



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



**DESENVOLVIMENTO DE BEBIDA LÁCTEA FERMENTADA SABOR UMBU  
(*Spondias tuberosa* ARRUDA CAMARA) COM POTENCIAL ATIVIDADE  
SIMBIÓTICA**

MARIA MEDEIROS SAMPAIO

Recife  
2016

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

**MARIA MEDEIROS SAMPAIO**

**DESENVOLVIMENTO DE BEBIDA LÁCTEA FERMENTADA SABOR UMBU  
(*Spondias tuberosa* ARRUDA CAMARA) COM POTENCIAL ATIVIDADE  
SIMBIÓTICA**

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  
Professora Adjunta do Departamento de Ciências Domésticas/UFRPE

Recife  
2016

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFRPE  
Biblioteca Central, Recife-PE, Brasil

S192d Sampaio, Maria Medeiros  
Desenvolvimento de bebida láctea fermentada sabor umbu  
(*Spondias tuberosa* Arruda Câmara) com potencial atividade  
simbiótica/ Maria Medeiros Sampaio. – 2016.  
89f. : il.

Orientadora: Celiane Gomes Maia da Silva.  
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal Rural de  
Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Ciência e  
Tecnologia de Alimentos, Recife, BR-PE, 2016.

Inclui referência(s), anexo(s) e apêndice(s)

1. Produto lácteo 2. Alimento funcional 3. Bactérias lácticas  
I. Silva, Celiane Gomes Maia da, orient. II. Título

CDD 664

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

**DESENVOLVIMENTO DE BEBIDA LÁCTEA FERMENTADA SABOR UMBU  
(*Spondias tuberosa* ARRUDA CÂMARA) COM POTENCIAL ATIVIDADE  
SIMBIÓTICA**

Maria Medeiros Sampaio

Esta dissertação foi julgada para obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos e aprovada em 31/08/16 pelo Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos em sua forma final.

Banca Examinadora:

---

Prof(a) Dr(a) Silvana Magalhães Salgado  
Departamento de Nutrição da UFPE

---

Prof(a) Dr(a) Samara Alvachian Cardoso Andrade  
Departamento de Ciências Domésticas da UFRPE

---

Prof(a) Dr(a) Eriane de Castro Lima  
Departamento de Ciências Domésticas da UFRPE

## **AGRADECIMENTOS**

À Deus por todas as oportunidades de crescimento.

À minha mãe, Dnairan, pela companhia e auxílio imensurável nos momentos mais difíceis.

Ao meu noivo, Pedro, pela atenção, paciência e ajuda ímpar para a concretização do projeto.

Ao meu sogro, Laete, pela atenção e apoio inicial para a realização do projeto.

À minha orientadora, Celiane, pela confiança, paciência e leveza que fizeram toda a diferença nesses dois anos de mestrado.

À professora Vera pela atenção e conselhos valiosos desde ingressar até concluir o mestrado.

Às professoras Edleide e Samara pela atenção e orientação para finalizar o projeto.

À Rosemary pela tranquilidade e ajuda nos momentos tensos.

Às minhas amigas, Regina, Erika, Jaqueline e Marília, pela orientação técnica, paciência, compreensão, motivação, pela companhia e risadas, e principalmente pela amizade naquele 1 ano de laboratório.

À Amanda pelos ensinamentos e boa companhia durante o período de testes no Laboratório de Microbiologia do DTR.

Às colegas da Rural, Jocelane, Lídia, Michelle, Cláudia e Camila, pela disposição em atender minhas dúvidas e especial ajuda na Análise Sensorial.

Às professoras do Programa, Celiane, Vera, Samara, Erilane, Laura, Aparecida, Enayde e Inês, pelos ensinamentos acadêmicos que levamos conosco.

À minha turma querida, Marília, Erika, Regina, Carla, Nathalia e Ricardo, pela companhia, risadas e incentivo.

