



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

**MARIA CARMÉLIA ALMEIDA NETA**

**APROVEITAMENTO DA CASCA DA JABUTICABA E SORO DA FABRICAÇÃO  
DE QUEIJO DE COAGULAÇÃO ENZIMÁTICA PARA A OBTENÇÃO DE BEBIDA  
LÁCTEA CREMOSA PROBIÓTICA**

**CAMPINA GRANDE**

**2018**

**MARIA CARMÉLIA ALMEIDA NETA**

**APROVEITAMENTO DA CASCA DA JABUTICABA E SORO DA FABRICAÇÃO  
DE QUEIJO DE COAGULAÇÃO ENZIMÁTICA PARA A OBTENÇÃO DE BEBIDA  
LÁCTEA CREMOSA PROBIÓTICA**

Dissertação para obtenção do grau de Mestre  
apresentada ao Programa de Pós-Graduação  
em Ciências Farmacêuticas da Universidade  
Estadual da Paraíba – UEPB  
Orientadora:  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Eliane Rolim Florentino

**CAMPINA GRANDE**

**2018**

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.

A447a Almeida Neta, Maria Carmélia.  
Aproveitamento da casca da jabuticaba e soro da fabricação de queijo de coagulação enzimática para a obtenção de bebida láctea cremosa probiótica [manuscrito] / Maria Carmélia Almeida Neta. - 2018.  
74 p. : il. colorido.  
Digitado.  
Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2019.  
"Orientação : Profa. Dra. Eliane Rolim Florentino, Departamento de Química - CCT."  
1. Jabuticaba. 2. Lactobacillus plantarum. 3. Soro de queijo. 4. Atividade antioxidante. I. Título  
21. ed. CDD 615.1

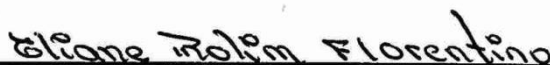
**MARIA CARMÉLIA ALMEIDA NETA**

**APROVEITAMENTO DA CASCA DA JABUTICABA E SORO DA FABRICAÇÃO  
DE QUEIJO DE COAGULAÇÃO ENZIMÁTICA PARA A OBTENÇÃO DE BEBIDA  
LÁCTEA CREMOSA PROBIÓTICA**

Dissertação para obtenção do grau de  
Mestre apresentada ao Programa de Pós  
Graduação em Ciências Farmacêuticas da  
Universidade Estadual da Paraíba – UEPB  
Orientadora:  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Eliane Rolim Florentino

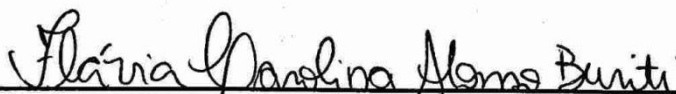
Aprovada em 20 / dezembro 2018

Banca examinadora



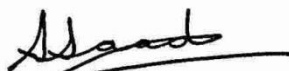
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Eliane Rolim Florentino (Orientadora/presidente)

Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Flávia Carolina Alonso Buriti (1º Examinadora)

Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Susana Marta Isay Saad (2º Examinadora)

Universidade de São Paulo (USP)

Campina Grande-PB

2018

## **Dedicatória**

A meus pais, irmãos, esposo, tia e especialmente minha  
filha Maria Ísis, este trabalho é uma vitória nossa

## AGRADECIMENTOS

Acima de tudo, agradecer a Deus por toda força, perseverança e coragem me enviada durante esses anos. Foi Ele que não me fez desistir.

À minha filha, Maria Ísis, meu maior tesouro, meu combustível de fé, força e coragem. Ela que surgiu de um jeito não planejado e só proporcionou vitórias em minha vida.

Aos meus pais, Febronia e Pedro, seres humanos inigualáveis, que confiaram no meu potencial e me impulsionavam a cada dia a busca deste objetivo, assim como meus irmãos (Gilmária, Gilberlanadia e Gilmar) e minha tia Francisca.

Ao meu esposo, Diego Teotônio, que compartilhou comigo durante esta trajetória todas as angustias, medos e incertezas, sendo sempre um homem forte e seguro, além de pai dedicado.

À minha companheira de mestrado e eterna amiga Marina pelas dificuldades superadas e vitórias obtidas.

Aos alunos de Iniciação Científica, voluntários e outros colaboradores que foram fundamentais para a conclusão deste trabalho.

À minha orientadora Dr.<sup>a</sup> Eliane Rolim Florentino, pelo apoio, compreensão e confiança para alcançar este objetivo.

À professora Dr.<sup>a</sup> Flávia Carolina Alonso Buriti, por toda paciência, ensinamentos e dedicação, sendo imprescindível para a realização deste trabalho. Exemplo de profissional a seguir.

À professora Wanda Izabel Monteiro de Lima Marsiglia pela contribuição no desenvolvimento de análises fundamentais a conclusão deste trabalho.

Ao Núcleo de Pesquisa e Extensão em Alimentos (NUPEA), e todos os técnicos que contribuíram direto e indiretamente para esta pesquisa.

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

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

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

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

A todos que torceram e contribuíram para a finalização deste ciclo, meu muito obrigado.

## RESUMO

Este trabalho teve por objetivos desenvolver uma bebida láctea cremosa fermentada probiótica utilizando a casca da jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) e uma cultura nativa potencialmente probiótica de *Lactobacillus plantarum* (cepa CNPC 003), comparando-a com uma bebida láctea contendo uma cultura probiótica comercial (*Lactobacillus rhamnosus* LR32) e uma bebida controle (sem probióticos). Houve a realização de vários testes pilotos até a obtenção de formulações apropriadas da bebida láctea cremosa. Foram produzidos três lotes de bebidas lácteas cremosas contendo extrato hidroalcoólico e calda obtidos do aproveitamento da casca de jabuticaba, sendo realizadas avaliações quanto à viabilidade do microrganismo nativo, da bactéria comercial com potencial probiótico e da cultura *starter*, análises de contaminantes (coliformes a 37°C e a 45°C), análises quanto às características físico químicas (pH e acidez titulável), composição centesimal, textura instrumental, teor de compostos fenólicos e capacidade antioxidante ao longo do armazenamento a  $4 \pm 1^\circ\text{C}$ , por até 21 dias, assim como avaliação sensorial realizada a partir de lote específico produzido para a determinação da aceitabilidade. A bebida láctea cremosa apresentou viabilidade de *Lactobacillus plantarum* superior a  $7 \log \text{UFC g}^{-1}$ , assim como a cultura probiótica comercial, ao longo do período de armazenamento (21 dias a  $4 \pm 1^\circ\text{C}$ ). Os teores de fenólicos totais (45-60 mg GAE  $100 \text{ g}^{-1}$ ) foram similares aos de outros estudos que avaliaram produtos lácteos contendo fontes vegetais. A respeito da capacidade antioxidante total, seriam necessários entre 200 g e 250 g de bebida láctea para a captura de 1 g de radicais DPPH. As formulações de bebidas lácteas cremosas foram consideradas de baixo teor de gordura, o que pode justificar a redução da consistência, a partir do décimo quarto dia do armazenamento. Também apresentaram aceitabilidade global adequada, cor atrativa e textura apreciável, porém com sabor ácido. A bebida láctea cremosa com *Lactobacillus plantarum* CNPC003 apresentou-se como uma alternativa viável para o reaproveitamento do soro de queijo e da casca de jabuticaba, além de poder auxiliar na promoção da saúde.

Palavras-chaves: Jabuticaba. *Lactobacillus plantarum*. Soro de queijo. Atividade antioxidante  
Textura.

## ABSTRACT

The objective of this study was to develop a probiotic fermented creamy milk drink using jabuticaba bark (*Myrciaria cauliflora*) and a potentially probiotic native culture of *Lactobacillus plantarum* (strain CNPC 003), comparing it to a dairy beverage containing a commercial probiotic culture (*Lactobacillus rhamnosus* LR32) and a control drink (without probiotics). A number of pilot tests was performed until appropriate creamy beverage formulations were obtained. Three batches of creamy milk drinks containing hydroalcoholic extract and syrup obtained from the use of jabuticaba peel were produced and evaluated for microbial viability of native and commercial bacteria with probiotic potential and also the *starter* culture, contaminant analyzes (total and thermotolerant coliforms), physicochemical analyzes (pH and titratable acidity), proximate composition, instrumental texture, total phenolic content and antioxidant capacity throughout storage at  $4 \pm 1$  ° C for up to 21 days, as well as sensory evaluation performed from a specific batch produced to determine acceptability. The creamy milk beverage presented viability of *Lactobacillus plantarum* higher than  $7 \log \text{CFU g}^{-1}$ , as well as the commercial probiotic culture. The total phenolic content (45-60 mg GAE  $100 \text{ g}^{-1}$ ) was similar to that of other studies evaluating dairy products containing plant sources. Regarding the total antioxidant capacity, portions between 200 g and 250 g of dairy beverage would be required to capture 1 g of DPPH radicals. Creamy milk beverage formulations were considered low in fat, which may justify a reduction in consistency, from the tenth fourth day of storage. Products also presented adequate global acceptability, attractive color and appreciable texture, but with an acidic flavor. Creamy drink with *Lactobacillus plantarum* CNPC003 was presented as a viable alternative for the reuse of cheese whey and jabuticaba peel, in addition to health promotion.

Keywords: Jabuticaba. *Lactobacillus plantarum*. Cheese whey. Antioxidant activity. Texture.



## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> – Estrutura de um composto fenólico. ....	19
<b>Figura 2</b> - Esquema das principais etapas realizadas no desenvolvimento da pesquisa.....	23
<b>Figura 3</b> - Bebidas lácteas cremosas dos três tratamentos avaliados ( T1,T2, T3).....	30
<b>Figura 4</b> - Valores de pH obtidos durante a fermentação da base láctea dos tratamentos T1, T2 e T3.....	39
<b>Figura 5</b> - Populações de <i>S. thermophilus</i> nos tratamentos T1, T2 e T3 (a) e de <i>Lactobacillus</i> spp. nos tratamentos T2 e T3 (b) durante a fermentação das bases lácteas. Cinza claro = tempo inicial, cinza escuro = tempo final.....	40

## LISTAS DE TABELAS

<b>Tabela 1</b>	Proporção de ingrediente para a produção da geleia nos ensaios definitivos. ....	26
<b>Tabela 2</b>	Produção da calda da casca de jabuticaba nos ensaios definitivos .....	27
<b>Tabela 3</b>	Proporção de cada componente das bebidas lácteas cremosas dos ensaios definitivos de cada componente das bebidas lácteas cremosas dos ensaios definitivos.....	30
<b>Tabela 4</b>	Populações de <i>S. thermophilus</i> e <i>Lactobacillus</i> sp e pH das bebidas lácteas cremosas ao longo do armazenamento a $4 \pm 1$ °C por 21 dias.....	42
<b>Tabela 5</b>	Valores de acidez titulável das bebidas lácteas cremosas ao longo do armazenamento a $4 \pm 1$ °C por 21 dias. ....	44
<b>Tabela 6</b>	Populações de microrganismos contaminantes detectadas nas bebidas lácteas T1, T2 e T3.....	45
<b>Tabela 7</b>	Composição centesimal das bebidas lácteas cremosas no primeiro dia de armazenamento sob refrigeração a $4 \pm 1$ °C.....	46
<b>Tabela 8</b>	Valores de compostos fenólicos totais, percentual de inibição de radicais DPPH, EC <sub>50</sub> e capacidade antioxidante total das bebidas lácteas cremosas ao longo do armazenamento a $4 \pm 1$ °C por 21 dias.....	49
<b>Tabela 9</b>	Parâmetros de firmeza, consistência, coesividade* e índice de viscosidade* das bebidas lácteas cremosas fermentada a $43 \pm 2$ °C nos dias 1, 7, 14 e 21. ....	53
<b>Tabela 10</b>	Aceitabilidade global (média $\pm$ desvio padrão) das formulações de bebida láctea cremosa com ingredientes da casca de jabuticaba após 7 e 21 dias de armazenamento. ....	55
<b>Tabela 11</b>	Atributos sensoriais analisados pelos julgadores (n=35) para as bebidas lácteas cremosas T1 = <i>S. thermophilus</i> TA40; T2 = <i>S. thermophilus</i> TA40 + <i>L. rhamnosus</i> LR32; T3 = <i>S. thermophilus</i> TA40 + <i>L. plantarum</i> CNPC003 nos dias 7 e 21 de armazenamento. ....	57

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO .....	11
2	REFERENCIAL TEÓRICO .....	13
2.1	Alimentos funcionais.....	13
2.2	Probióticos .....	14
2.3	Produtos lácteos fermentados e o desenvolvimento de bebidas lácteas .....	15
2.4	Antioxidantes naturais em produtos lácteos .....	17
2.5	Compostos fenólicos e atividade antioxidante.....	18
2.6	Potencial da casca de jabuticaba como fonte de antioxidantes em produtos lácteos .....	20
3	OBJETIVOS.....	22
3.1	Objetivo Geral.....	22
3.2	Objetivos Específicos .....	22
4	METODOLOGIA .....	23
4.1	Obtenção dos frutos e resíduos da jabuticaba .....	24
4.2	Preparo do extrato aquoso .....	24
4.3	Preparo do extrato hidroalcoólico.....	25
4.4	Preparo da geleia da casca de jabuticaba .....	25
4.5	Preparo da calda de casca de jabuticaba.....	26
4.6	Desenvolvimento das bebidas lácteas fermentadas probióticas .....	27
4.6.1	<i>Preparo da base láctea.....</i>	<i>27</i>
4.6.2	<i>Processo de fermentação.....</i>	<i>28</i>
4.6.3	<i>Obtenção da bebida láctea cremosa fermentada probiótica – ensaios preliminares</i>	<i>28</i>
4.6.4	<i>Produção da bebida láctea cremosa probiótica – ensaios definitivos.....</i>	<i>29</i>
4.7	Períodos de amostragem .....	31
4.8	Análises físico-químicas e microbiológicas das bebidas lácteas cremosas probióticas .....	31
4.8.1	<i>Valores de pH, acidez titulável, cultura starter e culturas probióticas durante processo fermentativo e ao longo armazenamento.....</i>	<i>31</i>
4.8.2	<i>Determinação de contaminantes.....</i>	<i>32</i>
4.9	Composição centesimal.....	33

<b>4.10</b>	<b>Análise de compostos fenólicos totais e capacidade antioxidante.....</b>	<b>33</b>
<b>4.10.1</b>	<b><i>Obtenção dos extratos das bebidas lácteas para análise de fenólicos e de atividade antioxidante.....</i></b>	<b>33</b>
<b>4.10.2</b>	<b><i>Análise de fenólicos totais, ensaio com DPPH e cálculo da capacidade antioxidante.....</i></b>	<b>33</b>
<b>4.11</b>	<b>Análise da textura instrumental das bebidas lácteas fermentadas .....</b>	<b>35</b>
<b>4.12</b>	<b>Avaliação sensorial de bebidas lácteas cremosas fermentadas.....</b>	<b>35</b>
<b>4.13</b>	<b>Análise estatística.....</b>	<b>36</b>
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>37</b>
<b>5.1</b>	<b>Preparo do extrato aquoso.....</b>	<b>37</b>
<b>5.2</b>	<b>Preparo do extrato hidroalcoólico.....</b>	<b>37</b>
<b>5.3</b>	<b>Preparo da geleia da casca de jabuticaba.....</b>	<b>38</b>
<b>5.4</b>	<b>Preparo da calda de casca de jabuticaba.....</b>	<b>38</b>
<b>5.5</b>	<b>Análises físico-químicas e microbiológicas das bebidas lácteas fermentadas probióticas .....</b>	<b>38</b>
<b>5.5.1</b>	<b><i>Valores de pH, acidez titulável, cultura starter e culturas probióticas durante processo fermentativo e ao longo armazenamento.....</i></b>	<b>38</b>
<b>5.6</b>	<b>Análises de contaminantes .....</b>	<b>44</b>
<b>5.6.1</b>	<b><i>Coliformes totais e termotolerantes ( 35°C a 45°C) .....</i></b>	<b>44</b>
<b>5.7</b>	<b>Composição centesimal.....</b>	<b>46</b>
<b>5.8</b>	<b>Análise de compostos fenólicos totais e capacidade antioxidante.....</b>	<b>47</b>
<b>5.9</b>	<b>Análise da textura instrumental das bebidas lácteas cremosas.....</b>	<b>51</b>
<b>5.10</b>	<b>Avaliação sensorial de bebidas lácteas cremosas fermentadas.....</b>	<b>55</b>
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO .....</b>	<b>59</b>
<b>7</b>	<b>TRABALHOS RESULTANTES DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO .....</b>	<b>60</b>
	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>62</b>
	<b>ANEXOS.....</b>	<b>71</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A alimentação atualmente apresenta relação direta com o bem-estar mental e prevenção de doenças nutricionais. Nos últimos anos, pesquisas de mercado e acadêmicas destacaram a crescente conscientização e interesse dos consumidores quanto aos alimentos funcionais (KAUR; SINGH, 2017).

Vários fatores vêm influenciando o consumidor neste aspecto, tais como o reconhecimento do papel dos alimentos na preservação da saúde, o aumento da expectativa de vida e o aumento dos custos de cuidados de saúde, devido à prevalência de problemas de saúde como a hipertensão arterial, colesterol, glicemia, obesidade, risco de doenças cardiovasculares e câncer (KAUR; SINGH, 2017).

A produção de bebidas lácteas vem aumentando mundialmente devido à sua tecnologia de produção simples e ampla aceitação pelos consumidores; elas foram caracterizadas como um uso alternativo para o soro de leite de ovelha, cabra e vaca resultante da produção de queijos de coagulação enzimática e merecem destaque devido às importantes propriedades nutricionais e por possibilitarem produção de fermentados lácteos (GOMES et al., 2013). Alguns alimentos fermentados podem apresentar em sua composição bactérias probióticas, as quais apresentam efeitos benéficos à saúde quando vivas e disponíveis em números elevados, geralmente de  $10^8$  a  $10^9$  UFC  $g^{-1}$  ou  $ml^{-1}$ , além de serem capazes de sobreviverem às condições adversas do trato gastrointestinal (SIDIRA et al., 2015).

Os probióticos atuam por mecanismos de produção de substâncias antimicrobianas, inibição do epitélio, aderência a patógenos na mucosa, competição por nutrientes limitados, modulação do sistema imunológico e instrução da composição intestinal e atividade de microbiota (WAN et al., 2016).

Novas técnicas para caracterização de isolados de probióticos são utilizadas em laboratórios, porém o acesso a muitos países devido a razões econômicas é limitado. Neste contexto, é desejável a acessibilidade de novas técnicas para permitir o rastreio de novos isolados com o objetivo de identificar potenciais candidatos para a formulação de alimentos probióticos para o mercado local (VINDEROLA et al, 2008).

Na indústria alimentícia, as matérias-primas descartadas, em sua maioria, apresentam características mais nutritivas do que partes habitualmente comestíveis e, portanto, os alimentos produzidos a partir daqueles subprodutos poderiam ter finalidade mais benéfica ao ser humano e ao meio ambiente por meio de seu reaproveitamento, como aqueles

provenientes de frutos que são as cascas, caroços, sementes e bagaços (PADILHA; BASSO, 2015).

A jabuticaba e seus produtos derivados têm sua composição e valor nutricional provenientes de alto conteúdo de carboidratos (principalmente glicose e frutose), de fibras alimentares, minerais como ferro, cálcio e fósforo, de vitaminas e compostos bioativos, como ácido ascórbico, carotenoides e compostos fenólicos (MORALES et al., 2016). Partindo do saber que a maior parte dos compostos fenólicos da jabuticaba encontra-se em sua casca, deve-se buscar alternativas para a utilização desta fração a fim de se fazer uso das propriedades antioxidantes do fruto, bem como aumentar sua vida útil por meio do desenvolvimento de produtos (LIMA et al., 2008).

