



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

SABRINA LAÍS ALVES GARCIA

**POTENCIAL FUNCIONAL DE BEBIDAS LÁCTEAS FERMENTADAS SEM
LACTOSE ADICIONADAS DE CULTURAS PROBIÓTICAS E POLPA DE
SYZYGIUM CUMINI (L.) SKEELS**

CAMPINA GRANDE

2019

SABRINA LAÍS ALVES GARCIA

**POTENCIAL FUNCIONAL DE BEBIDAS LÁCTEAS FERMENTADAS SEM
LACTOSE ADICIONADAS DE CULTURAS PROBIÓTICAS E POLPA DE
SYZYGIUM CUMINI (L.) SKEELS**

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

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

CAMPINA GRANDE

2019

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

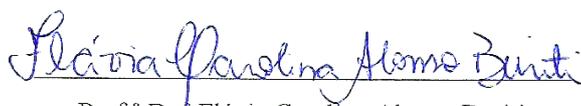
G216p Garcia, Sabrina Laís Alves.
Potencial funcional de bebidas lácteas fermentadas sem lactose adicionadas de culturas probióticas e polpa de *Syzygium cumini* (L.) Skeels [manuscrito] / Sabrina Laís Alves Garcia. - 2019.
66 p.
Digitado.
Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2019.
"Orientação : Profa. Dra. Flávia Carolina Alonso Buriti , Coordenação do Curso de Farmácia - CCBS."
1. Alimento funcional. 2. Alimento sem lactose. 3. Lactobacilos. 4. Probióticos. 5. Jambolão. I. Título
21. ed. CDD 615.321

SABRINA LAÍS ALVES GARCIA

**POTENCIAL FUNCIONAL DE BEBIDAS LÁCTEAS FERMENTADAS SEM
LACTOSE ADICIONADAS DE CULTURAS PROBIÓTICAS E POLPA DE
SYZYGIUM CUMINI (L.) SKEELS**

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

Aprovada em: 18 / 02 / 2019



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

Universidade Estadual da Paraíba

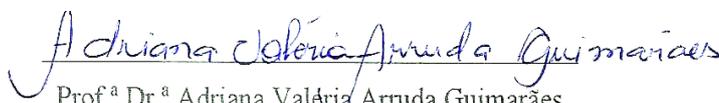
Orientadora/Presidente



Prof.^a Dr.^a Eliane Rolim Florentino

Universidade Estadual da Paraíba

1^a Examinadora



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

Centro Universitário Maurício de Nassau – UNINASSAU/Caruaru

2^a Examinadora

Dedicatória

Ao meu avô José Alves Sobrinho (*in memoriam*), que perdi durante a trajetória deste estudo mas que permanecerá vivo eternamente em meu coração.

AGRADECIMENTOS

A Deus pela força e sabedoria para realizar este trabalho mesmo diante das dificuldades encontradas pelo caminho.

Aos meus pais Wellington Luís dos Santos Garcia e Rosemary Alves Garcia por todo apoio e incentivo que me deram para que eu chegasse até aqui.

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

Aos demais familiares que vibram e torcem a cada conquista.

Aos colaboradores da pesquisa Gabriel, Joyce, Blenda, Danielly, Anna Paula e Juliana pela amizade, contribuição científica e ajuda para realização das análises.

Ao Núcleo de Pesquisa e Extensão em Alimentos (NUPEA), em especial as técnicas de laboratório Adna e Adriana pelo auxílio nas análises e sobretudo por nossa amizade que levarei para a vida.

Ao Dr. Antonio Silvio do Egito pelo auxílio na discussão dos resultados das análises de eletroforese, além da colaboração para padronizar esta metodologia para os produtos analisados.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa de estudos.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo auxílio financeiro à pesquisa.

Ao Programa de Incentivo à Pós-graduação e Pesquisa (PROPESQ/UEPB), pelo auxílio financeiro concedido ao projeto.

À Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Embrapa Agroindústria de Alimentos (Rio de Janeiro, RJ), pela realização da análise cromatográfica da pesquisa.

Às empresas DuPont – Danisco Brasil Ltda. e Prozyn Ind. Com. Ltda. pelos materiais cedidos para a realização do estudo.

Aos laboratórios de bioquímica e de genética da Universidade Estadual da Paraíba e ao laboratório de análise sensorial da Universidade Federal de Campina Grande pela disponibilidade para realização das análises essenciais para conclusão da pesquisa.

A todos que contribuíram de alguma forma para realização desta pesquisa.

RESUMO

A utilização do soro de leite na produção de uma bebida láctea fermentada adicionada de microrganismos probióticos e polpa de fruta parece ser uma alternativa promissora para o desenvolvimento de um alimento funcional. A hidrólise da lactose presente no soro do leite pode ser realizada buscando-se aumentar o público-alvo, atendendo aos intolerantes a esse dissacarídeo. Os parâmetros composição centesimal, viabilidade microbiana, estabilidade durante o armazenamento, aceitabilidade sensorial, perfil proteico e atividade antioxidante foram determinados em três bebidas lácteas fermentadas sem lactose utilizando *Streptococcus thermophilus* TA40 como cultura *starter* (iniciadora) e adicionadas de polpa de *Syzygium cumini* (jambolão) com o objetivo de avaliar o potencial funcional dos produtos elaborados. A bebida controle T1 foi produzida sem lactobacilos adjuvantes; a segunda (T2) e a terceira (T3) foram adicionadas das culturas potencialmente probióticas *Lactobacillus rhamnosus* LR32 e *Lactobacillus casei* BGP93, respectivamente, como microrganismos adjuvantes. As bebidas apresentaram teor proteico de acordo com o exigido pela legislação (superior a 1,0 g 100 g⁻¹), teor de gordura que permite classificá-las como “baixo” neste nutriente (menor que 3 g 100 g⁻¹) e viabilidade superior a 7 log UFC g⁻¹ para ambos lactobacilos, sendo que os mesmos não influenciaram na população do microrganismo iniciador (*S. thermophilus*). Houve pós-acidificação em todos os tratamentos uma vez que o pH reduziu significativamente ao longo do armazenamento (p<0,05). As bebidas apresentaram aceitabilidade global média superior a 6,0 e não foram verificadas diferenças significativas entre os tratamentos e os dias de armazenamento (p>0,05). A cor foi o aspecto mais bem avaliado pelos julgadores, com notas médias que variaram de 7,35 a 8,29, sem diferenças significativas entre os tratamentos (p>0,05). Portanto, a pós-acidificação durante o período de armazenamento não afetou a viabilidade das bactérias lácticas, a aceitabilidade e a cor dos produtos. O teor de compostos fenólicos e a capacidade antioxidante total dos produtos aumentaram significativamente (p<0,05) após a adição da polpa de jambolão na comparação do produto final e suas respectivas bases lácteas, e este último parâmetro ainda permaneceu aumentando significativamente (p<0,05) ao longo do armazenamento, provavelmente em virtude do processo de proteólise. As bebidas lácteas produzidas são, dessa forma, vistas como boas opções de alimentos funcionais graças ao seu valor nutricional, à viabilidade de lactobacilos potencialmente probióticos, concentração de fenólicos totais e atividade antioxidante obtida.

Palavras-chave: Alimento funcional. Alimento isento de lactose. Lactobacilos. Probióticos. Jambolão.

ABSTRACT

The use of whey in the production of a fermented dairy beverage added with probiotic microorganisms and fruit pulps seems to be a promising alternative for the development of a functional food. The hydrolysis of lactose can be performed in order to increase the target audience, taking into account those intolerant to this disaccharide. The mean composition, microbial viability, storage stability, sensory acceptability, protein profile and antioxidant capacity parameters were determined in three lactose-free fermented dairy beverages using *Streptococcus thermophilus* TA40 as starter culture and added with *Syzygium cumini* (jambolan) pulp with the objective of to obtain the functional potential of these products. The control beverage T1 was produced without adjuvant lactobacilli; the second (T2) and the third (T3) were added, respectively, of potentially probiotic cultures *Lactobacillus rhamnosus* LR32 and *Lactobacillus casei* BGP93, respectively, as adjuvant microorganisms. The beverages achieved a protein content in accordance with the required by Brazilian legislation (higher than 1.0 g 100 g⁻¹), fat content enough to classify them as “low” in this nutrient (below than 3 g 100 g⁻¹), and viability higher than 7 log UFC g⁻¹ for both lactobacilli, which did not influence the population of the starter microorganism (*S. thermophilus*). There was post-acidification in all trials since the pH reduced significantly over the storage (p<0.05). The beverage presented mean overall acceptability above 6.0 and no significant difference was observed between trials and storage days (p>0.05). Color was the best evaluated parameter by the judges, with average scores varying from 7.35 to 8.29, with no significant differences between trials (p>0.05). Therefore, post-acidification during the storage period did not affect the viability of the lactic acid bacteria, the acceptability and color of the products. The phenolic content and the total antioxidant capacity of the products increased significantly (p<0.05) after the addition of the jambolan pulp, and the later parameter remained significantly increasing throughout the storage (p<0.05), probably due to the proteolysis process. The dairy beverages produced in this study are seen as good functional food options in reason of their nutritional value, viability of potential probiotic lactobacilli, total phenolic content and antioxidant capacity obtained.

Keywords: Functional food. Lactose-free food. Lactobacilli. Probiotics. Jambolan.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Etapas de desenvolvimento da pesquisa. 19
- Figura 2 – Mudanças nos valores médios de pH (barras) e acidez titulável (linhas) durante o processo de fermentação da bebida controle T1 (preto), bebida adicionada de *L. rhamnosus* T2 (linha tracejada) e bebida adicionada de *L. casei* T3 (cinza claro). As barras de erro representam o desvio padrão..... 30
- Figura 3 – Populações de *S. thermophilus* nos ensaios T1 (controle), T2 (*L. rhamnosus* LR32) e T3 (*L. casei* BGP93) (a) e de *Lactobacillus* spp. nos ensaios T2 e T3 (b) nos tempos zero (cinza claro) e tempo final (cinza escuro) da fermentação das bases lácteas. Diferentes letras maiúsculas denotam diferenças significativas entre os ensaios para o mesmo tempo de fermentação e microrganismo ($p < 0,05$). Diferentes letras minúsculas denotam diferenças significativas entre os tempos de fermentação para o mesmo ensaio e microrganismo ($p < 0,05$). 31
- Figura 4 – Caracterização eletroforética (SDS-PAGE) das proteínas provenientes das bebidas lácteas armazenadas a 4 ± 1 °C durante 21 dias..... 38

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Variáveis utilizadas na elaboração das bebidas lácteas.	21
Tabela 2 – Número de julgadores que avaliaram as bebidas lácteas nos respectivos dias de armazenamento.	23
Tabela 3 – Componentes e proporções usadas no preparo dos géis de separação e nos géis de concentração.	24
Tabela 4 – Composição média das bebidas lácteas fermentadas no primeiro dia de armazenamento sob refrigeração a 4 ± 1 ° C.	29
Tabela 5 – Alterações nos valores médios de pH, acidez titulável e nas populações de <i>S. thermophilus</i> e <i>Lactobacillus</i> spp. das bebidas lácteas adicionadas de polpa de <i>S. cumini</i> no tempo inicial e final da fermentação e após 1, 7, 14 e 21 dias de armazenamento a 4 ± 1 °C.	32
Tabela 6 – Valores gerais de aceitabilidade (média \pm desvio padrão) obtidos na análise sensorial com provadores (n=128) para as bebidas lácteas fermentadas após 7,14 e 21 dias de armazenamento. T1 = bebida láctea controle, sem lactobacilos adjuntos; T2 = bebida láctea com <i>L. rhamnosus</i> LR32; T3 = bebida láctea com <i>L. casei</i> BGP93. As mesmas letras maiúsculas não diferem significativamente entre os estudos estudados ($p > 0,05$),05). As mesmas letras minúsculas não diferem significativamente ao longo do tempo para o mesmo teste ($p > 0,05$),05).	35
Tabela 7 – Atributos sensoriais citados como “mais apreciados” e “menos apreciados” pelos julgadores (n = 128) para os ensaios de bebida láctea fermentada nos dias 7, 14 e 21 de armazenamento.	37
Tabela 8 – Teor fenólico total, porcentagem de inibição dos radicais DPPH, EC ₅₀ e capacidade antioxidante total das base e bebidas lácteas fermentadas adicionadas de polpa de jambolão no tempo inicial e final da fermentação e após 1, 7, 14 e 21 dias de armazenamento a 4 ± 1 °C.	40

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	OBJETIVOS	13
2.1	Objetivo geral.....	13
2.2	Objetivos específicos.....	13
3	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	14
3.1	A utilização do soro de queijo na produção de bebida láctea fermentada	14
3.2	Alimentos funcionais	14
3.3	A incorporação de probióticos em produtos lácteos.....	15
3.4	Syzygium cumini (L.) Skeels.....	17
3.5	Alimentos lácteos para intolerantes à lactose.....	18
4.1	Obtenção e tratamento dos frutos do jambolão.....	20
4.2	Processamento do queijo para coleta do soro de leite	20
4.3	Preparo da base láctea sem lactose	20
4.4	Produção das bebidas lácteas fermentadas sem lactose.....	21
4.5	Determinação da composição média das bebidas lácteas fermentadas	21
4.6	Análise físico-química e microbiológica	22
4.7	Pesquisa de microrganismos contaminantes.....	22
4.8	Análise sensorial	22
4.9	Análise do perfil proteico das bebidas lácteas fermentadas pela técnica de eletroforese de poliacrilamida dodecilsulfato de sódio (SDS-PAGE).....	23
4.9.1	<i>Períodos de amostragem e preparação das amostras.....</i>	23
4.9.2	<i>Preparação dos géis</i>	24
4.9.3	<i>Corrida eletroforética</i>	25
4.10	Extração de fenólicos para análise do teor de fenólicos e atividade antioxidante	26
4.11	Análise de fenólicos totais	26

4.12	Análise de DPPH e atividade antioxidante.....	27
4.13	Análise estatística.....	28
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	29
5.1	Análise centesimal.....	29
5.2	Avaliação físico-química e microbiológica do processo de fermentação	30
5.3	Avaliação físico-química e microbiológica do período de armazenamento	32
5.4	Análise sensorial	34
5.5	Análise do perfil proteico das bebidas lácteas fermentadas pela técnica de eletroforese e poliacrilamida dodecilsulfato de sódio (SDS-PAGE).....	38
5.5	Teor de compostos fenólicos e atividade antioxidante	40
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	44
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	46
	APÊNDICES	55
	ANEXOS.....	61

1 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, ocorreu um crescente aumento do desenvolvimento de novos produtos, além do aproveitamento de resíduos da indústria alimentícia pelos vários segmentos do setor agropecuário, em virtude da ampla disponibilidade de matéria-prima. O soro lácteo é considerado rejeito das queijarias, em virtude da sua elevada demanda bioquímica de oxigênio que gera altos custos para a indústria, uma vez que requer um tratamento prévio antes de ser descartado no meio ambiente.

Os hábitos alimentares e o estilo de vida da população vêm seguindo cada vez mais os reflexos da indústria alimentícia, isso aumenta cada vez mais a responsabilidade da indústria de trazer alimentos mais atrativos do ponto de vista sensorial e nutritivo (SAAD et al., 2011). Entre esses alimentos, se destacam os denominados funcionais, que de acordo com a definição descrita por Schnettler et al. (2010), compreende-se que são aqueles alimentos que exercem efeitos benéficos em um ou mais órgão-alvo do organismo, contribuindo assim para a saúde e bem-estar do usuário.

Segundo descrito por Sanchez, Sepúlveda e Rojano (2013), acredita-se que um grande número de doenças podem estar diretamente relacionadas as espécies reativas do oxigênio, denominados radicais livres, que são produzidas durante o metabolismo aeróbico. Os componentes dos compostos fenólicos desempenham ação protetora contra a ação destes radicais livres, o que sugere uma redução dos riscos de doenças crônicas e benefícios para a saúde. De acordo com World Cancer Research Fund (2007), dietas ricas em vegetais, frutas e legumes podem prevenir diversos tipos de câncer. Acredita-se que isso esteja relacionado a variedade de micronutrientes, fibras dietéticas e substâncias fitoquímicas que estes alimentos oferecem, que podem atuar sinergicamente estimulando o sistema imunológico, na desintoxicação, na atividade antiproliferativa, dentre outros mecanismos de ação.

Os polifenóis presentes na dieta possuem uma relação estreita com a microbiota intestinal, uma vez que os polifenóis necessitam da ação metabólica da microbiota para que estes se tornem metabólitos ativos enquanto que os polifenóis selecionam a microbiota intestinal influenciando diretamente na modulação da população da microbiota gastrointestinal (DOS SANTOS et al., 2017).

Fundamentado no estudo de Alenisan et al. (2017), pode-se entender que os produtos lácteos em geral, são alimentos potencialmente promissores no tocante a atividade antioxidante, uma vez que o leite já possui traços de moléculas antioxidantes, quando adicionados de plantas medicinais melhorará as propriedades nutricionais e terapêuticas dos

produtos lácteos. A adição de antioxidantes provenientes de plantas medicinais irá prevenir a peroxidação do produto, aumentando sua vida de prateleira e a sua capacidade antioxidante.

