



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

**Desenvolvimento de coalhada sabor maracujá com
característica simbiótica**

Hayanna Adlley Santos de Arruda

Recife, 2013.

HAYANNA ADLLEY SANTOS DE ARRUDA

**Desenvolvimento de Coalhada fermentada simbiótica
sabor maracujá (*Passiflora edulis*)**

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^a. Dr^a. Samara Alvachian Cardoso Andrade

Departamento de Engenharia Química/ UFPE

Co-Orientadora: Prof^a. Dr^a. Celiane Gomes Maia da Silva

Departamento de Ciências Domésticas/ UFRPE

Recife, 2013.

Ficha catalográfica

A779d Arruda, Hayanna Adley Santos de
Desenvolvimento de coalhada sabor maracujá com
característica simbiótica / Hayanna Adley Santos de
Arruda. – Recife, 2013.
75 f. : il.

Orientadora: Samara Alvachian Cardoso Andrade.
Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de
Alimentos) – Universidade Federal Rural de Pernambuco,
Departamento de Ciências Domésticas, Recife, 2013.
Inclui referências e anexo(s).

1. Coalhada 2. FOS 3. Alimentos funcionais I. Andrade,
Samara Alvachian Cardoso, orientadora II. Título

CDD 664

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

**Desenvolvimento de Coalhada fermentada simbiótica
sabor maracujá (*Passiflora edulis*)**

Por Hayanna Adlley Santos de Arruda

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:

Prof/a Dr/a. Maria Inês Sucupira Maciel
Departamento de Ciências Domésticas/ UFRPE

Prof/a Dr/a. Silvana Magalhães Salgado
Departamento de Nutrição/ UFPE

Prof/a Dr/a. Celiane Gomes Maia da Silva
Departamento de Ciências Domésticas/ UFRPE

DEDICATÓRIA

Dedico,
A Deus que me iluminou nesta jornada,
Aos meus pais Maurílio e Sônia e a minha irmã Hanna
pelo incentivo e carinho para comigo,
A Davison, meu esposo, pelo apoio e compreensão.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, que me deu forças e direção ao longo desses anos de estudos. Aos meus pais, que tanto se esforçaram para me garantir educação, conforto e carinho. Ao meu esposo que esteve ao meu lado nos momentos de muita alegria e de angústia com as preocupações ao decorrer da pesquisa. A minha irmã e meus amigos que direta e indiretamente estiveram comigo nesta jornada.

Aos meus colegas de mestrado, como foi bom passar esse período com vocês, tenho certeza que aprendi demais com todos. Aos professores, essenciais na minha formação que me deram a base para realização da pesquisa. As minhas queridas orientadoras, Samara e Celiane, que tiveram paciência e sempre estavam disponíveis para me ouvir e me direcionar.

Ao programa de Pós-graduação PGCTA e UFRPE, que me proporcionaram essa grande conquista.

RESUMO

Inúmeros laticínios funcionais são disponíveis comercialmente e a variedade desses produtos continua em expansão. Muitas pesquisas em termos de probióticos e prebióticos encontram-se voltadas para produtos fermentados, pois além destes produtos possuem grande aceitação pelo público em geral apresentam excelente valor nutritivo e são veículos em potencial para o consumo dessas substâncias. Segundo a Legislação Brasileira, entende-se por Coalhada o produto oriundo da fermentação do leite, por bactérias específicas, individuais ou mistas, mesófilas, produtoras de ácido láctico. Diante do exposto esta pesquisa teve como objetivo desenvolver diferentes formulações de coalhada, adicionadas de culturas probióticas e frutooligossacarídeos, sabor maracujá, bem como selecionar as que apresentarem melhor índice de aceitabilidade, avaliando sua estabilidade durante o armazenamento a partir de análises físico-químicas e microbiológicas. A partir de um planejamento experimental foram desenvolvidos 5 ensaios: coalhada com leite desnatado com 8g de FOS, coalhada com leite integral com 8g de FOS, coalhada com leite desnatado com 16g de FOS, coalhada com leite integral com 16g de FOS e coalhada com leite semi-desnatado com 12g de FOS. As formulações elaboradas foram bem aceitas pelos provadores para todos os atributos avaliados no teste sensorial, teste de aceitação e intenção de compra. Duas formulações (com 8 e 16g de FOS/ 1000 mL de leite integral, ensaios 2 e 4, respectivamente) foram selecionadas por apresentarem melhor índice de aceitabilidade e submetidas à avaliação da estabilidade a partir de análises físico-químicas e microbiológicas nos períodos 1, 7, 14, 21 e 28 dias de estocagem. A partir dos resultados obtidos constatou-se que os valores encontrados nas duas formulações quanto à composição centesimal estão dentro dos padrões estabelecidos para este tipo de produto. Durante o tempo de estocagem, as formulações apresentaram variações de pH e acidez, contudo não levou a alterações indesejáveis no produto final. Também apresentaram resultados satisfatórios para contagens de *Lactobacillus Acidophilus*, *Streptococcus Thermophilus*, *Bifidobacterium Bifidum*, sendo superiores ao mínimo preconizado pela legislação vigente, além de qualidade higiênico-sanitária satisfatória, pela ausência de contaminação por microrganismos como: *Coliformes totais*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Estafilococos coagulase positiva*, contagem padrão de bactérias aeróbias e bolores e leveduras. Portanto, conclui-se que a utilização de microrganismos probióticos e frutooligossacarídeos na formulação de coalhadas proporcionou a elaboração de um produto com qualidade sensorial, nutricional e tecnológica.

Palavras chave: coalhada, FOS, alimentos funcionais.

ABSTRACT

Numerous functional products are commercially available and variety of products continues to expand. Much research in terms of probiotics and prebiotics are fermented products, as well as those products having great acceptance by the general public have excellent nutritional value and are potential vehicles for the use of these substances. According to Brazilian legislation, the following definitions apply curd product derived from the fermentation of milk by specific bacteria, mesophilic, producing lactic acid. Given the above this study aimed to develop different formulations curd, added probiotic cultures and fructooligosaccharides, passion fruit flavor, as well as select which present better performance in sensory evaluation, assessing their stability during storage from physical-chemical and microbiological. From an experimental design were developed five tests: with skim milk curd with 8g of FOS, with whole milk curds with 8g of FOS, curd with skim milk with 16g of FOS, curd milk with 16g of FOS with milk and curds semi-skimmed 12g FOS. The formulations prepared were well accepted by consumers for all attributes evaluated in the sensory test, index acceptability and purchase intent. Two formulations (with 8 and 16g FOS / 1000 mL of whole milk, tests 2 and 4, respectively) were selected because they have better performance in sensory evaluation and evaluated for stability from physical-chemical and microbiological properties in periods 1, 7, 14, 21 and 28 days of storage. During the storage time the formulations show variations of pH and acidity, yet not lead to undesirable changes in the final product. Also showed satisfactory results for counts of *Lactobacillus Acidophilus*, *Streptococcus Thermophilus*, *Bifidobacterium bifidum*, being above the minimum recommended by the current legislation, in addition to satisfactory sanitary conditions, lack of contamination by microorganisms such as total coliforms, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, coagulase positive, standard counting aerobic bacteria, molds and yeasts. Therefore, it is concluded that the use of probiotic microorganisms and fructooligosaccharides in formulating curds provided the preparation of a product sensory quality, nutritional and technological.

Keywords: curd, FOS, functional foods.

SUMÁRIO

1. Introdução.....	9
2. Revisão de Literatura	12
2.1 Alimentos Funcionais	13
2.2 Probióticos, Prebióticos e Simbióticos	16
2.3 Produtos Lácteos Fermentados	21
2.4 Maracujá	24
3. Referências Bibliográficas	26
4. Objetivos	38
4.1 Objetivos Gerais	39
4.2 Objetivos Específicos	39
5. Resultados	40
5.1 Artigo: COALHADAS ELABORADAS COM CULTURAS PROBIÓTICAS E FRUTOOLIGOSSACARÍDEOS SABOR MARACUJÁ: AVALIAÇÃO SENSORIAL E ESTABILIDADE DURANTE O PERÍODO DE ESTOCAGEM	41
6. Considerações Gerais	69
7. Anexos	71

1. INTRODUÇÃO

Inúmeros laticínios funcionais são disponíveis comercialmente e a variedade desses produtos continua em expansão (STANTON et al., 2003). Nos últimos anos, o conceito de alimentos funcionais passou a concentrar-se de maneira intensiva nos aditivos alimentares que podem exercer efeito benéfico sobre a composição da microbiota intestinal, os prebióticos e os probióticos são atualmente os compostos alimentares que compõem esses alimentos funcionais (KRÜGE et al., 2008).

Muitas pesquisas em termos de probióticos encontram-se voltadas para leites fermentados, sendo os iogurtes os principais comercializados no mundo. Outros produtos comerciais incluem sobremesas à base de leite, leites fermentados, leite em pó, sorvetes, sorvetes de iogurte e diversos tipos de queijo, além de alimentos na fórmula de cápsulas ou em pó (OLIVEIRA et al., 2002; STANTON et al., 2003). Além destes possuem grande aceitação pelo público em geral apresentam excelente valor nutritivo e são veículos em potencial para o consumo de prebióticos e probióticos (KRÜGE et al., 2008).

Os leites fermentados contendo culturas probióticas podem ser potencialmente funcionais. Neste contexto, as investigações científicas mais recentes têm demonstrado a relevância para a saúde de microrganismos probióticos, como: *Bifidobacterium*, uma bifidobactéria da família de bactérias benéficas presentes na microbiota intestinal do cólon, e *Lactobacillus acidophilus* (presente na microbiota do intestino delgado) (ANTUNES; CAZETTO; CARDELLO, 2004; KEMPKA et al., 2008).

Por sua vez, os prebióticos são definidos como ingredientes alimentares não digeríveis que estimulam seletivamente a multiplicação e/ou atividade de uma ou mais espécies de bactérias no cólon e, dessa forma, afetam benéficamente o hospedeiro (HAARMAN, KNOL, 2005). Podem auxiliar na prevenção da diarreia e constipação, redução do colesterol e pressão sanguínea, entre outros (THAMER; PENNA, 2006). A inulina e os oligossacarídeos, especialmente os frutooligossacarídeos (FOS), têm sido os prebióticos mais investigados (ROBERFROID, 2005). Prebióticos podem ser

combinados com probióticos para a produção de um alimento simbiótico (HAMILTON-MILLER, 2004).

A interação entre o probiótico e o prebiótico *in vivo* pode ser favorecida por uma adaptação do probiótico ao substrato prebiótico anterior ao consumo. O consumo de probióticos e de prebióticos selecionados apropriadamente pode aumentar seus efeitos benéficos, uma vez que o estímulo de cepas probióticas conhecidas leva à escolha dos pares simbióticos substrato-microrganismo ideais (SAAD, 2006).

De acordo com a Instrução Normativa 46 que diz respeito sobre o Regulamento Técnico para fixação de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados (BRASIL, 2007), entende-se por coalhada o produto oriundo da fermentação do leite (desnatado, semi desnatado ou integral), por bactérias específicas, individuais ou mistas, mesófilas, produtoras de ácido láctico. A coalhada é, portanto um leite fermentado, que fundamentalmente difere do iogurte pela flora que a compõe, ou seja, a flora mesófila, que possui crescimento ótimo na faixa de temperatura de 18 a 35°C, composta normalmente por *Lactococcus lactis subsp. cremoris*, *Lactococcus lactis subsp. lactis*, *Lactococcus diacetylactis*, algumas vezes combinadas com *Lactobacillus acidophilus*.

A maioria dos produtos lácteos disponíveis utiliza sabores derivados de frutas do clima temperado, como exemplo morango, ameixa ou pêsego. Todavia, o Brasil oferece uma gama de frutas com sabores e aromas diferenciados, as quais podem ser uma alternativa de adição na fabricação de fermentados, após o adequado processamento tecnológico.

A fruticultura nacional, representada por 22 espécies investigadas teve bom desempenho na temporada 2010, com o valor total da produção (R\$ 20,6 bilhões) superando em 16,9% o apurado no ano de 2009, mesmo com um aumento de apenas 0,3% na área colhida. Entre os principais estados produtores de frutas, destaca-se São Paulo como responsável por 32,9% do valor da produção nacional. O estado teve um crescimento de 40,3% em relação ao ano anterior, sendo a laranja a principal responsável por este aumento. O principal destaque municipal ficou com Petrolina (PE), com 57,9%

da produção do seu estado e variação positiva de 40,1% em relação ao valor da produção do ano anterior (IBGE, 2011).

Com uma produção superior a 74 milhões em 2011, o Brasil se estabeleceu como o terceiro maior produtor mundial de frutas, ficando atrás apenas da China e Índia (FAO, 2012). Entretanto, há um grande desperdício pós-colheita para algumas culturas o que notadamente gera prejuízos. Uma das alternativas para que este fato não ocorra é a elaboração de produtos a partir de frutas nativas ou daquelas que facilmente se propaguem no solo brasileiro (DIAS; SCHWAN; LIMA, 2003).

Dentre as frutas com potencial de aproveitamento está o maracujá (*Passiflora edulis*), originário da América Tropical, cultivado no Brasil, tendo em sua composição vitamina C, cálcio e fósforo (BORGES; MEDEIROS; CORREIA, 2009). A maior importância econômica do fruto do maracujazeiro está no produto industrializado sob a forma de suco concentrado. Em nível mundial, a produção de maracujá está em torno de 364 mil toneladas, com rendimento de 7,5 t/ hm² (IBGE, 2011).

A utilização das frutas regionais, de sabores característicos, na produção de vários produtos mostra-se como alternativa para um melhor aproveitamento destas frutas (ANSELMO et al., 2006).

Desta forma, ressalta-se que a formulação de coalhada associado ao valor nutritivo do maracujá, a utilização de bactérias com potencial probiótico e a inclusão de prebióticos acarretará no desenvolvimento de um produto final com potencial simbiótico, podendo ser uma nova alternativa de um produto lácteo fermentado.

Revisão de Literatura

2. Revisão de literatura

2.1 Alimentos Funcionais

Segundo Hasler et al. (2004), a imagem de que os alimentos previnem e tratam doenças surgiu aproximadamente 2.500 anos atrás, divulgado por Hipócrates, de forma que todos os alimentos eram considerados funcionais, por proporcionar sabor, aroma e valor nutritivo. O termo Alimento Funcional, sempre esteve presente na história humana. Surgiu em meados de 1920, quando alguns compostos foram isolados em alimentos por estudiosos que comprovaram seus benefícios (PIMENTEL et al., 2007).

Em 1991 os alimentos funcionais foram regulamentados com a denominação de "Foods for Specified Health Use" (FOSHU). Atualmente, 100 produtos estão licenciados como alimentos FOSHU no Japão (PICARD et al., 2005).

A terminação foi primeiramente utilizada pelo Governo do Japão, na década de 1980, através de um programa de governo objetivando diminuir gastos com a saúde pública, levando em consideração a elevada expectativa de vida naquele país (PIMENTEL et al., 2007; MORAES, 2006; STRINGHETA; OLIVEIRA; GOMES, 2007).

Até meados da década de 90, o Brasil não reconhecia os alimentos como agentes do bem-estar, redução de riscos de doenças e promotores da qualidade de vida. No decorrer dos anos o número de pedidos para analisar e registrar novos produtos com estas características aumentou consideravelmente. Assim a Agencia Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) mostrou-se contrária à aprovação desses novos alimentos, pois existia certa preocupação na segurança dos consumidores. Somente após um ano de investigações, com a contribuição de instituições e pesquisadores da área de nutrição, toxicologia, tecnologia de alimentos e outros, estabeleceu-se uma regulamentação técnica para análise de novos alimentos e ingredientes, incluindo alegações de propriedades funcionais e ou de saúde aos alimentos. No Brasil, somente a partir de 1999, a regulamentação técnica para análise de novos alimentos e ingredientes, foi proposta e aprovada pela Vigilância

Sanitária/MS (BRASIL, 2005; MAIA; SANTOS, 2006; VIEIRA; CORNÉLIO, 2007).

