



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



Desenvolvimento de Bebida Fermentada com Cultura Probiótica adicionada de Soro de Leite e Farinha de Resíduo de Acerola (*Malpighia emarginata*)

Regina Ceres Carolino Corrêa de Souza

Recife
2016

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

Regina Ceres Carolino Corrêa de Souza

Desenvolvimento de Bebida Fermentada com Cultura Probiótica adicionada de Soro de Leite e Farinha de Resíduo de Acerola (*Malpighia emarginata*)

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. Celiane Gomes Maia da Silva

Recife

2016

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

Por: Regina Ceres Carolino Corrêa de Souza

Esta dissertação foi julgada para obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos e aprovada em 08/09/2016 pelo Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimento em sua forma final.

Banca Examinadora:

Prof/a Dr/a. Vivianne Montarroyos Padilha
Departamento de Nutrição/UFPE

Prof/a Dr/a. Enayde de Almeida Melo
Departamento de Ciências Domésticas/UFRPE

Prof/a Dr/a. Samara Alvachian Cardoso Andrade
Departamento de Engenharia Química/UFPE

Recife

2016

III

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho ao que é digno de toda honra e toda a glória, Deus, que por sua infinita bondade me concedeu a graça de cursar o mestrado e que em todo o tempo esteve ao meu lado.

AGRADECIMENTOS

A Deus por ter me permitido chegar até aqui, por seu infinito amor e cuidado em todos os momentos da minha vida. Glórias sejam dadas ao Teu nome!

À minha mãe, Edilene, minha grande companheira, por todo o amor, compreensão e apoio em todos os momentos da minha vida.

À minha família, especialmente meu irmão, Júnior, minha cunhada, Catarina, e minha sobrinha amada, Maria Luiza, por todo o amor, apoio e presença em todos os momentos.

Ao meu discipulado que tenho como família, pai Marcus, mãe Luciana, Tia Mirella, Tio Diego, os irmãos Andreza Monteiro, Andreza Luiza, André, Djailson, Gabrielle, Kedema, Iane, Iris, Isabelle, Lorena, Camila, Netinho, Rayane, Sybelle Araújo, Sibelly Oliveira, Maria Fernanda, Manuelle, Nicolle, Isabelle, Manuelle e Karina, por todo o amor, cuidado, pelas orações, compreensão, lágrimas, sorrisos e presença em todos os momentos.

À minha orientadora Prof^a. Dr^a. Celiane Gomes Maia da Silva, por ter me aceito como orientada, pela compreensão, delicadeza e atenção que sempre teve comigo em todo o decorrer do mestrado.

Às professoras do Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da UFRPE, obrigada por todo o conhecimento que compartilharam.

À Prof^a Dr^a Edleide do Departamento de Tecnologia Rural (DTR) pela valiosa colaboração com as análises microbiológicas.

À Prof^a. Dr^a. Samara Alvachian Cardoso Andrade pela grande colaboração na estatística deste trabalho.

A técnica no laboratório de microbiologia dos alimentos do Departamento de Tecnologia Rural (DTR) Amanda por toda a ajuda, boa vontade, delicadeza e por dividir um pouco de seus conhecimentos comigo.

Às Marias, Erika, Maria, Marília, Keliane e Jaqueline, que também são técnicas do laboratório de físico-química dos alimentos (LAFQA) pela amizade, companheirismo, pelos momentos de descontração, incentivo e ajuda com os experimentos. Esses dois anos que convivi com cada uma de vocês vai ficar marcado para sempre em minha vida, vocês são muito especiais.

À Jocelane, por toda ajuda na realização dos experimentos.

Aos meus colegas de mestrado Ricardo, Erika, Maria, Marília, Carla e Natália, por todos os momentos que vivemos e aprendemos juntos.

Às estagiarias Maria Cláudia e Maria Fernanda, por contribuírem para a realização deste trabalho.

À Rose, por todo carinho e cuidado com todos nós, obrigada por tudo.

À secretária do Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de alimentos, Ana, pela disponibilidade de nos ajudar sempre.

A Capes, pela concessão da bolsa estudantil durante o mestrado.

Aos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

MUITO OBRIGADA!

RESUMO

Resumo

Uma grande variedade de resíduos é gerada no decorrer do beneficiamento de alimentos de origem animal e vegetal. Agregar valor a esses subprodutos é de grande interesse, visto que, a sua utilização pode representar uma solução viável para o enriquecimento da alimentação humana, além de proporcionar um destino adequado a esses resíduos, reduzindo a poluição ambiental. O Objetivo desta pesquisa foi desenvolver formulações de bebida láctea fermentada, sabor acerola, à base de soro lácteo, com cultura probiótica e adição de farinha do resíduo do processamento da acerola, visando à seleção de uma formulação final e, por conseguinte sua caracterização físico-química, fitoquímica, e estabilidade durante o armazenamento (0, 14 e 28 dias) assim como, determinar a composição físico-química e fitoquímica da farinha. As bebidas lácteas foram desenvolvidas a partir de um planejamento fatorial 2^2 , utilizando proporções de 20, 30 e 40% de soro lácteo e 1, 2 e 3% de farinha, com a finalidade de avaliar a influência desses ingredientes sobre os atributos sensoriais e intenção de compra. As análises demonstraram elevados valores de fibras dietéticas e compostos ação antioxidante na farinha de resíduo de acerola. A formulação 30% de soro lácteo e 2% de farinha foi selecionada por obter notas numericamente maiores nos atributos sensoriais avaliados e índice de aceitabilidade. O produto apresentou características físico-químicas adequadas e elevado valor nutricional, principalmente no que se refere ao teor de fibras dietéticas, teor de ácido ascórbico e compostos fenólicos. Apresentou também boa estabilidade quanto ao pH e acidez no entanto e contagem de bactérias lácticas totais ($7,53 \text{ Log}_{10} \text{ UFC/mL}$) porém, não atendeu a quantidade mínima estabelecida pela legislação para ser considerado um produto com alegação probiótica. Portanto, observa-se a necessidade de continuidade deste estudo com vistas a aprimorar as condições experimentais e obter um produto com características funcionais satisfatórias.

Palavras-chave: Acerola; resíduos agroindustriais; soro de leite; farinha; bebida láctea fermentada.

ABSTRACT

A wide variety of waste is generated during the processing of animal and vegetable foods. Adding value to these products is of great interest, since their use may represent a viable solution for the enrichment of food, and provide a suitable destination to this waste, reducing environmental pollution. The objective of this research was to develop fermented milk beverage formulations, acerola flavor, the whey-based, with probiotic culture and adding flour residue processing of acerola, aimed at selecting a final formulation and therefore their characterization physical-chemistry, phytochemistry, and stability during storage (0, 14 and 28 days) as well as to determine the physical-chemical and phytochemical flour. The dairy beverages have been developed from a factorial design 2^2 using ratios of 20, 30 and 40% whey and 1, 2 and 3% flour in order to evaluate the effect of these ingredients on the sensory attributes and intent buying. The analysis showed high levels of dietary fiber and composite antioxidant in acerola residue flour. The formulation 30% whey and 2% flour was selected to obtain numerically highest scores in the sensory attributes evaluated and acceptability index. The product had adequate physical and chemical characteristics and high nutritional value, especially as regards the content of dietary fiber, ascorbic acid and phenolic compounds. He also displayed good stability for pH and acidity however and counting of total lactic acid bacteria ($7.53 \log_{10}$ CFU / ml) but did not meet the minimum amount established by the legislation to be considered a product with probiotic claim. Therefore, there is a need to continue this study in order to enhance the experimental conditions and obtain a product with satisfactory functional properties.

Key words: acerola; agroindustrial waste; whey; flour; fermented milk drink.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Mecanismos pelos quais os probióticos induzem as respostas benéficas ao hospedeiro.	32
Figura 2. Processo de secagem do resíduo de acerola.	55
Figura 3. Fluxograma das etapas de elaboração das bebidas lácteas fermentadas, sabor acerola, à base de soro lácteo, com culturas probióticas e farinha de resíduo de acerola.	57
Figura 4. Índice de aceitabilidade das formulações de bebida láctea fermentada sabor acerola com adição de farinha de resíduo de acerola submetidas à análise sensorial.	75
Figura 5. Superfície de resposta do atributo cor em função do soro de leite (%) e farinha de resíduo de acerola (%).	77
Figura 6. Valores de pH de bebidas lácteas fermentadas, sabor acerola, armazenadas sob refrigeração ($4\pm 1^{\circ}\text{C}$) durante 28 dias	82
Figura 7. Valores de acidez de bebidas lácteas fermentadas, sabor acerola, armazenadas sob refrigeração ($4\pm 1^{\circ}\text{C}$) durante 28 dias	84

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Principais fontes de ácido ascórbico em frutas e vegetais.	22
Tabela 2. Microrganismos do gênero <i>Lactobacillus</i> e <i>Bifibacterium</i> recentemente incluído na “ <i>List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature</i> ” (LPSN).	33
Tabela 3. Estudos experimentais referentes ao papel protetor dos probióticos e prebióticos	34
Tabela 4. Planejamento fatorial 2 ² das formulações de bebida láctea fermentada, sabor acerola, à base de soro lácteo com culturas probióticas e farinha de resíduo de acerola	56
Tabela 5. Caracterização físico-química da farinha de resíduos de acerola.	69
Tabela 6. Caracterização fitoquímica da farinha de resíduo de acerola.	71
Tabela 7. Média dos resultados da análise sensorial das variáveis dependentes (atributos de qualidade) do planejamento fatorial 2 ² para bebida láctea fermentada, sabor acerola, com culturas probióticas e farinha de resíduo de acerola.	74
Tabela 8. Percentual das notas obtidas na intenção de compra, na análise sensorial da bebida láctea fermentada, sabor acerola, com culturas probióticas e farinha de acerola.	75
Tabela 9. Efeito das variáveis independentes (soro de leite e farinha de resíduo de acerola) sobre os atributos sensoriais (aroma, cor, textura, sabor e avaliação global) das formulações de bebida láctea fermentada, sabor acerola, com culturas probióticas e farinha de resíduo de acerola.	76
Tabela 10. Análises físico-químicas das bebidas lácteas fermentadas sabor acerola com e sem adição de farinha de resíduo de acerola após processamento.	78
Tabela 11. Análises fitoquímicas das bebidas lácteas fermentadas, sabor acerola, com e sem adição de farinha de resíduo de acerola após processamento.	80
Tabela 12. Viabilidade das bactérias lácteas totais de bebidas lácteas feremntadas, sabor acerola, com e sem adição de farinha de acerola armazenadas sob refrigeração (4±1°C) durante 28 dias.	84

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
2. PROBLEMA DE PESQUISA E HIPÓTESE	18
2.1 Problema de pesquisa	18
2.2 Hipótese	18
3. REVISÃO DA LITERATURA	20
3.1 Acerola	20
3.2 Fitoquímicos bioativos	21
3.2.1 Ácido ascórbico	21
3.2.2 Carotenóides	23
3.2.3 Compostos fenólicos	24
3.3 Resíduos agroindustriais	26
3.3.1 Soro lácteo	27
3.3.1 Resíduos da fruticultura	28
3.4 Alimentos funcionais	29
3.5 Prebióticos	30
3.6 Fibras dietéticas	35
3.7 Bebida láctea fermentada	35
4. REFERÊNCIAS	38
5. RESULTADOS	49
5.1 Artigo 1: Bebida láctea fermentada com culturas probióticas enriquecida com farinha de resíduo de acerola (<i>Malpighia emarginata</i>): avaliação sensorial, físico-química, fitoquímica e estabilidade	49
ANEXO I	92
ANEXO II	98
ANEXOIII	101

INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

A acerola (*Malpighia emarginata*) é uma fruta bastante atrativa pelo seu sabor agradável e pelo seu reconhecido valor nutricional, destacando-se o elevado teor de ácido ascórbico (EMBRAPA, 2010; RITZINGER, RITZINGER, 2011). Habitualmente, a acerola é comercializada na forma de polpa e suco integral ou pasteurizado. Porém, os subprodutos decorrentes deste processamento, constituídos por uma mistura heterogênea de cascas e sementes, são resíduos orgânicos, que devem ser tratados adequadamente. Como esse volume representa inúmeras toneladas, agregar valor a estes subprodutos é de grande interesse, visto que, o uso desses resíduos pode apresentar uma solução viável para o enriquecimento da alimentação humana, além de proporcionar um destino adequado aos mesmos, reduzindo as perdas de matérias-primas e da poluição ambiental (EVANGELISTA, 2008; EMBRAPA, 2010; RITZINGER; RITZINGER, 2011; MARQUES *et al.*, 2013; NÓBREGA *et al.*, 2014).

De acordo com Marques *et al.* (2013), uma alternativa para o aproveitamento dos subprodutos vegetais é a transformação dessa matéria-prima em farinhas, que além de possuírem diversos componentes, tais como fibras, vitaminas e compostos bioativos, apresentam efeitos benéficos à saúde, boa conservação e diferentes propriedades químicas e físicas (CAETANO *et al.*, 2011), o que permite uma ampla aplicação como ingrediente na produção de diferentes produtos, tais como: pães, bolos, biscoitos, sorvetes, entre outros (MIN *et al.*, 2010; PANDURANG, SACHIN; SHALINI, 2014; ARUN *et al.*, 2015; YANGILAR, 2015).

Outro resíduo agroindustrial com elevado valor nutritivo e potente poluidor ambiental é o soro lácteo, resíduo oriundo das indústrias de laticínios, gerado a partir da coagulação do leite durante a produção de queijos e separação da caseína (BRASIL, 2013). As características nutricionais apresentadas pelo soro lácteo vêm estimulando o desenvolvimento de estratégias que viabilizem a sua inserção na alimentação, dentre elas destaca-se o desenvolvimento de bebidas lácteas fermentadas.

Entende-se por bebida láctea fermentada o “produto lácteo resultante da mistura de leite (*in natura*, pasteurizado, esterilizado, UHT, reconstituído, concentrado, em pó, integral, semidesnatado ou parcialmente desnatado e desnatado) e soro de leite (líquido, concentrado ou em pó), acrescido ou não de produtos ou substâncias alimentícias e outros lácteos, cuja base láctea represente pelo menos 51% (m/m) do total de ingredientes do

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

Para atender a crescente procura dos consumidores por alimentos saudáveis e que atuem na prevenção de doenças, os chamados alimentos com alegação funcional, as bebidas lácteas fermentadas com adição de culturas probióticas vêm se destacando ao longo dos anos, visto os diversos efeitos positivos sobre a saúde que podem advir do seu consumo regular (NIGHSWONGER; BRASHEARS; GILLILAND, 1996; OLIVEIRA; SODINI; REMEUF, 2001; THAMER; PENNA, 2006; KRÜGER *et al.*, 2008; GOMES; PENNA, 2009; BURKERT *et al.*, 2012; RAMOS *et al.*, 2013).

Os probióticos são microrganismos vivos, que administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde do hospedeiro (FAO/WHO, 2002). Esses microrganismos devem apresentar diversas características, dentre elas, a de serem capazes de sobreviver à passagem pelo estômago, isto é, eles resistem ao suco gástrico e a exposição aos sais biliares e enzimas digestivas, apresentando a capacidade de proliferar e colonizar o intestino, produzindo efeitos benéficos à saúde do indivíduo (SAAD *et al.*, 2013).

A legislação brasileira vigente estabelece que a quantidade mínima de bactérias viáveis deve estar situada entre 10^8 e 10^9 UFC (Unidades Formadoras de Colônias) na porção diária do produto para consumo para que o microrganismo possa exercer a sua ação probiótica (BRASIL, 2002; BRASIL, 2008).

Diante do exposto, o objetivo desta pesquisa foi o desenvolvimento de bebida láctea fermentada, sabor acerola, desenvolvida com soro lácteo e adição de culturas probióticas e farinha de resíduo do processamento da acerola, como fonte de fibras dietéticas e compostos antioxidantes, proporcionando um produto com potencial ação funcional.

*PROBLEMA DE
PESQUISA E HIPÓTESE*

2. PROBLEMA DE PESQUISA E HIPÓTESE

2.1 Problema de pesquisa

O desenvolvimento de bebida láctea fermentada, sabor acerola, a base de soro lácteo, adicionada de cultura probiótica e farinha de resíduo do processamento da acerola, poderão proporcionar um novo produto com boa aceitação pelo consumidor e de elevado impacto para a indústria de alimentos por suas características tecnológicas, nutricionais e de funcionalidade?

2.2 Hipótese

A bebida láctea fermentada, sabor acerola, desenvolvida com soro lácteo e adição de cultura probiótica e farinha de resíduo do processamento da acerola, como fonte de fibras alimentares e compostos antioxidantes, proporcionará a obtenção de um produto alimentício com potencial ação funcional.

*REVISÃO DA
LITERATURA*

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Acerola

A acerola ou cereja-das-antilhas (*Malpighia emarginata*) pertence à família das *Malpighiaceae*, originárias das Antilhas e cultivadas em escala industrial em Porto Rico, expandindo-se a seguir para Cuba, Flórida e Havaí (ROSSO *et al.*, 2008; EBRAPA, 2010). No Brasil, a introdução desta fruteira ocorreu em 1985 no Estado de Pernambuco, pela Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), através de sementes oriundas de Porto Rico. Seu plantio ganhou expansão econômica somente a partir da década de 90 com aumento da demanda pelo fruto, tanto pelo mercado interno como externo, estando hoje difundida em quase todo território nacional, com uma área total de cultivo estimada entre 10.500 e 11.000 hectares no ano de 2012, destacando-se as regiões Norte e Nordeste, e com menos intensidade nas regiões Sul e Sudeste devido às condições do solo e as baixas temperaturas nestas regiões durante o inverno (EMBRAPA, 2010; RITZINGER; RITZINGER, 2011; IBRAF, 2013).

Descreve-se a *Malpighia emarginata* como arbusto glabro (sem pelos), de tamanho médio, com 2 m a 3 m de altura, ramos densos e espalhados, folhas opostas, com pecíolo curto ovaladas e elíptico-pecioladas, medindo entre 2,5 cm e 7,5 cm. A base e principalmente, o ápice das folhas são agudos, de coloração verde-escura brilhante, na superfície superior, e verde-pálida, na superfície inferior. Os frutos são drupas tricarpeladas, com epicarpo (casca) fino, mesocarpo (polpa) carnosos e suculentos, e endocarpo constituído por três caroços triangulares, alongados, com textura de pergaminho e superfície reticulada. Sua forma pode ser redonda, oval ou achatada, e o peso pode variar de 3 a 16g. A superfície do fruto pode ser lisa ou apresentar, entre os carpelos, sulcos rasos ou profundos. A cor da casca do fruto imaturo normalmente é verde, podendo também ser alvacenta ou verde-arroxeadas. Em frutos maduros, a cor da casca pode variar de vermelho-amarelada, vermelho-alaranjada ou vermelha a vermelha-púrpura. A polpa pode ser de cor amarela, alaranjada ou vermelha (EMBRAPA, 2010; RITZINGER; RITZINGER, 2011).

A acerola é reputada por diversos pesquisadores como uma rica fonte de vitamina C, em algumas variedades, alcança até 5.000 mg/100g de polpa (EMBRAPA, 2010). A

fruta atua como um ativador indispensável do metabolismo celular como um todo. Podendo, portanto, suplementar regularmente a dieta alimentar de gestantes, lactantes, crianças e jovens em fase de crescimento, bem como de idosos, enfermos e pessoas que executam atividades que impliquem em grande desgaste físico.

O fruto pode ser consumido *in natura*, sob a forma de suco natural, ou como fonte enriquecedora de vitamina C quando associada ao suco de outras frutas, na fabricação de licores, geléias, doces em calda e em pasta, sorvetes, chicletes e bombons (EMBRAPA, 2010; RITZINGER; RITZINGER, 2011; MARCALI *et al.*, 2012).

3.2 Fitoquímicos bioativos

O termo fitoquímico tem origem do grego “*phyto*” que significa vegetal. Os fitoquímicos são definidos como elementos químicos, não nutrientes, de origem vegetal, encontrados em frutas, verduras, leguminosas e grãos, e que apresentam atividade biológica. Mais de 5.000 fitoquímicos já foram identificados e estudados. Esses elementos químicos se apresentam em composição e quantidade variável nos alimentos (LIU, 2012).

Os fitoquímicos podem ser classificados, quanto à estrutura química, em: compostos fenólicos, alcalóides, compostos nitrogenados, compostos organosulfurados, fitoesteróides, ácido ascórbico e carotenóides. Os grupos mais bem estudados e que apresentam grande importância na alimentação são os compostos fenólicos, ácido ascórbico e carotenóides (JACOBS; GROSS; TAPSELL, 2009; LIU, 2012).

3.2.1 Ácido ascórbico

O ácido ascórbico, também conhecido como vitamina C, é abundante em muitas frutas e vegetais (Tabela 1), atuando como co-fator enzimático, agente redutor e fator nutricional essencial (GUERREIRO; KAMEL; SALES, 2010; FENG *et al.*, 2015; JUANJUAN *et al.*, 2016).

A vitamina C amplamente utilizada como antioxidante em alimentos, ração animal, bebidas, cosméticos e formulações farmacêuticas (DE QUIRÓS; FERNÁNDEZ-ARIAS;

LOPEZ-HERNÁNDEZ, 2009; WEN *et al.*, 2010). A falta de ácido ascórbico pode causar uma variedade de doenças, incluindo o resfriado comum, escorbuto, doença mental, infertilidade e câncer. É um dos principais agentes cicatrizantes dos tecidos internos e externos, ajuda a manter os vasos sanguíneos em condições normais, fornece energia ao corpo, ajuda na síntese da dopamina, um importante hormônio relaxante e anti-estresse, além de ser essencial para a formação do colágeno, uma proteína que fortalece e confere elasticidade aos tecidos. Quando os tecidos perdem a consistência, os tendões ficam frágeis, os dentes moles e os ossos fragilizados (MOGHADAM *et al.*, 2011).

Como se trata de uma substância química exógena, o ácido ascórbico, não pode ser sintetizado pelo organismo humano e é obtido apenas a partir da ingestão de alimentos para manter o conteúdo necessário para o corpo humano (JUANJUAN *et al.*, 2016).

Alguns estudos afirmam que o consumo de pelo menos 500 mg de vitamina C por dia, promove o relaxamento e aumento do calibre das artérias, um processo conhecido como vasodilatação. Esse processo ajuda a diminuir a pressão arterial, reduzindo assim o risco de ataque cardíaco e outras doenças cardiovasculares (JUANJUAN *et al.*, 2016).

Tabela 1 - Principais fontes de ácido ascórbico em frutas e vegetais.