Nesta perspectiva, o uso de culturas nativas probióticas juntamente com resíduos agroindustriais como o soro de leite e cascas de jabuticaba poderia proporcionar a produção de produtos benéficos à saúde de custo acessível ao consumidor, como também um melhor aproveitamento de resíduos, de modo a reduzir o impacto ambiental que o descarte destes pode ocasionar.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Alimentos funcionais

Com o aumento da população mundial e diminuição dos recursos naturais, o aproveitamento de alimentos suficientemente nutritivos torna-se um problema sério, visto que mais de dois bilhões de pessoas em todo o mundo apresentam deficiências crônicas de micronutrientes. Nesse sentido, a prospecção de fontes naturais de alimentos é uma solução. Ao longo dos anos, muitas fontes de alimentos subutilizadas foram sendo reconhecidas como alimentos funcionais (PATEL, 2017).

Os alimentos funcionais têm por objetivo o reforço da dieta através de substâncias que fornecem benefícios adicionais aos da alimentação habitual do consumidor, podendo reduzir o risco de doenças. No entanto, não podem ser destinados ao tratamento de doenças agudas ou à utilização de cuidados paliativos (BALDISSERA et al., 2011).

Os alimentos industrializados são comumente desenvolvidos para atender as exigências dos consumidores em relação ao sabor, aparência, valor de mercado, e praticidade para o consumo. O desenvolvimento de produtos que proporcionam efeitos benéficos na saúde tem sido uma tendência que reflete o aumento da aceitação do papel da dieta na redução dos riscos de doenças crônicas. Nos últimos anos, tem havido um aumento do interesse da indústria de alimentos na incorporação de ingredientes com propriedades benéficas à saúde (ALEZANDRO et al., 2011).

A relação entre dieta e saúde, destacada nas atuais evidências científicas, têm permitido o surgimento de um mercado de alimentos diferenciados, de rápido crescimento em período recente, com enfoque no extraordinário potencial dos alimentos em melhorar o estado de saúde dos consumidores, em especial, na redução da incidência de doenças crônicas (BALDISSERA et al., 2011).

Os produtos alimentares que têm como alvo melhorias das funções fisiológicas dos consumidores também são conhecidos como alimentos funcionais, os quais vem apresentando elevado desenvolvimento no mercado em todo o mundo, uma vez que novos produtos vêm sendo lançados continuamente (SIEGRIST et al., 2015).

O incentivo para se ampliar o desenvolvimento de produtos funcionais também teve como contribuintes o aumento da expectativa de vida e o aumento dos custos dos cuidados de saúde. Portanto, não é surpreendente que a indústria alimentar e pesquisadores invistam recursos substanciais no desenvolvimento de novos produtos alimentícios funcionais e

tecnologias para obtenção de tais alimentos. Porém os alimentos funcionais só poderão ser considerados viáveis a partir da aceitação dos consumidores para incorporá-los como parte de sua dieta diária, tornando importante uma compreensão de como os consumidores aceitam estes produtos como alternativa de saúde e quais fatores permitem a sua compra (SIEGRIST et al., 2015).

Um alimento funcional é definido como alimentos e componentes alimentares que, além da nutrição básica, trazem benefício à saúde, fornecendo nutrientes essenciais muitas vezes além da quantidade necessária para manutenção, desenvolvimento e crescimento normais e/ou componentes biologicamente ativos que trazem benefícios à saúde ou têm efeitos fisiológicos desejáveis (INSTITUTE OF FOOD TECHNOLOGISTS, 2017).

## 2.2 Probióticos

Eli Metchnikoff em 1907 apresentou pela primeira vez o termo probiótico e, desde então, os “probióticos” são cada vez mais usados com o objetivo de beneficiar o sistema imune do hospedeiro humano, apresentando ampla escala de uso nos tratos respiratório, gastrointestinal, urogenital, nas doenças alérgicas, autoimunes e cânceres (DE ARAÚJO et al., 2015).

Os probióticos referem-se a uma gama de espécies microbianas veiculadas em uma dose funcional para utilização em alimentos ou suplementos alimentares (HILL et al., 2014). A comprovação do benefício para probióticos requer demonstração da sobrevivência às condições do trato digestório humano e evidência de efeito em humanos (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2018).

Os probióticos têm como mecanismo de ação três efeitos principais: eles podem modular o recebimento de respostas inflamatórias, exercem efeitos diretos contra bactérias patogênicas ou produzem efeitos indiretos contra estas bactérias. A maioria dos probióticos pertence ao gênero *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*, podendo ser encontrados em vários veículos como pastilhas, goma, leite, queijo, iogurte, sorvete, gotas, em pó, entre outros (LALEMAN; TEUGHEL, 2015).

Os probióticos são bactérias não patogênicas ou leveduras que podem sobreviver ao ambiente severo no trato gastrointestinal conferindo benefícios à saúde ao hospedeiro. Nos últimos anos, a ciência tem projetado por técnicas de engenharia novas funções terapêuticas para os probióticos, direcionando sua atuação para doenças como colite, diabetes e infecções pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) (CHUA et al., 2017).



O emprego de bactérias probióticas em produtos lácteos fermentados tem sido amplamente estudado, visto que, durante o armazenamento sob-refrigeração, a viabilidade destes microrganismos pode ser comprometida. Dessa forma, as bactérias probióticas devem apresentar boa viabilidade durante toda estocagem para que sejam utilizadas na produção em escala industrial e de processamento (JARDIM, 2012).

As bactérias lácticas (BAL) têm maior evidência clínica por utilização como probióticas, melhorando a função intestinal e o estado imunológico de humanos e animais. As BAL são definidas como não tóxicas e não patogênicas, caracterizadas pela produção de ácido láctico a partir de hidratos de carbono, o que as torna úteis como culturas iniciadoras para a fermentação de alimentos (SÁNCHEZ; TROMPS, 2014).

Sánchez e Tromps (2014) afirmaram que as pesquisas com BAL mostram uma série de potenciais benefícios para a saúde. Os efeitos descritos para as BAL só podem ser atribuídos às cepas analisadas em cada estudo e não podem ser generalizadas para todas as espécies ou para todo o grupo ou outras cepas probióticas (GAGGIA; MATARELLI; BIAVATI, 2010).

Novas estirpes de probióticos são testadas partindo da premissa que a busca por novas culturas probióticas possam proporcionar o desenvolvimento de diversos produtos, sendo necessário a inovação de técnicas de isolamento e caracterização, principalmente nos países em desenvolvimento (VINDEROLA et al., 2008).

As doenças crônicas normalmente estão relacionadas aos sistemas imunológico e gastrointestinal, desse modo, a caracterização de novas estirpes de probióticos, pode proporcionar uma prevenção destas doenças, além de contribuírem para a redução dos custos para o processamento e aumento do consumo de produtos com probióticos (VINDEROLA et al., 2008).

### **2.3 Produtos lácteos fermentados e o desenvolvimento de bebidas lácteas**

Um dos métodos mais antigos para o desenvolvimento de novos produtos lácteos que permite a conservação do leite é a fermentação (FIORENTINI et al., 2011). Os consumidores de produtos lácteos funcionais podem ter sua necessidade atendida, em virtude destes produtos serem considerados alimentos nutricionalmente completos, com quantidades importantes de componentes bioativos e que ainda podem ser potencializados (BALDISSERA et al., 2011).

O soro lácteo contém, aproximadamente, 55% dos nutrientes do leite e representa de 80 a 90% do volume total desse alimento quando utilizado durante a produção de queijos. O soro, pode tanto ser utilizado em sua forma concentrada, a partir da consideração de seu alto teor de água, com a finalidade de agregar valor ao produto e a seus derivados, como também na sua forma original para a produção de bebidas lácteas, carreando importantes nutrientes contidos no leite, como as proteínas solúveis, lactose, vitaminas, minerais e uma quantidade mínima de gordura (ALVES et al., 2014). Seu emprego para a produção de bebidas lácteas, por exemplo, pode contribuir à diversificação do perfil proteico do produto final com a incorporação de proteínas solúveis típicas do soro e, também, para elevar o teor de lactose, importante fonte de galactose, requerida à manutenção das atividades cerebrais normais. O processamento do soro contribui para a geração de receita às organizações do setor de lácteos e para a redução de seu impacto ambiental, pois o soro apresenta alto poder poluente e requer elevado tratamento (RIBEIRO et al., 2014).

O excesso de soro de leite consiste em um dos maiores problemas enfrentados pelas indústrias de laticínios. Em vista disso, algumas indústrias, infelizmente, optam pelo seu descarte diretamente na rede pública, rios e lagos, sendo que, em relação ao esgoto doméstico, o soro apresenta, aproximadamente, poder de poluição 100 vezes maior (SIQUEIRA; MACHADO; STAMFORD, 2013).

O soro de leite é um importante coproduto, gerado pelos laticínios através da caseificação, ou seja, após a coagulação da caseína, variando suas características de acordo com a qualidade do leite e da tipologia de processamento (BALDISSERA et al., 2011). Por esse motivo, há uma preocupação recorrente em gerar aplicabilidade ao soro de queijo em novos alimentos, como as bebidas lácteas. Destaca-se ainda que no território brasileiro, cerca de 50% do soro não é aproveitado, gerando desperdícios nutricionais, financeiros e impactos ambientais relevantes, já que é um resíduo com alto teor de matéria orgânica (MAGALHÃES et al., 2011).

A produção de bebida láctea adicionada de soro de queijo em sua formulação vem se destacando no mercado e, um dos principais fatores, é o papel dos componentes bioativos para a saúde e a possibilidade de adição de microrganismos probióticos. O termo “bebidas lácteas” tem sentido amplo e pode englobar uma série de produtos fabricados com leite e soro (THAMER; PENNA, 2006).

De acordo com a definição oficial da legislação brasileira, bebida láctea é 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. Nesta categoria de produto, a base láctea deve representar pelo menos 51% (cinquenta e um por cento) massa/massa (m/m) do total de ingredientes (BRASIL, 2005).

Atualmente, muitos estudos têm demonstrado o potencial das bebidas lácteas como alimento probiótico, em função da sua capacidade em carrear tais microrganismos pelo trato gastrointestinal, e como estimulador desses microrganismos no alimento e da microbiota benéfica do intestino, em decorrência das propriedades funcionais do soro de queijo (CASTRO, 2012). A produção de bebidas lácteas é atraente para as indústrias de laticínios, em virtude do processo simples de fabricação, da possibilidade de utilização dos mesmos equipamentos para tratamento do leite, das excelentes propriedades funcionais das proteínas do soro, além da redução dos gastos com tratamento de efluentes (CASTRO, 2012).

#### **2.4 Antioxidantes naturais em produtos lácteos**

Comumente, vem sendo observado uma maior valorização de alimentos com potencial antioxidante (PRASAD et al., 2012). Os produtos naturais e alimentos saudáveis são interessantes para a melhoria do bem-estar geral, por meio da prevenção de doenças e promoção da saúde, através de substâncias que agem como aditivos alimentares quando incorporadas na dieta (ALENISAN et al., 2017)

Estudos epidemiológicos atestam que os antioxidantes naturais contidos em alimentos são mais consumidos do que os produtos sintéticos, visto atuarem podendo diminuir a incidência de tipos específicos de câncer, hipertensão, diabetes e doenças cardiovasculares, especialmente, nos países em desenvolvimento onde a maioria das pessoas tem recursos e acesso a tratamentos modernos de maneira limitada (ALENISAN et al., 2017).

Os produtos lácteos representam alimentos promissores à saúde devido também à sua relação com o potencial antioxidante proveniente de uma variedade de moléculas presentes no leite capazes de sequestrar radicais livres (NIERO et al., 2014). Plantas medicinais ricas em compostos fenólicos vêm sendo bastante utilizadas em produtos lácteos para a obtenção de melhores propriedades nutricionais e terapêuticas. As bebidas lácteas fermentadas são associadas a benefícios para a saúde devido à presença de grandes quantidades de compostos fenólicos e suas propriedades antioxidantes, exibindo um papel importante na prevenção de processos deletérios como o envelhecimento, diabetes, câncer, distúrbios neurológicos, aterosclerose e doenças cardiovasculares (MARTINS et al., 2014).

Os antioxidantes naturais são usados para substituir substâncias sintéticas causadoras

de danos, em produtos alimentares. Apresentam importância na ciência alimentar, devido à sua capacidade para prevenir a oxidação lipídica em alimentos e para diminuir os efeitos negativos das espécies reativas de oxigênio em várias funções fisiológicas nos seres humanos. Os compostos fenólicos, que são abundantemente distribuídos em plantas, estão entre os antioxidantes naturais mais estudados em função da preferência dos consumidores (BERTOLINO et al., 2015).

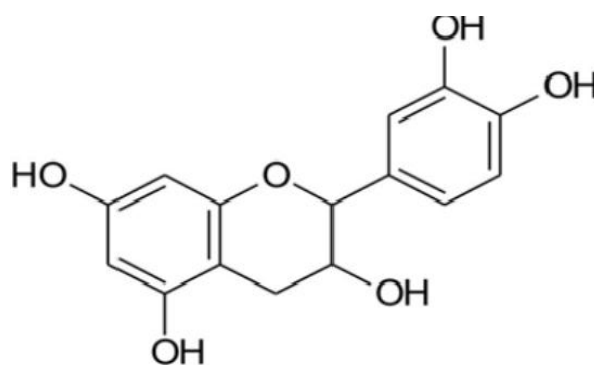
A ação antioxidante natural desejável segue propriedades como eficácia em baixas concentrações (0,001% a 0,01%), ausência de efeitos indesejáveis na cor, no odor, no sabor e em outras características do alimento, compatibilidade com o alimento e seus constituintes, fácil aplicação e estabilidade nas condições de processo e armazenamento. O composto antioxidante e seus produtos de oxidação não podem ser tóxicos, mesmo em doses muito maiores das que normalmente seriam ingeridas no alimento (SOUZA, 2013).

## **2.5 Compostos fenólicos e atividade antioxidante**

Os compostos fenólicos são substâncias com distribuição ampla na natureza, que faz parte dos constituintes de uma variedade dos vegetais, frutas e produtos industrializados, apresentados como pigmentos que colorem os alimentos ou produtos do metabolismo secundário de reações de defesa das plantas. Estes compostos agem como antioxidantes tanto pela habilidade em doar elétrons ou hidrogênio como também pela ação de seus radicais intermediários que impedem a oxidação nos alimentos (SILVA et al., 2010).

Quimicamente, os compostos fenólicos são definidos como substâncias que possuem anel aromático com uma ou mais hidroxilas (**Figura 1**) incluindo seus grupos funcionais. São multifuncionais, pois possuem estrutura variável. Existem cerca de cinco mil derivados fenólicos e, dentre eles, destacam-se os flavonoides, ácidos fenólicos, fenóis simples, cumarinas, taninos, ligninas e tocoferóis (ANGELO; JORGE, 2007).

**Figura 1** – Estrutura de um composto fenólico.



Fonte: Ângelo e Jorge (2007).

As inúmeras pesquisas têm trabalhado na separação, identificação, quantificação e aplicação dos compostos fenólicos em alimentos, tendo como impasses muitos problemas metodológicos, pois, além de englobarem uma gama enorme de substâncias, são, na maioria das vezes, de grande polaridade, muito reativos e susceptíveis à ação de enzimas. Os métodos realizados em análises de compostos fenólicos podem ser classificados em determinação de compostos fenólicos totais, quantificação individual e/ou de um grupo ou classe de compostos fenólicos (ANGELO; JORGE, 2007).

A quantificação de compostos fenólicos totais revela informações relacionadas à atividade antioxidante, qualidade do alimento e potencial benéfico à saúde. As moléculas típicas de antioxidantes são derivadas das formas isoméricas dos polifenóis e flavonas, isoflavonas, flavonóis, catequinas, cumarinas, ácidos fenólicos e outras substâncias encontradas nos vegetais (SUCUPIRA, 2012).

Diversos são os métodos existentes para avaliar a atividade antioxidante *in vitro* de substâncias biologicamente ativas, envolvendo desde ensaios químicos com substratos lipídicos a ensaios mais complexos utilizando as mais diversas técnicas instrumentais (ALVES et al., 2010). Em geral, eles se baseiam na capacidade de eliminar radicais (2,2'-azino-bis 3-ácido etilbenzotiazolína-6-sulfônico, o ABTS; 2,2-difenil-1-(2,4,6-trinitrofenil) hidrazila (o DPPH). na capacidade de absorção do radical oxigênio, (o ORAC), em fotoquimioluminiscência (PCL) ou em potenciais de redução de compostos (potencial oxidante de redução férrica, FRAP) (MARECEK et al., 2017).

Os testes antioxidantes em alimentos e sistemas biológicos classificam-se em dois grupos: os ensaios usados para avaliar peroxidação lipídica, no qual um lipídio ou substrato lipoproteico, sob condições controladas, é usado e o grau de inibição da oxidação é medido; e

os ensaios usados para medir a habilidade de sequestro de radicais livres. Um método de maior destaque é o DPPH (SÁNCHEZ-MORENO et al., 1998).

A molécula de DPPH é caracterizada como um radical livre estável em virtude da deslocalização do elétron desemparelhado por toda a molécula, o que a confere uma coloração violeta, caracterizada por uma banda de absorção em etanol em cerca de 520 nm. Este ensaio se baseia na medida da capacidade antioxidante de uma determinada substância em sequestrar o radical DPPH, reduzindo-o a hidrazina. Quando uma determinada substância que age como doador de átomos de hidrogênio é adicionada a uma solução de DPPH, a hidrazina é obtida com mudança simultânea na coloração de violeta a amarelo pálido (ALVES et al., 2010; SANCHEZ-MORENO et al., 1998).

Sánchez-Moreno et al. (1998) sugeriram uma metodologia para a avaliação da atividade antioxidante considerando além da concentração do antioxidante, o tempo de reação necessário para sequestrar este radical, introduzindo assim a eficiência antirradicalar como um novo parâmetro. Neste contexto ao avaliar, as atividades antioxidantes de vinhos tinto, rosé e branco, concluiu-se que existe uma correlação entre eficiência antirradicalar e a concentração de polifenóis presentes nos vinhos.

## **2.6 Potencial da casca de jabuticaba como fonte de antioxidantes em produtos lácteos**

Nos últimos anos, houve um interesse crescente na indústria pela substituição de aditivos artificiais por compostos naturais. O potencial antioxidante de muitos compostos naturais foi relatado e atualmente, existe uma tendência global de uso de coprodutos da indústria de frutas como fonte de antioxidantes naturais (VICTOR-ORTEGA et al., 2017).

A jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*), pertencente à família Myrtaceae, é uma fruta brasileira generalizada, que tem a mesma forma e tamanho que as uvas, apresentando uma cor roxa profunda a preta, de sabor agradável e gosto doce, proveniente de sua polpa. A casca é uma fonte potencial de antioxidantes naturais (DE SÁ, 2014). Como a uva, a jabuticaba também perece rapidamente; portanto, deve ser consumida em pouco tempo após a colheita. Esta fruta é muito popular no Brasil, usada na produção de geleias, sorvetes, sucos e bebidas alcoólicas, assim como utilizada na medicina popular para tratar asma, inflamação da garganta e distúrbios gastrointestinais. Ainda, pode-se destacar o uso das folhas de jabuticaba na atividade antimicrobiana para *Streptococcus* e culturas de *Candida* da cavidade oral (DE SÁ, 2014).

A jabuticaba apresenta grande valor nutricional, possuindo alto teor de carboidratos, fibras, vitaminas, sais minerais como ferro, cálcio e fósforo, e principalmente compostos

fenólicos, os quais apresentam elevado potencial benéfico à saúde. Uma vez que a maior parte de compostos fenólicos da jabuticaba encontra-se em sua casca, deve-se buscar alternativas para a utilização desta fração, visto que a ingestão de alimentos com elevados teores de compostos fenólicos associa-se à redução do estresse oxidativo, prevenção de doenças cardiovasculares, proteção contra a obesidade e hiperglicemia e além de melhora da memória (ALMEIDA et al., 2015).