Na Legislação Brasileira, a portaria nº. 398 de 30/04/99, de responsabilidade do Ministério da Saúde, junto à Câmara Técnica de Alimentos e a Comissão de Assessoramento Técnico Científico de Alimentos Funcionais e novos alimentos, atribui como alimento funcional todo aquele alimento ou ingrediente que, além das funções nutricionais básicas, quando consumido como parte da dieta usual, produz efeitos metabólicos e/ou efeitos fisiológicos e/ou efeitos benéficos à saúde, devendo ser seguro para consumo sem supervisão médica (BRASIL, 1999).

Deste modo, o alimento ou ingrediente que alegar propriedades funcionais ou de saúde pode além de funções nutricionais básicas, quando se tratar de nutriente, produzir efeitos metabólicos e fisiológicos e ou efeitos benéficos à saúde, devendo ser seguro para consumo sem supervisão médica. Esses produtos podem variar de produtos de biotecnologia, suplementos dietéticos, alimentos geneticamente construídos até alimentos processados e derivados de plantas (STANTON et al., 2003). Os componentes alimentares liberados são: ácido graxo ômega 3, carotenóides (licopeno, luteína), fibras alimentares (betaglucana, frutooligosacarídeos, inulina, psyllium, quitosana, lactulose), fitoesteróis, probióticos e a proteína de soja (OLIVEIRA et al., 2002; LIU; DUAN; HA, 2004).

O conceito de alimentos funcionais provém do conhecimento de que a dieta pode controlar e modular várias funções orgânicas, contribuindo para a manutenção da saúde e reduzindo o risco de aparecimento de doenças (BORGES; MEDEIROS; CORREIA, 2009).

Os alimentos funcionais objetivam reforçar a dieta com a ingestão de substâncias cujo efeito benéfico à saúde não é suficiente através da dieta habitual (PALANCA et al., 2006). Novas tendências alimentares justificam o desenvolvimento de alimentos funcionais, devido a hábitos adquiridos pelas pessoas que tendem a alimentar-se de maneira pouco balanceada e pobre em nutrientes essenciais ao organismo (SALGADO; ALMEIDA, 2009).

Alguns estudiosos explicam também que esses alimentos isolados não asseguram boa saúde, é necessário estarem inclusos em uma dieta variada e

equilibrada nutricionalmente (RODRIGUEZ et al., 2003; MORAES; COLLA, 2006; VIEIRA; CORNÉLIO, 2007).

Segundo Saxelin (2004), alguns passos abordam os aspectos críticos na concepção, desenvolvimento e comercialização de um alimento funcional: identificar o ingrediente com potencial bioativo; avaliar sua eficácia e segurança; selecionar um alimento (veículo) adequado à substância encontrada; regulamentar avaliações sobre a substância; informar os consumidores; fiscalizar o mercado, confirmando as pré-avaliações realizadas.

Os alimentos e ingredientes funcionais são classificados quanto à fonte (origem animal ou vegetal) ou quanto aos benefícios que oferecem referentes às seis áreas do organismo (sistema gastrointestinal; sistema cardiovascular; metabolismo de substratos; crescimento, desenvolvimento e diferenciação celular; comportamento das funções fisiológicas e antioxidantes) (SOUZA; SOUZA NETO; MAIA, 2003). Evidências científicas sobre a relação entre a dieta e a saúde, têm levado ao surgimento de um mercado de alimentos diferenciados de rápido crescimento nos últimos anos (GALISTEO; DUARTE; ZARZUELO, 2008).

As evidências, primariamente foram sustentadas por estudos realizados com referência aos benefícios à saúde, proporcionados por produtos lácteos, porém o desenvolvimento desta ciência ainda necessita de mais estudos clínicos em humanos em relação a diferentes áreas de atuação funcional (SHORTT; O'BRIEN, 2004).

O uso dos alimentos como veículo de promoção do bem-estar e saúde e, ao mesmo tempo, como redutor dos riscos de algumas doenças, tem incentivado as pesquisas de novos componentes naturais e o desenvolvimento de novos ingredientes, possibilitando a inovação em produtos alimentícios e a criação de novos nichos de mercado (MATSUBARA, 2001).

A sociedade necessita vencer desafios, através do desenvolvimento de conhecimentos científicos e de tecnologias que resultem em modificações importantes no estilo de vida das pessoas. A nutrição voltada à saúde é um desses conhecimentos, dirigida no sentido de maximizar as funções fisiológicas de cada indivíduo, de maneira a assegurar tanto o bem-estar quanto a saúde, como também o risco mínimo de desenvolvimento de doenças ao longo da

vida. Nesse contexto, os alimentos funcionais e especialmente os probióticos e prebióticos são conceitos importantes para a promoção desse bem-estar (ROBERFROID, 2005).

2.2 Probióticos, Prebióticos e Simbióticos

- Probióticos

A palavra probióticos foi inicialmente utilizada como antônimo da palavra “antibiótico”. É um termo derivado da língua grega que significa “para a vida” (HAMILTON-MILLER, GIBSON, BRUCK, 2003).

O termo conceitual foi proposto inicialmente por Lillye Stillwell em 1965 que definiu probióticos como “substâncias secretadas por um microrganismo para estimular o crescimento de outro” desempenhando, portanto, efeito oposto ao dos antibióticos” (ANTUNES; CAZETTO; CARDELLO, 2007).

Em 1900, dois microbiologistas, Tisses e Mono, em seu trabalho pioneiro isolaram lactobacilos a partir de fezes de lactentes. No início do século XX foi elaborada a teoria conhecida como “o prolongamento da vida” por Metchnikoff, cuja teoria foi convertida em realidade comercial por Shirota e Kellogg em 1930 (VASILJEVIC; SHAH, 2008).

O microbiologista russo Eli Metchnikoff em 1910 propôs que as bactérias ácido-lácticas poderiam ser usadas para beneficiar a saúde humana, tópico esse que ressurgiu recentemente como uma área conhecida por probióticos (FORSYTHE, 2002; LOURENSHATTING; VILJOEN, 2001).

Segundo a definição atualmente aceita, os alimentos probióticos são preparações ou produtos contendo microrganismos viáveis, bem definidos e em quantidade suficiente para alterar a microbiota intestinal, quando administrado em quantidade adequada, conferem benefícios à saúde do hospedeiro (REID et al., 2003; PICARD et al., 2005). Cepas probióticas têm sido amplamente estudadas e exploradas comercialmente em diferentes produtos ao redor do mundo (SOCCOL et al., 2010).

Embora o conceito de probióticos esteja em uso por muitos anos, o conhecimento científico sobre o modo de ação ainda não é suficiente para o entendimento de sua ação (FERREIRA; CABRAL; NARDELLI, 2009).

Diferentes matrizes alimentares lácteas e não lácteas têm sido estudadas e usadas como suporte para cepas probióticas, com ou sem o auxílio de tecnologias de microencapsulação, como por exemplo, queijos, sorvetes, sobremesas, leite em pó para neonatos, manteiga, maionese, produtos em pó, cápsulas, vegetais, leites fermentados, iogurtes, sucos de fruta, cereais, entre outras (CHAMPAGNE; GARDNER; ROY, 2005; SOCCOL et al., 2010).

O conhecimento científico sobre a ação de alimentos probióticos não é suficiente, mais pesquisas são necessárias (FERREIRA; CABRAL; NARDELLI, 2009).

Os probióticos mais utilizados envolvem os gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* (Tabela 1), entretanto leveduras, como *Saccharomyces boulardii*, também tem sido utilizadas com potencial probiótico (WEINBRECK, BODNAR, MARCO, 2010). Em produtos lácteos *Lactobacillus* liberam aminoácidos e peptídeos da proteína do leite que estimulam o crescimento do gênero *Streptococcus*. O desenvolvimento do gênero *Lactobacillus* é estimulado pelo ácido fórmico e láctico liberados durante o crescimento do gênero *Streptococcus*, que reduz o pH do meio para um nível ótimo de crescimento do gênero *Lactobacillus* (OLIVEIRA, DAMIN, 2003).

Para que um microrganismo possa ser empregado como probiótico, vários estudos devem ser conduzidos para a avaliação de sua capacidade de resistência e eficácia (DE DEA LINDNER et al., 2007). Algumas cepas identificadas e testadas como probióticas exibiram potencial anti-inflamatório, anti-alergênico, entre outras importantes propriedades (SOCCOL et al., 2010).

Os probióticos utilizados em alimentos devem crescer e sobreviver aos processos de elaboração, maturação e estocagem do produto, bem como não afetar negativamente a qualidade do produto e ser seguro à saúde do consumidor (STANTON et al., 2003).

De acordo com Shah (2007), 56 espécies são reconhecidas como pertencentes ao gênero *Lactobacillus* e 29 espécies são classificadas como *Bifidobacterium*, embora poucas sejam as cepas, com efeito probiótico, bem documentado.

Tabela 1- Cepas comumente empregadas em produtos probióticos

<i>Lactobacillus</i> spp.	<i>Bifidobacterium</i> spp.	Outras
<i>L. acidophilus</i>	<i>B. bifidum</i>	<i>Streptococcus thermophilus</i>
<i>L. plantarum</i>	<i>B. longum</i>	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>
<i>L. rhamnosus</i>	<i>B. infantis</i>	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i>
<i>L. brevis</i>	<i>B. breve</i>	<i>Enterococcus faecium</i>
<i>L. delbreuckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> (LB)	<i>B. adolescentis</i>	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> subsp. <i>dextranum</i>
<i>L. fermentum</i>		<i>Propionibacterium freudenreici</i>
<i>L. helveticus</i>		<i>Pediococcus acidilactici</i>
<i>L. johnsonii</i>		<i>Saccharomyces boulardii</i>

Fonte: Oliveira et al., 2002.

As espécies pertencentes ao gênero *Lactobacillus*, crescem em temperaturas que variam de 2 a 53°C, com valores ótimos em torno de 30 a 40° C, pH de 5,5 a 6,2, podendo ocorrer crescimento em pH menor que 5,0. *Bifidobacterium* tem sua temperatura ótima em torno de 37 a 41°C e pH ótimo entre 6,0 a 7,0 (MACEDO et al., 2008).

Para garantir um efeito contínuo, os probióticos devem ser ingeridos diariamente. Para serem de importância fisiológica ao consumidor, os probióticos devem alcançar populações acima de 10^6 a 10^7 ufc/g ou mL de bioproduto. Até o momento não há concordância entre os pesquisadores em relação à concentração mínima de probióticos para alcançar benefícios terapêuticos, pois enquanto alguns sugerem níveis acima de 10^6 ufc/g ou mL como níveis satisfatórios outros estipulam concentrações de 10^7 a 10^8 ufc/g ou mL de bioproduto em toda sua vida útil (DONKOR et al., 2006; WEINBRECK; BODNAR; MARCO; 2010). Contudo segundo a legislação brasileira, a coalhada probiótica deve apresentar contagem total de bactérias lácticas viáveis de no mínimo 10^6 UFC/g, no produto final durante todo o prazo de validade (BRASIL, 2007).

Após a ingestão dos microrganismos probióticos, estes devem ultrapassar barreiras biológicas no organismo humano para chegar ao local de ação a fim de exercer seus efeitos benéficos à saúde (GUEIMONDE; SALMINEM, 2006).

Os produtos que contêm probióticos tiveram um enorme sucesso na Europa, Ásia, e, mais recentemente, em outras regiões do mundo, como no continente Americano. Este sucesso comercial promove consumo, desenvolvimento e pesquisa de tais produtos (OMGE, 2008).

A possibilidade de se desenvolver uma tecnologia que envolva a adição de culturas probióticas para a obtenção de um produto alimentício funcional com textura apropriada e boas perspectivas de aceitação pelos consumidores é bastante promissora (FARIA; BENFDET; GUERROUE, 2006; MARUYAMA et al., 2006).

- Prebióticos

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).

Prebióticos bastante consumidos são alguns tipos de fibras alimentares; estas não são passíveis de hidrólise pelas enzimas do intestino humano, sendo que alguns tipos de fibras permanecem intactas por todo o trato gastrointestinal, favorecendo o incremento do bolo fecal e a motilidade intestinal, auxiliando no funcionamento do intestino (ROBERFROID, 2002; FERREIRA; CABRAL; NARDELLI, 2009). Fibras como a inulina e frutooligosacarídeos são reconhecidas como prebióticos com efeitos funcionais em associação a microflora intestinal e com potencial efeito sobre a saúde como, por exemplo, diminuição dos riscos para algumas patologias (infecção intestinal, constipação, obesidade, câncer de cólon, entre outras) (ROBERFROID, 2002).

As ligações β (1,2) entre as moléculas de frutose tornam estas substâncias não digeríveis por enzimas intestinais humanas e os ingredientes prebióticos passam pelo trato gastrointestinal sem serem metabolizados.

Estudos indicam que a inulina e oligofrutoses são completamente fermentadas no cólon e produzem ácidos graxos de cadeias curtas e lactatos que são metabolizados (ROBERFROID, 2007).

A mudança de hábitos alimentares na vida das pessoas é difícil, pois na maioria das vezes isso significa mudança em seu estilo vida. Assim, fibras que auxiliam na manutenção da saúde e que são encontradas em frutas e hortaliças não são muito consumidas por questões culturais, busca por mais praticidade nas refeições, etc. (OHR, 2002; VAN DENDER; BOSI; CONRADO, 2005).

O hábito de consumir alimentos que contenham concentrações significantes de fitoquímicos e fibra alimentar é correlacionado com benefícios à saúde (FARRAR et al., 2008). São vários os benefícios associados às fibras solúveis, como o retardo do alimento na passagem intestinal, esvaziamento gástrico e absorção diminuída da glicose, redução do colesterol na corrente sanguínea, maior sensação de saciedade, além de contribuir para a redução do risco de algumas doenças crônicas não transmissíveis, incluindo câncer e diabetes (GALISTEO; DUARTE; ZARZUELO, 2008).

Dentre as fibras alimentares disponíveis no mercado, o frutooligossacarídeo (FOS) é um exemplo de oligossacarídeo que tem tido aceitação crescente, uma vez que não é digerido nem absorvido no intestino delgado, e conseqüentemente chega ao cólon como uma molécula intacta, agindo como substrato fermentável para bifidobactérias e lactobacilos. Por funcionar como um prebiótico, o FOS está associado às melhorias nos sistemas gastrointestinal e imunológico (OHR, 2002).

Para garantir o estímulo da multiplicação de bifidobactérias no cólon, doses diárias para alimento líquido é de 1,5g e para alimentos sólidos 3g/porção/dia de FOS no produto com potencial prebiótico devem estar presentes durante todo seu prazo de validade (JELEN; LUTZ, 1998; ROBERFROID, 2005).

- Simbióticos

Um produto referido como simbiótico é aquele no qual um probiótico e um prebiótico estão combinados. A interação entre o probiótico e o prebiótico *in vivo* pode ser favorecida por uma adaptação do probiótico ao substrato prebiótico anterior ao consumo. O consumo de probióticos e de prebióticos selecionados apropriadamente pode aumentar os efeitos benéficos de cada um deles (HOLZAPFEL, SCHILLINGER, 2002; BIELECKA, BIEDRZYCK, MAJKOWSKA, 2002). Esta interação deve resultar em uma vantagem competitiva para o probiótico se este for consumido juntamente com o prebiótico (PUUPONEN-PIMIÄ et al., 2002).