Frutas	Porção	Concentração de vitamina C
Acerola	1 unidade de 5 gramas	186 mg
Pêssego	1 xícara 250 gramas	235 mg
Caju	1 unidade media	220 mg
Goiaba	1 unidade	218 mg
Kiwi	1 unidade	88 mg
Mamão	1 fatia média	82 mg
Melão	100 gramas	37 mg
Morango	5 unidades	57 mg
Laranja	1 unidade	53 mg
Tangerina	100 gramas	49 mg
Limão	1 unidade	39 mg
Vegetais	Porção	Concentração de vitamina C
Agrião	100 gramas	69 mg
Brócolis	100 gramas	89 mg
Couve-flor	100 gramas	120 mg
Couve de Bruxelas	100 gramas	75 mg
Folha de couve	100 gramas	120 mg
Pimentões verde, vermelho e amarelo	1 unidade	231 mg
Tomilho	100 gramas	160 mg
Salsa	100 gramas	133 mg

Fonte: JUANJUAN *et al.*, 2016

3.2.2 Carotenóides

Os carotenóides apresentam uma ampla distribuição na natureza, estruturas químicas diversas e funções variadas. Estão entre os constituintes alimentícios mais importantes e são os pigmentos naturais responsáveis pelas cores vermelho, laranja e amarelo de muitas frutas, hortaliças, gema do ovo, crustáceos cozidos e alguns peixes. São também moléculas bioativas, com efeitos benéficos à saúde e alguns deles apresentam atividade pro-vitamina A (GOUVEIA; EMPIS, 2003; RAO; RAO, 2007; RODRIGUEZ-AMAYA; KIMURA; AMAYA-FARFAN, 2008).

Estes compostos têm a estrutura básica de tetraterpeno de quarenta carbonos, formado por oito unidades isoprenóides de cinco carbonos, ligados de tal forma que a molécula é linear e simétrica, com ordem invertida no centro (BOBBIO; BOBBIO, 2001). Os grupos metila centrais estão separados por seis carbonos, ao passo que os demais, por cinco. A característica de maior destaque nestas moléculas é um sistema extenso de duplas ligações conjugadas, responsáveis por suas propriedades e funções tão especiais, estacando-se a sua notável ação antioxidante. Este é o sistema cromóforo, que confere aos carotenóides suas cores atraentes (RODRIGUEZ-AMAYA; KIMURA; AMAYA-FARFAN, 2008).

Existem, aproximadamente, 600 carotenóides encontrados na natureza, os quais são constituídos por dois grandes grupos, denominados: (1) carotenos, que são constituídos por hidrocarbonetos puros; e (2) xantofilas, hidrocarbonetos que possuem grupos funcionais oxigenados. Estes dois grupos principais podem ser subdivididos estruturalmente em sete subgrupos: hidrocarbonetos; alcoóis; cetonas; epóxidos; ésteres; ácidos e éteres (MALDONADE, 2003).

Nas indústrias de alimentos, os carotenóides são utilizados principalmente como corantes, com o objetivo de repor a cor perdida durante o processamento e armazenagem, colorir os alimentos incolores e uniformizar a coloração de alguns produtos alimentícios. Mais recentemente, com o crescente interesse pela saúde, os carotenóides também têm sido adicionados aos alimentos devido às suas atividades biológicas, a fim de enriquecer o produto alimentício. A presença de pequenas quantidades de carotenóides pode ajudar na prevenção da rápida oxidação dos constituintes dos alimentos seqüestrando o oxigênio singlete (MALDONADE, 2003).

Os carotenóides parecem desempenhar alguns papéis fundamentais na saúde humana, sendo essenciais para a visão devido à sua atividade de pró-vitamina A. O consumo de alimentos ricos neste composto fitoquímico também está associado à menor incidência de certos tipos de cancro, bem como a proteção reforçada contra doenças cardiovasculares (REISCHE *et al.*, 2002).

Estudos sugerem também que os carotenóides apresentam a capacidade de desativar os radicais livres tanto *in vitro* como *in vivo* (KIOKIAS; GORDON, 2004; KIOKIAS; OREOPOULOU, 2006). A maioria dos estudos têm-se centrado na β -caroteno e a capacidade deste carotenóide para interagir com radicais livres, incluindo os radicais peroxil (KIOKIAS; GORDON, 2004; KIOKIAS; VARZAKAS; OREOPOULOU, 2008).

3.2.3 Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos são originados do metabolismo secundário das plantas, sendo essenciais para o seu crescimento e reprodução, além disso se formam em condições de estresse como, infecções, ferimentos, radiações UV, dentre outros (NACZK; SHAHIDI, 2004).

Esses compostos encontram-se largamente em plantas e são um grupo muito diversificado de fitoquímicos derivados de fenilalanina e tirosina. As principais fontes de compostos fenólicos são frutas cítricas, como limão, laranja e tangerina, além de outras frutas a exemplo da cereja, uva, ameixa, pêra, maçã e mamão, sendo encontrados em maiores quantidades na polpa da fruta. Pimenta verde, brócolis, repolho roxo, cebola, alho e tomate também são excelentes fontes destes compostos (PIMENTEL; FRANCI; GOLLÜCKE, 2005).

Este grupo pode ser dividido em flavonóides (antocianinas, flavonóis e seus derivados), ácidos fenólicos (ácidos benzóico, cinâmico e seus derivados) e cumarinas (KING; YOUNG, 1999). Os fenólicos, em plantas, são essenciais no crescimento e reprodução dos vegetais, além de atuarem como agente antipatogênico e contribuírem na pigmentação (SHAHIDI; NACZK, 1995). Em alimentos, são responsáveis pela cor, adstringência, aroma e estabilidade oxidativa (NACZK; SHAHIDI, 2004).

De acordo com seu modo de ação, os antioxidantes, podem ser classificados em primários e secundários. Os primários atuam interrompendo a cadeia da reação através da doação de elétrons ou hidrogênio aos radicais livres, convertendo-os em produtos termodinamicamente estáveis e/ ou reagindo com os radicais livres, formando o complexo lipídio-antioxidante que pode reagir com outro radical livre. Os antioxidantes secundários atuam retardando a etapa de iniciação da autoxidação, por diferentes mecanismos que incluem complexação de metais, seqüestro de oxigênio, decomposição de hidroperóxidos para formar espécie não radical, absorção da radiação ultravioleta ou desativação de oxigênio singlete (ADEGOKE *et al.*, 1998).

Os compostos fenólicos são incluídos na categoria de interruptores de radicais livres, sendo muito eficientes na prevenção da autoxidação (SHAHIDI *et al.*, 1992).

Os flavonóides são um dos maiores grupos de compostos fenólicos em frutas, verduras e outros alimentos vegetais. Estima-se que mais de 4000 flavonóides foram identificados na literatura (LIU, 2004). Eles geralmente têm uma estrutura genérica que consiste de 2 anéis aromáticos (anéis A e B) ligadas por 3 carbonos que são geralmente em um anel heterocíclico oxigenado, ou anel C. Diferenças na estrutura genérica do anel heterocíclico C classificá-los como flavonóis, flavonas, flavonóis (catequinas), flavanonas, antocianidinas, e isoflavonóides. Flavonóis (quercetina, kaempferol, miricetina, e galangina), flavonas (luteolina, apigenina, e crisina), flavanols [catequina, epicatequina, epigallocatequina (EGC), epicatequina galato (ECG), e EGC galato (EGCG)], flavanonas (naringenina, hesperitin e eriodictiol), antocianidinas (cianidina, malvidina, peonidina, pelargonidina e delphinidina), e isoflavonoids (genisteína, daidzeína, gliciteína e formononetin) são comuns flavonóides alimentares em nossa dieta (HOLLMAN; ARTS, 2000).

Estudos indicam que uma alimentação rica em flavonóides melhora significativamente a pressão arterial, resistência à insulina e o perfil lipídico (ELBOURNE *et al.*, 2002; TAUBERT; ROESEN; SCHONIG, 2007; HOOPER *et al.*, 2008; DESCH *et al.*, 2010; SHRIME *et al.*, 2011).

3.3 Resíduos agroindustriais

Na indústria de alimentos, são conhecidos como “resíduo”, partes da matéria prima não utilizada no processamento do produto principal. O surgimento dos resíduos não ocorrem apenas nas operações preparatórias, na escolha e seleção da matéria prima a ser utilizada pela indústria, como também, nas diversas fases de fabricação do produto final (EVANGELISTA, 2008).

Nos últimos anos, atenção especial vem sendo dada à minimização ou reaproveitamento de resíduos gerados pelas indústrias de beneficiamento de frutas e hortaliças (cascas, sementes, ramas, talos e bagaços), assim como, na indústria de laticínios (soro lácteo). Esses materiais, além de fonte de matéria orgânica, servem como fonte de proteínas, enzimas, carboidratos, lipídeos, vitaminas, minerais, fibras e compostos antioxidantes, que são importantes para as funções fisiológicas dos seres vivos e passíveis de recuperação e aproveitamento na indústria de rações, cosméticos e, principalmente, na incorporação de nutrientes na alimentação humana (SOUZA *et al.*, 2011).

Além de criar problemas ambientais, esses resíduos representam também perdas de matéria prima e de custos operacionais para as indústrias, pois reparar os danos ambientais causados pelo descarte inadequado desses resíduos exige investimentos significativos em tratamentos para combater a poluição. Entretanto, por meio da utilização de técnicas adequadas, esses mesmos resíduos podem ter uma finalidade muito mais benéfica ao homem, servindo como fonte alternativa de nutrientes, evitando assim desperdícios (MARQUES *et al.*, 2013).

Várias pesquisas com foco em tecnologias de recuperação e novos usos para os resíduos agroindustriais estão sendo realizados, tais como bebidas lácteas elaboradas com soro de leite e adição probióticos (DIAS *et al.*, 2013; RAMOS *et al.*, 2013; DA SILVEIRA *et al.*, 2015), biscoitos, pães e bolos com substituição da farinha de trigo por farinha de resíduo de frutas, todos os produtos com boa aceitação pelos consumidores (PIOVESANA *et al.*, 2013; CONTI-SILVA; RONCARI, 2015; FERREIRA *et al.*, 2015; KARNOPP *et al.*, 2015).

3.3.1 Soro lácteo

A Portaria nº 53 de 2013 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) define o soro lácteo como “o produto lácteo líquido extraído da coagulação do leite utilizado no processo de fabricação de queijos, obtenção de caseína e produtos similares” e que “pode ser apresentado na forma líquida, concentrada ou em pó”. O soro lácteo pode ser classificado em soro doce ou ácido, de acordo com o método de coagulação. O soro doce ocorre por ação de enzimas proteolíticas, devendo apresentar pH entre 6,0 e 6,8 e o soro ácido por acidificação e o pH exigido é inferior a 6,0 (BRASIL, 2013).

Dados da Associação Brasileira das Indústrias de Queijo (ABIQ, 2013) a produção de queijos no Brasil teve um aumento de 76% entre os anos de 2005 e 2013, média de 8% a 9% ao ano. Em 2013, alcançou 1.032 milhões de toneladas de queijos produzidos, acarretando, conseqüentemente, no aumento da produção de soro lácteo.

Devido ao grande volume de produção, se faz necessário o estudo de formas para conservar e utilizar o soro lácteo minimizando problemas, especialmente de ordem ambiental, pois, o tratamento de efluentes, principalmente deste subproduto que apresenta alta carga orgânica, é dispendioso. O soro é um agente de poluição potente, passível de provocar a destruição da flora e fauna pela alta demanda biológica de oxigênio (DBO) requerida, que é cerca de 30.000 a 50.000 mg de oxigênio por litro de soro, valor este aproximadamente 100 vezes maior que o requerido para esgoto doméstico. Descartar soro sem tratamento eficiente não é só crime previsto por lei (Lei nº 6.938, de 31 de agosto de 1981), mas é, também, rejeitar um ingrediente que possui alto valor nutritivo (RICHARDS, 2002).

Sua composição química depende algumas variáveis como o tipo de queijo fabricado e a tecnologia empregada no processamento. De uma forma geral, o soro lácteo apresenta lactose (4,5-5% w/v); lipídios (0,4-0,5% w/v); sais minerais (8-10% de extrato seco); proteínas (0,6-0,8% w/v); contém também quantidades apreciáveis de outros componentes, como o ácido láctico (0,05% w/v); compostos de nitrogênio não protéico (uréia e ácido úrico) e vitaminas do grupo B (ANTUNES, 2003; PANESAR *et al.*, 2007; CASTELLÓ *et al.*, 2009).

As proteínas representam cerca de 20% da composição do soro, sendo suas principais frações a β -lactoglobulina, α -lactoalbumina, albumina sérica e as imunoglobulinas. Estas últimas apresentam atividade contra bactérias patogênicas e

leveduras como *Candida albicans*. Outros peptídeos com ação antimicrobiana são originados a partir da α -lactoalbumina. A albumina sérica se une aos ácidos graxos e cálcio agindo como carreador destas substâncias enquanto, a β -lactoglobulina é uma fonte importante do aminoácido cisteína, que estimula a síntese da glutatona, um tripeptídeo produzido no fígado e considerado anticarcinogênico (ANTUNES, 2003).

3.3.2 Resíduos da fruticultura

O Brasil, em 2012, foi considerado o 3º maior produtor mundial de frutas frescas, responsável por 5,3% do volume colhido, com índice estimado em 43,6 milhões de toneladas, sendo a agricultura uma forte vertente da economia brasileira (IBRAF, 2013).

Em toda cadeia produtiva de alimentos de origem vegetal, ocorre perdas significativas devido a inúmeros fatores, tais como o amadurecimento, colheita tardia, excesso de chuva, seca, formas inadequadas de armazenamento, falta de planejamento e a não utilização integral dos vegetais. Estima-se que 35% da produção agrícola não são bem aproveitadas (DAMIANI *et al.*, 2011).

Dentre as várias alternativas já existentes para evitar desperdícios, destaca-se o aproveitamento de partes usualmente não consumíveis (cascas, sementes e talos) em bolos, geléias, doces, sorvetes, pães entre outros (AQUINO *et al.*, 2010; MIN *et al.*, 2010; GOMES *et al.*, 2011; SAGDIC *et al.*, 2012; PANDURANG; SACHIN; SHALINI, 2014; ARUN *et al.*, 2015; BALA; GUI; RIAR, 2015; ÇAKMAÇI *et al.*, 2015; YANGILAR, 2015). Essas alternativas de aproveitamento são importantes, pois as partes consideradas usualmente não consumíveis também apresentam valor nutricional relevante (DAMIANI *et al.*, 2011). As cascas da goiaba e da acerola, por exemplo, apresentam um bom potencial antioxidante e alto teor de vitamina C, compostos fenólicos e pigmentos tais como β -caroteno e licopeno (OLIVEIRA *et al.*, 2011; MARQUES *et al.*, 2013). O albedo da casca de maracujá é rico em fibras, que contribuem para redução do risco de obesidade e doenças cardiovasculares e gastrointestinais (QUEIROZ *et al.*, 2012); a casca de uva apresenta um elevado teor de compostos antioxidantes que ajuda a prevenir doenças como câncer, doença cardiovascular, doença de Alzheimer e outras doenças degenerativas (CETIN *et al.*, 2011; DENG; PENNER; ZHAO, 2011; LACHMAN *et al.*, 2013)

e os talos e cascas de vegetais possuem teores apreciáveis de fibra alimentar insolúvel, fator preventivo no desenvolvimento de doenças gastrintestinais (DAMIANI *et al.*, 2011).

O aproveitamento dos resíduos de frutas e vegetais aumenta a eficiência industrial, reduzindo o acúmulo crescente dos desperdícios, que constituem fonte de contaminação e causam problemas higiênicos e ambientais (DAMIANI *et al.*, 2011).

Diante do exposto, o objetivo desta pesquisa é desenvolver uma bebida láctea fermentada com culturas probióticas, à base de soro lácteo e enriquecida com farinha de resíduo de acerola.

3.4 Alimentos funcionais

Na década de 80, surgiu no Japão uma nova concepção de alimento, lançada através de um programa de governo que tinha por objetivo desenvolver alimentos saudáveis porá uma população que envelhecia e que apresentava enorme expectativa de vida (ANJO, 2004; ARAYA; LUTZ, 2003; CARVALHO; SOUZA, 2009). Em decorrência disso, em 1991 esses alimentos foram regulamentados com a denominação de “Foods for specifeid health use”. Hoje, há em todo o mundo um grande interesse sobre o papel exercido pelos alimentos funcionais na saúde, seja aqueles que contenham componentes que influenciam em atividades fisiológicas ou metabólicas, seja aqueles enriquecidos com substâncias isoladas de alimentos que possuam uma destas propriedades, que passaram a ser denominados de alimentos funcionais (VIEIRA; CORNÉLIO; SALGADO, 2006).

A legislação brasileira, no entanto, não define o que são os alimentos funcionais. Define alegação de propriedade funcional e alegação de propriedade de saúde, e estabelece as diretrizes para a sua utilização, bem como as condições de registro de propriedade funcional e, ou, de saúde (BRASIL, 1999). Dentre as diretrizes para esse tipo de alimento são permitidas alegações funcionais relacionadas com o papel fisiológico no crescimento, desenvolvimento e funções normais do organismo e, ou, alegações sobre a manutenção geral da saúde e a redução do risco de doenças, em caráter opcional. Não são permitidas alegações que façam referência à cura ou à prevenção de doenças. O alimento ou ingrediente que alegar propriedades funcionais e, ou, de saúde, devem ser seguro para o consumo sem prescrição médica e obrigatoriamente registrados junto ao órgão competente (BRASIL, 1999; BRASIL, 2005).

Um alimento funcional pode ser classificado de acordo com o alimento em si ou conforme os componentes bioativos nele presentes como, por exemplo, os probióticos, as fibras, os fitoquímicos, as vitaminas e os sais minerais essenciais, além de determinados peptídeos e proteínas (ARVANITOYANNIS; HOUWELINGEN-KOUKALIAROGLOU, 2005).

Dentre os fatores que estimulado o desenvolvimento de alimentos funcionais ao longo dos últimos anos destacam-se a reconhecida relação nutrição-saúde-doença e o avanço da indústria alimentícia com a viabilidade de utilização dos compostos bioativos no enriquecimento de alimentos normalmente consumidos pela população (FAGUNDES; COSTA, 2003). Atualmente diversos estudos vêm sendo realizados com a finalidade de desenvolver novos produtos com alegação funcional tais como: flan de chocolate, bebida láctea fermentada, queijo e sorvete com culturas de *Lactobacillus*, bolo com adição de farinha de castanha, biscoito com farinha de resíduo de acerola e geléia com casca de jaboticaba (AQUINO *et al.*, 2010; MIN *et al.*, 2010; GOMES *et al.*, 2011; SILVA *et al.*, 2012; SADAGHDAR; MORTAZAVION; EHSANI, 2012; SAGDIC *et al.*, 2012; SHAHABBASPOUR *et al.*, 2013; ARUN *et al.*, 2015; BALA; GUI; RIAR, 2015; HASHEMI, *et al.*, 2015; MORALES *et al.*, 2016).

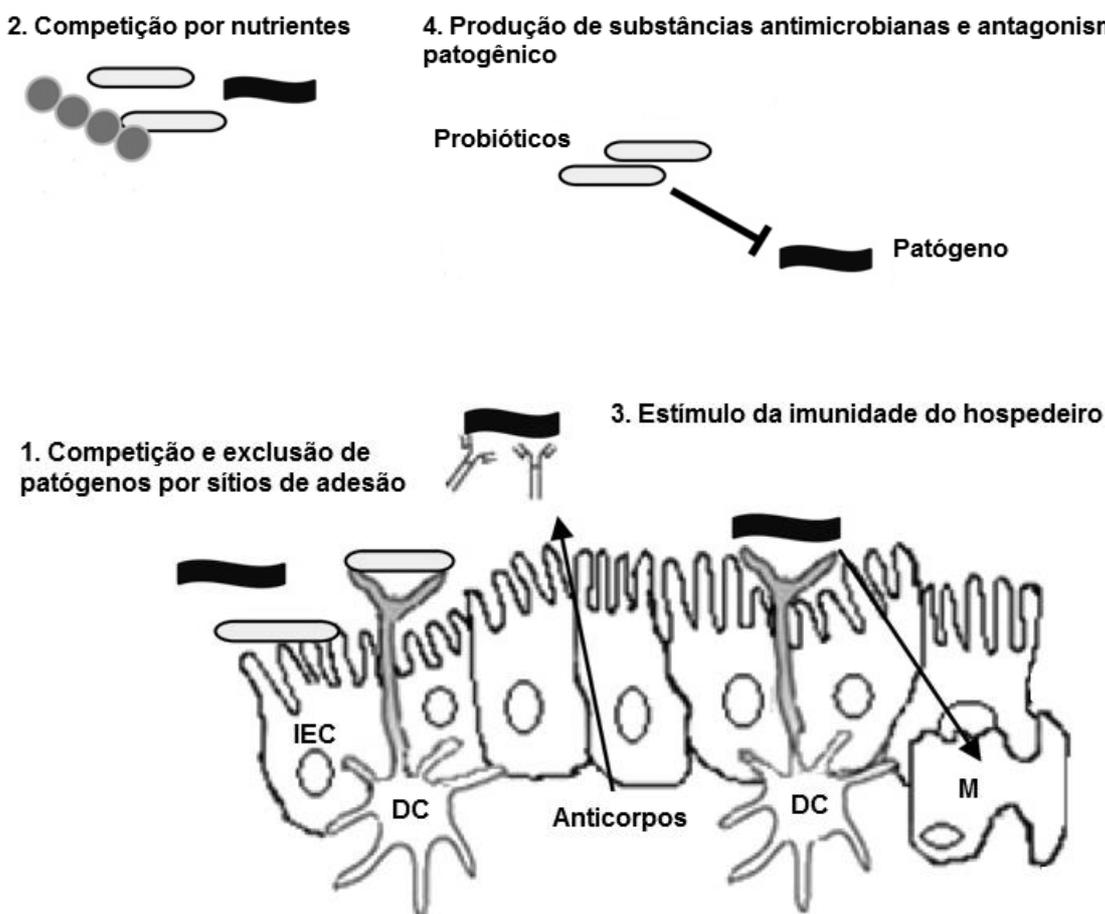
3.5 Probióticos

O termo probiótico, de origem grega, significa “para vida” e foi utilizado pela primeira vez por Lelley e Stillwell em 1965, ao descrever compostos ou extratos de tecidos capazes de estimular o crescimento microbiano (LILLEY; STILLWELL, 1965). Mais tarde, em 1974, Parker definiu probióticos como organismos e substâncias que contribuíam para o equilíbrio microbiano intestinal. No entanto, o termo “substâncias” poderia incluir suplementos, tais como antibióticos, cuja função é oposta, e devido a este fato, esta definição foi extinta (CHEN; WALKER, 2005).

Em 1989, Fuller reformulou a definição de probióticos para “um suplemento alimentar microbiano vivo que afeta beneficemente o hospedeiro, melhorando o equilíbrio microbiano intestinal”. Atualmente, a definição aceita mundialmente é que “os probióticos são microrganismos vivos, que administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde do hospedeiro (FAO/WHO, 2002; BRASIL, 2002; BRASIL, 2008).

Quatro são os possíveis mecanismos de atuação dos probióticos que induzem as respostas benéficas ao hospedeiro (Figura 1), sendo elas: (1) competição e exclusão de patógenos por sítios de adesão às células epiteliais; (2) estímulo da imunidade do hospedeiro, através do aumento da atividade dos macrófagos; (3) competição com os patógenos por nutrientes e (4) produção de substâncias antimicrobianas, e assim, o antagonismo patogênicos (SAAD, 2006).

Figura 1 - Mecanismos pelos quais os probióticos induzem as respostas benéficas ao hospedeiro.



