



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO

DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS DOMÉSTICAS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE  
ALIMENTOS

**Desenvolvimento de bebida láctea fermentada sabor maracujá (*Passiflora edulis*)  
com potencial simbiótico**

MILENA MAIA DANTAS DOS SANTOS

Recife

2014

MILENA MAIA DANTAS DOS SANTOS

**Desenvolvimento de bebida láctea fermentada sabor maracujá (*Passiflora edulis*)  
com potencial simbiótico**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como requisito para obtenção do Grau de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

**ORIENTADORA:** Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Celiane Gomes Maia da Silva

**CO-ORIENTADORA:** Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Silvana Magalhães Salgado

Recife

2014

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO  
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS DOMÉSTICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE  
ALIMENTOS

**Desenvolvimento de bebida láctea fermentada sabor maracujá (*Passiflora edulis*)  
com potencial simbiótico**

**Por Milena Maia Dantas dos Santos**

Esta dissertação foi julgada para obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos e aprovada em \_\_/\_\_/\_\_ pelo Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimento em sua forma final.

Banca Examinadora:

---

Profa. Dra. Celiane Gomes Maia da Silva (Orientadora e Presidente da banca)  
Departamento de Ciências Domésticas/ UFRPE

---

Profa. Dra. Samara Alvachian Cardoso Andrade (Membro examinador)  
Departamento de Engenharia Química/ UFPE

---

Profa. Dra. Silvana Magalhães Salgado (Membro examinador)  
Departamento de Nutrição/ UFPE

## **DEDICATÓRIA**

Dedico este trabalho aos meus pais, Mirtilde e Duda e a minha irmã Bertilde, que durante todo o processo me apoiaram nos momentos difíceis, mas acima de tudo por sempre acreditarem em mim.

## AGRADECIMENTOS

Registro meus agradecimentos a todos os que participam direta e indiretamente, desta pesquisa, auxiliando-me e dando-me forças nos momentos em que precisei.

Minha gratidão, em primeiro lugar, a Deus, por estar comigo em todos os momentos e iluminando-me.

Agradeço, especialmente, à minha família, pelo apoio incondicional e carinho, minha mãe, meu pai e minha irmã; em especial a minha vó Zefinha, que tive a infelicidade de perder durante esse período.

À Victinho, pelo amor, paciência e compreensão.

Às minhas amigas de infância, Gabi e Nuna, pelo carinho.

À Capes, pela concessão da bolsa de estudos.

A Universidade Federal Rural de Pernambuco, pela grande oportunidade.

Aos funcionários do Laboratório de Experimentação e Análise de Alimentos UFPE – LEAAL, que me auxiliaram nas análises.

À professora doutora Celiane, minha orientadora, pelas orientações que me foram concedidos durante essa jornada.

À professora doutora Silvana, minha co-orientadora, pela disponibilidade e contribuição nas análises.

Aos colegas e professores do mestrado, por tudo o que com eles aprendi e por partilharem a construção do meu estudo. Em especial, às amigas Dessa, Beth e Elô pelos momentos de apoio, desabafo e distrações.

A todos, muito obrigada.

## RESUMO

O interesse por produtos alimentícios saudáveis, nutritivos e de considerável aproveitamento tem crescido mundialmente. Na área de laticínios, a ênfase tem sido dada ao desenvolvimento de produtos funcionais, com o intuito de melhorar as funções fisiológicas de cada indivíduo, aumentando a longevidade, redução das enfermidades e melhoria da qualidade de vida. Dentre os produtos lácteos, as bebidas lácteas destacam-se com aproximadamente um terço do mercado de leites fermentados, por ser um produto saudável, de bom valor nutritivo e sabor agradável. Desta forma, objetivou-se desenvolver diferentes formulações de bebida láctea fermentada sabor maracujá elaboradas com culturas probióticas e frutooligossacarídeos (FOS), visando à seleção de uma formulação final e, por conseguinte, a caracterização físico-química, microbiológica e a estabilidade do produto, durante o armazenamento. A partir de planejamento experimental foram desenvolvidas 5 formulações de bebidas lácteas fermentadas sabor maracujá com a finalidade de avaliar a influência do percentual do soro de leite e FOS sobre os atributos sensoriais (aroma, cor, textura, sabor e avaliação global) e sobre a intenção de compra. As formulações foram submetidas ao teste de aceitação e intenção de compra, onde o ensaio 4 (40% de soro lácteo e 6% de FOS) foi selecionado por obter melhores médias para os atributos de sabor e avaliação global e melhor índice de aceitabilidade. Este ensaio foi submetido as análises físico-químicas e avaliação da estabilidade dos microrganismos probióticos e do *Streptococcus thermophilus* nos tempos 1, 7, 14, 21 e 28 dias de estocagem refrigerada. A partir das análises físico-químicas, o produto foi classificado como desnatado, segundo a valores do Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Bebidas Lácteas e o teor de proteína estava em adequação com a legislação vigente, para bebidas lácteas fermentadas com adição. O ensaio 4 apresentou boa estabilidade quanto ao pH, acidez e atendeu a contagem mínima de  $10^8$ UFC para *Lactobacillus acidophilus*, se considerado 100ml do produto. Deste modo, a bebida láctea fermentada sabor maracujá elaborada nas condições deste estudo apresentou-se como um produto com potencial funcional.

**Palavras-chave:** *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium bifidum*, soro do leite; alimentos funcionais.

## ABSTRACT

Interest in healthy food products, nutritious and considerable use has grown in the world. In the area of dairy products, the emphasis has been given to the development of functional products, to improve the physiological functions of each individual, increase longevity, reduce diseases and improve the quality of life. Among dairy products, milk beverages stand out with about a third of the fermented milk market, being a healthy product, with nutritional value and palatability. Thus, the objective of this study was to develop formulations of fermented dairy drink flavored with passion fruit and prepared with probiotic cultures and fructooligosaccharides (FOS), for selection and thus verify its physical-chemical, microbiological and long shelf life. From an experimental design were developed five formulations of fermented dairy beverages flavored with passion fruit to know the influence of the percentage of whey and FOS on the sensory attributes (color, aroma, texture, flavor and overall acceptability) and on the purchase intent. The formulations prepared were evaluated with consumer testing and purchase intent, the test 4 (40% whey and 6% FOS) was selected with best averages for attributes of flavor and overall acceptability and the best index acceptability. This test was evaluated for physico-chemical analysis (pH e titratable acidity) and for stability of probiotic microorganisms and *Streptococcus thermophilus* in periods 1, 7, 14, 21 and 28 days of storage. According with physico-chemical analysis, the product was classified as skimmed and the protein content was in adequacy with Brazilian legislation to fermented milk beverages with added. The test 4 showed good stability for pH, acidity and the minimum count for  $10^8$  UFC *Lactobacillus acidophilus*, considering 100 ml of product. Therefore, the fermented dairy drink flavored with passion fruit prepared under the conditions of this study was presented as a product with functional potential.

**Key Words:** *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium bifidum*, whey; functional foods.

## SUMÁRIO

1. Introdução	09
2. Revisão de Literatura	11
2.1. Alimentos funcionais	12
2.1.1. Probióticos, Prebióticos e Simbióticos	13
2.2. Bebida láctea	19
2.2.1. Soro lácteo	20
2.3. Maracujá	21
2.4. Análise Sensorial	24
3. Referências	26
4. Objetivos	38
4.1. Objetivos Gerais	39
4.2. Objetivos Específicos	39
5. Resultados	40
5.1. Artigo: <b>CARACTERÍSTICAS SENSORIAIS, FÍSICO-QUÍMICAS E ESTABILIDADE DA BEBIDA LÁCTEA FERMENTADA SABOR MARACUJÁ COM POTENCIAL SIMBIÓTICO</b>	41
6. Considerações finais	65
Anexos	66



## 1. Introdução

O interesse por produtos alimentícios saudáveis, nutritivos e de considerável aproveitamento tem crescido mundialmente (THAMER; PENNA, 2006). Do ponto de vista do consumidor, o aumento de consumo de alimentos funcionais depende de fatores, como a preocupação com a saúde e o conhecimento da influência do alimento sob a saúde. Assim, produtos lácteos funcionais têm sido largamente explorados pela indústria e pelos pesquisadores por serem benéficos à saúde, tendo a sua demanda uma continuidade de crescimento (GRANATO et al., 2010).

Logo, alimento funcional é definido como aquele alimento que afeta benéficamente uma ou mais funções alvo no corpo humano, além de possuir os nutrientes adequados, de maneira que seja tanto relevante para o bem-estar e a saúde quanto para a redução do risco de uma doença (ROBERFROID, 2002).

A indústria leiteira gera efluentes líquidos significativos, como o soro de leite, que constitui uma mistura complexa de muitos componentes e que em sua maioria é descartado pelas indústrias de queijo, mesmo existindo possibilidade de transformação do soro de leite em outros produtos úteis. (PANESAR et al., 2007; KOSSEVA et al., 2009). No Brasil a produção de bebidas lácteas são uma das principais opções de aproveitamento do soro do leite (CAPITANI et al., 2005). Segundo a Instrução Normativa 16/2005, bebida láctea é o produto resultante da mistura de leite e soro acrescido ou não de produtos, substâncias alimentícias, gordura vegetal, leite fermentado, fermentos lácteos selecionados e outros produtos lácteos. A base láctea representa pelo menos 51% do total de ingredientes do produto (BRASIL, 2005).

No Brasil a produção de funcionais utilizando probióticos e prebióticos é crescente. Segundo legislação brasileira vigente probióticos são microrganismos vivos capazes de melhorar o equilíbrio microbiano intestinal produzindo efeitos benéficos à saúde do indivíduo (BRASIL, 2002). Enquanto os prebióticos são compostos não digeríveis, que afetam benéficamente o hospedeiro, estimulando a proliferação de bactérias desejáveis no cólon como, por exemplo, bactérias ácido lácticas (BAL) e probióticas (SAAD, 2006). A interação entre probiótico e prebiótico resulta num produto simbiótico, que agrega os benefícios de ambos.

As bebidas lácteas desenvolvidas são adicionadas de diversas frutas tropicais visando agregar valor ao produto e melhorar as características sensoriais das bebidas. Dentre as frutas tropicais cultivadas no Brasil, o maracujá merece destaque devido as

suas características alimentícias, medicinais e ornamentais (MELETTI, 2009). Várias pesquisas têm sido realizadas a fim de expor o potencial terapêutico do maracujá (fruto, casca e sementes) sendo a ação antioxidante do fruto a atividade biológica mais estudada atualmente (ZERAİK et al., 2010).

Desta forma, destaca-se a importância do desenvolvimento de novos produtos funcionais, como bebida láctea fermentada sabor maracujá com potencial simbiótico, que associa a ação dos microrganismos probióticos e do prebiótico.

# Revisão de Literatura

## **2. Revisão de Literatura**

### **2.1 Alimentos funcionais**

Nos últimos anos o mercado de saúde e bem estar vêm crescendo, os produtos que oferecem benefícios de saúde específicos, como fortificado/funcional, ou aqueles reconhecidos por suas propriedades naturais de saúde elevaram o valor das vendas, com taxas acima de 7% em 2011. Esse aumento é atribuído em grande parte ao desenvolvimento de mercados emergentes como o Brasil e China, e deve continuar, já que as previsões são que o mercado tenha crescimento constante até 2017 (EUROMONITOR, 2012).

No Japão, o valor nutricional dos alimentos atrai o interesse de estudiosos e da população desde o período da II Guerra Mundial, por ter sido um momento de grande escassez de alimentos; na década de 60, com o grande desenvolvimento econômico, a preferência passou a ser pela satisfação sensorial; em meados dos anos 80 a relação entre alimentos e prevenção de doenças ganhou ênfase, surgindo o termo "alimento funcional" e seu conceito foi proposto, a partir de ampla pesquisa patrocinada pelo Ministério da Educação, Ciência e Cultura, do país (ARAI, 1996). Desde então várias pesquisas são feitas no Japão e em todo o mundo, mas ainda não há um senso comum na denominação da alegação e nos critérios para sua aprovação (STRINGHETA et al., 2007).

A legislação brasileira que trata dos alimentos funcionais é de responsabilidade e competência da Agência Nacional de Vigilância Sanitária - (ANVISA). Desde o início da década de 90 já existiam pedidos de análise para registro de diversos produtos que não se encaixavam no conceito tradicional de alimento, mas só depois de muitas pesquisas foi proposta e aprovada regulamentação técnica para análise de novos alimentos e ingredientes, incluindo os “alimentos com alegações de propriedades funcionais e ou de saúde” (ANVISA, 2005).

Logo em seguida usando como critério o risco e a grande demanda, a ANVISA criou a partir da Portaria nº15/99 a Comissão Técnico-Científica de Assessoramento em Alimentos Funcionais e Novos Alimentos (CTCAF) com a função de garantir as análises de pedidos de registros de novos alimentos com respaldo científico (BRASIL, 1999a).

Os regulamentos aprovados pela ANVISA estabelecem diretrizes para registro de alimentos e/ou novos ingredientes (BRASIL, 1999b); avaliação e risco e segurança dos alimentos (BRASIL, 1999c); análise e comprovação de alegação de propriedade funcional e/ou de saúde alegadas em rotulagem de alimentos (BRASIL, 1999d); registro de alimento com alegação de propriedades funcionais e/ou de saúde em sua rotulagem (BRASIL, 1999e); registro e dispensa da obrigatoriedade do registro (BRASIL, 2000) e registro e comercialização de substâncias bioativas e probióticos isolados com alegação de propriedades funcional e/ou de saúde (BRASIL, 2002).

Ainda não há uma definição de alimento funcional, entretanto a legislação vigente definiu alegação de propriedade funcional como: “*É aquela relativa ao papel metabólico ou fisiológico que o nutriente ou não nutriente tem no crescimento, desenvolvimento, manutenção e outras funções normais do organismo humano*” (BRASIL, 1999d). Dentre os produtos que estão na lista de alegações de propriedade funcional aprovada, estão ácidos graxos, carotenóides, fibras alimentares dentre elas frutooligossacarídeo (FOS), fitoesteróis, polióis, proteína de soja e probióticos dos gêneros *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* e *Enterococcus* (ANVISA, 2008).

### **2.1.1 Probióticos, Prebióticos, Simbióticos**

De acordo com Fooks et al. (1999) o termo probiótico deriva de duas palavras gregas que em português significa “para vida”. O termo foi utilizado pela primeira vez por Lilley e Stillwell em 1965, ao descreverem uma substância microbiana que estimulava o crescimento de outro microrganismo (LILLEY; STILLWELL, 1965), mais tarde foi usado para descrever suplementos alimentares animais que tiveram um efeito sobre o animal hospedeiro, afetando benéficamente sua flora intestinal, definindo como “organismos e substâncias que contribuem para equilíbrio microbiano intestinal” (PARKER, 1974).

Insatisfeito com o termo “substância”, que poderia causar confusão incluindo antibióticos na definição, Fuller (1989), reformulo-a para “um suplemento alimentar microbiano vivo que afeta benéficamente o animal hospedeiro, melhorando o equilíbrio microbiano intestinal”. Muitas definições foram publicadas desde então, porém uma das mais aceitas mundialmente é que “os probióticos são microrganismos vivos, administrados em certas quantidades que conferem benefícios à saúde do hospedeiro” (FAO/WHO, 2001).

A legislação brasileira vigente conceitua probióticos como sendo “microrganismos vivos capazes de melhorar o equilíbrio microbiano intestinal produzindo efeitos benéficos à saúde do indivíduo” e estabelece que a quantidade mínima viável para o probiótico deve estar situada na faixa de  $10^8$  a  $10^9$  UFC na porção diária do produto pronto para o consumo, conforme indicação do fabricante. Valores inferiores podem ser aceitos, desde que sejam comprovados os efeitos fisiológicos. (BRASIL, 2002; ANVISA, 2008).

Os microrganismos que possuem efeito probiótico cientificamente comprovado segundo a ANVISA (2008) são *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei shirota*, *Lactobacillus casei variedade rhamnosus*, *Lactobacillus casei variedade defensis*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactococcus lactis*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium animalis* (incluindo a subespécie *B. lactis*), *Bifidobacterium longum* e *Enterococcus faecium*.

Espécies dos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* destacam-se na microbiologia dos alimentos e nutrição humana, devido ao seu papel na produção e conservação de alimentos e ração e pelas propriedades probióticas exibidas por algumas estirpes, entretanto nem todas as espécies apresentam as características essenciais necessárias para promover os resultados benéficos sobre a saúde (FELIS; DELLAGLIO, 2007).

O gênero *Lactobacillus* pertence ao grupo das bactérias produtoras de ácido láctico (LAB), apresentam-se gram-positivas, não formadoras de esporos, desprovidas de flagelos, forma bacilar ou cocobacilar, aerotolerantes ou anaeróbios, catalase-negativas, capazes de produzir ácido láctico como principal produto final da fermentação de hidratos de carbono (FELIS; DELLAGLIO, 2007; STEFE et al., 2008). A temperatura de crescimento abrange de 2°C a 53 °C, e essas bactérias são capazes de crescer no pH entre 3 e 8, sendo a temperatura de crescimento e pH ótimo de 30-40°C e 5,5-6,2, respectivamente (SALVETTI et al., 2012).