“A verdadeira sabedoria consiste em saber  
como aumentar o bem estar do mundo.”

Benjamin Franklin.

## RESUMO

O desenvolvimento de bebida láctea fermentada com características funcionais, adicionada de um fruto tropical, apresenta-se como uma alternativa promissora para a Ciência e Tecnologia dos Alimentos. O objetivo deste estudo foi desenvolver formulações de bebidas lácteas a partir de culturas probióticas e adição de prebiótico e polpa de umbu (*Spondias tuberosa* Arruda Câmara). Foi utilizada a metodologia de superfície de resposta com a finalidade de avaliar a influência do soro lácteo (20%, 30% e 40%) e de FOS (Frutooligossacarídeos) (2%, 4% e 6%) sobre os atributos sensoriais Cor, Sabor, Aroma, Consistência e Qualidade Global, além de Intenção de compra. Os ensaios experimentais foram realizados de acordo com o planejamento fatorial de  $2^2$  completo totalizando 7 ensaios. As formulações foram submetidas à análise sensorial de aceitação, intenção de compra e ao Cálculo de Índice de Aceitabilidade para seleção da formulação com melhores resultados. Esta foi submetida às análises físico-químicas, composição centesimal e avaliação da estabilidade durante 28 dias de estocagem refrigerada. A avaliação do efeito das variáveis demonstrou que o FOS contribuiu para a cor, sabor e intenção de compra, enquanto que o soro apresentou influência apenas na cor da bebida láctea. A polpa de umbu apresentou resultados satisfatórios quanto a avaliação físico-química condizentes à literatura. A análise sensorial apontou o ensaio 3, com 6% de FOS e 20% de soro de leite, como a bebida láctea com melhor aceitação sensorial. A bebida láctea selecionada apresentou acidez igual a 0,73g de ácido láctico/100g, pH baixo (4,02), Sólidos Totais 16,77°Brix e teores baixos de carotenoides (0,167 mg/100mL) e Fenólicos Totais (0,541 mgGAE/100mL). Quanto à composição centesimal, apresentou elevada umidade, baixo teor de lipídios e cinzas, e teor protéico em conformidade com a legislação. Quanto à vida de prateleira, apresentou boa estabilidade quanto ao pH, acidez e contagem de bactérias lácticas (6 log UFC/mL) ao final de 28 dias de armazenamento, concentração mínima preconizada pela legislação. Portanto, os resultados obtidos apresentaram características sensoriais, físico-químicas e funcionais satisfatórias, adequadas à Legislação vigente, configurando uma bebida tecnologicamente viável.

**Palavras-chaves:** Produto lácteo, alimento funcional, bactérias lácticas.

## ABSTRACT

The development of fermented milk drink with functional characteristics, added a tropical fruit, it is a promising alternative for Food Science and Technology. The aim of this study was to develop a fermented dairy beverage formulations from probiotic cultures and prebiotic addition and umbu pulp (*Spondias tuberosa* Arruda Câmara). It was used the response surface methodology in order to evaluate the influence of whey (20%, 30% and 40%) and FOS (fructooligosaccharides) (2%, 4% and 6%) on the sensory attributes color, flavor, aroma, consistency and Global Quality, and purchase intention. The assays were performed according to the full factorial design of  $2^2$  totaling 7 tests. Sensory analysis of acceptance and purchase intention, and calculation Acceptability Index were made for formulation selection with better results. This formulation was subjected to physical and chemical analysis, chemical composition and assessment of stability during 28 days of refrigerated storage. The evaluation of the effect of the variables showed that FOS contributed to the color, taste and purchase intent, while the whey showed influence only in the color of milk drink. The pulp umbu presented satisfactory results as the physical-chemical evaluation in accordance with the literature. Sensory analysis showed the test 3, with 6% of FOS and 20% of whey, such as milk drink with better sensory acceptance. The milk drink presented acidity of 0.73g lactic acid / 100 g, low pH (4.02), Soluble Solids 16.77°Brix, in accordance with the use of ingredients and technology. Carotenoids and Phenolic Totals presented at low levels, 0.167 mg / 100 mL and 0.541 mgGAE / 100mL, respectively. About the Centesimal Composition, the milk drink had high moisture, low in fat and ash and protein content in accordance with the law. During the storage period, the milk drink showed good stability for pH and acidity and bacterial of lactic acid count  $1,6 \times 10^6$  CFU/mL at the end of 28 days of storage, minimum concentration recommended by the legislation. Therefore, it is concluded that the fermented drink of umbu is technologically viable, stable up to 28 days of cold storage about functional and sensory point of view.