Por outro lado, estima-se que mais de 70% da população mundial sofrem com algum grau de intolerância à lactose (GRANATO et al., 2010; OLIVEIRA; GUIMARÃES; DOMINGUES, 2011). A obtenção de produtos lácteos com baixo teor de lactose pode ser obtida pelo tratamento do leite com enzima lactase (β -galactosidase) comercial, produzida a partir de microrganismos dos gêneros *Aspergillus* e *Kluyveromyces* (OLIVEIRA; GUIMARÃES; DOMINGUES, 2011). A hidrólise da lactose e o uso de bactérias probióticas são alternativas para a obtenção de um alimento funcional que não apresente restrições de consumo aos intolerantes a este dissacarídeo e que também esteja disponível para o consumidor geral.

Tendo em vista que as bebidas lácteas fermentadas são consideradas um meio adequado para incorporação de microrganismos probióticos, espera-se que a adição da polpa do jambolão, rica em compostos fenólicos, possa agregar valor nutricional a este alimento fornecendo um alto teor de compostos fenólicos e atividade antioxidante.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Estudar o potencial funcional das bebidas lácteas fermentadas isentas de lactose adicionadas de polpa de jambolão.

2.2 Objetivos específicos

Os objetivos secundários do presente estudo são:

- a) realizar a caracterização bromatológica das bebidas lácteas controle e probióticas utilizando o soro isento de lactose e polpa de jambolão;
- b) avaliar a estabilidade das bebidas lácteas obtidas;
- c) avaliar a viabilidade das culturas probióticas comerciais nas bebidas lácteas;
- d) avaliar as características sensoriais dos produtos elaborados;
- e) verificar o efeito dos microrganismos probióticos sobre o perfil proteico e o teor de compostos fenólicos dos produtos ao longo do armazenamento;
- f) investigar a atividade antioxidante das bebidas lácteas com a adição da polpa de jambolão;
- g) avaliar a influência do perfil proteico na atividade antioxidante das bebidas.

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 A utilização do soro de queijo na produção de bebida láctea fermentada

A produção de queijo no Brasil vem crescendo ao longo dos anos, em 2017 a produção superou 1 milhão de toneladas e acredita-se que o consumo *per capita* desse produto chegue a 11 kg por ano, em 2030 (FORMIGONI, 2018; ROCHA, 2014). De modo geral, o processo de industrialização para tratamento soro antes do descarte, demanda um investimento financeiro considerável que não se emprega para aplicação em indústrias de pequeno e médio porte e queijarias artesanais onde a quantidade de matéria prima gerada não justifica o investimento aplicado (ALVES et al., 2014).

No processo de produção convencional de queijos, cerca de 85 a 90% de soro é obtido em relação ao volume de leite utilizado no processo. O soro de leite possui um elevado valor nutricional, retendo cerca de 55% dos nutrientes do leite o que destaca a importância de sua aplicação na produção de alimentos, aproveitando o resíduo da indústria queijeira e evitando o desperdício de um insumo potencialmente nutricional (LEITE; BARROZO; RIBEIRO, 2012).

O alto teor de lactose no soro bem como outros nutrientes essenciais para o crescimento microbiano apontam que esse subproduto é uma matéria prima capaz de ser empregada em processos de fermentação, viabilizando sua utilização na produção de bebidas lácteas fermentadas (MAGALHÃES et al., 2011). As bebidas lácteas fermentadas são produtos que possuem em sua composição leite e soro de leite, podendo ser adicionados ou não de outras substâncias alimentícias, fermentados com microrganismos específicos onde a base láctea representa pelo menos 51% do total e que não podem passar por tratamento térmico pós-fermentação (BRASIL, 2005).

A aceitabilidade das bebidas lácteas pode ser melhorada com a adição de polpas de frutas que melhoram o aspecto sensorial e nutricional do produto e os tornam mais atrativos aos consumidores. Por outro lado, a incorporação de polpas de fruta nas bebidas lácteas promove o aproveitamento das frutas que são pouco aproveitadas ou que excedem na produção (SANTOS et al., 2008).

3.2 Alimentos funcionais

Nas últimas décadas o conceito de alimentação vem sofrendo mudanças. O que antes representava apenas a fonte energética para o desenvolvimento e manutenção das atividades

vitais hoje se estende a prevenção de doenças e melhora da saúde física e mental. Assim sendo, os alimentos funcionais vem recebendo maior atenção tanto para o desenvolvimento de novos produtos quanto para a prática do consumo, em virtude dos seus benefícios a saúde (YE; GEORGES; SELOMULYA, 2018).

De acordo com a Resolução nº 18, de 30 de abril de 1999, a definição de alimento funcional é “todo aquele alimento ou ingrediente que, além das funções nutricionais básicas, quando consumidos como parte da dieta usual, produz efeitos metabólicos e/ou fisiológicos e/ou efeitos benéficos à saúde, devendo ser seguro para consumo sem supervisão médica”. (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 1999).

Segundo a Grand View Research (2016), o mercado global de alimentos funcionais deve chegar a US\$ 255,10 bilhões até 2024, devido ao aumento da preocupação pela população com a saúde, com os custos de saúde, com as mudanças no estilo de vida e à busca pelo bem-estar, uma vez que estes alimentos podem atuar de forma benéfica no organismo, reparando e prevenindo doenças.

As propriedades funcionais dos alimentos podem ser resultantes da atividade dos seus próprios constituintes ou através da adição de ingredientes que enriquecem estes alimentos e alteram suas propriedades originais. Dentre estes ingredientes estão as fibras alimentares, oligossacarídeos, proteínas modificadas, peptídeos, carboidratos, antioxidantes, minerais e microrganismos (MOURÃO et al., 2009). Assim sendo, a incorporação de ingredientes como probióticos e polpas de fruta em bebidas lácteas é uma estratégia para melhorar o aspecto funcional e sensorial destes produtos além de torná-los mais atrativos para o consumo.

3.3 A incorporação de probióticos em produtos lácteos

O trato gastrointestinal é o segundo maior sistema do corpo humano, responsável pela modulação dos nutrientes e proteção contra o meio externo. Esse complexo sistema alberga mais de 500 espécies de bactérias, que podem habitar de forma permanente ou transitória e desempenhar atividades benéficas ou patogênicas ao hospedeiro (MAIA; FIORIO; SILVA, 2018).

O equilíbrio da microbiota é essencial para absorção da energia dos alimentos e defesa contra microrganismos patogênicos. Portanto a presença de bactérias “benéficas” nesse sistema é importante para uma nutrição adequada e manutenção do sistema imunológico, conforme menciona Allué (2015). Nesse sentido, destaca-se a importância dos probióticos que, segundo a definição da Organização Mundial da Saúde, reformulada pela Associação

Científica Internacional para Probióticos e Prebióticos são definidos como “microrganismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem um benefício à saúde do hospedeiro” (HILL et al., 2014).

Diversos estudos referidos na literatura apontam os efeitos benéficos dos probióticos na prevenção e tratamento de diarreias, inflamações intestinais como colite ulcerosa, síndrome do intestino irritado, câncer de cólon, maior digestibilidade da lactose para intolerantes, diminuição do risco de doenças atópicas e prevenção de doenças urogenitais (OLMEDA; SANTÓN; MARTINEZ, 2006; SAAD, 2006; VASCONCELOS et al., 2013), ressaltando a importância da incorporação destes microrganismos em matrizes alimentares, viabilizando seu consumo adequado.

Grande parte dos alimentos adicionados de probióticos são produtos lácteos como iogurtes, queijos, leites e bebidas lácteas fermentadas, pois estes produtos fornecem um ambiente no qual estes microrganismos conseguem se manter viáveis durante um longo período de armazenamento, produzindo-se assim alimentos funcionais probióticos (KOLAČEK et al., 2017; RODRIGUES et al., 2018).

A escolha das bactérias probióticas para a produção de um alimento segue uma série de critérios necessários à viabilidade da incorporação destes em matrizes alimentares, como estabilidade ao ácido estomacal e à bile, capacidade de adesão na mucosa intestinal e colonização ainda que temporária neste local, produção de compostos microbianos e capacidade de ser metabolicamente ativo no intestino, além de não apresentar patogenicidade (ARAGON-ALEGRO et al., 2007).

De acordo com os relatos de Santos et al. (2017) podemos entender que os microrganismos probióticos apresentam viabilidade adequada quando incorporados em produtos lácteos em geral e a adição de ingredientes ricos em compostos fenólicos pode aumentar a viabilidade dos probióticos nestes produtos.

Bactérias lácticas pertencentes ao gênero *Lactobacillus* sp. vêm sendo incorporadas em diversos produtos lácteos (ALMEIDA NETA et al., 2018; BURITI et al., 2014; DOS SANTOS et al., 2017; SOUSA, 2016). Por exemplo, o estudo de Rolim et al. (2015) avaliou a sobrevivência de *L. rhamnosus* EM1107 em queijo de cabra semi-duro, sua atividade na presença de patógenos e em condições gastrointestinais simuladas e os resultados apontaram que a espécie apresentou quantidades satisfatórias após à simulação, além de retardar a multiplicação dos agentes patogênicos estudados.

3.4 *Syzygium cumini* (L.) Skeels

A planta da espécie *Syzygium cumini* (L.) Skeels possui fruto conhecido popularmente por azeitona preta, jamelão, cereja, jalão, kambol, jambú, azeitona-do-nordeste, ameixa roxa, murta, baga de freira, guapê, jambuí, azeitona-da-terra, ameixa de java, jambolão (ARAÚJO, 2014; BRANCO et al., 2016). É originária da Índia, entretanto, está presente em diversos países da África e América Latina. No Brasil, pode ser encontrada em diversos estados das regiões norte, nordeste e sudeste (BARCIA, 2009; SANTOS, 2017).

É uma árvore de copa frondosa e folhagem abundante que mede cerca de 15 a 20 m de altura, possuindo troco tortuoso e ramos de coloração cinza claro. As folhas são simples, pecioladas, lanceoladas, com margem ondulada, ápice cuspidado e base cuneada. As flores possuem coloração branca a creme, estão dispostas em inflorescências axilares, racemosas, plurifloras compostas e os frutos são do tipo baga, possuindo coloração púrpura, semente única e polpa rosada e carnosa graças ao seu alto teor de compostos fenólicos tais como antocianinas, flavonoides e taninos hidrolisáveis (ARAÚJO, 2014; BRANCO et al., 2016; RUFINO et al., 2007; SOARES, 2015).

Os frutos do jambolão apresentam água, um alto valor nutritivo, vitaminas e minerais além de uma variedade de metabólitos secundários já identificados como compostos fenólicos, por exemplo, ácido elágico, quecertina, rutina além de antocianinas (BRANCO et al., 2016; SOARES, 2015; SOUSA, 2012). Pereira (2011) determinou a composição centesimal do fruto dessa espécie e concluiu que este possui baixo teor de gordura e energia, podendo ser aplicado em dietas de restrição calórica. Além disso, é rico em fibras e possui acidez adequada para ser incorporado em alimentos ácidos como bebidas lácteas fermentadas.

A diversidade de substâncias fitoquímicas presentes na planta desempenha além da atividade de proteção, algumas propriedades farmacológicas. A mesma é citada na literatura por apresentar diversas atividades medicinais, dentre elas a atividade hipoglicemiante, diurética, cardiotônica, antiemética, anti-hemorrágica, antipirética, anticonvulsivante, antioxidante, anti-inflamatória, antibacterianas e estimulante do sistema nervoso central (CHAUDARY, MUKHOPADHYAY, 2012; PEIXOTO, FREITAS, 2013; SANTOS, 2017).

De acordo com os estudos de Alves et al. (2011), podemos definir os compostos fenólicos como produtos resultantes do metabolismo secundário de plantas que possuem atividade protetora contra agentes deteriorantes. Podem ser encontrados em diversos alimentos de origem vegetal, como frutas, hortaliças e bebidas como vinho, chá, café, sendo a

alimentação a única fonte destes compostos, uma vez que animais e humanos não conseguem sintetizá-los.

O estudo de Singh et al. (2016), avaliou a atividade antioxidante *in vitro* e antimicrobiana da polpa de jambolão. Os resultados apontaram que os polifenóis presentes na fruta apresentam uma alta atividade antioxidante e antimicrobiana contra microrganismos infecciosos. Barnerjee e Dasgupta (2005) avaliou a capacidade antioxidante da casca da fruta do jambolão e também obtiveram resultados significativos de atividade antioxidante, graças ao teor de compostos fenólicos, taninos e/ou antocianinas presentes no fruto.

3.5 Alimentos lácteos para intolerantes à lactose

A lactose é um dissacarídeo composto por glicose e galactose presente no leite e seus derivados, que necessita de hidrólise prévia pela enzima β -galactosidase para ser absorvida no intestino delgado. Deficiências desta enzima podem gerar digestão inadequada ou intolerância a este açúcar. A deficiência da lactose pode ser classificada em três tipos: congênita, primária quando aparece logo após o nascimento e secundária quando a atividade enzimática é reduzida devido a doenças ou lesões que prejudicam a mucosa intestinal (CASTRO et al, 2016).

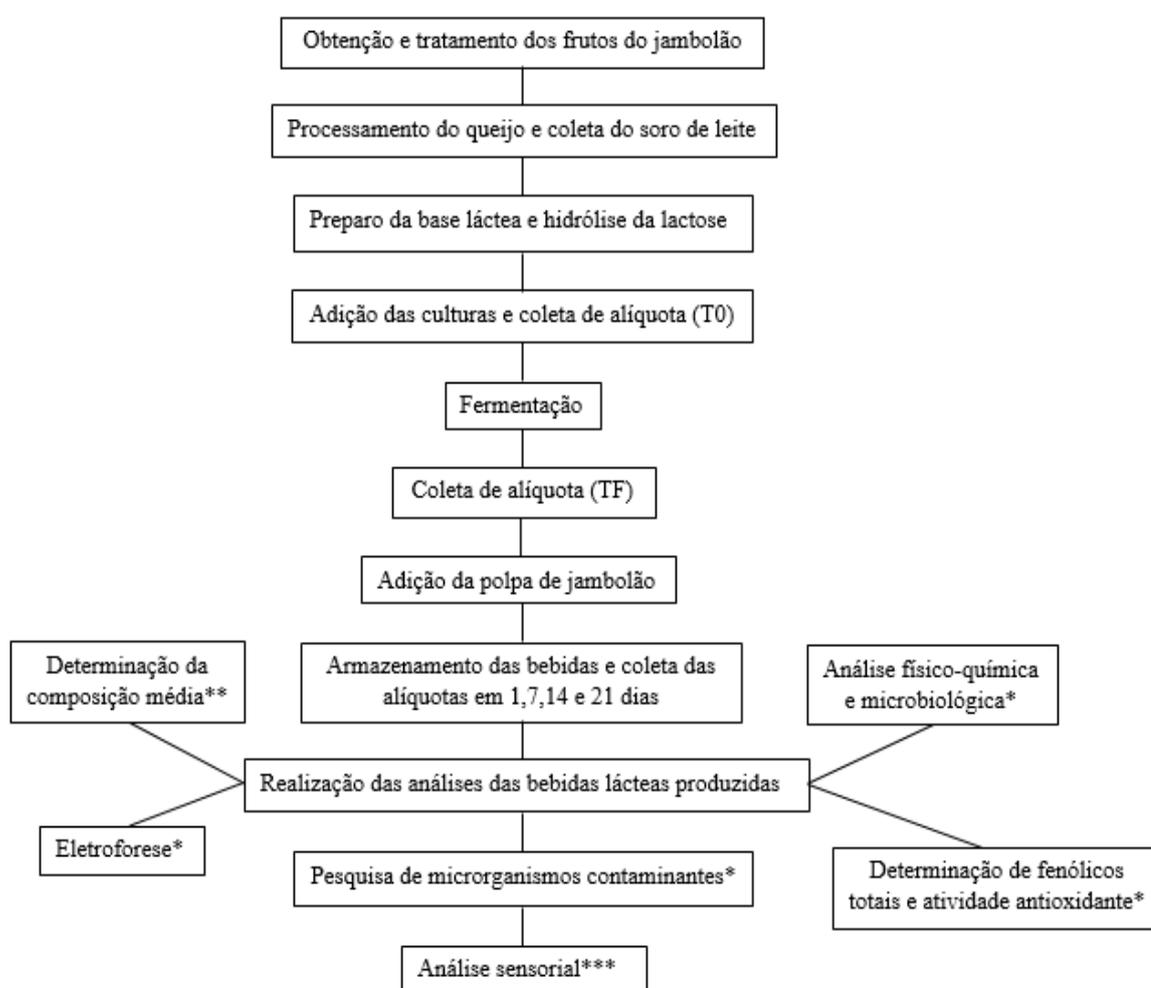
A deficiência desta enzima faz com que a lactose se acumule no cólon e seja fermentada pelas bactérias da microbiota intestinal, que sintetizam ácidos graxos de cadeia curta e gases, causadores da dor e distensão abdominal, diarreia, náuseas, vômitos e flatulências (ZAPATA-CASTILLEJA et al, 2017).

As β -galactosidase constituem uma família de proteínas responsáveis por catalisar reações hidrolíticas e de transgalactosilação. A atividade hidrolítica é aplicada na redução da lactose no leite pela indústria alimentícia. A β -galactosidase comercial pode ser obtida a partir de microrganismos dos gêneros *Aspergillus* e *Kluyveromyces* (OLIVEIRA; GUIMARÃES; DOMINGUES, 2011) e representa uma excelente alternativa para viabilizar a produção de alimentos lácteos isentos de lactose. O processo de fermentação destes produtos também contribui para redução teor deste dissacarídeo, permitindo assim o consumo de produtos lácteos como queijos, iogurtes e bebidas lácteas por intolerantes a lactose (MONTI et al., 2017).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

A pesquisa foi desenvolvida no Núcleo de Pesquisa e extensão em Alimentos (NUPEA), no Centro de Ciência e Tecnologia (CCT) da Universidade Estadual da Paraíba (UEPB) no período de fevereiro de 2017 a janeiro de 2019 e é parte integrante de atividade cadastrada no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SISGEN) sob N° AA45859. As etapas de desenvolvimento da pesquisa estão dispostas na Figura 1.