A casca da jabuticaba apresenta-se como alternativa viável na obtenção de corantes, pois se trata de uma boa fonte de pigmentos antocianínicos por apresentar altos teores desses compostos bioativos. Quando comparada a outras frações do fruto, a casca da jabuticaba apresenta maior teor de fibras alimentares e de sais minerais. Além de cumprir sua função básica que é colorir, pode ainda trazer o benefício de suas propriedades funcionais e nutricionais (ZICKER, 2011). Neste sentido, a utilização da casca de jabuticaba no desenvolvimento de produtos lácteos probióticos aparece como uma alternativa inovadora (LIMA et.al., 2008).

A maioria dos produtos lácteos disponíveis atualmente apresenta em sua composição polpas e extratos de frutos (ZICKER, 2011). No entanto, durante o processamento de algumas frutas, a maioria das substâncias de interesse é encontrada em partes que são desprezadas, como cascas e bagaços, o que gera um enorme volume de resíduos. Portanto, é de grande interesse agregar valor a estes subprodutos, indicando assim uma solução viável para o enriquecimento da alimentação humana, além de dar destino a estes resíduos, evitando poluição (MARQUES, 2013).

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 Objetivo Geral

Desenvolver uma bebida láctea cremosa probiótica utilizando soro de queijo de coagulação enzimática, ingredientes provenientes da casca da jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) produzida com uma cultura nativa potencialmente probiótica de *Lactobacillus plantarum* (cepa CNPC 003) e comparar com uma bebida láctea contendo uma cultura probiótica comercial (*Lactobacillus rhamnosus* LR32) e uma bebida controle (sem probióticos).

#### 3.2 Objetivos Específicos

São objetivos específicos do presente trabalho:

- a) selecionar um tratamento na casca de jabuticaba de modo a obter extrato aquoso e hidroalcolico, geleia e calda para serem adicionados às formulações de bebida láctea cremosa;
- b) comparar os produtos quanto às suas características físico-químicas, microbiológicas e composição centesimal das bebidas lácteas cremosas;
- c) analisar o perfil de textura das bebidas lácteas cremosas;
- d) avaliar o teor de compostos fenólicos totais presentes na casca, extrato hidroalcolico, calda e geleia de jabuticaba;
- e) avaliar o teor de compostos fenólicos totais, atividade antioxidante nas formulações de bebidas lácteas cremosas probióticas;
- f) avaliar, quanto às características sensoriais, a aceitabilidade global, atributos preferidos e não preferidos das bebidas lácteas cremosas ao longo do armazenamento pelos consumidores.

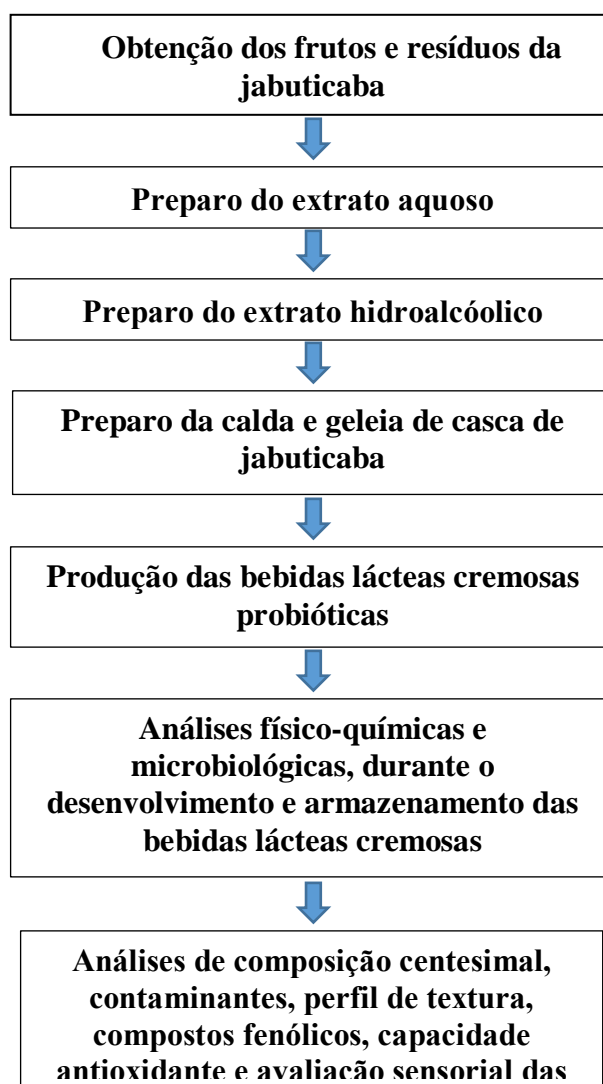


## 4 METODOLOGIA

O desenvolvimento dos produtos e suas análises ocorreram no Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento e Extensão em Alimentos (NUPEA), localizado no Departamento de Química da Universidade Estadual da Paraíba (UEPB) e no Laboratório de Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), em Campina Grande-PB.

Na Figura 2 encontram-se, resumidamente, as principais etapas de desenvolvimento da pesquisa.

**Figura 2** – Esquema das principais etapas realizadas no desenvolvimento da pesquisa.



Fonte: própria.

Foram desenvolvidos e avaliados três diferentes tratamentos de bebidas lácteas cremosas: tratamento controle tradicional T1 – com a cultura *Streptococcus thermophilus*

TA40 (DuPont); tratamento controle probiótico T2 – produzido com *S. thermophilus* TA40 e a cultura comercial potencialmente probiótica de *Lactobacillus rhamnosus* LR32 (DuPont); tratamento experimental T3 – produzido com *S. thermophilus* TA40 e a cultura nativa potencialmente probiótica de *Lactobacillus plantarum* CNPC 003 (EMBRAPA). Todos os tratamentos foram produzidos a partir do uso de ingredientes provenientes de casca de jabuticaba (calda, geleia, extrato aquoso e hidroalcoólico) e soro de leite.

#### 4.1 Obtenção dos frutos e resíduos da jabuticaba

Os frutos foram obtidos no comércio local da cidade de Campina Grande-PB, durante a safra de jabuticaba nos meses de março a abril dos anos de 2014 e 2015, sendo os mesmos selecionados, lavados e higienizados com hipoclorito de sódio em solução (200 mg L<sup>-1</sup> de cloro livre). As frações da jabuticaba foram separadas (polpa, casca e semente) por despulpamento manual e suas cascas foram congeladas a -18 °C.

#### 4.2 Preparo do extrato aquoso

Para hidrólise parcial e solubilização dos taninos, responsáveis pelo gosto adstringente, as cascas foram tratadas em meio ácido em temperatura ambiente pela adição de suco de limão na proporção de 1,0: 2,0: 0,15 (cascas de jabuticaba: água destilada: suco de limão) por 45 minutos. A seguir, as cascas foram enxaguadas, trituradas com água destilada em uma proporção de 1:1,7 (casca: água) e filtradas em redes de nylon para separação do resíduo de cascas do filtrado. Utilizou-se o filtrado para triturações sequenciais de outras cascas, até a obtenção de um extrato aquoso contendo 2,5% de sólidos solúveis, para posterior produção de geleia e calda de jabuticaba. O resíduo obtido a cada trituração foi armazenado a 4 °C, para ser manipulado futuramente na produção do extrato hidroalcoólico.

O rendimento da produção de extrato aquoso, equação (1), foi avaliado em relação à quantidade total de extrato aquoso obtido ( $Q$  igual a 221,7 g) pelo somatório das cascas acidificadas (90,5 g) com a quantidade de água utilizada para a trituração (170 g) ( $n$  igual a 260,5 g):

$$\text{Rendimento (\%)} = \frac{Q}{n} \times 100 \quad (1),$$

### 4.3 Preparo do extrato hidroalcoólico

O extrato hidroalcoólico foi produzido a partir do resíduo originado pela produção do extrato aquoso utilizando o método descrito por Cruz (2013) para o aproveitamento do resíduo da indústria vitivinícola, com adaptações. O resíduo da obtenção do extrato aquoso da casca da jaboticaba foi hidratado com água estéril durante 1 hora e distribuído em frascos de Erlenmeyer, juntamente com álcool potável (álcool etílico extra-neutro, Usina Giasa, Biosev). Foi utilizada a proporção de 1:9, sendo 10 g do resíduo para 90 mL do álcool potável a 30% e acidificado até pH 4,0, totalizando 100 ml. A extração foi realizada em banho de ultrassom por 2 horas, em temperatura de 50 °C, sem a utilização de refluxo. O resíduo foi filtrado em redes de nylon. O extrato hidroalcoólico obtido de três filtrações (considerando três extrações, cada uma delas usando 10 g de resíduo para 90 mL de álcool) foi colocado em béqueres de 1000 mL para secagem em estufa de circulação de ar, em temperatura constante de 50 °C, até a obtenção de um volume padronizado de 15 ml. O extrato foi devidamente armazenado em tubos criogênicos a -18 °C, sendo acrescentado nas formulações na proporção de 2% (18,7 g de extrato hidroalcoólico para 935 g de base láctea), de modo a auxiliar na coloração, como também no aumento do teor de compostos fenólicos do produto final.

O rendimento da produção de extrato hidroalcoólico, equação (2), foi avaliado em relação à quantidade total de extrato hidroalcoólico obtido considerando 3 extrações ( $Q$  igual a 15 g) pelo somatório da quantidade de resíduo (30 g) com a quantidade de álcool comestível utilizada para as 3 extrações (270 g) ( $n$  igual a 300 g):

$$\text{Rendimento (\%)} = \frac{Q}{n} \times 100 \quad (2),$$

### 4.4 Preparo da geleia da casca de jaboticaba

Para o preparo da geleia utilizou-se o extrato aquoso com 2,5% de sólidos solúveis, obtido conforme descrito na subseção 4.2, adicionado de açúcar e pectina. Vários ensaios preliminares foram feitos até a obtenção da geleia adequada, de modo que a formulação usada para os ensaios definitivos foi produzida pela fervura, sob baixo aquecimento, dos ingredientes citados até a obtenção de 60% de sólidos solúveis, no qual a geleia apresenta textura apropriada para o acompanhamento de bebida láctea cremosa. A **Tabela 1** apresenta

as proporções dos ingredientes utilizados no preparo da geleia. A geleia foi distribuída em potes plásticos na quantidade de 12 - 13 g.

**Tabela 1** – Proporção de ingrediente para a produção da geleia nos ensaios definitivos.

<b>Componentes</b>	<b>Proporção</b>
Extrato aquoso (2,5% de sólidos solúveis)	66,35%
Açúcar comercial (sacarose)	33,17%
Pectina (YF310, DuPont)	0,41%
Corante natural carmim de cochonilha	0,0044%

Fonte: dados de pesquisa.

O rendimento da produção de geleia de jabuticaba, equação (3), foi avaliado em relação à quantidade total de geleia obtida ( $Q$  igual a 416 g) pelo somatório das quantidades de cada ingrediente utilizado no preparo da geleia, (extrato aquoso 480 g, açúcar 240 g, pectina 4 g, corante carmim de cochonilha 0,3 g) ( $n$  igual a 724,3 g):

$$\text{Rendimento (\%)} = \frac{Q}{n} \times 100 \quad (3),$$

#### 4.5 Preparo da calda de casca de jabuticaba

A calda de casca de jabuticaba foi utilizada para incorporação na bebida láctea o visando o aumento do teor de compostos fenólicos. O preparo da calda foi semelhante ao preparo da geleia, no qual se utilizou o extrato aquoso (2,5% de sólidos solúveis), açúcar e pectina nas proporções apresentadas na **Tabela 2**, as quais foram utilizadas nos ensaios definitivos de produção das bebidas lácteas. Após cocção, sob baixo aquecimento, obteve-se o teor de sólidos solúveis de, aproximadamente, 40%, sendo a calda sob refrigeração a 4 °C até a sua incorporação na bebida láctea fermentada.

**Tabela 2** – Produção da calda da casca de jabuticaba nos ensaios definitivos

<b>Componentes</b>	<b>Proporção</b>
Extrato aquoso (2,5% de sólidos solúveis)	66,38%
Açúcar comercial (sacarose)	33,19%
Pectina (YF310, DuPont)	0,420%

Fonte: dados de pesquisa.

O rendimento da produção de calda de jabuticaba, equação (4), foi avaliado em relação à quantidade total de calda obtida ( $Q$  igual a 300 g) pelo somatório das quantidades de cada ingrediente utilizado no preparo da calda, (extrato aquoso 240 g, açúcar 120 g, pectina 1,52 g,  $n$  igual a 361,52 g):

$$\text{Rendimento (\%)} = \frac{Q}{n} \times 100 \quad (4),$$

## **4.6 Desenvolvimento das bebidas lácteas fermentadas probióticas**

### **4.6.1 Preparo da base láctea**

Para a obtenção da base láctea foram utilizados soro de queijo Minas frescal, leite em pó reconstituído e açúcar. O soro foi previamente obtido durante o processamento de queijo Minas frescal, utilizando leite pasteurizado Cariri Light (Cooperativa Agropecuária do Cariri), coagulante Hannilase (Chr. Hansen) e cloreto de cálcio, segundo a metodologia descrita por Florentino (1997). Após o preparo do queijo, o soro de leite foi acondicionado em sacos de plástico de nylon e armazenado a  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$  até ao momento de sua utilização.

A base láctea foi produzida através de tratamento térmico dos ingredientes para posteriormente serem adicionadas as culturas microbiológicas para a fermentação e produção das bebidas lácteas. Inicialmente, com exceção do ensaio piloto 1, o soro de queijo foi tratado termicamente a  $85\text{ }^{\circ}\text{C}$  por 5 minutos para inativação das enzimas coagulantes ainda presentes no soro e evitar a coagulação da base láctea, observada em testes preliminares. Os demais ingredientes utilizados para obtenção das bebidas lácteas e suas proporções são apresentadas para cada ensaio. A base láctea (mistura de soro com os demais ingredientes antes da adição das culturas) foi tratada termicamente a  $85\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante 30 minutos, sendo armazenada a  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  até o processo de fermentação.

#### **4.6.2 Processo de fermentação**

A base láctea pasteurizada foi aquecida a 40 °C, para a adição da cultura *starter*, liofilizada constituída de *S. thermophilus* TA40 (0,003 g 100 g<sup>-1</sup> nos três tratamentos), sendo T1 constituído apenas de *S. thermophilus* TA40, *L. rhamnosus* LR32 (0,02 g 100 g<sup>-1</sup> no tratamento T2) e *L. plantarum* CNPC003 (após ativação no tratamento T3), sendo mantida a 43 ± 2 °C durante o tempo necessário para alcançar valor de pH menor ou igual a 5,0 e acidez igual ou superior a 0,6 g de ácido láctico 100 g<sup>-1</sup>.

A cepa nativa de *L. plantarum* CNPC003, foi fornecida pela Embrapa Caprinos e Ovinos (Sobral, CE) na forma liofilizada para as atividades do Núcleo de Pesquisa e Extensão em Alimentos da Universidade Estadual da Paraíba (UEPB). A ativação da cultura se deu pela multiplicação da mesma em 10 mL de caldo de Man Rogosa Sharpe (MRS Broth, Difco, Sparks, EUA) por 24 h, distribuição em microtubos de 1,5 ml e centrifugação com descarte do sobrenadante. Após este procedimento, as culturas foram lavadas com solução salina por três vezes para a incorporação à base láctea a ser fermentada.

#### **4.6.3 Obtenção da bebida láctea cremosa fermentada probiótica – ensaios preliminares**

Vários ensaios pilotos foram realizados até a obtenção das bebidas lácteas cremosas com características de consistência e viscosidade de um produto cremoso para ser consumido em combinação com a geleia, bem como coloração adequada para formulações lácteas adicionadas de ingredientes derivados da casca da jabuticaba.

Foram realizados 8 ensaios pilotos até a obtenção dos ingredientes e suas respectivas proporções para a obtenção da bebida láctea cremosa probiótica com características ideais.

A partir do ensaio piloto 8 foi produzida a formulação que serviu de base para estabelecer as proporções ideais e os componentes adequados para o preparo da bebida láctea cremosa probiótica com coloração característica de um produto lácteo adicionado de ingredientes derivados da casca da jabuticaba e com textura apropriada para ser acompanhada da geleia também produzida a partir da casca da jabuticaba.

Para garantir que a coloração das bebidas lácteas não fosse alterada ao longo do armazenamento, foi utilizado o corante carmim de cochonilha, juntamente com extrato hidroalcoólico, ácido láctico e calda produzida a partir do extrato aquoso da casca da jabuticaba. Conforme mencionado anteriormente, o ácido láctico atua reduzindo o pH favorecendo a cor

rósea das formulações. A calda produzida a partir do extrato aquoso da jabuticaba colabora com o aumento do teor de compostos fenólicos, especialmente aqueles que não são extraídos no meio hidroalcoólico, favorecendo, portanto, a coloração das bebidas. A pectina foi utilizada para promover consistência e viscosidade à base láctea cremosa fermentada.

Dessa forma, após a fermentação da base láctea cremosa, esta foi misturada, em liquidificador, aos ingredientes ácido láctico, corante carmim de cochonilha, calda de jabuticaba, extrato hidroalcoólico e pectina. A bebida láctea cremosa probiótica foi armazenada a 4 °C.

#### ***4.6.4 Produção da bebida láctea cremosa probiótica – ensaios definitivos***

Conforme mencionado anteriormente, a partir da formulação do ensaio piloto 8 foram estabelecidas as proporções para o preparo dos três tratamentos de bebida láctea cremosa produzidos nos três lotes (replicatas verdadeiras) de produção dos ensaios definitivos já realizados: tratamento controle tradicional T1 – produzido com a cultura iniciadora de *S. thermophilus* TA40; tratamento controle probiótico T2 – produzido com *S. thermophilus* TA40 e a cultura comercial potencialmente probiótica de *L. rhamnosus* LR32; tratamento experimental T3 – produzido com *S. thermophilus* TA40 e a cultura nativa potencialmente probiótica de *L. plantarum* CNPC 003 (EMBRAPA). O tratamento T3 consiste em uma formulação inovadora, produzida com uma cultura nativa de lactobacilos isolada de derivados de leite de cabra e previamente avaliada quanto ao seu potencial probiótico pela Embrapa Caprinos e Ovinos (Sobral, CE).

Para este fim, foram produzidos 935 g de base láctea de cada tratamento para mistura aos demais ingredientes, nas proporções apresentadas na **Tabela 3**, para a obtenção da bebida láctea cremosa.

**Tabela 3** – Proporção de cada componente das bebidas lácteas cremosas dos ensaios definitivos proporção de cada componente das bebidas lácteas cremosas dos ensaios definitivos.

Componentes	Proporção
Base láctea	90%
Pectina YF310 (DuPont)	1,75%
Extrato hidroalcoólico	2%
Corante natural carmim de cochonilha	0,0045%
Ácido láctico alimentício (solução a 85%, Purac Sínteses)	0,48%
Calda	5,725%
Total	100%

Fonte: dados de pesquisa.

Após a trituração em liquidificador de todos os componentes (base láctea, ácido láctico, corante carmim de cochonilha, calda da casca de jabuticaba, extrato hidroalcoólico e pectina), 75 g de cada formulação, em separado, foram acondicionadas em potes plásticos já contendo a geleia da casca de jabuticaba (12 a 13 g) e armazenadas a 4 °C, totalizando uma quantidade de, aproximadamente, 100 g de produto final em cada pote (**Figura 3**), de modo que foram preenchidos 12 potes para cada tratamento (T1, T2 e T3)

**Figura 3** – Bebidas lácteas cremosas dos três tratamentos avaliados ( T1,T2, T3).



Fonte: dados de pesquisa.



#### 4.7 Períodos de amostragem

Em cada lote produzido, as bebidas lácteas cremosas probióticas foram armazenadas a  $4 \pm 1$  °C, durante 21 dias, sendo realizadas as análises físico-químicas, microbiológicas (culturas *starter* e probióticas, além dos microrganismos contaminantes) e de textura após 1, 7, 14 e 21 dias da data de fabricação, assim como posterior determinação de compostos fenólicos totais, capacidade antioxidante e composição centesimal.

