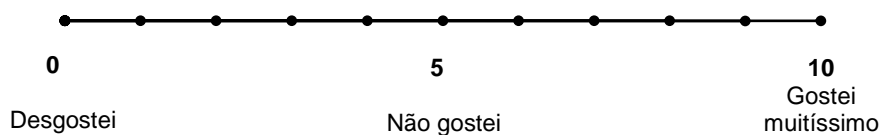
DULÇOR:



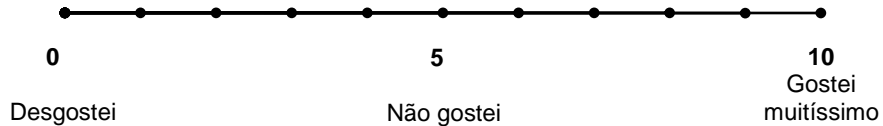
CONSISTÊNCIA:



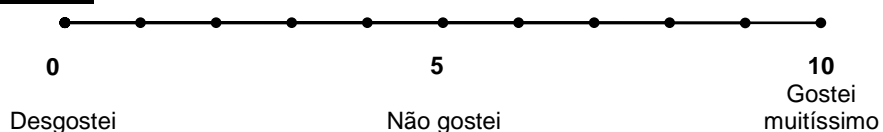
APARÊNCIA:



COR:



ACEITAÇÃO GLOBAL:



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

♥ _____

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

ANEXOS

ANEXO 1 – PARECER DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA

UNIVERSIDADE ESTADUAL DA
PARAÍBA - PRÓ-REITORIA DE
PÓS-GRADUAÇÃO E

**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP****DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

Título da Pesquisa: Avaliação da estabilidade de bebida fermentada de leite de coco (Cocos nucifera) adicionada de cultura nativa potencialmente probiótica e jambolão (Syzygium jambolanum)

Pesquisador: FLÁVIA CAROLINA ALONSO BURITI

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 71428317.9.0000.5187

Instituição Proponente: Universidade Estadual da Paraíba - UEPB

Patrocinador Principal: Universidade Estadual da Paraíba - UEPB

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.229.944

Apresentação do Projeto:

A definição amplamente adotada define os probióticos como microorganismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem um benefício para a saúde do hospedeiro. O tratamento com probióticos envolve a modulação do sistema imunológico tanto em nível local como sistêmico e os efeitos benéficos incluem quer a redução da duração das infecções quer a diminuição da suscetibilidade aos agentes patogênicos.

Objetivo da Pesquisa:

Formular uma bebida fermentada com propriedade funcional de base vegetal usando leite de coco (Cocos nucifera), polpa de jambolão (Syzygium jambolanum) e cultura nativa potencialmente

Endereço: Av. das Baraúnas, 351- Campus Universitário

Bairro: Bodocongó

CEP: 58.109-753

UF: PB

Município: CAMPINA GRANDE

Telefone: (83)3315-3373

Fax: (83)3315-3373

E-mail: cep@uepb.edu.br

UNIVERSIDADE ESTADUAL DA
PARAÍBA - PRÓ-REITORIA DE
PÓS-GRADUAÇÃO E



Continuação do Parecer: 2.229.944

probiótica de *Lactobacillus mucosae*.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Considerando os objetivos e o exposto na metodologia, observa-se que os procedimentos a serem realizados apresentam risco mínimo aos participantes da pesquisa.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O projeto apresenta aspectos metodológicos específicos de uma pesquisa científica para desenvolvimento de um produto com avaliação sensorial realizada pelos sujeitos da pesquisa.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Em sua segunda versão, a pesquisadora apresentou o Termo de Autorização Institucional e também o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido padronizado pela Resolução 466/12/CNS/MS.

Recomendações:

O referido projeto de pesquisa encontra-se em sua segunda apreciação ética, tendo sido atendida as recomendações realizadas.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Atendida as recomendações anteriores, não há novas pendências.