Figura 1 – Etapas de desenvolvimento da pesquisa.



Fonte: Autoria Própria.

T0: Base láctea antes da fermentação.

TF: Base láctea após a fermentação.

* Análise realizada com amostras de T0, TF e dias de armazenamento (1,7,14,21).

** Análise realizada com amostras do primeiro dia de armazenamento.

*** Análise realizada com amostras do dia 7,14 e 21 de armazenamento.

4.1 Obtenção e tratamento dos frutos do jabolão

Os frutos de jabolão foram coletados na cidade de Lagoa Seca (latitude: 07° 10' 15" S, longitude 35° 51' 14" W, altitude: 634 m), no estado da Paraíba, no período de sua safra em fevereiro de 2017. Estes frutos foram selecionados, lavados e sanitizados com hipoclorito de sódio diluído em água destilada para obter uma solução de 200 mg L⁻¹ de cloro livre. Em seguida realizou-se o despulpamento manual, trituração e pasteurização das polpas obtidas e congelou-se imediatamente a -18 °C.

4.2 Processamento do queijo para coleta do soro de leite

O soro lácteo foi obtido a partir do processamento de queijo de Minas frescal, no Núcleo de Pesquisa e Extensão em Alimentos da Universidade Estadual da Paraíba, conforme descrito por Florentino (1997), com modificações. Utilizou-se leite pasteurizado desnatado (Cariri Light, Cooperativa Agropecuária do Cariri Campina Grande, Brasil), coagulante Hannilase (Chr. Hansen, Valinhos, Brasil), adicionado de acordo com as instruções do fabricante e cloreto de cálcio (Neon Comercial, São Paulo, Brasil, 0,25 g L⁻¹ de leite). O leite foi aquecido a 34-37 °C para adição dos outros ingredientes. Homogeneizou-se e manteve-se em repouso por aproximadamente 45 minutos até a completa coagulação, quando a coalhada foi cortada para a liberação do soro. A moldagem do queijo foi realizada e o soro foi drenado e envasado em garrafas plásticas previamente sanitizadas em solução de 200 mg L⁻¹ de cloro livre e armazenado a -18 °C até o momento de seu uso.

4.3 Preparo da base láctea sem lactose

Solubilizou-se 80 g de sacarose (Estrela, Biosev) em 840 mL do soro previamente obtido no processamento do queijo Minas frescal e tratou-se termicamente a 85 °C por 5 min. Em seguida, adicionou-se 80 g de leite em pó desnatado (Molico, Nestlé), submeteu-se a tratamento térmico por 30 min a 85 °C e resfriou-se imediatamente até temperatura ambiente. Para realizar a hidrólise da lactose, adicionou-se a enzima β -galactosidase (Prozyn© Lactase, Prozyn, 0,50g L⁻¹ de base láctea) e manteve-se sob refrigeração a 4 °C por 24h. Com a finalidade de avaliar a efetividade da hidrólise da lactose, determinou-se o teor deste dissacarídeo nas bases lácteas sem e com a adição da enzima β -galactosidase através de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), utilizando detector de índice de refração na

Embrapa Agroindústria de Alimentos (Rio de Janeiro, RJ), tendo sido o resultado inferior ao limite de detecção do método ($100 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$), estando de acordo com os produtos classificados como isentos de lactose segundo a legislação nacional vigente (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2017).

4.4 Produção das bebidas lácteas fermentadas sem lactose

A base láctea foi aquecida a $43 \pm 1 \text{ } ^\circ\text{C}$ para a adição das culturas. Utilizou-se para a fermentação, a cultura starter de *Streptococcus thermophilus* TA 40 (Yo-mix, Danisco) $0,003 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$ e as culturas probióticas comerciais de *Lactobacillus rhamnosus* Lr-32 (Florafit, Danisco) e *Lactobacillus casei* BGP93 (Lyofast, Sacco SRL), ambas na proporção de $0,02 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$. Em seguida, fermentou-se as bases lácteas a $43 \pm 2 \text{ } ^\circ\text{C}$ até obtenção de acidez superior a $0,7 \text{ g}$ de ácido láctico 100 g^{-1} . Ao final da fermentação adicionou-se a polpa de *S. cumini* $15 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$. As culturas utilizadas nas respectivas bebidas lácteas estão apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1 – Variáveis utilizadas na elaboração das bebidas lácteas.

Cultura	T1	T2	T3
TA 40	+	+	+
Lr32	-	+	-
BGP93	-	-	+

Fonte: Autoria Própria

+ : presente; - : ausente; TA 40: *Streptococcus thermophilus*; Lr32: *Lactobacillus rhamnosus*; BGP93: *Lactobacillus casei*.

4.5 Determinação da composição média das bebidas lácteas fermentadas

Os teores de sólidos totais, cinzas, gorduras e proteínas das bebidas lácteas foram determinados no 1º dia de armazenamento, em triplicata, para três lotes de cada bebida. Os sólidos totais foram determinados através de secagem de 2 g de amostra a $70 \text{ } ^\circ\text{C}$ sob vácuo usando um forno a vácuo Marconi (modelo MA 030/12 Piracicaba, Brasil). As cinzas foram determinadas gravimetricamente por aquecimento das amostras secas a $550 \text{ } ^\circ\text{C}$ em mufla (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008). O teor de gordura foi determinado de acordo com o método de Folch, Less e Stanley (1957). A proteína foi estimada medindo o nitrogênio contido em 0,2 g amostra através do método micro-Kjeldahl e multiplicando pelo fator de conversão de 6,38 (AOAC INTERNATIONAL, 2003). O conteúdo total de carboidratos foi

obtido pela diferença a fim de atingir 100 g 100 g⁻¹ de composição total (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS, 2003).

4.6 Análise físico-química e microbiológica

As análises de pH, acidez titulável e viabilidade da cultura *starter* (*S. thermophilus*) e dos próbióticos (*L. rhamnosus* e *L. casei*) foram realizadas em triplicata antes e depois da fermentação (T0 e TF), no dia seguinte à fabricação (D1) e após 7,14 e 21 dias. Os valores de pH das amostras foram avaliados com um medidor de pH Tecnal (modelo TEC 3P MP, Piracicaba, Brasil). A acidez titulável foi determinada de acordo com o método oficial e expressa em termos de g 100 g⁻¹ ácido láctico (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008). Para a análise microbiológica, 25 g de amostra foram pesados e transferidos assepticamente para 225 mL de água peptonada (1 g L⁻¹) e submetidos a diluições seriadas com o mesmo diluente. Populações de *S. thermophilus* foram determinadas pela adição de 1 mL de cada diluição em ágar M17 com adição de lactose (Vetec, Duque de Caxias, Brasil, 5 g L⁻¹), seguido de incubação em 37 °C (OLIVEIRA et al., 2001) por 48 h. Populações de *L. rhamnosus* e *L. casei* foram determinadas pela adição de 1 mL de cada diluição em ágar MRS (Oxoid) acidificado a pH 5,4 com ácido acético (RICHTER; VEDAMUTHU, 2001) seguido de incubação em 37 °C por 72 h.

4.7 Pesquisa de microrganismos contaminantes

De modo a garantir a segurança dos julgadores, as análises de contaminantes foram realizadas no dia seguinte à fabricação dos produtos destinados à análise sensorial. As análises de coliformes a 35 °C e de coliformes a 45 °C foram determinadas conforme as instruções da legislação vigente para produtos lácteos (BRASIL, 2003). A pesquisa de *Salmonella* sp. foi realizada utilizando o meio RajHans (HIMEDIA, 2011).

4.8 Análise sensorial

A avaliação sensorial do presente estudo foi aprovada pelo Comitê de Ética da Universidade Estadual da Paraíba, Paraíba, Brasil, Certificado de Apresentação para Apreciação Ética (CAAE) n° 2.229.0000.5187 e foi realizado no Laboratório de Análise Sensorial da Universidade Federal da Paraíba, UFCG, Campus de Campina Grande. As

bebidas lácteas foram avaliadas após 7, 14 e 21 dias de armazenamento, através de testes de aceitabilidade, utilizando a escala hedônica híbrida de 11 pontos (0 = não gostei muito; 5 = não gostei nem desgostei; 10 = gostei muito) (LAWLESS; HEYMANN, 1999; VILLANUEVA; DA SILVA, 2009), focando os atributos sabor, consistência, aparência, cor e também de aceitabilidade geral. Participaram da pesquisa 128 julgadores não treinados, distribuídos conforme os dados da Tabela 2, principalmente alunos, professores, funcionários, pesquisadores e bolsistas da UFCG e da UEPB, ou outros voluntários saudáveis que se dispuseram a participar do estudo.

Tabela 2 – Número de julgadores que avaliaram as bebidas lácteas nos respectivos dias de armazenamento.

Dias de armazenamento	Tratamentos		
	T1	T2	T3
D7	54	52	41
D14	43	41	43
D21	38	38	40

Fonte: Autoria própria.

T1: Bebida láctea controle, sem lactobacilos adjuntos; T2: Bebida láctea com *Lactobacillus rhamnosus* LR32; T3: Bebida láctea com *Lactobacillus casei* BGP93. D7: sétimo dia de armazenamento; D14: décimo quarto dia de armazenamento; D21: vigésimo primeiro dia de armazenamento.

As amostras foram mantidas sob refrigeração antes dos testes e servidas, de forma monádica, em copos de plástico codificados com três dígitos aleatórios. Durante uma sessão, cada consumidor analisou três ensaios. Os julgadores também foram instruídos a relatar os atributos sensoriais relacionados aos atributos sabor, dulçor, consistência, aparência e cor que eles gostaram e não gostaram das amostras e eles estavam livres para mencionar nenhum ou mais de um atributo.

4.9 Análise do perfil proteico das bebidas lácteas fermentadas pela técnica de eletroforese de poliacrilamida dodecilsulfato de sódio (SDS-PAGE)

4.9.1 Períodos de amostragem e preparação das amostras

Foi produzido um gel para cada tratamento (T1, T2, T3), sendo que cada gel continha amostras das bases lácteas antes (T0) e após a fermentação (TF) e das bebidas lácteas nos dias 1,7,14,21 de armazenamento (D1, D7, D14 e D21, respectivamente). Em cada período de

amostragem, as bases lácteas e bebidas resultantes foram transferidas para criotubos e mantidas a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ até o seu uso. Para esse fim, alíquotas de 0,20 g das amostras descongeladas foram transferidas para novos criotubos e adicionadas de 1 mL de tampão amostra. O tampão amostra foi produzido com 5 mL de glicerol, 5 mL de dodecilsulfato de sódio (SDS) a 10%, 2,5 mL de Tris-HCl ($0,6\text{ mol L}^{-1}$, pH 6,8), 0,3 mL de β -mercaptoetanol, 2,5 mg de azul de bromofenol e 25 mL (q.s.p.) de água deionizada. Em seguida, foram agitadas por 2 min (agitador de tubos vórtex Nova Instruments NI1058) com a finalidade de solubilizar as amostras no tampão. Posteriormente, foram tratadas a $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 10 minutos para desnaturação proteica em estufa (estufa de secagem e esterilização, Tecnal equipamentos científicos, TE-393/2), e centrifugadas (centrífuga Parsec CT 0603) a 3.000 rpm por 2 minutos. Seus sobrenadantes foram descartados.

4.9.2 Preparação dos géis

Foi utilizado o sistema PAGE-SDS-2-mercaptoetanol, descrito por Laemmli (1970) e Donkor (2007), adaptado para o uso de géis em placas ($10,5 \times 10 \times 0,4\text{ cm}$) (mini vertical, modelo SE250, Hoefer). Foram aplicados nas placas o gel separador a 15% e o gel concentrador de 5% de poliácridamida. Os géis foram compostos de tampão concentrador contendo Tris/ HCl e também soluções de acrilamida/ bis-acrilamida, água deionizada, solução de SDS à 5%, tetrametiletilenodiamina (TEMED) e persulfato de amônia à 10%. A ordem descrita das soluções para o preparo foi seguida rigorosamente. Na Tabela 3, são apresentados os volumes usados para os respectivos géis de separação e concentração, aplicados nesta análise.

Tabela 3 – Componentes e proporções usadas no preparo dos géis de separação e nos géis de concentração.

Componentes	Gel de separadora 15%	Gel de concentrador a 5%
Tampão Separador (Tris-HCl 3,7mol/l, pH 8.9)	4 mL	-
Tampão Concentrador (Tris-HCl 0,6 mol/l, pH 6.8)	-	1,25 mL
Solução Acrilamida (Acrilamida/ Bis-acrilamida)	6,58 mL	0,65 mL

		(Conclusão)
Água Deionizada	5,14 mL	2,5 mL
Solução de SDS a 5%	0,161 mL	0,05 mL
TEMED	0,016 mL	0,005 mL
Solução de Persulfato de Amônia a 10%	0,107 mL	0,1 mL
Total	16 mL	4,5 mL

Fonte: Laemmli (1970) e Donkor (2007), adaptado.

4.9.3 Corrida eletroforética

Foram utilizados 10 μ L de amostra, como também 10 μ L do padrão de proteínas preparado, por poço presente no gel concentrador. A corrida eletroforética ocorreu em presença de um tampão tanque/eletrodo em pH 8,9, entre 40 a 60 minutos, em tensão constante de 300 V e corrente de 25 mA por gel, sob refrigeração à -4 °C (Hoefer RCB20-Plus). Ao fim da corrida, o gel concentrador foi descartado, permanecendo apenas o gel separador. Este foi imerso *overnight* em uma solução corante composta por 50 mL de água deionizada, 40% de álcool metílico, 10 mL de ácido acético e 0,1g de azul de Coomassie (Coomassie *Brilliant Blue* R-250, powder, #161-0400, BIO-RAD Laboratories).

4.9.4 Revelação das proteínas

O gel imerso na solução com azul de Coomassie a 0,1% foi retirado e desidratado com uma solução de álcool etílico a 50% em três etapas de 20 min, cada. A seguir, foram realizadas três lavagens com água deionizada. O gel foi então fotografado em scanner e prosseguiu-se com coloração por nitrato de prata. Para esse fim, o gel foi mantido na solução de nitrato de prata (200 mg de AgNO_3 (01803, NEON Comercial, P.A.) e 74 μ L de formaldeído (37%, NEON Comercial, P.A.) para 100 mL de água deionizada) por 20 min. Após, foram realizadas três lavagens com água deionizada. As bandas foram reveladas em solução composta de 6g de carbonato de sódio (reagente anidro, 00789, NEON Comercial, P.A), 50 μ L de formaldeído (37%, NEON Comercial, P.A.) e 2 mL de tiosulfato de sódio (tiosulfato de sódio pentahidratado, 02412, NEON Comercial, P.A./ACS). para 100 mL de água deionizada. Finalizada a revelação, o gel foi fotografado em scanner.

Para avaliar o peso molecular das unidades proteicas separadas, as massas molares das bandas das proteínas lactoferrina (LF), albumina sérica (SA), α_s -caseína (α_s -CN), β -caseína (β -CN), β -lactoglobulina (β -LG) and α -lactalbumina (LA) foram comparadas com aquelas reportadas pela sexta revisão da nomenclatura das proteínas do leite de vaca (FARRELL et al., 2004).

4.10 Extração de fenólicos para análise do teor de fenólicos e atividade antioxidante

Os extratos preparados a partir das bases e bebidas lácteas fermentadas foram obtidos segundo a metodologia proposta por Santos et al. (2017), com algumas modificações. Foram avaliadas as bases lácteas antes (T0) e após (TF) a fermentação e as bebidas lácteas após 1,7,14 e 21 dias de armazenamento (D1, D7, D14, D21, respectivamente). As amostras foram pesadas em balança analítica ($\pm 0,2500g$) e misturadas a 1 mL de metanol acidificado, preparado na proporção de 100 μ L de ácido clorídrico P.A. para cada 100 mL de metanol. As amostras foram agitadas em vórtex e mantidas em repouso mínimo de 12 h, sob refrigeração a 4°C ao abrigo da luz. No dia seguinte, as amostras foram centrifugadas (centrífuga 5810R, Eppendorf, Hamburgo, Alemanha) a $13.500 \times g$ durante 5 min a 4 °C. O resíduo foi lavado com metanol-HCl, repetiu-se o procedimento quatro vezes. Os sobrenadantes obtidos foram utilizados para as análises.

4.11 Análise de fenólicos totais

O teor de compostos fenólicos das formulações de bebida láctea fermentada com polpa de jambolão (T1, T2 e T3) foi avaliada durante o período de armazenamento (D1, D7, D14 e D21) e comparadas com a base láctea antes (T0) e depois (TF) da fermentação, sem a adição de jambolão. A análise foi realizada a partir de dois lotes do produto.

O teor total de fenólicos foi determinado de acordo com Dos Santos et al. (2017) com algumas modificações. Todos os procedimentos foram realizados no escuro. Em tubos de ensaio de plástico de 15 mL adicionou-se sequencialmente alíquotas de 60 μ L de cada extrato preparado, 2340 μ L de água destilada e 150 μ L de reagente de Folin-Ciocalteu (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Alemanha) e homogeneizou-se a seguir.