O gênero *Bifidobacterium*, mesmo se listados tradicionalmente como LAB, é filogeneticamente distinta das mesmas (FELIS & DELLAGLIO, 2007). As bifidobactérias são caracterizadas por serem microrganismos gram-positivos, não formadores de esporos, desprovidos de flagelos, catalase-negativos e anaeróbicos (STEFE et al., 2008). A temperatura ótima de crescimento das bifidobactérias varia de 37°C a 41°C, não havendo crescimento em temperaturas abaixo de 25-28°C e acima de

43°-45°C. O pH ótimo de crescimento compreende a faixa de 6,0 a 7,0, não ocorrendo crescimento abaixo de 4,5 a 5,0 ou acima de 8,0 a 8,5 (SCARDOVI, 1986).

Em meados de 2014 a “*List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature*” (LPSN - bacterio.net) cita 201 espécies e 29 sub-espécies do gênero *Lactobacillus* e 49 espécies e 9 sub-espécies do gênero *Bifidobacterium*. As espécies/sub-espécies incluídas mais recentemente, cerca de 2 anos atrás, de ambos os gêneros estão descritas na Tabela 1 (EUZÉBY, 2014a; EUZÉBY, 2014b)

Tabela 1. Microrganismos do gênero *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* recentemente incluído na “*List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature*” (LPSN)

<b>Gênero <i>Lactobacillus</i></b>	
<b>Espécies/sub-espécies</b>	<b>Referência</b>
<i>Lactobacillus apis</i>	Killer et al. (2014)
<i>Lactobacillus faecis</i>	Endo et al. (2013)
<i>Lactobacillus heilongjiangensis</i>	Gu et al. (2013)
<i>Lactobacillus hominis</i>	Cousin et al. (2013)
<i>Lactobacillus kimchiensis</i>	Kim et al. (2013)
<i>Lactobacillus mudanjiangensis</i>	Gu et al. (2013)
<i>Lactobacillus nenjiangensis</i>	Gu et al. (2013)
<i>Lactobacillus oryzae</i>	Tohno et al. (2013)
<i>Lactobacillus pasteurii</i>	Cousin et al. (2013)
<i>Lactobacillus porcinae</i>	Nguyen et al. (2013)
<i>Lactobacillus shenzhenensis</i>	Zou et al. (2013)
<i>Lactobacillus silagei</i>	Tohno et al. (2013)
<i>Lactobacillus songhuajiangensis</i>	Gu et al. (2013)
<i>Lactobacillus brantae</i>	Volokhov et al. (2012)
<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>sunkii</i>	Kudo et al. (2012)
<i>Lactobacillus futsaii</i>	Chao et al. (2012)
<i>Lactobacillus gigeriorum</i>	Cousin et al. (2012)
<i>Lactobacillus nasuensis</i>	Cai et al. (2012)
<i>Lactobacillus saniviri</i>	Oki et al. (2012)
<i>Lactobacillus senioris</i>	Oki et al. (2012)
<i>Lactobacillus xiangfangensis</i>	Gu et al. (2012)
<b>Gênero <i>Bifidobacterium</i></b>	
<b>Espécies/sub-espécies</b>	<b>Referência</b>
<i>Bifidobacterium moukalabense</i>	Tsuchida et al. (2014)
<i>Bifidobacterium biavatii</i>	Endo et al. (2012)
<i>Bifidobacterium callitrichos</i>	Endo et al. (2012)
<i>Bifidobacterium reuteri</i>	Endo et al. (2012)
<i>Bifidobacterium saguini</i>	Endo et al. (2012)
<i>Bifidobacterium stellenboschense</i>	Endo et al. (2012)

Fonte: <http://www.bacterio.net>

As bactérias probióticas só exercem os efeitos benéficos ao hospedeiro se as mesmas dispuserem de alguns critérios, dentre eles, ter como origem o trato intestinal do hospedeiro, sobreviver em condições de estresse presentes no trato gastrointestinal,

como suco gástrico, presença de sais biliares e enzimas digestivas, de preferência colonizar o intestino e manter sua viabilidade e atividade metabólica no intestino, após serem ingeridas (BADARÓ et al., 2008; BARRETO et al., 2003).

Dentre esses benefícios estão a fermentação de substratos que acarreta na produção dos ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) e diminuição dos níveis séricos de amônia; ação bactericida devido a diminuição do pH; influência na resposta imune e redução dos níveis de triglicerídeo sérico (BLAUT, 2002; PERIS et al., 2002).

Os prebióticos foram definidos pela primeira vez por Gibson & Roberfroid (1995) como "*ingrediente alimentar não digerível que afeta beneficemente o hospedeiro ao estimular seletivamente o crescimento e/ou atividade de uma ou de um número limitado de bactérias no cólon e, portanto, melhora a saúde do hospedeiro*".

Este conceito de prebióticos envolve certos compostos alimentares resistentes a enzima digestiva e/ou que não são absorvidos na porção superior do trato gastrointestinal, incluindo o intestino delgado. Os compostos precisam chegar ao intestino grosso, onde a maior parte da microbiota intestinal está localizado e estimular o crescimento de alguns microorganismos benéficos no intestino, especialmente bifidobactérias (ROBERFROID, 2002).

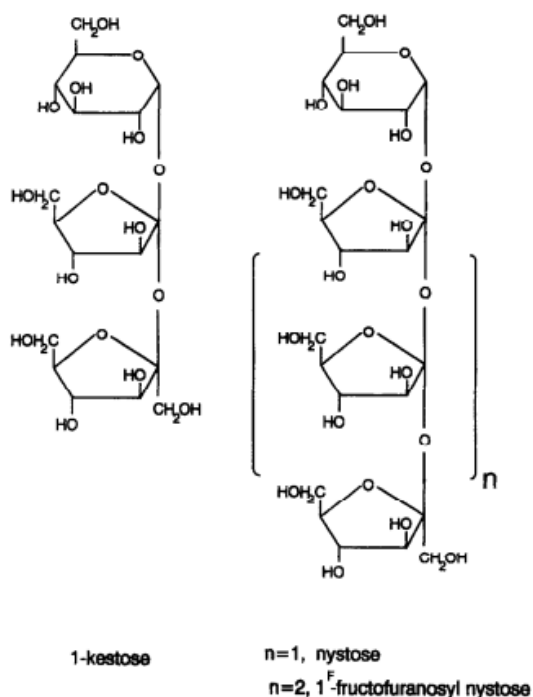
Para classificar um alimento como prebiótico, o mesmo deve apresentar os seguintes critérios (1) resistir às enzimas e ao ácido estomacal; (2) ser fermentada pela microflora intestinal; (3) estimular seletivamente o crescimento e/ou atividade de bactérias intestinais associadas com a saúde e bem-estar (GIBSON et al., 2004). Dentre os frutanos, frutooligossacarídeos (FOS) e inulina atendem essas características dos prebióticos, presentes naturalmente em alimentos como cebola, chicória, alho, alcachofra, cereais, aspargos, tubérculos, beterraba, banana, tomate e outros (BADARÓ et al., 2008; PASSOS & PARK, 2003). Os prebióticos e os probióticos possuem atuações semelhantes, quando se refere a modulação da microbiota endógena, porém se diferenciam em sua composição e o mecanismo de ação (SAAD, 2006).

Frutooligossacarídeos (FOS) são oligômeros de frutose, com ligações do tipo beta-2,1 da sacarose, que nada mais é que uma série de oligossacarídeos homólogos derivados da sacarose, compostos de 1-kestose, nistose e frutofuranosil nistose, onde as unidades de frutosil e normalmente representado pela fórmula GF<sub>n</sub> (Figura 1) (YUN, 1996). Além de estar presente naturalmente em vários alimentos, o FOS pode ser produzido industrialmente a partir da sacarose ou da inulina, por meio de processos enzimáticos (BORNET, 1994).



Somados aos benefícios inerentes aos prebióticos, o FOS ainda pode ser utilizado como um substituto da sacarose. As principais propriedades tecnológicas são doçura de 30%, menor valor calórico, estimado em 1,5 kcal/g, maior solubilidade, quando comparado a sacarose, não cristalizam, nem precipitam, não deixam sensação de secura ou areia na boca (BORNET,1994; ROBERFROID, 1999; YUN,1996).

Figura 1. Estrutura química do frutooligossacarídeo



Fonte: YUN, 1996.

Os produtos que possuem FOS na sua formulação podem utilizar a seguinte alegação “Os frutooligossacarídeos – FOS contribuem para o equilíbrio da flora intestinal. Seu consumo deve estar associado a uma alimentação equilibrada e hábitos de vida saudáveis”, desde que a porção do produto pronto para consumo forneça no mínimo 3 g ou 1,5 g de FOS, para alimento sólido ou líquido, respectivamente. No caso onde o FOS é apresentado na forma de cápsulas, tabletes, comprimidos, pós e similares, é necessário informar que o consumo deve ser associado a ingestão de líquidos (ANVISA, 2008).

Da ação sinérgica dos probióticos auxiliados pelas substâncias prebióticas se constituem os simbióticos, ou seja, a interação entre o probiótico e o prebiótico, a qual *in vivo*, pode ser beneficiada por uma adequação do probiótico ao substrato prebiótico

(DENIPOTE; TRINDADE; BURINI, 2010). O sinergismo na ação é alcançado pela ingestão de lactobacilos através dos probióticos e por outro lado a promoção de bifidobactérias endógenas. O termo simbiótico é usado quando o produto contém ambos, probióticos e prebióticos, na sua composição. (SCHREZENMEIR; DE VRESE, 2001). A Tabela 2 mostra alguns estudos experimentais no período de 2005 a 2014 que utilizaram probióticos, prebióticos e simbióticos, em diferentes formas, para prevenir e/ou tratar algumas patologias, exemplificando os benefícios agregados ao consumo dessas substâncias.

Tabela 2. Estudos experimentais referentes ao papel protetor dos probióticos, prebióticos e simbióticos.

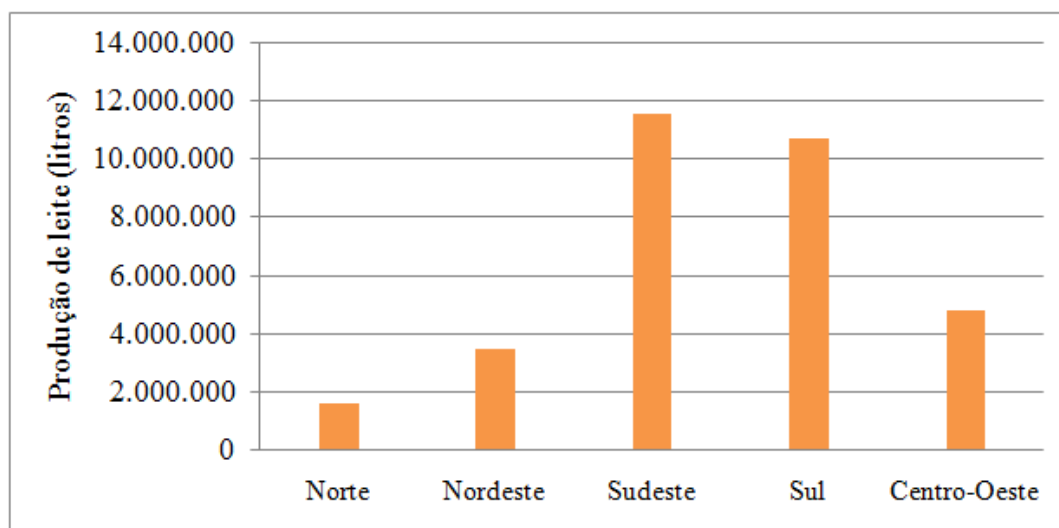
Sujeito	Conclusão	Referência
Pacientes com histórico de tumores colorretais	A taxa de ocorrência de tumores com um grau de moderado atipia ou superior era significativamente menor no grupo administrado <i>L. casei</i> .	ISHIKAWA et al. (2005)
Lactentes saudáveis	Lactentes que ingeriram as fórmulas infantis com suplementação de 6g/L GOS/FOS (9:1) obtiveram maiores concentrações de IgA, bifidobactérias, quando comparados ao controle, sugerindo efeito positivo sobre a imunidade da mucosa	SCHOLTENS et al. (2006)
Pacientes consecutivos em ventilação mecânica	Potencial na redução bacteriana no estômago e na proporção de não fermentadores na secreção traqueal nos pacientes que usaram simbióticos, podendo assim prevenir infecções nosocomiais	SHINOTSUKA et al. (2008)
Pacientes com taxas de colesterol total > 200 mg / dL; triglicérides > 200 mg / dL e glicemia > 110 mg / dL	O consumo da bebida simbiótica resultou em um aumento significativo nos níveis de HDL e uma diminuição significativa da glicemia	MOROTI, et al. (2012)
Atletas de endurance	A suplementação adequada de probióticos melhora a funcionalidade da barreira intestinal, a homeostase redox e reduz o grau de inflamações causados pelo exercício.	LAMPRECHT et al. (2012)
Pacientes considerado positivo para infecção por <i>H. pylori</i> .	<i>L. reuteri</i> pode ter um papel potencial na terapia de erradicação da <i>H. pylori</i> .	DORE et al. (2013)
Mães durante o último mês de gestação e crianças	A suplementação diária com <i>L. reuteri</i> , desde o nascimento e durante o primeiro ano de vida está associada à diminuição de prevalência de cárie e menor risco de gengivite na dentição primária aos 9 anos de idade.	STENSSON et al. (2014)
Adultos com histórico de rinite alérgica a pólen de gramíneas	Apesar do curto período de consumo, foi possível observar uma diminuição do prurido nasal associado ao consumo do <i>L. paracasei</i> .	PERRIN et al. (2014)

## 2.2 Bebida láctea

Nos últimos anos o mercado de leite no Brasil, mantém-se em constante crescimento, os dados mais recentes do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) são de 2012, com produção de 32 mil litros de leite por ano e valores de aproximadamente 26 mil reais. A região com a maior produtividade anual de leite do Brasil é o Sudeste, o Nordeste fica em quarto lugar, com cerca de 3 mil litros, ganhando apenas da região Norte (Figura 2). Já de acordo com os estados brasileiros, Minas Gerais destaca-se com uma produção anual de próximo a 8 mil litros (IBGE, 2013a).

As bebidas lácteas já representam aproximadamente um terço do mercado de leites fermentados, essa expansão se deve a vários fatores como as mudanças no estilo de vida, na imagem projetada de produto saudável, de bom valor nutritivo e sabor agradável, nos avanços tecnológicos, que permitem maior estabilidade dos componentes, melhoria no sabor e textura dos novos produtos (BALDISSERA et al., 2011; PENNA; OLIVEIRA; TAMIME, 2003).

Figura 2. Produção de leite por região do Brasil no ano de 2012



Fonte: Dados do IBGE - Pesquisa Pecuária Municipal, 2013a.

Segundo a legislação brasileira bebida láctea é o produto resultante da mistura de leite ("in natura", pasteurizado, esterilizado, UHT, reconstituído, concentrado, em pó, integral, semidesnatado, ou parcialmente desnatado) e soro de leite (líquido, concentrado ou em pó) acrescido ou não de produtos, substâncias alimentícias, gordura

vegetal, leite fermentado, fermentos lácteos selecionados e outros produtos lácteos. A base láctea representa pelo menos 51% do total de ingredientes do produto (BRASIL, 2005).

A legislação vigente ainda estabelece a composição das bebidas lácteas, citando os ingredientes obrigatórios e os opcionais, o opcional podendo ter origem láctea ou não láctea. Dentre os requisitos que devem ser preenchidos estão os associados as características sensoriais do produto (consistência, cor, odor e sabor) e os físico-químicos, que faz exigência apenas ao teor protéico variando de 1,0 a 1,7, dependendo da classificação do produto.

### **2.2.1 Soro lácteo**

Devido ao crescimento da utilização do soro lácteo pelas indústrias alimentícias o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), criou a partir da Portaria nº53/2013 o Projeto de Instrução Normativa, visando estabelecimento de novos aspectos e atualização de regras.

O Projeto da IN/2013 define o soro de leite ou soro doce e soro de leite ácido ou soro ácido como sendo “o produto lácteo líquido extraído da coagulação do leite utilizado no processo de fabricação de queijos, caseína e produtos similares” e que “pode ser apresentado na forma líquida, concentrada ou em pó”. A diferença na definição entre dos dois tipos de soro se deve pelo tipo de coagulação, para o soro doce ocorre principalmente por ação enzimática, devendo apresentar pH entre 6,0 e 6,8 e o para o soro ácido por acidificação e o pH exigido é inferior a 6,0.

Dados do *United States Department of Agriculture* (USDA, 2013) reportam dados preliminares de 722.000 toneladas para produção de queijos no Brasil em 2013, com estimativas do país produzir 736.000 toneladas de queijos em 2014. Devido ao grande volume de produção, se faz necessário o estudo de formas para conservar e utilizar o soro lácteo minimizando problemas, tanto de ordem ambiental como nutricional, aproveitando o soro como alimento de alto valor nutricional (BARBOSA, et al., 2010).

A composição do soro vai depender de algumas variáveis como o tipo de queijo fabricado e a tecnologia empregada no processamento (SILVEIRA e ABREU, 2003). Em média o soro de leite contém 93% de água, 5% de lactose, 0,9 a 0,7% de proteínas dentre as quais 50% de  $\beta$ -lactoglobulina, 25% de  $\alpha$ -lactoalbumina e 25% de outras

frações protéicas, incluindo imunoglobulinas e ainda há 0,5 a 0,3% de gordura, 0,2% de ácido láctico e pequenas quantidades de vitaminas (FITZSIMONS & MULVIHILL, 2006).