Competição e exclusão de patógenos por sítios de adesão às células epiteliais; 2) Estímulo da imunidade do hospedeiro; 3) Competição por nutrientes e 4) Produção de substâncias antimicrobianas. IEC: Células do epitélio intestinal; DC: Células dendríticas; M: Célula M intestinal (Fonte: Modificado de SAAD, 2013).

A legislação brasileira vigente estabelece que a quantidade mínima de bactérias viáveis deve estar situada entre 10^8 a 10^9 UFC (Unidades Formadoras de Colônias) na porção diária do produto pronto para consumo, conforme indicação do fabricante, para que o microrganismo possa exercer a sua ação probiótica. Valores inferiores podem ser aceitos, desde que sejam comprovados os efeitos fisiológicos (BRASIL, 2008).

As bactérias probióticas só exercem os efeitos benéficos ao hospedeiro se os mesmos dispuserem de alguns critérios dentre eles, serem capazes de sobreviver a passagem pelo estômago, isto é, eles devem ter a capacidade para resistir ao suco gástrico e a exposição aos sais biliares e enzimas digestivas, apresentando a capacidade de proliferar e colonizar o intestino, por meio da adesão ao epitélio intestinal. Além disso, eles devem ser seguros e eficazes, produzindo efeitos benéficos à saúde do indivíduo, tais como: equilíbrio bacteriano intestinal, inibição da multiplicação de patógenos, melhora dos níveis de colesterol, redução da constipação e diarreia, redução do risco de desenvolvimento de câncer, produção de vitaminas do complexo B, aumento da absorção de minerais, digestão da lactose em indivíduos com intolerância a esse dissacarídeo e ajudam a restabelecer a microbiota normal após tratamento com antibióticos (STEFE *et al.*, 2008; KOMATSU; BURITI; SAAD, 2008; SAAD *et al.*, 2013).

Os microrganismos que possuem efeito probiótico cientificamente comprovado, segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) são *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei shirota*, *Lactobacillus casei* subespécie *rhanosus*, *Lactobacillus casei* subespécie *defensis*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactococcus lactis*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium animalis* (incluindo a subespécie *Bifidobacterium lactis*), *Bifidobacterium longum* e *Enterococcus faecium* (BRASIL, 2008). Porém, os gêneros de maior relevância são *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*.

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

O gênero *Bifidobacterium*, mesmo sendo listados tradicionalmente como bactéria ácido láctica, é filogeneticamente distinta das mesmas. As bifidobactérias são caracterizadas por serem microrganismos gram-positivos, não formadores de esporos, desprovidos de flagelos, catalase-negativos e anaeróbicos. A temperatura ótima de crescimento das bifidobactérias varia de 37°C a 41°C, não havendo crescimento em temperaturas abaixo de 25-28°C e acima de 43-45°C. O pH ótimo de crescimento compreende a faixa de 6,0 a 7,0, não ocorrendo crescimento abaixo de 4,5 a 5,0 ou acima de 8,0 a 8,5 (FELIS; DELLAGLIO, 2007; STEFE *et al.*, 2008; SALVETTI *et al.*, 2012). Em

produtos fermentados além de promover benefícios à saúde, melhora as características sensoriais com produção de compostos inerentes a produtos lácteos fermentados, tais como compostos voláteis e ácidos orgânicos (CASTRO *et al.*, 2013).

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

Tabela 2 - Microrganismos do gênero *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* recentemente incluído na “*List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature*” (LPSN).

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

Fonte: EUZÉBY, 2014

A Tabela 3 mostra alguns estudos experimentais no período de 2012 a 2016 que utilizam culturas probióticas para prevenir e/ou tratar algumas patologias, exemplificando os benefícios agregados ao consumo desses microrganismos.

Tabela 3 - Estudos experimentais referentes ao papel protetor dos probióticos e prebióticos.

Sujeito do estudo	Conclusão do estudo	Referência
Pacientes com taxas de colesterol total > 200 mg / dL; triglicérides > 200 mg / dL e glicemia > 110 mg / dL	O consumo da bebida contendo oligofrutose e culturas de <i>Lactobacillus acidophilus</i> e <i>Bifidobacterium</i> resultou em um aumento significativo nos níveis de HDL e uma diminuição significativa da glicemia.	MOROTI, <i>et al.</i> (2012)
Pacientes considerado positivo para infecção por <i>H. pylori</i> .	<i>L. reuteri</i> pode ter um papel potencial na terapia de erradicação da <i>H. pylori</i> .	DORE <i>et al.</i> (2013)
Mães durante o último mês de gestação e crianças	A suplementação diária com <i>L. reuteri</i> , desde o nascimento e durante o primeiro ano de vida está associada à diminuição de prevalência de cárie e menor risco de gengivite na dentição primária aos 9 anos de idade.	STENSSON <i>et al.</i> (2014)
Indivíduos com idade entre 26 e 76 anos	A administração de <i>Lactobacillus plantarium</i> P-8 melhorou a saúde gastrointestinal dos indivíduos estudados.	WANG <i>et al.</i> (2014)
Idosos com idade entre 65-80 anos	O consumo da mistura de Bifidobactéria e galactooligossacarídeos afetou positivamente a microbiota e alguns marcadores da função imune associados com o envelhecimento.	VULEVIC <i>et al.</i> (2015)
Pacientes adultos em estado crítico que receberam ventilação mecânica	A terapia com bactérias probióticas <i>B. subtilis</i> e <i>E. faecalis</i> são um meio eficaz e seguro para evitar pneumonia associada à ventilação mecânica e a colonização gástrica de microrganismos potencialmente patogênicos.	ZENG <i>et al.</i> (2016)

3.6 Fibras dietéticas

As fibras dietéticas são definidas, fisiologicamente, como as substâncias de origem vegetal que ajudam a aumentar o volume fecal e diminuir o tempo de trânsito intestinal. Quimicamente, as fibras são reconhecidas como as substâncias de origem vegetal que são resistentes a hidrólises por ácidos e por álcalis (KAAKS; RIBOLE, 1995).

As fibras dietéticas são classificadas em fibras solúveis e insolúveis, de acordo com suas propriedades físicas e papel fisiológico. As fibras solúveis, em combinação com as fibras insolúveis, na presença de água aumentam o bolo fecal, promovendo um bom trânsito intestinal. Esses fatores são importantes para prevenir os problemas de constipação intestinal. Além da associação das fibras na prevenção de doenças do cólon, as fibras solúveis têm ações benéficas no combate a doenças cardiovasculares, diabetes e câncer (CRAVEIRO, 2003).

3.7 Bebida láctea fermentada

De acordo com o Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (United States Department of Agriculture - USDA), o Brasil ocupou, no ano de 2014, a quinta posição no ranking mundial de produção de leite, atrás da União Europeia, Índia, Estados Unidos e China (IBGE, 2015).

A produtividade média no Brasil foi de 1.525 litros/vaca/ano, em 2014, correspondendo a um crescimento de 2,2% em relação ao observado em 2013 que foi de 1.492 litros/vaca/ano. A Região Sul apresentou a maior produtividade nacional, 2 789 litros/vaca/ano, um aumento de 4,3% em 2014, comparado ao ano anterior. As maiores produtividades ocorreram no Sul do País, destacando-se o Estado do Rio Grande do Sul com a maior produtividade nacional (3.034 litros/vaca/ano), seguido pelos Estados de Santa Catarina (2.694 litros/vaca/ano) e Paraná (2.629 litros/vaca/ano). A menor produtividade foi encontrada no Estado de Roraima (345 litros/vaca/ano) (IBGE, 2015).

Vários derivados lácteos estão consolidados no mercado dentre eles, as bebidas lácteas fermentadas. De acordo com a Instrução Normativa nº 16/2005 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), bebida láctea é definida como “um tipo de leite fermentado resultante da mistura de leite (in natura, pasteurizado, esterilizado, UHT,

reconstituído, concentrado, em pó, integral, semidesnatado ou parcialmente desnatado e desnatado) e soro de leite (líquido concentrado ou em pó), acrescido ou não de produtos ou substâncias alimentícias e outros lácteos, cuja base láctea represente pelo menos 51% (m/m) do total de ingredientes do produto. A fermentação ocorre mediante cultivos de microrganismos específicos e/ou adicionado de leite(s) fermentado(s) e que não poderá ser submetido a tratamento térmico após a fermentação. A contagem total de bactérias lácticas viáveis deve ser no mínimo 10^6 UFC/g, no produto final, para o(s) cultivo(s) específico(s) empregado(s) durante todo o prazo de validade” (BRASIL, 2005).

A legislação vigente ainda estabelece a composição das bebidas lácteas, citando os ingredientes obrigatórios e os opcionais. Os opcionais podem ter origem láctea ou não láctea. Dentre os requisitos que devem ser preenchidos estão os associados às características sensoriais do produto (consistência, cor, odor e sabor) e os físico-químicos, que faz exigência apenas ao teor protéico variando de 1,0 a 1,7 g/100 mL, dependendo da classificação do produto (BRASIL, 2005).

Uma bebida láctea fermentada caracteriza-se como uma importante fonte nutricional devido à presença de proteínas com alto valor biológico, que são na sua maioria derivadas do soro, uma importante matéria prima (SANMARTÍN *et al.*, 2011). A produção de bebidas lácteas tem aumentado em todo o mundo, representa aproximadamente um terço do mercado de leites fermentados, devido a vários fatores como: as mudanças no estilo de vida, a imagem projetada de produto saudável, bom valor nutritivo e sabor agradável, aproveitamento do soro lácteo além, da tecnologia de produção simples e que permite maior estabilidade dos componentes, melhoria no sabor e textura dos novos produtos (BALDISSERA *et al.*, 2011; HERNÁNDEZ-LEDESMA; RAMOS; GOMES-RUIZ, 2011).

REFERÊNCIAS

4. REFERÊNCIAS

- ADEGOKE, G.O.; VIJAY, KUMAR, M.; GOPALA, K.A.G.; VARADARA, M.C.; SAMBAIAH, K.; LOKESH, B.R. Antioxidants and lipid oxidation in food - a critical appraisal. **J Food Sci Technol**, v.35, n.4, p.283-398, 1998.
- ANTUNES, A.J. **Funcionalidade de proteínas do soro de leite bovino**. São Paulo: Manole, 2003.
- ANJO, D.F.C. Alimentos funcionais em angiologia e cirurgia vascular. **Jornal Vascular Brasileiro, São Paulo**, v.3, n.2, p.145-154, 2004.
- AQUINO, A.C.M.S.; MOES, R.S.; LEÃO, K.M.M. FIGUEREDO, A.V.D.; CASTRO, A.A. Avaliação físico-química e aceitação sensorial de biscoitos tipo cookies elaborados com farinha de resíduo de acerola. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v.69, n.3, p.379-386, 2010.
- ARAYA, H.; LUTZ, M.R. Alimentos funcionales y saludables. **Rev. Chil. Nutr.**, v.30, n.1, p.8-14, 2003.
- ARVANITOYANNIS, I.S.; HOUWELINGEN-KOUKALIAROGLOU, M.V. Functional foods: a survey of health, claim, pros and cons, and current legislation. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.45, p.385-404, 2005.
- ARUN, K.B.; PERSIO, F.; P.S ASWATHY, J.; CHANDRAN, M.S.; SAJEEV, P.; JAYAMURTHY, P.N. Plantain peel – a potencial source of antioxidant dietary fibre for developing functional cookies. **Journal of Food Science and Technology**, v.52, n.10, p.6355-6364, October, 2015.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS DE QUEIJO- ABIQ. As grandes oportunidades do mercado de queijos no Brasil. <<http://www.milkpoint.com.br/industria/radar-tecnico/mercado/as-grandes-oportunidades-do-mercado-de-queijos-no-brasil-93301n.aspx>>
- BALDISSERA, A.C., BETTA, F.D., PENNA, A.L.B., LINDNER, J.D.D. Alimentos funcionais: uma nova fronteira para o desenvolvimento de bebidas protéicas a base de soro de leite. **Semina: Ciências Agrárias**, v.32, n.4, p.1497-1515, 2011.
- BALA, N.; GUL, K.; RIAR, C.S. Functional and sensory properties of cookies prepared from wheat flour supplemented with cassava and water chestnut flours. **Cogent Food & Agriculture**, v.1, n.1, december, 2015.
- BOBBIO, P.A.; BOBBIO, F.O. **Química do processamento de alimentos**. 3. ed., São Paulo: Varela, p. 103-118, 2001.
- BURKERT, J.F.M.; FONSECA, R.A.S.; MORAES, J.O.; SGANZERLA, J.; KALIL, S.J.; BURKERT, C.A.V. Aceitação sensorial de bebidas lácteas potencialmente simbióticas sensory acceptance of potentially symbiotic dairy beverages. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.15, n.4, p.317-324, 2012.

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

_____. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) n. 2, 07 de janeiro de 2002. Aprova o Regulamento Técnico de Substâncias Bioativas e Probióticos Isolados com Alegação de Propriedades Funcionais e ou de Saúde. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 9 jan. 2002.

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

_____. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). Alimentos. Comissões e Grupos de Trabalho. **Comissão Tecnocientífica de Assessoramento em Alimentos Funcionais e Novos Alimentos**. Alimentos com Alegações de Propriedades Funcionais e ou de Saúde, Novos Alimentos/Ingredientes, Substâncias Bioativas e Probióticos. Atualizado em julho de 2008. IX - Lista de alegações de propriedade funcional aprovadas.

_____. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO (MAPA). Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. **Resolução** nº 05, 13 de novembro de 2000. Oficializa os Padrões de Identidade e Qualidade (PIQ) de Leites Fermentados. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 27 nov. 2000, Seção 1, p. 9.

_____. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO (MAPA). Legislação, SISLEGIS: Sistema de Consulta à Legislação. Instrução Normativa n. 16, de 23 de agosto de 2005. Aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Bebidas Lácteas. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 24 ago. 2005, seção 1.

_____. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO (MAPA). Portaria n. 53, de 10 de abril de 2013. Submete à consulta pública, pelo prazo de 30 (trinta) dias, o Projeto de Instrução Normativa e seu Anexo que estabelecem os padrões de identidade e qualidade de soro de leite. **Secretaria de Defesa Agropecuária**, Brasília, DF, 11 abril 2013, seção 1.

CARVALHO, C.M.R.G.; SOUZA, E.C.; MOREIRA-ARAÚJO, MR.S.R. Alimentos funcionais e longevidade. In: ARAÚJO, L.F.; CARVALHO, C.M.R.G.; CARVALHO, V.A.M.L. **A diversidade do envelhecer**: uma abordagem multidisciplinar. Curitiba: CRV, 2009.

CASTELLÓ, E.; GARCÍA Y SANTOS, C.; IGLESIAS, T.; PAOLINO, G.; WENZEL, J.; BORZACCONI, L.; ETCHEBEHERE, C. Feasibility of biohydrogen production from cheese whey using a UASB reactor: Links between microbial community and reactor performance. **International Journal of hydrogen energy**, v.34, p.5674-5682, 2009.

CAETANO, A.C.S.; ARAÚJO, C.R.; LIMA, V.L.A.G.; MACIEL, M.I.S.; MELO, E.A. Evaluation of antioxidant activity of agro-industrial waste of acerola (*Malpighia emarginata* DC) fruit extracts. **Food Science and Technology**, v. 31, n.3, p. 769, 2011.

CETIN, E.S.; ALTINÖZ, D.; TARÇAN, E.; BAYDAR, N.G. Chemical composition of grape canes. **Industrial Crops and Products**, v.34, n.1, p.994-998, 2011.

CHEN, C.C.; WALKER, W.A. Probiotics and prebiotics: role in clinical disease states. **Adv Pediatr.**, v.52, n.1, p.77-113, 2005.

CONTI-SILVA, A.; RONCARI, R. Sensory features and physical-chemical characterization of Brazilian honey Bread with passion fruit peel flour. **Nutrition & Food Science**, v.45, n.4, p.595-605, 2015.

CRAVEIRO, A.C. **Alimentos funcionais: a nova revolução**. Fortaleza: PADETEC, 2003.

DA SILVEIRA, E.O.; NETO, J.H.L.; DA SILVA, L.A.; RAPOSO, A.E.S.; MAGNANI, M.; CARDARELLI, H.R. The effects of inulin combined with oligofructose and goat cheese whey on the physicochemical properties and sensory acceptance of a probiotic chocolate goat dairy beverage. **Food Science and Technology**, v.62, n.1, p.445-451, 2015.

DAMIANI, C.; SILVA, F.A.; RODOVALHO, E.C.; BECKER, F.S.; ASQUIERI, E.R.; OLIVEIRA, R.A.; LAGE, M.E. Aproveitamento de resíduos vegetais para produção de farofa temperada. **Alim. Nutri.**, Araraquara, v.22, n.4, p.657-662, out/dez, 2011.

DESCH, S.; SCHMIDT, J.; KOBLER, D.; SONNABEND, M.; EITEL, I.; SAREBAN, M.; RAHIMI, K.; SCHULER, G.; THIELE, H. Effect of cocoa products on blood pressure: systematic review and meta-analysis. **Am J Hypertens**, v.23, p.97–103. 2010.

DENG, Q.; PENNER, M.H.; ZHAO, Y. Chemical composition of dietary fiber and polyphenols of five different varieties of wine grape pomace skins. **Food Research International**, v.44, p.2712-2720, 2011.

DE QUIRO, A.R.B.; FERNÁNDEZ-ARIAS, M.; LOPEZ-HERNÁNDEZ, J. A screening method for the determination of ascorbic acid in fruit juices and soft drinks. **Food Chemistry**, v.116, n.2, p.509–512, 2009.

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

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

ELBOURNE, D.R.; ALTMAN, D.G.; HIGGINS, J.P.; CURTIN, F.; WORTHINGTON, H.V.; VAIL, A. Meta-analysis involving cross-over trials: methodological issues. **Int J Epidemiol**, v.31, p.140–9, 2002.

EVANGELISTA, J. **Tecnologia de Alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2008.

EMBRAPA. A cultura da acerola. Brasília, DF: Embrapa, 2012.

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

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

FAGUNDES, R.L.M.; COSTA, Y.R. Uso dos alimentos funcionais na alimentação. **Higiene Alimentar**, v.17, n.108, p.42-48, 2003.

FENG, J.; JU, Y.; LIU, J.; ZHANG, H.; CHEN, X. Polyethyleneiminetemplated copper nanoclusters via ascorbic acid reduction approach as ferric ion sensor. **Anal. Biochem.**, 854, 153–160, 2015.

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

FERREIRA, M.S.L.; SANTOS, M.C.P.; MORO, T.M.A.; BASTOS, G.J.; ANDRADE, R.M.S.; GONÇALVES, É.C.B.A. Formulation and characterization of functional foods based on fruit and vegetable residue flour. **Journal Food Science Technology**, v.52, n.2, p.822-830, february, 2015.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF UNITED NATIONS/ WORLD HEALTH ORGANIZATION – FAO/WHO. **Evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food powder milk with live lactic acid bacteria**, Cordoba, 2002.

GOUVEIA, L.; EMPIS, J. Relative stabilities of microalgal carotenoids in microalgal extracts, biomass and fish feed: effect of storage conditions. **Innov Food Sci Emerging Technol**, v.4, p.227–233, 2003.

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

GOMES, A.A.; BRAGA, S.P.; CRUZ, A.G.; CADENA, R.S.; LOLLO, P.C.B.; CARVALHO, C.; AMAYA-FARFÁN, J.; FARIA, J.A.F.; BOLINI, H.M.A. Effect of the inoculation level of *Lactobacillus acidophilus* in probiotic cheese on the physicochemical features and sensory performance compared with commercial cheeses. **Journal of Dairy Science**, v.94, n.10, p.4777-4786, october, 2011.

GUERREIRO, J.R.L.; KAMEL, A.H.; SALES, M.G.F. FIA potentiometric system based on periodate polymeric membrane sensors for the assessment of ascorbic acid in commercial drinks. **Food Chemistry**, v.120, n.3, p.934–939, 2010.

HASHEMI, M.; GHEISARI, H.R.; SHEKARFOROUSH, S. Preparation and evaluation of low calorie functional ice cream containing inulin, lactose and *Bifidobacterium lactis*. **International Journal of Dairy Technology**, v.68, n. 2, p.183-189, 2015.

HERNÁNDEZ-LEDESMA, B.; RAMOS, M.; GOMES-RUIZ, J.A. Bioactive components of ovine and caprine chesse whey. **Small Ruminant Research**, v.101, p.196-204, 2011.

HOLLMAN, P.C.H.; ARTS, I.C.W. Flavonols, flavones and flavanols – nature, occurrence and dietary burden. **J Sci Food Agric**, v.80, p.1081–93, 2000.

HOOPER, L.; KROON, P.A.; RIMM, E.B.; COHN, J.S.; HARVEY, I.; LE CORNU, K.A.; RYDER, J.J.; HALL, W.L.; CASSIDY, A. Flavonoids, flavonoid-rich foods, and cardiovascular risk: a meta-analysis of randomized controlled trials. **Am J Clin Nutr**, v.88, p.38–50, 2008.

INSTITUTO BRASILEIRO DE BRUTAS – IBRAF. **Panorama da cadeia produtiva de frutas 2012 e projeções para 2013**. Brasil, 2013.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. Produção de leite cresce 2,7% em 2014; Sul torna-se maior região produtora. Disponível em: <<http://www.milkpoint.com.br/cadeia-do-leite/giro-lacteo/ibge-producao-de-leite-cresceu-27-em-2014-sul-tornouse-a-maior-regiao-produtora-97326n.aspx>>.

JACOBS, D.R.; GROSS, M.D.; TAPSELL, L.C. Food synergy: na operational concept for understanding nutrition. *Journal Clinical Nutritional*, v.89, n.5, p.15435-15485, 2009.

JUANJUAN, L.; YONGLEI, C.; WEIFENG, W.; JIE, F.; MEIJUAN, L.; SUDAI, M.; XING-GUO, C. “Switch-on” fluorescent sensing of ascorbic acid in food samples based on carbon quantum dots- MnO₂ probe. **Journal of Food Chemistry**, v.64, p.371-380, 2016.

KARNOPP, A.R.; FIGUEROA, A.M.; LOS, P.R.; TELES, J.C.; SIMOES, D.R.S.; BARANA, A.C.; KUBIAKI, F.T.; DE OLIVEIRA, J.G.B.; GRANATO, D. Effects of whole-wheat flour and Bordeaux grape pomace (*Vitis labrusca* L.) on the sensory, physicochemical and functional properties of cookies. **Food Science and Tecnology**, v.35, n.4, p.750-756, oct./dec, 2015.

KIOKIAS, S.; GORDON, M. Antioxidant properties of carotenoids in vitro and in vivo. **Food Reviews International**, v.20, p.99-121, 2004.

_____; OREOPOULOU, V. Antioxidant properties of natural carotenoid extracts against the AAPH-initiated oxidation of food emulsions. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v.7, p.132-139, 2006.

_____; VARZAKAS, T.; OREOPOULOU, V. In vitro activity of vitamins, flavonoids, and natural phenolic antioxidants against the oxidative deterioration of oil-based systems. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.48, p.78-93, 2008.