Os produtos simbióticos são avaliados como alternativa benéfica para lidar com várias condições gastrintestinais e sistêmicas, incluindo a intolerância à lactose, diarreia, alergias alimentares, imunomodulação, entre outras (MOSQUERA; SALGADO, 2002).

2.3. Produtos Lácteos Fermentados

O leite é um alimento natural, reconhecido por seu valor nutritivo, sendo considerado um alimento completo. Possui proteínas fundamentais à nutrição, com função plástica de reparação celular, além de fornecer aminoácidos essenciais em quantidade adequada para o crescimento do indivíduo e suplementação de dietas alimentares (BADARÓ; ARAÚJO; CARVALHO, 2007).

Várias são as definições para o termo “leite” e segundo Prata; Prata (2012), “leite é o produto íntegro da ordenha completa e ininterrupta de uma fêmea leiteira sã, bem alimentada e não fatigada, recolhido higienicamente e sem conter colostro”. Ferreira; Cabral; Nardelli (2009) definem leite *in natura* como um produto obtido higienicamente, através de ordenha completa e ininterrupta de vacas saudáveis, devendo ser resfriado imediatamente após sua obtenção, podendo ser proveniente de uma ou várias fêmeas e de uma ou mais ordenhas.

A indústria brasileira de laticínios vem adotando tecnologias para maior eficiência produtiva e diferenciação dos produtos concorrentes como estratégia para conquista e manutenção do mercado (VILELA; BRESSAN; CUNHA,

2001). Os produtos derivados do leite se caracterizam pelo manejo de um produto altamente perecível, que deve ser mantido sob vigilância durante todos os passos da ordenha até sua chegada ao consumidor (FERREIRA; CABRAL; NARDELLI, 2009).

A maior parte do leite empregado na elaboração de laticínios é o leite de vaca, embora também se possa consumir leite procedente de outros mamíferos, como cabra, ovelha e, em alguns países, búfala, camela e égua, dentre outros animais (MACEDO et al., 2008).

Além do leite in natura vários derivados do leite são bastante consumidos em todo mundo. Estes produtos surgiram na Mesopotâmia a cerca de 5000 a. C., um alimento e bebida tradicional nos Bálcãs e na Ásia Mediterrânea, conhecidos por uma variedade de nomes em diferentes países (TAMIME; DEETH, 1985). O leite fermentado destaca-se como um desses produtos, consumido com diversas texturas e sabores agradando a diferentes paladares.

Uma das propriedades do leite é permitir sua própria conservação: o leite têm cultivos lácticos que convertem seus açúcares em ácidos, permitindo maior tempo de preservação. Este processo faz com que as propriedades do leite mudem substancialmente, dando lugar a uma nova gama de produtos fermentados, graças à ação das bactérias da família Lactobacillales que são produtoras de ácido láctico (LEPORANTA, 2001).

A fermentação láctica promove incremento de 50% nos teores de vitamina B6 e B12, aumento de vitamina C, ácido fólico e de colina; em relação a outras vitaminas as mudanças são mais amenas. O aumento da digestibilidade das proteínas e gorduras e a melhor utilização de alguns cátions no metabolismo humano são algumas das explicações do grande valor dos alimentos lácticos fermentados na nutrição humana (DEMIATE; OETTERER; WOSKCE, 1994, PRATA; PRATA, 2012).

As bactérias ácido-lácticas apresentam a característica de produzir ácido láctico a partir de hexoses. Elas estão divididas em dois grupos, com base nos produtos finais do metabolismo da glicose. Aquelas que produzem ácido láctico como único ou principal produto da fermentação da glicose são denominadas homofermentativas. As bactérias que produzem a mesma quantidade molar de

ácido láctico, dióxido de carbono e etanol a partir de hexoses são chamadas heterofermentativas. Estas são mais importantes do que as homolácticas na produção de componentes de aroma e sabor, tais como acetaldeído e o diacetil (JAY, 2005).

Os principais produtos lácteos fermentados são a bebida láctea fermentada, iogurte, leites fermentados, kefir, kumys e os queijos. A fermentação láctica se caracteriza pela ação de microrganismos no leite e conseguinte transformação de seus elementos (DOBBS; BELL, 2010). As principais funções das culturas lácticas na fabricação de leites fermentados são: produção de ácido láctico a partir da lactose do leite e a produção de compostos aromáticos como, diacetil, acetaldeído, acetona, etanol e em alguns casos como no kefir a produção de gás carbônico (PRATA; PRATA, 2012).

Segundo os Padrões de Identidade e Qualidade (PIQ) de Leites Fermentados, da Resolução N° 5, de 13 de novembro de 2000, estabelece que a contagem total de bactérias lácticas viáveis deve ser no mínimo de 10^7 UFC/mL no produto final, durante todo o prazo de validade e, no caso em que mencione(m) o uso de Bifidobactérias, a contagem será de 10^6 UFC/mL (BRASIL, 2000). Em relação aos probióticos, o produto deve constar a quantidade dos microrganismos viáveis que garanta a ação alegada dentro do prazo de validade do produto (ANVISA, 2002).

Entre os produtos alimentícios, o leite e seus derivados são os que apresentam maior crescimento. O consumidor brasileiro está reaprendendo a comer, e trazendo para seu hábito diário de consumo, iogurtes, leites, queijo tipo “petit suisse”, queijos, e outros (ODILON, 2001).

Um dos tipos de leite fermentado é a coalhada, produto cuja fermentação é realizada por cultivos individuais ou mistos de bactérias mesofílicas produtoras de ácido láctico (BRASIL, 2007). É um produto ideal para o equilíbrio e balanceamento da microbiota intestinal, colaborando para melhor absorção do cálcio e das proteínas do leite, inibindo a ação de bactérias patogênicas e auxiliando na regularidade intestinal.

2.4 Maracujá (*Passiflora edulis*)

O Brasil é o maior produtor mundial de maracujá, apresentando produção de 684 mil toneladas numa área aproximada de 48.700 hm² (FAO, 2012). O cultivo deve-se as características alimentícias, medicinais e ornamentais que apresenta (MELETT, 2009). *Passiflora edulis Sims f. flavicarpa* é também denominada como maracujá amarelo ou azedo (NEGREIRO et al., 2007).

O maracujá da espécie *P. edulis*, embora originário do território brasileiro, é amplamente cultivado em todo o mundo, sendo o Brasil considerado seu primeiro produtor mundial (REIS et al., 2000). Embora vinte e seis estados brasileiros estejam envolvidos no cultivo do maracujá, dez desses respondem por mais de 40% do volume da produção, entre os quais estão os Estados de Minas Gerais, São Paulo, Bahia, Pernambuco e Alagoas (CÓRDOVA et al., 2005).

No Brasil, a ampla utilização e cultivo da espécie se devem basicamente a dois fatores: ao seu consumo no preparo de sucos e outros produtos alimentícios, tais como sorvetes, sobremesas, bebidas alcoólicas, entre outros, e ao uso popular tradicional, tanto do suco quanto do chá preparado a partir das folhas, como auxílio no tratamento de condições nervosas, insônia, irritabilidade, inquietação, entre outros sintomas relacionados à agitação psicomotora (DOYAMA et al., 2005; CÓRDOVA et al., 2005; SOUZA et al., 2007).

Reconhece-se que o uso centenário de algumas plantas como recurso terapêutico pode ser levado em consideração como prova de sua eficácia (RATES, 2001; ALEXANDRE et al., 2004).

Muitas espécies vegetais utilizadas em função de suas propriedades “calmantes”, “tranquilizantes” e ansiolíticas possuem tradição centenária de uso. Algumas delas, já mencionadas anteriormente, merecem destaque tanto em função do uso tradicional, quanto em função do número de trabalhos disponíveis na literatura: *Valeriana officinalis*, *Piper methysticum*, *Hypericum perforatum* e *Passiflora sp.* Este último gênero é o objeto de estudo do presente trabalho. As espécies vegetais pertencentes ao gênero *Passiflora* são chamadas popularmente de maracujá e têm sido utilizadas tradicionalmente na

medicina popular de vários países como sedativo, ansiolítico natural, e no tratamento e prevenção da irritabilidade, insônia e nervosismo (LIU, 2000).

O gênero é considerado o maior da família Passifloraceae em termos de número de espécies descritas e compreende cerca de 400 a 500 espécies vegetais, distribuídas principalmente nas regiões tropicais e subtropicais do globo. Desse grande número de espécies, aproximadamente 150 são espécies nativas brasileiras e, dentre essas, cerca de 60 produzem frutos que podem ser consumidos como alimento pela população ou usados industrialmente na produção de sucos (CÓRDOVA et al., 2005).

A indústria de alimentos busca inovações que possam favorecer o aproveitamento e o aumento do nicho de mercado para alimentos relativamente conhecidos, como é o caso dos produtos derivados do maracujá (SILVA; CARVALHO; PINTO, 2007).

Referências Bibliográficas

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, **Regulamento Técnico de Substâncias Bioativas e Probióticos Isolados com Alegação de Propriedades Funcional ou de Saúde**, Resolução RDC nº 2, 7 de janeiro de 2002.

ALEXANDRE, R. S. Germinação de sementes de genótipos de maracujazeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.39, n.12, p.1239-1245, 2004.

ANSELMO, G.C.S.; MATA, M.E.R. M. C.; ARRUDA, P.C.; SOUSA, M.C. Determinação da higroscopicidade do cajá em pó por meio da secagem por Atomização. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v. 6, n. 2, p. 58-65, 2006.

ANTUNES, A. E. C.; CAZETTO, T. F.; CARDELLO, H. M. A. B. Iogurtes desnatados probióticos adicionados de concentrado protéico do soro de leite: perfil de textura, sinerese e análise sensorial. **Alimentos e Nutrição**, v. 15, n. 2, p. 105-114, 2004.

BADARÓ, A. C. L.; ARAÚJO, T. F.; CARVALHO, A. F. Análise da contaminação microbiológica, mesófilos proteolíticos e lactofermentadores do leite cru comercializado no município de Ipatinga. **Revista do Laticínio Cândido Tostes**, v. 62, n. 357, p. 293-299, 2007.

BIELECKA, M.; BIEDRZYCKA, E.; MAJKOWSKA, A.; JUSKIEWICZ, J.; WRÓBLEWSKA, M. Effect of non-digestible oligosaccharides on gut microecosystem in rats. **Food Reserch International**, v. 35, p. 139-144, 2002

BORGES, K.C.; MEDEIROS, A.C.L.; CORREIA, R.T.P. Iogurte de leite de búfala sabor cajá (*Spondias lutea* L.): caracterização físico-química e aceitação sensorial entre indivíduos de 11 a 16 anos. **Alimentação e Nutrição**, v.20, n.2, p. 295-300, 2009.

BRASIL. Resolução nº 19, de 30 de abril de 1999, d. Regulamento técnico de procedimentos para registro de alimento com alegação de propriedades funcionais e ou de saúde em sua rotulagem. **Diário Oficial da União** Brasília, 30 de abril de 1999.

BRASIL. Resolução nº 5, de 13 de novembro de 2000. Oficializa os Padrões de Identidade e Qualidade (PIQ) de Leites Fermentados. **Diário Oficial da União**, Brasília, 27 de novembro de 2000.

BRASIL. Resolução RDC nº 269, 22 set. 2005, Regulamento técnico sobre ingestão diária recomendada (IDR) para proteína, vitaminas e minerais. **Diário Oficial da União**, Brasília, 2005.

BRASIL. **Instrução Normativa nº 46, de 23 de outubro de 2007**. Aprova o Regulamento Técnico para fixação de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegisLegislacaoFederal>>. Acesso em: 20 de Julho de 2012.

CHAMPAGNE, C. P.; GARDNER, N. J.; ROY, D. Challenges in the addition of probiotic cultures to foods. **Critical Review of Food Science and Nutrition**, St-Hyacinthe, v. 45, n. 1, p. 61-84, 2005.

CÓRDOVA, K.R.V.; GAMA, T.M.M.T.B.; WINTER, C.M.G.; KASKANTZIS-NETO, G., DE FREITAS, R.J.S. Características físicoquímicas da casca do maracujá amarelo (*Passiflora edulis flavicarpa* Degener) obtida por secagem. **Boletim do CEPPA**, v. 23, n. 2, p. 221-230, 2005.

DIAS, D.R.; SCHWAN, R.F.; LIMA, L.C.O. Metodologia para elaboração de fermentado de cajá. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 23, n. 13, p. 342-350, 2003.

DE DEA LINDNER, J.; CANCHAYA, C.; ZHANG, Z.; NEVIANI, E.; FITZGERALD, G. F.; SINDEREN, D. V.; VENTURA, M. Exploiting bifidobacterium genomes: the molecular basis of stress response. **International Journal of Food Microbiology**, v. 120, n. 1/2, p. 13-24, 2007.

DEMIATE, I.; OETTERER, M.; WOSKCE, G. A fermentação como processo de enriquecimento nutricional. **Ciência e Tecnologia Alimentar**. v. 28, n. 2, p. 170-181, 1994.

DOBBS, C. M.; BELL, L. N. Storage stability of lactose in buffer solutions of various compositions. **Food Research International**, v. 43, p. 382-386, 2010.

DOYAMA, J.T.; RODRIGUES, H.G.; NOVELLI, E.L.B.; CEREDA, E.; VILEGAS, W. Chemical investigation and effects of the tea of *Passiflora alata* on biochemical parameters in rats. **Journal Ethnopharma**, n.96, p. 371-374, 2005.

DONKOR, O.N.; HENRIKSSON, A.; VASIJEVI, C.; SHAH, N.P. Effect of acidification on the activity of probiotics in yoghurt during cold storage. **Internacional Dairy Journal**, v.16, p 1181-1189, 2006.

FARRAR, J. L.; HARTLE, D. K.; HARGROVE, J. L.; GREENSPAN, P. A novel nutraceutical property of select sorghum (*Sorghum bicolor*) brans: inhibition of protein glycation. **Phytotherapy Research**, v. 22, n. 8, p. 1052-1056, 2008.

FARIA, C. P.; BENEDET, H. D.; LE GUERROUE, J. L. Parâmetros de produção de leite de búfala fermentado por *Lactobacillus casei*. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v.41, n.3, p.511-516, 2006.

FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations. Summary of Food and Agriculture Statistics 2011. Disponível em : <<http://www.fao.org>> acessado em 15 de Julho de 2012.

FERREIRA, E. H. R.; CABRAL, J. R. A.; NARDELLI, P. M. Alimentos funcionais: mercado, regulamentação e benefícios à saúde. **Leites e Derivado**, n. 113, ano 18, jul. 2009.

FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da Segurança Alimentar**. Porto Alegre: Artmed, p. 424, 2002.

GALISTEO, M.; DUARTE, J.; ZARZUELO, A. Effects of dietary fibers on disturbances clustered in the metabolic syndrome. **Journal Nutrition Biochemycal**, v. 19, n. 2, p. 71-84, 2008.

GUEIMONDE, M. SALMINEN, S. New methods for selecting and evaluating probiotics. **Digestive and Liver disease**, v.38, suppl.2, p. 242-247, 2006.

HAARMAN, M.; KNOL, J. Quantitative real-time PCR Assays to identify and quantify fecal *Bifidobacterium* species in infants receiving a prebiotic infant formula. **Application Environ Microbiology**, v.71, n.5, p.2318-2324, 2005.