Para acompanhamento do processo fermentativo, foram avaliados o pH das bases lácteas no momento da adição das culturas (tempo zero) e em intervalos de 1 h até o final do período de incubação a  $43 \pm 2$  °C (tempo final), o qual foi de 6 horas, considerando todos os lotes produzidos, bem como a viabilidade dos microrganismos *starter* e probióticos antes e após a fermentação.

Houve a determinação da avaliação sensorial a partir da produção de lotes específicos de bebidas lácteas, sendo realizada após 7 e 21 dias de armazenamento.

#### 4.8 Análises físico-químicas e microbiológicas das bebidas lácteas cremosas probióticas

##### 4.8.1 Valores de pH, acidez titulável, cultura *starter* e culturas probióticas durante processo fermentativo e ao longo armazenamento

Os valores de pH, obtidos em um pHmetro, foram medidos durante o processo fermentativo e ao longo do armazenamento, nos dias 1, 7, 14 e 21, assim como a acidez titulável expressa em g de ácido láctico  $100\text{ g}^{-1}$ , sendo determinados em duplicata, segundo as normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz (2008).

Para as análises microbiológicas das bases lácteas antes e após a fermentação, foi realizada a transferência de 1,0 ml de amostra para 9,0 ml de solução salina (0,85 g de NaCl  $100\text{ ml}^{-1}$ ). Durante o período de amostragem das bebidas lácteas ao longo do armazenamento, as análises microbiológicas se deram com a diluição de 25 g de cada bebida láctea em 225 g de solução salina. A partir destas diluições da base láctea e das bebidas foram realizadas as diluições em séries para as determinações dos diferentes microrganismos analisados.

A viabilidade de *S. thermophilus* e das culturas probióticas de *Lactobacillus* (*L. rhamnosus* e *L. plantarum*) foi determinada em triplicata, segundo Buriti et al. (2014), para os três lotes produzidos.

A determinação de *S. thermophilus* foi obtida por semeadura de 1,0 ml de cada diluição em ágar M17 (Difco) com adição de 10% de lactose, em profundidade, com posterior incubação a  $36 \pm 1$  °C durante 24 h. As determinações de *L. rhamnosus* e *L. plantarum* foram realizadas por plaqueamento de 1,0 ml de cada diluição em ágar MRS (Difco, Sparks, MD, EUA) acidificado até pH 5,4 com ácido acético, com posterior incubação a  $36 \pm 1$  °C durante 24 h.

#### **4.8.2 Determinação de contaminantes**

##### **4.8.2.1 Coliformes totais (a 35° C), termotolerantes (a 45 °C) e *Salmonella* sp.**

No primeiro dia de amostragem das bebidas (dia seguinte à fabricação), foi analisado o número mais provável (NMP) de coliformes totais (a 35 °C), segundo os métodos analíticos oficiais para produtos de origem animal (BRASIL, 2003), por meio da inoculação das diluições ( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ) dos tratamentos (T1, T2 e T3) em séries de 3 tubos contendo caldo verde brilhante bile lactose 2% (Himedia, Mumbai, Índia) e posterior incubação a  $36 \pm 1$  °C. Na presença de gás nos tubos de Durhan do caldo verde brilhante, indicando a fermentação da lactose, foi necessária a análise de coliformes termotolerantes (a 45 °C). A confirmação de coliformes termotolerantes foi determinada pela inoculação de alíquotas dos tubos positivos obtidos para coliformes totais em caldo EC (Himedia, Mumbai, Índia) com incubação em temperatura seletiva de  $45 \pm 0,2$  °C (BRASIL, 2003).

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

#### **4.9 Composição centesimal**

A composição centesimal teve sua avaliação nas bebidas lácteas fermentadas dos três lotes dos três tratamentos, utilizando de amostras congeladas no primeiro dia de armazenamento, sendo cada parâmetro avaliado em triplicata. O teor de sólidos totais foi obtido a partir da secagem de 2 g de amostra em estufa a vácuo a 70 °C (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008). O teor de cinzas foi determinado pela incineração de 2 g de amostra em mufla a 550 °C até a total eliminação de matéria orgânica (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008). O teor de gordura foi obtido por extração com solventes a frio pelo método de Folch, Less e Stanley (1957). O teor proteico foi estimado a partir da análise do conteúdo de nitrogênio pelo método de micro Kjeldahl, usando o fator de conversão de 6,38, para leite e derivados. O teor de carboidratos totais foi calculado por diferença para se obter 100% da composição total (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS, 2003).

#### **4.10 Análise de compostos fenólicos totais e capacidade antioxidante**

##### ***4.10.1 Obtenção dos extratos das bebidas lácteas para análise de fenólicos e de atividade antioxidante***

A obtenção dos extratos das amostras de bebidas lácteas cremosas fermentadas foi realizada de acordo com a metodologia de dos Santos et al. (2017) e adaptações. As amostras de bebidas lácteas (1,25 g) foram misturadas com 5 mL de metanol-HCl (HCl concentrado, 0,1 mL 100 mL<sup>-1</sup>), e mantidas em temperatura de refrigeração a 4 °C durante a noite. As misturas refrigeradas foram então centrifugadas (centrífuga 5810R, Eppendorf, Hamburgo, Alemanha) a 13500 × g por 5 min a 4 °C. O resíduo foi lavado com metanol-HCl, havendo repetição do procedimento por duas vezes, obtendo sobrenadantes, os quais serviram para realização das análises.

##### ***4.10.2 Análise de fenólicos totais, ensaio com DPPH e cálculo da capacidade antioxidante***

Houve a determinação de fenólicos totais no extrato hidroalcolico, casca, calda e geleia de jabuticaba, além dos tratamentos de bebidas lácteas cremosas. Cada amostra foi avaliada em triplicata. Foi utilizada a metodologia de dos Santos et al. (2017) e modificações.

Alíquotas de 60  $\mu\text{L}$  de cada extrato preparado, 2,340  $\mu\text{L}$  de água destilada e 150  $\mu\text{L}$  do reagente de Folin-Ciocalteu (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Alemanha) foram colocados em tubos de ensaios e misturados. Após 8 min, 450  $\mu\text{L}$  de solução de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (30 g  $100\text{ mL}^{-1}$ ) foi incorporada aos tubos, novamente misturados, e mantidos em repouso por 30 min no escuro em temperatura ambiente. A absorbância foi medida a 750 nm em espectrofotômetro SP – 2000 UV (Spectrum, Shanghai, China). Ao final foi obtida uma equação, a partir de uma curva de calibração utilizando ácido gálico (Vetec, Sigma-Aldrich, Duque de Caxias, Brasil) para obter a equação. Os resultados foram expressos como mg de equivalente de ácido gálico (mg GAE)  $100\text{ g}^{-1}$  de amostra.

A capacidade antioxidante das bebidas lácteas pelo sequestro de radicais DPPH (1,1-difenil-2-picrilidrazil) foi estimada seguindo a metodologia de Karaaslan et al. (2011) com modificações. Diferentes alíquotas dos extratos das amostras (50  $\mu\text{L}$ , 100  $\mu\text{L}$  e 200  $\mu\text{L}$ ) foram misturadas com DPPH 100  $\mu\text{M}$  para um volume total de 3 mL. O decréscimo da absorbância em 517 nm foi medido após 60 min de manutenção das amostras em temperatura ambiente.

Os resultados obtidos foram expressos em percentual (%) de inibição de DPPH, seguindo a equação (5):

$$\% \text{ de inibição de DPPH} = \frac{(A_c - A_s)}{A_c} \times 100 \quad (5),$$

onde  $A_c$  é absorbância do controle (absorbância da solução de DPPH sem o extrato das amostras) e  $A_s$  é a absorbância com o extrato das amostras.

A quantidade de bebida necessária para reduzir a concentração inicial do DPPH em 50% ( $\text{EC}_{50}$ ) foi calculada (inicialmente em g de amostra  $\text{L}^{-1}$  de solução de DPPH 100  $\mu\text{M}$ ) após construir o percentual de inibição pela curva da concentração do extrato. O resultado final de capacidade antioxidante total foi expresso em g de amostra  $\text{g}^{-1}$  de DPPH, segundo Rufino et al. (2008), de acordo com a equação (6):

$$\text{Capacidade antioxidante (g amostra } \text{g}^{-1} \text{ de DPPH)} = \frac{\text{EC(g L)}}{\mu\text{M DPPH} \times 394,3} \times 10^6 \quad (6)$$

onde  $\mu\text{M DPPH}$  é o DPPH em  $\mu\text{M}$  consumido pela sobremesa no ensaio para o decaimento da absorbância em 50% e 394,3 é a massa molar do DPPH.

#### 4.11 Análise da textura instrumental das bebidas lácteas fermentadas

O perfil de textura foi determinado em duplicata para cada formulação nos três lotes produzidos através de teste extrusão por retorno (*back extrusion*) em amostras armazenadas ( $4 \pm 1$  °C) utilizando-se um analisador de textura TA-XTplus (Stable Micro Systems). Os parâmetros determinados foram firmeza, consistência, coesividade, e índice de viscosidade. Um disco acrílico de 35 mm de diâmetro foi introduzido em um container cilíndrico (50 mm de diâmetro  $\times$  70 mm de altura) preenchido com a amostra até 50 mm de sua altura útil (ca. 100 ml). Inicialmente, o disco acrílico foi posicionado a 20 mm da superfície da amostra. Foram empregadas distância de penetração, velocidade de penetração e velocidade de retorno de 30 mm,  $1 \text{ mm s}^{-1}$  e  $10 \text{ mm s}^{-1}$ , respectivamente. Os dados dos parâmetros foram dados coletados através do programa “Exponent” – versão 6.1.4.0 (Stable Micro Systems).

#### 4.12 Avaliação sensorial de bebidas lácteas cremosas fermentadas

A avaliação sensorial deste trabalho teve aprovação pelo Comitê de Ética da Universidade Estadual da Paraíba (Certificado de Apresentação para Apreciação Ética – CAAE nº 43582514.3.0000.5187), sendo realizada no Laboratório de Análise Sensorial da Unidade Acadêmica de Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Campina Grande (Campus I). As análises foram realizadas por julgadores não treinados (estudantes e funcionários) utilizando a escala hedônica híbrida de 11 pontos variando de 10 (“gostei muitíssimo”) a 0 (“desgostei muitíssimo”) (VILLANUEVA; DA SILVA, 2009). A avaliação foi feita por 35 julgadores em cada sessão, previamente selecionados quanto ao interesse e hábito de consumo de produtos lácteos adicionados de frutas. As amostras estocadas a  $4 \pm 1$ °C, estavam distribuídas em potes plásticos transparentes e individuais contendo 12 g de produto, as quais foram codificadas com três dígitos aleatórios. Para cada provador foram servidas três amostras, referentes as três formulações de bebida láctea fermentada produzidas, sendo entregues ao mesmo tempo a cada provador, seguindo aleatorização.

Antes da realização da análise sensorial, visando a segurança dos provadores, houve a determinação de coliformes a 35 °C, coliformes a 45 °C e pesquisa de *Salmonella* sp. no primeiro dia de armazenamento dos lotes preparados nas bebidas lácteas fermentadas. Estas foram avaliadas após 7 e 21 dias de armazenamento quanto à aceitabilidade global e

atributos como sabor, textura, aparência e cor dos produtos que foram por eles preferidos e não preferidos nas amostras analisadas.

#### **4.13 Análise estatística**

Os resultados foram expressos como média  $\pm$  desvio padrão. Para a análise estatística, os dados foram primeiramente analisados quanto à normalidade, usando o teste de Shapiro-Wilk, e à homogeneidade de variâncias, usando o teste de Bartlett. Quando a normalidade e/ou homogeneidade de variâncias não foram confirmadas, os dados foram analisados através de testes não paramétricos. Nos demais casos, os dados foram analisados por ANOVA (análise de variância), seguidos pelo teste de Tukey para a identificação dos contrastes, considerando nível de significância de  $p < 0,05$ . As análises estatísticas foram realizadas utilizando o programa Statistica 8.0 (Statsoft Inc., Tulsa, OK, EUA).

## **5 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **5.1 Preparo do extrato aquoso**

Durante a produção do extrato aquoso, foi observado que sua concentração até um teor de sólidos totais de 2,5 % seria adequada para a obtenção de uma geleia e calda de jabuticaba de características adequadas, respectivamente, para acompanhamento e incorporação em uma bebida láctea cremosa. O rendimento da produção deste extrato foi feito em relação à quantidade de cascas acidificadas e ao volume de água utilizada para a trituração das cascas, sendo observado que a partir de 260,5 g (90,5 g de cascas acidificadas + 170 ml de água destilada para trituração, proporção 1:1,7), o rendimento de produção de extrato aquoso foi de 85 %. O rendimento do extrato aquoso é influenciado pela quantidade de sólidos solúveis presente na casca da jabuticaba. De acordo com Resende et al. (2010), o teor de sólidos solúveis é uma característica associada à qualidade dos frutos, podendo ser modificado a partir do manejo das variáveis ambientais. Ainda segundo o autor, o teor de sólidos solúveis é característica de interesse, principalmente para frutos comercializados *in natura*, por auxiliar na qualidade final do produto, visto que o mercado consumidor prefere frutos doces.

### **5.2 Preparo do extrato hidroalcoólico**

O rendimento de extrato hidroalcoólico obtido, a partir de todo sistema utilizado no seu preparo (resíduo da casca de jabuticaba, álcool comestível), foi de 5 %. O extrato hidroalcoólico, além de auxiliar na coloração característica para uma bebida láctea de jabuticaba, devido à presença de antocianinas, contribui para o aumento do teor de compostos fenólicos, o que poderá elevar a atividade antioxidante dos produtos finais. Para ALEZANDRO et al. (2011), os compostos fenólicos apresentam propriedades redox, através de mecanismos como eliminação de radicais livres, atividade quelante de metais de transição e/ou redução de oxigênio atômico, tendo papel em evitar a peroxidação lipídica e inibição de vários tipos de enzimas oxidativas.

### **5.3 Preparo da geleia da casca de jabuticaba**

O rendimento da geleia de jabuticaba, considerando todos os ingredientes utilizados no seu preparo, foi de 57%. A mesma apresentou característica de textura ideal para incorporação em bebida láctea cremosa, com teor de sólidos solúveis de 60% (°Brix), condizentes com estudos de Batista et al. (2016), ao avaliarem diferentes formulações padrão de geleia de jabuticaba, demonstrando teor de sólidos solúveis variando em 63 a 66% (°Brix).

### **5.4 Preparo da calda de casca de jabuticaba**

O rendimento da calda considerando todos os ingredientes utilizados no preparo da mesma foi de 82%. A mesma foi utilizada para aumentar a quantidade de compostos fenólicos nas bebidas lácteas cremosas probióticas, auxiliando na coloração característica de produtos a base de jabuticaba, em função da presença especialmente de antocianinas.

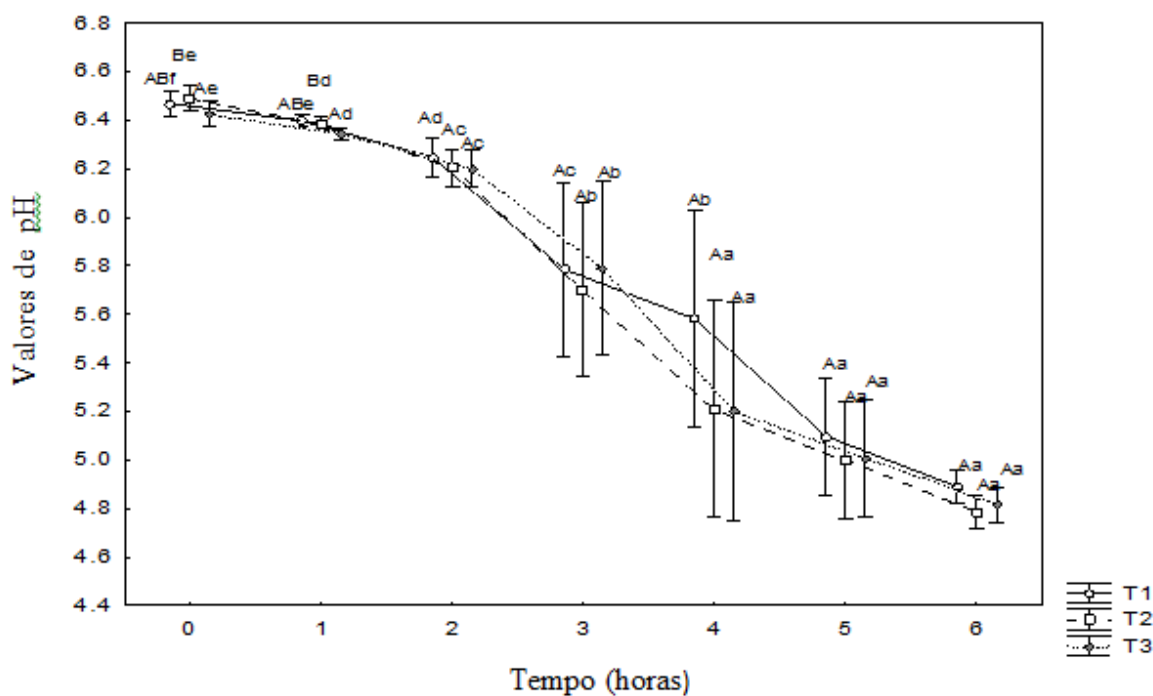
## **5.5 Análises físico-químicas e microbiológicas das bebidas lácteas fermentadas probióticas**

### ***5.5.1 Valores de pH, acidez titulável, cultura starter e culturas probióticas durante processo fermentativo e ao longo armazenamento.***

A **Figura 4** apresenta os valores de pH obtidos durante a fermentação da base láctea fermentada dos tratamentos T1, T2 e T3.



**Figura 4** – Valores de pH obtidos durante a fermentação da base láctea dos tratamentos T1, T2 e T3.



Fonte: dados de pesquisa.

A, B letras maiúsculas não diferem significativamente entre os tratamentos para um mesmo tempo de fermentação ( $p > 0,05$ ). a,b,c,d,e,f letras minúsculas iguais não diferem significativamente entre os tempos de fermentação para um mesmo tratamento ( $p > 0,05$ ).