Na metodologia aplicada para realização da análise, incluiu-se uma prova em branco na qual a amostra é substituída por metanol acidificado preparado na proporção de 100 mL de metanol para 94 μ L de ácido clorídrico P.A, utilizado apenas para o branco.

Após 8 min, 450 μL de solução de Na_2CO_3 (Na_2CO_3 , Neon Comercial, São Paulo, Brasil, 30 g 100 mL^{-1}) foram adicionados aos tubos, novamente misturados e deixados em repouso por 30 min à temperatura ambiente, sob abrigo da luz. A absorbância foi medida a 750 nm em um espectrofotômetro UV SP-2000 (Spectrum, Shanghai, China) e uma curva padrão foi previamente construída usando ácido gálico (Vetec, Sigma-Aldrich, Duque de Caxias, Brasil). Os resultados foram expressos como mg de ácido gálico equivalente (mg GAE) 100 g^{-1} de amostra.

4.12 Análise de DPPH e atividade antioxidante

A capacidade antioxidante dos ensaios de bebida láctea pelo ensaio de eliminação do radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH) foi realizada para dois lotes de bebida láctea e determinada seguindo uma adaptação do protocolo de Rufino et al. (2007). Preparou-se 50 mL da solução mãe de DPPH diluindo-se 0,0020g deste reagente em etanol P.A.

Alíquotas diferentes dos extratos da amostra (50 μL , 100 μL e 200 μL) foram misturadas com alíquotas de 100 μM DPPH (2,95 mL, 2,90 mL e 2,80 mL, respectivamente) para um volume total de 3 mL. A diminuição da absorbância a 517 nm foi medida após 30 e 60 min (em relação ao tempo 0 min) à temperatura ambiente.

Os resultados obtidos foram expressos como porcentagem da inibição do DPPH (% de sequestro de DPPH), seguindo a equação (1):

$$\text{Sequestro de DPPH (\%)} = \frac{(\text{ABS}_C - \text{ABS}_A)}{\text{ABS}_C} \times 100 \quad (1),$$

onde: ABS_C é a absorbância do controle (absorbância da solução DPPH sem o extrato da amostra) e ABS_A é a absorbância com o extrato da amostra.

A quantidade de bebida láctea necessária para reduzir a concentração inicial de DPPH em 50% (EC_{50}) foi calculada (inicialmente em g de amostra por L de 100 μM de solução DPPH) após a construção da porcentagem de inibição pela curva de concentração do extrato. O resultado final da capacidade antioxidante total foi expresso em g de amostra de DPPH g^{-1} , segundo Rufino et al. (2007) seguindo a Equação (2):

$$\text{Capacidade antioxidante total (g amostra } \text{g}^{-1}\text{DPPH)} = \frac{\text{EC}_{50} (\text{g L}^{-1})}{\mu\text{M DPPH} \times 394,3} \times 10^6 \quad (2),$$

onde: $\mu\text{M DPPH}$ é o DPPH (em μM) consumido pela bebida láctea para diminuir a absorvância em 50% durante o ensaio e 394,3 é a massa molar do DPPH.

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 homogeneidade de variâncias, usando o teste de Bartlett. Quando a normalidade e/ou homogeneidade de variâncias não foram confirmados, analisou-se os dados 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 Análise centesimal

O resultado da composição média das bebidas no primeiro dia de armazenamento sob refrigeração é mostrado na Tabela 4. Não houve diferença significativa na composição média entre as três bebidas produzidas ($p > 0,05$), haja vista que as formulações diferiam entre si apenas em relação aos probióticos, o que não alteraria significativamente os resultados dos testes realizados. As bebidas apresentam teor de proteínas superior ao mínimo estabelecido pela norma brasileira (BRASIL, 2005) de 1 g de proteína para 100 g de matéria seca total para bebidas lácteas fermentadas com adição de substâncias alimentícias.

Tabela 4 – Composição média das bebidas lácteas fermentadas no primeiro dia de armazenamento sob refrigeração a 4 ± 1 ° C.

Item	T1	T2	T3
Sólidos totais (g/100 g)	19,67±1,01A	19,44±0,895A	19,58±0,539A
Cinzas (g/100 g)			
Base úmida	1,13±0,152A	1,07±0,112A	1,10±0,072A
Base seca	5,76±0,56A	5,53±0,51A	5,62±0,48A
Lipídeos (g/100 g)			
Base úmida	0,482±0,036A	0,496±0,087A	0,496±0,577A
Base seca	2,45±0,25A	2,56±0,47A	2,53±0,29A
Proteínas (g/100 g)			
Base úmida	2,04±0,170A	1,87±0,280A	1,85±0,285A
Base seca	10,40±0,96A	9,65±1,43A	9,45±1,53A
Carboidratos totais (g/100 g)			
Base úmida	16,0±0,840A	15,99±0,849A	16,14±0,368A
Base seca	81,3±0,88A	82,25±1,64A	82,44±1,60A

Fonte: autoria própria.

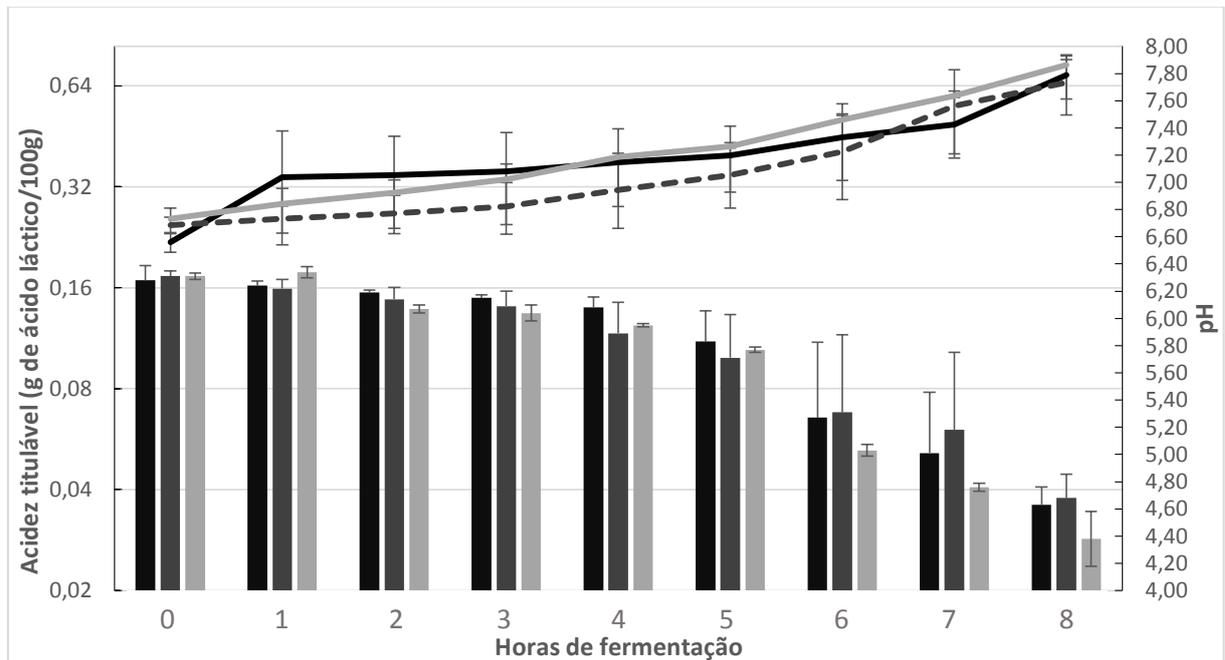
T1: Bebida láctea controle, sem lactobacilos adjuntos; T2: Bebida láctea com *Lactobacillus rhamnosus* LR32; T3: Bebida láctea com *Lactobacillus casei* BGP93. As letras maiúsculas representam as diferenças significativas ($p > 0,05$) entre as bebidas lácteas.

O teor de gordura médio foi inferior a $0,5 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$ para todas as bebidas produzidas, podendo classificá-las como baixo teor de gordura total uma vez que o limite estabelecido na Resolução nº 54 de 12 de novembro de 2012 (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2012) é de 3,0 g de gordura total na porção sendo de 200 g a porção de bebida láctea (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2003).

5.2 Avaliação físico-química e microbiológica do processo de fermentação

As alterações nos valores médios de pH e acidez das bebidas lácteas durante o processo de fermentação estão dispostos na Figura 2.

Figura 2 – Mudanças nos valores médios de pH (barras) e acidez titulável (linhas) durante o processo de fermentação da bebida controle T1 (preto), bebida adicionada de *L. rhamnosus* T2 (linha tracejada) e bebida adicionada de *L. casei* T3 (cinza claro). As barras de erro representam o desvio padrão.



Fonte: Autoria própria.

As diferenças significativas entre os tratamentos e o tempo de fermentação estão apresentadas no Anexo 1.

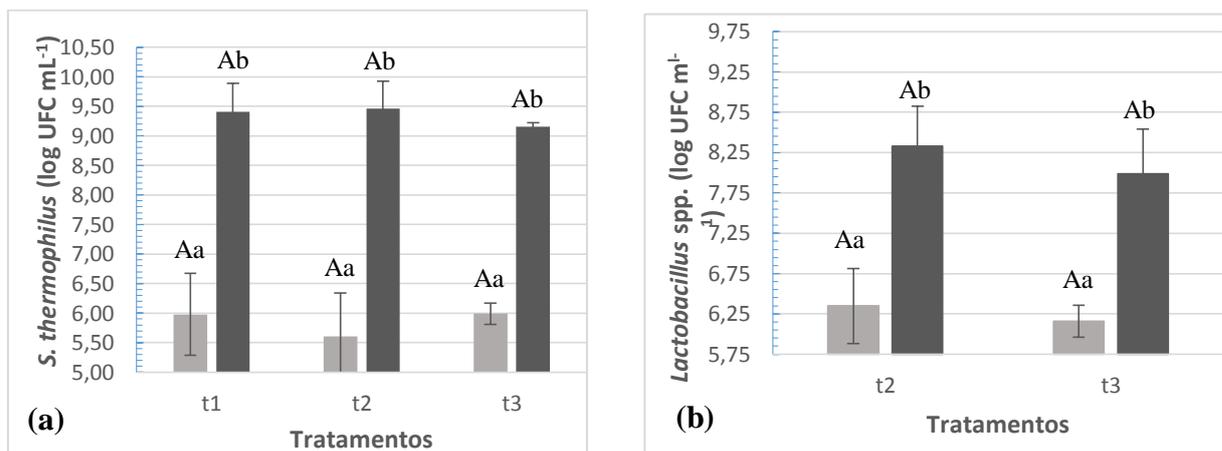
Durante o processo de fermentação, houve diferenças significativas ($p > 0,05$) nos valores de pH entre os ensaios para o mesmo período de amostragem. A bebida controle (T1) e a bebida

com *L. casei* (T3) diferiram da segunda até a quarta hora de fermentação enquanto que a bebida com *L. rhamnosus* (T2) diferiu da bebida T3 apenas na sétima hora do processo fermentativo.

Em relação ao tempo de fermentação, houve uma redução significativa ($p > 0,05$) do pH ao longo do processo. Para a bebida T1 apenas entre o início e a primeira hora o pH manteve-se estável, diminuindo progressivamente ao longo das horas seguintes. A bebida T2 apresentou decréscimo do pH do início ao final da fermentação e na bebida 3 também houve o decaimento do pH, permanecendo-se estável apenas entre a segunda e terceira hora. Ao final do processo de fermentação, os ensaios T1, T2, T3 apresentaram os valores de pH médios de $4,63 \pm 0,130$, $4,68 \pm 0,176$, $4,38 \pm 0,202$, respectivamente.

As bebidas adicionadas de *Lactobacillus* spp. (T2 e T3) apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$) na acidez em relação a bebida controle (T1) apenas no início da fermentação (T0). Em relação às horas de fermentação para o mesmo ensaio, houve um aumento significativo da acidez ao longo do tempo de fermentação finalizando-se com uma acidez de $0,689 \pm 0,104$, $0,655 \pm 0,131$, $0,740 \pm 0,026$ para T1, T2 e T3 respectivamente. As populações de *S. thermophilus* e *Lactobacillus* spp no início e final da fermentação estão apresentadas na Figura 3.

Figura 3 – Populações de *S. thermophilus* nos ensaios T1 (controle), T2 (*L. rhamnosus* LR32) e T3 (*L. casei* BGP93) (a) e de *Lactobacillus* spp. nos ensaios T2 e T3 (b) nos tempos zero (cinza claro) e tempo final (cinza escuro) da fermentação das bases lácteas. Diferentes letras maiúsculas denotam diferenças significativas entre os ensaios para o mesmo tempo de fermentação e microrganismo ($p < 0,05$). Diferentes letras minúsculas denotam diferenças significativas entre os tempos de fermentação para o mesmo ensaio e microrganismo ($p < 0,05$).



Fonte: Autoria própria.

Em relação à cultura iniciadora (*S. thermophilus*) observou-se um aumento significativo no tempo final da fermentação, no entanto não houve diferenças entre os diferentes ensaios (T1, T2 e T3) indicando que a adição dos lactobacilos adjuvantes não influenciou na viabilidade do *S. thermophilus*.

Os lactobacilos adjuvantes adicionados nas bebidas T2 e T3 não apresentaram diferenças significativas entre eles durante a fermentação, no entanto ambos apresentaram diferença significativa entre o tempo zero e final da fermentação, finalizando o processo com uma média de $8,33 \pm 0,494$ para a bebida T2 e $7,99 \pm 0,555$ para a bebida T3. Resultados semelhantes foram encontrados por Almeida Neta et al. (2018) e Buriti et al. (2014) nos quais o *L. rhamnosus* LR32 foi submetido a processo fermentativo.

5.3 Avaliação físico-química e microbiológica do período de armazenamento

As alterações nos valores médios de pH, acidez titulável e nas populações de *S. thermophilus* e *Lactobacillus* spp. das bebidas lácteas durante o período de armazenamento estão dispostos na Tabela 4.

Tabela 5 – Alterações nos valores médios de pH, acidez titulável e nas populações de *S. thermophilus* e *Lactobacillus* spp. das bebidas lácteas adicionadas de polpa de *S. cumini* no tempo inicial e final da fermentação e após 1, 7, 14 e 21 dias de armazenamento a 4 ± 1 °C.

(continua)

Parâmetro	Tempo (Dias)	T1	T2	T3
pH	D1	$4,94 \pm 0,287^{Ad}$	$4,91 \pm 0,400^{Ac}$	$4,58 \pm 0,300^{Ac}$
	D7	$4,71 \pm 0,29^{Ac}$	$4,73 \pm 0,467^{Ac}$	$4,41 \pm 0,098^{Ab}$
	D14	$4,54 \pm 0,255^{Bb}$	$4,53 \pm 0,291^{ABb}$	$4,29 \pm 0,071^{Aa}$
	D21	$4,40 \pm 0,257^{Aa}$	$4,36 \pm 0,154^{Aa}$	$4,26 \pm 0,091^{Aa}$
Acidez Titulável (ácido láctico 100 g^{-1})	D1	$0,634 \pm 0,042^{Aac}$	$0,637 \pm 0,039^{Aa}$	$0,654 \pm 0,051^{Ab}$
	D7	$0,671 \pm 0,043^{Aa}$	$0,663 \pm 0,028^{Aa}$	$0,642 \pm 0,021^{Ab}$
	D14	$0,691 \pm 0,061^{Aab}$	$0,699 \pm 0,101^{ABa}$	$0,625 \pm 0,019^{Bb}$
	D21	$0,599 \pm 0,058^{ABa}$	$0,637 \pm 0,044^{Ba}$	$0,582 \pm 0,023^{Aa}$

				(conclusão)
<i>S. thermophilus</i> (log UFC g ⁻¹)	D1	9,26±0,649 ^{Aa}	8,82±0,430 ^{Aa}	9,26±0,347 ^{Abc}
	D7	9,06±0,140 ^{Aa}	8,99±0,502 ^{Aab}	8,85±0,339 ^{Aa}
	D14	8,96±0,372 ^{Aa}	9,06±0,278 ^{Ab}	9,15±0,102 ^{Ac}
	D21	9,10±0,381 ^{Aa}	9,02±0,352 ^{Ab}	8,92±0,385 ^{Aab}
<i>Lactobacillus</i> spp. (log UFC g ⁻¹)	D1	n.a	7,47±0,454 ^{Aa}	7,91±1,15 ^{Aa}
	D7	n.a	8,27±0,297 ^{Ab}	7,87±1,26 ^{Aab}
	D14	n.a	8,36±0,341 ^{Ac}	7,54±0,799 ^{Abe}
	D21	n.a-	8,36±0,337 ^{Ac}	7,79±1,23 ^{Ae}

Fonte: autoria própria.

T1= Bebida láctea controle, sem lactobacilos adjuntos; T2= Bebida láctea com *Lactobacillus rhamnosus* LR32; T3= Bebida láctea com *Lactobacillus casei* BGP93; n.a= não adicionado. As letras maiúsculas representam as diferenças significativas ($p > 0,05$) entre as bebidas lácteas. As letras minúsculas representam as diferenças significativas nos dias de armazenamento.