HAMILTON-MILLER, J. M. T. Probiotics and prebiotics in the elderly. *Postgrad. Medicine Journal*, v.80, p.447-451, 2004.

HAMILTON-MILLER, J.M.T.; GIBSON, G. R.; BRUCK, W. Some insights into the derivation and early uses of the word 'probiotic', **British Journal of Nutrition**, V.90, p. 845, 2003.

HASLER, C. M.; BLOCH, A. S.; THOMSON C. A.; ENRIONE, E.; MANNING, C. Position of the American Dietetic Association: Functional Foods. **Journal of American Dietetic Association**, v. 104, n. 5, p. 814-826, 2004.

HOLZAPFEL, W.H.; SCHILLINGER, U. Introduction to pre- and probiotics. **Food Revision Introduction**, v.35, n.2/3, p.109-116, 2002.

IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. On line. Disponível em:<<http://www.ibge.gov.br/>> acesso em 10 de agosto de 2011.

JAY, J. M. **Microbiologia de Alimentos**. 6ed. Porto Alegre: Artmed, p.711, 2005.

JELEN, P.; LUTZ, S. Functional milk and dairy products. In: MAZZA, G., ed. Functional foods: biochemical and processing aspects. Lancaster: **Technomic Publishing**, p.357-381, 1998.

KEMPKA, A.P.; KRÜGER, R. L; VALDUGA, E.; DI LUCCIO, M.; TREICHEL, H.; CANSIAN, R.; OLIVEIRA, D. Formulação de bebida láctea fermentada sabor pêssego utilizando substratos alternativos e cultura probiótica. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.28, p. 170-177, 2008.

KRÜGER, R.L; KEMPKA, A.P.; OLIVEIRA, D.; VALDUGA, E.; CANSIAN, R.L.; TREICHEL, H.; DI LUCCIO, M. Desenvolvimento de uma bebida Láctea probiótica utilizando como substratos soro de leite e extrato hidrossolúvel de soja. **Alimentação e Nutrição**, v.19, n.1, p. 43-53, 2008.

LEPORANTA, K. Developing fermented milks into functional foods. *Innov. Food Technology*, v.10, p. 46–47, 2001.

LOURENS-HATTINGH, A.; VILJOEN, B. C. Yogurt as probiotic carrier food. **International Dairy Journal**. v. 11, p. 1-17, 2001.

LIU, Y.; LUO, J.; XU, C.; REN, F.; PENG, C.; WU, G.; ZHAO, J. Purification, characterization, and molecular cloning of the gen seed-specific antimicrobial protein from pokeweed. **Plants Physiology**, v. 122, p. 1015-1024, 2000.

LIU Q, DUAN Z, HA D, Synbiotic modulation of gut flora: effect on minimal hepatic encephalopathy in patients with cirrhosis. **Hepatology**, v.39, p.1441-9, 2004.

MACEDO, L. N.; LUCHESE, R. H.; GUERRA, A. F.; BARBOSA, C.G. Efeito prebiótico do mel sobre o crescimento e viabilidade de *Bifidobacterium* spp. E *Lactobacillus* spp. em leite. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n.4, p. 935-942, 2008.

MAIA, L. M. S. S. ; SANTOS, A. A. Alimentos e suas ações em sistemas fisiológicos. **Revista Ciência e Alimentos**, v.3, nºs.1 e 2, p. 24-34, 2006.

MATSUBARA, S. Alimentos Funcionais: uma tendência que abre perspectivas aos laticínios. **Revista Indústria de Laticínios**, v. 6, n. 34, p. 10-18, 2001.

MARUYAMA, L. Y.; CARDARELLI, H. R.; BURITI, F. C. A.; SAAD, S. M. I. Textura instrumental de queijo *petitsuisse* potencialmente probiótico: influência de diferentes combinações de gomas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.26, n.2, p.386-393, 2006.

MELETTI, L. M. M. Maracujá: diferencial de qualidade da cv. IAC 275 leva agroindústria de sucos a triplicar demanda por sementes. 2009. Artigo em Hipertexto. Disponível em: <http://www.infobibos.com/Artigos/2009_3/maracuja/index.htm>. Acesso em: 9/9/2011

MORAES, F. P. ; COLLA, L. M. Alimentos funcionais e Nutraceuticos: Definições, legislação e Benefícios à Saúde. *Revista Farmaceutica*, v. 3, nº2, p. 109-122, 2006.

MOSQUERA, G.V.; SALGADO, A.L.C. **Dieta atlântica Seguridad alimentaria Nutrición y mujer**, II REUNIÓN INTERNACIONAL LA ALIMENTACIÓN Y LA NUTRICIÓN EN EL SIGLO XXI - Fundación Española de la Nutrición, Madrid, 2002.

NEGREIRO, J. R. S.; ÁLVARES, V. S.; BRUCKNER C.H.; MORGADO, M. A. D.; CRUZ, C. D. Relação entre características físicas e o rendimento de polpa

de maracujá-amarelo, **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 29, n. 3, p. 546-549, 2007.

ODILON, L.L. Com crescente aumento do consumo, setor de embalagens lácteas se torna promissor. **Revista Leite e Derivados**, ano XI, n° 61, novembro/dezembro 2001.

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

OLIVEIRA, M. N.; DAMIN, M. R. Efeito do teor de sólidos e da concentração de sacarose na acidificação, firmeza e viabilidade de bactérias do iogurte e probióticas em leite fermentado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 23, p. 172-176, 2003.

Organização Mundial de Gastroenterologia. **Probióticos e Prebióticos : Guias práticas da OMGE**, 2008. Disponível em http://www.worldgastroenterology.org/assets/downloads/pt/pdf/guidelines/19_probiotics_prebiotics_pt.pdf. Acesso em 10 de Nov. de 2012.

OHR, L M. Improving the gut feeling. **Food Technology**, v. 56, n. 10, p. 67-70, 2002.

PALANCA, V.; RODRÍGUEZ, E.; SEÑORÁNS, J.; REGLERO, G. Bases científicas para el desarrollo de productos cárnicos funcionales com actividad biológica combinada. **Alimentos funcionales, Nutrición Hospitalaria**, v. 21, n. 2, p. 199-202, 2006.

PICARD, C.; FIORAMONTI, J.; FRANCOIS, A.; ROBINSON, T.; NEANT, F.; MATUCHANSKY, C. Bifidobacteria as a probiotic agents – physiological effects and clinical benefits. **Alimentary Pharmacology & Therapeutics**, v. 22, n. 6, p. 495-512, 2005.

PIMENTEL, B.M.V.; FRABCKI, M.; GOLLÜCKE, B. P. **Alimentos Funcionais: introdução as principais substancias bioativas em alimentos**. Varell, 2007.

PRATA L.F.; PRATA C.B., Determinação de gmp e cmp* no leite por métodos espectrofotométrico (ansm) e cromatográfico (hplc) – parâmetros metodológicos (*glicomacropéptido e caseinomacropéptido), **Archives of Veterinary Science**, v.17, n.2, p.29-39, 2012

PUUPPONEN-PIMIÄ, R.; AURA, A.; OKSMAN-CALDENTY, K.; MYLLÄRINEN, P.; SAARELA, M.; MATTILA-SANDHOLM, T.; POUTANEN, K. Development of functional ingredients for gut health. **Trends in Food Science & Technology**, v. 13, n. 1, p. 3-11, 2002.

RATES, S.M.K. **Plants as source of drugs**. *Toxicon*, Oxford, v. 39, p. 603-613, 2001.

REID, G.; SANDERS, M. E.; GASKINS, H. R.; GIBSON, G. R.; MERCENIER, A.; RASTALL, R.; ROBERFROID, M.; ROWLAND, I.; CHERBUT, C.; KLAENHAMMER, T. R. New scientific paradigms for probiotics and prebiotics. **Journal of Clinical Gastroenterology**, Ontario, v. 37, n. 2, p. 105-118, 2003.

REIS, J.; PAIVA, P.C.A.; VON TIESENHAUSEN, I.M.E.V.; REZENDE, C.A.P. Composição química, consumo voluntário e digestibilidade de silagens de resíduos do fruto do maracujá (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa*) e de capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum) CV. Cameroon e suas combinações. **Ciência Agrotecnologia**, v. 24, n. 1, p. 213-224, 2000.

ROBERFROID, M.B. Global view on functional foods: Eorupean perspectives. **Critish Journal of Nutrition**, v. 88: p133-p138. 2002.

ROBERFROID, M. B. Introducing inulin-type fructans. **Journal Nutricion**, v.93, suppl.1, p.S13-S25, 2005.

ROBERFROID, M. B. Inulin-type fructans: functional food ingredients. **The Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 137, n. 11, p. 2493S-2502S, 2007.

RODRIGUEZ S., MANUELA B., MONEREO M., SUSANA E MOLINA B., BEGOÑA. Alimentos funcionales y nutrición óptima: ¿Cerca o lejos?. **Revista Espanhola Salud Publica**, vol. 77, nº. 3, pp. 317-331, 2003.

SAAD, S. M. I. Probióticos e prebióticos: o estado da arte. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. v. 42, n. 1., p.1-16, 2006.

SAXELIN, M. The technology of probiotics. **Food Science Technology**, v.10, n.12, p. 387-392, 2004.

SALGADO, J. M.; ALMEIDA, M. A. Mercado de alimentos funcionais: desafios e tendências. Sociedade Brasileira de Alimentos Funcionais (SBAF). 2009. Disponível em: www.sbafe.org.br/_artigos/200806_Mercado_Alimentos_Funcionais_-_Desafios_Tendencias.pdf>. Acesso em: 06 nov. 2012.

SHAH, N.P. Functional cultures and health benefits. **International Dairy Journal**, v. 17, p. 1262-1277, 2007.

SOCCOL, C. R.; VANDENBERGHE, L. P. D. S.; MEDEIROS, A. B. P.; YAMAGISHI, C. T.; DE DEA LINDNER, J.; PANDEY, A.; THOMAZ-SOCCOL, V. The potential of the probiotics: a review. **Food Technology and Biotechnology**, v. 48, n. 4, p. 413-434, 2010.

SOUZA GC, HAAS APS, VON POSER GL, SCHAPOVAL EES, ELISABETSKY E, Ethnopharmacological studies of antimicrobial remedies in the south of Brazil. **Journal Ethnopharmacol**, v. 90, p. 135-143, 2007.

SHORTT C.; O'BRIEN J., **Handbook de produtos lácteos funcionais**, p. 91-108, 2004.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A.; TANIWAKI, M.H.; SANTOS, R.F.S.; GOMES, R.A.R. **Manual de Métodos de Análises Microbiológicas de Alimentos**, Varela, 3ª Ed São Paulo, 2007.

SOUZA, P. H. M.; SOUZA NETO, M. H.; MAIA, G. A. Componentes funcionais nos alimentos. **Boletim da SBCTA**, v. 37, n. 2, p. 127-135, 2003.

STANTON, C.; DESMOND, C.; COAKLEY, M.; COLLINS, J.K.; FITZGERALD, G.; ROSS, R.P. Challenges facing development of probiotic-containing functional foods. In: FARNWORTH, E.R., ed. **Handbook of fermented functional foods**. Boca Raton: CRC Press, p. 27-58, 2003.

STRINGHETA, P. C.; OLIVEIRA, T. T. ; GOMES, R. C. Políticas de saúde e alegações de propriedades funcionais e de saúde para alimentos no Brasil. **Revista Brasileira Ciências Farmaceuticas**, v.43, no.2, p.181-194, 2007.

TAMINE, A. Y.; ROBINSON, R. K. **Yogurt: science and technology**. Oxford: Pergamon Press, p. 431, 1985.

THAMER, K. G.; PENNA, A. L. B. Caracterização de bebidas lácteas funcionais fermentadas por probióticos e acrescidas de prebióticos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 3, p. 1-7, 2006.

VAN DENDER, A. G. F.; BOSI, M. G.; CONRADO, P. B. Fibra alimentar e a sua utilização na fabricação de produtos lácteos funcionais. **Leite e Derivados**, v. 14, n. 82, p. 107-115, 2005.

VASILJEVIC, T.; SHAH, N.P. Probiotics—From Metchnikoff to bioactives. **International Dairy Journal**, v.18, p. 714– 728, 2008.

VIEIRA, A. C. P.; CORNÉLIO, A. R. Alimentos funcionais: aspectos relevantes para o consumo. **Jus Navigandi**, V.10, n. 1123, 2007.

VILELA D., BRESSAN M., CUNHA A. S. Cadeia de Lácteos no Brasil: restrições ao seu desenvolvimento. Embrapa, Juiz de Fora MG, 2001.

ZIEMER, C.J.; GIBSON, G.R. An overview of probiotics, prebiotics and synbiotics in the functional food concept: perspectives and future strategies. **Introduction Dairy Journal**, v.8, p.473-479, 1998.

WEINBRECK, F.; BODNAR, I.; MARCO, M.L. Can encapsulation lengthen the shelf-life of probiotic bacteria in dry products? **International journal of food microbiology**, v. 136, p. 368-367, 2010.

Objetivos

4- OBJETIVOS

4.1 Geral

- ❖ Desenvolver formulações de coalhada sabor maracujá a partir de culturas probióticas e frutooligossacarídeos.

4.2 Específicos

- ❖ Selecionar as formulações com melhor desempenho quanto à avaliação sensorial;
- ❖ Avaliar a influência do tipo de leite, microrganismos probióticos e FOS sobre as características sensoriais das coalhadas;
- ❖ Caracterizar as formulações selecionadas quanto à avaliação físico-química e microbiológica;
- ❖ Verificar a estabilidade das formulações selecionadas durante o período de estocagem.

Resultados

5. Resultados

5.1 ARTIGO: COALHADAS ELABORADAS COM CULTURAS PROBIÓTICAS E FRUTOOLIGOSSACARÍDEOS SABOR MARACUJÁ: AVALIAÇÃO SENSORIAL E ESTABILIDADE DURANTE A ESTOCAGEM.

RESUMO

Produtos lácteos, especialmente leites fermentados, apresentaram grande aumento de produção e comercialização em todo mundo, devido a maior aceitação pelo consumidor. Esta pesquisa teve como objetivo desenvolver diferentes formulações de coalhada, adicionadas de culturas probióticas e frutooligossacarídeos, sabor maracujá, bem como selecionar as que apresentarem melhor desempenho na avaliação sensorial, avaliando sua estabilidade durante o armazenamento a partir de análises físico-químicas e microbiológicas. Foram desenvolvidas 5 formulações: COALHADA COM LEITE DESNATADO COM 8g de FOS, COALHADA COM LEITE INTEGRAL COM 8g de FOS, COALHADA COM LEITE DESNATADO COM 16g de FOS, COALHADA COM LEITE INTEGRAL COM 16g de FOS e COALHADA COM LEITE SEMI-DESNATADO COM 12g de FOS. Foi realizada análise sensorial das formulações desenvolvidas, a avaliação da estabilidade foi realizada com as formulações de coalhadas que obtiveram o melhor índice de aceitabilidade, a partir de análises físico-químicas e microbiológicas nos períodos 1, 7, 14, 21 e 28 dias de estocagem. De acordo com a avaliação dos atributos sensoriais (cor, aroma, textura, sabor e avaliação global) e índice de aceitabilidade, as formulações de coalhada sabor maracujá com 8 e 16g de FOS/ 1000 mL e leite integral (ensaios 2 e 4) foram selecionadas. Os aspectos físico-químicos apresentaram-se dentro do padrão preconizado pela legislação e mantiveram-se estáveis em todo período de estocagem; para os aspectos microbiológicos as coalhadas obtiveram bom padrão higiênico sanitário, pois bolores, leveduras e coliforme se mostraram ausentes em toda estocagem; as bactérias com potencial probiótico apresentaram-se em quantidade superior ao recomendado pela legislação vigente.