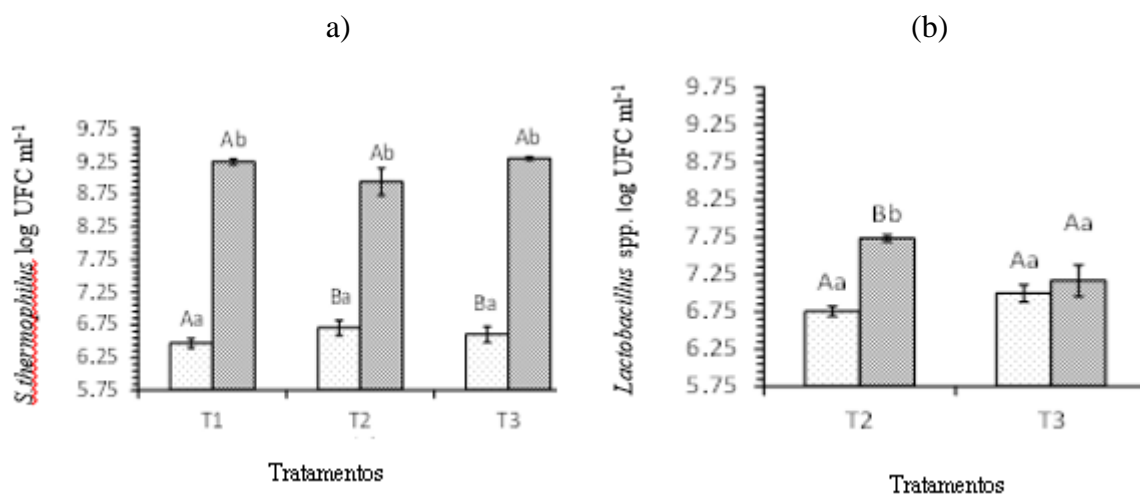
T1 = bebida láctea controle contendo *S. thermophilus* TA40; T2 = bebida láctea potencialmente probiótica tradicional contendo *S. thermophilus* TA40 e a cultura comercial *L. rhamnosus* LR32; T3 = bebida láctea potencialmente probiótica produzida com *S. thermophilus* TA40 e a cultura nativa *L. plantarum* CNPC 003

Durante o processo fermentativo, os valores de pH não diferiram significativamente entre os tratamentos (T1, T2 e T3) ( $p > 0,05$ ) para um mesmo tempo de fermentação, com exceção nos tempos iniciais (0 h e 1 h), em que T3 (com a cultura nativa de *L. plantarum* CNPC003) apresentou valores significativamente inferiores ( $p < 0,05$ ) que T2 (com a cultura comercial *L. rhamnosus* LR32), possivelmente em função da adição da cultura ativada de *L. plantarum* resultar em uma leve, porém significativa e imediata redução do pH da base láctea. Quanto ao tempo de fermentação, houve repetidas redução significativa do pH dentro de um mesmo tratamento entre 0 h e 4 h ( $p < 0,05$ ) e estabilidade do pH, sem diferenças significativas até 6 h para os tratamentos T2 e T3. Tal situação não ocorreu com a bebida controle T1 (sem cultura adjuvante), que apresentou sucessiva redução do pH até 5 h de fermentação. A presença das culturas adjuvantes *L. rhamnosus* em T2 e *L. plantarum* em T3 colaboraram para que valores menores de pH, próximos do término de fermentação, fossem atingidos mais rapidamente, já a partir da quarta hora de ensaio em dois lotes desses tratamentos, com valores inferiores a 5,0. Em T1, provavelmente em função da ausência da cultura adjunta, tal

comportamento na quarta hora de fermentação não foi verificado em dois, para os quais ainda eram observados valores de pH bastante elevados (entre 5,85 e 6,21). Contratando, a partir de 5 horas, os valores médios de pH encontravam-se bastante próximos para os três tratamentos dentro dos mesmos lotes. Após o fim do processo fermentativo, os valores médios de pH observados para os tratamentos T1, T2 e T3 foram de  $4,89 \pm 0,16$ ,  $4,79 \pm 0,04$ ,  $4,81 \pm 0,06$ , respectivamente, sendo semelhantes e condizentes para o término da fermentação e condições adequadas ao consumo de produtos fermentados.

A **Figura 5** apresenta os resultados das populações de *S. thermophilus* e de *Lactobacillus* spp. nos tratamentos T1, T2 e T3 no tempo inicial e final do processo de fermentação da base láctea.

**Figura 5** – Populações de *S. thermophilus* nos tratamentos T1, T2 e T3 (a) e de *Lactobacillus* spp. nos tratamentos T2 e T3 (b) durante a fermentação das bases lácteas. Cinza claro = tempo inicial, cinza escuro = tempo final.



Fonte: dados de pesquisa.

A, B letras maiúsculas iguais não diferem significativamente entre os três tratamentos para um mesmo tempo de fermentação e microrganismo ( $p > 0,05$ ). a,b letras minúsculas diferentes diferem significativamente entre os tempos de fermentação para um mesmo tratamento e microrganismo ( $p < 0,05$ ). T1 = bebida láctea controle contendo *S. thermophilus* TA40; T2 = bebida láctea potencialmente probiótica tradicional contendo *S. thermophilus* TA40 e a cultura comercial *L. rhamnosus* LR32; T3 = bebida láctea potencialmente probiótica produzida com *S. thermophilus* TA40 e a cultura nativa *L. plantarum* CNPC 003.

As populações de *S. thermophilus* no início da fermentação foram significativamente menores em T1, diferindo significativamente de T2 e T3 ( $p < 0,05$ ); contudo, estes dois últimos tratamentos não diferiram significativamente entre si para esse microrganismo no tempo inicial ( $p > 0,05$ ). No tempo final, os valores de *S. thermophilus* não apresentaram diferença significativa entre os três tratamentos ( $p > 0,05$ ). É possível observar o aumento significativo

( $p < 0,05$ ) da população de *S. thermophilus* em mais de 2 ciclos log entre os tempos inicial e final de fermentação nos três tratamentos. Similar com estudo de Pereira et al. (2016), no qual teve comportamento semelhante quanto a multiplicação de *S. thermophilus* TA-40 durante a fermentação de bases lácteas produzidas com soro de queijo caprino reconstituído na presença ou ausência de cultura adjuvante (*Lactobacillus casei* BGP93).

Quanto às populações de *Lactobacillus* spp., não houveram diferenças significativas entre os tratamentos T2 e T3 no início da fermentação ( $p > 0,05$ ); no entanto, estes tratamentos diferiram significativamente entre si no tempo final ( $p < 0,05$ ), com populações com número maior no produto contendo *L. rhamnosus* (T2), apesar de terem sido observados valores de pH sem diferença significativa ao final da fermentação ( $p > 0,05$ ). Considerando o comportamento isolado de *Lactobacillus* spp. em cada uma das bebidas (T2 e T3) um aumento significativo foi observado apenas naquela contendo *L. rhamnosus* ( $p < 0,05$ ). Buriti et al. (2014), destacou o estímulo da cultura comercial *L. rhamnosus* LR32 durante a fermentação de bases lácteas contendo leite, açúcar e soro de queijo de cabra, na qual a população apresentou significativo aumento durante a etapa de incubação a  $43 \pm 2$  °C, de  $6,91 \log \text{ UFC mL}^{-1}$  a  $7,13 \log \text{ UFC mL}^{-1}$  ( $p < 0,05$ ), e também outro aumento significativo durante o processo de arrefecimento ( $p < 0,05$ ), alcançando valores de  $8,11 \log \text{ UFC mL}^{-1}$ , sendo o estudo em questão semelhante a tal situação. Notou-se que mesmo os cultivos em cocultura serem descritos como capazes de melhorar a multiplicação de culturas adjuvantes com potencial probiótico em produtos lácteos, a cultura nativa de *L. plantarum* CNPC003 não teve aumento e estimulação nas condições de fermentação utilizada (43 °C) em cocultura com o microrganismo *starter* empregado e na presença dos substratos adicionados à base láctea (leite em pó, soro lácteo e açúcar) quando comparada à cultura adjuvante comercial com potencial probiótico, recomendada pelo fabricante para produtos lácteos fermentados similares ao desenvolvido neste estudo.

Estudo destaca que *L. plantarum* possivelmente pode ter capacidade diminuída de multiplicação em leite devido à sua fraca atividade proteolítica, explicando assim o menor estímulo da cepa nativa *L. plantarum* CNPC003 em T3 (GEORGIEVA et al., 2009).

Na **Tabela 4** são apresentados os valores de pH e das populações de *S. thermophilus* e *Lactobacillus* spp. durante os dias de armazenamento (1, 7, 14 e 21) para as bebidas lácteas cremosas.

**Tabela 4** – Populações de *S. thermophilus* e *Lactobacillus* spp. e pH das bebidas lácteas cremosas ao longo do armazenamento a  $4 \pm 1$  °C por 21 dias.

Parâmetro	Tempo (dias)	Tratamentos		
		T1	T2	T3
pH	1	$3.88 \pm 0.10^{Aa}$	$3.87 \pm 0.07^{Aa}$	$3.97 \pm 0.08^{Aa}$
	7	$3.86 \pm 0.18^{Aa}$	$3.83 \pm 0.10^{Aa}$	$3.91 \pm 0.12^{Aa}$
	14	$3.87 \pm 0.18^{Aa}$	$3.90 \pm 0.11^{Aa}$	$3.97 \pm 0.10^{Aa}$
	21	$3.89 \pm 0.11^{Aa}$	$3.87 \pm 0.06^{Aa}$	$3.96 \pm 0.10^{Aa}$
<i>S. thermophilus</i> (log UFC g <sup>-1</sup> )	1	$9.26 \pm 0.21^{Ac}$	$9.07 \pm 0.19^{Ab}$	$9.39 \pm 0.55^{Ab}$
	7	$8.97 \pm 0.03^{Ab}$	$8.92 \pm 0.10^{Aa}$	$8.99 \pm 0.16^{Aa}$
	14	$8.94 \pm 0.16^{Aab}$	$8.92 \pm 0.12^{Aa}$	$8.93 \pm 0.22^{Aa}$
	21	$8.90 \pm 0.06^{Aa}$	$8.89 \pm 0.02^{Aa}$	$8.96 \pm 0.20^{Aa}$
<i>Lactobacillus</i> spp. (log UFC g <sup>-1</sup> )	1	n.a.	$7.93 \pm 0.10^{Bc}$	$7.39 \pm 0.59^{Ac}$
	7	n.a.	$8.02 \pm 0.31^{Bc}$	$7.20 \pm 0.52^{Ab}$
	14	n.a.	$7.70 \pm 0.12^{Bb}$	$7.01 \pm 0.42^{Aa}$
	21	n.a.	$7.43 \pm 0.24^{Aa}$	$7.12 \pm 0.57^{Aab}$

Fonte: dados da pesquisa.

n.a. = Não adicionado.

<sup>A,B</sup> = Letras maiúsculas sobrescritas iguais na mesma linha não diferem significativamente entre os tratamentos em um mesmo dia de armazenamento ( $p > 0,05$ ).

<sup>a,b,c</sup> = letras minúsculas sobrescritas iguais na mesma coluna não diferem significativamente entre os dias de armazenamento para um mesmo tratamento ( $p > 0,05$ ).

T1 = bebida láctea controle contendo *S. thermophilus* TA40; T2 = bebida láctea potencialmente probiótica tradicional contendo *S. thermophilus* TA40 e a cultura comercial *L. rhamnosus* LR32; T3 = bebida láctea potencialmente probiótica produzida com *S. thermophilus* TA40 e a cultura nativa *L. plantarum* CNPC 003.

A partir dos resultados apresentados na **Tabela 4** não houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre os três tratamentos de bebida láctea em relação ao pH no período de armazenamento, destacando que o uso das culturas adjuvantes analisadas, especialmente a cultura nativa *L. plantarum* CNPC003 no tratamento T3, resultam em um pH estável nos produtos mantidos em refrigeração, sem pós-acidificação, assim como ocorreu para a bebida controle T1, contendo apenas a cultura *starter* de *S. thermophilus*.

As populações de *S. thermophilus* não demonstraram diferença significativa entre os três tratamentos (T1, T2 e T3) durante cada período de armazenamento ( $p < 0,05$ ), apresentando que as culturas adjuvantes utilizadas, especialmente a cultura nativa (*L.*

*plantarum* CNPC003), não interfere de maneira negativa na viabilidade do microrganismo *starter* ao longo do armazenamento. Porém, para todos os tratamentos foi observada uma diminuição significativa entre o primeiro e o sétimo dia na população de *S. thermophilus* ( $p < 0,05$ ). As populações do microrganismo *starter* começaram superiores a  $9 \log \text{ UFC g}^{-1}$  no início do armazenamento e se mantiveram abaixo desse valor a partir da segunda semana de armazenamento, porém próximas ou superiores a  $8,90 \log \text{ UFC g}^{-1}$  até o 21º dia.

Quanto à viabilidade de *Lactobacillus* spp. fazendo comparação entre as bebidas probióticas (T2 e T3), notou-se diferença significativa entre estes tratamentos durante todos os dias de armazenamento ( $p < 0,05$ ), porém no vigésimo primeiro dia, mesmo com valores de pH semelhantes, devido a população da cultura adjuvante de *L. rhamnosus* LR32 ter sido mais alta na base láctea ao final da fermentação. Nos períodos em que houve diferença significativa entre os tratamentos ( $p < 0,05$ ) para os valores de *Lactobacillus* spp., a população da cultura adjuvante na bebida láctea T2 foi maior em, pelo menos, 0,5 ciclo log em comparação ao tratamento T3. A partir do décimo quarto dia foi observada redução significativa das populações de *Lactobacillus* spp. nos dois tratamentos em comparação aos valores do primeiro dia ( $p < 0,05$ ).

Um estudo ao avaliar o uso de cepas livres e imobilizadas de *L. plantarum* 2035 isoladas de queijo feta grego para produção de iogurtes probióticos, usando *S. thermophilus* e cultura comercial de iogurte CH1 (*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* e subsp. *salivarius*) demonstrou que durante o armazenamento (1, 8, 15, 22 e 29 dias) a  $4 \text{ }^\circ\text{C}$ , o pH inicialmente durante dias de armazenamento foi reduzindo, porém adquiriu estabilidade em todas as amostras de iogurtes, sem sinais de pós-acidificação, sendo semelhante com o presente trabalho (SIDIRA et., 2017).

Analisando as populações de *S. thermophilus* e *Lactobacillus* spp., a cultura *starter* se manteve estável ao longo do armazenamento, diferentemente das culturas probióticas que diminuíram porém se mantiveram de acordo com a legislação para o número de probióticos por um período mais longo do que o exigido pelo setor comercial.

De outro modo, levando em consideração o potencial probiótico das culturas adjuvantes usadas nas bebidas do presente estudo, a viabilidade desses microrganismos nos tratamentos T2 e T3 esteve dentro do que é normalmente recomendado pela literatura científica, estando ativas e viáveis acima de  $10^9 \text{ UFC g ou ml}^{-1}$  ou durante todo o armazenamento dentro da porção de 200 ml usualmente ingerida em cada ocasião de consumo desse tipo de produto. Martinez et al. (2015), aborda que tem sido estabelecido que um

alimento pode ser considerado probiótico se contiver uma população de  $10^6$  a  $10^8$  UFC  $g^{-1}$  ou  $ml^{-1}$ .

A **Tabela 5** apresenta os valores de acidez titulável obtidos ao longo do armazenamento (1, 7, 14, 21 dias) para as bebidas lácteas cremosas.

**Tabela 5** – Valores de acidez titulável das bebidas lácteas cremosas ao longo do armazenamento a  $4 \pm 1$  °C por 21 dias.

Parâmetro	Tempo (dias)	Tratamentos		
		T1	T2	T3
Acidez titulável (g ácido láctico/100 $g^{-1}$ )	1	1,11 $\pm$ 0.12 <sup>Aa</sup>	0,99 $\pm$ 0.17 <sup>Aa</sup>	1,06 $\pm$ 0.14 <sup>Aa</sup>
	7	1,13 $\pm$ 0.20 <sup>Aa</sup>	1,12 $\pm$ 0.18 <sup>Aa</sup>	1,11 $\pm$ 0.20 <sup>Aa</sup>
	14	1,06 $\pm$ 0.15 <sup>Aa</sup>	1,03 $\pm$ 0.26 <sup>Aa</sup>	1,02 $\pm$ 1.17 <sup>Aa</sup>
	21	1,03 $\pm$ 0.30 <sup>Aa</sup>	0,99 $\pm$ 0.23 <sup>Aa</sup>	0,95 $\pm$ 0.26 <sup>Aa</sup>

Fonte: dados da pesquisa.

<sup>A</sup> = Letras maiúsculas sobrescritas iguais na mesma linha não diferem significativamente entre os tratamentos em um mesmo dia de armazenamento ( $p > 0,05$ ).

<sup>a</sup> = letras minúsculas sobrescritas iguais na mesma coluna não diferem significativamente entre os dias de armazenamento para um mesmo tratamento ( $p > 0,05$ ).

T1 = bebida láctea controle contendo *S. thermophilus* TA40; T2 = bebida láctea potencialmente probiótica tradicional contendo *S. thermophilus* TA40 e a cultura comercial *L. rhamnosus* LR32; T3 = bebida láctea potencialmente probiótica produzida com *S. thermophilus* TA40 e a cultura nativa *L. plantarum* CNPC 003.

Conforme análise da **Tabela 5** acima, observa-se que não houve diferença significativa entre os três tratamentos de bebida láctea fermentadas ao longo do armazenamento, mostrando que as culturas *starter* e probióticas, principalmente a *L. plantarum* CNPC003 não interfere na estabilidade dos valores de acidez. Conforme legislação nacional os valores foram condizentes com outros produtos lácteos fermentados como leites fermentados e iogurtes, (0,6 a 2,0 g de ácido láctico 100  $g^{-1}$  e 0,6 a 1,5 g de ácido láctico 100  $g^{-1}$ ), respectivamente (BRASIL, 2007).

## 5.6 Análises de contaminantes

### 5.6.1 Coliformes totais e termotolerantes ( 35°C a 45°C)

A **Tabela 6** apresenta os valores obtidos para os microrganismos contaminantes determinados nos três diferentes tratamentos de bebidas lácteas em três lotes produzidos. Para avaliação de coliformes totais e termotolerantes (a 35°C e a 45°C, respectivamente), a

legislação nacional vigente (BRASIL, 2005) adota que bebidas lácteas podem conter, no máximo, 100 NMP g<sup>-1</sup> ou ml<sup>-1</sup> de coliformes a 35°C e 10 NMP g<sup>-1</sup> de coliformes a 45°C. De acordo com os resultados apresentados na **Tabela 6** abaixo, os três tratamentos encontram-se dentro dos do preconizado pela legislação, visto que para coliformes a 35°C, os resultados se mantiveram inferiores ao limite de detecção do método utilizado para coliformes a 45°C, apenas duas amostra apresentaram valores de 3 NMP g<sup>-1</sup>, sendo muito inferior ao limite permitido.

**Tabela 6** – Populações de microrganismos contaminantes detectadas nas bebidas lácteas T1, T2 e T3.

<b>Parâmetro</b>	<b>Tempo(dias)</b>	<b>T1</b>	<b>T2</b>	<b>T3</b>
<b>Coliformes a 35°C (NMP/g)</b>	1	<3	<3-3	<3-3
	7	n.a	<3	<3
	14	n.a	<3	<3
	21	n.a	<3	<3
	% amostras positivas (n.º amostras positivas/ n.º total de amostras × 100)	0 (0/27)	0,02% (0/54)	0,02% (0/54)
<b>Coliformes a 45°C (NMP/g)</b>	1	n.a.	<3	<3
	7	n.a.	n.a.	n.a.
	14	n.a.	n.a.	n.a.
	21	n.a.	n.a.	n.a.
	% amostras positivas (n.º amostras positivas/ n.º total de amostras × 100)	0 (0/0)	0 (0/9)	0 (0/9)

Fonte: dados de pesquisa.

T1 = bebida láctea controle contendo *S. thermophilus* TA40; T2 = bebida láctea potencialmente probiótica tradicional contendo *S. thermophilus* TA40 e a cultura comercial *L. rhamnosus* LR32; T3 = bebida láctea potencialmente probiótica produzida com *S. thermophilus* TA40 e a cultura nativa *L. plantarum* CNPC 003.n.a. = não analisado.

## 5.7. Composição centesimal

Os resultados da composição centesimal das bebidas lácteas fermentadas probióticas no primeiro dia de armazenamento sob refrigeração a  $4 \pm 1$  °C, podem ser observados na **Tabela 7**.

**Tabela 7** – Composição centesimal das bebidas lácteas cremosas no primeiro dia de armazenamento sob refrigeração a  $4 \pm 1$  °C.