**Keywords:** dairy product, functional food, lactic acid bacteria.



## LISTA DE FIGURAS

|               |                                                                          |           |
|---------------|--------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>Fig. 1</b> | Superfície de resposta da cor em função do soro (%) e FOS (%) .....      | <b>52</b> |
| <b>Fig. 2</b> | Superfície de resposta do sabor em função do soro (%) e FOS (%) .....    | <b>52</b> |
| <b>Fig. 3</b> | Superfície de resposta da intenção de compra em função do soro (%) ..... | <b>52</b> |

## LISTA DE TABELAS

|               |                                                                                                                                                                                                                  |           |
|---------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>Tab. 1</b> | Formulações das bebidas lácteas fermentadas geradas pelo Planejamento Fatorial $2^2$ completo com 3 pontos centrais.....                                                                                         | <b>34</b> |
| <b>Tab. 2</b> | Características físico-químicas e de Composição Centesimal da polpa de umbu destinada à preparação das bebidas lácteas .....                                                                                     | <b>43</b> |
| <b>Tab. 3</b> | Média dos resultados da análise sensorial das variáveis dependentes do Planejamento Fatorial $2^2$ para bebidas lácteas fermentadas sabor umbu .....                                                             | <b>47</b> |
| <b>Tab. 4</b> | Percentual das notas de intenção de compra obtidas na análise sensorial de bebida láctea fermentada sabor umbu                                                                                                   | <b>50</b> |
| <b>Tab. 5</b> | Efeito das variáveis independentes (Soro e FOS) sobre os atributos sensoriais (Cor, Sabor, Aroma, Consistência, Qualidade Global) e Intenção de Compra da bebida láctea fermentada sabor umbu .....              | <b>51</b> |
| <b>Tab. 6</b> | Índice de Aceitabilidade dos 7 ensaios de bebidas lácteas fermentadas sabor umbu .....                                                                                                                           | <b>53</b> |
| <b>Tab. 7</b> | Características físico-químicas e compostos bioativos da bebida láctea fermentada sabor umbu .....                                                                                                               | <b>54</b> |
| <b>Tab. 8</b> | Composição Centesimal da bebida láctea fermentada sabor umbu com 20% de soro lácteo e 6% de FOS.....                                                                                                             | <b>59</b> |
| <b>Tab. 9</b> | Acidez, pH e viabilidade das bactérias lácticas durante o período de armazenamento sob refrigeração à 3°C de bebida láctea fermentada sabor umbu (Formulação 3) e de bebida controle (sem adição de polpa) ..... | <b>62</b> |