KING, A.; YOUNG, G. Characteristics and occurrence of phenolic phytochemicals. **J Am Diet Assoc**, v.50, n.2, p.213-8, 1999.

KOMATSU, T.R.; BURITI, F.C.A.; SAAD, S.M.I. Inovação, persistência e criatividade superando barreiras no desenvolvimento de alimentos probióticos. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.44, n.3, 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. **Alimentos e Nutrição**, v.19, n.1, p.43-53, 2008.

LACHMAN, J.; HEJTMÁNKOVA, A.; HEJTMÁNKOVA, K.; HORNICKOVA, S., PIVEC, V.; SKALA, O.; DEDINA, M.; PRIBYL, J. Towards complex utilisation of winemaking residues: Characterisation of grape seeds by total phenols, tocopherols and essential elements content as a by-product of winemaking. **Industrial Crops and Products**, v.49, p.445-453, 2013.

LIU, R.H. Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention: mechanism of action. **J Nutr**, v.134, p.3479-3485, 2004.

_____. Health benefits of phytochemicals in whole foods. In: TEMPLE, N.J.; WILSON, T.; JACOBS JR. D.R., editors. Nutritional health: strategies for disease prevention. **Nutrition and Health**, 3^a Ed. New York: Humane Press, p.293-310, 2012.

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

MALDONADE, I. R. **Produção de carotenóides por leveduras**. Dissertação de Mestrado- Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, São Paulo, 2003.

MANNIG, T.S.; GIBSON, G.R. Microbial-gut interactions in health and disease. Prebiotics. **Best Practice Research Clinical Gastroenterology**, v.18, n.2, p.287-298, 2004.

MARQUES, T.R.; CORRÊA, A.D.; LINO, J.B.; ABREU, C.M. PATTO; SIMÃO, A.A. Chemical constituents and technological functional properties of acerola (*Malpighia emarginata* DC.) waste flour. **Food Science and Technology**, Campinas, v.33, n.3, p.526-531, July/sept, 2013.

MERCALI, Giovana Domeneghini; JAESCHKE, Débora Pez; TESSARO, Isabel Cristina; MARCZAK, Ligia damascene Ferreira. Study of vitamin C degradation in acerola pulp during ohmic and conventional heat treatment. **Food Science and Technology**. v.47, p. 91-95, 2012.

MIN, B.; LEE, S.M.; YOO, S.; INGLETT, G.E.; LEE, S. Functional characterization of steam jet-cooked buck-wheat flour as a fat replacer in cake-baking. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.90, n. 13, p.2208-2213, 2010.

MOGHADAM, M. R.; DADFARNIA, S.; SHABANI, A.M.; SHAHBAZIKHAH, P. Chemometric-assisted kinetic-spectrophotometric method for simultaneous determination of ascorbic acid, uric acid, and dopamine. **Anal. Biochem.**, v.410, p.289-295, 2011.

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

MORALES, P.; BARROS, L.; DIAS, M.I.; SANTOS-BUELGA, C.; FERREIRA, I.C.F.R.; ASQUIERI, E.R.; BERRIOS, J..J. Non-fermented and fermented jaboticaba (*Myrciaria cauliflora* Mart) pomaces as valuable sources of functional ingredients. **Food Chemistry**, v.208, p.220-227, october, 2016.

NACZK, M.; SHAHIDI, F. Extraction and analysis of phenolics in food. **J Chromatography**, v.1054, n.1/2, p.95-111, 2004.

Nighswonger, B. D.; Brashears, M. M.; Gilliland, S. E. Viability of *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei* in fermented milk products during refrigerated storage. **Journal of Dairy Science**, v.79, p.212–219, 1996.

NÓBREGA, E.M.; OLIVEIRA, E.L.; GENOVESE, M.I.; CORREIA, R.T.P. The impact of hot air drying on the physical-chemical characteristics, bioactive compounds and antioxidant activity of acerola (*Malpighia emarginata*) reduce. **Journal of Food Processing and Preservation**. v.39, 2014.

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

OLIVEIRA, D.S.; AQUINO, P.P.; RIBEIRO, S.M.; PROENÇA, R. P.; PINHEIRO-SANT'ANA, H.M.P. Vitamina C, carotenóides, fenólicos totais e atividade antioxidante de goiaba, manga e mamão procedentes da Ceasa do Estado de Minas Gerais. **Acta Scientiarum: Health Sciences**. v.33, n.1, p.89-98, 2011.

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

PANDURANG, M.; SACHIN, K.S.; SHALINI, S.A. Effect of flaxseed flour addition on physicochemical and sensory properties of functional bread. **Food Science and Technology**, v.58, p.614-619, 2014.

PIOVESANA, Alessandra; BUENO, Micheli Maria; KLAJN, Vera Maria. Elaboração e aceitabilidade de biscoitos enriquecidos com aveia e farinha de bagaço de uva. **Braslian Journal Food Technology**. v.16, n.1, p.68-72, 2013.

PIMENTAL, C.V.M.B.; FRANCKI, V.M.; GOLLÜCKE, A.P.B. **Alimentos funcionais: introdução às principais substâncias bioativas em alimentos**. São Paulo: Varela, 2005.

QUEIROZ, M.S.R.; JANEIRO, D.I.; CUNHA, M.A.L.; MADEIROS, J.S.; SABAASUR, A.U.; DINIZ, M.F. Effect the yellow passion fruit peel flour (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* deg.) in insulin sensitivity in type 2 diabetes mellitus patients. **Nutr. J**, v.11, n.89, p.3-7, 2012.

RAO, A. V.; RAO, L. G. Carotenoids and human health. **Pharmacological Research**, v.55, p.207–216, 2007.

RAMOS, A.C.S. de M.; STAMFORD, T.L.M.; MACHADO, E.C.L.; LIMA, F.R.B.; GARCIA, E.F.; ANDRADE, S.A.C.; SILVA, C.G.M.S. Elaboração de bebidas lácteas fermentadas:

aceitabilidade e viabilidade de culturas probióticas. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.34, n.6, p.2817-2828, nov./dez., 2013.

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

REISCHE, D.W.; LILLARD, D.A.; EITENMILLER, R.R. Antioxidants. In: Akoh, C.; Min, D. (Eds.), **Food lipid chemistry, nutrition and biotechnology**, v.23, p. 489-502, 2002.

RITZINGER, R.; RITZINGER, C.H.S.P. Acerola. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte. v.32, n.264, p.17-25, set./out, 2011.

RICHARDS, N.S.P.S. Soro lácteo: perspectivas industriais e proteção ao meio ambiente. **Food Ingredients**, v.3, n.17, p.20-27, 2002.

ROSSO, V.; HILLEBRANDS, S.; MONTILLAB, E.; BOBBIO, F.; WINTERHALTERB, P.; MERCADANTE, A. Determination of anthocyanins from acerola (*Malpighia emarginata* DC.) and açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) by HPLC-PDA-MS/MS. **Journal Compost. Anal.** v.21, p.291-299, 2008.

RODRIGUEZ-AMAYA, D.B.; KIMURA, M.; AMAYA-FARFAN, J. **Fontes brasileiras de carotenóides – Tabela brasileira de composição de carotenóides em alimentos**, Ministério do Meio Ambiente, 2008.

SAAD, N.; DELATTRE, C.; URDACI, M.; SCHMITTRE, J.M.; BRESSOLLIER, P. An overview of last advances in probiotic and prebiotic field. **Food Science and Technology**, v.50, p.1-16, 2013.

SAGDIC, O.; OZ TURK, I.; CANKURT, H.; TORNUK, F. Interaction between some phenolic compounds and probiotic bacterium in functional ice cream production. **Food and Bioprocess Technology**, v.5, n.8, p.2964-2971, 2012.

SADAGHDAR, Y.; MORTAZAVION, A.; EHSANI, M. Survival activity of 5 probiotics lactobacilli strains in 2 types of flavored fermented Milk. **Food Science and Biotechnology**, v.21, n.1, p.151-157, 2012.

SANMARTÍN, B.; DÍAZ, O.; RODRÍGUEZ-TURIENZO, L.; COBOS, A. Composition of caprine whey protein concentrates produced by membrane technology after clarification of cheese whey. **Small Ruminant Research**. v.105, p.186-192, 2011.

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

SILVA, A.S.; HONJOYA, E.R.; INAY, O.M.; COSTA, C.H.B.S.; SANTANA, E.H.W.; SUGUIMATO, H.H.; ARAGON-ALEGRO, L.C. Viability of *Lactobacillus casei* in chocolate flan and its survival to simulated gastrointestinal conditions. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.33, suplemento 2, p.3163-3170, 2012.

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

SHAHIDI, F.; NACZK, M. Food phenolics: sources, chemistry, effects and applications. **Lancaster**: Technomic, 1995.

_____; JANITHA, P.K.; WANASUNDARA, P.D. Phenolic antioxidants. **Crit Rev Food Sci Nutr**, v.32, n.1, p.67-103, 1992.

SHAHABBASPOUR, A.M.M.; POURAHMAD, R.; MOGHIMI, A.; SOHRABVANDI, S. The effects of ratio of cow's milk to soymilk, probiotic strain and fruit concentrate on qualitative aspects of probiotics flavoured fermented drinks. **International Journal of Dairy Technology**, v.66, n.1, p.135-144, february, 2013.

SHRIME, M.G. ; BAUER, S.R. ; MCDONALD, A.C. ; CHOWDHURY, N.H.; COLTART, C.E.M.; DING, E.L. **The Journal of Nutrition**, v.141, n.11, p.1982-1987, nov, 2011.

SOUZA, M.S.B.; VIEIRA, L.M.; SILVA, M.J.M.; LIMA, A. Caracterização nutricional e compostos antioxidantes em resíduos de polpas de frutas tropicais. **Revista Ciência Agrária**, Lavras, v.35, p. 554-559, maio/jun., 2011.

STEFE, C.A.; ALVES, M.A.R.; RIBEIRO, R.L. **Probióticos, prebióticos e simbióticos – Artigo de Revisão**. Revista Saúde e Ambiente, v. 3, n. 1, p. 16-36, 2008.

STENSSON, M.; ROCH, G.; CORIC, S.; ABRAHAMSSON, T.R.; JENMAL, M.C.; BIRKHED, D.; WENDT, L.K. Oral administration of *Lactobacillus reuteri* during the first year of life reduces caries prevalence in the primary dentition at 9 years of age. **Caries Res.**, v.48,n.2, p.111-117, 2014.

TAUBERT, D.; ROESEN, R.; SCHONIG, E. Effect of cocoa and tea intake on blood pressure: a meta-analysis. **Arch Intern Med**, v.167, p.626–34, 2007.

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.589-595, 2006.

VIEIRA, X.A.C.P.; CORNÉLIO, A.R.; SALGADO, J.M. Alimentos funcionais: aspectos relevantes para o consumidor. **Jus. Nagigandi**, Teresina, ano 10, n.1123, p.29, jul., 2006).

VULEVIC, J.; JURIC, A.; WALTON, G.E.; CLOUS, S.P.; TZORTZIS, G.; TOWARD, R.E.; GIBSON, G.R. Influence of galacto-oligosaccharide mixture (B-GOS) on gut microbiota, immune parameters and metabolomics in elderly persons. **British Journal of Nutrition**, v.114, n.4, p.586-595, 2015.

WANG, L.; ZHANG, J.; GUO, Z.; KWOK, L.; MA, C.; ZHANG, W.; LU, Q.; HUANG, W.;ZHANG, H. Effect of oral consumption of probiotic *Lactobacillus planetarium* P-8 on fecal microbiota, sIgA, SCFAs, and TBAs of adults of different ages. **Nutrition**, v.30, p.776-783, 2014.

WEN, D.; GUO, S.; DONG, S.; WANG, E. Ultrathin Pd nanowire as a highly active electrode material for sensitive and selective detection of ascorbic acid. **Biosens. Bioelectron**, v.26, p.1056–1061, 2010.

YANGILAR, F. Effects of green banana flour on the physical, chemical and sensory properties of ice cream. **Food Technology and Biotechnology**, v.53, n.3, p.315-323, 2015.

ZING, J.; WANG, C.; ZHANG, F.; QI, F.; WANG, S.; MA, S.; WEI, T.; TIAN, H.; TIAN, Z.; ZHANG, S.; QU, Y.; LIU-YI, L.; YUAN-ZHONG, CUI, S.; ZHAO, H.; DU, Q.; MA, Z.; LI, C.; LI, Y.; SI, M.; CHU, Y.; MING, M.; REN, H.; ZHANG, J.; JIANG, J.; DING, M.; WANG, Y. Effect of probiotics on the incidence of ventilator-associated pneumonia in critically patients: a randomized controlled multicenter trial. **Intensive Care Medicine**, v.42, n.6, p.1018-1028, 2016.

ÇAKMAKÇI, S.; TOPDAS, E.F.; KALIN, P.; HON, H.; SEKERCİ, P.; KÖSE, L.P.; GÜLÇİN, İ. Antioxidant capacity and functionality of oleaster (*Elaragnus angustifolia* L.) flour and crust in a new kind of fruit ice cream. **International Journal of Food Science and Technology**, v.50, p.472-481, 2015.

RESULTADOS

5. RESULTADOS

5.1 Artigo 1: Bebida láctea fermentada com culturas probióticas enriquecida com farinha de resíduo de acerola (*Malpighia emarginata*): avaliação sensorial, físico-química, fitoquímica e sensorial

Resumo

O Objetivo desta foi pesquisa desenvolver formulações de bebida láctea fermentada, sabor acerola, à base de soro lácteo, com culturas probióticas e adição de farinha do resíduo do processamento da acerola, visando à seleção de uma formulação final e, por conseguinte sua caracterização físico-química, fitoquímica, e estabilidade durante o armazenamento (0, 14 e 28 dias) assim como, determinar a composição físico-química e fitoquímica da farinha. As bebidas lácteas foram desenvolvidas a partir de um planejamento fatorial 2^2 , utilizando proporções de 20, 30 e 40% de soro lácteo e 1, 2 e 3% de farinha, com a finalidade de avaliar a influência desses ingredientes sobre os atributos sensoriais e intenção de compra. As análises demonstraram elevados valores de fibras dietéticas e compostos ação antioxidante na farinha de resíduo de acerola. A formulação com 30% de soro lácteo e 2% de farinha foi selecionada por obter notas numericamente maiores nos atributos sensoriais avaliados e índice de aceitabilidade. O produto apresentou características físico-químicas adequadas e elevado valor nutricional, principalmente no que se refere ao teor de fibras dietéticas, teor de ácido ascórbico e compostos fenólicos. Apresentou também boa estabilidade quanto ao pH e acidez no entanto e contagem de bactérias lácticas totais ($7,53 \text{ Log}_{10} \text{ UFC/mL}$) porém, não atendeu a quantidade mínima estabelecida pela legislação para ser considerado um produto com alegação probiótica. Portanto, observa-se a necessidade de continuidade deste estudo com vistas a aprimorar as condições experimentais e obter um produto com características funcionais satisfatórias.

Palavras-chave: Acerola; resíduos agroindustriais; soro de leite; farinha; bebida láctea fermentada.

ABSTRACT

The objective of this research was to develop a fermented milk drink formulations, cherry flavor, the whey base, probiotic cultures and adding flour processing waste acerola, in order to select a final formulation and therefore its physicochemical characterization chemistry, phytochemistry, and stability during storage (0, 14 and 28 days) as well as to determine the physical-chemical and phytochemical flour. The dairy beverages have been developed from a factorial design 2^2 using ratios of 20, 30 and 40% whey and 1, 2 and 3% flour in order to evaluate the effect of these ingredients on the sensory attributes and intent buying. The analysis showed high levels of dietary fiber and composite antioxidant in acerola residue flour. The formulation with 30% whey and 2% flour was selected to obtain numerically highest scores in the sensory attributes evaluated and acceptability index. The product had adequate physical and chemical characteristics and high nutritional value, especially as regards the content of dietary fiber, ascorbic acid and phenolic compounds. He also displayed good stability for pH and acidity however and counting of total lactic acid bacteria ($7.53 \log_{10}$ CFU / ml) but did not meet the minimum amount established by the legislation to be considered a product with probiotic claim. Therefore, there is a need to continue this study in order to enhance the experimental conditions and obtain a product with satisfactory functional properties.

Keywords: Acerola; agroindustrial waste; whey; flour; fermented milk drink.

1. INTRODUÇÃO

A acerola (*Malpighia emarginata*) é uma fruta bastante atrativa pelo seu sabor agradável e pelo seu reconhecido valor nutricional, destacando-se o elevado teor de ácido ascórbico (EMBRAPA, 2010; RITZINGER, RITZINGER, 2011). Habitualmente, a acerola é comercializada na forma de polpa e suco integral ou pasteurizado. Porém, os subprodutos decorrentes deste processamento, constituídos por uma mistura heterogênea de cascas e sementes, são resíduos orgânicos, que devem ser tratados adequadamente. Como esse volume representa inúmeras toneladas, agregar valor a estes subprodutos é de grande interesse, visto que, o uso desses resíduos pode apresentar uma solução viável para o enriquecimento da alimentação humana, além de proporcionar um destino adequado aos mesmos, reduzindo as perdas de matérias-primas e da poluição ambiental (EVANGELISTA, 2008; EMBRAPA, 2010; RITZINGER; RITZINGER, 2011; MARQUES *et al.*, 2013; NÓBREGA *et al.*, 2014).

De acordo com Marques *et al.* (2013), uma alternativa para o aproveitamento dos subprodutos vegetais é a transformação dessa matéria-prima em farinhas, que além de possuírem diversos componentes, tais como fibras, vitaminas e compostos bioativos, apresentam efeitos benéficos à saúde, boa conservação e diferentes propriedades químicas e físicas (CAETANO *et al.*, 2011), o que permite uma ampla aplicação como ingrediente na produção de diferentes produtos, tais como: pães, bolos, biscoitos, sorvetes, entre outros (MIN *et al.*, 2010; PANDURANG, SACHIN; SHALINI, 2014; ARUN *et al.*, 2015; YANGILAR, 2015).

Outro resíduo agroindustrial com elevado valor nutritivo e potente poluidor ambiental é o soro lácteo, resíduo oriundo das indústrias de laticínios, gerado a partir da coagulação do leite durante a produção de queijos e separação da caseína (BRASIL, 2013). As características nutricionais apresentadas pelo soro lácteo vêm estimulando o desenvolvimento de estratégias que viabilizem a sua inserção na alimentação, dentre elas destaca-se o desenvolvimento de bebidas lácteas fermentadas.

Entende-se por bebida láctea fermentada o produto lácteo resultante da mistura de leite e soro de leite, acrescido ou não de produtos ou substâncias alimentícias e outros lácteos, cuja base láctea represente pelo menos 51% (m/m) do total de ingredientes do produto. A fermentação ocorre mediante cultivos de microrganismos específicos e/ou adicionado leite(s) fermentado(s) e que não poderá ser submetido a tratamento térmico

após a fermentação. A contagem total de bactérias lácteas viáveis deve ser de no mínimo 10^6 UFC/porção, no produto final, para o(s) cultivo(s) específico(s) empregado(s) durante todo o prazo de validade (BRASIL, 2005).

Para atender a crescente procura dos consumidores por alimentos saudáveis e que atuem na prevenção de doenças, os chamados alimentos com alegação funcional, as bebidas lácteas fermentadas com adição de culturas probióticas vêm se destacando ao longo dos anos, visto os diversos efeitos positivos sobre a saúde que podem advir do seu consumo regular (NIGHSWONGER; BRASHEARS; GILLILAND, 1996; OLIVEIRA; SODINI; REMEUF, 2001; THAMER; PENNA, 2006; KRÜGER *et al.*, 2008; GOMES; PENNA, 2009; BURKERT *et al.*, 2012; RAMOS *et al.*, 2013).

Os probióticos são definidos como microrganismos vivos, que se administrado em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde do hospedeiro, tais como: equilíbrio bacteriano intestinal, inibição da multiplicação de patógenos, melhoria dos níveis de colesterol e amônia no sangue, redução da constipação e diarreia, redução do risco de desenvolvimento de câncer, aumento da absorção de minerais e digestão da lactose em indivíduos com intolerância a esse dissacarídeo (SAAD *et al.*, 2013). A legislação brasileira vigente estabelece que a quantidade mínima de bactérias viáveis deve estar situada entre 10^8 e 10^9 UFC (Unidades Formadoras de Colônias) na porção diária do produto para consumo para que o microrganismo possa exercer a sua ação probiótica (BRASIL, 2002; BRASIL, 2008).

Diante do exposto, o objetivo desta pesquisa foi o desenvolvimento de bebida láctea fermentada, sabor acerola, desenvolvida com soro lácteo e adição de culturas probióticas e farinha de resíduo do processamento da acerola, como fonte de fibras dietéticas e compostos antioxidantes, proporcionando um produto com potencial ação funcional.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Obtenção da farinha de resíduo de acerola

Os frutos foram adquiridos no mês de março de 2015 junto a Central de Abastecimento do Estado de Pernambuco (CEASA) e imediatamente conduzidos, em

caixa isotérmica, para o Laboratório de Processamento de Alimentos do departamento de Ciências Domésticas da Universidade Federal Rural de Pernambuco (CDC/UFRPE). Ao chegar no laboratório, foram selecionados, manualmente, com a finalidade de retirar pedaços de galhos, folhas, frutos estragados, e classificados quanto aos estágios de maturação, os frutos com mais que 75% da casca com coloração vermelha foram utilizados para esse estudo.

Após a classificação, os frutos passaram por uma pré-lavagem com água potável para retirada das impurezas macroscópicas. E, em seguida, sanitizados por imersão em uma solução de hipoclorito de sódio 2,5% de cloro ativo por 30 minutos e, então, novamente lavados com água potável para retirada do cloro.

Posteriormente, os frutos foram submetidos ao processo de despoldamento em despoldadeira com bobina compacta. A polpa de acerola foi pasteurizada em banho térmico (TE-184 Tecnal) a 85°C durante 5 minutos, armazenadas em sacos de polietileno com baixa densidade, fechados hermeticamente, e congeladas a -22°C e o resíduo obtido (sementes e cascas) (Figura 3A) armazenado em sacos de polietileno com baixa densidade, fechados hermeticamente, e congelados a -22°C para posterior secagem.

Para o processo de secagem, o resíduo distribuído em bandejas de aço inoxidável dispostas em um secador de cabine com circulação de ar forçada a 45°C até umidade inferior a 10% (aproximadamente 10 horas). O resíduo desidratado (Figura 3B) foi resfriado em temperatura ambiente e triturado em moinho de facas (Multi-uso TE-631-2 da TECNAL) a uma velocidade de 8.000 rpm por 90 segundos.

A farinha de resíduo de acerola (FRA) foi peneirada (Figura 3C), para homogeneizar o tamanho das partículas, com auxílio de uma peneira de aço inoxidável de 80 mesh, acondicionadas em sacos de polietileno de baixa densidade, fechados hermeticamente, os quais foram envoltos com papel alumínio para proteger a farinha da exposição à luz, evitando perdas de seus componentes.

Figura 2 – Processo de secagem do resíduo de acerola.



A) Resíduo de acerola úmido; B) Resíduo de acerola desidratado; C) Farinha de resíduo de acerola.