Palavra-chave: coalhada; produtos lácteos; alimentos funcionais

ABSTRACT

Dairy products, especially fermented milk, showed a large increase production and marketing worldwide, due to greater consumer acceptance. This research aimed to develop different formulations curd, added probiotic cultures and fructooligosaccharides, passion fruit flavor, as well as select which present better performance in sensory evaluation, assessing their stability during storage from physical-chemical and microbiological. 5 formulations were developed: CURD WITH SKIM MILK WITH 8g of FOS, CURD WITH MILK WITH INTEGRAL 8g of FOS, CURD WITH SKIM MILK WITH 16g FOS, CURD WITH MILK WITH INTEGRAL 16g FOS and CURD WITH SEMI-SKIM MILK WITH 12g FOS. Sensory analysis was performed of the developed formulations, stability evaluation was performed with the formulations of curds that scored the highest index of acceptability, from physico-chemical and microbiological properties in periods 1, 7, 14, 21 and 28 days of storage . According to the evaluation of sensory attributes (color, aroma, texture, flavor and overall evaluation) and acceptability index, formulations curd and passion fruit flavor with 8 16g FOS / 1000 mL and whole milk (tests 2 and 4) were selected. The physicochemical aspects were within the standard recommended by the legislation and remained stable throughout the storage period, for the microbiological aspects curds obtained good standard sanitary toilet as molds, yeasts and coliform proved absent throughout storage; potential probiotic bacteria showed up in quantity than recommended by current legislation.

Keyword: curd, dairy products, functional foods

1. Introdução

Os alimentos funcionais representam grande área de estudo em todo o mundo e um mercado altamente promissor. O volume de vendas global de alimentos funcionais em 2006 foi estimado em 46 bilhões de dólares e espera-se que em 2013 cresça para 90 bilhões. De acordo com estimativas, o mercado brasileiro de produtos funcionais cresce cerca de 20% ao ano. Em relação à venda de leites fermentados, 84% das vendas são de produtos regulares (integrais), 8% são de produtos “light/diet” e 8% são de funcionais. No entanto, os leites fermentados funcionais já ultrapassaram os “light” em faturamento. O mercado global de leites fermentados deverá superar 67 bilhões de dólares até 2015, impulsionado pelo crescente desejo dos consumidores por produtos convenientes e promotores de saúde, especialmente os alimentos funcionais (GALLINA, 2010).

Produtos lácteos, especialmente leites fermentados, obtiveram grande aumento de produção e comercialização em todo mundo, devido a maior aceitação pelo consumidor. Fato este confirmado por Alvim et al. (2012) ao verificar a importância relativa do produto lácteo no contexto do agronegócio nacional que observou o aumento de produção desses produtos de 248% contra 78% de todos os outros segmentos.

O alto consumo de produtos lácteos é reconhecidamente benéfico para a manutenção da saúde. Esse efeito é atribuído, em parte, às bactérias ácido-lácticas, estas são dotadas de propriedades benéficas (ALVES et al., 2009), como também as probióticas, tais como *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*, têm sido incorporadas à leites fermentados a fim de atribuir a esses produtos qualidades de alimento funcional (SAAD, 2006).

Os alimentos probióticos são definidos como aqueles que contêm microrganismos capazes de melhorar o equilíbrio microbiano intestinal produzindo efeitos benéficos à saúde do indivíduo (BRASIL, 2007).

Para melhorar a viabilidade e vitalidade de um probiótico, bem como as suas chances de sobrevivência no trato digestivo, um prebiótico pode ser incluído no produto (BRANNON, 2006; VASILJEVIC; SHAH, 2008). Os prebióticos mais comuns são a inulina e os frutooligossacarídeos, pois eles resistem à digestão pelo ácido gástrico e enzimas pancreáticas in vivo

(BRUNO; LANKAPUTHRA; SHAH, 2002). Esta inclusão resulta em um produto simbiótico, tornando-o uma alternativa para lidar com várias condições gastrointestinais e sistêmicos, incluindo a intolerância à lactose, diarreia, alergias alimentares e imunomodulação, entre outros (MOSQUERA; SALGADO, 2002).

A saborização desses produtos com frutas é bastante utilizada no Brasil, e como o maracujá é um dos frutos mais consumidos, destacando esse país como principal produtor do fruto, com cerca de 90% da produção mundial, podendo ser consumido in natura ou industrializado, e tem excelente aceitação entre os consumidores (IBGE, 2011).

Um tipo de leite fermentado consumido no Brasil é a coalhada oriunda da fermentação do leite, por bactérias específicas, individuais ou mistas, mesófilas, produtoras de ácido láctico (BRASIL, 2007). No passado quase que totalmente fabricada artesanalmente, nos últimos anos vem ganhando espaço na indústria e no paladar dos consumidores (LINDNER; PANDEY; THOMAZ-SOCCOL, 2010).

A coalhada é, portanto um leite fermentado, que fundamentalmente difere do iogurte pela flora que a compõe, ou seja, a flora mesófila, que possui crescimento ótimo na faixa de temperatura de 18 a 35°C, composta normalmente por *Lactococcus lactis subsp. cremoris*, *Lactococcus lactis subsp. lactis*, *Lactococcus diacetylactis*, algumas vezes combinadas com *Lactobacillus acidophilus* (BRASIL, 2007).

A presente pesquisa teve como objetivo desenvolver diferentes formulações de coalhada, adicionadas de culturas probióticas e frutooligossacarídeos, sabor maracujá, bem como selecionar as que apresentarem melhor índice de aceitabilidade, avaliando sua estabilidade durante o armazenamento a partir de análises físico-químicas e microbiológicas.

2. Material e métodos;

2.1. Material

Foram utilizados frutos de Maracujá (*Passiflora edulis*) provenientes do comércio local na cidade do Recife-PE. Foi utilizado açúcar cristal refinado, para adoçar as formulações; leites esterilizados UHT (Ultra-High Temperature) desnatado (proteína- 6,3g; lipídeos- 0g; carboidratos- 9,1g; fibra alimentar- 0g; VCT- 63Kcl; cálcio- 209mg), semi-desnatado (proteína- 6,3g; lipídeos- 2,0g; carboidratos- 9,1g; fibra alimentar- 0g; VCT- 93Kcl; cálcio- 209mg) e integral (proteína- 6,0g; lipídeos- 6,0g; carboidratos- 9,4g; fibra alimentar- 0g; VCT- 115Kcl; cálcio- 183mg), também adquiridos no comércio local; fermento misto (Docina®) com cepas de *Lactococcus lactis subsp. cremoris*, *Lactococcus lactis subsp. lactis*, *Lactococcus diacetylactis* na proporção de 1:1, fermento misto (Bio-Rich®) com cepas de *Bifidobacterium Bb 12* e *Streptococcus thermophilus* e frutoligossacarídeo (FOS) (SKL Pharma®).

2.2 Métodos

- Elaboração da Polpa de Maracujá

Para extração da polpa os frutos de maracujá, adquiridos no comércio local, foram transportados ao Laboratório de processamento de Alimentos do DCD/UFRPE onde foi realizado o procedimento utilizando despulpadeira semi-industrial, marca Bobina, modelo Compacta.

- Elaboração das Coalhadas sabor Maracujá

Para elaboração das coalhadas foi utilizada a metodologia de superfície de resposta com a finalidade de avaliar a influência do Tipo de leite e quantidade de FOS sobre os atributos sensoriais Aroma, Cor, Textura, Sabor e Avaliação Global na elaboração de coalhada simbiótica sabor maracujá. 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. Este planejamento teve como objetivo avaliar o efeito do tipo de leite (desnatado, semidesnatado e integral) e quantidade de FOS (g) (variáveis independentes) sobre as respostas: atributos sensoriais

(Aroma, Cor , Textura, Sabor e Avaliação Global) e Intenção de Compra. Os dados obtidos foram ajustados ao seguinte polinômio:

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

Em que β_n são os coeficientes de regressão, y é a resposta em questão (aceitação dos atributos de qualidade) e L e F são as variáveis codificadas (Tipo de leite e %FOS, respectivamente) A Tabela 1 apresenta as variáveis independentes codificadas e decodificadas:

Tabela 1. Níveis decodificados das variáveis independentes de acordo com planejamento fatorial 2^2 para elaboração de diferentes formulações de coalhada sabor maracujá.

Codificação	Tipo de leite	FOS (%)
-1	Desnatado	8
0	Semidesnatado	12
1	Integral	16

FOS: Frutooligossacarídeos

As formulações foram desenvolvidas de acordo com as etapas descritas na Figura 1.

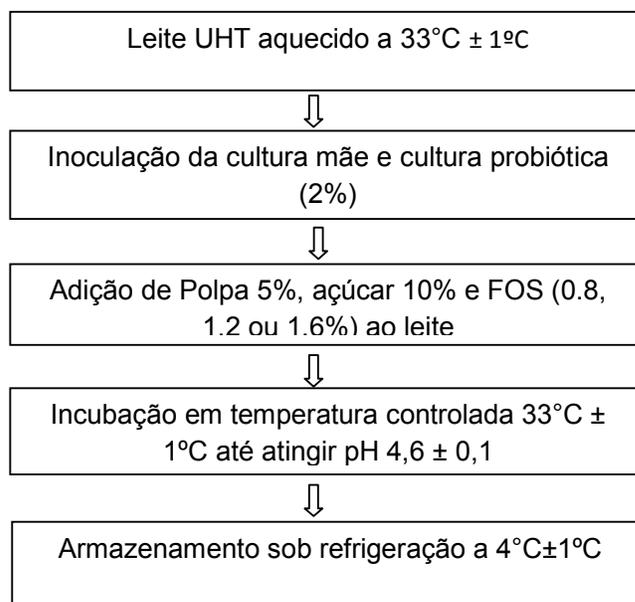


Figura 1: Fluxograma de elaboração para Coalhadas sabor maracujá.

Os inócuos foram preparados a partir de culturas de bactérias liofilizadas. Duas culturas concentradas para inoculação direta foram utilizadas: uma cultura starter contendo *Lactococcus lactis subsp. cremoris*, *Lactococcus*

lactis subsp. lactis, *Lactococcus diacetylactis* (Docina®) e outra contendo os microrganismos probióticos *Bifidobacterium Bb 12* e *Lactobacillus acidophilus* LA-5 (Bio-Rich®).

Para preparo da cultura mãe, um grama de cada cultura (contendo $1,0 \times 10^6$ UFC g⁻¹ de cada um dos quatro microrganismos) foi inoculado em 1000ml de leite de vaca UHT Desnatado.

Iniciando o processo de elaboração, foi inoculada a cultura mãe e probiótica (2% ou 20 ml na proporção de 1:1), adicionado açúcar na proporção de 10%, polpa de maracujá em concentração de 5% e 8, 12 e 16g de Frutoligossacarídeos (FOS)/ litro de leite, de acordo com o planejamento experimental. Foi realizada a fermentação em estufa a 33°C por 8 a 12 horas, até atingir pH $4,6 \pm 0,1$ (Figura 1). Foram desenvolvidas 5 formulações (Tabela 2), após a fermentação, estas foram mantidas em refrigeração a 4°C, para posteriormente serem submetidas à avaliação sensorial, determinação do pH e acidez, além de análises microbiológicas.

Tabela 2. Planejamento Fatorial 2² das formulações de Coalhadas sabor maracujá

Ensaio	Tipo de Leite	FOS (%)
1	Desnatado (-1)	8 (-1)
2	Integral (1)	8 (-1)
3	Desnatado (-1)	16 (1)
4	Integral (1)	16 (1)
5	Semidesnatado (0)	12 (0)
6	Semidesnatado (0)	12 (0)
7	Semidesnatado (0)	12 (0)

FOS: Frutooligossacarídeos

3.3 Avaliação sensorial das formulações

A presente pesquisa foi previamente liberada para coleta dos dados e posteriormente aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa envolvendo seres humanos do Centro de Ciências da Saúde da Universidade de Pernambuco (CEP/CCS/UPE N° 235.154) (ANEXO 3).

As formulações, para garantir a segurança alimentar dos provadores, foram submetidas a análises quanto ao padrão de qualidade (*Coliformes totais*, *Escherichia coli*, *bolores e leveduras*, *Staphylococcus aureus*, *Estafilococos coagulase positiva* e contagem padrão de bactérias aeróbias) (AOAC, 2003) e todas apresentaram-se dentro dos limites estabelecidos pela legislação vigente (BRASIL, 2001).

As formulações de coalhadas foram avaliadas por 70 provadores, não treinados, de ambos os sexos (64% mulheres e 36% homens), maiores de 18 anos e que apreciavam coalhada. Foi utilizado teste de aceitação com escala hedônica estruturada de 9 pontos, onde 9 representa “gostei muitíssimo” e 1 “desgostei muitíssimo” (MINIM, 2006). Os atributos avaliados foram aroma, cor, textura, sabor e avaliação global.

Os provadores receberam aproximadamente 40 mL de cada amostra com temperatura entre 4 - 8°C em potes de polietileno com capacidade para 50 mL, codificados com números aleatórios de três dígitos, acompanhadas de água e bolacha para limpeza do palato, a avaliação sensorial foi realizada em cabines individuais com luz branca artificial

A análise sobre intenção de compra foi realizada utilizando a escala de 5 pontos (1 - jamais compraria a 5 - compraria).

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

(Equação 1):

$$IA (\%) = Y \times 100/Z \text{ Equação 1}$$

Onde:

Y = nota média obtida para o produto

Z= Nota máxima obtida

3.4 Estabilidade durante o armazenamento

A avaliação da estabilidade foi realizada com as formulações de coalhadas que obtiveram o melhor índice de aceitabilidade, a partir de análises físico-químicas e microbiológicas nos períodos 1, 7, 14, 21 e 28 dias de estocagem, sob refrigeração ($4^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$).

3.4.1 Avaliação Físico-química

As análises físico-químicas foram realizadas em duplicata, com 4 repetições conforme metodologia descrita pela AOAC (2002).

- **Umidade**

As amostras foram secas em estufa, com temperatura estabilizada a 105°C por 24 horas consecutivas, até obtenção de peso constante.

- **Cinzas**

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

- **Lipídios**

Essa análise foi realizada pelo método de Gerber.

- **Proteínas totais**

As proteínas totais foram determinadas pelo método de Micro-Kjedahl, com fator de conversão de nitrogênio total em proteína 6,38 multiplicando esse fator pela porcentagem de nitrogênio.

- **Lactose e Açúcares Totais**

As análises foram realizadas segundo o método de redução de Fehling, expressando-se os resultados em lactose e açúcares totais (g/100g).

- **pH e acidez**

Para a determinação de pH foi utilizado potenciômetro digital, previamente calibrado, operando-o de acordo com as instruções do fabricante. A acidez foi determinada por titulação com solução de hidróxido de sódio 0,1 N.

3.4.2 Avaliação microbiológica

As coalhadas fermentadas foram submetidas as seguintes análises microbiológicas: Para determinação de Coliformes totais, *Escherichia coli*, bolores e leveduras, *Staphylococcus aureus*, *Estafilococos coagulase positiva* e contagem padrão de bactérias aeróbias, foi realizado o método rápido com a utilização de placas Petrifilm com meios de cultura seletivos (AOAC, 2003).