## SUMÁRIO

|                                                                                                                                                                                |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1. INTRODUÇÃO .....                                                                                                                                                            | 12 |
| 2. PROBLEMA DE PESQUISA E HIPÓTESE .....                                                                                                                                       | 14 |
| 3. REVISÃO DE LITERATURA .....                                                                                                                                                 | 15 |
| 3.1 Probióticos, prebióticos e simbióticos .....                                                                                                                               | 15 |
| 3.2 Soro de Leite .....                                                                                                                                                        | 17 |
| 3.3 Bebidas Lácteas .....                                                                                                                                                      | 19 |
| 3.4 Umbu ou Imbu ( <i>Spondias tuberosa</i> ) .....                                                                                                                            | 20 |
| 3.5 Compostos antioxidantes .....                                                                                                                                              | 22 |
| 4. REFERÊNCIAS .....                                                                                                                                                           | 25 |
| 5. ARTIGO: Desenvolvimento de bebida láctea fermentada com cultura probiótica e adição de frutooligossacarídeos e polpa de umbu ( <i>Spondias tuberosa</i> ARRUDA CÂMARA)..... | 29 |
| 5.1 Resumo .....                                                                                                                                                               | 29 |
| 5.2 Abstract .....                                                                                                                                                             | 31 |
| 5.3 Introdução .....                                                                                                                                                           | 32 |
| 5.4 Material e Métodos .....                                                                                                                                                   | 34 |
| <i>Planejamento experimental de bebidas lácteas fermentadas</i> .....                                                                                                          | 34 |
| <i>Elaboração de bebidas lácteas fermentadas</i> .....                                                                                                                         | 35 |
| <i>Análise físico-química e de Composição Centesimal da polpa de umbu</i> .....                                                                                                | 36 |
| <i>Análise Sensorial das formulações de bebida láctea fermentada</i> ....                                                                                                      | 38 |
| <i>Análise físico-química e de compostos bioativos da bebida láctea fermentada</i> .....                                                                                       | 39 |
| <i>Análise de Composição Centesimal da bebida láctea fermentada</i> .....                                                                                                      | 40 |
| <i>Avaliação da Estabilidade da bebida láctea fermentada</i> .....                                                                                                             | 41 |
| <i>Análise Estatística</i> .....                                                                                                                                               | 42 |
| 5.5 Resultados e Discussão .....                                                                                                                                               | 43 |
| <i>Análise físico-química e de Composição Centesimal da polpa de umbu</i> .....                                                                                                | 43 |
| <i>Análise Sensorial de formulações de bebida láctea fermentada</i> .....                                                                                                      | 46 |
| <i>Análise físico-química e de Composição Centesimal da bebida láctea fermentada</i> .....                                                                                     | 54 |

|                                                       |           |
|-------------------------------------------------------|-----------|
| <i>Estabilidade da bebida láctea fermentada</i> ..... | <b>61</b> |
| <b>5.6</b> Conclusões .....                           | <b>68</b> |
| <b>5.7</b> Referências .....                          | <b>70</b> |
| <b>6.</b> CONSIDERAÇÕES FINAIS.....                   | <b>83</b> |
| <b>7.</b> APÊNDICES .....                             | <b>84</b> |
| <b>8.</b> ANEXOS .....                                | <b>86</b> |

## 1. INTRODUÇÃO

Produtos lácteos fermentados são utilizados como veículos alimentares para o fornecimento de probióticos aos consumidores de todo o mundo. Alguns benefícios atribuídos aos probióticos incluem equilíbrio microbiano intestinal, desenvolvimento e estimulação do sistema imunológico, síntese e aumento da biodisponibilidade de nutrientes e redução dos sintomas de intolerância à lactose. Para conseguir efeitos probióticos, a ingestão mínima deve ser de 100 a 150 mL do produto com  $10^6$  a  $10^7$  bactérias viáveis por mL. Além dos benefícios à saúde, a indústria de laticínios tem investido em produtos probióticos devido às vantagens sensoriais que algumas cepas bacterianas conferem ao produto final (EKINCI; GUREL, 2008; OELSCHLAEGER, 2010; WANG *et al.*, 2012; DA COSTA, 2013).

Os prebióticos inseridos em bebidas juntamente com probióticos estimulam seletivamente a proliferação e atividade de populações dessas bactérias desejáveis no cólon do intestino, induzindo efeitos sistêmicos benéficos dentro do hospedeiro. Desta forma, são elaborados os produtos simbióticos, onde microrganismos vivos são ingeridos com seus substratos específicos para permitir uma ação mais eficaz do produto bioterapêutico. (SCOURBOUTAKOS, 2010; KOMATSU; RENHE, 2008).