2.2 Planejamento experimental

Para elaboração das formulações de bebidas lácteas fermentadas sabor acerola foi utilizada a metodologia de superfície de resposta com a finalidade de avaliar a influência do percentual de soro de leite e farinha de resíduo de acerola sobre os atributos sensoriais aroma, cor, consistência, sabor e avaliação global, como também sobre a intenção de compra. Os ensaios experimentais foram realizados de acordo com o planejamento fatorial de 2^2 completo, com 4 pontos fatoriais (níveis + 1 e -1) e 3 pontos centrais (nível 0), totalizando 7 ensaios. Os dados obtidos foram ajustados ao seguinte polinômio:

$$Y\phi(SL, FA) \equiv \beta_0 + \beta_1 SL + \beta_2 FA + \beta_{12} SLFA \quad (\text{Equação 1})$$

Em que β_n são os coeficientes de regressão, y é a resposta em questão (atributos sensoriais e intenção de compra) e SL e FA são as variáveis codificadas (% soro de leite % farinha de resíduo de acerola, respectivamente). A tabela 4 apresenta as variáveis independentes codificadas e decodificadas:

Tabela 4 - Planejamento fatorial 2² das formulações de bebida láctea fermentada, sabor acerola, à base de soro lácteo com culturas probióticas e farinha de resíduo de acerola.

Ensaio	Soro Lácteo (%)	Farinha e resíduo de acerola (%)
B1	20 (-1)	1 (-1)
B2	40 (1)	1 (-1)
B3	20 (-1)	3 (1)
B4	40 (1)	3 (1)
B5	30(0)	2 (0)
B6	30(0)	2 (0)
B7	30(0)	2 (0)

2.3 Formulação das bebidas lácteas fermentadas

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

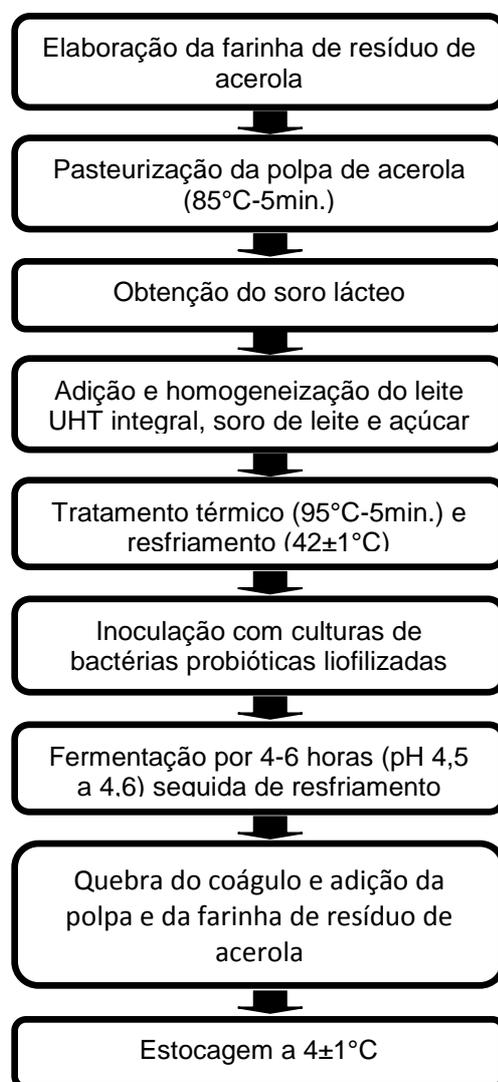
Foram elaboradas 7 formulações (ensaios) de bebida láctea fermentada. A preparação foi realizada em duas etapas: 1) Obtenção do soro lácteo e polpa de acerola e 2) Preparo das bebidas lácteas fermentadas sabor acerola.

O soro lácteo foi obtido utilizando-se leite pasteurizado com 3% de gordura e coagulante líquido HA-LA, de acordo com metodologia para elaboração de queijo (FURTADO; NETO, 1994).

O preparo das bebidas lácteas fermentadas teve início com a adição do leite UHT integral, o soro lácteo e o açúcar 10% (v/v), com posterior homogeneização e pasteurização em banho térmico a 95°C por 5 minutos, seguindo de resfriamento a 42±1°C em banho de água. Em seguida foi realizada a inoculação das culturas de bactérias probióticas liofilizadas Bio Rich® (*Lactobacillus acidophilus* LA-5® (1 x 10⁶ UFC/g), *Bifidobacterium* BB-12® (1 x 10⁶ UFC/g) e *Staphilococcus thermophilus*) de acordo com a recomendação do fabricante (1 envelope para cada litro de leite). A fermentação ocorreu em estufa a 42±1°C por 4 a 6 horas, até atingir pH entre 4,5 e 4,7, após esse período as bebidas foram resfriadas a aproximadamente 4°C, seguidas das etapas de quebra de coágulo, adição da

polpa de acerola 20% (v/v), da farinha de resíduo de acerola e homogeneização (Figura 4). As bebidas elaboradas foram mantidas sob refrigeração ($4\pm 1^{\circ}\text{C}$) para posteriores análises.

Figura 3 - Fluxograma das etapas de elaboração das bebidas lácteas fermentadas, sabor acerola, com culturas probióticas e farinha de resíduo de acerola.



2.4 Análise sensorial

A presente pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa envolvendo seres humanos do Centro de Ciências da Saúde da Universidade de Pernambuco (CEP/CCS/UPE N° 51125615.8.0000.5207) (Anexo 1) e o termo de consentimento foi assinado por todos os participantes (Anexo 2).

As formulações foram submetidas ao teste de aceitação e intenção de compra em cabines individualizadas e ambiente climatizado no Laboratório de Análise Sensorial do Departamento de Ciências Domésticas/ Universidade Federal Rural de Pernambuco (DCD/UFRPE).

A análise sensorial foi realizada com 104 julgadores (78 mulheres e 26 homens) não treinados e recrutados entre visitantes, alunos e funcionários da UFRPE, com idades entre 18 e 60 anos. Cada julgador avaliou as sete formulações de bebidas lácteas fermentadas, monadicamente, usando uma Ficha de Análise Sensorial (Anexo 3). Para o teste de aceitação foi utilizada escala de 9 pontos para avaliar 5 atributos (cor, sabor, aroma, consistência, avaliação global), sendo 9 “gostei extremamente” e 1 “desgostei extremamente”. Para o teste de intenção de compra a escala hedônica foi de 5 pontos, onde 5 representou “certamente compraria” e 1 “jamais compraria”.

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

Calculou-se o índice de aceitabilidade (IA) para cada um dos atributos avaliados de acordo com Teixeira *et al.* (1987).

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

Onde:

Y = nota média obtida para o produto

Z= Nota máxima obtida

Foi considerada aceita a formulação que obtiver escores médios iguais ou superiores a 6,0 (equivalente ao termo hedônico "gostei ligeiramente") (ROCHA; CARDOSO, 2009) e IA igual ou superior a 70% (TEIXEIRA *et al.*, 1987).

2.5 Análises físico-químicas

A farinha de resíduo de acerola, a bebida láctea selecionada, através da análise sensorial, e uma amostra de bebida láctea sabor acerola sem adição de farinha foram submetidas às análises físico-químicas para a determinação do pH, acidez titulável, atividade de água, umidade, sólidos solúveis totais (STT), resíduo mineral fixo (cinzas), extrato etéreo (lipídios), proteínas totais, glicídios redutores em glicose e em lactose, glicídios não redutores em sacarose, fibras alimentar total, ácido ascórbico (vitamina C) e valor calórico. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

pH

A determinação de pH foi realizada em potenciômetro digital (Tecnal - Tec -3MP), previamente calibrado, com soluções tampão de pH 7,0 e pH 4,0, operado de acordo com as instruções do fabricante. Para a análise da farinha de resíduos foi utilizado 10 g da amostra, a qual foi diluída em 100 mL de água destilada. A amostra foi centrifugada (modelo CT-6000R) a uma velocidade de 3.000 rpm por 10 minutos. Para a análise das bebidas lácteas foram utilizadas alíquotas de 10 mL de cada amostra, as quais também foram diluídas em 100 mL de água destilada.

Acidez titulável

A acidez titulável foi realizada mediante titulação com solução de hidróxido de sódio 0,1 N na presença da fenolftaleína como indicador. Para a análise, foram utilizadas alíquotas de 10 mL de cada amostra de bebida láctea, as quais foram diluídas em 100 mL de água destilada. Os resultados foram expressos em g/100 mL de ácido láctico (AOAC, 2002).

A análise para determinar a acidez titulável da farinha de resíduo foi realizada pelo método de volumetria potenciométrica por se tratar uma solução fortemente colorida. O

método baseia-se na titulação da amostra com solução de hidróxido de sódio onde o ponto de equivalência é determinado pela medida do pH da solução (até atingir o pH 8,2-8,4). Para a análise, foi utilizado uma alíquota de 5 g da amostra, a qual foi diluída em 100 mL de água destilada. A amostra foi centrifugada (centrifuga digital microprocessada refrigerada modelo CT-6000R) a uma velocidade de 3.000 rpm por 10 minutos. Os resultados foram expressos em g/100 g de ácido málico (AOAC, 2002).

Atividade de atividade de água (Aw)

A determinação da atividade de água foi realizada utilizando o analisador de atividade de água por ponto de orvalho (AQUA LAB 4TE do modelo Decagon Devices).

Umidade

A determinação da umidade foi realizada por leitura direta utilizando balança com aquecedor por infravermelho (modelo Marti ID 50), a 105°C por 30 minutos. Os resultados foram expressos em percentual de umidade.

Sólidos solúveis totais (STT)

A determinação dos sólidos solúveis totais foi realizada utilizando o refratômetro (modelo Reichert r²i 300), devidamente calibrado com água destilada. Os resultados foram expressos em °Brix.

Resíduo mineral fixo (cinzas)

O teor de resíduo mineral fixo ou cinzas, foi determinado utilizando o método de incineração, com a finalidade de promover a combustão da matéria orgânica. As cápsulas foram pré-aquecidas em estufa a 105°C durante uma hora, resfriadas em dessecador e pesadas. Após a pesagem foram acrescentadas, para análise da farinha de resíduo, uma alíquota de 2 g da amostra e para a análise das bebidas lácteas, alíquotas de 2 mL de cada amostra. As cápsulas foram levadas para chapas aquecedoras até carbonização das amostras. Após a carbonização, foram levadas ao forno mufla (modelo EDGCON1 P700), a 550 °C por 6 horas. Após as 6 horas, para em seguida serem resfriadas em dessecador e pesadas. O procedimento foi repetido até a obtenção de peso constante (AOAC, 2002). Os resultados da farinha de resíduos foram expressos em g/100 g e os resultados das bebidas lácteas em g/100 mL.

Extrato etéreo (lipídios)

O teor de extrato etéreo ou lipídios, foi determinado pela extração da fração lipídica em aparelho extrator tipo Soxhlet. Utilizou-se para a análise da farinha de resíduo uma alíquota de 2 g da amostra e para a análise das bebidas lácteas alíquotas de 2 mL de cada amostra em cartucho de Soxhlet, utilizando como solvente extrator o éter etílico. A amostra foi mantida sob aquecimento em chapa elétrica, a extração continua por 6 horas. Decorridas as 6 horas, O extrato etéreo foi recuperado em balão de fundo chato (previamente aquecido por uma hora em estufa a 105°C, resfriado em dessecador até temperatura ambiente e peso) e pesados. O procedimento foi repetido até a obtenção de peso constante (AOAC, 2002). Os resultados da farinha de resíduos foram expressos em g/100 g e os resultados das bebidas lácteas em g/100 mL.

Proteínas totais

As proteínas totais foram determinadas pelo método de Kjeldahl, realizada em três etapas: digestão, destilação e titulação. Foi utilizado o método de Kjeldahl, o qual se baseia na decomposição da matéria orgânica por combustão úmida através de aquecimento (400°C) com ácido sulfúrico concentrado na presença de catalisador (dióxido de selênio, sulfato de cobre e sulfato de potássio (1:10:100)). O nitrogênio presente na solução ácida resultante foi determinado por destilação por arraste de vapor, seguida de titulação com ácido clorídrico. Para a análise da farinha de resíduo foi utilizada uma alíquota de 0,5 g da amostra e para a análise das bebidas lácteas foram utilizadas alíquotas de 2 mL de cada amostra. Para calcular o resultado, foi utilizado o fator de conversão de nitrogênio total em proteína, para o cálculo da farinha de resíduo o fator foi 6,25 e para o cálculo das bebidas lácteas o fator foi 6,38, multiplicando esse fator pela porcentagem de nitrogênio (AOAC, 2002). Os resultados da farinha de resíduos foram expressos em g/100 g e os resultados das bebidas lácteas em g/100 mL.

Carboidratos totais

A determinação dos carboidratos totais foi realizada por diferença entre 100 e a soma dos valores de umidade, cinzas, proteínas e lipídios. Os resultados foram expressos para a farinha em g/100 g e para as bebidas lácteas em g/100 mL.

Fibras alimentares totais

Os teores de fibra alimentar solúvel e insolúvel das amostras foram determinados de acordo com o método enzimático-gravimétrico para determinação do conteúdo total da AOAC (1990), utilizando o kit enzimático da marca Sigma. As amostras foram tratadas com α – amilase estável ao calor e em seguida com a protease e amiloglicosidade, para remoção da proteína e do amido presente na amostra. Em seguida houve a precipitação

da fibra com etanol e filtração. O sobrenadante filtrado foi lavado com etanol e acetona, secado e pesado. A fibra alimentar total foi obtida pela soma das frações insolúvel e solúvel, como preconiza o método. Para obter resultados (expressos para a farinha em g/100 g e para as bebidas lácteas em g/100 mL), foi utilizada a fórmula:

$$\%FDT = \text{peso médio do resíduo (mL)} - \text{peso médio da proteína (mL)} - \text{peso médio das cinzas (mL)} - \text{branco (mL)} \times 100 / \text{Peso médio da amostra (mL)}.$$

(Equação 3)

Valor energético

O valor energético das bebidas lácteas foi calculado utilizando-se os coeficientes de Atwater que considera 4 kcal.g⁻¹ para proteínas, 4 kcal.g⁻¹ para carboidratos e 9 kcal.g⁻¹ para lipídios (OSBONE; VOOGT, 1978). Os resultados da farinha de resíduo foram expressos em Kcal/100 g e os resultados das bebidas lácteas foram expressos em Kcal/100 mL.

2.6 Análises fitoquímicas

A farinha de resíduo de acerola, a bebida láctea selecionada, através da análise sensorial, e uma amostra de bebida láctea sabor acerola sem adição de farinha foram submetidas às análises fitoquímicas para a quantificação dos carotenóides totais, flavonóides totais, antocianinas totais, flavonóis totais, compostos fenólicos totais, ácido ascórbico, capacidade de seqüestrar os radicais DPPH (2,2 difenil-1-picril-hidrazil) e ABTS (2,2'azinobis-(3- ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid)).

Carotenóides totais

A análise para a quantificação dos carotenóides totais foi realizada por espectrofotometria baseada na metodologia de Rodriguez-Amaya (1999). Para a extração dos carotenóides foram utilizadas para a farinha de resíduo, uma alíquota de 2 g da amostra e para as bebida lácteas, alíquotas de 10 mL de cada amostra empregando-se almofariz e pistilo, misturando 2 g de celite (hyflosupercel) à amostra e utilizando 20 mL de acetona gelada como solvente de extração. A mistura foi filtrada em funil de Büchner e o resíduo foi levado novamente ao almofariz, a extração e a filtração foram repetidas até que o resíduo se tornasse incolor. Fez-se a partição para éter de petróleo em um funil de separação. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro (modelo UV-1650 PC da SHIMADZU) na faixa de absorção de 450 nm. Os resultados da farinha de resíduo foram expressos em β -caroteno/100 g e os resultados das bebidas lácteas foram expressos em equivalente a β -caroteno/100 mL. É importante ressaltar que toda a análise foi conduzida em ambiente com baixa incidência de luz, envolvendo-se, ainda, a vidraria em papel alumínio para minimizar a degradação dos carotenóides.

Preparação dos extratos

Foram realizados testes preliminares empregando-se quatro metodologias distintas para extração dos compostos fenólicos: processo de extração seqüencial (acetona 60% acidificada com 0,1% de HCl; etanol 60% acidificada com 0,1% de HCl e metanol 60% acidificada com 0,1% de HCl); processo de extração não seqüencial (obtenção de extratos isolados de acetona 60% acidificada com 0,1% de HCl; etanol 60% acidificada com 0,1% de HCl e metanol 60% acidificada com 0,1% de HCl); processo de extração por refluxo – soxhlet utilizado o solvente etanol 60% acidificado com 0,1% de HCl e o processo de extração por ultrassom utilizando o solvente etanol 60% acidificado com 0,1% de HCl. Onde verificamos que o processo de extração por ultrassom apresentou uma melhor resposta.

Para a extração por ultrassom (Lavadora ultra-sônica digital Soniclean 2 PS) foram pesadas alíquotas de 0,5 g de farinha de resíduo e de 5 mL de cada bebida láctea e

adicionado 50 mL de etanol a 60% acidificada com HCl 0,1%, levado ao banho de ultrassom a 39°C por 30 minutos e centrifugado por 10 minutos a 4000 rpm. O procedimento de extração envolveu etapas consecutivas de centrifugação, filtração e repouso, visando obter uma melhor extração dos compostos fitoquímicos.

Compostos fenólicos totais

O conteúdo de fenólicos totais dos extratos etanólicos foram determinados de acordo com o método de Wettasinghe e Shahidi (1999) utilizando-se reagente de Folin-Ciocalteu e ácido gálico como padrão na concentração de 40µg/mL e equação da curva ($y = 0,01115x - 0,00862$). Para determinação do teor de fenólicos totais, foram adicionados em tubos de ensaio envolvidos com papel alumínio alíquotas de 0,5 mL dos extratos de farinha de resíduo e das bebidas lácteas, para as respectivas análises, 8 mL de água destilada, 0,5 mL da solução de Folin-Ciocalteu e 1,0 mL da solução de carbonato de sódio. Os tubos foram homogeneizados e mantidos em repouso por 1 horas, ao abrigo da luz. Posteriormente, realizou-se a leitura das absorbâncias na faixa de absorção de 725nm. Os resultados obtidos para a farinha de resíduo foram expressos como EAG/100 g e os resultados obtidos para as bebidas lácteas foram expressos como EAG/100 mL. É importante ressaltar que toda a análise foi conduzida em ambiente com baixa incidência de luz, envolvendo-se, ainda, a vidraria em papel alumínio para minimizar a degradação da solução final do reagente antes de reagir com as substâncias fenólicas de interesse.

Capacidade de seqüestrar o radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH)

Este método tem por base a redução do radical DPPH (2,2 difenil-1-picril-hidrazil), que ao fixar um H (removido do antioxidante em estudo), leva a uma diminuição da absorbância. Para a análise das amostras, adicionou-se a 3,9 mL da solução metanólica de DPPH na concentração de 100 µMol e uma alíquota de 0,1 mL dos extratos etanólicos com concentrações de fenólicos totais de 5,04 µg/0,1 mL; 6,72 µg/0,1 mL e 10,08 µg/0,1

mL nos extratos da farinha de resíduo e 3,31 µg/0,1 mL; 4,14 µg/0,1 mL e 5,52 µg/0,1 mL dos extratos de cada bebida láctea. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro (modelo UV-1650 PC da SHIMADZU) na faixa de absorção de 517 nm, após 1, 2; 5, 10, 15, 20 e 30 minutos do início da reação para as soluções contendo extratos da farinha de resíduo e 1, 2, 5 e 10 minutos do início da reação para as soluções contendo extratos das bebidas lácteas. Todas as determinações foram realizadas em triplicata e acompanhadas de um controle (sem antioxidante). A queda na leitura da absorbância das amostras foi correlacionada com o controle, estabelecendo-se a porcentagem de descoloração do radical DPPH, conforme a fórmula abaixo:

$$\% \text{ proteção} = [(Abscontrole - Absbranco) / Abscontrole] \times 100 \quad (\text{Equação 4})$$

Capacidade de seqüestro do radical ABTS (2,2'azinobis-(3- ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid)

Para a determinação da atividade antioxidante pelo método do radical ABTS, usou-se a metodologia descrita por Re et al. (1999) e Nenadis et al. (2004). Para realizar as análises, foram adicionados uma alíquota de 0,1 mL das amostras contendo três diferentes concentrações de cada extrato (1,8 µg/0,1 mL; 2,4 µg/0,1 mL e 3,7 µg/0,1 mL dos extratos da farinha de resíduo, e 1,33 µg/0,1 mL; 1,66 µg/0,1 mL e 2,22 µg/0,1 mL dos extratos das bebidas lácteas) a 10 mL da solução contendo o radical. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro (modelo UV-1650 PC da SHIMADZU) na faixa de absorção de 734 nm, após 6 minutos do início da reação. Como solução-padrão, usou-se o antioxidante sintético Trolox nas concentrações de 100; 500; 1.000; 1.500 e 2.000 µM em etanol e a equação da curva ($y = -0,00032x + 0,74190$). Todas as leituras foram realizadas em triplicata, e os resultados foram expressos em µM de Trolox/g e µM de Trolox/mL, respectivamente.

2.7 Teste de estabilidade comercial

A bebida láctea com as melhores médias para os atributos cor, aroma, sabor, consistência e avaliação global, incluindo melhor intenção de compra, foi submetida às análises físico-químicas de pH e acidez titulável (vida de prateleira) e estabilidade das bactérias lácticas nos tempos 0, 14 e 28 dias de estocagem sob refrigeração ($4^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$). O tempo zero (T_0) representou a bebida preparada e resfriada em 24 horas, o tempo 14 (T_{14}) representou a bebida mantida sob refrigeração ($4^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$) durante 14 dias e o tempo 28 (T_{28}) representou a bebida mantida sob a mesma temperatura durante 28 dias. Os testes de estabilidade e vida de prateleira também foram realizados com a bebida láctea fermentada sem adição de farinha de resíduo de acerola.

Análise de bactérias lácticas

A preparação das amostras (só com polpa de acerola, com polpa e farinha de resíduo de acerola e sem polpa e farinha de resíduo de acerola) constou de 2 etapas: homogeneização e retirada da unidade analítica (25g) e preparação de diluições sucessivas até 10^{-7} . Foram utilizados água peptonada 0,1%, para as primeiras diluições, e caldo MRS, conforme procedimento descrito pela ISO 6887-1 (1999).

Inoculação e incubação

Para a determinação da viabilidade de bactérias lácticas, as diluições 10^{-6} e 10^{-7} , em caldo MRS, foram inoculadas em placas Petrifilm AC, conforme *Compedium e Standard Methods for the Examination of Dairy Products* (APHA et al.,2004). Após a solidificação do gel, as placas foram incubadas a $32^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ em condições anaeróbias por 72 horas.

Contagem das colônias e cálculo dos resultados

As colônias desenvolvidas com coloração vermelha foram consideradas bactérias lácticas, de acordo com o guia de interpretação do fabricante das Placas Petrifilm 3M. Os resultados foram expressos em UFC/g (Unidade Formadora de Colônia por grama).

2.8 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.