A composição média de aminoácidos de soro do leite é de 4,9mg de alanina, 2,4mg de arginina, 3,8mg de asparagina, 10,7mg de ácido aspártico, 1,7mg de cisteína, 3,4mg de glutamina, 15,4mg de ácido glutâmico, 1,7mg de glicina, 1,7mg de histidina, 4,7mg de isoleucina, 11,8mg de leucina, 9,5mg de lisina, 3,1mg de metionina, 3,0mg de fenilalanina, 4,2mg de prolina, 3,9mg de serina, 4,6mg de treonina, 1,3mg de triptofano, 3,4mg de tirosina e 4,7mg de valina, por grama de proteína. Esse pool de aminoácidos garante as propriedades nutricionais do soro do leite (ETZEL, 2004).

Niro (2011) descreve que o soro tem sido conhecido há décadas pelo seu alto valor nutricional. Atualmente o então subproduto está sendo transformado em um produto com alto valor agregado para a indústria de laticínios e queijos, que se deve ao desenvolvimento de novas tecnologias e mercados que utilizam o soro de leite em pó e frações de soro como ingredientes nos gêneros alimentícios para consumo humano e animal.

### 2.3 Maracujá

O maracujá pertence à família *Passifloraceae*, do gênero *Passiflora*, e possui 131 espécies nativas do Brasil (Figura 3), das quais 84 são endêmicas, mas apesar da grande variedade de espécies, o cultivo comercial se restringe a *Passiflora edulis* (maracujá-amarelo) (CERVI et al., 2010).

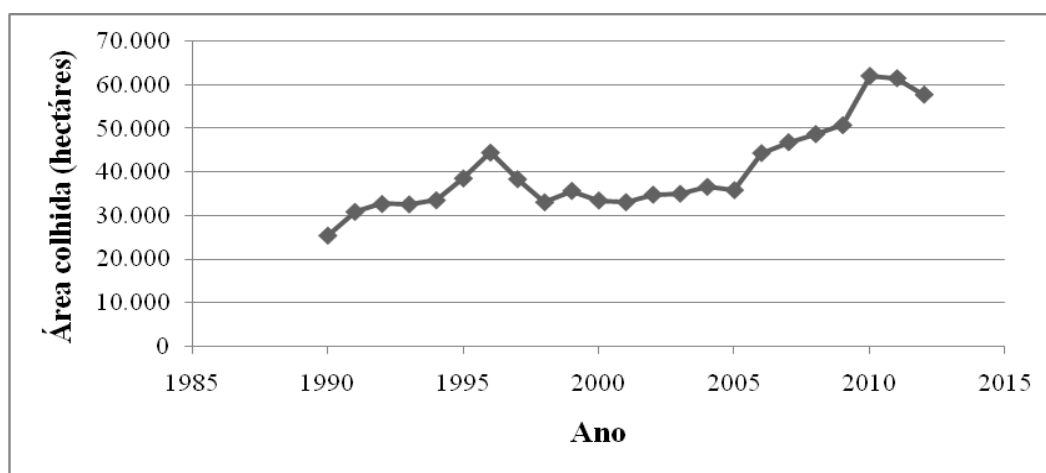
Figura 3. Maracujá silvestre pérola do cerrado desenvolvido pela Embrapa



Foto: Divulgação/ Embrapa

No período de 1990 a 1996, o Brasil apresentou crescimento significativo na área colhida do maracujá. Em 1990, a área colhida era em torno 25 mil hectares e em apenas seis anos chegou a cerca de 44 mil hectares, ou seja, um aumento de aproximadamente 76% na área colhida do fruto. Após esse episódio de ampliação constante, a cultura do maracujá teve ciclos de expansão e retração (Figura 4) (IBGE, 2013b).

Figura 4. Área colhida de maracujá nos anos de 1990-2012 no Brasil



**Fonte:** Dados do IBGE - Pesquisa Agrícola Municipal, 2013b.

A produção da fruta se destaca na região Nordeste, que possui o domínio do mercado produtor com 72,59%, seguida Sudeste com 14,79% e o Norte com 5,90%. Entre os estados brasileiros, a Bahia é responsável pela maior produção com 41,35%, estando esta cultura concentrada nos Municípios de Dom Basílio e Livramento de Nossa Senhora, que respondem por quase 60,0% da produção baiana (IBGE, 2013b).

O mercado de exportação do fruto tem acontecido em pequena escala, nas formas de fruta fresca e, especialmente, de suco concentrado, tendo como principais destinos os países europeus como Holanda, Estados Unidos, Porto Rico, Japão e Alemanha. A menor exportação da fruta fresca ocorre devido ao alto consumo do mercado interno, absorve quase a totalidade do que é produzido (MELETTI, 2011).

Estudos são feitos para verificar a influência de fatores como sazonalidade, solo e período de maturação sob as características físico-químicas do fruto. Ramaiya et al. (2013) analisando os níveis de açúcares (glicose, frutose, sacarose), ácido ascórbico

fenólicos totais e atividade antioxidante em diferentes cultivares do gênero *Passiflora* comprovaram a influência do cultivar e maturação sob as variáveis estudadas, resultado observado também por Macoris et al. (2012) sobre os compostos fenólicos totais e atividade antioxidante da polpa de maracujá.

Ao avaliar o rendimento em suco e a quantidade de resíduos do maracujá-amarelo considerando o tamanho dos frutos e o estágio de maturação Coelho et al. (2011), concluíram que frutos maiores e colhidos no estágio 3 de maturação (30,7% de área de casca amarelada), possuíam maior rendimento e menor espessura de casca. Quanto ao resíduo, o mesmo não sofreu influência das variáveis.

O maracujá apresenta teor de carboidrato de 12,8g/100g da parte comestível da fruta, vitaminas e minerais como o potássio (338mg/100g), fósforo (51mg/100g), magnésio (28mg/100g) e vitamina C (19,8 mg/100g) (NEPA/UNICAMP, 2011). Além de possuir outras propriedades nutricionais importantes, devido à presença de compostos fenólicos, potencial antioxidante (ZERAIK & YARIWAKE, 2010; ZERAIK et al., 2011; MARTÍNEZ et al., 2012; SILVA et al., 2013), flavonóides (ZERAIK & YARIWAKE, 2010; SIMIRGIOTIS et al., 2013), ácidos graxos poliinsaturados encontrados no óleo da semente de maracujá (KOBORI & JORGE, 2005) e fibras do tipo solúvel contidas na casca e no albedo do fruto (CÓRDOVA et al., 2005).

Ramos et al. (2011) utilizaram a farinha da casca do maracujá como fonte de fibra solúvel em estudo que avaliou a relação entre o consumo da farinha com a redução dos níveis lipídicos. Para tal foram selecionados pacientes de ambos os sexos com indicação de terapia para redução de lipídios, esses foram divididos em quatro grupos (1- Rosuvastatina mais Fibra; 2- Rosuvastatina; 3-Sinvastatina/ Ezetimiba mais Fibra; 4- Sinvastatina mais Ezetimiba), após 12 semanas observou-se que os grupos que consumiram a fibra obtiveram efeitos benéficos adicionais, dentre eles a melhoria dos níveis de glicose e dos parâmetros antropométricos.

Os benefícios obtidos através do consumo do fruto seja na forma *in natura*, farinha e/ou pílulas, são os mais variados, dentre eles redução na pressão arterial sistólica e glicemia de jejum, em pacientes diabéticos tipo 2, após a administração de maracujá roxo (RAJU et al., 2013); alívio considerável dos sintomas da osteoartrite em pacientes que receberam pílulas com extrato de casca de maracujá, um suplemento dietético rico em flavonóides (FARID et al., 2010); diminuição da resistência insulínica em pacientes com diabetes tipo 2, os voluntários foram suplementados com farinha da casca do maracujá amarelo (QUEIROZ et al., 2012) e redução dos sintomas clínicos da

asma, a partir do ingestão de pílulas com extrato de casca de maracujá roxo (WATSON et al., 2008).

## 2.4 Análise sensorial

A análise sensorial é definida pela Associação Brasileira de Normas Técnicas – ABNT (1993a) como “*disciplina científica usada para evocar, medir, analisar e interpretar reações das características dos alimentos e materiais como são percebidas pelos sentidos da visão, olfato, gosto, tato e audição*”.

As aplicações da análise sensorial na indústria de alimentos e nas instituições de pesquisa são diversas, pode ser utilizada no desenvolvimento de um novo produto, para avaliar o efeito das alterações nas matérias primas ou no processamento tecnológico sobre o produto final, controle de qualidade, verificar a estabilidade do produto durante o armazenamento e teste de mercado de um novo produto (DUTCOSKY, 2011).

A NBR 12994 de julho de 1993 classifica os métodos de análise sensorial dos alimentos e bebidas em discriminativos, descritivos e subjetivos, os quais estabelecem diferenciação qualitativa e/ou quantitativa entre amostras, descrevem qualitativa e quantitativamente as amostras e expressam opinião pessoal do julgador, respectivamente (ABNT, 1993b).

Os métodos subjetivos ou também chamados afetivos ou de consumidores são utilizados para avaliar a preferência e aceitabilidade de um produto. Aceitabilidade pode ser definida como “*grau de aceitação de um produto favoravelmente recebido por um determinado indivíduo ou população, em termos de propriedades sensoriais*”, já a preferência seria “*expressão do estado emocional ou reação afetiva de um indivíduo que o leva à escolha de um produto sobre outro(s)*”. A partir da escala hedônica o julgador expressa o grau de gostar ou desgostar, a escala de 9 pontos é amplamente utilizada para estudos com adultos (ABNT, 1993b; DUTCOSKY, 2011).

Em estudo realizado por Gonzalez et al. (2011), com o objetivo de determinar o efeito da adição de prebiótico e uma combinação de prebiótico com probiótico sobre as propriedades sensoriais de iogurtes feitos com leite desnatado e integrais, foram utilizados análise descritiva e o teste de consumidores com escala hedônica de 9 pontos, sendo 1 “*desgostei extremamente*” e 9 “*gostei extremamente*”. A partir dos testes os autores concluíram que a inclusão do simbiótico resultou em um impacto negativo sobre a aceitação dos julgadores.



Gomes & Penna (2009) avaliaram sensorialmente, por meio de teste de aceitação, doze diferentes formulações de bebidas lácteas funcionais, utilizando escala hedônica de 9 pontos. A aceitação foi maior nas formulações com menores teores de soro lácteo e isolado protéico de soja e maior teor de leite em pó desnatado.

Ao escrever sobre as propriedades sensoriais de alimentos probióticos, Granato et al. (2010) aponta aspectos importantes que devem ser considerados no momento de desenvolver e lançar novos produtos no mercado, dentre esses aspectos estão a utilização de culturas probióticas que beneficiem as propriedades organolépticas, podendo estar isoladas ou associadas com outras bactérias e, principalmente, a avaliação do produto a ser lançado, afim de identificar os atributos sensoriais específicos e garantir aceitação sensorial por parte dos consumidores.

A escolha do método para avaliação sensorial vai depender do objetivo do estudo e interfere na significância dos resultados, utilizando a metodologia adequada é possível obter o conhecimento prévio a respeito da aceitação do mercado de consumidores e/ou perfil descritivo sensorial, que serve como instrumento de auxílio em alterações da formulação, quando necessário (CRUZ et al., 2010).

## Referências Bibliográficas

### 3 Referências Bibliográficas

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. ANVISA. Alimentos com Alegações de Propriedades Funcionais e ou de Saúde, Novos Alimentos/Ingredientes, Substâncias Bioativas e Probióticos. Atualizado em 11 de janeiro de 2005. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno.htm>

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. ANVISA. Alimentos. Comissões e Grupos de Trabalho. Comissão Tecnocientífica de Assessoramento em Alimentos Funcionais e Novos Alimentos. Alimentos com Alegações de Propriedades Funcionais e ou de Saúde, Novos Alimentos/Ingredientes, Substâncias Bioativas e Probióticos. Atualizado em julho de 2008. IX - Lista de alegações de propriedade funcional aprovadas. Disponível em: < [http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno\\_lista\\_alega.htm](http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno_lista_alega.htm) >

ARAI, S. Studies on functional foods in Japan - state of the art. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, v.60, n. 1, p. 9-15, 1996.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 12806**: Análise sensorial de alimentos e bebidas. Terminologia. Rio de Janeiro, 1993a.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 12994**: Métodos de análise sensorial dos alimentos e bebidas. Rio de Janeiro, 1993b.

BADARÓ, A. C. L.; GUTTIERRES, A. P. M.; REZENDE, A. C. V.; STRINGHETA, P. C. Alimentos probióticos: aplicações como promotores da saúde humana – parte 1. NutrirGerais. **Revista Digital de Nutrição**, v. 2, n. 3, p. 1-20, 2008.

BALDISSERA, A.C., BETTA, F.D., PENNA, A.L.B., LINDNER, J.D.D. Alimentos funcionais: uma nova fronteira para o desenvolvimento de bebidas protéicas a base de soro de leite. **Semina: Ciências Agrárias**, v.32, n.4, p.1497-1515, 2011.

BARBOSA, A.S.; FLORENTINO, E.R.; FLORÊNCIO, I.M.; ARAÚJO, A.S. Utilização do soro como substrato para produção de aguardente: estudo cinético da produção de etanol. **Revista Verde**, v.5, n.1, p.7-25, 2010

BARRETO, G. P. M.; SILVA, N.; SILVA, E. D.; BOTELHO, L.; YIM, D. K.; ALMEIDA, C. G.; SABA, G. L. Quantificação de *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterias* e Bactérias Totais em Produtos Probióticos Comercializados no Brasil. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 6, n.1, p. 119-126, 2003.

BLAUT, M. Relationship of prebiotics and food to intestinal microflora. **European Journal of Nutrition**, v.41, p. 11–16, 2002.

BORNET, F.R.J. Undigestible sugars in food products. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 59, p. 763-769, 1994.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Portaria** n. 15, de 30 de abril de 1999. Institui junto à Câmara Técnica de Alimentos a Comissão de Assessoramento Tecnocientífico em Alimentos Funcionais e Novos Alimentos, com a incumbência de prestar consultoria e assessoramento em matéria relacionada a alimentos funcionais e novos alimentos, segurança de consumo e alegação de função em rótulos, submetidos por lei ao regime de vigilância sanitária. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 03 maio 1999a.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução de Diretoria Colegiada (RDC)** n. 2, 07 de janeiro de 2002. Aprova o Regulamento Técnico de Substâncias Bioativas e Probióticos Isolados com Alegação de Propriedades Funcionais e ou de Saúde. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 9 jan. 2002. Disponível em: <<http://e-legis.bvs.br/leisref/public/showAct.php?id=9059 &Word=>>>.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução** n. 16, de 30 de abril de 1999. Aprova o Regulamento Técnico de Procedimentos para Registro de Alimentos e ou Novos Ingredientes. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 03 dez. 1999b. Disponível em: <<http://e-legis.bvs.br/leisref/public/showAct.php?id=107>>

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução** n. 17, de 30 de abril de 1999. Aprova o Regulamento Técnico que Estabelece as Diretrizes Básicas para Avaliação de Risco e Segurança dos Alimentos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 03 dez. 1999c. Disponível em: <<http://e-legis.bvs.br/leisref/public/showAct.php?id=108>>.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução** n. 18, de 30 de abril de 1999. Aprova o Regulamento Técnico que Estabelece as Diretrizes Básicas para Análise e Comprovação de Propriedades Funcionais e ou de Saúde Alegadas em Rotulagem de Alimentos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 03 nov. 1999d. Disponível em: <<http://e-legis.bvs.br/leisref/public/showAct.php?id=109>>.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução** n. 19, de 30 de abril de 1999. Aprova o Regulamento Técnico de Procedimentos para Registro de Alimento com Alegação de Propriedades Funcionais e ou de Saúde em sua Rotulagem. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 10 dez. 1999e. Disponível em: <<http://e-legis.bvs.br/leisref/public/showAct.php?id=110>>.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução** n. 22, de 15 de março de 2000. Dispõe sobre os Procedimentos Básicos de Registro e Dispensa de Registro de Produtos Importados Pertinentes à Área de Alimentos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 16 mar. 2000. Disponível em: <<http://e-legis.bvs.br/leisref/public/showAct.php?id=136>>.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Legislação, SISLEGIS: Sistema de Consulta à Legislação. **Instrução Normativa** n. 16, de 23 de agosto de 2005. Aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Bebidas Lácteas. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 24 ago. 2005, seção 1, p. 7.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Legislação. **Portaria** n. 53, de 10 de abril de 2013. Submete à consulta pública, pelo prazo de 30 (trinta) dias, o Projeto de Instrução Normativa e seu Anexo que estabelecem os padrões de identidade e qualidade de soro de leite. **Secretaria de Defesa Agropecuária**, Brasília, DF, 11 abril 2013, seção 1. Disponível em: <<http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=consultarLegislacaoFederal>>

CAPITANI, C. D.; PACHECO, M.T.B.; GUMERATO, H.F.; VITALI, A. SCHMIDT, F.L. Recuperação de proteínas do soro de leite por meio de coacervação com polissacarídeo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.40, n.11, p.1123-1128, 2005.