Os produtos finais obtiveram valores mais baixos de pH em relação ao tempo zero da fermentação devido a produção de ácido láctico. As bebidas T1 e T3 diferiram significativamente no dia 14 do armazenamento e em todos os tratamentos o pH sofreu uma diminuição significativa ($p > 0,05$) ao longo dos dias de armazenamento. Fenômeno chamado de pós acidificação que pode ocorrer devido ao metabolismo ativo das culturas adicionadas (LOBATO-CALLEROS et al., 2014), o que pode ocasionar mudanças texturais (MONTANUCI et al., 2012) e redução da viabilidade de bactérias probióticas (ZACARCHENCO; MASSAGUER-ROIG, 2004). No entanto, embora a acidez dos tratamentos tenha aumentado, não afetou a viabilidade nos lactobacilos que permaneceu superior a 7 log UFC g⁻¹.

A acidez titulável apresentou diferenças significativas entre os tratamentos no dia 14 entre a bebida T1 e T3 e no dia 21 entre as bebidas adicionadas de *Lactobacillus* spp. (T2 e T3). Em relação ao período de armazenamento para cada ensaio, houve diferenças significativas entre os dias 14 e 21 nas bebidas T1 e T3.

As populações de *S. thermophilus* não diferiram entre os três ensaios dentro de cada período de amostragem ($p > 0,05$), indicando que as culturas adjuvantes utilizadas não interferiram na viabilidade do microrganismo *starter* durante o armazenamento.

A adição de sucos e polpas de frutas podem influenciar na estabilidade de microrganismos probióticos. O estudo de Vinderola et al. (2002) avaliou a influência de suco de frutas sob culturas probióticas e os resultados apontaram que a acidez pode causar

uma inibição deste microrganismos. No entanto, os estudos de Buriti et al. (2014) tanto *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* quanto *Lactobacillus. rhamnosus* mantiveram boa viabilidade na presença de polpas de goiaba ou graviola.

No presente estudo, comparando os produtos T2 com T3, não houve diferença significativa entre as populações de *Lactobacillus* spp. nos tratamentos ($p > 0,05$). No entanto, em relação ao tempo de armazenamento, houve um aumento significativo das contagens do dia 1 ao dia 14 ($p < 0,05$) mantendo-se estável no dia 21 para a bebida T2 ($p < 0,05$). Já na bebida T3 ocorreu uma diminuição da população de células de *Lactobacillus* spp. entre os dias 1 e 21.

A concentração de bactérias probióticas em um alimento necessária para desempenhar atividades benéficas à saúde é de, no mínimo, entre 10^6 e 10^8 UFC g^{-1} do alimento ou de 10^8 a 10^{10} UFC por dia, com base nos ensaios clínicos em humanos relatados no artigo de revisão de Martinez, Bedani e Saad (2015). O presente estudo obteve valores médios entre 7,47 e 8,36 UFC g^{-1} de lactobacilos em T2 e T3 ao longo de todo o período de armazenamento, caracterizando as bebidas produzidas como potenciais alimentos funcionais, tendo em vista a concentração de probióticos conseguida até o final da estocagem.

5.4 Análise sensorial

Participaram desta análise 128 provadores, sendo 49 homens e 79 mulheres, com idade entre 19 e 56 anos. Os resultados de contaminantes apontaram que as bebidas lácteas apresentaram uma contagem inferior a 100 UFC g^{-1} para a análise de coliformes a 35 °C (e, portanto, mesmo resultado para coliformes a 45 °C), além de ausência de *Salmonella* sp. em 25 g para o método empregado. A aceitabilidade global no presente estudo não diferiu significativamente entre as bebidas avaliadas em qualquer dia de armazenamento, e não foram observadas diferenças significativas para o mesmo ensaio durante o armazenamento ($p > 0,05$), conforme pode ser observado na Tabela 6.

Tabela 6 – Valores gerais de aceitabilidade (média \pm desvio padrão) obtidos na análise sensorial com provadores (n=128) para as bebidas lácteas fermentadas após 7, 14 e 21 dias de armazenamento. T1 = bebida láctea controle, sem lactobacilos adjuntos; T2 = bebida láctea com *L. rhamnosus* LR32; T3 = bebida láctea com *L. casei* BGP93. As mesmas letras maiúsculas não diferem significativamente entre os estudos estudados ($p > 0,05$). As mesmas letras minúsculas não diferem significativamente ao longo do tempo para o mesmo teste ($p > 0,05$).

Item	Dia	T1	T2	T3
Sabor	7	5,67 \pm 2,50 ^{Aa}	5,79 \pm 2,66 ^{Aa}	6,01 \pm 2,57 ^{Aa}
	14	6,07 \pm 2,43 ^{Aa}	6,41 \pm 2,59 ^{Aa}	6,23 \pm 2,16 ^{Aa}
	21	6,82 \pm 2,29 ^{Aa}	6,45 \pm 2,70 ^{Aa}	6,60 \pm 2,42 ^{Aa}
Dulçor	7	6,19 \pm 2,21 ^{Aa}	6,33 \pm 2,49 ^{Aa}	6,50 \pm 2,39 ^{Aa}
	14	6,26 \pm 2,28 ^{Aa}	6,46 \pm 2,70 ^{Aa}	6,56 \pm 1,91 ^{Aa}
	21	6,60 \pm 2,31 ^{Aa}	6,53 \pm 2,51 ^{Aa}	6,65 \pm 2,09 ^{Aa}
Consistência	7	6,39 \pm 2,44 ^{Aa}	7,12 \pm 2,39 ^{Aa}	7,00 \pm 2,47 ^{Aa}
	14	6,47 \pm 2,46 ^{Aa}	7,00 \pm 2,36 ^{Aa}	6,81 \pm 2,10 ^{Aa}
	21	6,87 \pm 2,40 ^{Aa}	6,66 \pm 2,15 ^{Aa}	6,70 \pm 2,19 ^{Aa}
Aparência	7	7,46 \pm 2,13 ^{Aa}	7,48 \pm 2,16 ^{Aa}	7,74 \pm 1,94 ^{Aa}
	14	7,27 \pm 1,81 ^{Aa}	7,98 \pm 1,92 ^{Aa}	7,80 \pm 1,64 ^{Aa}
	21	7,39 \pm 2,16 ^{Aa}	7,63 \pm 2,06 ^{Aa}	7,05 \pm 2,18 ^{Aa}
Cor	7	7,99 \pm 1,92 ^{Ab}	8,04 \pm 1,73 ^{Aa}	8,11 \pm 2,24 ^{Aa}
	14	7,36 \pm 2,13 ^{Aa}	8,29 \pm 1,66 ^{Aa}	8,00 \pm 1,57 ^{Aa}
	21	7,89 \pm 2,08 ^{Aab}	8,11 \pm 1,98 ^{Aa}	7,35 \pm 2,32 ^{Aa}
Aceitação Global	7	6,53 \pm 1,84 ^{Aa}	6,90 \pm 2,02 ^{Aa}	7,02 \pm 2,13 ^{Aa}
	14	6,32 \pm 2,15 ^{Aa}	7,17 \pm 2,14 ^{Aa}	6,78 \pm 1,75 ^{Aa}
	21	6,94 \pm 2,05 ^{Aa}	6,96 \pm 2,46 ^{Aa}	6,85 \pm 2,02 ^{Aa}

Fonte: autoria própria.

T1= Bebida láctea controle, sem lactobacilos adjuntos; T2= Bebida láctea com *Lactobacillus rhamnosus* LR32; T3= Bebida láctea com *Lactobacillus casei* BGP93; n.a= não adicionado. As letras maiúsculas sobrescritas representam as diferenças significativas ($p > 0,05$) entre as bebidas lácteas. As letras minúsculas sobrescritas representam as diferenças significativas nos dias de armazenamento.

No presente estudo, pode-se observar que as diferentes culturas empregadas nas bebidas lácteas não resultaram em alterações significativas nos atributos sensoriais avaliados. Nos estudos de Almeida Neta et al. (2018) e Pereira et al. (2018) também foram utilizadas cepas de *L. rhamnosus* CNPC003 e *L. casei* BGP93, respectivamente, como culturas adjuvantes e os resultados da análise sensorial apontaram que tais *Lactobacillus* spp. não alteraram a aceitabilidade dos produtos testados.

Os diferentes tempos de armazenamento não interferiram na aceitabilidade geral dos provadores e não resultaram em mudanças significativas que pudessem ser percebidas por meio da avaliação sensorial. Considerando que a média das notas atribuídas apresentam valores próximos em relação aos tempos e os tratamentos.

Ao avaliar a percepção dos provadores em relação aos atributos sensoriais mais e menos apreciados, observa-se que o sabor e a consistência apresentaram mais citações “menos apreciadas” enquanto que a cor foi o atributo que obteve mais citações como “mais apreciado”.

Os resultados negativos para o sabor podem estar relacionados ao fato de ainda não ser utilizado o jambolão em produtos lácteos, a falta de familiaridade dos provadores com essa fruta neste tipo de produto e a associação da cor roxa semelhante a produtos de uva, que causam estranheza ao sabor exótico do produto com esta cor. De modo geral, as bebidas lácteas apresentam consistência mais líquida em relação a iogurtes. No entanto, talvez os provadores tenham apresentado uma expectativa de que bebida láctea apresentasse características de um iogurte, esperando um produto mais firme e cremoso e, por isso, obteve-se uma percentagem alta de menos gostou para a consistência. Com o objetivo de minimizar a influência da falta de familiaridade dos provadores com o uso de frutas regionais no desenvolvimento dos produtos lácteos, sugere-se que futuros estudos sejam realizados selecionando o painel de julgadores por aptidão, por exemplo, com base nas pessoas acostumadas a consumir frutas regionais.

A cor foi o atributo mais citado em todas as bebidas e tempos de armazenamento como mais apreciado, resultado bastante positivo uma vez que não foram utilizados corantes artificiais ao produto, sendo sua cor resultante apenas da adição da polpa de jambolão, rica em antocianinas Branco et al. (2016) que conferiram a bebida uma coloração arroxeada. Torskangerpoll e Andersen (2005) relataram que as antocianinas podem sofrer influência do pH e conseqüente alteração na coloração, no entanto, no presente estudo a coloração dos produtos se mostrou estável mesmo havendo variação entre os resultados de acidez durante o armazenamento.

Os atributos sensoriais citados como mais e menos apreciados pelos julgadores estão apresentados na Tabela 7.

Tabela 7 – Atributos sensoriais citados como “mais apreciados” e “menos apreciados” pelos julgadores (n = 128) para os ensaios de bebida láctea fermentada nos dias 7, 14 e 21 de armazenamento.

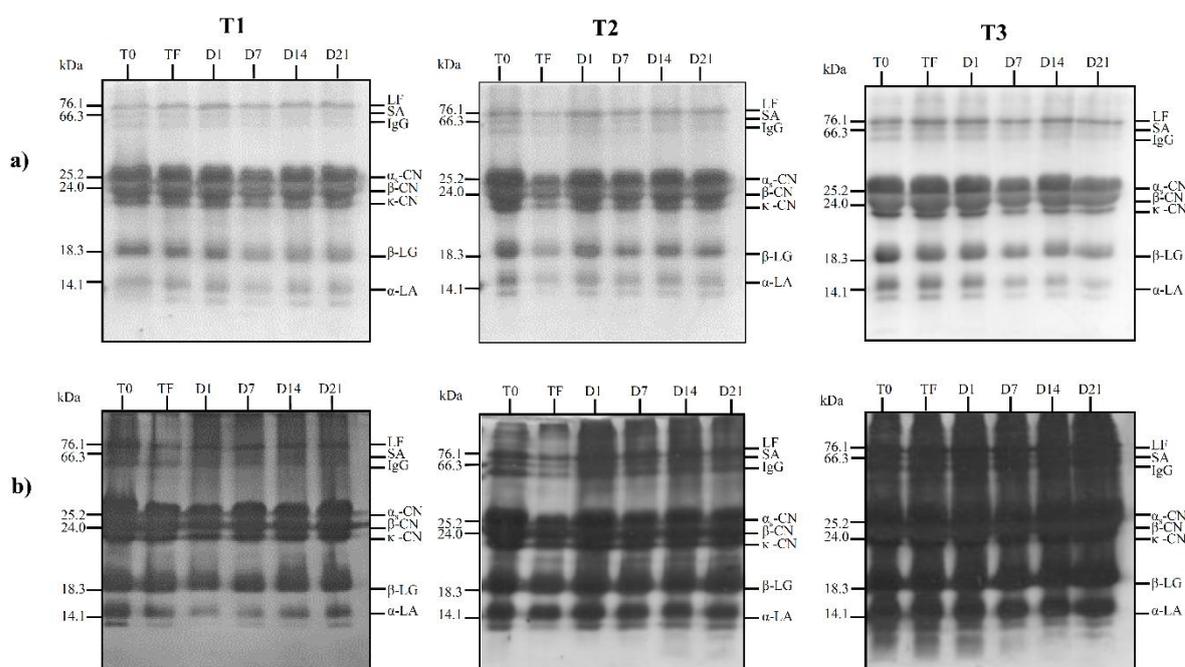
Bebida Láctea	Ranking	Tempo (dias)	Atributos citados					Total de citações
			Sabor	Dulçor	Consistência	Aparência	Cor	
T1	Mais gostou	7	8 (14,8)	7(13,0)	8 (14,8)	6 (11,1)	18(33,3)	54 (100)
		14	7 (16,3)	4(9,3)	8 (18,6)	5 (11,6)	14(32,6)	43 (100)
		21	6 (15,8)	3 (7,9)	3(7,9)	4 (10,5)	17(47,7)	38 (100)
	Menos gostou	7	17(31,5)	4 (7,4)	18 (33,3)	3 (5,5)	-	54 (100)
		14	18(41,9)	5(11,6)	10(23,2)	2(4,7)	2(4,7)	43 (100)
		21	12(31,6)	6(15,8)	10(26,3)	1(2,6)	3(7,9)	38 (100)
T2	Mais gostou	7	11(21,2)	4(7,7)	13(25)	5(9,6)	13(25)	52 (100)
		14	7 (17,1)	4(9,8)	3 (7,3)	6(14,6)	11(26,8)	41 (100)
		21	7 (18,9)	7(18,9)	3(8,1)	7(18,9)	13(35,1)	37 (100)
	Menos gostou	7	17(32,3)	10(19,2)	15(28,8)	3(5,7)	-	52(100)
		14	9 (22)	5 (12,2)	12 (29,3)	2(4,9)	-	41(100)
		21	9 (24,3)	6 (16,2)	10 (27)	1 (2,7)	3 (8,1)	37 (100)
T3	Mais gostou	7	3 (7,30)	6 (14,6)	6 (14,6)	7 (17,1)	14(34,1)	41(100)
		14	11(25,6)	8 (18,6)	4 (9,3)	2 (4,7)	13(30,2)	43 (100)
		21	9 (22,5)	8 (20)	8 (20)	3 (7,5)	6 (15)	40 (100)
	Menos gostou	7	11(26,8)	4 (9,8)	12 (29,2)	4 (9,8)	1 (2,4)	41 (100)
		14	18(41,9)	4 (9,3)	13 (30,2)	1 (2,3)	1 (2,3)	43 (100)
		21	9 (22,5)	5 (12,5)	9 (22,5)	7 (17,1)	4 (10)	40(100)

Fonte: Autoria própria.

5.5 Análise do perfil proteico das bebidas lácteas fermentadas pela técnica de eletroforese e poliacrilamida dodecilsulfato de sódio (SDS-PAGE)

Na Figura 4 estão apresentados os géis corados pelas técnicas de azul de Coomassie e nitrato de prata contendo as amostras das bases e bebidas lácteas produzidas.

Figura 4 – Caracterização eletroforética (SDS-PAGE) das proteínas provenientes das bases lácteas antes e após a fermentação e das bebidas lácteas armazenadas a 4 ± 1 °C durante 21 dias.



Fonte: Autoria Própria.

a) Géis revelados por azul de Coomassie. b) Géis revelados por nitrato de prata.

T1: Bebida láctea controle, sem lactobacilos adjuntos.

T2: Bebida láctea com *Lactobacillus rhamnosus* LR32.

T3: Bebida láctea com *Lactobacillus casei* BGP93.

T0: bebida láctea antes da fermentação.

TF: bebida láctea após a fermentação.

D1 a D21: dias de armazenamento.

Nos géis das amostras do tratamento T1 não foi evidenciada atividade proteolítica em ambas as colorações. No tratamento T2, com a presença de *L. rhamnosus*, a formação de peptídeos na região abaixo de 14 kDa aos 14 e 21 dias de armazenamento foi expressa no gel corado com nitrato de prata, uma vez que esta coloração possui maior sensibilidade, sendo capaz de detectar fragmentos proteicos de 0,1 a 1,0 ng, enquanto que a coloração com azul de Coomassie detecta proteínas de 30 a 100 ng (SILVA; SOUZA, 2009). Por outro lado, nos géis do tratamento T3, com *L. casei*, pode-se observar atividade proteolítica sobre a α -

lactoalbumina no gel corado com azul de Coomassie e degradação dos peptídeos presentes em T0, TF e D1 em frações proteicas ainda menores que não conseguem ser detectadas pela coloração em nitrato de prata. Tais peptídeos formados podem estar relacionados ao aumento da atividade antioxidante observada ao longo do armazenamento. Sadat et al. (2011) isolou 5 peptídeos a partir da hidrólise da α -lactoalbumina e estes apresentaram atividade antioxidante pelo método ácido 2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) (ABTS). Estes comportamentos verificados são resultantes da proteólise ocorrida nas bebidas lácteas produzidas, o que pode estar relacionado à atividade microbiana que ocorre nos produtos durante o período de estocagem, bem como durante a fermentação, neste último caso, em particular para o tratamento T2. O estudo de Solieri, De Vero e Tagliacozzi (2018) avaliou a capacidade proteolítica de cepas de *L. casei* PRA205 e *L. rhamnosus* PRA331 em leite fermentado e observou a produção de peptídeos e, assim como no presente estudo, destacou a especificidade de cada estirpe bacteriana na atividade caseinolítica e nos peptídeos resultantes.