Para enumeração de *Lactobacillus sp.*(*Lactobacillus delbruekii subsp. bulgaricus* e *Lactobacillus acidophilus* LA-5), *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus* e *Bifidobacterium* Bb 12 foi utilizado o meio de cultura formulado Agar HDD (homofermentative heterofermentative diferencial médium) por plaqueamento em superfície, com incubação em estufa com temperatura controlada de 37°C ± 1°C por 72hs ± 2hs em anaerobiose (AOAC, 1995). Neste meio as colônias eram identificadas por diferenças na morfologia e coloração das colônias, onde as colônias de *Lactobacillus sp.* apresentavam-se grandes com centro azul e circunferência branca, as de *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus* apresentavam-se como colônias azuis e as de *Bifidobacterium* Bb 12 apresentavam-se como colônias brancas, metodologia descrita por MAPA (BRASIL, 2003; BRASIL, 2005, AOAC, 2002).

3.5 Métodos Estatísticos

Resultados das análises sensoriais e físico químicas foram realizadas de acordo com programa computacional Statistica for Windows 7.0 (STATSOFT, 2004), adotando-se nível de significância de 5% de probabilidade.

4. Resultados e Discussão

4.1 Avaliação sensorial

De acordo com a Tabela 3 observa-se que o ensaio 2, com leite integral e 8g de FOS/1000 ml de leite, apresentou maior nota em todos os atributos sensoriais, porém não apresentou diferença significativa ($p>0,05$) para os atributos aroma, cor e sabor com relação aos ensaios 4 e 5, ao passo que nos atributos textura e avaliação global, o ensaio 2 diferiu significativamente ($p<0,05$) do ensaio 5. Na Tabela 4 observa-se que este ensaio teve maior percentual (53,8%) dos provadores para o critério de avaliação “certamente compraria”.

Tabela 3. Média dos resultados da análise sensorial das variáveis dependentes (atributos de qualidade) do Planejamento fatorial 2^2 para Coalhadas sabor maracujá.

Ensaio	Tipo de Leite	FOS (%)	Aroma	Cor	Textura	Sabor	Avaliação Global
1	Desnatado	8	6,41bc	6,65b	5,38c	5,86b	5,98c
2	Integral	8	7,24a	7,64a	7,83a	7,31a	7,67a
3	Desnatado	16	5,93c	6,45b	4,88c	5,33b	5,12d
4	Integral	16	6,96ab	7,26a	7,38ab	6,84a	7,10ab
5	Semidesnatado	12	6,93a	7,27a	6,82b	6,58a	6,73b
6	Semidesnatado	12	7,20a	7,14a	6,80b	7,10a	6,95b
7	Semidesnatado	12	7,10a	7,0a	6,40b	6,85a	6,80b

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

Tabela 4. Percentual das notas obtidas na intenção de compras, na análise sensorial de coalhadas sabor maracujá.

Ensaio	Intenção de Compra (%)				
	Jamais compraria	Talvez não compraria	Talvez compraria/ Talvez não compraria	Talvez compraria	Certamente compraria
1	18,97	25,86	18,97	22,41	13,79
2	3,20	1,50	14,80	26,70	53,80
3	32,77	25,86	22,41	8,62	10,34
4	3,80	1,42	14,70	27,45	52,63
5	3,45	11,72	15,52	27,59	41,72
6	1,72	5,17	15,52	32,76	44,83
7	3,45	10,34	17,24	27,59	41,38

A Tabela 5 apresenta os coeficientes de regressão para cada polinômio gerado pelas variáveis independentes.

Tabela 5. Coeficientes de regressão obtidos para os atributos sensoriais e intenção de compra de Coalhadas sabor maracujá

Coeficiente	Aroma	Cor	Textura	Sabor	Avaliação Global	Intenção de Compra
B₀	6,824	7,087	6,627	6,553	6,621	3,48
B₁	0,465	0,45	1,237	0,740	0,917	0,71
B₂	NS	-0,145	NS	NS	-0,357	NS
B₁₂	NS	NS	NS	NS	NS	NS
R²	0,733	0,919	0,900	0,808	0,940	0,892

NS: não significativo ($p > 0,05$); 0: média; 1: tipo de leite e 2: FOS

Ao observar as Figuras 2, 3, 4, 5, 6 e 7, foi constatado que o tipo de leite teve maior influência em todos os atributos sensoriais, ou seja, coalhadas com leite integral obtiveram melhor aceitação. Segundo Kähkönen; Tuorila 2006, alimentos com redução de gordura terão como consequência modificações nas propriedades sensoriais, os quais são frequentemente identificadas pelo consumidor, e não são bem aceitos. Além dos ingredientes adicionados à mistura-base, outros fatores podem influenciar nas características organolépticas dos produtos, a exemplo Martin et al. 2008 observaram que a combinação de fermentos lácteos, temperatura de incubação e pH final influenciaram nas características organolépticas de coalhadas desnatadas.

Na Figura 3 e 6 pode-se constatar que o percentual de FOS influenciou significativamente a cor e avaliação global, menor percentual desta variável associado à utilização de leite integral, maiores foram às notas obtidas para estes atributos. Resultados similares a esta pesquisa foram encontrados por Saxelin et al. (2004), ao confirmarem que as cepas probióticas e adição de prebióticos não interferiram no sabor dos produtos elaborados e por GARDINI

et al. (2006) ao constatar em que o nível de inoculação de *L. acidophilus* (0,5 a 2,5%), não resultou em mudança na qualidade sensorial.

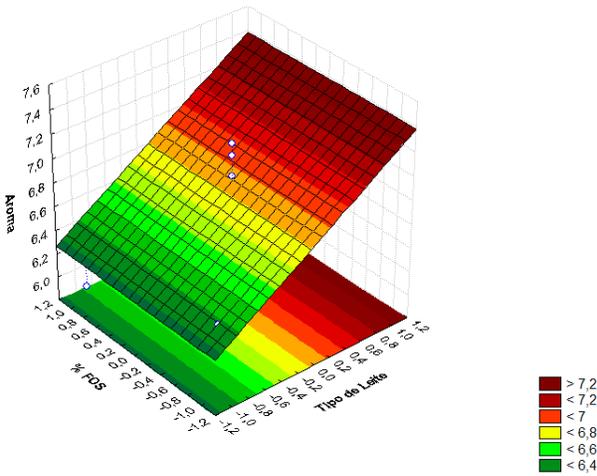


Figura 2. Superfície de Resposta do Aroma função do tipo de leite e percentual de FOS

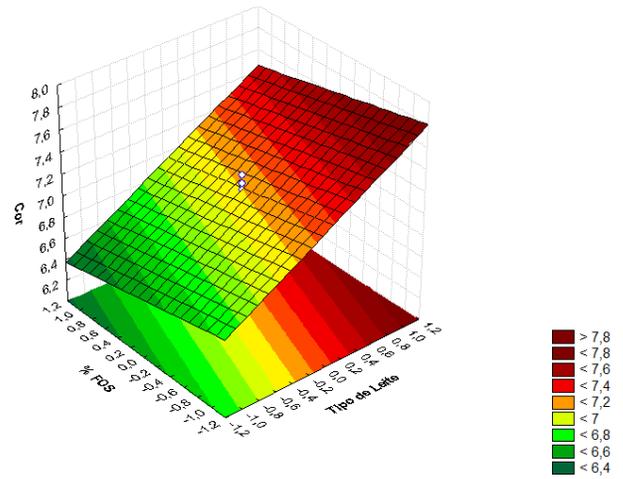


Figura 3. Superfície de Resposta da Cor função do tipo de leite e percentual de

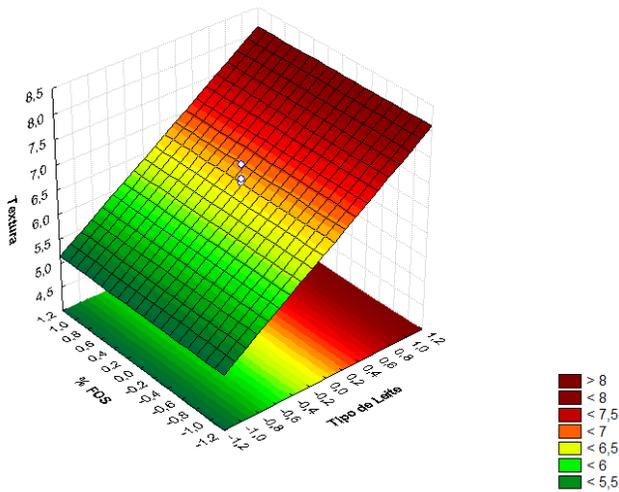


Figura 4. Superfície de Resposta da Textura em função do tipo de leite e percentual de FOS

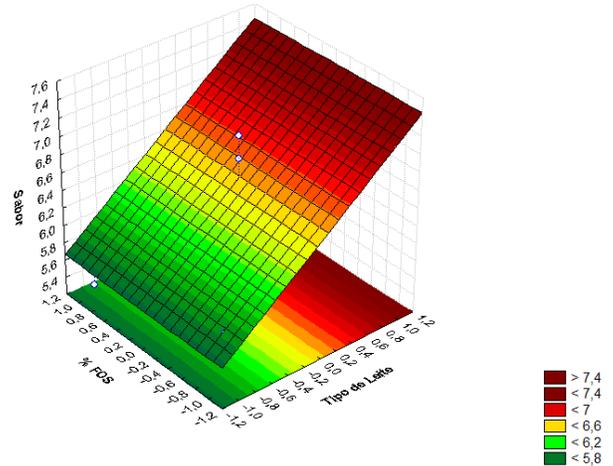


Figura 5. Superfície de Resposta do Sabor em função do tipo de leite e percentual de FOS

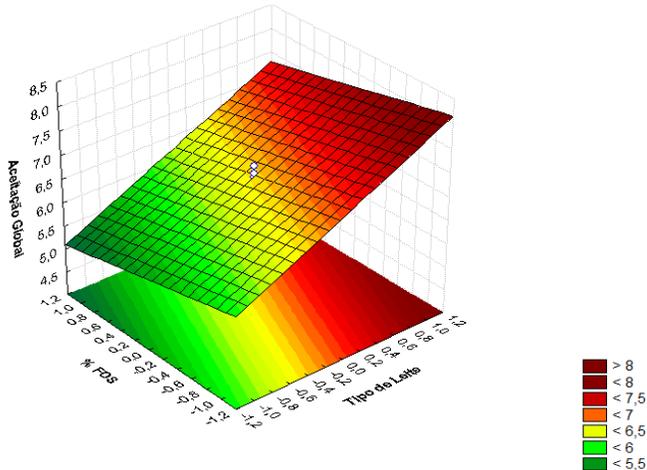


Figura 6. Superfície de Resposta da aceitação global em função do tipo de leite e percentual de FOS

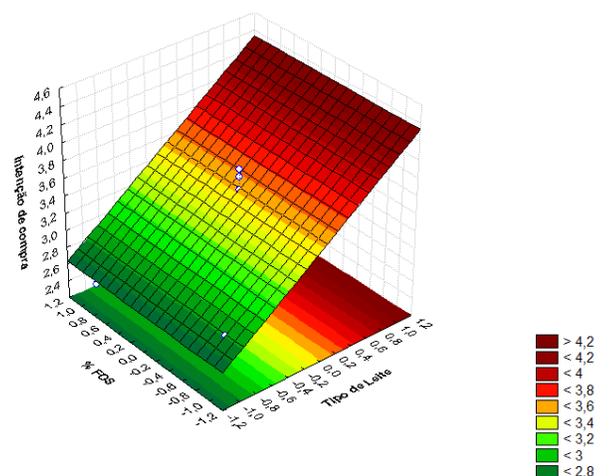


Figura 7. Superfície de Resposta da Intenção de compra em função do tipo de leite e percentual de FOS

Para que um produto seja considerado aceito, em termos de suas propriedades sensoriais, é necessário que obtenha um índice de aceitabilidade de no mínimo 70% (TEIXEIRA; MEINERT; BARBETA, 1987). Nesta pesquisa verificou-se que todas as formulações foram aceitas, quanto aos atributos avaliados no teste de aceitabilidade (Figura 8), porém os ensaios que obtiveram maior índice de aceitabilidade foram os ensaios 2 e 4, com 96,29% e 96,34%, respectivamente.

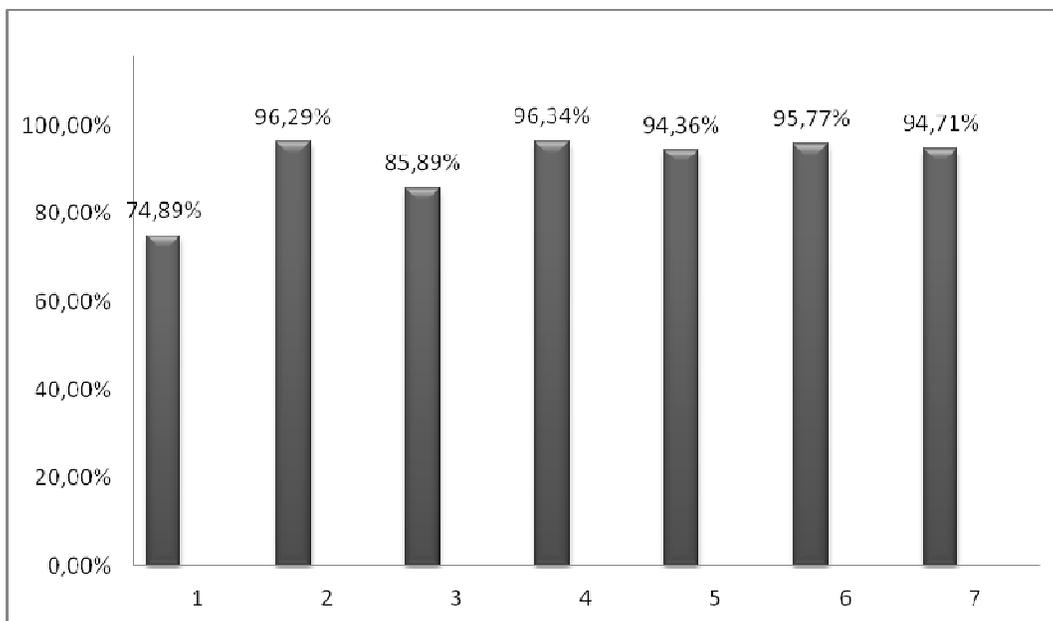


Figura 8: Índice de Aceitabilidade de formulações de Coalhadas simbióticas sabor maracujá submetidas à análise sensorial, 1- Coalhada simbiótica desnatada com 8g de FOS/1000 ml de leite; 2- Coalhada simbiótica Integral com 8g de FOS/1000 ml de leite; 3- Coalhada simbiótica desnatada com 16g de FOS/1000 ml de leite; 4- Coalhada simbiótica integral com 16g de FOS/1000 ml de leite, 5,6 e 7- Coalhadas simbióticas semi-desnatadas com 12g de FOS/1000 ml de leite.

4.2. Análises Físico-químicas

Diante dos resultados obtidos na análise sensorial, os ensaios 2 e 4 foram selecionados para avaliação da estabilidade durante o armazenamento, por terem apresentado melhores resultados quanto ao índice de aceitabilidade e intenção de compra.

Para as formulações avaliadas houve estabilidade dos parâmetros analisados, ao longo do armazenamento, ocorrendo pequenas variações nos

teores de umidade, cinzas, acidez, pH, e açúcares totais (Tabela 6), cujos valores estão compatíveis com os estabelecidos pela legislação brasileira vigente (BRASIL, 2007).