CERVI, A.C.; AZEVEDO, M.A.M. de; BERNACCI, L.C. *Passifloraceae*. In FORZZA, R.F. et al (Ed). Catálogo de plantas e fungos do Brasil. Rio de Janeiro: Jardim Botânico do Rio de Janeiro. v. 2, p.1432-1436, 2010.

COELHO, A. A.; CENCI, S. A.; RESENDE, E. D. Rendimento em suco e resíduos de maracujá em função do tamanho dos frutos em diferentes pontos de colheita para o armazenamento. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v.13, p.55-63, 2011.

CÓRDOVA, K.R.V.; GAMA, T.M.M.T.B.; WINTER, C.M.G.; NETO, G.K.; FREITAS, R.J.S. Características físico-químicas da casca do maracujá amarelo (*Passiflora edulis flavicarpa* Degener) obtida por secagem. **Bol Centro Pesquisa Processamento Alimentos**, v.23, p. 221-230, 2005.

CRUZ, A.G.; CADENA, R.S.; WALTER, E.H.M.; MORTAZAVIAN, A.M.; GRANATO, D.; FARIA, J.A.F.; BOLINI, H.M.A. Sensory Analysis: Relevance for Prebiotic, Probiotic, and Synbiotic Product Development. **Comprehensive Reviews In Food Science And Food Safety**, v.9, n.4, p.358-373, 2010

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

DORE, M.P.; CUCCU, M.; MASSIDDA, M.; ROCCHI, C.; SORO, S.; MARRAS, G.; GRAHAM, D.Y. Efficacy of *Lactobacillus reuteri* in the treatment of *Helicobacter pylori* infection. **Helicobacter**, v.18, p.134-134, 2013.

DUTCOSKY, S.D. **Análise sensorial de alimentos**. 3.ed. Curitiba: Champagnat, 2011.

ETZEL, M.R. Manufacture and use of dairy protein fractions. **Journal of Nutrition**, v. 134, n. 4, p. 996-1002, 2004.

EUROMONITOR INTERNACIONAL. Health and Wellness the Trillion Dollar Industry in 2017: Key Research Highlights. Novembro, 2012. Disponível em: <http://blog.euromonitor.com/2012/11/health-and-wellness-the-trillion-dollar-industry-in-2017-key-research-highlights.html>

EUZÉBY, J.P. **List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature – Genus *Lactobacillus***, maio 2014a. Disponível em: <<http://www.bacterio.net/lactobacillus.html>>.

EUZÉBY, J.P. **List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature – Genus *Bifidobacterium***, maio 2014b. Disponível em: <<http://www.bacterio.net/bifidobacterium.html>>.

FAO/WHO. Evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. **Report of a joint FAO/WHO expert consultation**, Córdoba, Argentina, 2001. Disponível em: <[ftp://ftp.fao.org/Es/esn/food/probio\\_report\\_en.pdf](ftp://ftp.fao.org/Es/esn/food/probio_report_en.pdf)>

FARID, R.; REZAEYAZDI, Z.; MIRFEIZI, Z.; HATEF, M.R.; MIRHEIDARI, M.; MANSOURI, H.; ESMAELLI, H.; BENTLEY, G.; LU, Y.R.; FOO, Y.; WATSON, R.R. Oral intake of purple passion fruit peel extract reduces pain and stiffness and improves physical function in adult patients with knee osteoarthritis. **Nutrition Research**, v.30, n.9, p.601-606, 2010.

FELIS, G.E.; DELLAGLIO, F. Taxonomy of Lactobacilli and Bifidobacteria. **Current Issues in Intestinal Microbiology**, v.8, n.2, p. 44-61, 2007.

FITZSIMONS, S. M.; MULVIHILL, D. M. et al. Denaturation and aggregation processes in thermal gelation of whey proteins resolved by differential scanning calorimetry. **Food Hydrocolloids**, v.11, n.4, p.62-69, 2006.

FOOKS, L.J.; FULLER, R.; GIBSON, G.R. Prebiotics, probiotics and human gut microbiology. **International Dairy Journal**, v.9, p.53–61, 1999.

FULLER, R. Probiotics in man and animals. **Journal of Applied Bacteriology**, n. 66, p. 365-378, 1989.

GIBSON, G. R. & ROBERFROID, M. B. Dietary modulation of the human colonic microbiota: Introducing the concept of prebiotics. **Journal of Nutrition**, v.125, p. 1401–1412, 1995.

GIBSON, G. R.; PROBERT, H. M.; LOO, J. V.; RASTALL, R. A.; ROBERFROID, M. B. Dietary modulation of the human colonic microbiota: Updating the concept of prebiotics. **Nutrition Research Review**, v.17, p. 259–275, 2004.

GOMES, R.G.; PENNA, A.L.B. Características reológicas e sensoriais de bebidas lácteas funcionais. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.30, n.3, p.629-646, 2009.

GONZALEZ, N.J.; ADHIKARI, K.; SANCHO-MADRIZ, M.F. Sensory characteristics of peach-flavored yogurt drinks containing prebiotics and synbiotics. **LWT - Food Science and Technology**, v.44, p. 158-163, 2011.

GRANATO, D.; BRANCO, G.F.; CRUZ, A.G.; FARIA, J.A.F.; SHAH, N.P. Probiotic Dairy Products as Functional Foods Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. **Institute of Food Technologists**, v. 9, 2010.

IBGE. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Produção Agrícola Municipal:** Maracujá. 2013b Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/listabl.asp?c=1613&z=p&o=27>>.

IBGE. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Produção Pecuária Municipal:** Leite. 2013a Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/listabl.asp?c=74&z=p&o=26>>

ISHIKAWA, H.; AKEDO, I.; OTANI, T.; SUZUKI, T.; NAKAMURA, T.; TAKEYAMA, I.; ISHIGURO, S.; MIYAOKA, E.; SOBUE, T.; KAKIZOE, T. Randomized trial of dietary fiber and *Lactobacillus casei* administration for prevention of colorectal tumors International journal of cancer. **Journal international of Cancer**, v.116, n.5, p.762-767, 2005.

KOBORI, C.N.; JORGE, N. Caracterização dos óleos de algumas sementes de frutas como aproveitamento de resíduos industriais. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 29, p.1008-1014, 2005.

KOSSEVA, M. R.; PANESAR, G .K.; KENNEDY, J. F. Use of immobilized biocatalysts in the processing of cheese whey. **International Journal Biological Macromolecules**, v.45, p. 437- 447, 2009.



LAMPRECHT, M.; BOGNER, S.; SCHIPPINGER, G.; STEINBAUER, K.; FANKHAUSER, F.; HALLSTROEM, S.; SCHUETZ, B.; GREILBERGER, J. F. Probiotic supplementation affects markers of intestinal barrier, oxidation, and inflammation in trained men; a randomized, double-blinded, placebo-controlled trial. **Journal of the International Society of Sports Nutrition**, v.9, p.45, 2012.

LILLY, D.M.; STILLWELL, R.H. Probiotics: growth-promoting factors produced by micro-organisms. **Science**, p. 147- 747-8, 1965.

LOURES, M.M.R.; MINIM, V.P.R.; CERESINO, E.B.; CARNEIRO, R.C.; MINIM, L.A. Análise descritiva por ordenação na caracterização sensorial de iogurte diet sabor morango enriquecido com concentrado protéico do soro. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 31, n. 3, p. 661-668, 2010.

MACORIS, M.S. ; DE MARCHI, R. ; JANZANTTI, N.S. ; MONTEIRO, M. The influence of ripening stage and cultivation system on the total antioxidant activity and total phenolic compounds of yellow passion fruit pulp. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.92, n. 9, p.1886-1891, 2012.

MARTINEZ, R.; TORRES, P.; MENESES, M.A.; FIGUEROA, J.G.; PEREZ-ALVAREZ, J.A.; VIUDA-MARTOS, M. Chemical, technological and in vitro antioxidant properties of mango, guava, pineapple and passion fruit dietary fibre concentrate. **Food Chemistry**, v. 135, n.3, p.1520-1526, 2012.

MELETTI, L. M. M. Avanços na cultura do maracujá no Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.33, p.83-91, 2011.

MELETTI, L. M. M. **Maracujá: diferencial de qualidade da cv. IAC 275 leva agroindústria de sucos a triplicar demanda por sementes**. 2009. Artigo em Hypertexto. Disponível em: <[http://www.infobibos.com/Artigos/2009\\_3/Maracuja/Index.htm](http://www.infobibos.com/Artigos/2009_3/Maracuja/Index.htm)>.

MOROTI, C.; MAGRI, L.F.S.; COSTA, M.D.; CAVALLINI, D.C.U.; SIVIERI, K. Effect of the consumption of a new symbiotic shake on glycemia and cholesterol levels in elderly people with type 2 diabetes mellitus. **Lipids In Health And Disease**, v.11, n.1, p. 29-36, 2012.

NEPA/UNICAMP. **Tabela brasileira de composição de alimentos** – TACO, 2011. Disponível em: <<http://www.unicamp.br/nepa/taco>>.

NIRO A. L.. Processamento do soro de leite, 2011. Disponível em: <[http://www.geafiltration.com/Portuguese/mercados\\_aplicacoes/processamento\\_de\\_soro\\_de\\_leite.htm](http://www.geafiltration.com/Portuguese/mercados_aplicacoes/processamento_de_soro_de_leite.htm)>.

PANESAR, P.S; KENNEDY, J.F.; GANDHI, D.N.; BUNKO, K. Bioutilisation of whey for lactic acid production. **Food Chemistry**, v.105, p. 1–14, 2007.

PARKER, R. B. Probiotics: the other half of the antibiotics story. **Animal Nutrition. Health**, London, v. 29, p. 4-8, 1974.

PASSOS, L.M.L; PARK, Y.K. Frutooligossacarídeos: implicações na saúde humana e utilização em alimentos. **Ciência Rural**, v. 33, p. 385-90, 2003.

PENNA, A.L.B.; OLIVEIRA M.N.; TAMINE, A.Y.; Influence of carrageenan and total solids content on the rheological properties of lactic beverage made with yogurt and whey . **Journal of Textute Studies**, São Paulo, v.34, n. 1, p. 95-113, 2003.

PERIS, G.P.; LESMES, B.; CUERDA, C.M.; ALVAREZ, C. Metabolismo colônico de la fibra. **Nutrición Hospitalaria**, v. 17, p. 11-6, 2002.

PERRIN, Y.; NUTTEN, S.; AUDRAN, R.; BERGER, B.; BIBILONI, R.; WASSENBERG, J.; BARBIER, N.; AUBERT, V.; MOULIN, J.; SINGH, A.; MAGLIOLA, C.; MERCENIER, A.; SPERTINI, F.. Comparison of two oral probiotic preparations in a randomized crossover trial highlights a potentially beneficial effect of *Lactobacillus paracasei* NCC2461 in patients with allergic rhinitis. **Clinical and Translational Allergy**, v.4, p.1, 2014.

QUEIROZ, M.S.R.; JANEIRO, D.I.; CUNHA, M.A.L.; MEDEIROS, J.S.; SABAA - SRUR, A.U.; DINIZ, M.F.F.M.; SANTOS, S.C. Effect of the yellow passion fruit peel flour (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* deg.) in insulin sensitivity in type 2 diabetes mellitus patients. **Nutrition Journal**, v.11, p.89, 2012.

RAJU, I.N.; REDDY, K.K.; KUMARI, C.K.; REDDY, E.B.; RAO, S.D.; REDDY, C.D.; WATSON, R.R. Efficacy of Purple Passion Fruit Peel Extract in Lowering

Cardiovascular. **Journal of Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v.18, n.3, p.183-190, 2013.

RAMAIYA, S.D.; BUJANG, J.S.; ZAKARIA, M.H.; KINGA, W.S.; SAHRIRA, M.A.S. Sugars, ascorbic acid, total phenolic content and total antioxidant activity in passion fruit (*Passiflora*) cultivars. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.93, p.1198-205, 2013.

RAMOS, S.C.; FONSECA, F.A.; KASMAS, S.H.; MOREIRA, F.T.; HELFENSTEIN, T.; BORGES, N.C.; MORENO, R.A.; REZENDE, V.M.; SILVA, F.C.; IZAR, M.C. The role of soluble fiber intake in patients under highly effective lipid-lowering therapy. **Nutrition Journal**, v. 10, n.01, p.80-87, 2011.

ROBERFROID, M.B. Caloric Value of Inulin and Oligofructose. **The Journal of Nutrition**, v. 129, p. 1436S–1437S, 1999.

ROBERFROID, M.B. Functional food concept and its application to prebiotics. **Digestive and Liver Disease**, v. 34, suppl.2, p. S105-S110, 2002.

SAAD, S. M. I. Probióticos e prebióticos: o estado da arte. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 42, n. 1, p. 01-16, 2006.

SALVETTI, E.; TORRIANI, S.; FELIS, G.E. The Genus *Lactobacillus*: A Taxonomic Update. **Probiotics and Antimicrobial Proteins**, v.4, n.4, p 217-226, 2012.

SCARDOVI, V. Genus *Bifidobacterium* Orla-Jensen 1924, 472<sup>AL</sup>. In **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology**, vol. 2, pp. 1418–1434. Edited by P. H. A. Sneath, N. S. Mair, M. E. Sharpe & J. G. Holt. Baltimore: Williams & Wilkins, 1986.

SCHOLTENS, P.A.M.J.; ALLES, M.S.; BINDELS, J.G.; VAN DER LINDE, E.G.M.; TOLBOOM, J.J.M.; KNOL, J. Bifidogenic effects of solid weaning foods with added prebiotic oligosaccharides: A randomised controlled clinical trial. **Journal Of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, v.42, n.5, p.553-559, 2006.

SCHREZENMEIR, J., & DE VRESE, M. Probiotics, prebiotics, and synbiotics - approaching a definition. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.73, n.2, p. 361–364, 2001.

SHINOTSUKA, C.R.; ALEXANDRE, M.R.; C.M.N. Terapia nutricional enteral associada à pré, pró e simbióticos e colonização do trato gastrintestinal e vias aéreas inferiores de pacientes ventilados mecanicamente. **Revista brasileira de terapia intensiva**, v.20, n.3, 0.241, 2008.

SILVA, J.K.; CAZARIN, C.B.B.; COLOMEU, T.C.; BATISTA, A.G.; MELETTI, L.M.M.; PASCHOAL, J.A.R.; BOGUSZ JÚNIOR, S.; FURLAN, M.F.; REYES, F.G.R.; AUGUSTO, F.; MARÓSTICA JÚNIOR, M.R.; DE LIMA ZOLLNER, R. Antioxidant activity of aqueous extract of passion fruit (*Passiflora edulis*) leaves: In vitro and in vivo study. **Food Research International**, v.53, p. 882-890, 2013.

SILVEIRA, P. R.; ABREU, L.R. Rendimento e composição físico-química do queijo prato elaborado com leite pasteurizado pelo sistema HTST e injeção direta de vapor. **Ciências Agrotécnicas**, v.27, n.6, p.1340-1347, 2003.

SIMIRGIOTIS, M.J.; SCHMEDA-HIRSCHMANN, G.; BORQUEZ, J.; KENNELLY, E.J. The *Passiflora tripartita* (Banana Passion) Fruit: A Source of Bioactive Flavonoid C-Glycosides Isolated by HSCCC and Characterized by HPLC–DAD–ESI/MS/MS. **Molecules**, v.18, n.2, p.1672-1692, 2013.

STEFE, C.A.; ALVES, M.A.R.; RIBEIRO, R.L. Probiótico, Prebióticos e Simbióticos – Artigo de Revisão. **Saúde & Ambiente em Revista**, v.3, n.1, p. 16-33, 2008.

STENSSON, M.; KOCH, G.; CORIC, S.; ABRAHAMSSON, T.R.; JENMALM, M.C.; BIRKHED, D.; WENDT, L.K. Oral administration of *Lactobacillus reuteri* during the First Year of Life Reduces Caries Prevalence in the Primary Dentition at 9 Years of Age. **Caries Research**, v.48, n.2, p.111-117, 2014.

STRINGHETA, P.C.; OLIVEIRA, T.T.; GOMES, R.C.; AMARAL, M.P.H.; CARVALHO, A.F.; VILELA, M.A.P. Políticas de saúde e alegações de propriedades funcionais e de saúde para alimentos no Brasil. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 43, n. 2, p. 181-194, 2007.

USDA (UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE). Dairy: world markets and trade, Dez. 2013. Disponível em: <<http://www.fas.usda.gov/psdonline/circulars/dairy.pdf>>.

WATSON, R.R.; ZIBADI, S.; RAFATPANAH, H.; JABBARI, F.; GHASEMI, R.; GHAFARI, J.; AFRASIABI, H.; FOO, L.Y.; FARIDHOSSEINI, R. Oral administration of the purple passion fruit peel extract reduces wheeze and cough and improves shortness of breath in adults with asthma. **Nutrition Research**, v.28, n.3, p.166-171, 2008.

YUN, J.W. Fructooligosaccharides-Occurrence, preparation, and application. **Enzyme and Microbial Technology**, v.19, 1996.

ZERAIK, M.L.; PEREIRA C.A.M.; ZUIN, V.G.; YARIWAKE, J.H. Maracujá: um alimento funcional? **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 3, p. 459-471, 2010.