De modo geral, a proteólise em produtos lácteos consiste na degradação das proteínas realizada pelas enzimas endógenas do leite e enzimas originadas das bactérias lácticas resultando na produção de peptídeos de baixo e médio peso molecular e aminoácidos livres (BEZERRA, 2015). Os peptídeos resultantes da atividade proteolítica sobre as proteínas do leite apresentam-se inativos quando mantidos dentro da proteína original, porém quando são liberados podem exercer atividades benéficas à saúde como: atividade inibidora da enzima conversora de angiotensina, assim como efeitos opioide, antioxidante, antidiabético, imunomodulador e antimicrobiano (MORA; ARISTOY; TOLDRÁ, 2019).

Os produtos lácteos em geral são considerados ricas fontes de peptídeos bioativos, que podem modular positivamente as funções fisiológicas e metabólicas (BASILICATA et al 2018). A incorporação de cepas de bactérias lácticas pode promover a liberação dos peptídeos bioativos devido à sua ação de proteinase. O estudo de Ni et al. (2018) investigou o potencial de adição de extratos de bagas salgada (*Gaultheria shallon*) e groselha preta (*Ribes nigrum*) à matriz de iogurte. Naquele estudo, foram isolados um total de 486 peptídeos, dos quais 15 apresentaram bioatividade predominantemente como agente antimicrobianos ou inibidores da enzima conversora da angiotensina (ECA). Li et al. (2017) estudou a atividade inibidora da ECA de 41 cepas de *L. casei* na produção de um leite fermentado, 22 cepas apresentaram produção de peptídeos inibidores dessa enzima. Estes estudos reforçam o papel das bactérias lácticas na produção de peptídeos bioativos a partir da proteólise das proteínas do leite.

5.5 Teor de compostos fenólicos e atividade antioxidante

Os valores médios de compostos fenólicos (em mg de GAE 100 g⁻¹), assim como a porcentagem de inibição de radicais DPPH, o EC₅₀ e a capacidade antioxidante da amostra (em g de amostra g⁻¹ de DPPH) para as bases lácteas e bebidas T1, T2 e T3 ao longo do período de armazenamento a 4 ± 1 °C são mostrados na Tabela 8.

Tabela 8 – Teor fenólico total, porcentagem de inibição dos radicais DPPH, EC₅₀ e capacidade antioxidante total das base e bebidas lácteas fermentadas adicionadas de polpa de jambolão no tempo inicial e final da fermentação e após 1, 7, 14 e 21 dias de armazenamento a 4 ± 1 °C.

(Continua)

Parâmetros	Tempo (dias)	T1	T2	T3
Fenólicos totais (mg GAE 100 g ⁻¹)	T0	15,81±4,67 ^{Aa}	21,46±8,23 ^{Aa}	17,45±2,45 ^{Aa}
	TF	16,46±2,79 ^{Aa}	19,24±10,26 ^{Aa}	19,36±3,13 ^{Ab}
	D1	41,93±10,0 ^{Ab}	36,17±5,62 ^{Ab}	43,88±2,66 ^{Ac}
	D7	40,22±7,71 ^{Ab}	36,90±7,87 ^{Ab}	36,80±3,07 ^{Ad}
	D14	37,77±3,49 ^{Ab}	42,57±10,71 ^{Ab}	35,98±5,14 ^{Ad}
	D21	38,61±12,14 ^{Ab}	37,25±2,93 ^{Ab}	35,75±4,44 ^{Ad}
EC ₅₀ (g amostra L ⁻¹ sol. DPPH 100 µM)	T0	41,0±5,74 ^{Ad}	60,5±18,8 ^{ABe}	49,9±2,40 ^{Bd}
	TF	37,4±3,22 ^{Ac}	81,3±9,76 ^{Bf}	41,2±17,1 ^{Ad}
	D1	17,9±1,39 ^{Ab}	17,0±0,871 ^{Ac}	17,6±1,00 ^{Ac}
	D7	13,9±0,324 ^{Ba}	21,2±3,03 ^{Cd}	12,0±0,495 ^{Ab}
	D14	14,1±2,15 ^{Ba}	14,0±0,522 ^{Ba}	10,4±0,210 ^{Aa}
	D21	16,0±4,44 ^{ABab}	15,0±0,374 ^{Bb}	12,1±0,264 ^{Ab}
Capacidade antioxidante total (g amostra g ⁻¹ DPPH)	T0	1178,1±299,6 ^{Ac}	1815,0±450,8 ^{Aa}	1532,8±683,2 ^{Ae}
	TF	1432,6±43,12 ^{Ac}	2570,2±279,2 ^{Ba}	1971,8±759,6 ^{ABe}
	D1	790,7±132,20 ^{Ab}	953,6±298,3 ^{Ab}	789,1±49,7 ^{Ad}
	D7	632,9±85,43 ^{ABab}	969,8±285,2 ^{Bb}	625,8±25,8 ^{Ac}
	D14	614,8±70,09 ^{Aa}	538,8±74,43 ^{Aa}	525,4±21,0 ^{Ab}
	D21	695,6±165,3 ^{Aa}	576,8±71,54 ^{Aa}	608,5±25,4 ^{Aa}

				(Conclusão)
Inibição de radicais DPPH (%)	T0	7,53±7,97 ^{Aa}	8,98±9,64 ^{Aa}	15,20±8,57 ^{Aa}
	TF	5,10±2,20 ^{Aa}	2,63±2,06 ^{Aa}	7,10±2,23 ^{Aa}
	D1	21,04±2,61 ^{Ab}	24,22±4,14 ^{Ab}	27,46±4,14 ^{Ab}
	D7	24,81±1,04 ^{Ab}	24,42±7,89 ^{Ab}	37,57±0,53 ^{Ab}
	D14	26,13±3,82 ^{Ab}	27,90±2,70 ^{Ab}	40,22±0,31 ^{Ab}
	D21	25,08±8,69 ^{Ab}	25,20±0,59 ^{Ab}	30,85±0,33 ^{Ab}

Fonte: Autoria Própria.

DPPH = 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo; EC 50 = quantidade de amostra necessária para reduzir a concentração inicial de DPPH em 50%; T1= Bebida láctea controle, sem lactobacilos adjuntos; T2= Bebida láctea com *Lactobacillus rhamnosus* LR32; T3= Bebida láctea com *Lactobacillus casei* BGP93. T0= Início da fermentação; TF= tempo final da fermentação. As letras maiúsculas sobrescritas representam as diferenças significativas ($p > 0,05$) entre as bebidas lácteas. As letras minúsculas sobrescritas representam as diferenças significativas nos dias de armazenamento.

Analisando-se os resultados obtidos para teor de fenólicos totais pode-se observar que as bases lácteas (T0 e TF) apresentaram valores significativamente menores que as bebidas com jambolão ao longo dos dias de armazenamento ($p < 0,05$), o que implica dizer que a adição da polpa dessa fruta no produto lácteo aumentou o seu teor de fenólicos. O estudo de Bezerra (2015) avaliou o teor de fenólicos totais de 4 tipos de *frozen yogurt* que diferenciavam entre si pela sua composição em relação aos microrganismos utilizados (*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus* Y540B com e sem *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BI-07) e apresentação do jambolão (pó ou polpa), tendo sido obtidas médias entre 5,25 e 9,03 mg/g para os produtos avaliados. As bebidas lácteas produzidas no presente estudo apresentaram, portanto, valores de fenólicos totais superiores aos de Bezerra (2015), porém cabe ressaltar que o tipo de extração empregada para estes compostos foi diferente.

Segundo o estudo de Corrêa et al. (2015), que estimou o consumo de compostos fenólicos pela população brasileira a partir dos Inquérito Nacional de Alimentação (INA) da Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF), a população brasileira consome em média 460,15 mg/dia de compostos fenólicos. As bebidas produzidas no presente estudo apresentaram, ao final do período de armazenamento, médias entre 35,75 e 38,61 mg de fenólicos em 100 g de produto, o que representaria cerca de 8% do consumo diário de fenólicos da população brasileira, considerando como base os dados de Corrêa et al. (2015). Considerando a porção 200 g estabelecida para bebidas lácteas pela legislação nacional vigente (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2003), uma porção dos produtos do presente

estudo conseguiria oferecer em média 16% da quantidade de fenólicos consumida por dia pelos brasileiros.

No presente estudo, durante o período de armazenamento, não houve diferenças significativas ($p > 0,05$) do teor de fenólicos em nenhuma das bebidas, com exceção do tratamento T3 entre 1 e 7 dias. No entanto, avaliando-se os resultados de EC_{50} observa-se que houve queda significativa da quantidade de bebida necessária para reduzir pela metade a absorvância da solução de DPPH ($p < 0,05$) com o aumento do período de estocagem, indicando elevação do efeito antioxidante do produto ao longo do armazenamento.

Uma vez que não houve aumento significativo do teor de fenólicos do produto durante a estocagem, a redução significativa do EC_{50} no período provavelmente estaria relacionada ao efeito aditivo da presença do jambolão e da ocorrência de proteólise, conforme observado nos géis de eletroforese (Figura 4), com possível liberação de frações proteicas bioativas com capacidade antioxidante. O estudo de Solieri, De Vero e Tagliazucchi (2018) avaliou a capacidade proteolítica de cepas de *L. casei* PRA205 e *L. rhamnosus* PRA331 em leite fermentado e observou a produção de peptídeos e, assim como no presente estudo, destacou a especificidade de cada estirpe bacteriana na atividade caseinolítica e nos peptídeos resultantes.

O estudo de Liu et al. (2018), investigou a capacidade de *L. rhamnosus* 6134 de afetar a atividade antioxidante em queijo cheddar. Os resultados apontaram que a adição daquele lactobacilo aumentou a capacidade de eliminação do radical DPPH e o poder redutor em 7,46 e 17,58% comparando-se queijos com e sem adição do probiótico. Reforçando que a adição de probióticos pode melhorar formação de peptídeos e atividade antioxidante.

Avaliando-se a capacidade antioxidante total das bebidas lácteas produzidas no presente estudo, pode-se destacar a forte influência da adição da polpa de jambolão aos produtos, uma vez que para as bases lácteas (T0) sem adição da fruta, é necessário em média entre 1178,1 e 1815,0 g de base láctea para capturar 1g de DPPH, enquanto que para a bebida láctea adicionada da polpa (D1), as médias de amostra, em g, caem para 790,7, 953,6 e 789,1 para T1, T2 e T3, respectivamente. Destaca-se também a possível atividade de peptídeos com ação antioxidante, conforme mencionado anteriormente, tendo em vista que a quantidade de bebida láctea necessária para capturar 1 g de DPPH continua diminuindo ao longo do período de armazenamento.

Em relação à porcentagem de inibição de radicais DPPH (%), os valores médios obtidos neste estudo para todas as bebidas lácteas adicionadas de polpa de jambolão, na alíquota máxima utilizada no ensaio (0,02 mL do extrato da amostra para um volume de 3 mL

com 100 μ M DPPH), foram superiores a 20% de inibição dos radicais DPPH e significativamente maiores que as médias encontradas para as bases fermentadas antes da adição do jambolão (TF), reforçando a sua influência na capacidade antioxidante das bebidas lácteas produzidas.

O estudo de Almeida Neta et al. (2018) obteve médias superiores a 30% de inibição dos radicais DPPH em uma sobremesa fermentada com ingredientes da casca da jabuticaba, entretanto os autores incorporaram às formulações xarope e geleia da casca da jabuticaba, além de extrato hidroetanólico da casca daquela fruta, enquanto que no presente estudo utilizou-se apenas a polpa do jambolão.

Verifica-se, portanto, que a incorporação de frutas em alimentos lácteos representa uma excelente estratégia para o enriquecimento destes produtos do ponto de vista nutricional, sensorial e funcional. A atividade antioxidante destes alimentos sofre, dessa forma, influência da adição de frutas, bem como extratos e resíduos de seu processamento. Estudos utilizando abacaxi (SAH et al., 2016), bagaço de uva (DOS SANTOS et al., 2017) e jabuticaba (SOUSA, 2016) também apontaram que a utilização de frutas melhorou a atividade antioxidante dos produtos lácteos estudados.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A utilização do soro lácteo, culturas probióticas e polpa de jambolão na produção de bebidas lácteas fermentadas representa uma boa estratégia para produção de um alimento funcional e a hidrólise da lactose aumenta o público alvo deste alimento uma vez que atende ao intolerantes a este dissacarídeo.

As bebidas produzidas cumprem as exigências da legislação brasileira para bebidas lácteas fermentadas, uma vez que possuem teor de base láctea acima do mínimo especificado (51%) e apresentam uma contagem de bactérias lácticas viáveis superior ao mínimo de 10^6 UFC g^{-1} até o 21º dia de armazenamento. Além disso, apresentam teor de proteínas superior ao mínimo estabelecido, de 1 g por 100 g de produto e podem ser considerados com baixo teor de gordura por apresentar teor inferior a 3 g na porção de 200 g, podendo, dessa forma, serem consumidas em dietas com restrição de gordura.

As concentrações médias de lactobacilos probióticos adicionados nos produtos T2 e T3 foram $7 \log$ UFC g^{-1} até vigésimo primeiro dia de armazenamento, caracterizando as bebidas produzidas como potenciais alimentos funcionais, uma vez que possuem concentrações de probióticos são superiores ao mínimo recomendado pela literatura.

Os produtos apresentaram pós-acidificação no período de armazenamento, porém isso não acarretou alterações na viabilidade dos probióticos adjuvantes nem alterações sensoriais na aceitação geral das bebidas lácteas.

A adição da polpa de jambolão favoreceu o aspecto dos produtos, sendo a cor proveniente do fruto o atributo mais citado positivamente pelos provadores. Isso implica que os pigmentos da fruta, responsáveis pela coloração arroxeada dos produtos, provavelmente apresentaram boa estabilidade às variações de pH durante o armazenamento, o que tornaria possível viabilizar a utilização dessa fruta como fonte de pigmento em outros produtos alimentícios alternativamente a corantes artificiais.

O teor de compostos fenólicos bem como a atividade antioxidante das bebidas lácteas produzidas aumentou após a adição da polpa de jambolão, graças à rica concentração destes metabólitos no fruto. Foi observado que a atividade antioxidante permaneceu aumentando ao longo do período de armazenamento o que pode ser relacionado com a formação de fragmentos proteicos com atividade antioxidante resultantes da proteólise das proteínas lácteas.

Os produtos elaborados representam uma alternativa tecnológica de aproveitamento do soro lácteo, considerado rejeito da indústria queijeira apesar de seu valor nutricional e

da polpa do jabolão que é uma fruta ainda pouco explorada, de baixo valor econômico e alta prevalência na região onde foi realizado o estudo.

As bebidas lácteas produzidas são, dessa forma, vistas como boas opções de alimentos funcionais graças ao seu valor nutricional, à viabilidade de lactobacilos potencialmente probióticos, concentração de fenólicos totais e atividade antioxidante obtida. Além disso, conseguem atender ao público intolerante à lactose representando uma opção de produto lácteo funcional.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução RDC nº 18, de 30 de abril de 1999. Diretrizes básicas para análise e comprovação de propriedades funcionais e ou de saúde alegadas em rotulagem de alimentos. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, ano 137, n. 231-E, p.23-24, 3 dez. 1999.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução RDC nº 54, de 12 de novembro de 2012. Regulamento técnico sobre informação complementar em nutrição. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, ano 2012, n. 54, p. 122-126, 23 nov. 2012.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução RDC nº 359, de 23 de dezembro de 2003. Regulamento técnico sobre o atendimento de tamanhos com informações nutricionais para alimentos embalados. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, ano 141, ano 2003, n. 359, p. 28-32, 26 dez. 2003.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Gerência Geral de Alimentos. Gerência de registro de Alimentos. **Perguntas & respostas**: rotulagem de lactose. Brasília, DF, 2017.
- 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**, Amsterdam, 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jaubas.2017.05.001>.
- ALLUÉ, P. Microbiota y enfermedades gastrointestinales. **Anales de Pediatría**, Barcelona, v. 85, p. 443.e1-443.e5, 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.anpedi.2015.07.034>.
- ALMEIDA NETA, M.C.; DE QUEIROGA, A.P.R.; ALMEIDA, R.L.J.; SOARES, A.C.; GONÇALVES, J.M.; FERNANDES, S.S.; DE SOUSA, M.C; DOS SANTOS, K.M.O.; BURITI, F.C.A.; FLORENTINO, E.R. Fermented dessert with whey, ingredients from the peel of jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*) and an indigenous culture of *Lactobacillus plantarum*: composition, microbial viability, antioxidant capacity and sensory features. **Nutrients**, Basel, v.10, n.9, 2018. DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/nu10091214>
- ALVES, A.P.C. **Casca de jaboticaba (Plinia jaboticaba (Vell) Berg)**: processo de secagem e uso com aditivo em iogurte. 2011. 90p. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2011. Disponível em:< http://repositorio.ufla.br/bitstream/1/1542/1/DISSERTA%C3%87%C3%83O_Casca%20de%20jaboticaba%20%28Plinia%20jaboticaba%20%28Vell.%29%20Berg%29%20processo%20de%20secagem%20e%20uso%20como%20aditivo%20em%20iogurte.pdf>. Acesso em 11 out. 2018.
- ALVES, M.P.; MOREIRA, R.O.; RODRIGUES JUNIOR, P.H.; MARTINS, M.C.F.; PERRONE, I.T.; CARVALHO, A.F. Soro de leite: tecnologias para o processamento de coprodutos. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 69, n. 3, p. 212-226, 2014. DOI: <http://dx.doi.org/10.14295/2238-6416.v69i3.341>.