Dentre os produtos lácteos fermentados bastante consumidos destaca-se a bebida láctea. Bebida láctea é o produto lácteo resultante da mistura do leite adicionado com substâncias alimentícias, como gordura vegetal e fermentos lácteos. O conhecimento sobre a concentração e qualidade da composição protéica do soro de leite o levou a ser considerado um importante ingrediente na preparação de produtos lácteos pela indústria alimentícia e consistiu em uma saída inteligente para redução de seu descarte e efeito poluidor em cursos d'água. As proteínas do soro representam cerca de 20% das proteínas totais do leite, apresentando atividades antimicrobianas e anticarcinogênicas (ANTUNES; PACHECO, 2009; PORTO; SANTOS; MIRANDA, 2005).

Como ingrediente opcional, bebidas lácteas fermentadas podem ser adicionadas de substâncias alimentícias para incorporar sabor e aumentar a aceitação e variedade desses alimentos. Dentre essas substâncias destacam-se as frutas na forma de sucos, polpas, geleias, entre outras. O umbu pode ser

considerado uma excelente opção por se tratar de um fruto carnoso e de sabor agridoce. É uma espécie endêmica da caatinga do Nordeste brasileiro, de nome científico *Spondias tuberosa*, pertencente à família Anacardiaceae. Os diversos produtos alimentícios possíveis de serem fabricados a partir do fruto umbu aumentam a oferta de produtos e reduzem as perdas dos produtores, enriquecendo o mercado atacadista e a economia extrativista local (POLICARPO, 2003; EMBRAPA, 2011).

Neste contexto, o desenvolvimento de uma bebida láctea fermentada à base de soro de leite e culturas probióticas, adicionada de prebióticos, com opção de sabor de um fruto tropical, apresenta-se como uma alternativa bastante promissora na área de Ciência e Tecnologia de alimentos. O objetivo da presente pesquisa foi desenvolver formulações de bebidas lácteas fermentadas sabor umbu a partir de diferentes porcentagens de prebióticos e soro de leite. Os objetivos específicos que conduziram a pesquisa consistiram em: Caracterizar a polpa de umbu utilizada na preparação de bebidas lácteas, selecionar a formulação de bebida láctea com melhor desempenho na avaliação sensorial, caracterizar a bebida selecionada quanto às características químicas e nutricionais, e avaliar sua estabilidade quanto à viabilidade dos microrganismos probióticos e características físico-químicas durante o período de vida de prateleira.

## **1. PROBLEMA DE PESQUISA E HIPÓTESE**

O desenvolvimento de uma bebida láctea fermentada com características funcionais adicionado de um fruto tropical típico do Nordeste brasileiro será viável do ponto de vista tecnológico e nutricional?

A produção de bebida láctea fermentada sabor umbu elaborada com bactérias probióticas e frutooligossacarídeos contribuirá para a redução do descarte do soro de leite como agente poluidor do meio ambiente e como alternativa de maior aproveitamento do excedente de safra do umbu, através de um alimento viável quanto às características sensoriais, tecnológicas e nutricionais.

### 3. REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 Probióticos, prebióticos e simbióticos

Uma variedade de microrganismos possui uma longa história de usos como agentes fermentadores, inicialmente para a preservação de alimentos. Alguns dos microrganismos fermentativos, como as bactérias lácticas, são habitantes endógenos de mucosas dos humanos. Essas colônias de bactérias ou leveduras são chamadas de probióticos e residem no nosso trato gastrointestinal, na mucosa da boca e vagina, atuando como a primeira linha de defesa do nosso organismo contra patógenos potencialmente danosos quando inalados ou ingeridos (SAAD; CRUZ; FARIA, 2011).