ZERAIK, M.L.; SERTEYN, D.; DEBY-DUPONT, G.; WAUTERS, J.-N.; TITS, M.; YARIWAKE, J.H.; ANGENOT, L.; FRANCK, T. Evaluation of the antioxidant activity of passion fruit (*Passiflora edulis* and *Passiflora alata*) extracts on stimulated neutrophils and myeloperoxidase activity assay **Food Chemistry**, v.128, n.2, p.259-265, 2011.

ZERAIK, M.L.; YARIWAKE, J.H. Quantification of isoorientin and total flavonoids in *Passiflora edulis* fruit pulp by HPLC-UV/DAD. **Microchemical Journal**, v. 96, p. 86-91, 2010.

# Objetivos

## **4 Objetivos**

### **4.1 Objetivo Geral**

- Desenvolver formulações de bebida láctea sabor maracujá elaboradas com culturas probióticas e frutooligossacarídeos.

### **4.2 Objetivos Específicos**

- Selecionar a/as formulação/ões com melhores resultados quanto à avaliação sensorial;
- Caracterizar a/as formulação/ões selecionada/s quanto à avaliação físico-química e microbiológica;
- Verificar a estabilidade da/s formulação/ões selecionada/s durante o período de estocagem.

# Resultados



## **5 Resultados**

### **5.1 ARTIGO: CARACTERÍSTICAS SENSORIAIS, FÍSICO-QUÍMICAS E ESTABILIDADE DA BEBIDA LÁCTEA FERMENTADA SABOR MARACUJÁ COM POTENCIAL SIMBIÓTICO**

## RESUMO

O uso de alimentos funcionais para fornecer benefícios é uma extensão da tradicional intervenção nutricional, sendo esse um mercado com grande potencial, onde os alimentos já existentes no comércio representam uma pequena fração do que ainda pode ser explorado, se fazendo necessário o desenvolvimento de novos produtos com esse potencial. Desta forma, objetivou-se desenvolver diferentes formulações de bebida láctea fermentada sabor maracujá elaboradas com culturas probióticas e frutooligossacarídeos (FOS), visando à seleção de uma formulação final e, por conseguinte, a caracterização físico-química, microbiológica e a estabilidade do produto, durante o armazenamento. A partir de planejamento experimental foram desenvolvidos 5 formulações de bebidas lácteas fermentadas sabor maracujá com a finalidade de avaliar a influência do percentual do soro de leite e FOS sobre os atributos sensoriais (aroma, cor, textura, sabor e avaliação global) e sobre a intenção de compra. As formulações foram submetidas ao teste de aceitação e intenção de compra, onde o ensaio 4 (40% de soro lácteo e 6% de FOS) foi selecionado por obter melhores médias para os atributos de sabor e avaliação global e melhor índice de aceitabilidade. Este ensaio foi submetido as análises físico-químicas e avaliação da estabilidade dos microrganismos probióticos e do *Streptococcus thermophilus* nos tempos 1, 7, 14, 21 e 28 dias de estocagem refrigerada. Os resultados das análises físico-químicas demonstraram-se em adequação com a legislação vigente, para bebidas lácteas fermentadas com adição. O ensaio 4 apresentou boa estabilidade quanto ao pH, acidez e atendeu a contagem mínima de  $10^8$ UFC para *Lactobacillus acidophilus*, se considerado 100ml do produto. Deste modo, a bebida láctea fermentada sabor maracujá elaborada nas condições deste estudo apresentou-se como um produto com potencial funcional.

**Palavra-chave:** *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium bifidum*, soro do leite; alimentos funcionais.

## ABSTRACT

The use of functional foods to provide benefits is an extension of traditional nutritional intervention and this is a market with great potential, where existing food trade represents a small fraction of which can still be explored, making it necessary to develop new products with this potential. Thus, the objective of this study was to develop formulations of fermented dairy drink flavored with passion fruit and prepared with probiotic cultures and fructooligosaccharides ( FOS ), for selection and thus verify its physical-chemical, microbiological and long shelf life. From an experimental design were developed five formulations of fermented dairy beverages flavored with passion fruit to know the influence of the percentage of whey and FOS on the sensory attributes (color, aroma, texture, flavor and overall acceptability) and on the purchase intent. The formulations prepared were evaluated with consumer testing and purchase intent, the test 4 (40% whey and 6% FOS) was selected with best averages for attributes of flavor and overall acceptability and the best index acceptability. This test was evaluated for physico-chemical analysis (pH e titratable acidity) and for stability of probiotic microorganisms and *Streptococcus thermophilus* in periods 1 7, 14, 21 and 28 days of storage. The results of physico-chemical analysis demonstrated suitability for the product in question, and was in accordance with Brazilian legislation. The test 4 showed good stability for pH, acidity and the minimum count for  $10^8$  UFC *Lactobacillus acidophilus*, considering 100 ml of product. Therefore, the fermented dairy drink flavored with passion fruit prepared under the conditions of this study was presented as a product with functional potential.

**Key Words:** *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium bifidium*, whey; functional foods.

## 1. Introdução

A expectativa de vida das pessoas vem aumentando, agregado a isso estão uma maior incidência de doenças crônicas não transmissíveis, tais como diabetes, hipertensão (BALDISSERA et al., 2011). Em resposta ao aumento do número de consumidores interessados em melhorar a sua saúde, a indústria de alimentos vem desenvolvendo uma variedade de novos produtos funcionais (GRANATO et al., 2010).

A legislação brasileira não possui uma definição para alimento funcional, mas define e regulamenta as substâncias bioativas e probióticos isolados com alegação de propriedade funcional ou de saúde. Dentre as substâncias com alegação de propriedade funcional aprovada encontra-se os probióticos, dos gêneros *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* e *Enterococcus*, e os frutooligossacarídeos, que devem fornecer no mínimo 3g de fibras se o alimento for sólido ou 1,5g se o alimento for líquido (ANVISA, 2008)

Os alimentos funcionais disponíveis no mercado representam apenas uma pequena parcela das potenciais oportunidades. Para o desenvolvimento de novos produtos nesse segmento é necessário se observar fatores como qualidade do produto, segurança e qualidade na procedência, ética e conservação ambiental (BALDISSERA et al., 2011; GOMES; PENNA, 2009). Atualmente existem cinco setores onde encontrar alimentos funcionais, são eles bebidas, produtos de confeitaria, produtos de panificação, cereais matinais e produtos lácteos, a exemplo das bebidas lácteas (GOMES; PENNA, 2009).

Esta última é definida segundo a Instrução Normativa 16/2005, como sendo o produto resultante da mistura de leite e soro acrescido ou não de produtos, substâncias alimentícias, gordura vegetal, leite fermentado, fermentos lácteos selecionados e outros produtos lácteos. A base láctea representa pelo menos 51% do total de ingredientes do produto (BRASIL, 2005).

Como descrito na legislação vigente, as bebidas lácteas podem ser acrescidas de outros ingredientes, a exemplo da utilização de frutas, que agreguem além de sabor, aspectos benéficos para a saúde do homem, e o maracujá está entre essas frutas com potencial, por apresentar altos teores de vitaminas e minerais como o potássio, fósforo, magnésio e vitamina C (NEPA/UNICAMP, 2011).

O conhecimento das propriedades sensoriais é fundamental no desenvolvimento de novos produtos, pois a partir dele é possível otimizar o método de processamento, a proporção e os tipos de ingredientes utilizados na fabricação do produto, a fim de se

obter um alimento com perfil sensorial de grande aceitação pelos consumidores (LOURES et al., 2010).

A legislação brasileira vigente conceitua probióticos como sendo microrganismos vivos capazes de melhorar o equilíbrio microbiano intestinal produzindo efeitos benéficos à saúde do indivíduo (BRASIL, 2002). Os prebióticos são compostos não digeríveis, que afetam benéficamente o hospedeiro, estimulando a proliferação de bactérias desejáveis no cólon como, por exemplo, bactérias ácido lácticas (BAL) e probióticas (SAAD, 2006). A interação entre probiótico e prebiótico resulta num produto simbiótico, que agrega os benefícios de ambos.

O presente trabalho teve como objetivo desenvolver bebida láctea fermentada sabor maracujá com potencial simbiótico e investigar suas propriedades sensoriais, físico-químicas e microbiológicas durante o armazenamento, por 28 dias.

## **2. Material e métodos**

### **2.1 Material**

Para elaboração do inoculo foram utilizadas culturas de bactérias probióticas liofilizadas Bio Rich® (Christian Hansen Ind. e Com. Ltda, Valinhos, SP, Brasil, contendo culturas de *L. acidophilus* LA-5, *Bifidobacterium* BB-12 e *S. thermophilus*) e leite em pó desnatado (Nestlé®). Para obtenção do soro utilizou-se leite pasteurizado com 3% de gordura e coagulante líquido HA-LA (Christian Hansen Ind. e Com. Ltda, Valinhos, SP, Brasil, contendo enzima microbiana produzida por cepa de *Aspergillus Níger* var. *awamori*). Para as formulações de bebida láctea foi utilizado leite em pó desnatado (Nestlé®); açúcar cristal refinado, para adoçar as formulações; e frutoligossacarídeo (FOS) (SKL Pharma®). Todos os produtos anteriormente citados foram adquiridos no comércio local. Para elaboração da polpa foram utilizados maracujás (*Passiflora edulis*) adquiridos no Centro de Abastecimento Alimentar de Pernambuco (CEASA) do Recife.

### **2.2 Métodos**

#### **2.2.1 Planejamento experimental**

Para elaboração das bebidas lácteas fermentadas sabor maracujá foi utilizada a metodologia de superfície de resposta com a finalidade de avaliar a influência do percentual do soro de leite e FOS sobre os atributos sensoriais Aroma, Cor, Textura, Sabor e Avaliação Global, como também sobre a intenção de compra. Os ensaios

experimentais foram realizados de acordo com o planejamento fatorial de  $2^2$  completo, com 4 pontos fatoriais (níveis + 1 e -1) e 3 pontos centrais (nível 0), totalizando 7 ensaios. Os dados obtidos foram ajustados ao seguinte polinômio:

$$Y\phi(V, S) \equiv \beta_0 + \beta_1 S + \beta_2 F + \beta_{12} SF \quad \text{Equação 1}$$

Em que  $\beta_n$  são os coeficientes de regressão,  $y$  é a resposta em questão (atributos sensoriais e intenção de compra) e  $S$  e  $F$  são as variáveis codificadas (% Soro de leite e % FOS, respectivamente) A Tabela 1 apresenta as variáveis independentes codificadas e decodificadas:

Tabela 1. Planejamento fatorial  $2^2$  para elaboração de diferentes formulações de bebida fermentada láctea sabor maracujá.

Ensaio	Intervalos		Variáveis	
			Soro de leite (%)	FOS (%)
<b>B1</b>	-1	-1	20	2
<b>B2</b>	1	-1	40	2
<b>B3</b>	-1	1	20	6
<b>B4</b>	1	1	40	6
<b>B5</b>	0	0	30	4
<b>B6</b>	0	0	30	4
<b>B7</b>	0	0	30	4

### 2.2.2 Formulação das bebidas lácteas fermentadas

Todas as etapas para elaboração das bebidas lácteas fermentadas foram realizadas no Laboratório de Técnica Dietética do Departamento de Ciências Domésticas/UFRPE.

Foram elaboradas 5 formulações de bebida láctea fermentada. A preparação foi realizada em três etapas: 1) Preparo do inóculo probiótico; 2) Obtenção do soro lácteo e polpa de maracujá; 3) Preparo das bebidas lácteas fermentadas sabor maracujá.

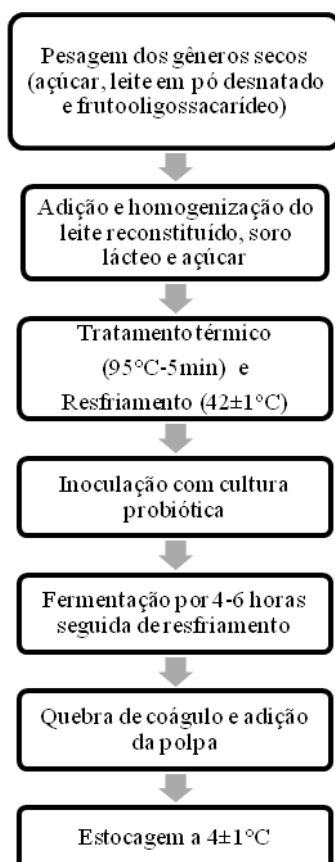
O inóculo foi preparado a partir de culturas de bactérias probióticas liofilizadas Bio Rich®. As cepas foram ativadas em leite em pó desnatado reconstituído a 10%, para tal o leite reconstituído foi pasteurizado em banho térmico (TE-184 Tecnal) a 95°C

durante 5 minutos, resfriado a aproximadamente 42°C, para adição do fermento lácteo e por fim levado a estufa a 42±1°C por 4 horas.

O soro lácteo foi obtido utilizando-se leite pasteurizado com 3% de gordura e coagulante líquido HA-LA, de acordo com metodologia para elaboração de queijo (FURTADO;NETO, 1994). Para o preparo da polpa de maracujá, os frutos passaram pelas seguintes etapas: seleção, lavagem em água corrente e sanitização em solução de hipoclorito de sódio 200 ppm durante 15 minutos, seguido do despulpamento e extração das sementes, utilizando liquidificador com filtro interno. A polpa de maracujá foi pasteurizada em banho térmico (TE-184 Tecnal) a 85°C durante 5 minutos e congeladas a -18°C.

O preparo das bebidas lácteas fermentadas teve início com a pesagem dos gêneros secos: açúcar, leite em pó desnatado e frutooligossacarídeo. Adicionou-se o leite desnatado reconstituído a 12%, o soro lácteo e o açúcar 8% (v/v), com posterior homogenização e pasteurização em banho térmico a 95°C por 5 minutos, seguindo de resfriamento a 42±1°C em banho de água, em seguida foi realizada a inoculação da cultura probiótica a 2% (v/v). A fermentação ocorreu em estufa a 42±1°C por 4 a 6 horas, até atingir pH próximo a 4,7, passado esse período as bebidas foram resfriadas a aproximadamente 4°C, seguidas das etapas de quebra de coágulo, adição da polpa de maracujá 5% (v/v) e homogeneização. Logo após as bebidas elaboradas foram mantidas sob refrigeração (4±1°C) para posteriores análises (Figura 1).

Figura 1. Fluxograma das etapas de elaboração das bebidas lácteas fermentadas sabor maracujá.



### 2.2.3 Análise sensorial

A presente pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa envolvendo seres humanos do Centro de Ciências da Saúde da Universidade de Pernambuco (CEP/CCS/UPE N° 447.604) (Anexo 1) e o termo de consentimento foi assinado por todos os participantes (Anexo 2).

As formulações foram submetidas ao teste de aceitação e intenção de compra em cabines individualizadas e ambiente climatizado pertencente ao Laboratório de Análise Sensorial do Departamento de Ciências Domésticas/ Universidade Federal Rural de Pernambuco (DCD/UFRPE).

A análise sensorial foi realizado com 62 consumidores (45 mulheres e 17 homens) não treinados e recrutados entre visitantes, alunos e funcionários da UFRPE, com idades entre 18-49 anos. Cada julgador avaliou os sete ensaios de bebidas lácteas fermentadas através de uma Ficha de Análise Sensorial (Anexo 3). Para o teste de aceitação foi utilizada escala de 9 pontos para avaliar 5 atributos (cor, sabor, aroma,



textura, qualidade global), sendo 9 “gostei extremamente” e 1 “desgostei extremamente”. Para o teste de intenção de compra a escala hedônica foi de 5 pontos, onde 5 representou “certamente compraria” e 1 “jamais compraria”. Além desses testes foram feitas duas perguntas fechadas: 1) Qual é a sua frequência de consumo (menos do que uma vez por semana, ou mais do que uma vez por semana) de produtos lácteos fermentados, como a bebida láctea? 2) Você conhece os benefícios para a saúde (sim ou não) associados com produtos lácteos fermentados?

As sete amostras de bebida láctea foram servidas aos julgadores em copos de plástico de 50 mL a  $4\pm^{\circ}\text{C}$ , junto com água e biscoitos sem sal, para limpeza das papilas gustativas. Cada amostra foi codificada com três dígitos casuais e apresentadas monadicamente aos provadores.

Calculou-se o índice de aceitabilidade (IA) para cada um dos atributos avaliados de acordo com Teixeira; Meinert; Barbetta (1987).

(Equação 2):

$$\text{IA (\%)} = Y \times 100/Z \text{ Equação 2}$$

Onde:

Y = nota média obtida para o produto

Z= Nota máxima obtida

#### **2.2.4 Análises físico-químicas**

A bebida láctea selecionada, através da análise sensorial, foi submetida as análises físico-químicas (pH e acidez titulável) nos tempos 1, 7, 14, 21 e 28 dias de estocagem, sob refrigeração ( $4^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ ). As análises de determinação de extrato seco total, resíduo mineral fixo, atividade de água, lipídios, proteínas totais, glicídios redutores em lactose, glicídios não redutores em sacarose, sólidos solúveis e cor foram realizadas apenas após o processamento, por serem parâmetros não condicionados as variações significativas durante o armazenamento. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

##### *pH e acidez titulável*

Para a determinação de pH foi utilizado potenciômetro digital (Tecnal - Tec - 3MP), previamente calibrado, com soluções tampão de pH 7,0 e pH 4,0, operando-o de acordo com as instruções do fabricante. A acidez foi realizada mediante titulação com

solução de hidróxido de sódio 0,1 N na presença da fenolftaleína como indicador, sendo os resultados expressos em % de ácido láctico (AOAC, 2002).