ARAGON-ALEGRO, L.C.; ALEGRO, J.H.A.; CARDELLI, H.R.; CHIU, M.C.; SAAD, S.M.I. Probiotic and synbiotic chocolate mousse. **LWT-Food Science and Technology**, Amsterdam, v.40, n.4, p.669-675, 2007.

ARAÚJO, A.L. **Polpa de jambolão (*Syzygium cumini*) desidratada por liofilização e secagem em leite de jorro**: caracterização físico-química e funcional e impacto da secagem. 2014. 111p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal. Disponível em: <
<https://repositorio.ufrn.br/jspui/handle/123456789/15857>> Acesso em 11 out. 2018.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. 17. ed, 2.rev. Gaithersburg: AOAC, 2003. 2v.

BARCIA, M.T. **Composição centesimal e de fitoquímicos em jambolão (*Syzygium cumini*)**. 2009. 64f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2009.

BARNERJEE, A.; DASGUPTA, N.; DE, B. In vitro study of antioxidant activity of *Syzygium cumini* fruit. **Food Chemistry**, London, v. 90, 727–733, 2005. DOI:
<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.04.033>

BASILICATA, M.G.; PEPE, G.; SOMMELLA, E.; OSTACOLO, C.; MANFRA, M.; SOSTO, G.; PAGANO, G.; NOVELLINO, E.; CAMPIGLIA, P. Peptidome profiles and bioactivity elucidation of buffalo-milk dairy products after gastrointestinal digestion. **Food Research International**, New York, v.105, p.1003-1010, 2018. DOI:
<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2017.12.038>

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

BRANCO, I.G.; MORAES, I.C.F.; ARGANDONA, E.J.S.; MADRONA, G.S.; SANTOS, C., RUIZ, A.L.T.G.; CARVALHO, J.E.; HAMINIUK, C.W.I. Influence of pasteurization on antioxidant and in vitro anti-proliferative effects of jambolan (*Syzygium cumini* (L.) Skeels) fruit pulp. **Industrial Crops and Products**, New York, 2016. DOI:
<http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.04.0550926-6690/>

BRASIL. Ministério Da Agricultura, Pecuária E Abastecimento. Instrução normativa n.º 16, de 23 de agosto de 2005. Aprova o regulamento técnico de identidade e qualidade de bebidas lácteas. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, ano 139, n.163, 24 de agosto de 2005.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa n. 62 de 27 de agosto de 2003. Métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para o controle de produtos de origem animal. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, ano 141, n. 62, p.14-51, 26 ago. 2003.

BURITI, F.C.A.; FREITAS, S.C.; EGITO, A.S.; 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 and Technology**, Amsterdam, v.59, p. 196-203, 2014. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2014.04.022>.

CASTRO, M.J.; ARIAS, I.; BARBOZA, F.; DUQUE, D.L.; VILLALOBOS, D. Usos clínicos de los probióticos: malabsorción de lactosa, cólico, enfermedad inflamatoria del intestino, enterocolite necrosante, *Helicobacter Pylori*. **Arquivos Venezolanos de Puericultura e Pediatria**, Caracas, v.79, n.1, 2016. Disponível em: <http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06492016000100006&lang=pt> Acesso em 14 out. 2018.

CHAUDARY, B.; MUKHOPADHYAY, K. *Syzygium cumini* (L) Skeels: a potential source of nutraceutical. **Intercional Journal of Pharmacy and Biological Sciences**, Hyderabad, v.2, n.1, p.2230-7605, 2012.

CORRÊA, V.G.; TURECK, C.; LOCATELI, G.; PERALTA, R.M.; KOEHNLEIN, E.A.; Estimate of consumption of phenolic compounds by Brazilian population . **Revista de Nutrição**, Campinas, v.28, n.2, p.185-196, 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/1415-52732015000200007>.

DONKOR, O. N. **Influence of probiotic organisms on release of bioactive compounds in yoghurt and soy yoghurt**. 2007. 253f. Ph. D. Thesis – Victoria University, [Melbourne], 2007.

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 Agriculture**, New York, 2017, 97, 1108–1115. DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/jsfa.7836>.

FARRELL JR, H.N.; JIMENEZ-FLORES, R.; BLECK, G.T.; BROWN, E.M.; BUTLER, J.E.; CREAMER, L.K.; HICKS, C.L.; HOLLAR, C.M.; NG-KWAI-HANG K.F.; SWAISGOOD, H.E. Nomenclature of the proteins of cows' milk—sixth revision, **Journal Dairy Science**, New York, v.87, p1641–1674, 2004.

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

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

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **Food energy: methods of analysis and conversion factors: report of a technical workshop**. Rome: FAO, 2003. 87 p. (FAO Food and Nutrition Paper, 77). Disponível em: <http://www.fao.org/uploads/media/FAO_2003_Food_Energy_02.pdf> Acesso em: 11 de out. 2018.

FORMIGONI, I. A produção de queijos voltou a crescer no Brasil depois do recuo causado pela crise. **Food News**, 13 abr. 2018. Disponível em:<
<http://www.foodnewsoficial.com.br/mercado/producao-de-queijos/>> Acesso em: 14 out. 2018.

GRANATO, D.; BRANCO, D.F.; NAZZARO, F.; CRUZ, A.G.; FARIA, J.A.F. Functional foods and nondairy probiotic food development: trends, concepts, and products. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, Oxford, v. 9, p.292-302, 2010.

GRAND VIEW RESEARCH, INC. Functional foods market is expected to reach \$255.10 billion by 2024. **Grand View Research**, 2016. Disponível em:<<https://www.grandviewresearch.com/press-release/global-functional-foods-market>> Acesso em: 14 out. 2018.

HILL, C.; GUARNER, F.; REID, G.; GIBSON, G.R.; MERENSTEIN, D.J.; POT, D.; MORELLI, L.; CANANI, R.B.; FLINT, H.J.; SALMINEN, S.; CALDER, P.C.; SANDERS, M.E. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. **Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology**, v.11, p. 506-514, 2014. Disponível em: <
<https://www.nature.com/articles/nrgastro.2014.66>> Acesso em: 14 out. 2018.

HIMEDIA. **Salmonella diferencial agar (twin pack) (RajHans medium) M1078**. Mumbai, jan. 2011. (Technical data). Disponível em:< <http://himedialabs.com/TD/M1078.pdf>> Acesso em 10 out. 2018.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos químicos e físicos para análise de alimentos**. 4. ed. São Paulo, 2008. 1018p.

KOLAČEK, S.; HOJSAK, I.; CANANI, R.B.; GUARINO, A.; INDRIO, F.; OREL, R.; POT, B.; SHAMIR, R.; SZAJEWSKA, H.; VANDENPLAS, Y.; VAN GOUDOEVEER, J.; WEIZMAN, Z. Commercial probiotic products: a call for improved quality control. a position paper by the espghan working group for probiotics and prebiotics. **Journal of pediatric gastroenterology and nutrition**, New York, v.65, p. 117 – 124, 2017.

LAEMMLI, U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. **Nature: International Journal of Science**, London, v. 227, p. 680-685, 1970.

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

LEITE, M.T.; BARROZO, M.A.S.; RIBEIRO, E.J. Canonical analysis technique as an approach to determine optimal conditions for lactic acid production by *Lactobacillus helveticus* ATCC 15009. **International Journal of Chemical Engineering**, Nova York, v.2012, p.9, 2012. DOI: <http://dx.doi.org/10.1155/2012/303874>.

LI, C.; KWOK, L.; MI, Z.; BALA, J.; XUE, J.; YANG, J.; MA, Y.; ZHANG, H.; CHEN, Y. Characterization of the angiotensin-converting enzyme inhibitory activity of fermented milks produced with *Lactobacillus casei*. **Journal of Dairy Science**, v.100, n.12, p.9495-9507, 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2017-12970>.

LIU, L.; QU, X.; XIA, Q.; WANG, H.; CHEN, P.; LI, X.; WANG, L.; YANG, W. Effect of *Lactobacillus rhamnosus* on the antioxidant activity of Cheddar cheese during ripening and under simulated gastrointestinal digestion. **LWT-Food Science and Technology**, Amsterdam, v.95, p.99-106, 2018. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2018.04.053>.

LOBATO-CALLEROS, C., RAMÍREZ-SANTIAGO, C., VERNON-CARTER, E.J., ALVAREZ-RAMÍREZ, J. Impact of native and chemically modified starches addition as fat replacers in the viscoelasticity of reduced-fat stirred yogurt. **Journal of Food Engineering**, Amsterdam, v.131, p.110-115, 2014. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2014.01.019>.

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 the biochemical changes and volatile compound formations during the production of novel whey-based kefir beverages and traditional milk kefir. **Food Chemistry**, London, v. 126, p. 249–253, 2011. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.11.012>.

MAIA, P.L.; FIORIO, B.C.; SILVA, F.R. A influência da microbiota intestinal na prevenção do câncer de colon. **Arquivos Catarinenses de Medicina**, Florianópolis, v.47, p. 182-197, 2018.

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, 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.1017/S0007114515003864>.

MONTANUCI, F.D.; PIMENTEL, T.C.; GARCIA, S., PRUDENCIO, S.H: Effect of starter culture and inulin addition on microbial viability, texture, and chemical characteristics of whole or skim milk Kefir. **LWT-Food Science and Technology**, Amsterdam, v. 32, p. 850-861, 2012. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612012005000119>

MONTI, L.; NEGRI, S.; MEUCCI, A.; STROPPA, A.; GALLI, A.; CONTARINI, A. Lactose, galactose and glucose determination in naturally “lactose free” hard cheese: HPAEC-PAD method validation. **Food Chemistry**, London, v.220, p. 18-24, 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.09.185>.

MORA, L.; ARISTOY, M.C.; TOLDRÁ, F. Bioactive peptides. *In*: **ENCYCLOPEDIA of Food Chemistry**. Amsterdam: Elsevier, 2019. p. 381-389. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.22397-4>.

MOURÃO, L.H.E.; PONTES, D.F.; RODRIGUES, M.C.P.; BRASIL, I.M.; SOUZA NETO, CAVALCANTE, M.T.B. Obtenção de barras de cereais de caju ameixa com alto teor de fibras. **Revista Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 20, n.3, p. 427-433, 2009. Disponível em < <http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:http://serv-bib.fcfar.unesp.br/seer/index.php/alimentos/article/viewFile/1144/839>> Acesso em: 17 dez. 2018.

NI, H.; HAYES, H.E.; STEAD, D.; RAIKOS, V. Incorporating salal berry (*Gaultheria shallon*) and blackcurrant (*Ribes nigrum*) pomace in yogurt for the development of a beverage with antidiabetic properties. **Heliyon**, London, v.4, n.10, 2018. DOI:

<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2018.e00875>

OLIVEIRA, C.; GUIMARÃES, P.M.R.; DOMINGUES, L. Recombinant microbial systems for improved β -galactosidase production and biotechnological applications. **Biotechnology Advances**, Amsterdam, v.29, p.600-609, 2011. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biotechadv.2011.03.008>.

OLIVEIRA, M.N.; SODINI, I.; REMEUF, F.; CORRIEU, G. Effect of milk supplementation and culture composition on acidification, textural properties and microbiological stability of fermented milks containing probiotic bacteria. **International Dairy Journal**, Oxford, v.11, p.935-942, 2001. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S0958-6946\(01\)00142-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0958-6946(01)00142-X).

OLMEDA, C.L.; SANTÓN, J. DE LA LUZ, MARTÍNEZ, C.U. Uso potencial de los probióticos. **FMC - Formación Médica Continuada en Atención Primaria**, Barcelona, v.13, p. 622-627, 2006. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1134-2072\(06\)71417-7](https://doi.org/10.1016/S1134-2072(06)71417-7).

PEREIRA, A.M.S.; SILVA, G.S.; ALMEIDA, R.D.; SALLES, H.O.; DOS SANTOS, K.M.O., FLORENTINO, E.R.; BURITI, F.C.A. Instrumental texture and sensory evaluation of fermented dairy beverage processed with reconstituted goat whey powder and a co-culture of *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus casei*. **Mljekarstvo**, Zagreb, v.68, n.1, 2018. DOI:10.15567/mljekarstvo.2018.0103.

PEREIRA, R.J. **Composição centesimal, aspectos fitoquímicos, atividades antioxidantes, hipoglicemiantes e anti-lipidêmica de frutos do gênero *Syzygium***. 2011.153f. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2011.

PEIXOTO, M.P.G.; FREITAS, L.A.P. Spray-dried extracts from *Syzygium cumini* seeds: physicochemical and biological evaluation. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v 23, p 145-152, Jan./Feb. 2013. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-695X2012005000124>.

RICHTER, R.L.; VEDAMUTHU, E.R. Milk and milk products. *In*: COMPENDIUM of the methods for microbiological examination of foods. 4. ed. Washington, DC: American Public Health Association, 2001. p. 483-495.

ROCHA, A.A. **Mercado de queijos cresce no país e atrai estrangeiros**. São Paulo: ABIQ, 2014. Disponível em: < <http://www.abiq.com.br/imprensa/namidia/Valor%20Economico%20-%20Fabio%20Scarcelli%20-%20Mercado%20de%20queijos%20cresce%20no%20pa%C3%ADs%20e%20atrai%20estrangeiros.pdf> > Acesso em: 13 out. 2018.

RODRIGUES, S.; SILVA, L.C.A.; MULET, A.; CÁRCEL, J.A.; FERNANDES, F.A.N. Development of dried probiotic apple cubes incorporated with *Lactobacillus casei* NRRL B-442. **Journal of Functional Foods**, London, v.41, p.48-54, 2018. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jff.2017.12.042>.

ROLIM, F.R.L.; DOS SANTOS, K.M.O.; DE BARCELOS, S.C.; EGITO, A.S.; RIBEIRO, T.S.; DA CONCEIÇÃO, M.L.; MAGNANI, M.; DE OLIVEIRA, M.E.G., QUEIROGA, R.C.R.E. Survival of *Lactobacillus rhamnosus* EM1107 in simulated gastrointestinal conditions and its inhibitory effect against pathogenic bacteria in semi-hard goat cheese.

LWT-Food Science and Technology, Amsterdam, v.63, n.2, p. 807-813, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.05.004>

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 pelo radical livre DPPH. Embrapa Agroindústria Tropical: Fortaleza, 2007. 4p. (Comunicado técnico, n. 127)

SAAD, S.M.I. Probióticos e prebióticos: o estado da arte. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v.42, n.1, 2006. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-93322006000100002>

SAAD, S.M.I.; KOMATSU, T.R.; GRANATO, D.; BRANCO, G.F.; BURITI, FCA. Probióticos e prebióticos em alimentos: aspectos tecnológicos, legislação e segurança no uso. IN: SAAD, S.M.I.; CRUZ, A.G.; FARIA, J.A.F. **Probióticos e prebióticos em alimentos**: fundamentos e aplicações tecnológicas. São Paulo: Varela, 2011. cap 1. p. 23-49.

SAH, B. N. P., VASILJEVIC, T., MCKECHNIE, S., DONKOR, O. N. Effect of pineapple waste powder on probiotic growth, antioxidant and antimutagenic activities of yogurt. **Journal of Food Science and Technology**, v. 53, n. 3, p. 1698-1708, 2016.

SÁNCHEZ, N. Y.; SEPÚLVEDA, J. U.; ROJANO, B. A. Desenvolvimento de uma bebida de leite com extratos curuba (*Passiflora mollissima Bailey*) como antioxidante naturais. **Biotechnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial**, Popayan, v.11, n.1, p.164-173, 2013.

SANTOS, A.E. **Extração de compostos bioativos do jambolão (*Syzygium cumini* (L.) Skeels) a baixas pressões e livre de solvente orgânico**. 2017.108f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis. Disponível em: <<https://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/182594>> Acesso em: 11 de out. 2018.

SANTOS, C.T., COSTA, A.R., FONTAN, G.C.R., FONTAN, R.C.I., BONOMO, R.C.F. Influência da concentração de soro na aceitação sensorial de bebida láctea fermentada com polpa de manga. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v.19, n.1, p.55-60, 2008. Disponível em: <<http://serv-bib.fcfar.unesp.br/seer/index.php/alimentos/article/viewFile/199/204>>. Acesso em: 13 fev. 2019.

SCHNETTLER, B.; SHENE, C.; RUBILAR, M.; MIRANDA, H.; SEPÚLVEDA, J.; DENEGRI, M.; LOBOS, G. Aceptación hacia yogurt con diferentes ingredientes funcionales en consumidores de supermercados del sur de Chile. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, Caracas, v. 60, n. 4, p. 380-390, 2010. Disponível em: <http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222010000400010> Acesso em 10 out. 2018.