O termo probiótico tem origem grega e significa “a favor da vida”. Segundo a ANVISA (2002), probióticos são microrganismos vivos capazes de melhorar o equilíbrio microbiano intestinal produzindo efeitos benéficos à saúde do indivíduo. Alguns benefícios atribuídos aos probióticos incluem também o desenvolvimento e estimulação do sistema imunológico, síntese e aumento da biodisponibilidade de nutrientes, redução dos sintomas de intolerância à lactose e do risco de certas doenças. Para perturbações previstas ou já instaladas, pode-se compensar os desequilíbrios com a administração de probióticos ou simbióticos, úteis para humanos e animais (DA COSTA, 2013; WANG *et al.*, 2012; OELSCHLAEGER, 2010).

Entretanto, somente no início do século XX foram reconhecidas cientificamente as funções específicas dos probióticos em nosso organismo. A partir de então, bactérias e leveduras probióticas começaram a ser largamente utilizadas e disponíveis na forma de suplementos alimentares. A indústria de laticínios também tem investido em produtos probióticos devido às vantagens sensoriais que algumas cepas bacterianas conferem ao produto final. *Lactobacillus acidophilus*, por exemplo, pode produzir compostos reconhecidos como componentes importantes para o sabor de leites fermentados, como o acetaldeído (COSTA; CONTE-JUNIOR, 2013; EKINCI; GUREL, 2008).



Os gêneros de bactérias mais investigados são os *Lactobacillus* e as *Bifidobacterium* são os que apresentam dados mais consistentes. De fato, o gênero *Bifidobacterium* é típico da microbiota que predomina no intestino de humanos. Já os *lactobacillus* são subdominantes, com populações bastante flutuantes. As espécies mais usadas hoje são *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. fermentum*, *L. plantarum*, *B. bifidum* e *B. longum*. Estudos demonstram que lactobacilos vivos podem competir com a *Helicobacter pylori*, bactéria diretamente associada à ocorrência de úlceras, e que sua ingestão regular por meio de iogurtes reduz a ocorrência de infecções vaginais por cândida. Entre as leveduras, a *Saccharomyces boulardii* é a única amplamente testada em ensaios laboratoriais e clínicos. Foi isolada de frutos asiáticos que eram usados na medicina local para tratar diarreias (CRAVEIRO; CRAVEIRO, 2003).

Muitas vezes utilizados em associação com probióticos, os prebióticos são carboidratos que atuam como suporte nutricional para o crescimento de microrganismos probióticos. Os frutooligossacarídeos (FOS) contribuem para o equilíbrio da flora intestinal desde que o consumo diário do produto pronto forneça no mínimo 5 g de FOS por porção. Por definição, são ingredientes alimentares não digeríveis pelo hospedeiro que estimulam seletivamente a proliferação e/ou atividade de populações de bactérias desejáveis no cólon. A lactulose e os frutooligossacarídeos (FOS) são os prebióticos mais estudados e comercializados. O primeiro aumenta a atividade lactofermentativa de populações de *Lactobacillus* e os FOS estimulam seletivamente o crescimento de *Bifidobacterium*, produtor da enzima beta-fructosidase que degrada FOS (BRASIL, 2002; SCANTLEBURY-MANNING; GIBSON, 2004; BRASIL, 2005).

Por sua vez, os produtos simbióticos são combinações de probióticos com prebióticos, onde microrganismos vivos são ingeridos com seus substratos específicos para permitir uma ação mais eficaz do produto bioterapêutico. No entanto, alguns fatores podem afetar a viabilidade de bactérias probióticas no produto alimentício, como a acidez da bebida, presença de oxigênio, interações entre as espécies e condições de estocagem. Neste caso, a suplementação com prebióticos é uma alternativa para aumentar a contagem de bactérias bífidas e garantir a sua sobrevivência durante a passagem pelo trato digestivo superior, resultando em um produto simbiótico (KOMATSU; RENHE, 2008; SCOURBOUTAKOS, 2010).