#### *Umidade*

A amostra foi seca em estufa, com temperatura estabilizada a 105°C por 24 horas consecutivas, até obtenção de peso constante (AOAC, 2002).

#### *Resíduo mineral fixo*

O teor de resíduo mineral fixo ou cinzas, foi determinado por carbonização seguida de incineração em forno mufla estabilizado a 550 °C (AOAC, 2002).

#### *Atividade de água*

Para a determinação de atividade de água foi utilizado o equipamento da Aqua Lab 4TE do modelo Decagon Devices.

#### *Lipídios*

O teor de extrato etéreo foi determinado pela extração da fração lipídica da amostra por meio de éter etílico utilizando extrator Soxhlet (AOAC, 2002).

#### *Proteínas totais*

As proteínas totais foram determinadas pelo método de Kjeldahl, com fator de conversão de nitrogênio total em proteína 6,38 multiplicando esse fator pela porcentagem de nitrogênio (AOAC, 2002).

#### *Glicídios redutores em lactose e Glicídios não redutores em sacarose*

As análises foram realizadas segundo o método de redução de Fehling, expressando-se os resultados em % de glicídios redutores em lactose e % glicídios não redutor em sacarose (AOAC, 2002).

#### *Sólidos solúveis*

A leitura dos sólidos solúveis expressa em °Brix foi realizada por meio de refratômetro da marca AUS-JENA , devidamente calibrado com água destilada.

### Cor

A cor foi avaliada utilizando colorímetro marca KONICA MINOLTA, modelo Chroma Meter CR 400 pelo sistema de cor CIElab, onde foram medidas as coordenadas: L\*, que representa a luminosidade numa escala de 0 (preto) a 100 (branco); a\* que representa uma escala de tonalidade de vermelho (0+a) a verde (0-a) e b\*.

#### 2.2.5 Análises microbiológicas

Com o intuito de assegurar a saúde dos provadores as amostras foram submetidas a análises de coliformes totais (30°/35°), coliformes fecais (45°) seguindo a IN 62/2003 e presença de *Salmonella* sp/25ml realizada pelo método 996.08, antes da análise sensorial (BRASIL, 2003; AOAC, 2002).

#### *Avaliação da viabilidade microbiológica durante o armazenamento*

A avaliação da estabilidade dos microrganismos probióticos e do *Streptococcus thermophilus* foi realizada nos tempos 1, 7, 14, 21 e 28 dias de estocagem, sob refrigeração (4°C ± 1°C), com a formulação de bebida láctea que obteve as maiores médias quanto aos atributos sabor, avaliação global e intenção de compra.

Para quantificação do *Streptococcus thermophilus* utilizou-se meio ágar M17 segundo metodologia de Patrick et al.(2000), incubado em aerobiose a 37°C por 48h, de acordo com Zacarchenco & Massaguer-Roig (2004). O ágar MRS (Man, Rogosa and Sharpe) modificado com adição de 0,15% (m/v) de bile (MRS-Bile) foi utilizado para contagem de *L. acidophilus* LA-5 e modificado com adição de 0,2% (m/v) de cloreto de lítio e 0,3% (m/v) de propionato de sódio (MRS-LP) para quantificação de *Bifidobacterium bifidium* BB12. As placas foram incubadas a 37°C por 72h, sendo a MRS-Bile em aerobiose e a MRS-LP em anaerobiose (Anaerocult®) (VINDEROLA; REINHEIMER, 2000). Os plaqueamentos foram realizados em duplicata e as contagens descritas em log/UFC ml.

#### 2.2.6 Métodos estatísticos

Através do programa computacional Statistica for Windows 7.0 (STATSOFT, 2004), os dados foram avaliados pela ANOVA utilizando o teste de Duncan para comparação entre as médias, ao nível de 5% de significância.

### 3. Resultados e Discussão

#### 3.1 Análise Sensorial

Todas as bebidas lácteas apresentaram resultados dentro dos limites exigidos pela legislação brasileira (BRASIL, 2005; BRASIL, 2001), comprovando a qualidade higiênico-sanitária das formulações.

As médias obtidas pelo teste de aceitação estão apresentadas na Tabela 2 não houve diferença significativa entre os ensaios avaliados para os atributos aroma, cor e textura. Nos atributos de sabor e avaliação global apenas o ensaio 4, com médias de 7,58 e 7,48, respectivamente, diferiu significativamente dos demais ensaios.

Tabela 2. Média dos resultados da análise sensorial das variáveis dependentes do Planejamento fatorial 2<sup>2</sup> para formulações de bebida láctea fermentada sabor maracujá.

Ensaio	% Soro de Leite	%FOS	Aroma	Cor	Textura	Sabor	Avaliação Global
1	20	2	7,34a	6,98a	6,54a	6,47b	6,80b
2	40	2	6,82a	7,13a	6,54a	6,98b	6,90b
3	20	6	6,74a	7,11a	6,80a	6,96b	6,77b
4	40	6	6,84a	7,44a	7,13a	7,58a	7,48a
5	30	4	6,72a	7,08a	6,71a	6,98b	6,96b
6	30	4	7,15a	7,15a	6,62a	6,93b	6,90b
7	30	4	7,06a	7,29a	7,13a	6,90b	6,94b

\*Médias seguidas de letras iguais na vertical não diferem significativamente ao nível de 5% pelo teste de Duncan.

Na Tabela 3 estão descritos os resultados referentes ao percentual de notas atribuídas na intenção de compra para cada item avaliado. Observa-se que o item “talvez compraria” foi o que apresentou maiores valores para os ensaios avaliados, com exceção do ensaio 3 e 4, cujo maior percentual foi atribuído ao item “certamente compraria”.

Tabela 3. Percentual das notas obtidas no teste de intenção de compra de diferentes formulações de bebida láctea fermentada sabor maracujá.

Ensaio	Intenção de Compra (%)				
	Jamais compraria	Talvez não compraria	Talvez compraria/ Talvez não compraria	Talvez compraria	Certamente compraria
1	8,20	11,47	19,67	36,07	24,59
2	9,84	9,84	9,84	44,26	26,22
3	1,64	9,84	14,75	34,43	39,34
4	4,92	3,28	21,31	27,87	42,62
5	4,92	18,03	19,67	32,79	24,59
6	3,64	16,75	18,95	36,07	24,59
7	5,99	17,53	17,39	34,29	24,80

Observa-se que as maiores notas nos atributos sabor e avaliação global, como também em “certamente compraria”, na intenção de compra, foram obtidas com maiores percentuais de soro e FOS (Tabela 2 e Tabela 3). De acordo com a Tabela 4, correspondente aos efeitos significativos, que analisa estatisticamente a influência da variável no processo, levando em consideração a faixa estudada evidencia-se que não houve influência ( $p \geq 0,05$ ) do soro lácteo e do FOS nos atributos aroma, cor e textura.

Tabela 4. Efeitos das variáveis independentes sobre os atributos sensoriais e intenção de compra de bebida láctea fermentada sabor maracujá.

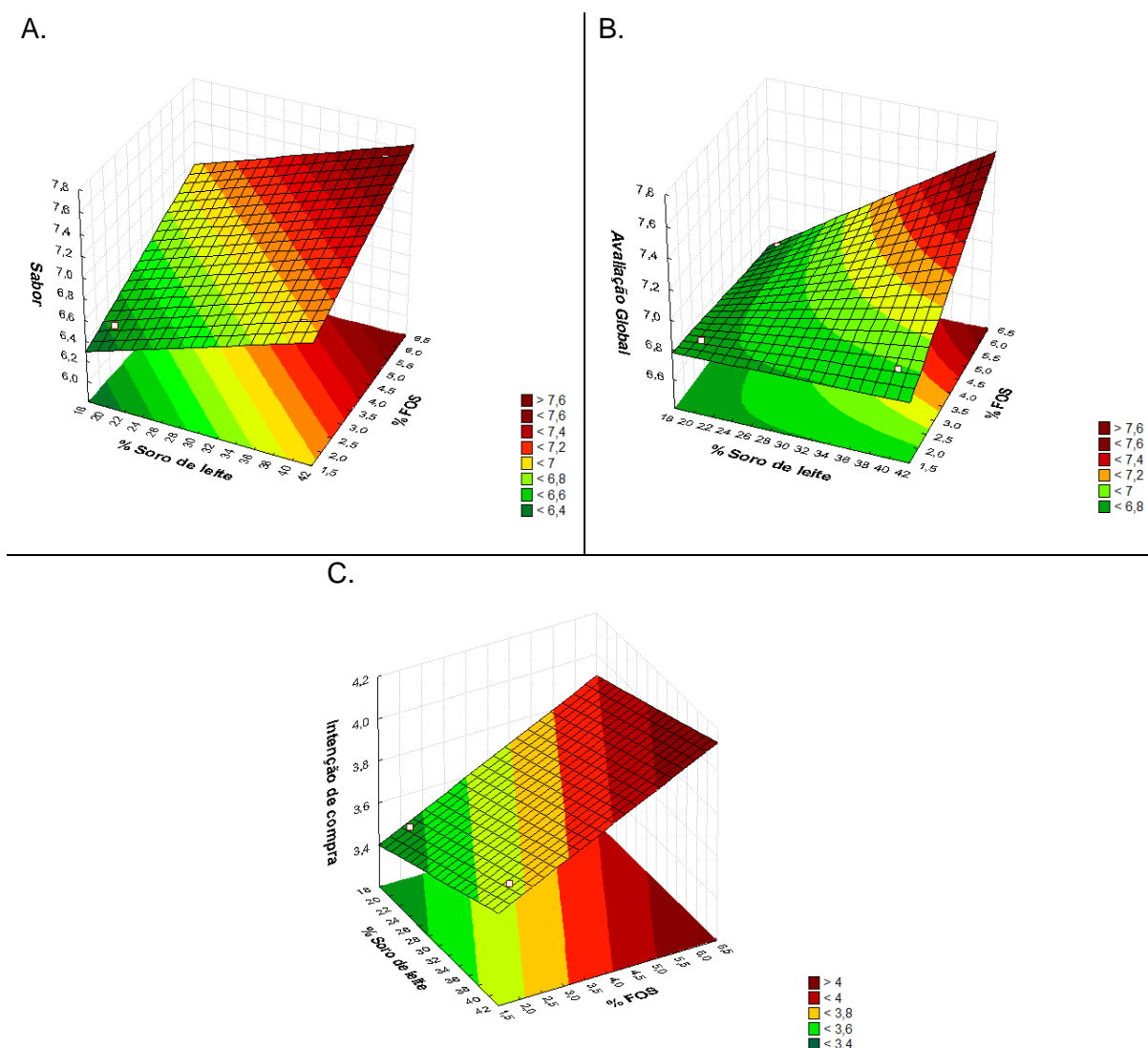
Coefficiente	Aroma	Cor	Textura	Sabor	Avaliação Global	Intenção de Compra
<b>B<sub>0</sub></b>	6,95	7,17	6,78	6,97	6,96	3,77
<b>B<sub>S</sub></b>	NS	NS	NS	0,56	0,41	0,20
<b>B<sub>F</sub></b>	NS	NS	NS	0,54	0,27	0,40
<b>B<sub>SF</sub></b>	NS	NS	NS	NS	0,31	NS
<b>R<sup>2</sup></b>	0,679	0,832	0,601	0,985	0,980	0,950

B<sub>0</sub>: média das notas obtidas em cada atributo; B<sub>S</sub>: efeito do % de soro lácteo sobre os atributos; B<sub>F</sub>: efeito do % de frutooligossacarídeo (FOS) sobre os atributos; NS: não significativo ( $p \geq 0,05$ ).

Na Figura 2 estão apresentadas as superfícies de resposta referentes ao sabor (Figura 2A), avaliação global (Figura 2B) e intenção de compra (Figura 2C).

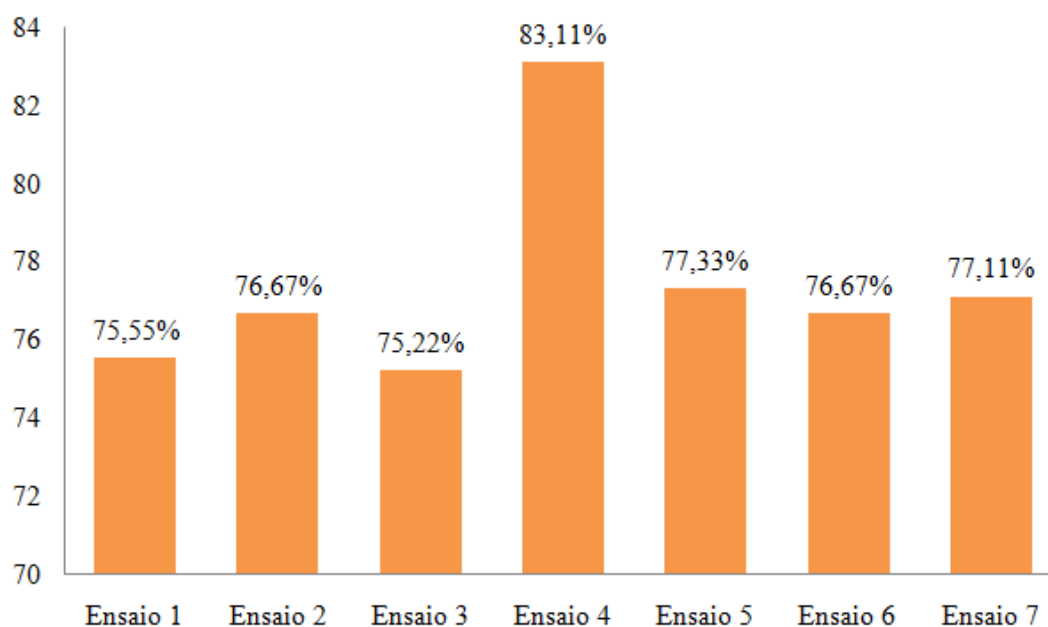
Observa-se nas Figuras 2A e 2B que as maiores notas nos atributos sabor e avaliação global foram obtidas com maiores percentuais de soro lácteo e FOS. Em relação à Figura 2C, podemos constatar que o percentual de FOS teve maior influência na intenção de compra do que o percentual de soro, o que comprova que o percentual de FOS será decisivo na compra do referido produto pelos consumidores. Tal fato pode está relacionado ao sabor doce do FOS, que é similar a sacarose. (YUN, 1996).

Figura 2. Superfície de resposta do Sabor, Avaliação Global e Intenção de Compra em função do percentual do soro de leite e FOS.



Na Figura 3 observa-se que dos sete ensaios avaliados, todos apresentaram valor de Índice de Aceitabilidade (IA) superior a 70%, segundo Teixeira et al. (1987) o produto para ser aceito é necessário que o mesmo obtenha um IA de no mínimo 70%, sendo assim, todos foram considerados aceitos sensorialmente, porém, o ensaio 4 destacou-se com 83,11% de aceitabilidade. Esses resultados ratificam o maior percentual das notas obtidas em “certamente compraria” para o ensaio 4, ou seja, os provadores tiveram maior aceitação do produto com maior percentual em soro lácteo e FOS.

Figura 3. Índice de Aceitabilidade de formulações de bebida láctea sabor maracujá submetidas à análise sensorial.



Ensaio 1- Bebida láctea com 20% de soro de leite e 2% de FOS; Ensaio 2- Bebida láctea com 40% de soro de leite e 2% de FOS; Ensaio 3- Bebida láctea com 20% de soro de leite e 6% de FOS; Ensaio 4- Bebida láctea com 40% de soro de leite e 6% de FOS; Ensaios 5,6 e 7- Bebida láctea com 30% de soro de leite e 4% de FOS.

A utilização de maiores proporções de soro lácteo proporciona um alto valor nutricional à bebida láctea fermentada formulada, já que esse subproduto extraído da coagulação do leite retém aproximadamente 55% dos nutrientes deste leite (LEITE et al., 2012). SANTOS et al. (2008) ao analisar a influência da concentração de soro na aceitação sensorial de bebida láctea fermentada saborizada com polpa de manga, obteve

melhor aceitabilidade na formulação com 40% de soro lácteo, o mesmo nível de substituição da presente pesquisa.

Em relação ao consumo e conhecimento sobre os benefícios dos produtos lácteos fermentados, cerca de 71% dos provadores consumiam mais de uma vez por semana tais produtos e aproximadamente 84% tinham noção dos benefícios trazidos pelo consumo regular.

De acordo com os resultados obtidos na análise sensorial selecionou-se o ensaio 4 para caracterização físico-química, microbiológica e vida de prateleira.

### 3.2 Caracterização físico-química do ensaio selecionado

Na Tabela 5 estão apresentados os resultados médios da caracterização físico-química da bebida láctea com 40% de soro lácteo e 6% de FOS.

Na amostra avaliada os valores de umidade e cinzas foram próximos aos encontrados por Ramos et al. (2013) (81,52% a 81,87%) (0,63 a 0,74), respectivamente, em estudo com diferentes formulações de bebida láctea probiótica com 60% de leite e 40% de soro lácteo. Dias et al. (2013) (0,84) em estudo com bebida láctea fermentada simbiótica também identificou resultados semelhantes para cinzas.