Parâmetro	Tratamentos		
	T1	T2	T3
Sólidos totais (g 100 g <sup>-1</sup> )	28.90 ± 2.74 <sup>A</sup>	26.49 ± 4.98 <sup>A</sup>	29.66 ± 8.92 <sup>A</sup>
Cinzas - AU (g 100 g <sup>-1</sup> )	0.922 ± 0.225 <sup>A</sup>	1.02 ± 0.72 <sup>A</sup>	0.874 ± 0.132 <sup>A</sup>
Cinzas - AS (g 100 g <sup>-1</sup> )	3.16 ± 0.56 <sup>A</sup>	3.75 ± 2.49 <sup>A</sup>	3.35 ± 1.69 <sup>A</sup>
Gordura – AU (g 100 g <sup>-1</sup> )	0.302 ± 0.145 <sup>A</sup>	0.320 ± 0.145 <sup>A</sup>	0.410 ± 0.169 <sup>A</sup>
Gordura - AS (g 100 g <sup>-1</sup> )	1.09 ± 0.62 <sup>A</sup>	1.33 ± 0.82 <sup>A</sup>	1.69 ± 1.30 <sup>A</sup>
Proteínas - AU (g 100 g <sup>-1</sup> )	2.31 ± 0.33 <sup>A</sup>	2.29 ± 0.36 <sup>A</sup>	2.33 ± 0.42 <sup>A</sup>
Proteínas - AS (g 100 g <sup>-1</sup> )	8.01 ± 1.09 <sup>A</sup>	8.77 ± 1.33 <sup>A</sup>	9.03 ± 5.17 <sup>A</sup>
Carboidratos totais - AU (g 100 g <sup>-1</sup> )	25.37 ± 2.57 <sup>A</sup>	22.86 ± 4.61 <sup>A</sup>	26.04 ± 8.82 <sup>A</sup>
Carboidratos totais - AS (g 100 g <sup>-1</sup> )	87.74 ± 1.19 <sup>A</sup>	86.15 ± 3.16 <sup>A</sup>	85.92 ± 7.99 <sup>A</sup>

Fonte: dados da pesquisa.

A = Letras maiúsculas sobrescritas iguais na mesma linha não diferem significativamente entre os tratamentos ( $p > 0,05$ ). AU = amostra úmida. AS = amostra seca.

T1 = bebida láctea controle contendo *S. thermophilus* TA40; T2 = bebida láctea potencialmente probiótica tradicional contendo *S. thermophilus* TA40 e a cultura comercial *L. rhamnosus* LR32; T3 = bebida láctea potencialmente probiótica produzida com *S. thermophilus* TA40 e a cultura nativa *L. plantarum* CNPC 003.

Conforme resultados, foi verificado que não houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre os tratamentos de bebida láctea (T1, T2 e T3), quanto aos diferentes parâmetros analisados (umidade, sólidos totais, lipídeos, cinzas, proteínas, carboidratos). Tais resultados evidenciam que a adição das culturas adjuntas (cultura probiótica comercial *L. rhamnosus* LR32 e cultura nativa *L. plantarum* CNPC003 nos tratamentos T2 e T3, respectivamente) não interferiu na composição nutricional das bebidas lácteas fermentadas. O teor de sólidos totais das bebidas lácteas é principalmente composto de carboidratos totais, em função da lactose do leite em pó e do soro, o açúcar incorporado à base láctea para a fermentação, a pectina, a calda e a geleia de jabuticaba. Mesmo sendo um produto majoritariamente fonte de carboidratos totais, o teor médio de gordura foi inferior a 0,5 g 100 g<sup>-1</sup> o que segundo a



Agência Nacional de Vigilância Sanitária o produto seria classificado como “zero” ou “não contém” gordura totais (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2012), esse papel pode ser proveniente da ação da casca de jabuticaba que atua na obtenção de produtos lácteos fermentados desnatados. Quanto ao teor proteico, o regulamento técnico de identidade e qualidade em bebida láctea, admite um valor de  $1,0 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$  de proteínas (BRASIL, 2005), visto que no estudo em questão a bebida láctea cremosa T3 obteve valores superiores a  $2,0 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$  de produto, sendo o dobro do exigido para a legislação, condizentes com o estudo de Rufino et al. (2015) que obteve valor de proteína de  $2,30 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$ . Em vista disso, a bebida teste T3 torna-se importante pois fornece proteínas de origem láctea, que são de alto valor nutricional, devido presença de todos os aminoácidos essenciais, além de liberarem no organismo, durante o processo digestivo ou tratamento enzimático, peptídeos bioativos, com diversos efeitos benéficos para a saúde (MORAIS et al., 2006).

## **5.8. Análise de compostos fenólicos totais e capacidade antioxidante**

### ***5.8.1 Análises de fenólicos totais e capacidade antioxidante***

Para os teores de compostos fenólicos no extrato hidroalcoólico, casca, calda e geleia foram detectados valores médios de 50241,7, 3646,94, 3220,0 e 1399,56 ácido gálico  $100 \text{ mg}^{-1}$  de amostra, respectivamente. A maior concentração de fenólicos totais no extrato hidroalcoólico é provavelmente devido ao processo de extração do produto final, visto que o meio aquoso dificulta o processo de extração, assim como a presença de outros componentes como pectina, açúcar e água utilizados no preparo dos outros ingredientes de jabuticaba.

A extração aquosa usada para a produção da matriz da calda e da geleia tem importância, visto que já que parte dos compostos fenólicos dos tecidos dos frutos estão intimamente associados à fibra alimentar, em especial aos carboidratos solúveis não digeríveis que são extraídos com a água. Dessa forma, o uso da extração aquosa é importante para a obtenção dos fenólicos associados aos polissacarídeos solúveis da casca que não seriam extraídos com etanol.

A solubilidade dos compostos fenólicos é liderada pela polaridade do solvente, seu grau de polimerização, sua interação com outros constituintes do alimento e formação de complexos insolúveis. Dessa forma, fatores como composição do solvente, tempo e temperatura de extração, relação solvente: amostra, tratamento da amostra, entre outros, têm

influência significativa na eficácia de extração, refletindo na maior ou menor recuperação dos compostos fenólicos (MIRA et al., 2008).

A **Tabela 8** apresenta os resultados determinados para fenólicos totais, inibição de DPPH,  $EC_{50}$  e capacidade antioxidante total para os três tratamentos de bebidas lácteas cremosas (T1, T2 e T3).

**Tabela 8** – Valores de compostos fenólicos totais, percentual de inibição de radicais DPPH, EC<sub>50</sub> e capacidade antioxidante total das bebidas lácteas cremosas ao longo do armazenamento a 4 ± 1 °C por 21 dias.

Parâmetros	Tratamentos	Tempo (dias)			
		1	7	14	21
Fenólicos totais (mg GAE 100 g <sup>-1</sup> )	T1	54.10 ± 9.27 <sup>Aa</sup>	64.52 ± 19.23 <sup>Aa</sup>	59.09 ± 15.35 <sup>Aa</sup>	62.77 ± 21.60 <sup>Aa</sup>
	T2	45.08 ± 9.97 <sup>Aa</sup>	58.36 ± 20.34 <sup>Aa</sup>	56.09 ± 14.09 <sup>Aa</sup>	61.60 ± 10.14 <sup>Aa</sup>
	T3	50.03 ± 18.63 <sup>Aa</sup>	56.71 ± 12.78 <sup>Aa</sup>	68.93 ± 11.65 <sup>Aa</sup>	56.56 ± 14.92 <sup>Aa</sup>
Inibição de radicais DPPH (%)*	T1	36.92 ± 5.74 <sup>Aa</sup>	35.31 ± 10.80 <sup>Aa</sup>	34.96 ± 12.03 <sup>Aa</sup>	42.34 ± 5.18 <sup>Aa</sup>
	T2	44.84 ± 2.35 <sup>Aa</sup>	43.32 ± 1.40 <sup>Aa</sup>	32.60 ± 0.78 <sup>Aa</sup>	35.66 ± 9.06 <sup>Aa</sup>
	T3	40.45 ± 2.30 <sup>Aa</sup>	39.08 ± 0.99 <sup>Aa</sup>	33.75 ± 2.08 <sup>Aa</sup>	35.50 ± 1.46 <sup>Aa</sup>
EC <sub>50</sub> (g amostra L <sup>-1</sup> sol. DPPH 100 µM)	T1	5.30 ± 0.10 <sup>Aa</sup>	6.32 ± 0.78 <sup>Aa</sup>	5.76 ± 1.04 <sup>Aa</sup>	5.61 ± 1.48 <sup>Aa</sup>
	T2	4.94 ± 0.54 <sup>Aa</sup>	4.54 ± 0.53 <sup>Aa</sup>	4.22 ± 0.82 <sup>Aa</sup>	6.15 ± 0.52 <sup>Aa</sup>
	T3	4.60 ± 0.27 <sup>Aa</sup>	4.49 ± 0.27 <sup>Aa</sup>	5.27 ± 0.18 <sup>Aa</sup>	5.46 ± 2.34 <sup>Aa</sup>
Capacidade antioxidante total (g amostra g <sup>-1</sup> DPPH)	T1	248.88 ± 7.39 <sup>Aa</sup>	258.20 ± 5.47 <sup>Aa</sup>	229.11 ± 21.97 <sup>Aa</sup>	239.76 ± 84.74 <sup>Aa</sup>
	T2	205.56 ± 8.03 <sup>Aa</sup>	207.10 ± 10.23 <sup>Aa</sup>	165.77 ± 48.07 <sup>Aa</sup>	237.36 ± 13.39 <sup>Aa</sup>
	T3	234.87 ± 29.23 <sup>Aa</sup>	210.27 ± 21.51 <sup>Aa</sup>	253.78 ± 8.52 <sup>Aa</sup>	248.20 ± 108.85 <sup>Aa</sup>

Fonte: dados da pesquisa.

\*Valores apresentados para a alíquota máxima de amostra utilizada no ensaio (0,02 g do extrato da amostra para o volume total de 3 mL em solução contendo DPPH a 100 µM).

Letras maiúsculas iguais na mesma coluna, para um mesmo parâmetro, não diferem significativamente entre si entre as formulações considerando o mesmo período de armazenamento (p > 0.05).

Letras minúsculas iguais na mesma linha não diferem significativamente entre si entre os dias de armazenamento considerando a mesma formulação (p > 0.05).

De acordo com os resultados, os três tratamentos (T1, T2 e T3) avaliados durante o período de armazenamento, não apresentaram diferenças significativas ( $p > 0,05$ ) quanto ao teor de compostos fenólicos e capacidade antioxidante. Tal situação pode demonstrar que os probióticos, fenólicos totais e ingredientes que compõem as bebidas lácteas interagem de maneira positiva, especialmente o tratamento T3 contendo a cultura nativa adjuvante de *L. plantarum* CNPC003, afirmando comportamento semelhante deste tipo de cultura quando comparado ao tratamento controle contendo a cultura *starter* e ao tratamento potencialmente probiótico contendo a cultura adjuvante comercial potencialmente probiótica de *L. rhamnosus*.

Alimentos produzidos a partir de plantas, incluindo frutas, oferecem benefícios para a saúde e proteção contra doenças cardíacas, de acidente vascular, cerebral e coronária. Os efeitos farmacológicos benéficos das frutas selvagens podem ser atribuídos à presença de número de metabolitos secundários, como fenóis, flavonoides e taninos (AHMAD et al., 2015). A importância dos fenólicos como agente antioxidante natural e preventivo juntamente com o espaço de informação existente, solicita a necessidade de investigar o perfil desses bioativos de alto valor nos frutos de plantas selecionadas.

No presente estudo os teores de fenólicos totais dos produtos foram semelhantes com estudo de dos Santos et al., 2017, ao avaliarem leites fermentados com *S. thermophilus* TA40 em cocultura com *Lactobacillus acidophilus* LA-5 ou *L. rhamnosus* HN001 adicionados de suco e de extrato do bagaço de uva, os quais foram próximos de  $45 \text{ mg GAE } 100 \text{ g}^{-1}$  durante 28 dias de armazenamento, comprovando a influência de compostos fenólicos para a atividade antioxidante em produtos lácteos.

Em termos de atividade antioxidante, apesar de não ocorrer diferença significativa entre as amostras de bebida láctea cremosa, torna-se importante destacar a dificuldade de comparação com outros estudos, visto que as ocorrem diluições de amostras diferenciadas, além do uso de solventes e métodos não semelhantes ao do presente estudo.

Resultados semelhantes ao estudo, podem ser vistos em Silva et al. (2010), no qual avaliaram a atividade antioxidante de um extrato alcóolico de casca de jabuticaba atomizado em diferentes concentrações de goma arábica e maltodextrina, obtendo valores de polifenóis de  $70,4 \pm 3,2 \text{ mg GAE } 100 \text{ g}^{-1}$ , visto que conforme tabela acima os resultados variaram entre  $68,93 \pm 11,65$  e  $45,08 \pm 9,97 \text{ mg GAE } 100 \text{ g}^{-1}$ .

Quanto ao percentual de inibição de radicais DPPH (%), os valores médios obtidos para as bebidas lácteas cremosas avaliadas contendo produtos elaborados a partir da casca da jabuticaba, sofreram variação entre  $44,84 \pm 2,35$  e  $32,60 \pm 0,78$  considerando os três

tratamentos, para uma amostra de 0,02 mL de extrato da amostra e um volume total de 3 mL com DPPH 100  $\mu$ M), sendo superiores aos achados por Shori (2013), ao avaliar um iogurte controle de leite de vaca durante 21 dias de armazenamento, no qual se verificou entre 20% a 30% de inibição de radicais DPPH.

Ribeiro et al, (2014) ao avaliar uma bebida láctea fermentada utilizando de infusão de *Camelia sinensis* (chá da Índia) observaram que a atividade antioxidante total, avaliada como o percentual de inibição da atividade da enzima DPPH, foi significativamente mais elevada ( $p < 0,05$ ) quanto maior a quantidade de infusão adicionada. Esse fato pode ser entendido pela maior inserção de moléculas captadoras de radicais livres de ocorrência natural da *Camelia sinensis*, assim como a ação da atividade das bebidas lácteas avaliadas estão associadas a presença dos compostos fenólicos contidos nos ingredientes provenientes da casca de jabuticaba, o que poderia justificar a semelhança entre os três tratamentos, visto que tiveram adição desses ingredientes em quantidades iguais.

El-Said et al. (2014) determinaram as atividades antioxidantes de iogurtes fortificados com extratos de casca de romã, antes e após a fermentação, com destaque para inibição de radicais DPPH no valor de  $19,12 \pm 1,56\%$  e  $17,91 \pm 1,54\%$ , respectivamente, indicando que a fermentação do leite reduziu significativamente a atividade antioxidante. Neste contexto o estudo em questão apesar do processo fermentativo os valores foram superiores aos achados em El-Said et al. (2014).

Considerando os resultados finais de capacidade antioxidante total das amostras do presente estudo, seriam necessários entre 200 g e 250 g de bebida láctea para a captura de 1 g de radicais DPPH, porção esta viável de ser ingerida em cada ocasião de consumo.

Os valores de  $EC_{50}$  em g de amostra  $L^{-1}$  de solução de DPPH 100  $\mu$ M deste estudo variaram entre  $6,32 \pm 0,78$  e  $4,22 \pm 0,82$  considerando os três tratamentos de bebida láctea fermentada, sendo inferiores a  $342,191 g L^{-1}$ , resultados estes observados por Pádua et al. (2017), ao analisarem um iogurte sabor banana enriquecido com farinha de casca de jabuticaba. Deste modo, conclui-se uma atividade antioxidante superior das amostras de bebida láctea, visto que quanto menor o valor de  $EC_{50}$  maior a atividade antioxidante.

## 5.9 Análise da textura instrumental das bebidas lácteas cremosas

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

A **Tabela 9** apresenta os resultados para o perfil de textura instrumental e os parâmetros avaliados das bebidas lácteas fermentadas probióticas ao longo do armazenamento.

**Tabela 9** – Parâmetros de firmeza, consistência, coesividade e índice de viscosidade das bebidas lácteas cremosas fermentada a  $43 \pm 2$  °C nos dias 1, 7, 14 e 21.

Parâmetros	Tratamentos	Tempo (dias)			
		1	7	14	21
Firmeza (N)	T1	0,596± 0,24 <sup>Aa</sup>	1,26± 0,37 <sup>Ab</sup>	0,662 ± 0,23 <sup>Aa</sup>	0,811 ± 0,27 <sup>Aa</sup>
	T2	0,655 ± 0,20 <sup>Aa</sup>	0,813 ± 0,21 <sup>Aa</sup>	0,836 ± 0,28 <sup>Aa</sup>	0,958 ± 0,38 <sup>Aa</sup>
	T3	0,885 ± 0,38 <sup>Aa</sup>	1,01 ± 0,22 <sup>Aa</sup>	0,770 ± 0,14 <sup>Aa</sup>	0,900 ± 0,26 <sup>Aa</sup>
Consistência (N × s)	T1	8,35 ± 3,97 <sup>Aa</sup>	12,55 ± 5,89 <sup>Ab</sup>	9,70 ± 4,68 <sup>Aa</sup>	11,35 ± 4,05 <sup>Ab</sup>
	T2	9,41 ± 3,13 <sup>Aab</sup>	12,74 ± 4,96 <sup>Ab</sup>	10,87± 4,03 <sup>Ab</sup>	8,79 ± 5,79 <sup>Aa</sup>
	T3	9,41 ± 4,01 <sup>Aa</sup>	13,46 ± 2,44 <sup>Ab</sup>	12,82 ± 2,82 <sup>Aab</sup>	11,17 ± 2,67 <sup>Aa</sup>
Coesividade (N)	T1	0,515 ± 0,24 <sup>Ba</sup>	0,838 ± 0,11 <sup>Cb</sup>	0,435 ± 0,47 <sup>Aa</sup>	0,555 ± 0,29 <sup>Aa</sup>
	T2	0,338 ± 0,09 <sup>Aa</sup>	0,516± 0,19 <sup>Ab</sup>	0,499 ± 0,19 <sup>Ab</sup>	0,574 ± 0,34 <sup>Ab</sup>
	T3	0,505 ± 0,20 <sup>Ba</sup>	0,689 ± 0,09 <sup>Bb</sup>	0,560 ± 0,17 <sup>Aab</sup>	0,604± 0,09 <sup>Aab</sup>
Índice de viscosidade (N × s)	T1	0,499 ± 0,33 <sup>Aa</sup>	0,884 ± 0,57 <sup>Abc</sup>	0,769 ± 0,27 <sup>Ab</sup>	1,015 ± 0,39 <sup>Ac</sup>
	T2	0,624± 0,26 <sup>Aa</sup>	0,869 ± 0,38 <sup>Aa</sup>	0,801 ± 0,34 <sup>Aa</sup>	0,811 ± 0,41 <sup>Aa</sup>
	T3	1,186 ± 0,32 <sup>Bb</sup>	1,290 ± 0,12 <sup>Ab</sup>	0,978 ± 0,23 <sup>Aa</sup>	0,953 ± 0,11 <sup>Aa</sup>

T1 - bebida láctea controle contendo *S. thermophilus* TA40, T2 - bebida láctea potencialmente probiótica contendo *S. thermophilus* TA40 T2 e *L. rhamnosus*- T3-- bebida láctea potencialmente probiótica produzida com *S. thermophilus* TA40 e a cultura nativa *L. plantarum* CNPC003

<sup>A,B,C</sup> = Em uma coluna, maiúsculas sobrescritas diferentes letras denotam diferenças significativas entre os tratamentos para o mesmo dia de armazenamento.

(p < 0,05). <sup>a, b, c</sup> = Em uma linha, diferentes letras minúsculas sobrescritas denotam diferenças significativas entre os dias de armazenamento para o mesmo tratamento (p < 0,05).

De acordo com a **Tabela 9**, avaliando os três tratamentos de bebidas lácteas comparando-as, notou-se que para os parâmetros de firmeza e consistência não houve diferença significativa para um mesmo dia de armazenamento ( $p > 0.05$ ). Em se tratando de coesividade observou-se que a formulação T2 (cultura probiótica comercial) nos primeiros dias de armazenamento se manteve menor que das outras formulações (T1 e T3), já para índice de viscosidade, o tratamento T3 (cultura probiótica nativa *L. plantarum*) manteve-se superior aos outros tratamentos ( $p < 0,05$ ), no entanto após o décimo quarto dia não foram observadas tais situações, não apresentando diferenças significativas.

Quanto a avaliação de cada tratamento de bebida láctea (T1, T2, T3) isoladamente ao longo dos dias de armazenamento (1, 7, 14 e 21 dias), notou-se resultados significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ).

Para o tratamento T1 (controle), na primeira semana houve aumento significativo de firmeza, consistência, coesividade, e índice de viscosidade, sendo reduzido significativamente os valores a partir do décimo quarto dia para firmeza, consistência e coesividade.