Os dados da análise sensorial e das análises físico-químicas e fitoquímicas foram avaliados pela ANOVA utilizando T teste de Duncan para comparação ao nível de 5% de significância através do programa computacional *Statistica for Windows 7.0* (STATSOFT, 2004).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Caracterização físico-química e fitoquímica da farinha de resíduo de acerola

Os resultados da caracterização físico-química da farinha de resíduo de acerola encontram-se na Tabela 5.

Tabela 5 - Caracterização físico-química da farinha de resíduos de acerola.

Parâmetros físico-químicos	Valores médios*
Umidade (%)	6,85 ± 0,56
Atividade de água	0,39 ± 0,05
Ph	3,84 ± 0,02
Acidez (g/100g de ácido málico)	2,42 ± 0,08
Cinzas (g/100g)	2,63 ± 0,23
Lipídios (g/100g)	7,49 ± 0,43
Proteínas (g/100g)	11,12 ± 0,79
Carboidratos totais (g/100g)	71,91 ± 0,02
Fibras totais (g/100g)	68,40 ± 1,77

*Os valores são representados pela média das determinações em triplicata ± o desvio padrão.

Embora não exista uma legislação específica para os níveis de umidade de farinhas de resíduo, a resolução RDC nº263/2005 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BRASIL, 2005) preconiza que em farinhas este parâmetro seja menor que 15%. Para a farinha em estudo, o teor médio de umidade encontrado foi de 6,85% (Tabela 5). Marques *et al.* (2013) encontrou um maior percentual de umidade, 9,20%, em sua pesquisa com farinha de sementes de acerola. Esse valor, segundo Ethur *et al.* (2010), é típico de alimentos desidratados e reduzem acentuadamente a microbiota, pela baixa disponibilidade de água para as reações metabólicas dos microrganismos e reações químicas e bioquímicas são interrompidas ou têm sua velocidade reduzida.

No que se refere ao pH, o valor médio encontrado foi de 3,84 (Tabela 5), semelhante ao resultado encontrado por Storck *et al.* (2015) em farinha de cascas e sementes de acerola com diferentes granulometrias, que variou entre 3,62 e 3,64, caracterizando a farinha de resíduos de acerola como um produto ácido. Os resultados encontrados na análise para determinação de acidez, média de 2,42 g/100 g de ácido málico (Tabela 5), ratificando que trata-se de um produto ácido. No estudo realizado por Storck *et al.* (2015) os valores relatados para acidez foram de 0,56 e 0,69 g/100 g de ácido málico. A divergência entre os resultados da acidez pode ser explicada pela de cultivar utilizada nos estudos, pelo diferente grau de maturação, dentre outros fatores que influenciam a composição físico-química de fruta e também de seus resíduos agroindustriais.

A determinação teor de cinzas resultou no valor médio de 2,63 g/100 g (Tabela 5). Estes resultados estão próximos ao descrito por Marques *et al.* (2013) para farinha de sementes de acerola que foi de 3,46 g/100 g, porém, superior ao descrito por Storck *et al.* (2015) em farinha de cascas e sementes de acerola com diferentes granulometrias,

cujos valores variaram entre 1,93 e 2,03 g/100 g. A farinha de resíduo de acerola apresenta quantidades importantes de minerais e, se adicionadas a produtos, podem melhorar o valor nutricional dos mesmos.

Na Tabela 5 pode-se observar que o teor médio de extrato etéreo (lipídios) foi de 7,49 g/100 g, o que era esperado, uma vez que Aguiar *et al.* (2010) afirma que as sementes de acerola apresentam um alto teor lipídico. No entanto, Marques *et al.* (2013) e Storck *et al.* (2015) ao analisarem farinha de resíduo de acerola encontraram valores de 5,27 g/100 g e variação entre 1,24 e 3,10 g/100 g, respectivamente, inferiores, portanto, ao presente estudo.

O conteúdo protéico da farinha de resíduos de acerola foi de 11,12 g/100 g (Tabela 5). De acordo com a RDC nº54/2012 a farinha de resíduo de acerola estudada apresenta um alto conteúdo de proteínas em sua composição. Valor próximo foi encontrado por Marques *et al.* (2013) para farinha de sementes de acerola (11,55 g/100 g). Os valores determinados por Storck *et al.* (2015) em farinha de cascas e sementes de acerola com diferentes granulometrias situaram-se entre 8,3 e 12,1 g/100 g. Souza *et al.* (2011) destaca que as frutas, de uma forma geral, não são uma fonte potencial de proteínas, entretanto esses macronutrientes encontram-se em maior quantidade nas cascas e sementes, com predominância nas sementes.

O valor médio determinado para as fibras dietéticas totais na farinha analisada foi de 68,40 g/100 g (Tabela 5). Uma variação entre 33,2 e 43,1 g/100 g, foi reportado por Storck *et al.* (2015) em farinha de cascas e sementes de acerola com diferentes granulometrias e de 80,42 g/100 g por Marques *et al.* (2013). Segundo a RDC nº 54/2012 um produto pode ser considerado com um alto conteúdo de fibras alimentares quando apresentar o mínimo 5 g de fibras por porção (BRASIL, 2012), desta forma, a farinha de resíduo de acerola pode ser considerada com um alto conteúdo de fibras. Levamos em consideração a ingestão diária recomendada de fibras pelo IOM (Institute of Medicine of the Natural Academies, 2005) é de 25 a 38 g. Assim, a ingestão de 25,99 g de farinha de resíduo de acerola supri a ingestão diária recomendada para conferir efeitos benéficos ao corpo humano.

Em relação aos carboidratos totais, o valor médio encontrado foi de 71,91 g/100 g (Tabela 5). Satorck *et al.* (2015) relatou uma variação entre 45,30 e 49,80 g/100 g em farinha de cascas e sementes de acerola com diferentes granulometrias, resultados inferiores ao encontrado nesta pesquisa. Assim como acontece com demais componentes físico-químicos, variações nas concentrações de carboidratos de frutas e também de seus

resíduos agroindustriais podem ser atribuídas a diferenças de cultivar, colheita/fatores de pós-colheita e fatores de crescimento ligados ao ambiente como temperatura, umidade, entre outros (HASNAOUI *et al.*, 2011).

Tabela 6 – Caracterização fitoquímica da farinha de resíduo de acerola.

Parâmetros fitoquímicos	Valores médios*
Ácido ascórbico (mg de ácido ascórbico/100 g)	8.566,67 ±115,47
Carotenóides (µg equivalente a β-caroteno/100 g)	81,94 ± 2,38
Compostos fenólicos totais (g EAG/100 g)	10,08 ± 22,50
DPPH (%)	61,08 ± 0,39
ABTS (µMol TEAC/g)	106,37 ± 2,21

*Os valores são representados pela média das determinações em triplicata ± o desvio padrão.

O teor de ácido ascórbico encontrado no presente estudo foi de 8.566,67 mg de ácido ascórbico/100 g (Tabela 6). Aquino *et al.* (2010) em farinha de cascas e sementes de acerola e Marques *et al.* (2013) em farinha de sementes de acerola porém, identificaram valores superiores ao encontrado nesta pesquisa, 9.549,61 e 10.282,45 mg de ácido ascórbico/100 g, respectivamente. Soquetta *et al.* (2016) destacam que o ácido ascórbico é encontrado em concentrações elevadas nas partes usualmente não comestíveis das frutas como cascas, sementes e caroços.

A farinha de resíduo de acerola caracteriza-se como uma boa fonte de vitamina C, com potencial para o uso, e pode ser utilizado para enriquecer alimentos e contribuir para a sua atividade antioxidante (MARQUES *et al.*, 2013). De acordo com o IOM (Institute of Medicine of the Natural Academies, 2000) a ingestão diária recomendada de vitamina C é de 90 mg para homens e 75 mg para as mulheres. Assim, a ingestão de 1,05 g e 0,87 g de farinha de resíduo de acerola representa uma ingestão de 90 mg e 75 mg de vitamina C, respectivamente.

Para os carotenóides o valor encontrado foi de 81,94 µg em equivalente a β-caroteno/100 g (Tabela 6). Valor inferior (80,09 µg em equivalente a β-caroteno/100 g) foi encontrado por Aquino *et al.* (2010) ao analisar farinha de cascas e sementes de acerola. Leong e Shui (2002) destacam que a quantidade e o perfil dos fitoquímicos variam em função do tipo, variedade e grau de maturação da fruta bem como das condições climáticas e edáficas do cultivo.

O conteúdo de compostos fenólicos totais foi de 10,08 g EAG/100 g (Tabela 6). Marques *et al.* (2013) encontraram 10,82 g EAG/100 g em farinha de sementes de acerola, resultado semelhante ao encontrado nesta pesquisa. Madsen e Bertelsen (1995) relataram

que vários fatores podem influenciar o conteúdo fenólico total das frutas e também de seus resíduos agroindustriais, tal como o tipo de solo cultivado, condições climáticas, estado de maturação das frutas, processo de extração dos compostos, método empregado para identificar os compostos e escolha do solvente para extração. Na presente pesquisa foi utilizado como solvente o etanol, enquanto no estudo supra citado, o solvente utilizado para extração foi o metanol.

No que se refere à capacidade de sequestro do radical DPPH, o percentual médio observado foi de 61,08% (Tabela 6). Segundo Melo *et al.* (2008) a capacidade antioxidante pode ser classificada, quanto ao percentual de captação do radical DPPH, como forte (percentual de captação acima de 70%), média (percentual de captação entre 50% e 70%) e fraco (percentual de captação abaixo de 50%). Assim, pode-se afirmar que a farinha de resíduo de acerola apresentou uma atividade antioxidante média. Soquetta *et al.* (2016) relataram que a capacidade de seqüestrar o radical DPPH da farinha de peles de kiwi foi de 72,04%, considerando-a forte.

Analisando a capacidade antioxidante, também pelo método ABTS, o valor encontrado foi de 106,37 $\mu\text{Mol TEAC/g}$ (Tabela 6). Ao analisar a capacidade antioxidante de farinha de resíduo de uva Bordô, Balestro, Sandri e Fontana (2011) encontraram 332,6 $\mu\text{Mol TEAC/g}$, ação superior ao encontrado na presente pesquisa.

Segundo Rockenbach *et al.* (2008), a intensidade da ação antioxidante em frutas e em resíduos agroindustriais depende de fatores diversos como condições e etapas de oxidação, propriedades coloidais dos substratos, formação e estabilidade dos radicais, além da localização dos antioxidantes no substrato, assim como a estabilidade nas diferentes etapas do processamento nos alimentos.

3.2 Análise sensorial das formulações de bebida láctea

As médias obtidas pelo teste de aceitação estão apresentadas na Tabela 7 onde, observa-se que todas as formulações apresentaram notas acima de 6 (equivalente ao termo hedônico "gostei ligeiramente") para os atributos sensoriais avaliados (cor, aroma, sabor, consistência e avaliação global).

Verifica-se que as todas as formulações de bebida láctea fermentada sabor acerola com culturas probióticas e enriquecida com farinha de resíduo de acerola avaliadas,

apresentaram médias superiores a 6,0 para todos os atributos sensoriais, com destaque para as formulações B5, B6 e B7 que apresentaram valores numericamente superiores, o demonstrando que as formulações foram aprovadas e apresentam-se dentro dos limites de aceitação para um produto de qualidade comercial.

Para o atributo aroma (Tabela 7) as formulações B5, B6 e B7 obtiveram as maiores notas (7,28; 7,31 e 7,27, respectivamente), embora não tenham apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$) para as formulações B1 e B4. Aquino *et al.* (2010) obteve média de 5,38 para esse atributo em biscoito tipo *cookies* com adição de farinha de resíduo de acerola.

Com relação ao atributo cor (Tabela 7), as formulações B4 com 40% de soro lácteo e 3% de farinha de resíduo de acerola foi a formulação que apresentou a maior média (7,74), embora não tenha demonstrado diferença significativa ($p > 0,05$) das formulações B1; B5; B6 e B7. A formulação B4 apresenta os maiores percentuais de soro e farinha de resíduo de acerola, conferindo a bebida láctea uma coloração mais próxima a coloração da acerola. Avaliando biscoitos doces enriquecidos com um mix de farinhas de laranja, maracujá e melancia Ferreira *et al.* (2015) obteve média de 6,20, Pandurang, Sachin e Shalini (2014) obteve média de 6,4 para pão enriquecido com farinha de linhaça e Yangilar (2015) obteve média de 7,8 para sorvete com adição de farinha de casca de banana verde para ao atributo cor.

Quanto ao atributo textura (Tabela 7), as formulações B5, B6 e B7 apresentaram as maiores médias (7,54; 7,48 e 7,42, respectivamente), embora não tenha diferido significativamente ($p \geq 0,05$) das formulações B1 e B4. Em contra partida, a formulação B3 com (20% de soro lácteo e 3 % de farinha de resíduo de acerola) apresentou a menor média (6,13) para este atributo, provavelmente devido ao menor percentual de soro lácteo e maior percentual de farinha ter conferido a bebida láctea uma maior arenosidade. Ferreira *et al.* (2015) obteve média de 5,8 no atributo textura ao avaliar biscoitos doces enriquecido com um mix de farinha de resíduo de laranja, maracujá e melancia, Pandurang, Sachin e Shalini (2014) obteve média de 6,7 para pão enriquecido com farinha de linhaça e Yangilar (2015) obteve média de 7,6 para sorvete com adição de farinha de casca de banana verde ao avaliarem o mesmo atributo sensorial.

Para o atributo sabor (Tabela 7), as formulação B5, B6 e B7 apresentaram as maiores médias (7,65; 7,67 e 7,65, respectivamente), embora também não tenham obtidos diferença significativa ($p > 0,05$) das formulações B1 e B4, comportamento semelhante aos atributos aroma e textura. Ferreira *et al.* (2015) obteve média de 5,6 no atributo sabor ao

avaliar biscoitos doces enriquecido com um mix de farinha de resíduo de laranja, maracujá e melancia, Pandurang, Sachin e Shalini (2014) obteve média de 5,6 para pão enriquecido com farinha de linhaça e Yangilar (2015) obteve média de 7,3 para sorvete com adição de farinha de casca de banana verde para ao tributo sabor.

Na avaliação global, que avalia preferência da bebida láctea como um todo, pode-se verificar que as maiores médias foram conferidas as formulações B5, B6 e B7 (7,65; 7,67 e 7,70, respectivamente), sem diferença significativa ($p \geq 0,05$), salientando que as três formulações apresentam os valores intermediários de soro lácteo e farinha de resíduo de acerola (30% de soro lácteo e 2% de farinha). Ferreira *et al.* (2015) obteve 5,8 na avaliação global de biscoito doce enriquecido com um mix de farinha de resíduo de laranja, maracujá e melancia, Pandurang, Sachin e Shalini (2014) obteve média de 7,1 para pão enriquecido com farinha de linhaça e Yangilar (2015) obteve média de 7,6 para sorvete com adição de farinha de casca de banana verde na avaliação global.

Tabela 7 - Média dos resultados da análise sensorial das variáveis dependentes (atributos de qualidade) do planejamento fatorial 2^2 para bebidas lácteas fermentadas, sabor acerola, com culturas probióticas e enriquecida com farinha de resíduo de acerola.

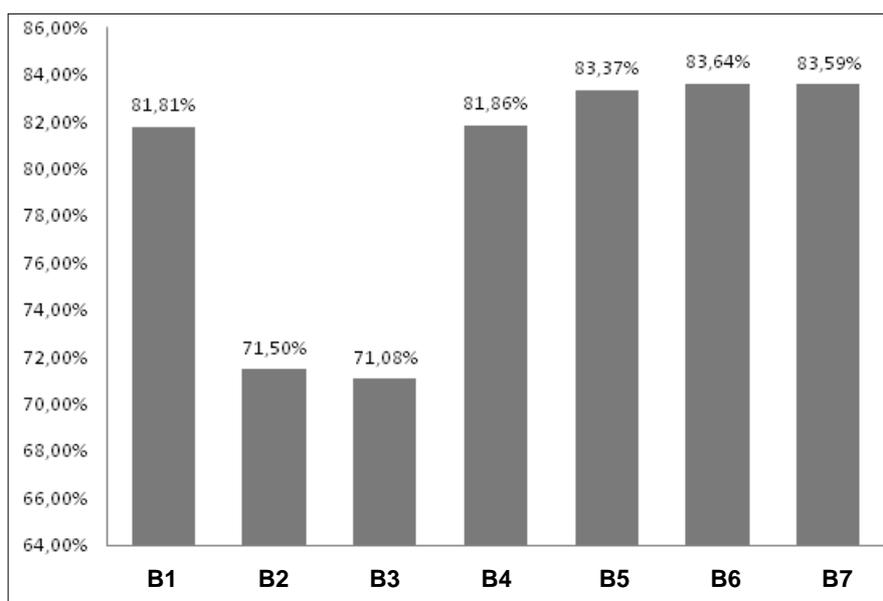
Ensaio	Soro lácteo (mL)	Farinha de resíduo de acerola (%)	Aroma	Cor	Textura	Sabor	Avaliação Global
B1	20 (-1)	1 (-1)	7,15 ^a	7,70 ^a	7,33 ^a	7,31 ^a	7,33 ^a
B2	40 (1)	1 (-1)	6,75 ^b	6,87 ^b	6,17 ^b	6,15 ^b	6,24 ^b
B3	20 (-1)	3 (1)	6,63 ^b	6,83 ^b	6,13 ^b	6,19 ^b	6,21 ^b
B4	40 (1)	3 (1)	7,12 ^a	7,74 ^a	7,22 ^a	7,35 ^a	7,41 ^a
B5	30 (0)	2 (0)	7,28 ^a	7,40 ^a	7,54 ^a	7,65 ^a	7,65 ^a
B6	30 (0)	2 (0)	7,31 ^a	7,51 ^a	7,48 ^a	7,67 ^a	7,67 ^a
B7	30 (0)	2 (0)	7,27 ^a	7,58 ^a	7,42 ^a	7,65 ^a	7,70 ^a

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

Na Figura 4 observa-se que todas as formulações apresentaram Índice de Aceitabilidade (IA) superior a 70%, segundo Teixeira *et al.* (1987) o produto para ser aceito é necessário que o mesmo obtenha um IA de no mínimo 70%, sendo assim, todas foram considerados aceitas sensorialmente, porém, as formulações B5, B6 e B7 destacaram-se com 83,37; 83,64 e 83,59% de aceitabilidade, respectivamente. Esses resultados ratificam as maiores percentuais obtidos em “certamente compraria” (Tabela 8) para as formulações B5 (38,46%), B6 (50,96) e B7 (44,23%), ou seja, os provadores tiveram maior aceitação do produto com 30% de soro de leite e 2% de farinha de resíduo de acerola. Em contra partida, as formulações B2 e B3 obtiveram os maiores percentuais em “jamais compraria”

(24,04 e 28,85%, respectivamente). Pandurang, Sachin e Shalini (2014) teve índice de aceitação de 72,03% para pão enriquecido com farinha de linhaça e Yangilar (2015) obteve índice de aceitação de 83,21% para sorvete com adição de farinha de casca de banana verde.

Figura 4 - Índice de aceitabilidade das formulações de bebida láctea fermentada, sabor acerola, com adição de farinha de resíduo de acerola submetidas à análise sensorial.



B1) Bebida láctea com 20% de soro de leite e 1% de FRA; B2) Bebida láctea com 40% de soro de leite e 3% de FRA; B3) Bebida láctea com 20% de soro de leite e 3% de FRA; B4) Bebida láctea com 40% de soro de leite e 1% de FRA; B5, B6 e B7) Bebida láctea com 30% de soro de leite e 2% de FRA.

Tabela 8 - Percentual das notas obtidas na intenção de compra, na análise sensorial da bebida láctea fermentada, sabor acerola, com culturas probióticas e enriquecidas com farinha de acerola.

Ensaio	Intenção de Compra (%)				
	Jamais compraria	Talvez não compraria	Talvez compraria/ Talvez não compraria	Talvez compraria	Certamente compraria
B1	1,93	9,00	16,00	34,61	38,46
B2	24,04	19,23	16,35	20,19	20,19
B3	28,85	24,99	17,31	18,27	10,58
B4	2,88	5,77	14,42	41,35	35,58
B5	3,85	6,73	14,42	36,54	38,46
B6	4,82	9,61	13,46	21,15	50,96
B7	4,81	12,50	9,61	28,85	44,23

A Tabela 9 apresenta os efeitos das variáveis independentes (soro de leite e farinha de resíduo de acerola) sobre os atributos sensoriais (aroma, cor, textura, sabor e avaliação global) dos sete ensaios de bebidas lácteas fermentada por meio da qual evidencia-se que não houve influência significativa ($p > 0,05$) do soro de leite e da farinha de resíduo de acerola (FRA) nos atributos avaliados. Porém, percebe-se que a interação entre o soro lácteo e farinha de resíduos de acerola influenciou estes atributos. Fato este que pode ser verificado ao comparar a formulação B1 com as formulações B5, B6 ou B7 (Tabela 7), que ao aumentar a quantidade de soro de leite e o percentual de farinha de resíduos de acerola as notas tendem a subir.

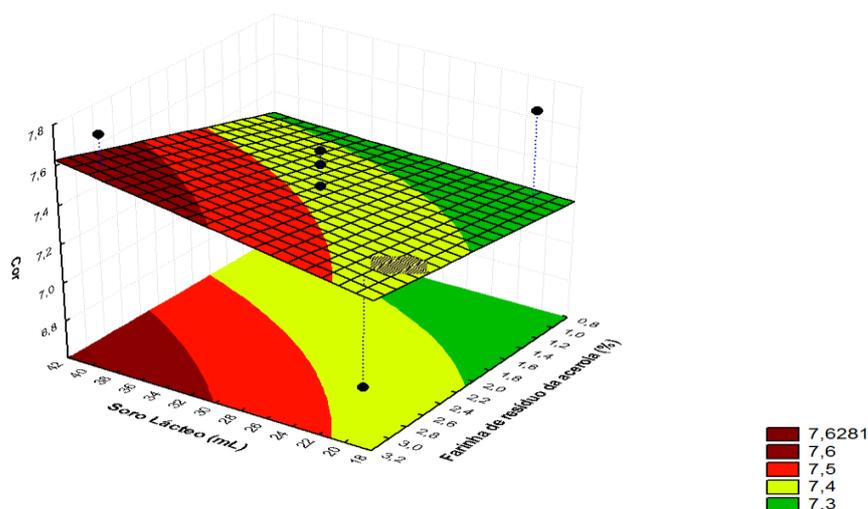
Tabela 9 - Efeito das variáveis independentes (soro de leite e farinha de resíduo de acerola) sobre os atributos sensoriais (aroma, cor, textura, sabor e avaliação global) das formulações de bebida láctea fermentada, sabor acerola, com culturas probióticas e enriquecida com farinha de resíduo de acerola.

Coefficiente	Aroma	Cor	Textura	Sabor	Avaliação Global
B₀	7,07	7,37	7,04	7,14	7,17
B_s	NS	NS	NS	NS	NS
B_F	NS	NS	NS	NS	NS
B_{SF}	0,44	0,87	1,12	1,16	1,14
R²	0,460	0,890	0,556	0,489	0,499

*B₀: média das notas obtidas em cada atributo; B_s: efeito do % de soro de leite sobre os atributos; B_F: efeito do % de farinha de resíduo de farinha de acerola (FRA) sobre os atributos; R²) Coeficiente de determinação; NS: não significativo ($p \geq 0,05$).