De acordo com a Resolução nº05/2000, que estabelece os Padrões de Identidade e Qualidade (PIQ) de Leites Fermentados, pode-se classificar o produto estudado como desnatado, por possuir teor de matéria gorda inferior a 0,5g/100ml (BRASIL, 2000).

Tabela 5. Análises físico-químicas de bebida láctea fermentada sabor maracujá com 40% de soro lácteo e 6% de frutooligossacarídeos (FOS) após processamento.

Análises físico-químicas	Ensaio 4
Umidade (g/100ml)	81,23 ± 0.49
Cinzas (g/100ml)	0,79 ± 0.01
Lipídios (g/100ml)	0,36 ± 0.01
Proteínas totais (g/100ml)	1,49 ± 0.01
Glicídios redutores em lactose (g/100ml)	4,49 ± 0.06
Glicídios não redutores em sacarose(g/100ml)	6,67 ± 0.15
Sólidos solúveis totais (°Brix)	17,15 ± 0.07
Atividade de água (Aw)	0,99 ± 0.00
Cor (L*a*b*)	L* 80,55 ± 0.16 /a* - 3,84 ± 0.03 /b* 9,39 ± 0.11



O teor de proteína identificado de 1,49g/100ml de proteína com origem láctea, está em conformidade ao preconizado pela legislação brasileira, que é de no mínimo 1,0g/100ml para bebida láctea fermentada com adição de substâncias não lácteas (BRASIL, 2005). Valores inferiores de lipídios (0,2g/100ml) e superiores de proteína (2,02g/100ml) foram encontrados por Frutuoso et al. (2012) em estudo com bebida láctea fermentada sabor maracujá, tal diferença pode ser atribuída a origem do soro lácteo, já que o autor utilizou soro caprino e o presente estudo soro de vaca.

Os valores encontrados para glicídios redutores em lactose foram superiores ao encontrado por Jardim et al. (2012) (2,18% a 3,24%) ao desenvolver e avaliar quatro formulações de bebidas lácteas. Para os glicídios não redutores em sacarose, Gerhardt et al. (2013) ao estudar a influência da concentração do soro lácteo na aceitabilidade de bebida láctea de manga, obteve valores inferiores de 8,07% a 10,9% em sacarose nas suas formulações, cuja diferença foi atribuída possivelmente às diferentes concentrações de sacarose utilizadas para compor as bebidas. No presente estudo foram utilizados 8% (v/v), enquanto que no estudo citado foram 12% (v/v).

Para o teor de sólidos solúveis totais o valor encontrado foi superior ao achado por Dias et al. (2013) (14,0 g/100ml) ao analisarem a estabilidade físico-química de bebida láctea fermentada simbiótica, utilizando polpa de yacon, durante 21 dias de armazenamento, verificaram que os sólidos solúveis totais mantiveram-se durante o armazenamento.

A atividade de água ( $A_w$ ) superior a 0,9 demonstra que o produto avaliado apresenta alta perecibilidade. Caldeira et al. (2010) ao avaliar as características físico-químicas de bebidas lácteas sabor morango, utilizando como variáveis iogurte e soro lácteo, obtiveram resultados iguais ao obtido neste estudo ( $a_w=0,99$ ), nos tratamentos T3 (30% soro e 60% iogurte), T4 (40% soro e 50% iogurte) e T5 (50% soro e 40% iogurte).

Na análise de cor, a partir do sistema CIElab, foram obtidos os resultados de  $L^*$  com proximidade a coloração branca (80,55), compatível por se tratar de um produto lácteo,  $a^*$  negativos (- 3,84) em direção ao verde, devido a cor esverdeada do soro e  $b^*$  positivos (9,39) em direção ao amarelo, ocorrido em função da adição da polpa de maracujá. Os resultados de  $L^*a^*b^*$  foram próximos ao encontrado por Dias et al. (2013) ( $L^*$  81,26/  $a^*$  -4,63/  $b^*$  9,22) no 21º dia de armazenamento de bebida láctea simbiótica.

### 3.3 Estabilidade do ensaio selecionado

Na Tabela 6 pode-se observar os valores de pH e acidez titulável nos tempos 0, 7, 14, 21 e 28 dias de armazenamento a temperatura de 4°C da bebida láctea fermentada sabor maracujá.

Durante todo o período o pH das bebidas variaram de 4,62 a 4,73. Nos tempos 0 e 7, o pH apresentou maior redução, fato confirmado pela diferença significativa ( $p>0,05$ ) desses dois primeiros tempos em comparação aos outros, tal comportamento também foi observado por Frutuoso et al. (2012), ao analisar a estabilidade do pH de bebidas lácteas fermentadas sabor maracujá, e o mesmo afirma que tal resultado justifica-se pela fermentação da lactose.

De acordo com Thamer & Penna (2006) a acidez está relacionado com a aceitação dos produtos lácteos fermentados e a produção de ácido láctico é responsável por proporcionar sabor ácido característico desses produtos. Durante o período de armazenamento se observa uma relação inversa entre pH e acidez, Cunha et al. (2009) também verificou tal fato, ao estudar a influência de diferentes percentagens de soro lácteo sob as propriedades físico-químicas e microbiológicas de bebidas lácteas fermentadas.

No presente estudo, observou-se que o 21º dia de armazenamento foi o que mais diferiu significativamente dos demais períodos. Resultados semelhantes de acidez foram encontrados por Cunha et al. (2009) (0,71 -0,82) e por Gerhardt et al. (2013) (0,72-0,91), na avaliação de bebidas lácteas fermentadas.

Tabela 6. Estabilidade físico-química da bebida láctea fermentada sabor maracujá com 40% de soro lácteo e 6% de frutooligossacarídeos (FOS) armazenada por 28 dias a 4°C.

PARÂMETROS	TEMPO (DIAS)				
	0	7	14	21	28
pH	4,73±0,01a	4,69±0,02b	4,64±0,01cd	4,62±0,01d	4,65±0,02c
Acidez Titulável (%ácido láctico)	0,71±0,04c	0,72±0,02c	0,78±0,02ab	0,80±0,03a	0,74±0,02bc

Letras iguais na horizontal não diferem significativamente ao nível de 5% pelo teste de Duncan

Quanto à viabilidade dos microrganismos probióticos utilizados para elaboração das bebidas lácteas fermentadas, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), define que o produto com alegação probiótica deve contribuir para o

equilíbrio da flora intestinal e estabelece que a quantidade mínima viável para os probióticos deve ser entre  $10^8$  a  $10^9$  UFC/porção durante o prazo de validade, e valores menores podem ser aceitos, desde que haja a comprovação da eficácia do produto (ANVISA, 2008).

Os valores encontrados nesse estudo para os microrganismos probióticos *Bifidobacterium bifidum* e *Lactobacillus acidophilus* no 28º dia de prateleira foram de 5,92 Log UFC/ml e 6,07 Log UFC/ml, respectivamente. A baixa contagem de *Bifidobacterium bifidum* justifica-se pela sensibilidade dessas bactérias as condições aeróbias e ácidas prevalentes em muitas matrizes alimentares (SAARELA et al., 2011) (Tabela 7).

O ensaio selecionado pode ser considerado potencialmente probiótico, pois considerando 100 ml do produto, a espécie *Lactobacillus acidophilus* atendeu a exigência de contagem mínima de  $10^8$  UFC por porção diária.

Tabela 7. Viabilidade microbiológica em bebida láctea fermentada sabor maracujá com 40% de soro lácteo e 6% de frutooligossacarídeos (FOS) armazenada por 28 dias a 4°C.

MICROORGANISMOS	TEMPO (DIAS)				
	0	7	14	21	28
<i>Bifidobacterium bifidum</i> (Log UFC/ml)	5,72±0,08	5,48±0,01	5,55±0,07	5,81±0,05	5,92±0,03
<i>Lactobacillus acidophilus</i> (Log UFC/ml)	7,44±0,06	6,25±0,07	6,43±0,07	6,44±0,06	6,07±0,11
<i>Streptococcus thermophilus</i> (Log UFC/ml)	9,98±0,06	9,48±0,17	9,94±0,10	11,07±0,02	11,13±0,06

O microrganismo *Streptococcus thermophilus* apresentou contagem elevada com 11,13 Log UFC/ml, mas de acordo com a legislação vigente essa espécie foi retirada da lista de microrganismos com alegação probiótica, pois não possuem efeito cientificamente comprovado (ANVISA, 2008).

Vários são os fatores envolvidos com a viabilidade dos probióticos dentre eles a compatibilidade entre os compostos adicionados e a cepa probiótica utilizada, como mostra em estudo de Marafon et al. (2011) que ao adicionar diferentes proteínas de leite na preparação do iogurte funcional obteve otimização na propriedades reológicas, perfil de acidificação e de células viáveis do produto.

Outro fator que influencia a sobrevivência das cepas probióticas é a tolerância a condições de baixo pH. Diversos estudos tentam encontrar técnicas para melhorar a estabilidade em meios ácidos, Saarela et al.(2011) ao utilizar UV mutagênese e fibra de aveia para melhorar a viabilidade da cepa *B. breve* 99 em suco de fruta obteve resultados promissores, mas que ainda não foram considerados suficientes para aplicação comercial.

Em estudo com suco de frutas Nualkaekul & Charalampopoulos (2011) verificaram a influência do pH, ácido cítrico e ácido ascórbico na viabilidade de *Lactobacillus plantarum* NCIMB 8826 e concluíram que valores mais altos de pH e ácido cítrico melhoram a sobrevivência da cepa probiótica em alguns sucos, porém outros não obtiveram o mesmo resultado, isso se deve aos vários componentes presentes nos diferentes sucos como compostos antimicrobianos, fibras, demonstrando a complexidade dos estudos que buscam melhorar a viabilidade dos probióticos em diferentes matrizes alimentares.

## **1. Conclusões**

A formulação do ensaio 4, com 40% de soro lácteo e 6% de FOS, foi selecionada por ter apresentando maior aceitabilidade, e maiores notas nos atributos sabor e avaliação global, como também na intenção de compra.

Com relação às análises físico-químicas, o ensaio selecionado apresentou-se dentro dos padrões de composição centesimal estabelecidos para bebida láctea fermentada e em conformidade com os parâmetros microbiológicos de qualidade higiênico-sanitária. Durante o armazenamento, o microrganismo probiótico *Lactobacillus Acidophilus*, atendeu exigência de contagem mínima de  $10^8$  UFC/ porção diária, se considerado 100 ml do produto, ao contrário do *Bifidobacterium Bifidum* que apresentou baixa viabilidade.

Assim o produto elaborado com 40% de soro lácteo e 6% de FOS pode ser considerado potencialmente funcional.

## **Referências Bibliográficas**

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. ANVISA. Alimentos. Comissões e Grupos de Trabalho. Comissão Tecnocientífica de Assessoramento em Alimentos Funcionais e Novos Alimentos. Alimentos com Alegações de Propriedades

Funcionais e ou de Saúde, Novos Alimentos/Ingredientes, Substâncias Bioativas e Probióticos. Atualizado em julho de 2008. IX - Lista de alegações de propriedade funcional aprovadas. Disponível em: <[http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno\\_lista\\_alega.htm](http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno_lista_alega.htm)>

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY (AOAC) **Official methods of analysis**. 17 ed. Washington, D.C.: 2002.

BALDISSERA, A.C., BETTA, F.D., PENNA, A.L.B., LINDNER, J.D.D. Alimentos funcionais: uma nova fronteira para o desenvolvimento de bebidas protéicas a base de soro de leite. **Semina: Ciências Agrárias**, v.32, n.4, p.1497-1515, 2011.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) n. 2**, 07 de janeiro de 2002. Aprova o Regulamento Técnico de Substâncias Bioativas e Probióticos Isolados com Alegação de Propriedades Funcionais e ou de Saúde. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 9 jan. 2002. Disponível em: <<http://e-legis.bvs.br/leisref/public/showAct.php?id=9059&Word=>>>.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução **Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) n.12**, de 02 de janeiro de 2001. Aprova o Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 10 de janeiro de 2001. Disponível em: <[http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/a47bab8047458b909541d53fbc4c6735/RDC\\_12\\_2001.pdf?MOD=AJPERES](http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/a47bab8047458b909541d53fbc4c6735/RDC_12_2001.pdf?MOD=AJPERES)>.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Legislação, SISLEGIS: Sistema de Consulta à Legislação. **Instrução Normativa n. 16**, de 23 de agosto de 2005. Aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Bebidas Lácteas. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 24 ago. 2005, seção 1, p. 7.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. **Resolução n. 05**, 13 de novembro de 2000. Oficializa os padrões de identidade e qualidade (PIQ) de leites fermentados. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 27 nov. 2000, Seção 1, p. 9.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. **Instrução Normativa n. 62**, de 26 de agosto de 2003. Oficializa

os Métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 18 set. 2003, seção 1, p. 14.

CALDEIRA, L. A.; FERRÃO, S.P.B.; FERNANDES, S.A.A; MAGNAVITA, A.P.A.; SANTOS, T.D.R. Desenvolvimento de bebida láctea sabor morango utilizando diferentes níveis de iogurte e soro lácteo obtidos com leite de búfala. **Ciência Rural**, v.10, n.10, p. 2193-2198, 2010.

CUNHA, T. M.; ILHA, E. C.; AMBONI, R. D. M. C.; BARRETO, P. L. M.; CASTRO, F. P. A influência do uso de soro de queijo e bactérias probióticas nas propriedades de bebidas lácteas fermentadas. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 12, n. 1, p. 23-33, 2009.

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

FRUTUOSO, A.E.; ANDRADE, P.L.; PEREIRA, J.O.P. Inovação no desenvolvimento de bebida láctea fermentada com leite de vaca e soro de queijo de cabra. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v.67, n. 386, p. 29-37, 2012.

FURTADO, M. M.; LOURENÇO NETO, J. P. M. **Tecnologia de queijos: manual técnico para produção industrial de queijos**. São Paulo: Dipemar, 1994. 118 p.

GERHARDT, A.; MONTEIRO, B.W.; GENNARI, A.; LEHN, D.N.; SOUZA, C.F.V. Características físico-químicas e sensoriais de bebidas lácteas fermentadas utilizando soro de ricota e colágeno hidrolisado. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v.68, n. 390, p. 41-50, 2013.

GOMES, R.G.; PENNA, A.L.B. Características reológicas e sensoriais de bebidas lácteas funcionais. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.30, n.3, p.629-646, 2009.

GRANATO, D.; BRANCO, G.F.; CRUZ, A.G.; FARIA, J.A.F.; SHAH, N.P. Probiotic Dairy Products as Functional Foods Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. **Institute of Food Technologists**, v. 9, 2010.

JARDIM, F. B. B.; SANTOS, E. N. F.; ROSSI, D. A.; MELO, R. T.; MIGUEL, D. P.; ROSSI, E. A.; SYLOS, C. M. Desenvolvimento de bebida láctea carbonatada. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 23, n. 2, p. 275-286, 2012.

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**, v.2012, ID 303874, 9p., 2012.

LOURES, M.M.R.; MINIM, V.P.R.; CERESINO, E.B.; CARNEIRO, R.C.; MINIM, L.A. Análise descritiva por ordenação na caracterização sensorial de iogurte diet sabor morango enriquecido com concentrado protéico do soro. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 31, n. 3, p. 661-668, 2010.

MARAFON, A.P.; SUMI, A.; ALCÂNTARA, M.R.; TAMIME, A.Y.; OLIVEIRA, M.N. Optimization of the rheological properties of probiotic yoghurts supplemented with milk proteins. **Lebensmittel-Wissenschaft Technologie**, n. 44, p. 511–519, 2011.

NEPA/UNICAMP. **Tabela brasileira de composição de alimentos** – TACO, 2011. Disponível em: <<http://www.unicamp.br/nepa/taco>>.

NUALKAEKUL, S.; CHARALAMPOPOULOS, D. Survival of *Lactobacillus plantarum* in model solutions and fruit juices. **International Journal of Food Microbiology**, n. 146, p. 111–117, 2011.

PATRICK, T. C.; BOGAARD, V. D.; KLEEREBEZEM, M.; KUIPERS, O. P.; VOS, W. M. Control of lactose transport, b-galactosidase activity, and glycolysis by ccpA in *Streptococcus Thermophilus*: evidence for carbon catabolite repression by a non-phosphoenolpyruvate-dependent phosphotransferase system sugar. **Journal of Bacteriology**, Washington, v. 182. n. 21, p. 5982-5989, 2000.

RAMOS, A. C. S. M.; STAMFORD, T. L. M.; MACHADO, E.C.L.; LIMA, F.R.B.; GARCIA, E.F.; ANDRADE, S.A.C.; SILVA, C.G.M.S. Elaboração de bebidas lácteas fermentadas: aceitabilidade e viabilidade de culturas probióticas. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 34, n. 6, p. 2817-2828, 2013.

SAAD, S. M. I. Probióticos e prebióticos: o estado da arte. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 42, n. 1, p. 01-16, 2006.

SAARELA, M.; ALAKOMI, H.L.; MÄTTÖ, J.; AHONEN, A.M.; PUHAKKA, A.; TYNKKYNNEN B, S. Improving the storage stability of *Bifidobacterium breve* in low pH fruit juice. **International Journal of Food Microbiology**, n. 149, p. 106–110, 2011.

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, p.55-60, 2008.

STATSOFT, In. **STATISTICA for Windows** [Computer program manual]. Tulsa, OK: Statsoft, Inc., 2004.