Por outro lado, em T2 (cultura probiótica comercial), do primeiro ao sétimo dia elevou-se significativamente a parâmetro de coesividade, além disso a partir de 14 dias, a consistência foi reduzindo de maneira significativa ( $p < 0,05$ ).

Para o tratamento T3, verificou-se elevação significativa no período inicial de armazenamento para consistência e coesividade, sendo a consistência reduzida significativamente a partir do sétimo dia e índice de viscosidade aos 14 dias.

A firmeza é a força necessária para realizar uma determinada deformação, podendo ser definida também como a força requerida para comprimir a sobremesa entre os dentes molares ou entre a língua e o palato (deformação ou penetração) (BURITI, 2005). Ramchandran e Shah (2010) observaram que iogurtes com baixo teor de gordura contendo exopolissacarídeos e inulina, o resultado para firmeza não demonstrou diferença significativa ao longo do armazenamento, sendo semelhantes ao estudo.

As formulações de bebidas lácteas cremosas foram consideradas de baixo teor de gordura, o que pode justificar a redução da consistência a partir da segunda metade do período de armazenamento.

Costa et al. (2015) ao avaliar parâmetros instrumentais em iogurtes a base de leite de cabra contendo prebióticos, probióticos, combinação de probióticos e prebióticos e polpa de cupuaçu ao longo de 28 dias de armazenamento, destacaram um mesmo comportamento quanto à firmeza e coesividade, já a consistência foi alta e constante para os iogurtes a base de prebióticos e polpa de cupuaçu, quando comparada ao iogurte contendo probiótico, visto que



tal parâmetro é altamente dependente da composição das culturas microbianas, assim como o teor de gordura, podendo explicar a redução significativa da consistência, detectada no estudo em questão, que apresenta diferentes culturas microbianas lácticas.

Estudo aborda que lipídios em maior quantidade nos produtos lácteos fermentados, possibilitam a formação de um gel bem compacto, ocasionando consistência firme, ao contrário do que se observou no trabalho, no qual a consistência foi reduzindo ao final do armazenamento (GUGGISBERG et al., 2009).

### 5.10 Avaliação sensorial de bebidas lácteas cremosas fermentadas

Para todas as três formulações (T1, T2 e T3) a pesquisa de *Salmonella*, coliformes a 35 °C e coliformes a 45 °C os resultados foram negativos, permitindo uma avaliação sensorial segura aos provadores.

Na **Tabela 10** são apresentados os resultados para aceitabilidade global pelo provadores quanto aos tratamentos (T1, T2 e T3) de bebidas lácteas cremosa fermentadas

**Tabela 10** – Aceitabilidade global (média  $\pm$  desvio padrão) das formulações de bebida láctea cremosa com ingredientes da casca de jabuticaba após 7 e 21 dias de armazenamento.

Tempo (dias)	Tratamentos		
	T1	T2	T3
7	5,45 $\pm$ 1,96 <sup>Aa</sup>	6,58 $\pm$ 2,28 <sup>Aa</sup>	6,21 $\pm$ 2,07 <sup>Aa</sup>
21	6,33 $\pm$ 1,78 <sup>Aa</sup>	6,42 $\pm$ 1,70 <sup>Aa</sup>	6,25 $\pm$ 2,35 <sup>Aa</sup>

Fonte: dados de pesquisa.

T1 = *S. thermophilus* TA40; B2 = *S. thermophilus* TA40 + *L. rhamnosus* LR32; B3 = *S. thermophilus* TA40 + *L. plantarum* CNPC003. <sup>A</sup> letras maiúsculas sobrescritas iguais na mesma linha não diferem significativamente entre as formulações estudadas ( $p > 0,05$ ). <sup>a</sup> letras minúsculas sobrescritas iguais na mesma coluna não diferem significativamente entre os dias para uma mesma formulação estudada ( $p > 0,05$ ).

Conforme **Tabela 10**, a aceitabilidade global não demonstrou diferença significativa entre os tratamentos em nenhum dia de armazenamento, assim como não teve diferença significativa para o mesmo tratamento ao longo do armazenamento. Considerando os resultados os valores foram compreendidos entre 6 e 7 podendo ser interpretada por "gostei ligeiramente". Pode-se observar que as diferenças de culturas probióticas adicionadas nos tratamentos não interferiram na aceitabilidade global pelos provadores. É notável ainda um valor diminuído do tratamento T1 no dia 7, o qual não pôde ser considerado significativo, considerando os desvios padrões. Diferindo do estudo de Dias et al. (2013), que ao avaliar a

aceitabilidade de bebida láctea fermentada simbiótica com adição de *L. acidophilus*, evidenciou mudanças significativas ao longo do armazenamento, visto que somente no dia 21 de armazenamento as respostas se posicionaram em torno de “gosto um pouco” (valor de resposta em torno de 7) atribuídos a acidez da bebida láctea.

Outro estudo ao avaliar a aceitabilidade de leites fermentados por meio de escala hedônica de 9 pontos, obtiveram valores que podem ser corroborados com o trabalho em questão, pois um número de consumidores respondeu com valores em torno de 6-8, representando boa aceitabilidade (BAYARRI et al., 2011).

No contexto dos atributos preferidos e não preferidos pelos provadores (**Tabela 11**) o sabor foi citado como o atributo menos preferido, associado especialmente ao gosto de ácido para as três formulações de bebidas lácteas cremosas. Por outro lado, a cor e a textura, foram consideradas as características preferidas pelos provadores.

**Tabela 11** – Atributos sensoriais analisados pelos julgadores (n=35) para as bebidas lácteas cremosas T1 = *S. thermophilus* TA40; T2 = *S. thermophilus* TA40 + *L. rhamnosus* LR32; T3 = *S. thermophilus* TA40 + *L. plantarum* CNPC003 nos dias 7 e 21 de armazenamento.

Tratamento	Tempo (dias)	Classificação	Atributos citados				Total de citações	Não citou
			Sabor	Textura	Aparência	Cor		
T1	7	Mais	9	13	2	11	35	0
	21	apreciado	11	7	5	12	35	0
	7	Menos	20	3	4	8	35	0
	21	apreciado	19	3	5	7	34	1
T2	7	Mais	10	10	6	9	35	0
	21	apreciado	8	10	6	12	36	0
	7	Menos	16	7	2	10	35	0
	21	apreciado	21	5	3	6	35	0
T3	7	Mais	9	10	3	13	35	0
	21	apreciado	8	7	6	14	35	0
	7	Menos	22	4	7	3	36	0
	21	apreciado	16	11	2	6	35	0

Fonte: dados de pesquisa.

A maior preferência pela cor das bebidas lácteas é provenientes da estabilidade destas em função da presença dos pigmentos das cascas de jabuticaba (antocianinas) e especialmente pelo uso do corante natural carmim de cochinha que proporcionaram um aspecto atrativo ao consumo. O sabor ácido possivelmente presente em função da adição do ácido láctico para obtenção da estabilidade da cor, como também pelo metabolismo das culturas probióticas e *starter*, visto que os valores de pH e acidez titulável não variaram ao longo do armazenamento, corroborando com estudos de Gomes et al. (2013) que ao avaliarem características sensoriais de bebidas lácteas fermentadas feitas com leite de cabra, leite de vaca e uma mistura dos dois leites, obtiveram um sabor mais ácido para as bebidas, provavelmente relacionado com o reflexo do metabolismo microrganismos probióticos.

## 6 CONCLUSÃO

Todos os ensaios pilotos foram válidos e contribuíram para a obtenção de uma formulação de bebida láctea provavelmente adequada para a realização das posteriores análises e possivelmente adequada ao consumo humano à base de cultura probiótica nativa *L. plantarum* CNPC003.

A cultura nativa *L. plantarum* CNPC003 apresentou manutenção de sua viabilidade durante a fermentação das bases contendo leite e soro de queijo e ao longo do armazenamento das bebidas lácteas cremosas fermentadas adicionadas dos ingredientes da casca da jabuticaba.

O emprego de *L. plantarum* CNPC003 em cocultura com *S. thermophilus*, microrganismo *starter*, em bebida láctea cremosa fermentada não promoveu alterações nas características físico-químicas (pH e acidez titulável), composição centesimal, o teor de compostos fenólicos e a atividade antioxidante em comparação aos tratamentos controle e com o probiótico comercial.

As bebidas lácteas cremosas fermentadas apresentaram-se com teor baixo de gordura e teve sua consistência diminuída ao longo do armazenamento, porém foram aceitáveis para consumo de maneira global, de cor atrativa e de textura apreciável, apesar do gosto ácido.

A produção da bebida láctea cremosa com *L. plantarum*, representou fonte de reaproveitamento de resíduos agroindustriais (soro de queijo e casca de jabuticaba) e pode ser considerada uma alternativa viável para a promoção a saúde em função da viabilidade de lactobacilos, similar a cultura comercial, assim como a presença de compostos fenólicos, além da capacidade antioxidante, a qual seriam necessários entre 200 g e 250 g de bebida láctea cremosa para a captura de 1 g de radicais DPPH, porção esta viável de ser ingerida em cada ocasião de consumo.

## 7 TRABALHOS RESULTANTES DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

- Publicação de artigo científico no periódico *Nutrients*: ALMEIDA NETA, M. C.; ROCHA, A.Q.; ALMEIDA, R.; SOARES, A. S.; MARINHO, J. G.; FERNANDES, S. S.; SOUSA, M.C.; DOS SANTOS, K.O.; BURITI, F.C.A.; ROLIM, E. F.; . Fermented dessert with whey, ingredients from the peel of jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) and an indigenous culture of *Lactobacillus plantarum*: composition, microbial viability, antioxidant capacity and sensory features. **Nutrients**, Basel, v. 10, p. e-1214, Sept. 2018. DOI: 10.3390/nu10091214. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6163542>. Acesso em: 20.nov.2018.
- ALMEIDA, R. L. J.; QUEIROGA, A. P. R.; ALMEIDA NETA, M. C.; ALONSO BURITI, F. C.; FLORENTINO, E. R. Análises bromatológicas em bebida láctea obtida do aproveitamento da casca da jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*). **Revista Higiene Alimentar**, Fortaleza, p. 3455-3459, 2017. Trabalho apresentado no Congresso Brasileiro de Higienistas de Alimentos, 2017, [Fortaleza- CE].
- ALMEIDA NETA, M. C.; SOUSA, M. C.; ALMEIDA, R. L. J.; QUEIROGA, A. P. R.; FLORENTINO, E. R.; BURITI, F. C. A. Viabilidade de cultura nativa potencialmente probiótica em bebida láctea fermentada contendo produtos da casca de jabuticaba e sua influência sobre a cultura *starter*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 25; 2016, Gramado, RS. **Anais** [...] Gramado: FAURGS Fundação de apoio da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2016.
- FERNANDES, S. S.; ALMEIDA NETA, M. C.; SOUSA, M. C.; PEREIRA, E. V. S.; FLORENTINO, E. R.; BURITI, F. C. A. Características microbiológicas de derivados lácteos fermentado e não fermentado contendo produtos obtidos da casca de jabuticaba e cepas nativas de lactobacilos com potencial probiótico. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 25.; 2016, Gramado, RS. **Anais** [...] Gramado, FAURGS Fundação de apoio da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2016.

- QUEIROGA, A. P. R.; ALMEIDA, R.L.J.; ALMEIDA NETA, M.C.; SOUSA, M. C.; FLORENTINO, E. R. Análises físico-químicas de bebidas lácteas fermentadas potencialmente probióticas produzidas a partir do aproveitamento da casca da jabuticaba. 3 jun.2016. *In*: CONGRESSO NACIONAL DE PESQUISA E ENSINO EM CIÊNCIAS, 1.; 2016, Campina Grande- PB.
- SANTOS, W. M.; FERNANDES, S. S.; ALMEIDA, R.L. J.; QUEIROGA, A. P. R.; ALMEIDA NETA, M. C.; SOUSA, M. C.; FLORENTINO, E. R. F. Viabilidade de cultura comercial com potencial probiótico em alimentos lácteos fermentado e não fermentado produzidos a partir do aproveitamento da casca de jabuticaba. 21 a 25 out.2015. *In*: ENCONTRO DE TECNOLOGIA E DESENVOLVIMENTO REGIONAL, 3,; SIMPÓSIO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA, 1., 2015, João Pessoa, PB: UFPB UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA, 2015.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução RDC nº 241, de 26 de julho 2018. Requisitos para comprovação da segurança e dos benefícios à saúde dos probióticos para uso em alimentos. **Diário Oficial da União**: seção1, Brasília, DF, ano 155, n.144, p.97, 27 jul. 2018.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução RDC Nº. 54 de 12 de novembro de 2012. Regulamento técnico sobre informação nutricional complementar. **Diário Oficial da União**: seção1, Brasília, DF, ano 149, n. 219, p. 122-126, 13 nov. 2012.

AHMAD, N.; ZUO, Y.; LU, X.; ANWAR, F.; HAMEED, S. Characterization of free and conjugated phenolic compounds in fruits of selected wild plants. **Food Chemistry**, Barking, v. 190, p. 80-89, May 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.05.077>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814615008122>. Acesso em: 20 out.2018.

AOAC INTERNATIONAL. **Official methods of analysis**. 18. ed. Gaithersburg: AOAC International, 2005.

ALENISAN, M.A.; ALQATTAN, H. H.; TOLBAH, L.S.; SHORI, A.B. Antioxidant properties of dairy products fortified with natural additives: A review. **Journal of the Association of Arab Universities for Basic and Applied Sciences**, Bahrain, v. 24, p. 101-106, Oct. 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jaubas.2017.05.001>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S181538521730024>. Acesso em 20 out. 2018.

ALEZANDRO, M. R.; LUI, M. C.Y.; LAJOLO, F.M.; GENOVESE, M.I. Commercial spices and industrial ingredients: evaluation of antioxidant capacity and flavonoids content for functional foods development. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 31, n. 2, p. 527-533, abr./jun. 2011.

ALMEIDA, P. L.; LIMA, S. N.; COSTA, L. L.; OLIVEIRA, C.C.; DAMASCENO, K. B.; SANTOS, B. A.; CAMPAGNOL, P. C. B. Effect of jabuticaba peel extract on lipid oxidation, microbial stability and sensory properties of Bologna-type sausages during refrigerated storage. **Meat Science**, Barking, v. 10, n. 1, p. 9-14, Dec. 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2015.06.012>. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26156583>. Acesso em: 20 out. 2018.

ALVES, C.Q.; DAVID, J.M.; DAVID, J. P.; BAHIA, M.V.; AGUIAR, R.M. Métodos para determinação de atividade antioxidante *in vitro* em substratos orgânicos. **Química Nova**, São Paulo, v. 33, n.10, p. 2202-2210, 2010. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-40422010001000033](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422010001000033). Acesso em: 20 out.2018.

ALVES, M. P.; MOREIRA, R.O.; RODRIGUES - JÚNIOR, P.H.; MARTINS, M.C.F.; PERRONE, I. T.; CARVALHO, A.F. Soro de leite: tecnologias para o processamento de coprodutos. **Revista do Instituto Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 69, n. 3, p.



212-226, maio/jun. 2014. DOI: 10.14295/2238-6416.v69i3.341. Disponível em: <https://www.revistadoilct.com.br/rilct/article/view/341/316>. Acesso em: 20.out.2018.

ANGELO, P. M.; JORGE. N. Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 66, n.1, p. 1-9, jan. 2007.

BALDISSERA, A. C.; BETTA, F. D.; PENNA, A. L. B.; LINDNER, J. D E D. Alimentos funcionais: uma nova fronteira para o desenvolvimento de bebidas protéicas a base de soro de leite. **Ciências Agrárias**, Londrina, v. 32, n. 4, p. 1497-1512, out./dez. 2011.

BATISTA, R.V.; ROSÁRIO, F. M.; PASSOS, C. T.; TORMEN, L.; BERTAN, L.C. Caracterização físico-química de geleia de jaboticaba (*Myciaria jaboticaba* (vell) Berg) com adição de chia e biomassa de banana verde. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 25., CIGR, SECTION, INTERNATIONAL TECHNICAL SYMPOSIUM 4.; 2016, Gramado, RS. **Anais** [...]. Gramado: FAURGS Fundação de apoio da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2016. Disponível em: <http://www.ufrgs.br/sbctars-eventos/xxvcbcta/anais/files/755>. Acesso em: 26 nov.2018.

BAYARRI, S.; CARBONELL, I.; BARRIOS, E.; COSTELL, E. Impact of sensory differences on consumer acceptability of yoghurt and yoghurt-like products. **International Dairy Journal**, Oxford, v. 21, p. 111-118, Feb. 2011.

BERTOLINO, M.; BELVISO, S.; BELLO, B.D.; GHIRARDELLO, D.; GIORDANO, M.; ROLLE, L.; GERBI, V.; ZEPPA, G. Influence of the addition of different hazelnut skins on the physicochemical, antioxidant, polyphenol and sensory properties of yogurt. **LWT - Food Science and Technology**, Amsterdam, v. 63, p. 1145 -1154, Oct. 2015. DOI: Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643815002674?via%3Dihub>. Acesso em: 20 out. 2018.

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

BURITI, F.C. A.; FREITAS, S. C.; EGITO, A. S. AND DOS SANTOS, K.M. O. Effects of tropical fruit pulps and partially hydrolysed galactomannan from *Caesalpinia pulcherrima* seeds on the dietary fibre content, probiotic viability, texture and sensory features of goat dairy beverages. **LWT - Food Science Technology**, Amsterdam, v. 59, p.196-203, Nov. 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.04.022>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643814002278>. Acesso em: 13 nov. 2018.

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Instrução normativa n.º 62, de 27 de agosto de 2003. Métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para o controle de produtos de origem animal. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, ano 140, n. 181, p. 14-51, 18 set. 2003.

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Instrução normativa n.º.16, 23 de agosto de 2005. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de bebidas lácteas. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, ano 142, n.

163, p. 7-10, 24 ago. 2005.

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Instrução normativa n. 46, 23 de outubro de 2007. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de leites fermentados. **Diário Oficial da União**: seção 1, ano 144, n. 205, p. 4, 24 out. 2007.

CASTRO, Wellington de Freitas. **Efeito da concentração de soro de queijo na produção e qualidade sensorial de bebidas lácteas probióticas**. 2012. 143 f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2012.

COSTA, M.P.B.S.; FRASAO, A.C.O.; SILVA, M.Q.; FREITAS, R.M.; FRANCO.; CONTE-JUNIOR, C.A. Cupuassu (*Theobroma grandiflorum*) pulp, probiotic, and prebiotic: Influence on color, apparent viscosity, and texture of goat milk yogurts. **Journal Dairy Science**, Lancaster, v. 98, n. 9, p. 5995–6003, Sept. 2015. DOI: 10.3168/jds.2015-9738. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26188580>. Acesso em: 20 out. 2018

CHUA, K.J.; KWOK, W.C.; AGGARWAL, N.; SUN, T.; CHANG, M.W. Designer probiotics for the prevention and treatment of human diseases. **Chemical Biology**, Cambridge, v. 40, p. 8-16, Oct. 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2017.04.011>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1367593117300509>. Acesso em: 20 nov.2018.

CRUZ, Ana Paula Gil. **Recuperação de compostos bioativos a partir de resíduos da indústria vitivinícola**. 2013. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) – Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2013.

DE ARAUJO, G.V.; OLIVEIRA JUNIOR, M. H.; PEIXOTO, D.M.; SARINHO, E.S.C. Probiotics for the treatment of upper and lower respiratory-tract infections in children: systematic review based on randomized clinical trials. **Jornal de Pediatria**, Rio de Janeiro, v. 91, n. 5, p. 413-27, set./out. 2015.