O atributo cor foi o único que apresentou um bom ajuste ao modelo ($R^2 = 0,890$), interação entre o soro de leite e a farinha de resíduo de acerola (Tabela 9). Esse resultado pode ser ratificado quando se observa a formulação B4 na Tabela 7 e Figura 6, ou seja, o aumento da quantidade de soro lácteo e aumento do percentual de farinha de resíduo de acerola contribuíram para o aumento das notas no atributo cor. Possivelmente por conferir a bebida láctea uma coloração mais próxima a coloração da acerola.

Figura 5 - Superfície de Resposta do atributo cor em função do soro de leite (%) e farinha de resíduo de acerola (%).



De acordo com os resultados obtidos na análise sensorial selecionou-se o ensaio 6 para caracterização físico-química, fitoquímica e teste de viabilidade comercial por tratar-se da formulação que apresentou índice de aceitação numericamente superior.

3.3 Caracterização físico-química e fitoquímica da bebida láctea selecionada

Na Tabela 10 estão expressos os resultados médios da caracterização físico-química da bebida láctea fermentada sabor acerola com adição de farinha de resíduo de acerola (BLFCFRA) selecionada na análise sensorial (com 30% de soro de leite e 2% de farinha de resíduo de acerola) e da bebida láctea fermentada sabor acerola sem adição da farinha de resíduo de acerola (BLFSFRA) com 30% de soro lácteo, para efeito de comparação do ganho nutricional.

Tabela 10 - Análises físico-químicas das bebidas lácteas fermentadas, sabor acerola, com e sem adição de farinha de resíduo de acerola.

Parâmetros físico-químicos	Bebida com farinha de resíduo de acerola (BLFCFRA)	Bebida sem farinha de resíduo de acerola (BLFSFRA)
Umidade (%)	65,44 ± 1,31 ^b	65,62 ± 1,23 ^a
Atividade de água (Aw)	0,98 ± 0,05 ^a	0,98 ± 0,05 ^a
pH	4,37 ± 0,05 ^a	4,35 ± 0,05 ^a
Sólidos solúveis (°Brix)	15,43 ± 0,35 ^a	15,26 ± 0,25 ^b
Acidez (g/100 mL de ácido láctico)	0,84 ± 0,05 ^a	0,70 ± 0,01 ^b
Cinzas (g/100 mL)	0,73 ± 0,02 ^a	0,70 ± 0,01 ^b
Lipídios (g/100 mL)	3,37 ± 0,33 ^a	3,02 ± 0,14 ^b
Carboidratos totais (g/100 mL)	28,07 ± 0,02 ^a	28,90 ± 0,05 ^a
Proteínas (g/100 mL)	2,39 ± 0,10 ^a	1,76 ± 0,05 ^b
Fibras totais (g/100 mL)	1,36 ± 0,02 ^a	0,02 ± 0,01 ^b

*Médias na linha seguidas de letras iguais não diferem significativamente ao nível de 5% pelo teste "t" de student.

Os valores de umidade (Tabela 10) foram de 65,44% e 65,62%, respectivamente para BLFCFRA e BLFSFRA, apresentando diferença significativa ($p < 0,05$) entre as amostras analisadas. Aquino *et al.* (2010) observou um aumento no teor de umidade 2,82 para 3,07% após a adição de farinha de resíduo de em biscoito tipo *cookies*, assim como Pandurang, Sachin e Shalini (2015) também relataram o aumento da umidade (39,20; 39,80 e 40,86%) à medida que aumentou a concentração de farinha de linhaça (5, 10 e 15 g/100 g, respectivamente).

Para a atividade de água (Aw), o valor encontrado (Tabela 10), para ambas as amostras, foi de 0,98 confirmando que os produtos apresentam uma alta perecibilidade pela grande disponibilidade de água para as reações metabólicas de microrganismos e para as reações químicas.

No que se refere ao pH, o valor médio encontrado (Tabela 10) para BLFCFRA foi de 4,37 e BLFSFRA foi de 4,35. Estudo realizado por Yangilar (2015) também observou aumento 6,20 para 6,49 no valor do pH do sorvete após a adição de farinha de casca de banana verde.

No parâmetro acidez, os valores encontrados (Tabela 10) foram de 0,84 e 0,80 g/100 mL de ácido láctico, respectivamente, demonstrando que a adição de farinha a bebida láctea provocou um aumento significativo ($p < 0,05$) na acidez do produto. Yangilar (2015), porém, observou redução de 0,20 para 0,13 g/100 mL g da solução molar no valor da acidez com a incorporação de farinha de casca de banana verde em sorvete.

Com relação ao conteúdo de sólidos solúveis totais, o valor encontrado (Tabela 10) para BLFCFRA foi de 15,43 °Brix e para BLFSFRA foi de 15,26 °Brix, não apresentando uma diferença significativa ($p > 0,05$) entre as duas amostras.

Para o teor de cinzas, que remete ao teor de minerais totais de um alimento, os valores médios encontrados (Tabela 10) foram de 0,73 g/100 mL na amostra BLFCFRA e de 0,70 g/100 mL na amostra BLFSFRA, o que evidencia que a adição de farinha de resíduo de acerola aumentou o conteúdo mineral no produto significativamente ($p < 0,05$). Aquino *et al.* (2010) e Yangilar (2010) também reportaram um acréscimo nos valores de cinzas, de 0,91 para 1,21 g/100 g em sorvete com adição de farinha de casca de banana verde e de 1,43 para 1,88 g/100 g para biscoito tipo *cookies* com adição de farinha de resíduo de acerola, respectivamente.

A Resolução nº 05/2000 que estabelece os Padrões de Identidade e Qualidade (PQI) de Leites Fermentados (BRASIL, 2000) não faz menção quanto à recomendação para o teor de lipídeos. Neste estudo a proporção encontrada para este constituinte (Tabela 10) variou de 3,37 g/100 mL para BLFCFRA a 3,02 g/100 mL para a BLFSFRA, apresentando assim diferença significativa ($p < 0,05$) entre as amostras analisadas com acréscimo de 0,35 g/100 mL de matéria gorda pela adição de farinha de resíduo de acerola ao produto. Pandurang, Sachin e Shalini (2015) também reportam um acréscimo nos valores dos lipídios à medida que aumentou a concentração de farinha de linhaça (5, 10 e 15 g) em pão (3,16; 5,67 e 6,16 g/100 g, respectivamente). Aquino *et al.* (2010) porém, relatou redução 11,68 para 10,40 g/100 g de lipídios em biscoito tipo *cookies* com adição de farinha de resíduo de acerola.

No tocante carboidratos totais (Tabela 10), o valor médio encontrado foi de 28,07 g/100 mL para BLFCFRA e de 28,90 g/100 mL para BLFSFRA, apresentando uma diferença significativa entre as amostras ($p < 0,05$). Pandurang, Sachin e Shalini (2015) também verificaram redução nos valores dos carboidratos totais à medida que aumentou a concentração de farinha de linhaça (5,10 e 15 g) em pão (44,38; 35,25 e 28,68 g/100 g, respectivamente). O decréscimo no valor dos carboidratos totais possivelmente está relacionado ao aumento nas concentrações das proteínas, lipídios e minerais nas amostras com adição de farinha.

Os teores de proteínas identificados (Tabela 10) para BLFCFRA foi de 2,39 g/100 mL e para BLFSFRA de 1,76 g/100 mL. A incorporação de farinha a bebida láctea proporcionou uma diferença significativa ($p \leq 0,05$) correspondendo a um acréscimo de 0,63 g/mL no valor protéico da bebida. Os resultados estão em conformidade ao preconizado

pela legislação brasileira, que é de no mínimo 1,0 g/100 mL para bebida láctea fermentada com adição de substâncias não lácteas (BRASIL, 2005), logo, os valores médios encontrados são considerados satisfatórios para o produto. Em um estudo realizado em pão com adição de farinha de linhaça Pandurang, Sachin e Shalini (2015) também relatou acréscimo nos valores de proteínas à medida que aumentou a concentração de farinha de linhaça (5,10 e 15 g) em pão (12,01; 17,28 e 21,61 g/100 g, respectivamente).

Dentre os parâmetros avaliados, os resultados obtidos para o teor de fibras totais (Tabela 10) foram os que apresentaram uma maior diferença quando comparadas as amostras BLFCFRA e BLFSFRA (0,02 e 1,36 g/100 mL, respectivamente). Representando um ganho significativo ($p \leq 0,05$) de 1,34 g/100 mL de fibras totais.

A ingestão diária recomendada de fibras pelo IOM (Institute of Medicine of thea Natural Academies, 2005) é de 25 a 38 g. Assim, verifica-se que o consumo de uma porção de 200 mL de bebida láctea fermentada com adição de farinha de resíduo de acerola (porção estabelecida na RDC 359/2003 (BRASIL, 2003), corresponde a 7,14% da recomendação diária total.

Tabela 11 - Análises fitoquímicas das bebidas lácteas fermentadas, sabor acerola, com e sem adição de farinha de resíduo de acerola.

Parâmetros fotoquímicos	Bebida com farinha de resíduo de acerola	Bebida sem farinha de resíduo de acerola
Ácido ascórbico (mg de ácido ascórbico/100 mL)	74,56 ± 0,95 ^a	69,26 ± 0,90 ^b
Carotenoides (µg equivalente a β-caroteno/100 mL)	3,90 ± 0,08 ^a	2,08 ± 0,00 ^b
Compostos fenólicos totais (g EAG/100 mL)	333,2 ± 2,38 ^a	197,5 ± 1,37 ^b
DPPH (%)	56,86 ± 0,00 ^a	30,20 ± 0,00 ^b
ABTS (µMol TEAC/mL)	148,00 ± 5,70 ^a	144,63 ± 6,10 ^b

*Médias na linha seguidas de letras iguais não diferem significativamente ao nível de 5% pelo teste "t" de student.

Os valores encontrados para o teor de ácido ascórbico (Tabela 11) também apresentaram uma diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre as amostras analisadas, 74,56 mg de ácido ascórbico/100 mL na BLFCFRA e 69,26 mg de ácido ascórbico/100 mL na BLFSFRA. Apresentando um acréscimo de 5,30 mg de ácido ascórbico/100 mL a bebida láctea. Estudo realizado por Çakmakçi *et al.* (2015) também observaram acréscimo no teor de ácido ascórbico (7,80; 8,40 e 9,33 de ácido ascórbico/100 g) à medida que aumentou o percentual de farinha de oleaster em sorvete (1, 2 e 3%, respectivamente).

De acordo com o IOM (Institute of Medicine of the Natural Academies, 2000) a ingestão diária recomendada de vitamina C é de 90 mg para homens e 75 mg para as mulheres. Assim, consumindo-se em média 200 mL da bebida láctea fermentada com adição de farinha de resíduo de acerola (porção estabelecida pela RDC 359/2003 (BRASIL, 2003)), supri a recomendação diária total.

No que se refere ao teor de carotenóides (Tabela 11), a BLFCFRA apresentou valor médio de 3,90 μg em equivalente a β -caroteno/100 mL e a BLFSFRA 2,08 μg em equivalente a β -caroteno/100 mL. Evidencia-se que a adição de farinha a bebida láctea representou um aumento significativo ($p \leq 0,05$) nos teores de carotenóides. Aquino *et al.* (2010) relatou ganho de 1,51 μg em equivalente a β -caroteno/100 mL em biscoito tipo *cookies* com adição de farinha de resíduo de acerola.

Na determinação dos compostos fenólicos totais (Tabela 11) observou-se que a incorporação da farinha de resíduo de acerola proporcionou um aumento significativo ($p \leq 0,05$) nos níveis destes compostos que passou de 197,5 g EAG/100 mL na bebida láctea sem farinha para 333,2 g EAG/100 mL na bebida láctea com farinha.

Na Tabela 11 pode-se observar, também, os valores identificados para a capacidade de sequestrar o radical DPPH. A bebida sem adição de farinha apresentou um percentual de inibição de 56,86% e a bebida com adição de farinha um percentual de inibição de 30,20%, considerando-os médio e fraco, respectivamente. A incorporação de farinha de resíduo de acerola proporcionou a bebida láctea fermentada uma maior potencial antioxidante ($p \leq 0,05$).

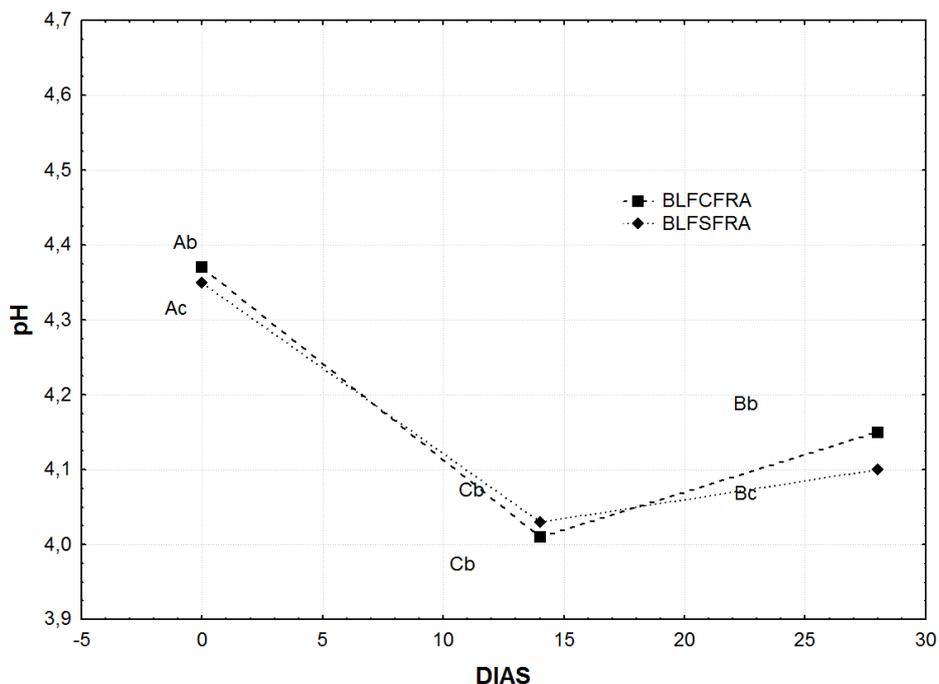
Quando avaliado o potencial antioxidante pelo método ABTS os valores encontrados foram 148,0 $\mu\text{Mol TEAC/mL}$ na bebida com farinha e 144,0 $\mu\text{Mol TEAC/mL}$ na bebida sem farinha, confirmando que a adição de farinha proporcionou o aumento na capacidade antioxidante da bebida láctea.

3.4 Teste de estabilidade comercial

Um fator importante relacionado à uniformidade das bebidas lácteas está associado aos valores de pH e acidez. Na Figura 7 são apresentados os valores de pH nos tempos 0, 14 e 28 dias de armazenamento refrigerado das amostras de bebida láctea fermentada sabor acerola com adição de farinha de resíduo de acerola (BLFCFRA) selecionada na

análise sensorial e da bebida láctea fermentada sabor acerola sem adição de farinha de resíduo de acerola (BLFSFRA).

Figura 6 - Valores de pH de bebidas lácteas fermentadas, sabor acerola, armazenadas sob refrigeração ($4\pm 1^\circ\text{C}$) durante 28 dias.

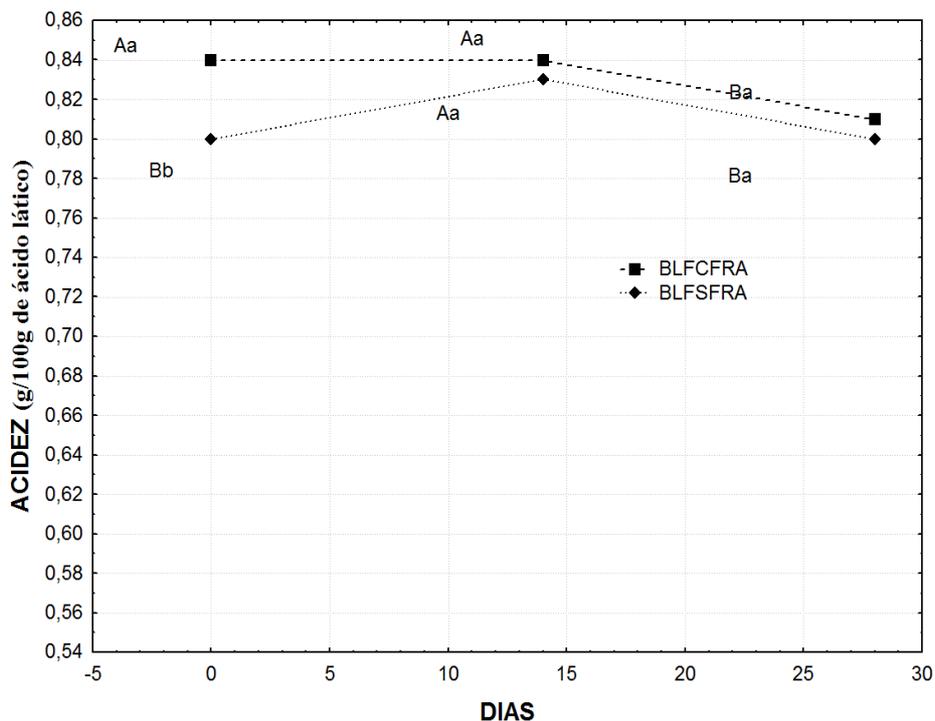


Médias seguidas de letras minúsculas iguais em diferentes bebidas no mesmo tempo (dias) diferem significativamente ao nível de 5% de significância pelo teste de Duncan; Médias seguidas de letras maiúsculas iguais na mesma bebida não diferem significativamente ao nível de 5% de significância pelo teste de Duncan; BLFCFRA: Bebida láctea fermentada, sabor acerola, com farinha de resíduo de acerola; BLFSFRA: Bebida láctea fermentada, sabor acerola, sem farinha de resíduo de acerola.

Observa-se que os valores de pH das amostras BLFCFRA e BLFSFRA (Figura 7) apresentaram diminuição significativa dos valores de pH nos tempos 0 e 14 dias ($p > 0,05$) com elevação no 28º dia de armazenamento, porém permanecendo com pH inferior ao do tempo 0 ($p > 0,05$).

Corroborando os valores de pH encontrados, foi observado aumento da acidez (Figura 8) na bebida BLFSFRA nos tempos 0 e 14 dias de armazenamento com diminuição no 28º dia, e a bebida BLFCFRA apresentou valores estáveis entre os dias 0 e 14 e posterior queda no 28º dia, sem contudo, diferir significativamente ($p < 0,05$) do valor da acidez inicial. O comportamento inverso entre os valores de pH e acidez também foi observado por Frutuoso *et al.* (2012), ao analisar a estabilidade de bebidas lácteas fermentadas sabor maracujá e por Fonelli *et al.* (2014) ao avaliar os efeitos da inulina e oligofrutose nas características físico-químicas de bebidas lácteas simbióticas.

Figura 7 - Valores de acidez de bebidas lácteas fermentadas, sabor acerola, armazenadas sob refrigeração ($4\pm 1^\circ\text{C}$) durante 28 dias.



Médias seguidas de letras minúsculas iguais em diferentes bebidas no mesmo tempo (dias) diferem significativamente ao nível de 5% de significância pelo teste de Duncan; Médias seguidas de letras maiúsculas iguais na mesma bebida não diferem significativamente ao nível de 5% de significância pelo teste de Duncan; BLFCFRA: Bebida láctea fermentada, sabor acerola, com farinha de resíduo de acerola; BLFSFRA: Bebida láctea fermentada, sabor acerola, sem farinha de resíduo de acerola.

A diminuição do pH com elevação da acidez no período de armazenamento, possivelmente está relacionada a ação do *Lactobacillus acidophilus*, microrganismo conhecido pela grande capacidade de produção de ácido láctico no meio de fermentação. De acordo com Thamer e Penna (2006) a acidez está relacionada com a aceitação dos produtos lácteos fermentados e a produção de ácido láctico é responsável por proporcionar sabor ácido característico desses produtos.

Quanto à viabilidade dos microrganismos probióticos utilizados para elaboração das bebidas lácteas fermentadas, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), preconiza que a quantidade mínima de bactérias lácteas viáveis deve ser de 10^6 UFC/porção para caracterizar o produto como bebida láctea e de 10^8 UFC/porção durante o prazo de validade, e valores menores podem ser aceitos, desde que haja a comprovação da eficácia do produto (BRASIL, 2005; BRASIL, 2008).

Os valores encontrados nesse estudo para as bactérias lácteas totais no 28º dia de prateleira estão expressos na Tabela 12. No 28º dia de armazenamento observou-se que a BLFCFRA apresentou contagem de $7,53 \text{ Log}_{10} \text{ UFC/mL}$ ($3,4 \times 10^7$) e a BLFSFRA $7,08$

Log₁₀ UFC/mL ($1,2 \times 10^7$), velando-se em consideração a porção de 200 mL, estabelecida na RDC 359/2003, para bebidas lácteas. Contagens superiores 10,2 Log₁₀ UFC/mL e 8,50 Log₁₀ UFC/mL foram reportadas por Fornelli *et al.* (2014) ao avaliar os efeitos da inulina e oligofrutose nas características microbiológicas de bebidas lácteas simbióticas e por Ramos *et al.* (2013) analisando a viabilidade de culturas probióticas em bebida láctea sabor cajá.

Tabela 12 – Viabilidade das bactérias lácteas totais de bebidas lácteas fermentadas, sabor acerola, armazenadas sob refrigeração ($4 \pm 1^\circ\text{C}$) durante 28 dias.

Bebidas lácteas fermentadas	Período (Dias) / Log ₁₀ UFC/mL		
	T ₀	T ₁₄	T ₂₈
BLFSFRA	8,50 ^{Ba}	7,76 ^{Cb}	7,08 ^{Ab}
BLFCFRA	8,47 ^{Ba}	7,53 ^{Bb}	7,53 ^{Cc}

^{abc}Médias seguidas de letras iguais na horizontal não diferem significativamente ao nível de 5% de significância pelo teste de Duncan.

^{ABC}Médias seguidas de letras iguais na vertical não diferem significativamente ao nível de 5% de significância pelo teste de Duncan.

BLFSFRA: Bebida láctea fermentada, sabor acerola, sem farinha de resíduo de acerola; BLFCFRA: Bebida láctea fermentada, sabor acerola, com farinha de resíduo de acerola.

Alguns fatores, tais como o nível de acidez nos produtos durante o armazenamento refrigerado, e a sensibilidade para as substâncias produzidas pelas bactérias podem causar perda de viabilidade de microrganismos probióticos em produtos lácteos (OJANSIVU *et al.*, 2011). A Manutenção da viabilidade das bactérias probióticas durante o armazenamento representa um desafio tecnológico significativa nos alimentos fermentados que apresentam um valor de pH baixo, e, por conseguinte, têm um curto prazo de validade. A temperatura de armazenamento influencia a sobrevivência dos probióticos, como demonstrado por Conrad *et al.* (2000), que relatou que o armazenamento congelado estabiliza os microrganismos em comparação com o armazenamento refrigerado.