TEIXEIRA, E.; MEINERT, E. M.; BARBETTA, P. A. Métodos sensoriais. In: Análise sensorial de alimentos. Florianópolis: Editora da UFSC, 1987. 66-119 p.

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

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 Dairy Journal**, Barking, v. 12, n. 7, p. 579-589, 2002.

YUN, J.W. Fructooligosaccharides-Occurrence, preparation, and application. **Enzyme and Microbial Technology**, v.19, 1996.

ZACARCHENCO, P. B.; MASSAGUER-ROIG, S. Avaliação sensorial, microbiológica e de pósacidificação durante a vida-de-prateleira de leites fermentados contendo *Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium longum* e *Lactobacillus acidophilus*. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 24, n. 4, p. 674-679, 2004.



## 6 Considerações Finais

- A formulação do ensaio 4, com 40% de soro de leite e 6% de FOS foi selecionada por ter apresentado maior índice de aceitabilidade, as maiores médias quanto aos atributos sabor e avaliação global e também na intenção de compra;
- A composição centesimal do ensaio selecionado apresentou conformidade com a legislação brasileira;
- Os parâmetros microbiológicos de qualidade higiênico-sanitária foram atendidos satisfatoriamente;
- A viabilidade do microrganismo probiótico *Lactobacillus acidophilus* atendeu a exigência de contagem mínima de  $10^8$  UFC/ porção diária se considerado 100 ml do produto.

# Anexos

## ANEXO 1. Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Pernambuco

UNIVERSIDADE DE  
PERNAMBUCO/ PROPEGE/



### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

#### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** Desenvolvimento de bebida láctea fermentada sabor maracujá (*Passiflora edulis*) com potencial simbiótico

**Pesquisador:** Milena Mala Dantas dos Santos

**Área Temática:**

**Versão:** 2

**CAAE:** 19100013.0.0000.5207

**Instituição Proponente:** UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

#### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 447.604

**Data da Relatoria:** 05/11/2013

#### Apresentação do Projeto:

A pesquisa Desenvolvimento de bebida láctea fermentada sabor maracujá (*Passiflora edulis*) com potencial simbiótico, utilizará a metodologia de superfície de resposta para avaliar a influência da quantidade de soro e de polpa de maracujá sobre os atributos sensoriais Aroma, Cor, Textura, Sabor e Qualidade Global na elaboração de bebida láctea simbiótica sabor maracujá. Os ensaios experimentais serão realizados de acordo com o planejamento fatorial de 2<sup>2</sup> completo, com 4 pontos fatoriais (níveis + 1 e -1) e 3 pontos centrais (nível 0). Este planejamento tem como objetivo avaliar o efeito do percentual do soro de leite e polpa de maracujá (variáveis independentes) sobre as respostas: análises sensoriais (Aroma, Cor, Textura, Sabor e Qualidade Global) e Intenção de Compra. A investigação visa à seleção de uma formulação final com melhor aceitabilidade e, conseqüentemente, verificar suas características físico-químicas, microbiológicas e tempo de vida de prateleira.

#### Objetivo da Pesquisa:

Tem como objetivo primário

- Desenvolver bebida láctea fermentada à base de soro de leite e polpa de maracujá com potencial probiótico e simbiótico.

Objetivos secundários:

**Endereço:** Av. Agamenon Magalhães, s/nº

**Bairro:** Santo Amaro

**CEP:** 50.100-010

**UF:** PE

**Município:** RECIFE

**Telefone:** (81)3183-3775

**Fax:** (81)3183-3775

**E-mail:** comite.etica@upe.br

Continuação do Parecer: 447.604

- Identificar as formulações com melhor desempenho quanto à avaliação sensorial;
- Caracterizar as formulações quanto a parâmetros físico-químicos, microbiológicos e vida de prateleira.

**avaliação dos Riscos e Benefícios:**

A pesquisa aponta como risco, em pequeno grau, o desconforto sensorial. Indica como alternativa para lidar com a situação, a oferta de água e biscoito ao participante.

São listados como benefícios da pesquisa conhecer a aceitabilidade da bebida láctea simbiótica sabor maracujá; analisar qual das formulações do produto será mais bem aceita; identificar qual atributo deve ser melhorado; verificar se o consumidor teria Interesse em adquirir o produto; facilitar a inserção de um novo produto, com estabilidade, no mercado; verificar o conhecimento do consumidor sobre os benefícios associados com produtos lácteos fermentados acrescidos de probióticos e prebióticos.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

**Hipótese:**

Tendo em vista o aumento do Interesse por alimentos funcionais, pela maioria da população, devido aos benefícios trazidos a saúde, até que ponto a adição de probióticos e simbióticos, proporcionarão benefícios às qualidades tecnológicas tomando a bebida láctea um alimento funcional.

Matérias primas - 1) leite pasteurizado tipo B com 3% de gordura adquirido no comércio local e 2) maracujá.

Fonte da matéria prima - 1) Laboratório de Técnica Dietética do Departamento de Ciências

Domésticas/UFRPE, utilizando leite de vaca tipo C e renina para possível coagulação e desoramento (soro).

2) Os maracujás serão obtidos através de compra na Central de Abastecimento do Estado de Pernambuco(CEASA).

Acondicionamento e armazenamento do produto - O soro - recipientes de vidro e/ou polietileno, previamente esterilizados. Armazenado em refrigeração no Laboratório de Análises Físico e Química de Alimentos do Departamento de Ciências Domésticas/UFRPE. Os maracujás - sacos de polietileno próprios para alimentos e levado ao Laboratório.

Formulação das bebidas lácteas - cultura mista liofilizada composta pelas bactérias lácticas *Streptococcus salivarius* subsp. *Thermophilus* e as bactérias probióticas *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium bifidum* (Bio Rich) na proporção de 1:1. Os microrganismos serão reativados em leite desnatado em pó reconstituído

Endereço: Av. Agamenon Magalhães, s/nº  
Bairro: Santo Amaro CEP: 50.100-010  
UF: PE Município: RECIFE  
Telefone: (81)3183-3775 Fax: (81)3183-3775 E-mail: comite.etica@upe.br

Continuação do Parecer: 447.604

a 12%, submetidos a temperatura de 42°C por 4 horas. Ao fim do período a cultura starter será mantida em refrigeração. O soro obtido será filtrado e pasteurizado a 90° por 5 minutos em banho-maria, sendo misturado ao leite em pó reconstituído e a temperatura ajustada a 42°C, essa mistura receberá a adição de 5% da cultura starter. A fermentação será conduzida a 42°C/4-6 horas, e a bebida láctea resultante desse processo será resfriada a 4°C. Serão realizadas análises para verificação do pH e acidez, e posteriormente adicionada a polpa de maracujá pasteurizada e 12% de açúcar, sendo submetidas a avaliação sensorial.

Número de sujeitos participantes - mínimo de 50 adultos de ambos os sexos, identificados como provadores não treinados.

Análise sensorial - teste afetivo de aceitabilidade. As amostras serão servidas aos provadores em temperatura refrigerada ( $4\pm 1^{\circ}\text{C}$ ), em copos descartáveis de 50 mL com tampas (Copobras, PB, Brasil), codificados com três dígitos, distribuídas aleatoriamente em blocos de cinco amostras com intervalo de dez minutos para descanso entre cada bloco, foi oferecida água e bolacha água para limpeza do palato. Os atributos cor, aroma, textura, sabor e aparência global serão avaliados utilizando-se a escala hedônica estruturada de 9 pontos, onde 9 representa "gostei muitíssimo" e 1 "desgostei muitíssimo" (MINIM, 2006). Será calculado o Índice de aceitabilidade (IA) para cada um dos atributos avaliados (TEIXEIRA; MEINERT; BARBETTA, 1987), sendo consideradas aceitas as formulações que apresentaram IA igual ou superior a 70%. Delineamento experimental - aplicada a metodologia de superfície de resposta para avaliar a influência da quantidade de soro e de polpa de maracujá sobre os atributos sensoriais Aroma, Cor, Textura, Sabor e

Qualidade Global na elaboração de bebida láctea simbiótica sabor maracujá.

Análise Estatística - As análises dos resultados serão realizadas de acordo com programa computacional Estatística for Windows 7.0 (STATSOFT, 2004), adotando-se nível de significância de 5% de probabilidade.

Composição centesimal - As bebidas lácteas selecionadas na análise sensorial serão levadas ao laboratório de análises físico-químicas de Alimentos do DCD/UFRPE, para serem submetidas às análises de composição centesimal (umidade, cinzas, carboidratos totais, proteínas, lipídios), além de açúcares totais, lactose, segundo AOAC (2002). As análises serão realizadas em triplicata.

Análises microbiológicas - Serão a determinação de coliformes totais e *Escherichia coli*, bolores e leveduras, *Staphylococcus aureus* e contagem padrão de bactérias aeróbias do soro de leite e da bebida formulada, esta ao 10º, 20º e 30º dia de armazenamento (AOAC, 2002).

Vida de Prateleira do Produto - As bebidas lácteas serão avaliadas após 1, 7, 14, 21 e 28 dias de

Endereço: Av. Agamenon Magalhães, s/nº  
Bairro: Santo Amaro CEP: 50.100-010  
UF: PE Município: RECIFE  
Telefone: (81)3183-3775 Fax: (81)3183-3775 E-mail: comite.edca@upe.br

Continuação do Parecer: 447.604

estocagem quanto a pH e acidez titulável (IAL, 2005), carotenóides segundo Rodriguez-Amaya et al (1999) e Vitamina C (AOAC, 2005). A determinação de células viáveis de *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* e *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* será realizada no 1º e no 30º dia de armazenamento, conforme metodologia APHA (2001).

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

Todas as exigências foram cumpridas, conforme a Resolução 466/2012 do CNS.

**Recomendações:**

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

O projeto demonstra relevância social e cumpre todos os requisitos da Resolução Nº 466, de 12 de dezembro de 2012 do Conselho Nacional de Saúde (CNS)

Portanto, somos favoráveis a sua aprovação.

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

**Considerações Finais a critério do CEP:**

O Pleno acompanha o parecer do relator.

RECIFE, 05 de Novembro de 2013

---

Assinador por:  
Maria Sandra Andrade  
(Coordenador)

Endereço: Av. Agamenon Magalhães, s/nº  
Bairro: Santo Amaro CEP: 50.100-010  
UF: PE Município: RECIFE  
Telefone: (81)3183-3775 Fax: (81)3183-3775 E-mail: comite.etca@upe.br

## ANEXO 2. Termo de Consentimento Livre e Esclarecido



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO  
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS DOMÉSTICAS  
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS



### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

(Elaborado de acordo com a Resolução 466/2012-CNS/CONEP)

Convidamos V.Sa. a participar da pesquisa “**Desenvolvimento de bebida láctea fermentada sabor maracujá (*Passiflora edulis*) com potencial simbiótico**”, sob responsabilidade da pesquisadora Milena Maia Dantas dos Santos e orientado pela Professora Celiane Gomes Maia da Silva.

**OBJETIVOS:** Conhecer a aceitabilidade e intenção de compra da bebida láctea fermentada sabor maracujá (*Passiflora edulis*) com potencial simbiótico elaborada no Laboratório de Processamento de Alimentos do DCD/UFRPE.

**PROCEDIMENTOS DO ESTUDO:** Os participantes deverão fazer uma avaliação da aparência global, cor, aroma, consistência e sabor das bebidas lácteas fermentadas a base de soro de leite e polpa de maracujá.

- Cada participante receberá 7 amostras diferenciadas de bebida láctea simbiótica sabor maracujá. O procedimento terá o tempo de duração de aproximadamente 10 minutos para a degustação das amostras.
- As amostras dos produtos serão servidas, aos provadores, em cabines individuais iluminadas com luz branca, em copos descartáveis, aleatoriamente codificados, sob temperatura de refrigeração (4°C) e entre as amostras, o participante receberá água e bolacha para lavagem da cavidade oral e neutralização do paladar.
- Os participantes irão receber uma ficha de avaliação intitulada Teste de aceitação e intenção de compra de bebida láctea simbiótica sabor maracujá, onde deverão avaliar a cor, sabor, aroma, consistência e qualidade global das bebidas lácteas fermentadas a base de soro de leite acrescidas de probióticos e prebióticos e saborizada com polpa de maracujá e intenção de compra.

Esclarecemos que manteremos em anonimato, sob sigilo absoluto, durante e após o término do estudo, todos os dados que identifiquem o sujeito da pesquisa usando apenas, para divulgação, os dados inerentes ao desenvolvimento do estudo. Informamos também que após o término da pesquisa, serão destruídos de todo e qualquer tipo de mídia que possa vir a identificá-lo tais como filmagens, fotos, gravações, etc., não restando nada que venha a comprometer o anonimato de sua participação agora ou futuramente.

**RISCOS:** Pequeno risco, quanto ao desconforto sensorial. Após a análise, o participante receberá água para aliviar o desconforto, caso haja.

#### **BENEFÍCIOS DA REALIZAÇÃO DA PESQUISA:**

- Conhecer a aceitabilidade da bebida láctea simbiótica sabor maracujá;
- Analisar qual das formulações do produto será mais bem aceita;
- Verificar se o consumidor teria interesse em adquirir o produto;
- Facilitar a inserção de um novo produto, com estabilidade, no mercado;
- Verificar o conhecimento do consumidor sobre os benefícios associados com produtos lácteos fermentados acrescidos de probióticos e prebióticos.

O (A) senhor (a) terá os seguintes direitos: a garantia de esclarecimento e resposta a qualquer pergunta; a liberdade de abandonar a pesquisa a qualquer momento sem prejuízo para si ou para seu tratamento; a garantia de que em caso haja algum dano a sua pessoa (ou o dependente), os prejuízos serão assumidos pelos pesquisadores ou pela instituição responsável inclusive acompanhamento médico e hospitalar (se for o caso). Caso haja gastos adicionais, os mesmos serão absorvidos pelo pesquisador. Nos casos de dúvidas e esclarecimentos o (a) senhor (a) deve procurar a pesquisadora Milena Maia Dantas dos Santos, Endereço Rua Carneiro Vilela, 578, Encruzilhada, Recife – PE. CEP: 52050-030; Contato: (81) 91669336; email: milenamaiads@gmail.com

Caso suas dúvidas não sejam resolvidas pelos pesquisadores ou seus direitos sejam negados, favor recorrer ao Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Pernambuco, localizado à Av. Agamenon Magalhães, S/N, Santo Amaro, Recife-PE, telefone 81-3183-3775 ou ainda através do e-mail comite.etica@upe.br.

Consentimento Livre e Esclarecido

Eu \_\_\_\_\_, após ter recebido todos os esclarecimentos e ciente dos meus direitos, concordo em participar desta pesquisa, bem como autorizo a divulgação e a publicação de toda informação por mim transmitida, exceto dados pessoais, em publicações e eventos de caráter científico. Desta forma, assino este termo, juntamente com o pesquisador, em duas vias de igual teor, ficando uma via sob meu poder e outra em poder do(s) pesquisador (es).

Recife, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 2013.

Assinatura do pesquisado

Assinatura do pesquisador

**ANEXO 3. Ficha de Análise Sensorial das formulações bebidas lácteas sabor maracujá**



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO  
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS DOMÉSTICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE  
ALIMENTOS**



Nome: \_\_\_\_\_ Idade: \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/2013

Escolaridade: \_\_\_\_\_

Email: \_\_\_\_\_ Fone/Celular: \_\_\_\_\_

**Teste de aceitação e intenção de compra de BEBIDA LÁCTEA  
FERMENTADA SABOR MARACUJÁ**

Você está recebendo 7 amostras diferentes codificadas de Bebida láctea sabor maracujá. Prove-as e escreva o valor da escala hedônica abaixo de 9 pontos que você considera correspondente à cada atributo da amostra, responda abaixo também as questões que seguem. Antes de cada avaliação, você deverá fazer uso da água e da bolacha para limpeza do palato.

9 – gostei extremamente	<b>Código da amostra</b>	<b>801</b>	<b>246</b>	<b>894</b>	<b>747</b>	<b>587</b>	<b>648</b>	<b>465</b>
8 – gostei moderadamente	<b>Cor</b>							
7 – gostei regularmente	<b>Sabor</b>							
6 – gostei ligeiramente	<b>Aroma</b>							
5 – nem gostei/nem desgostei	<b>Consistência</b>							
4 – desgostei ligeiramente	<b>Qualidade global</b>							
3 – desgostei regularmente								
2 – desgostei moderadamente								
1 – desgostei extremamente								

**1) Qual é a sua frequência de consumo de produtos lácteos fermentados, como a bebida láctea?**

( ) menos de uma vez por semana ( ) mais de uma vez por semana

**2) Você conhece os benefícios para a saúde associados com produtos lácteos fermentados?** ( ) Sim ( ) Não

Agora para as mesmas amostras analise em relação à intenção de compra, prove-as e escreva o valor da escala abaixo de 5 pontos que você considera correspondente à cada atributo da amostra codificada correspondente.

5 – Certamente compraria	Amostra <b>801</b> (___)
4 – Talvez compraria	Amostra <b>246</b> (___)
3 – Talvez compraria, talvez não compraria	Amostra <b>894</b> (___)
2 – Talvez não compraria	Amostra <b>747</b> (___)
1 – Jamais compraria	Amostra <b>587</b> (___)
	Amostra <b>648</b> (___)
	Amostra <b>465</b> (___)