Em relação ao percentual de umidade (Tabela 6), o ensaio 2 não apresentou diferença estatística até o 14º dia, apresentando pequeno aumento a partir do 21º ao 28º dia. O ensaio 4 apresentou diferença estatística, com aumento do teor de umidade, a partir do 7º dia de estocagem até o 28º dia. Ocorreu diferença estatística entre os ensaios analisados apenas no primeiro dia de armazenamento.

Os valores de umidade encontram-se próximos aos encontrados na literatura, sendo que Souza et al. (2011) em estudo do rendimento de coalhadas em diferentes tempos de processamento, encontrou um teor de umidade de 24,84%. Conforme o regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Produtos Lácteos, Portaria nº 146 de 07/03/97 (BRASIL, 1997), os produtos lácteos de baixa umidade, devem apresentar teor de até 35,9%, neste trabalho os valores de umidade variaram de 13,4 a 14,38% para o ensaio 2 e de 12,4% a 14% para o ensaio 4, valores estes compatíveis com os preconizados pela legislação.

Com relação às cinzas, no ensaio 2 não houve diferença estatística em todo o período de estocagem. O ensaio 4 apresentou um aumento significativo entre o 1º e o 14º dia, porém no 14º ao 28º não ocorreu diferença significativa. Também não houve variação dos teores de cinzas entre os ensaios nos dias avaliados (Tabela 6). Thamer; Penna (2006) verificaram em bebidas lácteas funcionais simbióticas valores para cinzas de 0,53 a 0,61%, entre as amostras analisadas, não obtendo variação ao longo do período de estocagem de 21 dias.

Durante 28 dias de estocagem, os lipídios variaram de 2,25 a 2,40g/100g para o ensaio 2 e 2,35 a 2,70g/100g para o ensaio 4 (Tabela 6), valores estes adequados ao estabelecido pela resolução nº5 de 13 de novembro de 2000 (BRASIL, 2000). Apenas houve diferença estatística entre os ensaios analisados no 21º dia. De acordo com o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados, os leites fermentados são classificados em: com creme, integral, semidesnatado e desnatado, onde os

teores de gordura deverão ser de no mínimo 6%, entre 5,9 e 3,0%, entre 2,9 e 0,6% e no máximo 0,5%, respectivamente. Portanto, em relação ao teor de lipídios as coalhadas podem ser classificadas como semi-desnatadas segundo a legislação vigente (BRASIL, 2007).

Para os leites fermentados com agregados, açucarados e/ou saborizados, estes podem apresentar conteúdo de proteínas inferiores a 2,9% (BRASIL, 2000), portanto, os valores médios encontrados são considerados satisfatórios para o produto. Não ocorreram diferenças significativas, tanto durante o período de estocagem em ambos ensaios, como também entre os ensaios analisados no mesmo dia de armazenamento (Tabela 6).

O ensaio 4 apresentou um aumento de açúcares totais a partir do 7º dia ao longo do armazenamento, enquanto para o ensaio 2 este aumento foi observado a partir do 14º dia. Rodas et al. (2001) em estudo de caracterização de iogurte com frutas, obtiveram valores médios entre as diferentes marcas de 13% para açúcares totais. Segundo a legislação vigente (BRASIL, 2007) os valores de açúcares totais devem estar em torno de 10 a 14%, valores semelhantes aos encontrados neste trabalho. Para os valores de lactose não houve diferença estatística em todos os dias de estocagem para a maioria das amostras analisadas, apenas no ensaio 2 entre o 7º e 28º dia ocorreu uma pequena variação.

Para os valores de pH e acidez houve diferença significativa entre os ensaios durante os tempos avaliados, demonstrando discreto decréscimo do pH e aumento da acidez. Para o ensaio 2 o pH no 1º dia de armazenamento foi de 4,75 chegando ao 28º dia com 4,55, e a acidez iniciou no 1º dia com 0,73g de ácido láctico/100g alcançando no 28º dia 0,86g de ácido láctico/100g. Para o ensaio 4 o pH no 1º dia de armazenamento foi de 4,76 e no 28º dia de 4,39, e a acidez no 1º dia foi 0,69g de ácido láctico/100g e no 28º dia de 0,90g de ácido láctico/100g (Tabela 6).

Os produtos lácteos estão sujeitos ao decréscimo de pH e aumento da acidez durante a estocagem refrigerada, devido à persistente atividade das bactérias durante a estocagem do produto (GALINA et al. 2011). Em estudos com iogurtes desnatados adicionados de prebiótico também foi encontrado

redução de pH e aumento de acidez nas amostras analisadas (RAMCHANDRAN; SHAH, 2010).

Zacarchenco ; Massaguer-Roig (2004) analisando iogurtes comerciais contendo *Lactobacillus sp.* e *B. bifidum* encontraram valores de pH, logo após o resfriamento que segue a fermentação, entre 4,07 e 4,36. Após 33 dias de estocagem esses valores de pH reduziram para 3,8 a 4,26, respectivamente.

O pH é importante, uma vez que o produto lácteo com baixa acidez (pH > 4,6) favorece a separação do soro, porque o gel não foi suficientemente formado, por outro lado, em pH < 4,0 ocorre a contração do coágulo devido à redução da hidratação das proteínas, ocasionando também o dessoramento do produto (SILVA et al., 2012).

Os valores de pH implicam ainda na atividade metabólica das bactérias, o que pode favorecer um grupo de microrganismos em detrimento do outro. No caso de leite fermentado bactérias do gênero *Lactobacilos* crescem e toleram pH mais baixos do que as pertencentes ao gênero *Streptococos* (MOREIRA et al., 1999).

Segundo Silva et al. (2012), a faixa ideal de acidez para produtos lácteos fermentados deve ser entre 0,7 a 0,9%, sendo que os valores mais comuns encontram-se na faixa entre 0,7 e 1,25%. No presente trabalho os resultados das análises de acidez apresentaram-se dentro deste intervalo.

Tabela 6. Análises físico-químicas de coalhadas sabor maracujá com 8g de FOS/1000 ml de leite integral (Ensaio 2) e 16g de FOS/1000 ml de leite integral (Ensaio 4) durante 1 a 28 dias de estocagem refrigerada.

Análises físico-químicas	1º Dia			7º Dia			14º Dia			21º Dia			28º Dia		
	Ensaio 2	Ensaio 4	Ensaio 2	Ensaio 4	Ensaio 2	Ensaio 4	Ensaio 2	Ensaio 4	Ensaio 2	Ensaio 4	Ensaio 2	Ensaio 4	Ensaio 2	Ensaio 4	
Umidade (%)	13,40±0,03Ab	12,41±0,25Bc	13,46±0,01Ab	13,17±0,01Bb	13,67±0,17Ab	13,33±0,02Ab	14,23±0,16Aa	14,00±0,00Aa	14,38±0,09Aa	14,02±0,01Ba					
Cinzas (g/100g)	0,75±0,03Aa	0,71±0,01Ac	0,76±0,01Aa	0,750±0,01Ab	0,77±0,01Aa	0,785±0,01Aa	0,740±0,01Aa	0,780±0,00Aa	0,765±0,02Aa	0,78±0,014Aa					
Proteínas (g/100g)	3,10±0,14Aa	3,10±0,14Aa	3,22±0,08Aa	3,17±0,05Aa	3,06±0,08Aa	3,23±0,04Aa	3,10±0,141Aa	3,10±0,14Aa	3,23±0,01Aa	3,10±0,14Aa					
Lípidios (g/100g)	2,25±0,07Aa	2,70±0,14Aa	2,35±0,07Aa	2,55±0,07Aa	2,40±0,14Aa	2,35±0,07Ab	2,30±0,09Ba	2,55±0,07Aa	2,25±0,07Aa	2,55±0,07Aa					
pH	4,75±0,014Aa	4,76±0,01Aa	4,67±0,01Ab	4,56±0,02Bb	4,62±0,02AcB	4,43±0,04Bc	4,58±0,02Adc	4,54±0,01Ab	4,55±0,03Ad	4,39±0,06Ac					
Acidez Titulável (g de ácido láctico/100g)	0,73±0,02Ac	0,69±0,000Ac	0,71±0,01Bc	0,79±0,02Ab	0,82±0,01Ab	0,87±0,01Aa	0,84±0,01Aab	0,87±0,01Aa	0,86±0,01Aa	0,90±0,02Aa					
Açúcares Totais (g/100g)	11,23±0,18Ac	10,10±0,14Bd	11,01±0,07Ac	10,96±0,13Ac	12,15±0,07Ab	11,25±0,35Abc	12,70±0,14Aa	11,75±0,21Bab	12,70±0,0Aa	11,85±0,07Ba					
Lactose (g/100g)	4,27±0,03Aab	4,30±0,14Aa	4,19±0,08Ab	4,21±0,056Aa	4,33±0,04Aab	4,41±0,02Aa	4,27±0,03Aab	4,30±0,14Aa	4,34±0,06Aa	4,33±0,08Aa					

Medias seguidas de letras iguais maiúsculas na horizontal, no mesmo dia, não diferem significativamente ($p \geq 0,05$) pelo teste "t" de student. Medias seguidas de letras minúsculas iguais, na horizontal, no mesmo ensaio, não diferem significativamente ($p \geq 0,05$), pelo teste de Duncan.

4.3 Avaliação Microbiológica

Considerando o padrão para coliformes a 30°C e 45°C e bolores e leveduras, durante o período de armazenamento, não se verificou contaminação para estes grupos, em todas as amostras analisadas e nos tempos avaliados. Quanto às análises de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, Estafilococos coagulase positiva e contagem padrão de bactérias aeróbias, também não foi detectada presença destes microrganismos durante o período de estocagem. A presença de microrganismos indicadores de qualidade superior aos limites estabelecidos na legislação fornece informações sobre condições higiênico-sanitárias deficientes, multiplicação no produto em decorrência de falhas no processamento e/ou estocagem e matéria prima com contaminação excessiva (TEBALDI et al., 2007).

Desta forma, pode-se evidenciar boas práticas de fabricação, qualidade da matéria-prima utilizada e condições adequadas de armazenamento para as coalhadas elaboradas estando de acordo com os padrões da legislação em vigor (BRASIL, 2000).

Segundo a instrução normativa nº 16 de 23 de agosto de 2005 (BRASIL 2005) os microrganismos dos cultivos utilizados devem ser viáveis, ativos e estar em concentração igual ou superior a 10^6 UFC/mL no produto final durante todo o prazo de validade.

Neste estudo, a contagem de microrganismos para as duas formulações avaliadas apresentaram resultados dentro do recomendado pela legislação vigente (BRASIL, 2005). De acordo com a determinação de células viáveis de *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium Bifidum* e *streptococcus thermophilus* as formulações demonstraram crescimento a partir do 1º dia de estocagem com aumento no crescimento a partir do 7º dia com posterior manutenção das células viáveis no 21º e 28º dias de armazenamento (Tabela 7).

A contagem de *Lactobacillus acidophilus* e *streptococcus thermophilus* foi de 12 log UFC/mL e 11 log UFC/mL, respectivamente. Para *Bifidobacterium Bifidum* a contagem foi de 09 log UFC/mL (Tabela 7). Valores encontrados foram superiores ao mínimo preconizado pela legislação que é de 10^6 UFC/mL ou 6 Log UFC/mL. Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária, a

quantidade mínima de células viáveis deve estar situada na faixa de 10^6 a 10^7 UFC/ml na recomendação diária do produto pronto para o consumo, conforme indicação do fabricante (BRASIL, 2008).

Durante o tempo de estocagem as contagens de *Bifidobacterium spp.* foram constantes. Possivelmente devido os produtos apresentarem substrato suficiente para a viabilidade destes microrganismos, o que pode ser atribuído a presença de FOS às coalhadas (CAPELA; HAY; SHAH, 2006).

Tabela 7 Células viáveis de *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus thermophilus* e *Bifidobacterium Bifidum* (\log_{10} UFC g⁻¹) em coalhada sabor maracujá com 8g (Ensaio 2) e 16g (Ensaio 4) de frutooligossacarídeos (FOS) durante o período de estocagem.

Período de estocagem (dias)	<i>Lactobacillus acidophilus</i> (\log_{10} UFC g ⁻¹)		<i>Streptococcus thermophilus</i> (\log_{10} UFC g ⁻¹)		<i>Bifidobacterium Bifidum</i> (\log_{10} UFC g ⁻¹)	
	2	4	2	4	2	4
1	11	11	11	11	8	9
7	12	13	12	11	9	9
14	13	12	12	12	9	9
21	12	12	11	11	8	8
28	12	12	11	11	8	8

Desai; Powell; Shah (2004) relataram que a viabilidade de *Lactobacillus sp* em leite fermentado foi melhor na presença de inulina. Neste contexto, pesquisas avaliaram a viabilidade de duas espécies de Bifidobactérias (*B. longum* e *B. animalis*) adicionadas ao iogurte, com e sem FOS, durante 28 dias a 4 °C. Constatou-se que a viabilidade foi afetada pelo tipo de espécie de microrganismo e pela presença de FOS, sendo que a espécie *B. animalis* apresentou melhor estabilidade em relação a *B. longum*, e o maior número de bifidobactérias foi obtido com a adição de FOS (BUDDINGTON, et al., 2006).

Outro trabalho avaliou o efeito dos prebióticos Hi-maize, Raftiline (inulina) e Raftilose P95 (FOS) sobre a viabilidade dos microrganismos probióticos em iogurte e concluiu que a adição de 1,5% de Raftilose possibilitou melhor manutenção da viabilidade (de 7 a 8 Log UFC/g) durante 4 semanas de estocagem a 4 °C (CAPELA; HAY; SHAH, 2006). Neste trabalho observou-se

também o efeito bifidogênico da oligofrutose (FOS) sobre o produto, garantindo a viabilidade das bifidobactérias durante o período de estocagem.

De acordo com os resultados obtidos fica evidenciado o provável efeito prebiótico da fibra empregada (FOS), sobre a manutenção ou a viabilidade das bifidobactérias nas coalhadas durante o período de 28 dias de estocagem refrigerada. Este resultado condiz com os dados obtidos por Trent et al. (2009), onde foram avaliadas as contagens de bifidobactérias em leites fermentados com e sem a adição de inulina. No leite fermentado adicionado de inulina a contagem de bifidobactérias se manteve constante (8 Log UFC/mL) ao longo de 30 dias de estocagem refrigerada (4-6 °C), já no leite fermentado sem a presença de inulina houve um decréscimo de um ciclo logarítmico após 21 dias de estocagem.

Os gêneros de microrganismos analisados atenderam as exigências de contagem mínima, considerando 200mL de coalhada, o qual é a porção diária recomendada pela legislação (BRASIL, 2007). As contagens satisfatórias observadas para os microrganismos probióticos reforçam que as formulações avaliadas são potencialmente favoráveis à promoção de efeitos terapêuticos à saúde do consumidor. Além disso, as bactérias lácticas presentes no fermento utilizado contribuíram para os aspectos tecnológicos das formulações elaboradas.

5. CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos neste estudo pode-se concluir que:

- De acordo com a avaliação dos atributos sensoriais (cor, aroma, textura, sabor e avaliação global) e índice de aceitabilidade, as formulações de coalhada sabor maracujá com 8 e 16g de FOS/ 1000 mL de leite integral (ensaios 2 e 4) foram selecionadas para caracterização físico-química, microbiológica e vida de prateleira, por apresentarem melhor desempenho;
- A adição de microrganismos probióticos e FOS à composição do produto não influenciou no sabor e na avaliação global do produto final, apenas o tipo de leite teve influencia significativa nas características sensoriais das coalhadas;
- Os resultados das análises físico-químicas das coalhadas avaliadas apresentaram-se estáveis durante os 28 dias de estocagem, dentro do padrão preconizado pela legislação e mantiveram-se estáveis em todo período de estocagem; Assim como a avaliação microbiológica de qualidade que demonstrou bom padrão higiênico sanitário durante o período estudado;
- As contagens de bactérias com potencial probiótico utilizadas na elaboração das coalhadas apresentaram valores satisfatórios, superiores ao mínimo preconizado pela legislação vigente.