Considerações Finais a critério do CEP:

PARECER DO RELATOR: (5)

Número do CAAE: 71428317.9.0000.5187

Data da 1ª relatoria: 02/08/2017

Data da 2ª relatoria: 21/08/2017

Situação do Projeto: Aprovado.

TÍTULO: Avaliação da estabilidade de bebida fermentada de leite de coco (*Cocos nucifera*) adicionada de cultura nativa potencialmente probiótica e jambolão (*Syzygium jambolanum*).

Apresentação do Projeto:

A definição amplamente adotada define os probióticos como microorganismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem um benefício para a saúde do hospedeiro. O tratamento com probióticos envolve a modulação do sistema imunológico tanto em nível local como sistêmico e os efeitos benéficos incluem quer a redução da duração das infecções quer a

Endereço: Av. das Baraúnas, 351- Campus Universitário
Bairro: Bodocongó CEP: 58.109-753
UF: PB Município: CAMPINA GRANDE
Telefone: (83)3315-3373 Fax: (83)3315-3373 E-mail: cep@uepb.edu.br

UNIVERSIDADE ESTADUAL DA
PARAÍBA - PRÓ-REITORIA DE
PÓS-GRADUAÇÃO E



Continuação do Parecer: 2.229.944

diminuição da suscetibilidade aos agentes patogênicos.

Objetivo da Pesquisa:

Formular uma bebida fermentada com propriedade funcional de base vegetal usando leite de coco (Cocos nucifera), polpa de jabolão (*Syzygium jambolanum*) e cultura nativa potencialmente probiótica de *Lactobacillus mucosae*.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Considerando os objetivos e o exposto na metodologia, observa-se que os procedimentos a serem realizados apresentam risco mínimo aos participantes da pesquisa.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O projeto apresenta aspectos metodológicos específicos de uma pesquisa científica para desenvolvimento de um produto com avaliação sensorial realizada pelos sujeitos da pesquisa.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória: Em sua segunda versão, a pesquisadora apresentou o Termo de Autorização Institucional e também o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido padronizado pela Resolução 466/12/CNS/MS.

Recomendações: O referido projeto de pesquisa encontra-se em sua segunda apreciação ética, tendo sido atendida as recomendações realizadas.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações: Atendida as recomendações anteriores, não há novas pendências.

Endereço: Av. das Baraúnas, 351- Campus Universitário
Bairro: Bodocongó **CEP:** 58.109-753
UF: PB **Município:** CAMPINA GRANDE
Telefone: (83)3315-3373 **Fax:** (83)3315-3373 **E-mail:** cep@uepb.edu.br

UNIVERSIDADE ESTADUAL DA
PARAÍBA - PRÓ-REITORIA DE
PÓS-GRADUAÇÃO E



Continuação do Parecer: 2.229.944

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_964260.pdf	15/08/2017 09:30:44		Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	carta_anuencia2Debora.pdf	15/08/2017 09:30:15	FLÁVIA CAROLINA ALONSO BURITI	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLEDeboracorrigido.pdf	15/08/2017 09:29:22	FLÁVIA CAROLINA ALONSO BURITI	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	ProjetoDeboraparaoCEP.docx	15/08/2017 09:27:55	FLÁVIA CAROLINA ALONSO BURITI	Aceito
Folha de Rosto	folhaDeRostoDeboraAssinada.pdf	18/07/2017 13:54:08	FLÁVIA CAROLINA ALONSO BURITI	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

CAMPINA GRANDE, 21 de Agosto de 2017

Assinado por:
Marconi do Ó Catão
(Coordenador)

Endereço: Av. das Baraúnas, 351- Campus Universitário
Bairro: Bodocongó CEP: 58.109-753
UF: PB Município: CAMPINA GRANDE
Telefone: (83)3315-3373 Fax: (83)3315-3373 E-mail: cep@uepb.edu.br