SINGH, J.P.; KAUR, A.; SINGH, N.; NIM, L.; SHEVKANI, K.; KAUR, H.; ARORA, D.S. In vitro antioxidant and antimicrobial properties of jambolan (*Syzygium cumini*) fruit polyphenols. **LWT - Food Science and Technology**, Amsterdam, v. 65, p 1025-1030, 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2015.09.038>.

SOARES, J.C. **Aproveitamento alimentar de jambolão**. 2015. 211p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos) Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Goiás, Goiânia. Disponível em:<
<https://repositorio.bc.ufg.br/tede/bitstream/tede/4511/5/Disserta%C3%A7%C3%A3o%20-%20Jackeline%20Cintra%20Soares%20-%202015.pdf>> Acesso em: 10 out 2018.

SOLIERI, L.; DE VERO, L.; TAGLIAZUCCHI, D. Peptidomic study of casein proteolysis in bovine milk by *Lactobacillus casei* PRA205 and *Lactobacillus rhamnosus* PRA331. **International Dairy Journal**, Oxford, v.85, p.237-246, 2018. doi:
<http://dx.doi.org/10.1016/j.idairyj.2018.06.010>.

SOUSA, M. C. **Obtenção de sobremesas lácteas de jabuticaba (*Myrciaria cauliflora* Berg) com potencial funcional utilizando cepas nativas de *Lactobacillus* sp.** 2016. 110p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2016. Disponível em:<
<http://tede.bc.uepb.edu.br/jspui/bitstream/tede/2628/2/PDF%20-%20Marina%20C%C3%ADnthia%20de%20Sousa.pdf>> Acesso em: 11 out. 2018.

SOUSA, M. M. **Compostos bioativos e atividade antioxidante do fruto e do licor de jamelão (*Syzygium cumini*)**. 2009. 99f. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição) Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2012. Disponível em:<
[http://leg.ufpi.br/subsiteFiles/ppgan/arquivos/files/Dissertacao%20Final%20MSc%20Mariana%20de%20Morais%20Sousa\(2\).pdf](http://leg.ufpi.br/subsiteFiles/ppgan/arquivos/files/Dissertacao%20Final%20MSc%20Mariana%20de%20Morais%20Sousa(2).pdf)> Acesso em 11 out. 2018.

TORSKANGER POLL, K.; ANDERSEN, O.M. Colour stability of anthocyanins in aqueous solutions at various pH values. **Food Chemistry**, London, v. 89, p. 427-440, 2005. DOI:
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.03.002>

VASCONCELOS, C.M.L.; MARTINS, J.F.L.; RAFAEL, V.C.; FERREIRA, C.L.L.F. Desenvolvimento e avaliação sensorial de sobremesa láctea potencialmente probiótica. **Revista Institucional Laticínios Candido Tostes**. Juiz de Fora, v.68, n.391, p.11-17, 2013. DOI: <https://doi.org/10.5935/2238-6416.20130015>

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**, Oxford, v.20, p.1-12, 2009. DOI:
<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodqual.2008.06.003>.

VINDEROLA, C.G.; COSTA, G.A.; REGENHARDT, S.; REINHEIMER, J.A. Influence of compounds associated with fermented dairy products on the growth of lactic acid starter and probiotic bacteria. **International Journal Dairy**, Oxford, v. 12, p.579-589, 2002. DOI:
[http://dx.doi.org/10.1016/S0958-6946\(02\)00046-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0958-6946(02)00046-8).

WORLD CANCER RESEARCH FUND. **Food, nutrition, physical activity, and the prevention of cancer: a global perspective**. Washington: American Institute for Cancer Research, 2007. 517p.

YE, Q.; GEORGES, N.; SELOMULYA, C. Microencapsulation of active ingredients in functional foods: From research stage to commercial food products. **Trends in Food Science**

& Technology, Cambridge, v.78, p. 167-179, 2018. DOI:
<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.05.025>

ZACARCHENCO, P.B.; MASSAGUER-ROIG, S. Microbiological, sensory and post-acidification evaluation during shelf-life of fermented milks containing *Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium longum* and *Lactobacillus acidophilus*. **LWT - Food Science and Technology**, Amsterdam, v. 24, p. 674-67,2004. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612004000400033>

ZAPATA-CASTILLEJA, C. A.; MONTES-TAPIA, F.F.; TREVIÑO-GARZA, C.; MARTÍNEZ-COBOS, M.C.; GARCÍA-CANTÚ, J.; ARENAS-FABBRI, V.; O-ESCAMILLA, N.; O-CAVAZOS, M. Comparación del incremento del perímetro abdominal con la prueba de hidrógeno espirado como predictor clínico de intolerancia a la lactosa. **Archivos Argentinos de Pedriatía**, Buenos Aires, v.115, n.2, 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.5546/aap.2017.148>.

APÊNDICES

APÊNDICE A
DECLARAÇÃO DE CONCORDÂNCIA COM PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Avaliação do potencial funcional de bebidas lácteas fermentadas adicionadas de β -galactosidase, culturas probióticas e jambolão (*Syzygium jambolanum*)

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

Campina Grande, 23 de junho de 2017

Flávia Carolina Alonso Buriti

Pesquisadora responsável

Orientadora

Sabrina Laís Alves Garcia

Orientanda

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

Pesquisa: Avaliação do potencial funcional de bebidas lácteas fermentadas adicionadas de β -galactosidase, culturas probióticas e jambolão (*Syzygium jambolanum*)

Eu, Flavia Carolina Alonso Buriti, Professora do Curso de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, nível de Mestrado, da Universidade Estadual da Paraíba, portadora do RG: 28.195.169-X SSP/SP e CPF: 218.157.358-13 comprometo-me em cumprir integralmente as diretrizes da Resolução N°. 466/12 do Conselho Nacional de Saúde do Ministério da Saúde/Comissão Nacional de Ética em Pesquisa, que dispõe sobre Ética em Pesquisa que envolve Seres Humanos.

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

Por ser verdade, assino o presente compromisso.

Campina Grande, 23 de junho de 2017

Flavia Carolina Alonso Buriti
Pesquisadora Responsável

APÊNDICE C
TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO-TCLE

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

Pelo presente Termo de Consentimento Livre e Esclarecido eu,

em pleno exercício dos meus direitos me disponho a participar da Pesquisa “Avaliação do potencial funcional de bebidas lácteas fermentadas adicionadas de β -galactosidase, culturas probióticas e jambolão (*Syzygium jambolanum*)”.

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

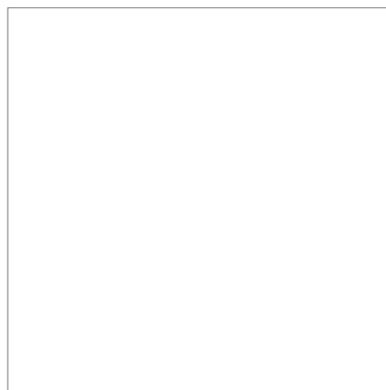
- a) o trabalho terá como objetivo geral produzir uma bebida fermentada com baixo teor de lactose e propriedade funcional pela adição de culturas probióticas e polpa de jambolão;
- b) ao voluntário só caberá a autorização para a participação da análise sensorial e preenchimento da ficha do teste de diferença e não haverá nenhum risco ou desconforto ao voluntário;
- c) ao pesquisador caberá o desenvolvimento da pesquisa de forma confidencial; entretanto, quando necessário for, poderá revelar os resultados ao médico, indivíduo e/ou familiares, cumprindo as exigências da Resolução Nº. 466/12 do Conselho Nacional de Saúde/Ministério da Saúde;
- d) o voluntário poderá se recusar a participar, ou retirar seu consentimento a qualquer momento da realização do trabalho ora proposto, não havendo qualquer penalização ou prejuízo para o mesmo;
- e) será garantido o sigilo dos resultados obtidos neste trabalho, assegurando assim a privacidade dos participantes em manter tais resultados em caráter confidencial;
- f) não haverá qualquer despesa ou ônus financeiro aos participantes voluntários deste projeto científico e não haverá qualquer procedimento que possa incorrer em danos físicos ou financeiros ao voluntário e, portanto, não haveria necessidade de indenização por parte da equipe científica e/ou da Instituição responsável;

-
- g) qualquer dúvida ou solicitação de esclarecimentos, o participante poderá contatar a equipe científica no número (083) 33153360 e (083) 987970427 com Flávia Carolina Alonso Buriti.
- h) ao final da pesquisa, se for do meu interesse, terei livre acesso ao conteúdo da mesma, podendo discutir os dados, com o pesquisador, vale salientar que este documento será impresso em duas vias e uma delas ficará em minha posse;
- i) desta forma, uma vez tendo lido e entendido tais esclarecimentos e, por estar de pleno acordo com o teor do mesmo, dato e assino este termo de consentimento livre e esclarecido.

Assinatura do pesquisador responsável

Assinatura do Participante

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



APÊNDICE D – MODELO DE FICHA PARA ANÁLISE SENSORIALFicha para teste de aceitabilidade

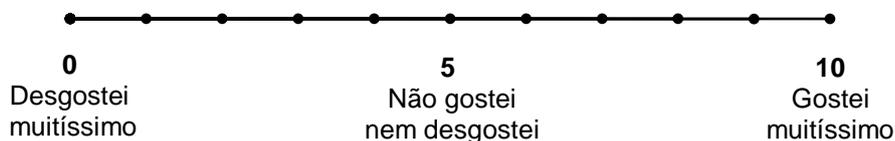
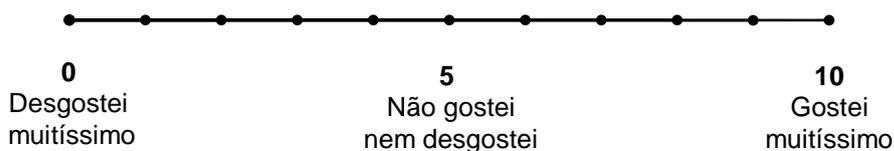
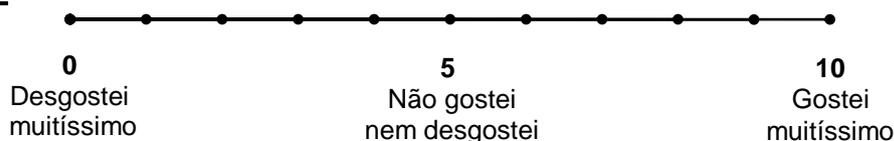
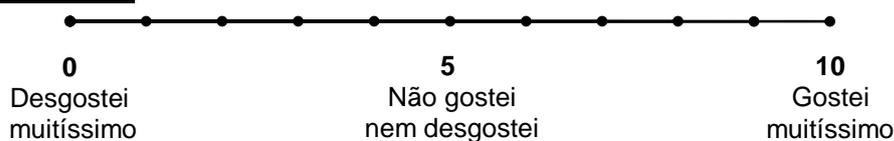
Nome: _____ Data: ___/___/___

Sexo: Masc. () Fem. ()

Idade: _____

Produto: Bebida láctea de jambolão - **Código:** _____

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

SABOR:**DULCOR:****CONSISTÊNCIA:****APARÊNCIA:****COR:****ACEITAÇÃO GLOBAL:**Cite a característica que você **mais** gostou na amostra. Comente.

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

ANEXOS

ANEXO 1 – RESULTADOS ESTATÍSTICOS DE PH E ACIDEZ DURANTE A FERMENTAÇÃO

Tabela 7 Valores médios de pH e acidez titulável das bebidas lácteas durante a fermentação.

Tempo	T1		T2		T3	
	Acidez	pH	Acidez	pH	Acidez	pH
T0	0,219±0,015 ^{Aa}	6,28±0,107 ^{Agh}	0,246±0,014 ^{Ba}	6,31±0,040 ^{Ai}	0,257±0,019 ^{Ba}	6,31±0,025 ^{Ah}
T1	0,342±0,127 ^{Abc}	6,24±0,033 ^{Ah}	0,257±0,024 ^{Ab}	6,22±0,065 ^{Ah}	0,285±0,031 ^{Ab}	6,34±0,041 ^{Bg}
T2	0,347±0,106 ^{Ac}	6,19±0,019 ^{Bg}	0,267±0,035 ^{Ab}	6,14±0,087 ^{ABg}	0,307±0,029 ^{Ac}	6,07±0,028 ^{Af}
T3	0,356±0,109 ^{AcD}	6,15±0,024 ^{Bf}	0,280±0,049 ^{Ac}	6,09±0,109 ^{ABf}	0,337±0,038 ^{Ad}	6,04±0,060 ^{Af}
T4	0,378±0,099 ^{Ab}	6,08±0,078 ^{Be}	0,313±0,072 ^{Ad}	5,89±0,230 ^{ABe}	0,392±0,011 ^{Ae}	5,95±0,010 ^{Ae}
T5	0,397±0,089 ^{Ab}	5,83±0,226 ^{Ad}	0,347±0,071 ^{Ae}	5,71±0,317 ^{Ad}	0,423±0,010 ^{Af}	5,77±0,019 ^{Ad}
T6	0,450±0,116A ^{bd}	5,27±0,556 ^{Ac}	0,408±0,115 ^{Ae}	5,31±0,571 ^{Ac}	0,508±0,020 ^{Ag}	5,03±0,042 ^{Ac}

Fonte: Autoria própria.

T1= Bebida láctea controle, sem lactobacilos adjuntos; T2= Bebida láctea com *Lactobacillus rhamnosus* LR32; T3= Bebida láctea com *Lactobacillus casei* BGP93; n.a = não adicionado. As letras maiúsculas sobrescritas representam as diferenças significativas ($p > 0,05$) entre as bebidas lácteas. As letras minúsculas sobrescritas representam as diferenças significativas nos dias de armazenamento.

ANEXO 2 – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA

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



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Avaliação do potencial funcional de bebidas lácteas fermentadas adicionadas de β -galactosidase, culturas probióticas e jambolão (*Syzygium jambolanum*)

Pesquisador: FLÁVIA CAROLINA ALONSO BURITI

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 71428417.5.0000.5187

Instituição Proponente: Universidade Estadual da Paraíba - UEPB

Patrocinador Principal: Universidade Estadual da Paraíba - UEPB

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.229.941

Apresentação do Projeto:

Nos últimos anos, ocorreu um crescente aumento do desenvolvimento de novos produtos, além do aproveitamento de resíduos da indústria alimentícia pelos vários segmentos do setor agropecuário, em virtude da ampla disponibilidade de matéria-prima. O soro lácteo é considerado rejeito das queijarias, em virtude da sua elevada demanda bioquímica de oxigênio que gera altos custos para a indústria, uma vez que requer um tratamento prévio antes de ser descartado no meio ambiente.

Objetivo da Pesquisa:

Produzir uma bebida láctea fermentada com baixo teor de lactose e propriedade funcional pela adição de culturas probióticas e polpa de jambolão.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

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

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

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



Continuação do Parecer: 2.229.941

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

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

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Foi acostado em sua segunda apreciação o Termo de Autorização Institucional emitido pela UFCG (Unidade de Engenharia de Alimentos) e o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido de acordo com a Resolução 466/12/CNS/MS.

Recomendações:

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

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Atendida as recomendações anteriores, não há novas pendências.

Considerações Finais a critério do CEP:

PARECER DO RELATOR: (5)

Número do CAAE: 71428417.5.0000.5187

Data da 1ª relatoria: 02/08/2017.

Data da 2ª relatoria: 21/08/2018

Situação do Projeto: APROVADO.

TÍTULO: Avaliação do potencial funcional de bebidas lácteas fermentadas adicionadas de -galactosidase, culturas probióticas e jambolão (*Syzygium jambolanum*).

Apresentação do Projeto:

Nos últimos anos, ocorreu um crescente aumento do desenvolvimento de novos produtos, além do aproveitamento de resíduos da indústria alimentícia pelos vários segmentos do setor agropecuário, em virtude da ampla disponibilidade de matéria-prima. O soro lácteo é considerado rejeito das queijarias, em virtude da sua elevada demanda bioquímica de oxigênio que gera altos custos para a indústria, uma vez que requer um tratamento prévio antes de ser descartado no meio ambiente.

Objetivo da Pesquisa:

Produzir uma bebida láctea fermentada com baixo teor de lactose e propriedade funcional pela

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

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



Continuação do Parecer: 2.229.941

adição de culturas probióticas e polpa de jambolão.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

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

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

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

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória: Foi acostado em sua segunda apreciação o Termo de Autorização Institucional emitido pela UFCG (Unidade de Engenharia de Alimentos) e o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido de acordo com a Resolução 466/12/CNS/MS.

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

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

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
----------------	---------	----------	-------	----------

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

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



Continuação do Parecer: 2.229.941

Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_964228.pdf	15/08/2017 09:34:14		Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	carta_anuencia3Sabrina.pdf	15/08/2017 09:33:24	FLÁVIA CAROLINA ALONSO BURITI	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLESabrinaparaoCEPCorrigido.pdf	15/08/2017 09:33:13	FLÁVIA CAROLINA ALONSO BURITI	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	ProjetoSabrinaparaoCEP.doc	15/08/2017 09:33:01	FLÁVIA CAROLINA ALONSO BURITI	Aceito
Folha de Rosto	folhaDeRostoSabrinaAssinada.pdf	18/07/2017 13:58:34	FLÁVIA CAROLINA ALONSO BURITI	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

CAMPINA GRANDE, 21 de Agosto de 2017

Assinado por:
Marconi do Ó Catão
(Coordenador)

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