DE SÁ, L. Z. C. M.; CASTRO, P. F.S.; LINO, F. M. A.; BERNARDES, M. J.C.; VIEGAS, J. C. J.; DINIS, T. C. P.; SANTANA, M. J.; ROMÃO, W.; VAZ, B. G.; LIÃO, L. M.; GHEDINI, P. C.; ROCHA, M. L.; GIL, E. S. Antioxidant potential and vasodilatory activity of fermented beverages of jaboticaba berry (*Myrciaria jaboticaba*). **Journal of Functional Foods**, Amsterdam, v. 8, p.169–179, May 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jff.2014.03.009>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1756464614000814>. Acesso em : 20 nov.2018.

DIAS, M.L.L.A.; SALGADO, S.M.; GUERRA, N.B.; LIVERA, A.V.S.; ANDRADE, S.A. C.; XIMENES, G.N.C. Physicochemical, sensory, and microbiological evaluation and development of symbiotic fermented drink. **Food Science and Technology**, Campinas, v.33, n. 4, p. 805-811, Oct./Dec.2013.

DOS SANTOS, K. M.; OLIVEIRA, I. C.; LOPES, M. A. C.; CRUZ, A. P. G.; BURITI, F. C. A.; CABRAL, L. M. Addition of grape pomace extract to probiotic fermented goat milk:

the effect on phenolic content, probiotic viability and sensory acceptability. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 97, n. 4, p.1108-1115, Mar. 2017.

EL-SAID, M.M.; HAGGAG, H.F.; EL-DIN, H.M.; GAD, A.S.; FARAHAT, A. M. Antioxidant activities and physical properties of stirred yoghurt fortified with pomegranate peel extracts. **Annals of Agricultural Sciences**, Cairo, v. 59, n. 2, p. 207–212, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aoas.2014.11.007>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0570178314000451>. Acesso em:20 out. 2018.

FIORENTINI, A. M; BALLUS, C. A.; OLIVEIRA, M. L, KLAJN, V. M. The influence of different combinations of probiotic bacteria and fermentation temperatures on the microbiological and physicochemical characteristics of fermented lactic beverages containing soybean hydrosoluble extract during refrigerated storage. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 31, n.3, p. 597-607, jul./set. 2011.

FLORENTINO, Eliane Rolim. **Produção de “queijo coalho” com leite pasteurizado**. Campina Grande: 1997

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

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS; WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Guidelines for the evaluation of probiotics in food**. London, Ontario, Canadá, 2006. Disponível em: <[http://www.who.int/foodsafety/fs\\_management/en/probiotic\\_guidelines.pdf](http://www.who.int/foodsafety/fs_management/en/probiotic_guidelines.pdf)>. Acesso em: 20 de out. 2018.

FOLCH, J., LESS, M.; STANLEY, S. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. **Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v. 226, n. 1, p. 497-509, May 1957.

GAGGIÀ, F.; MATTARELLI, P.; BIAVATI, B. Probiotics and prebiotics in animal feeding for safe food production. **International Journal Food Microbiology**, Amsterdam, v. 31; p. 141, July 2010.

GEORGIEVA, R.; ILIEV, I.; HAERTLÉ, T.; CHOBERT, J.; ISANOVA, I.; DANOVA, S. Technological properties of candidate probiotic *Lactobacillus plantarum* strains. **International Dairy Journal**, Oxford, v. 19, n. 11, p. 696-702, Nov. 2009. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2009.06.006>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0958694609001113>. Acesso em: 13 nov. 2018.

GIORDANO, M.; ROLLE, L.; GERBI, V.; ZEPPA, G. Influence of the addition of different hazelnut skins on the physicochemical, antioxidant, polyphenol and sensory properties of yogurt. **LWT - Food Science and Technology**, Amsterdam, v. 63, n. 2, p. 1145 -1154, Oct. 2015.

GOMES, J. J. L.; DUARTE, A. M.; BATISTA, A. S. M.; DE FIGUEIREDO, R. M. F.; DE SOUSA, E. P.; DE SOUZA, E. L.; QUEIROGA, R.C. R. E. Physicochemical and sensory properties of fermented dairy beverages made with goat's milk, cow's milk and a mixture of the two milks. **LWT - Food Science and Technology**, Amsterdam, v. 54, n. 1, p.18-24, Nov. 2013.

GUGGISBERG, D.; CUTHBERT-STEVEN, J.; PICCINALI, P.; BÜTIKOFER, U.; EBERHARD, P. Rheological, microstructural and sensory characterization of low-fat and whole milk set yogurt as influenced by inulin addition. **International Dairy Journal**, Oxford, v.19, n. 2, p.107-115, Feb. 2009. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2008.07.009>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0958694608001386>. Acesso em: 20 out. 2018.

HILL, C., REID, F.G.G.; GIBSON, R.; MERENSTEIN. D.J.; POT. B.; MORELLI, L.; CANANI. R.B.; FLINT, J.H.; 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. DOI: 10.1038/nrgastro.2014.66. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nrgastro.2014.66>. Acesso em : 13 nov.2018.

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

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

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4. ed. 1. ed. digital. São Paulo: 2008.

INSTITUTE OF FOOD TECHNOLOGISTS. **Functional Foods**. Chicago, 2017. Disponível em: <http://www.ift.org/Knowledge-Center/Focus-Areas/Food-Health-and-Nutrition/Functional-Foods.aspx>. Acesso em: 20 nov.2018

JARDIM, Fernanda Barbosa Borges. **Desenvolvimento de bebida láctea probiótica carbonatada**: características físico-químicas, microbiológicas e sensoriais. 2012. 128 f. Tese (Doutorado em Alimentos e Nutrição) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Araraquara, 2012.

KARAASLAN, M.; OZDEN, M.; VARDIN, H.; TURKOGLU, H. Phenolic fortification of yogur using grape and callus extracts. **LWT - Food Science Technology**, Amsterdam, v. 44, n. 4, p.1065-1072, May 2011. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.12.009>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643810004317>. Acesso em 20 ou. 2018.

KAUR, N.; SINGH, D. P. Deciphering the consumer behaviour facets of functional foods: A literature review. **Appetite**, Pasig, v.112, p. 167-187, Jan. 2017.

LALEMAN I, TEUGHEL W: Probiotics in the dental practice: a review. **International Quintessence**, Berlim, v. 46, n. 3, p. 255-264, Mar. 2015. DOI: 10.3290/j.qi.a33182. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25485319>. Acesso em: 13 nov. 2018.

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

MAGALHÃES, K. T.; DRAGONE, G.; PEREIRA, G.V.M.; OLIVEIRA, J.M.; DOMINGUES, L.; TEIXEIRA, J.A.; ALMEIDA E SILVA, J.B.; SCHWAN, R.F. Comparative study of biochemical changes and the formation of volatile compounds during the production of the new beverage base and traditional whey milk. **Food Chemistry**, Barking, v. 126, p. 249-253, 2011. DOI: 10.1016/j.foodchem.2010.11.012. Disponível em: <http://hdl.handle.net/1822/16757>. Acesso em: 13 nov. 2018.

MARECEK, V.; MIKYŠKA, A.; HAMPEL, D.; ČEJKA, P.; NEUWIRTHOVÁ, J.; MALACHOVÁ, A.; CERKAL, R. ABTS and DPPH methods as a tool for studying antioxidant capacity of spring barley and malt. **Journal of Cereal Science**, London, v. 73, p. 40-45, 2017. DOI: 10.1016/j.jcs.2016.11.004. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0733521016301886>. Acesso em: 20 out. 2018.

MARQUES, Tamara Rezende. **Aproveitamento tecnológico de resíduos da acerola: farinhas e barras de cereais**. 2013. 101 f. Dissertação (Mestrado em engenharia dos alimentos). Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2013.

MARTINS, A.; BARROS, L.; CARVALHO, A.M.; SANTOS-BUELGA, C.; FERNANDES, I.P.; BARREIRO, F.; FERREIRA, I.C.F.R. Phenolic extracts of *Rubus ulmifolius* Schott flowers: characterization, microencapsulation and incorporation into yogurts as nutraceutical sources. **Food and Function**, Cambridge, v. 5, n. 6, p. 1091–1100, June 2014.

MARTINEZ, R. C. R.; BEDANI, R.; SAAD, S. M. I. Scientific evidence for health effects attributed to the consumption of probiotics and prebiotics: an update for current perspectives and future challenges. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v.114, n. 12, p. 1993-2015, Dec. 2015.

MIRA, N. V.M.; BARROS, R.M.C.; SCHIOCCHET, M. A.; NOLDIN, J.A.; LANFER-MARQUEZ, U.M. Extraction, analysis and distribution of phenolic acids in pigmented and non-pigmented genotypes of rice (*Oryza sativa* L.). **Ciências e Tecnologia de Alimentos**, v. 4, p. 994-1002. 2008.

MORAES, F.P.; COLLA, L.M; Alimentos funcionais e nutracêuticos: definições, legislação e benefícios à saúde. **Revista Eletrônica de Farmácia**, Goiânia, v. 3, n. 2, p. 109-122, nov. 2006. Disponível em: <https://www.revistas.ufg.br/REF/article/viewFile/2082/2024>. Acesso em: 20 out. 2018.

MORALES, P.; BARROS, L.; DIAS, M., I.; SANTOS-BUELGA, C.; FERREIRA, I., C., F., R.; EDUARDO ASQUIERI, R.; DE J.BERRIOS, J. Non-fermented and fermented jabuticaba

(*Myrciaria cauliflora* Mart.) pomaces as valuable sources of functional ingredients. **Food Chemistry**, Barking, v. 208, p. 220–227, Oct. 2016.

NIERO, G.; STURARO, A.; TRENTIN, A.R.; MASI, A.; DE MARCHI, M.; CASSANDRO, M. Effect of cheese making with microparticulated whey proteins on the concentration of low molecular thiols in cheese. **Acta Agraria Kaposvariensis**, Kaposvár, v.18, p. 103–108, 2014.

PADILHA, T.; BASSO, C. Biscoitos com resíduo de manga, maracujá e jabuticaba. **Disciplinarum Scientia: Ciências da Saúde**, Santa Maria, v. 16, n. 1, p. 79-88, 2015.

PÁDUA, H.C.; SILVA, A.P.; SOUZA, D.G.; MOURA, L.C.; PLÁCIDO, G.R.; COUTO, G.V.L.; CALIARI, M. Yogurt flavored banana (*Musa AAB*, subgrupo prata) flour enriched with the bark of jabuticaba (*Myrciaria jabuticaba* (vell.) Berg. **Global Science Technology**, Rio Verde, v. 10, p. 89-104, jan./abr. 2017.

PATEL, S. Rose hip as an underutilized functional food: evidence-based review. **Trends in Food Science & Technology**, Amsterdam, v 16, p. 30427-7, May 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.03.001>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0924224416304277>. Acesso em: 13 nov. 2018.

PEREIRA, E.P.R.; FARIA, J.A.F.; CAVALCANTI, R.N.; GARCIA, R.K.A.; SILVA, R.; ESMERINO, E.A.; CAPPATO, L.P.; ARELLANO, D.B.; RAICES, R.S.L.; SILVA, M.C.; PADILHA, M.C.; MEIRELES, M.A.; BOLINI, H.M.A.; CRUZ, A.G. Oxidative stress in probiotic Petit Suisse: is the jabuticaba skin extract a potential option? **Food Research International**, New York, v. 81, p.149-156, Mar. 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.12.034>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996915303057>. Acesso em: 20 out. 2018.

PRASAD, K.N.; KONG, K.W.; RAMANNAN, N.S.; AZRINA, A., AMIN, I. Selection of experimental domain using two level factorial design to determine extract yield, antioxidant capacity, phenolics and flavonoids from *Mangifera pajang* Kosterm. **Separation Science Technology**, Oxford, v. 47, n. 16, p. 2417–2423, Nov. 2012.

RAMCHANDRAN, L.; SHAH, N.P. Characterization of functional, biochemical and textural properties of symbiotic low fat yogurts during refrigerated storage. **LWT- Food Science and Technology**, Amsterdam, v. 43, n.5, p. 819-827, June 2010.

RESENDE, J.T.V.; MORALES, R.G.F.; FARIA, M.V.; RISSINI, A.L.L.; CAMARGO, L.K.P.; CAMARGO, C.K. Produtividade e teor de sólidos solúveis de frutos de cultivares de morangueiro em ambiente protegido. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 28, n. 2, p. 185-189, abr./jun. 2010.

RIBEIRO, O.A.S.; BOARI, C.A.; FONSECA, C.M.; FIGUEIREDO, S.P.; NEUMANN, D.; ABREU, L.R. Bebida láctea fermentada com *Camelia sinesis*. **Boletim CEPPA**, Curitiba, v. 32, n. 2, p. 289-304, jul./dez. 2014.

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, 2008. (Comunicado Técnico 127).

RUFINO, J.S.; NASCIMENTO, K.P.; RIBEIRO, D.S.; CHINELATE, G.C.B. Preparation of fermented milk drink flavored honey. **Revista Brasileira Agroecologia**, Gramado, v. 5, p. 42– 48, 2015.

SANCHÉZ, L.; TROMPS, J. Caracterización in vitro de bacterias ácido lácticas com potencial probiótico, **Revista Salud Animale**, La Habana, v. 36, n. 2, May/Aug. 2014.

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

SIDIRA, M.; KANDYLIS, P.; KANELAKI, M.; KOURKOUTAS, Y. Effect of immobilized *Lactobacillus casei* on the evolution of flavor compounds in probiotic dryfermented sausages during ripening. **Meat Science**, Barking, v. 100, n. 1, p. 41-51, Feb. 2015.

SIDIRA, M.; SANTARMAKI, V.; KIOURTZIDIS, M.; ARGYRI, A.A.; PAPADOPOULOU, O.S.; CHORIANOPOULOS, N.; TASSOU, C.; KALOITSAS, S.; GALANIS, A.; KOURKOTAS, Y. Evaluation of immobilized *Lactobacillus plantarum* 2035 on whey protein as adjunct probiotic culture in yoghurt production. **LWT – Food Science Technology**, Amsterdam, v. 75, p. 137-146, Jan. 2017.

SZCZESNIAK, A.S. Texture is a sensory property. **Food Quality and Preference**, Harlow, v. 13, n. 4, p. 215–225, June 2002. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0950-3293\(01\)00039-8](https://doi.org/10.1016/S0950-3293(01)00039-8). Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0950329301000398>. Acesso em: 20 out. 2018.

SHORI, A.B. Antioxidant activity and viability of lactic acid 1 bacteria in soybean-yogurt made from cow and camel milk. **Journal Taibah University for Science**, Almadinah Almunawwarah, v. 7, n. 4, p. 1-17, Oct. 2013.

SIEGRIST, M.; SHI, J. GIUSTO, A.; HARTMANN, C. Worlds apart: consumer acceptance of functional foods and beverages in Germany and China. **Appetite**, London, v. 92, p. 87-93, Sept. 2015. DOI: 10.1016/j.appet.2015.05.017. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26002279> Acesso em: 10 nov. 2018.

SILVA, M.L.C.; COSTA, R.S.; SANTANA, A. DOS S.; KOBLITZ, M.G.B. Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais. **Ciências Agrárias**, Londrina, v. 31, n. 3, p. 669-682, jul./set. 2010.

SIQUEIRA, A. M. O.; MACHADO, E.C.L.; STAMFORD, T. L. M. Bebidas lácteas com soro de queijo e frutas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 43, n. 9, p. 1693-1700, set. 2013.

SOUZA, W. **Avaliação da atividade antioxidante e compostos fenólicos de extratos**

**vegetais**. 2013. 37 f. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, 2013.

SUCUPIRA, N. R. Métodos para determinação da atividade antioxidante de frutos. **UNOPAR Científica Ciências Biológicas e da Saúde**, Londrina, v. 14, n. 4, p. 263-269, out. 2012.

THAMER, K. G.; PENNA, A.L.B. Caracterização de bebidas lácteas funcionais fermentadas por probióticos e acrescidos de prebiótico. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 3, p. 589-595, jul./set. 2006.

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**, Harlow, v. 20, n. 1, p. 1-12, Jan. 2009.

VINDEROLA, G.; CAPELLINI, B.; VILLARREAL, F.; SUÁREZ, V.; QUIBERONE, A.; REINHEMER, 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. 1688-1678, Nov. 2008. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2007.10.008>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643807003568>. Acesso em: 13 nov. 2018.

VÍCTOR-ORTEGA, M. D.; MARTINS, R.C.; GANDO-FERREIRA, L. M.; ROSA M. QUINTA-FERREIRA. R. M. Recovery of phenolic compounds from wastewaters through micellar enhanced ultrafiltration. **Colloids and Surfaces**, New York, v. 531, p. 18–24, Oct. 2017.

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

WAN, L. Y. M.; CHEN, Z. J.; SHAH, N. P. & EL-NEZAMI, H. Modulation of intestinal epithelial defense responses by probiotic bacteria. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v. 56, n. 16, p. 2628-2641, Dec. 2016.

ZICKER, Marina Campos. **Obtenção e utilização do extrato aquoso de jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba* (Vell) Berg) em leite fermentado: caracterização físico-química e sensorial**. 2011. 139 f. Dissertação (Mestrado em Farmácia) - Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, 2011.



**ANEXOS**



## ANEXO 2 – APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA

UNIVERSIDADE ESTADUAL DA  
PARAÍBA - UEPB / PRÓ-  
REITORIA DE PÓS-



**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP**

**DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

**Título da Pesquisa:** Aproveitamento da casca da jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*) e soro da fabricação de queijos para a obtenção de bebida láctea probiótica

**Pesquisador:** FLÁVIA CAROLINA ALONSO BURITI

**Área Temática:**

**Versão:** 2

**CAAE:** 43582514.3.0000.5187

**Instituição Proponente:** Universidade Estadual da Paraíba - UEPB

**Patrocinador Principal:** Universidade Estadual da Paraíba - UEPB

**DADOS DO PARECER**

**Número do Parecer:** 1.110.736

**Data da Relatoria:** 20/05/2015

**Apresentação do Projeto:**

O projeto é intitulado: "Aproveitamento da casca de jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*) e soro da fabricação de queijos para a obtenção de bebida láctea probiótica". O presente projeto é um Projeto de Mestrado apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual da Paraíba.

**Objetivo da Pesquisa:**

Objetivo primário: Desenvolver uma bebida láctea fermentada probiótica utilizando a casca de jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*). Objetivos secundários: realizar um tratamento na casca de jaboticaba de modo a obter uma geleia para ser acrescida à formulação da bebida láctea fermentada probiótica; quantificar o teor de compostos fenólicos totais, flavonoides e atividade antioxidante presentes na casca e geleia de jaboticaba; avaliar características físico-químicas, microbiológicas da bebida láctea fermentada probiótica; quantificar o teor de compostos fenólicos totais, atividade antioxidante na bebida láctea fermentada probiótica; analisar a aceitabilidade pelos consumidores após o preparo da formulação, quanto às características sensoriais.

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

A pesquisadora faz menção a risco mínimo para a análise sensorial, e destaca que as amostras que não obedecerem aos parâmetros de qualidade microbiológica e físico-química serão

**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

descartadas, além da seleção de participantes ser rigorosa, excluindo indivíduos em condições físicas inadequadas (doentes), que sejam alérgicos ou apresentem restrições a algum componente do produto. Com relação aos benefícios, a pesquisadora faz menção aos benefícios à saúde humana do desenvolvimento de alimentos funcionais, bem como uma possibilidade de aproveitamento e agregação de valor de resíduos da atividade agro-alimentar.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

O Projeto é relevante tanto do ponto de vista da saúde humana como ambiental. Está bem fundamentado em termos metodológicos.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Encontram-se anexados: o Termo de Compromisso do Orientador, a Declaração com Projeto de Pesquisa, o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e o Termo de Autorização Institucional.

**Recomendações:**

A pesquisadora seguiu as recomendações do parecer.

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

O presente estudo encontra-se sem pendências, devendo o mesmo prosseguir com a execução na íntegra de seu cronograma de atividades.

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

**Considerações Finais a critério do CEP:**

CAMPINA GRANDE, 17 de Junho de 2015

---

**Assinado por:**  
**Doralúcia Pedrosa de Araújo**  
**(Coordenador)**

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