6. Referências Bibliográficas

ALVES, L. L.; RICHARDS, N. S. P. S.; BECKER, L. V.; ANDRADE, D. F.; MILANI, L. I. G.; REZER, A. P. S.; SCIPIONI, G. C. Aceitação sensorial e caracterização de *frozen yogurt* de leite de cabra com adição de cultura probiótica e prebiótico. **Revista Ciência Rural**, v. 39, n.9, p. 2595-2600, 2009.

ALVIM et al. Importância Econômica. *Embrapa, gado de leite*. Disponível em: <<http://www.cnpqgl.embrapa.br/nova/informacoes/sistema/7/importancia.html>>. Acesso em 21 de ago. de 2012.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY - AOAC. **Official Methods of Analysis**. v. 2, 17th ed. Washington: AOAC. 2002.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY - AOAC. **Official Methods of Analysis**. 17th ed., Gaithersburg: AOAC. 2003.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY – AOAC. **Official Methods of Analysis**. v. 1-2, 16th ed. Washington: AOAC. 1995.

BRASIL. Portaria nº 370, de 04 de setembro de 1997. Aprova o Regulamento Técnico para fixação de Identidade e Qualidade de Leites UHT. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 04 setembro, 1997.

BRASIL. Resolução nº 5, de 13 de novembro de 2000. Oficializa os Padrões de Identidade e Qualidade (PIQ) de leites Fermentados. **Diário Oficial da União**, Brasília, 27 de novembro de 2000.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução – RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001. Dispõe sobre Regulamento

Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos. Brasília: Diário Oficial da União, jan. 2001.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Resolução RDC nº 269, 22 set. 2005**, Regulamento técnico sobre ingestão diária recomendada (IDR) para proteína, vitaminas e minerais. **Diário Oficial da União**, Brasília, 2005.

Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Portaria no46, de 23 de novembro de 2007: Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade (PIQ) de Leites Fermentados; 2007.

BRASIL. **Instrução Normativa nº 46, de 23 de outubro de 2007**. Aprova o Regulamento Técnico para fixação de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegisLegislacaoFederal>>. Acesso em: 20 de Julho de 2012.

BRANNON, C. A. Prebiotics as “good carbs”. **Today's Dietitian**. V.8, p. 12 – 21, 2006.

BRUNO, F. A.; LANKAPUTHRA, W. E. V.; SHAH, N. P. Growth, viability and activity of Bifidobacterium spp. in skim milk containing prebiotics. **Journal of Food Science**, 67, p. 2740–2744, 2002.

BUDDINGTON RK, WILLIAMS CH, CHEN, SC, WITHERLY SA. Dietary supplementation of neosugar alters the fecal flora and decreases activities of some reductive enzymes in human subjects. **Journal Clinic Nutricion**, v.63, p.709-16, 1996.

CAPELA P, HAY, TKC, SHAH NP. Effect of crytoprotectants, prebiotics and microencapsulation on survival of probiótico organisms in yogurt and freeze-dried yogurt. **Food Rewien**, v. 39, p.203-11, 2006.

DESAI, A. R.; POWELL, I. B.; SHAH, N. P. Survival and activity of probiotic lactobacilli in skim milk containing prebiotics. **Journal of Food Science**, 69, FM57–FM60, 2004.

IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. On line. Disponível em:<<http://www.ibge.gov.br/>> acesso em 10 de agosto de 2011.

GALLINA D. A. Leites fermentados funcionais: tendências e inovações. **Revista Ingredientes Tecnologia**; v.9, p. 26-30, 2010.

GALLINA D.A.; SILVA A. T.; ALVES A.T.; TRENTO F.K.H.S.; CARUSI J. A. Caracterização de Leites Fermentados Com e Sem Adição de Probióticos e Prebióticos e Avaliação da Viabilidade de Bactérias Láticas e Probióticas Durante a Vida-de-Prateleira, **Científica Ciências Biológicas e Saúde**, v.13, n.4, p. 239-44, 2011.

GARDINI, F.; LANCIOTTI, E. Evaluation of aroma production and survival of *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus* and *L. acidophilus* in fermented milks. **Introduction Dairy journal**, v.9, n.2, p. 125-134, 2006.

KÄHKÖNEN, P.; TUORILA, H. Consumer responses to reduced and regular fat content in different products: effect of gender, involvement and health concern. **Food Quality**, v. 10, p. 83-91, 2006.

MARTIN, N.C. Influence of fermentation and storage conditions on the sensory properties of plain low fat stirred yogurts. **Journal Sensory Study**, v. 14, p. 139-160, 2008.

MINIM, V.P.R. **Análise sensorial: estudos com consumidores**. Viçosa, Ed. UFV. 225p, 2006.

Ministério da Agricultura e do Abastecimento. **Métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água.** Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003. Brasília, 2003.

MOSQUERA, G.V.; SALGADO, A.L.C. Dieta atlântica Seguridad alimentaria Nutrición y mujer, II REUNIÓN INTERNACIONAL LA ALIMENTACIÓN Y LA NUTRICIÓN EN EL SIGLO XXI - **Fundación Española de la Nutrición**, Madrid, 2002.

RAMCHANDRAN, L.; SHAH, N. P. Effect of EPS on the proteolytic and ACEinhibitory activities and textural and rheological properties of low-fat yogurt during refrigerated storage. **Journal of Dairy Science**, 92, p. 895–906, 2010

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

SAAD, S. M. I. Probióticos e prebióticos: o estado da arte. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. v. 42, n.1, p. 1-16, 2006.

SAXELIN, M. et al.The technology of probiotics. **Food Science Technology**, v. 10, n.12, p. 387-392, 2004.

SILVA L.C., MACHADO T. B.; SILVEIRA M.L.R.; ROSA C.S.; BERTAGNOLLI S.M.M. Aspectos microbiológicos, ph e acidez de iogurtes de produção caseira comparados aos industrializados da região de santa maria – RS, **Ciências da Saúde**, v. 13, n. 1, p. 111-120, 2012.

SOCCOL, C. R.; VANDENBERGHE, L. P. D. S.; MEDEIROS, A. B. P.; YAMAGUISHI, C. T.; DE DEA LINDNER, J.; PANDEY, A.; THOMAZ-SOCCOL,

V. The potential of the probiotics: a review. **Food Technology and Biotechnology**, v. 48, n. 4, p. 413-434, 2010.

SOUZA, G. C.; SEOLIN, V.J.; PEREIRA S. C. M.; PIERETTI G.G.; SANTOS T. J.; SCAPIM M.R.S.; CESTARI L.A.; MADRONA G.S. Desenvolvimento de coalhada seca em diferentes tempos de processamento, **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, p. 75-82, 2011.

STATSOFT, In. **STATISTICA for Windows** [Computer program manual]. Tulsa, OK: Statsoft, Inc., 1997.

TEBALDI, V.M.R.; RESENDE, J.G.O.S.; RAMALHO, G.C.A.; OLIVEIRA, T.L.C.; ABREU, L.R.; PICCOLI, R.H. Avaliação microbiológicas de bebidas lácteas fermentadas adquiridas no comércio varejista do Sul de Minas Gerais. **Ciência e agrotécologia**, v. 31, n. 4, p. 1085-1088, 2007.

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

TEIXEIRA, E.; MEINERT, E.; BARBETA, P.A. (1987). **Análise sensorial dos alimentos**. UFSC. 182p.

Trento FKHS, Moreno I, Gallina DA, Silva e Alves AT, Zacarchenco PB, Liserre AM *et al.* Contagem de bactérias lácticas e probióticas em diferentes formulações de leites fermentados contendo ou não probióticos, após o processamento e durante a estocagem. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 74, p.1-7, 2009.

VASILJEVIC, T.; SHAH, N.P. Probiotics—From Metchnikoff to bioactives. **International Dairy Journal**, v.18, p. 714– 728, 2008.

ZACARCHENCO, P.B.; MASSAGUER-ROIG, S. Differential enumeration of *Bifidobacterium longum* and *Lactobacillus acidophilus* in the presence of *Streptococcus thermophilus*. **Milchwissenschaft**, v. 59, n. 5/6, p. 258-261. 2004.

Considerações Gerais

6. CONSIDERAÇÕES GERAIS

A partir dos resultados obtidos neste estudo pode-se concluir que as formulações de coalhadas elaboradas foram bem aceitas pelos degustadores para todos os atributos avaliados no teste aceitação e intenção de compra. Duas formulações foram selecionadas por apresentarem melhor índice de aceitabilidade, e analisadas quanto à composição centesimal, cujos valores se encontraram dentro dos padrões estabelecidos para este tipo de produto. Durante o tempo de estocagem, as formulações apresentaram variações de pH e acidez, contudo não levou a alterações indesejáveis no produto final. Demonstraram qualidade higiênico-sanitária satisfatória, durante todo período de armazenamento, pela ausência de contaminação por microrganismos como: *Coliformes totais*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Estafilococos coagulase positiva*, contagem padrão de bactérias aeróbias e bolores e leveduras. Os resultados sobre a viabilidade de *Lactobacillus Acidophilus*, *Streptococcus Thermophilus*, *Bifidobacterium Bifidum* no decorrer do tempo de estocagem foram satisfatórios, sendo as contagens superiores ao mínimo preconizado pela legislação vigente, comprovando sua potencial característica probiótica.

Anexos

Anexo 1

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



Nome _____ Idade _____ Data _____
Escolaridade _____ Fone _____ E-mail _____

Teste de aceitação e intenção de compra de Coalhada Simbiótica sabor Maracujá

Você está recebendo 5 amostras diferentes codificadas de coalhada simbiótica sabor Maracujá. Prove-as e escreva o valor da escala hedônica abaixo de 9 pontos que você considera correspondente à cada atributo da amostra. Antes de cada avaliação, você deverá fazer uso da água e da bolacha para limpeza do palato.

- 9- Gostei extremamente
- 8 - Gostei moderadamente
- 7 - Gostei regularmente
- 6- Gostei ligeiramente
- 5- Nem gostei/nem desgostei
- 4 - Desgostei Ligeiramente
- 3- Desgostei regularmente
- 2- Desgostei moderadamente
- 1 -Desgostei extremamente

Código →					
Sabor					
Aroma					
Textura					
Cor					
Qualidade Global					

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
- 4- Talvez compraria
- 3 – Talvez compraria, talvez não compraria
- 2 – Talvez não compraria
- 1 – Jamais compraria

Código →					
Nota					

Observações _____



Anexo 2

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Convidamos V.Sa. a participar da pesquisa **Desenvolvimento de Coalhada fermentada simbiótica sabor maracujá (*Passiflora edulis*)**, sob responsabilidade do pesquisador (HAYANNA ADLLEY SANTOS DE ARRUDA), que tem por objetivo Desenvolver formulações de coalhada sabor maracujá com potencial atividade simbiótica; Avaliar sensorialmente diferentes formulações de coalhada; Selecionar as que apresentarem melhor índice de aceitabilidade; Caracterizar as formulações selecionadas quanto à avaliação físico-química e microbiológica; Verificar a estabilidade das formulações selecionadas quanto à vida de prateleira. Para a realização deste trabalho será(ão) utilizado(s) o(s) seguinte(s) método(s): Avaliação sensorial das formulações de coalhada, através de degustação das amostras e utilização de questionário sobre as características do produto avaliado. Após a conclusão da pesquisa, este material gravado, filmado ou equivalente será destruído, não restando nada que venha a comprometê-lo agora ou futuramente.

Quanto aos **riscos e desconfortos**: Poderão apresentar desconforto sensorial, possibilidade de reações alérgicas, riscos de intolerância alimentar entre outros. Caso você venha a sentir algo dentro desses padrões, comunicar imediatamente ao pesquisador para que sejam tomadas as devidas providências.

Os **benefícios** esperados com o resultado desta pesquisa são que a coalhada pode ser consumida como alimento funcional por possuir potencial atividade simbiótica.

O 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; a garantia de privacidade à sua identidade e do sigilo de suas informações; a garantia de que 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. Caso haja gastos adicionais serão absorvidos pelo pesquisador

Nos casos de **dúvidas e esclarecimentos** procurar os pesquisadores através do endereço ou pelos telefones: Hayanna Arruda, R. Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos Recife - PE, 52171-900, Telefone: 86050562; Samara Alvachian, R. Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos Recife - PE, 52171-900, Telefone: 87654566; Casos suas dúvidas não sejam resolvidas pelos pesquisadores ou seus direitos sejam negados recorrer ao Comitê de Ética, à Av. Agamenon Magalhães, S/N, Santo Amaro, Recife-PE ou pelo telefone: 81-3183.3775

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 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 pesquisador.

Local: Data: ____/____/____

Assinatura do Sujeito (ou responsável)

Assinatura do Pesquisador

Anexo 3

UNIVERSIDADE DE
PERNAMBUCO/ PROPJE/



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Desenvolvimento de Coalhada fermentada simbiótica sabor maracujá (*Passiflora edulis*)

Pesquisador: Hayanna Adley Santos de Arruda

Área Temática:

Versão: 4

CAAE: 04734212.1.0000.5207

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 235.154

Data da Relatoria: 02/04/2013

Apresentação do Projeto:

A pesquisa se constitui de uma fase experimental para desenvolvimento de um produto (coalhada)alimentício em associação com um estudo clínico com vistas a avaliação, aceitabilidade, sensorial, pH e acidez e características microbiológicas. Serão desenvolvidas 5 formulações: COALHADA DESNATADA com 8g de FOS, COALHADA INTEGRAL com 8g de FOS, COALHADA DESNATADA com 16g de FOS, COALHADA INTEGRAL com 16g de FOS e COALHADA SEMI-DESNATADA com 12g de FOS. Posteriormente serão fermentadas com bactérias probióticas *Lactobacillus acidophilus* LA-5 e *Bifidobacterium bifidum* BB-12 e *Streptococcus thermophilus* reativadas em leite em pó desnatado. Após a fermentação será adicionado açúcar na proporção de 10% e polpa de maracujá em concentração de 5%. Voluntários avaliarão as características: sensorial (cor, sabor, aroma, aparência e avaliação global) e de aceitabilidade. Em laboratório os dois produtos que obtiverem os maiores índices de aceitação serão avaliados quanto ao pH, acidez e análise microbiológica para contagem de bactérias lácticas, de coliformes totais, coliformes termotolerantes, bolores e leveduras, com vistas a determinar a vida de prateleira. Os dados serão avaliados através de análise de variância (ANOVA) e Teste de Duncan ao nível de 5% de significância utilizando o programa Statistica 6.0.

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:** comita.etca@upe.br

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Desenvolver formulação de coalhada sabor maracujá com potencial atividade simbiótica

Objetivo Secundário:

-Selecionar as formulações com melhor desempenho quanto a avaliação sensorial;

-Caracterizar as formulações selecionadas quanto a composição centesimal, análises físico-químicas, microbiológicas e vida de prateleira.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

RISCOS E BENEFÍCIOS: previstos e adequados

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trabalho de relevante valor e impacto mercadológico.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos os termos foram apresentados

Recomendações:

Nada a destacar.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Trabalho aprovado e de acordo com a Resolução 196/96 do CNS

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

O pleno acompanha o parecer do relator.

RECIFE, 02 de Abril de 2013

Assinado por:
Nelson Rubens Mendes Loretto
(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: conta_etica@upe.br