Com isso, observa-se que as contagens de bactérias lácticas totais apresentaram valores satisfatórios, atendendo assim a legislação que preconiza um mínimo de 10^6 UFC/porção para caracterização do produto como bebida láctea (BRASIL, 2005), no entanto, não atendeu a quantidade mínima estabelecida pela legislação para alimentos funcionais (mínimo de 10^8 UFC/porção) para ser considerado um produto com alegação probiótica (BRASIL, 2008), perdendo o potencial valor probiótico antes do 28º dia de armazenamento. Portanto, verifica-se que são necessários avanços na pesquisa com

vistas a modificações nas condições experimentais que proporcionem melhor crescimento das culturas de bactérias lácteas.

4. CONCLUSÕES

A farinha do resíduo de acerola (*Malpighia emarginata*), proveniente do processamento do fruto, constitui uma alternativa viável, para o enriquecimento de produtos alimentícios, especialmente no que se refere ao teor de fibras dietéticas e de compostos com ação antioxidantes.

A bebida láctea fermentada, sabor acerola, adicionada de farinha do resíduo de acerola apresentou atributos sensoriais satisfatórios que contribuíram para a aceitabilidade do produto. Entretanto, a formulação com 30% de soro lácteo e 2% de farinha se destacou por exibir médias numericamente mais elevadas para os atributos sensoriais investigados, índice de aceitabilidade e intenção de compra.

A bebida láctea fermentada sabor acerola com 30% de soro lácteo e 2% de farinha de resíduo de acerola, apresentou características físico-químicas adequadas e elevado valor nutricional, especialmente no que se refere ao teor de fibras dietéticas, assim como, no teor de ácido ascórbico e compostos fenólicos totais.

Apresentaram boa estabilidade quanto ao pH, acidez e contagem de bactérias lácteas, atendendo a legislação que preconiza um mínimo de 10^6 UFC/porção para caracterização do produto como bebida láctea porém, não atendeu a quantidade mínima estabelecida pela legislação para ser considerado um produto com alegação probiótica (mínimo de 10^8 UFC/porção). Portanto, observa-se a necessidade de continuidade deste estudo com vista a aprimorar as condições experimentais e obter um produto com características funcionais satisfatórias.

REFERÊNCIAS

AGUIAR, T.M.D.; RODRIGUES, F.D.S.; SANTOS, E.R.D.; SABAA-SRUR, A.U.D.O. Caracterização química e avaliação do valor nutritivo de sementes de acerola. **Nutrire**, v.35, n.2, p.91–102, 2010.

AMERICAN PUBLICA HEALTH ASSOCIATION (APHA); AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION (AWWA); WATER ENVIRONMENT FEDERATION (WEF). **Standard methods for the examination of dairy products**. 17th Ed., Washington DC., 552p., 2004)

AQUINO, A.C.M.S.; MOES, R.S.; LEÃO, K.M.M.; FIGUEREDO, A.V.D.; CASTRO, A.A. avaliação físico-química e aceitação sensorial de biscoitos tipo cookies elaborados com farinha de resíduos de acerola. *Revista Instituto Adolfo Lutz*, São Paulo, v.69, n.3, p.379-386, 2010.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS – AOAC. **Official methods of the analysis of the association of oficial analytical chemists**. 17th. Whashigton: AOAC, p. 1105-1106, 1990.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS – AOAC. **Official methods of the analysis of the association of oficial analytical chemists**. 17th. Whashigton: AOAC, 2002.

BALESTRO, E.A.; SANDRI, E.A.; FONTANA, R.C. Utilização de bagaço de uva com atividade antioxidante na formulação de barra de cereais. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v.13, n.2, p.203-209, 2011.

BRASIL. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) n. 2, 07 de janeiro de 2002. Aprova o Regulamento Técnico de Substâncias Bioativas e Probióticos Isolados com Alegação de Propriedades Funcionais e ou de Saúde. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 9 jan. 2002.

_____. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução RDC nº 263, de 23 de dezembro de 2003. REGULAMENTO TÉCNICO DE PORÇÕES DE ALIMENTOS EMBALADOS PARA FINS DE ROTULAGEM NUTRICIONAL. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, dez., 2003.

_____. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução RDC nº 263, de 23 de setembro de 2005. Regulamento Técnico para Produtos de Cereais, Amidos, Farinhas e Farelos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, set., 2005.

_____. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). Alimentos. Comissões e Grupos de Trabalho. **Comissão Tecnocientífica de Assessoramento em Alimentos Funcionais e Novos Alimentos**. Alimentos com Alegações de Propriedades Funcionais e ou de Saúde, Novos Alimentos/Ingredientes, Substâncias Bioativas e Probióticos. Atualizado em julho de 2008. IX - Lista de alegações de propriedade funcional aprovadas.

_____. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução RDC nº 54, de 12 de novembro de 2012. Dispõe sobre o Regulamento Técnico sobre Informação Nutricional Complementar. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 12 nov., 2012.

_____. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO (MAPA). Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. **Resolução** nº 05, 13 de novembro de 2000.

Oficializa os Padrões de Identidade e Qualidade (PIQ) de Leites Fermentados. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 27 nov. 2000, Seção 1, p. 9.

_____. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO (MAPA). Legislação, SISLEGIS: Sistema de Consulta à Legislação. Instrução Normativa n. 16, de 23 de agosto de 2005. Aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Bebidas Lácteas. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 24 ago. 2005, seção 1.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.E., BERSET, C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensmittel Wissenschaft und Technologie**, v.28, p.25-30, 1995.

CAETANO, A.C.S.; ARAÚJO, C.R.; LIMA, V.L.A.G.; MACIEL, M.I.S.; MELO, E.A. Evaluation of antioxidant activity of agro-industrial waste of acerola (*Malpighia emarginata* DC) fruit extracts. **Food Science and Technology**. v. 31, n.3, p. 769, 2011.

CONRAD, P.B.; MILLER, D.P.; CIELENSKI, P.R.; DEPABLO, J.J. Stabilization and preservation of *Lactobacillus acidophilus* in saccharide matrices. **Cryobiology**, v. 41, n. 1, p. 17-24, 2000.

ETHUR, E.M.; ZANATTA, C.L.; SCHLABITZ, C. Avaliação físico-química e microbiológica de farinhas obtidas a partir de vegetais não conformes à comercialização. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v.21, n.3, p.459–468, 2010.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF UNITED NATIONS/ WORLD HEALTH ORGANIZATION – FAO/WHO. **Evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food powder milk with live lactic acid bacteria**, Cordoba, 2002.

FERREIRA, M.S.L.; SANTOS, M.C.P.; MORO, T.M.A.; BARROS, G.J.; ANDRADE, R.M.S.; GONÇALVES, É.B.A. Formulation and characterization of functional foods based on fruit and vegetable residue flour. **Journal Food Science and Technology**, v.52, n.2, p.822-830, 2015.

FORNELLI, A.R.; BANDEIRA, N.S.; COSTA, M.R.; SOUZA, C.H.B; SANTANA, E.H.W.; SIVIERI, K.; ARAGON-ALEGRO, L.C. Effect of inulin and oligofructose on the physicochemical, microbiological and sensory characteristics of symbiotic dairy beverages. *Semina: Ciências Agrárias*, Londrina, v.35, n.6, p.3099-3112, nov/dez, 2014.

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

HASNAOUI, A.; ELHOUMAIZI, M.A.; HAKKOU, A.; WATHELET, B.; SINDIC, M. Physico-chemical characterization, classification and quality evaluation of date palm fruits of some Moroccan cultivars. **Journal of Scientometric Research**, v. 3, p.139-149, 2011.

INSTITUTE OF MEDICINE OF THE NATURAL ACADEMIES – IOM. **Dietary reference intakes for vitamin C, vitamin E, selenium and carotenoids**. Washington: National Academy Press, 2000.

_____. **Dietary reference intakes for energy, carbohydrate, fiber, fat, fatty acids, cholesterol, protein and amino acids.** Washington: National Academy Press, 2005

LEONG, L.P.; SHUI, G. An investigation of antioxidant capacity of fruit in Singapore markets. **Food Chemistry**, Washington, v.76, p.69-75, 2002.

MARQUES, T.R.; CORRÊA, A.D.; LINO, J.B.; ABREU, C.M. Pato; SIMÃO, A.A. Chemical constituents and technological functional properties of acerola (*Malpighia emarginata* DC.) waste flour. **Food Science and Technology**, Campinas, v.33, n.3, p.526-531, July/sept, 2013.

MADSEN, H.L.; BERTELSEN, G. Spices as antioxidants. **Trends in Food Science & Technology**, v.6, n.8, p.271-277, 1995.

MELO, E.A.; MACIEL, M.I.S.; LIMA, V.L.A.G.; ARAÚJO, C.R. Teor de fenólicos totais e capacidade antioxidante de polpas congeladas de frutas. *Alim. Nutri.*, Araraquara, v.19, n.1, p.67-72, jan/mar, 2008.

MILIAUSKAS, G.; VENSKUTONIS, P.R.; VAN BEEK, T.A. Screening of radical scavenging activity of some medical and aromatic plant extracts. *Food Chemistry*, Washington, v.85, n.2, p.231-237, 2004.

MUÑOZ, A. M; CIVILLE, V. G; CARR, B. T. Sensory evaluation in quality control. New York: Van Nostrand Reinhold. 1992.

NÓBREGA, E.M.; OLIVEIRA, E.L.; GENOVESE, M.I.; CORREIA, R.T.P. The impact of hot air drying on the physical-chemical characteristics, bioactive compounds and antioxidant activity of acerola (*Malpighia emarginata*) reduce. **Journal of Food Processing and Preservation**. v.39, 2014.

NENADIS, N.; WANG, L.F.; TSIMIDOU, M.; ZHANG, H.Y. Estimation of scavenging activity of phenolic compounds using the ABTS assay. **J. Agric. Food Chemistry**, v.52, n.15, p.4669-4674, 2004.

OSBONE, D.R.; VOOGT, P. **The analysis in nutrient of foods.** London: Academic, p.158, 1978.

OJANSIVU, I.; FERREIRA, C. L.; IMINEN, S. S. Yacon, a new source of prebiotic oligosaccharides with a history of use. **Trends in Food Science and Technology**, v. 22, n. 1, p. 40-46, 2011.

PANDURANG, M.; SACHIN, K.S.; SHALINI, S.A. Effect of flaxseed flour addition on physicochemical and sensory properties of functional bread. **Food Science and Technology**, v.58, p.614-619, 2014.

PARK, Y. S.; LEONTOWICZ, M.; LEONTOWICZ, H.; HAM, K.S.; KANG, S.G.; PARK, Y. K.; GORINSTEIN, S. Fluorescence and ultraviolet spectroscopic evaluation of phenolic compounds, antioxidant and binding activities in some kiwi fruit cultivars. **Journal Spectroscopy Letters**, v.48, n.8, p.586-592, 2015.

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

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; EVANS, C.R. Antioxidants activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology & Medicine**, v.26, n.9/10, p.1231-1237, 1999.

RITZINGER, R.; RITZINGER, C.H.S.P. Acerola. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.32, n.264, p.17-25, set./out, 2011.

RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. **A guide to carotenoids analysis in food**. ILSI Press: Washington, 1999.

ROCKENBACH, I.I.; SILVA, G.L.; RODRIGUES, E.; KUSKOSKI, E.M.; FETT, R. Influência do solvente no conteúdo total de polifenóis, antocianinas e atividade antioxidante de extratos de bagaço de uva (*Vitis vinifera*) variedades Tannat e Ancelota. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.28, p.238-244, 2008.

ROCHA, L.S.; CARDOSO, S.R.A. Implicações nutricionais e sensoriais da polpa e casca de baru (*Dipterix Alata vog.*) na elaboração de pães. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.29, n.4, p.820-825, 2009.

SAAD, N.; DELATTRE, C.; URDACI, M.; SCHMITTRE, J.M.; BRESSOLLIER, P. An overview of last advances in probiotic and prebiotic field. **Food Science and Technology**, v.50, p.1-16, 2013.

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

STORCK, C.R.; BASSO, C.; FAVARIN, F.R.; RODRIGUES, A.C. Qualidade microbiológica e composição de farinhas de resíduos da produção de suco de frutas em diferentes granulometrias. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v.18, n.4, p.277-284, out./dez., 2015.

SOQUETTA, M.B.; STEFANELLO, F.S.; HUERTA, K.M.; MONTEIRO, S.S.; ROSA, C.S.; TERRA, N.N. Characterization of physiochemical and compounds, of flour made from the skin and bagane of kiwi fruit (*Actinidia deliciosa*). **Food Chemistry**, v.99, p.471-478, 2016.

SOUZA, M.S.B.; VIEIRA, L.M.; SILVA, M.J.M.; LIMA, A. Caracterização nutricional e compostos antioxidantes em resíduos de polpas de frutas tropicais. **Revista Ciência Agrária**, Lavras, v.35, p. 554-559, maio/jun., 2011.

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

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

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

WETTASINGHE, M.; SHAHIDI, F. Evening primrose meal: a source of natural antioxidants and scavenger of hydrogen peroxide and oxygen-derived free radicals. **Journal Agricultural Food Chemistry**, v.47, n.5, p.1801-1812, 1999.

YANGILAR, F. Effects of green banana flour on the physical, chemical and sensory properties of ice cream. **Food Technology and Biotechnology**, v.53, n.3, p.315-323, 2015.

ÇAKMAKÇI, S.; TOPDAS, E.F.; KALIN, P.; HAN, H.; SEKERCİ, P.; KÖSE, L.P.; GÜLÇİN, İ. Antioxidant capacity and functionality of oleaster (*Elaeagnus angustifolia* L.) flour and crust in a new kind of fruity ice cream. **International Journal of Food Science and Technology**, v.50, p.472-481, 2015.

ANEXO I

UNIVERSIDADE DE
PERNAMBUCO/ PROPEGE/



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Aproveitamento tecnológico de resíduos da agroindústria para o desenvolvimento de bebida láctea fermentada sabor acerola (*Malpighia emarginata*) com características simbióticas

Pesquisador: Regina Ceres Carolino Corrêa de Souza

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 51125615.8.0000.5207

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.680.250

Apresentação do Projeto:

Trata-se de um projeto pesquisa de dissertação do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal Rural de Pernambuco, através do qual pretende-se avaliar o aproveitamento tecnológico de resíduos da agroindústria para o desenvolvimento de bebida láctea fermentada sabor acerola (*Malpighia emarginata*) com características simbióticas. Os resíduos provenientes do processamento da acerola (cascas e sementes) podem ser transformados em farinhas, que possuem diversos componentes, tais como fibras, vitaminas e compostos antioxidantes, apresentam efeitos benéficos à saúde. Objetivou-se com esta pesquisa desenvolver formulações de bebidas lácteas com culturas probióticas, à base de soro de leite, adicionadas de polpa de acerola e farinha de resíduos de acerola, obtida por desidratação em estufa com circulação de ar forçada. Assim como, caracterizar a farinha obtida dos resíduos de acerola quanto a composição centesimal e avaliar a estabilidade das formulações selecionadas, a partir da análise sensorial, quanto à estabilidade, através de análises físico-químicas e microbiológicas durante o período de vida de prateleira.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Geral

Desenvolver formulações de bebidas lácteas com culturas probióticas, à base de soro de leite,

Endereço: Av. Agamenon Magalhães, s/nº

Bairro: Santo Amaro

CEP: 50.100-010

UF: PE

Município: RECIFE

Telefone: (81)3183-3775

Fax: (81)3183-3775

E-mail: comite.etica@upe.br

UNIVERSIDADE DE
PERNAMBUCO/ PROPEGE/



Continuação do Parecer: 1.680.250

adicionadas de polpa de acerola e farinha de resíduos de acerola.

Objetivos específicos

Elabora farinha a partir de resíduo de acerola;

- Determinar a composição físico-química da farinha de resíduo de acerola;
- Elaborar formulações de bebida láctea fermentada sabor acerola com adição de culturas probióticas e farinha de resíduo de acerola;
- Avaliar a aceitabilidade e intenção de compra das formulações de bebida láctea fermentada através de análise sensorial;
- Determinar a composição físico-química das bebidas selecionadas na análise sensorial;
- Avaliar a estabilidade das formulações selecionadas, através de análises físico-químicas e a estabilidade dos probióticos durante o período de vida de prateleira.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Presentes

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisa em pauta é aplicada e pode dar origem a um novo produto alimentício. O projeto prevê os ensaios através dos quais será avaliada a aceitabilidade do produto.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos os termos foram devidamente apresentados.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Aprovado

Considerações Finais a critério do CEP:

O pleno acompanha o parecer do relator.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_610084.pdf	14/07/2016 18:13:00		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento /	TCLE.docx	14/07/2016 18:09:44	Regina Ceres Carolino Corrêa de	Aceito

Endereço: Av. Agamenon Magalhães, s/nº

Bairro: Santo Amaro

CEP: 50.100-010

UF: PE

Município: RECIFE

Telefone: (81)3183-3775

Fax: (81)3183-3775

E-mail: comite.etica@upe.br

UNIVERSIDADE DE
PERNAMBUCO/ PROPEGE/



Continuação do Parecer: 1.680.250

Justificativa de Ausência	TCLE.docx	14/07/2016 18:09:44	Souza	Aceito
Outros	CurriculoRegina.pdf	17/11/2015 20:11:53	Regina Ceres Carolino Corrêa de Souza	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto.doc	15/11/2015 02:22:23	Regina Ceres Carolino Corrêa de Souza	Aceito
Outros	CurriculoCeliane.jpg	29/10/2015 23:40:31	Regina Ceres Carolino Corrêa de Souza	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	cartadeanuencia.pdf	29/10/2015 23:34:37	Regina Ceres Carolino Corrêa de Souza	Aceito
Folha de Rosto	folhaDeRosto.pdf	29/10/2015 23:32:34	Regina Ceres Carolino Corrêa de Souza	Aceito
Outros	Confidencialidade.pdf	15/10/2015 23:37:20	Regina Ceres Carolino Corrêa de Souza	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

RECIFE, 16 de Agosto de 2016

Assinado por:
Jael Maria de Aquino
(Coordenador)

Endereço: Av. Agamenon Magalhães, s/nº

Bairro: Santo Amaro

CEP: 50.100-010

UF: PE

Município: RECIFE

Telefone: (81)3183-3775

Fax: (81)3183-3775

E-mail: comite.etica@upe.br

ANEXO II



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



TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO
(Elaborado de acordo com a Resolução 466/2012-CNS/CONEP)

Convidamos V.Sa. a participar da pesquisa **“Aproveitamento tecnológico de resíduos da agroindústria para o desenvolvimento de bebida láctea fermentada sabor acerola (*Malpighia emarginata*) com características simbióticas”**, sob responsabilidade da pesquisadora Regina Ceres Carolino Corrêa de Souza, orientada pela Prof^a Dr^a Celiane Gomes Maia da Silva tendo por objetivo, desenvolver formulações de bebida láctea fermentada com culturas probióticas, à base de soro de leite, adicionadas de polpa de acerola e farinha de resíduos de acerola. Para realização deste trabalho usaremos o seguinte método: Avaliação sensorial de sete formulações de bebida láctea fermentada sabor acerola com culturas probióticas, à base de soro de leite, adicionadas de polpa de acerola e farinha de resíduos de acerola. A avaliação será realizada por meio de um questionário referente à aceitação e intenção de compra das referidas formulações. Manteremos em anonimato, sob sigilo absoluto, durante e após o término do estudo, todos os dados que identifiquem o sujeito da pesquisa usando apenas, para divulgação, os dados inerentes ao desenvolvimento do estudo. Informamos também que após o término da pesquisa, serão destituídos de todo e qualquer tipo de mídia que possa vir a identificá-lo tais como filmagens, fotos, gravações, etc., não restando nada que venha a comprometer o anonimato de sua participação agora ou futuramente. Quanto ao desconforto, a análise poderá causar, em pequeno grau, o desconforto sensorial. Para minimizar o desconforto, será oferecido água e biscoito água e sal aos participantes. No caso do participante apresentar sensibilidade ou alergias, o mesmo será encaminhado imediatamente para Unidade de Pronto Atendimento mais próxima. Os benefícios esperados com o resultado desta pesquisa são: avaliar a aceitabilidade da bebida láctea fermentada sabor acerola com características simbióticas; analisar qual das formulações do produto será mais bem aceita pelos consumidores; identificar qual atributo deve ser melhorado; verificar se o consumidor teria o interesse de adquirir o produto e facilitar a inserção de um novo produto no mercado. O (A) senhor (a) terá os seguintes direitos: a garantia de esclarecimento e resposta a qualquer pergunta; a liberdade de abandonar a pesquisa a qualquer momento sem prejuízo para si; a garantia de que em caso haja algum dano a sua pessoa, os prejuízos serão assumidos pelos pesquisadores ou pela instituição responsável. Inclusive, acompanhamento médico e hospitalar (se for o caso). Caso haja gastos adicionais, os mesmos serão absorvidos pelo pesquisador. Nos casos de dúvidas e esclarecimentos o (a) senhor (a) deve procurar a pesquisadora Regina Ceres Carolino Corrêa de Souza, Av. José Américo de Almeida, 235, Apartamento 01/Bloco D, Macaxeira, Recife-PE, telefone 81-8347-7433 ou através do email regina_ceres@hotmail.com. Caso suas dúvidas não sejam resolvidas pelos pesquisadores ou seus direitos sejam negados, favor recorrer ao Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Pernambuco, localizado à Av. Agamenon Magalhães, S/N, Santo Amaro, Recife-PE, telefone 81-3183-3775 ou ainda através do email comite.etica@upe.br.

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

Recife, ____ de _____ de _____

Assinatura do sujeito (ou responsável)

Assinatura do pesquisador

ANEXO III



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



Nome: _____ Idade: _____ Data: ____/____/____

Escolaridade: _____

Email: _____ Fone/Celular: _____

**Teste de aceitação e intenção de compra de bebida láctea fermentada sabor acerola
(*Malpighia emarginata*) com características simbióticas**

Você está recebendo 7 amostras diferentes de bebida láctea fermentada sabor acerola com características simbióticas, codificadas aleatoriamente. Prove-as e escreva o valor que você considera correspondente a cada atributo da amostra de acordo com a escala hedônica de 9 pontos abaixo. 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 da amostra	375	268	719	674	856	584	483
Cor							
Aroma							
Sabor							
Textura							
Qualidade global							

Agora para as mesmas amostras, analise-as em relação à intenção de compra. Prove-as e escreva o valor que você considera correspondente a cada amostra de acordo com a escala de 5 pontos abaixo.

- 5 – Certamente compraria
- 4 – Talvez compraria
- 3 – Talvez compraria/Talvez não compraria
- 2 – Talvez não compraria
- 1 – Jamais compraria

Amostra 375	
Amostra 268	
Amostra 719	
Amostra 674	
Amostra 856	
Amostra 584	
Amostra 483	

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

() Menos de uma vez por semana () Mais de uma vez por semana

2) Você conhece os benefícios para a saúde associados com produtos lácteos fermentados?

() Sim () Não