Enquanto prebióticos são relativamente fáceis de serem manipulados em bebidas lácteas, há muitos obstáculos para a utilização de probióticos. A viabilidade do probiótico é a medida mais importante de sua qualidade, uma vez que os efeitos benéficos dependem de sua sobrevivência. O nível populacional do microrganismo deve ser suficientemente igual ou superior a 10 milhões de células por grama de conteúdo para que exerça adequadamente sua função. A ingestão diária de um probiótico é, pois, indispensável para manter níveis artificialmente elevados do microrganismo no ecossistema digestivo. Os prebióticos auxiliam no desenvolvimento deste, mantendo sua viabilidade no trato digestivo e contribuindo para o efeito benéfico (BRASIL, 2002).

Não obstante, estudos mostram um aumento considerável de bifidobactérias, lactobacilos e populações anaeróbias totais em intestinos de aves quando alimentadas por uma dieta contendo uma combinação de galacto-oligossacarídeos e *Bifidobacterium lactis*. Outros autores concordaram que um produto simbiótico exibiu melhores efeitos do que as preparações contendo apenas prebiótico ou probiótico. Tanto os probióticos, como os prebióticos e simbióticos são classificados como alimentos funcionais, ou seja, possuem outras funções além de seu papel nutricional. Novos dados sobre as interações entre esses com seus hospedeiros e a microbiota normal ampliaram as possibilidades na prevenção e tratamento de infecções (JUNG *et al.*, 2008; AWAD, *et al.*, 2009; REVOLLEDO *et al.*, 2009; VANDEPLAS *et al.*, 2009; GAGGIA *et al.*, 2010).

### 3.2 Soro de Leite

Entende-se por soro de leite o líquido residual obtido a partir da coagulação do leite destinado à fabricação de queijos ou de caseína. Este produto é classificado em doce e ácido. O soro doce é o produto lácteo líquido extraído da coagulação do leite no processo de fabricação de queijo por meio de ação enzimática, devendo o pH estar entre 6,0 e 6,8. O soro ácido é o produto lácteo líquido extraído da coagulação do leite por meio de acidificação, devendo o pH estar inferior a 6,0 (MAPA, 2013).

O conhecimento de sua composição protéica levou-o a ser considerado um importante ingrediente na preparação de produtos lácteos pela indústria alimentícia.

O emprego de proteínas como agentes funcionais, além de agregar valor à subprodutos que representam impasse para as indústrias, proporcionam características organolépticas aos alimentos desejadas pelos consumidores. O soro de leite é excelente exemplo da possibilidade desta aplicação (MAPA, 2005).

Este produto representa 85-90% do volume de leite e retém 55% dos nutrientes. Os nutrientes mais abundantes presentes são lactose (4,5 a 5% w/v), proteínas solúveis (0,6 a 0,8% w / v), lipídios e sais minerais. As proteínas do soro hidrolisado são quebradas em peptídios, o que facilita o processo de digestão, diminuindo também o potencial de alergenicidade. A hidrólise protéica não prejudica o valor nutricional, o qual continua elevado. São empregados, sobretudo, em alimentos para praticantes de esportes e crianças (SISO, 1996; SHINMOTO et al, 1992; COLBERT; DECKER, 1991).

Quanto às principais funções biológicas, as proteínas do leite (basicamente caseínas) e proteínas do soro estão envolvidas na reparação celular (muscular e óssea), fornecimento de energia e regulação de processos metabólicos. As proteínas do soro representam cerca de 20% das proteínas totais do leite, sendo suas principais frações a  $\beta$ -lactoglobulina,  $\alpha$ -lactoalbumina, albumina sérica e as imunoglobulinas. Estas últimas apresentam atividades contra bactérias patogênicas e leveduras como a *Candida albicans*. Demais peptídeos com ação antibacteriana são originados a partir da  $\alpha$ -lactoalbumina. A albumina sérica se une aos ácidos graxos e cálcio agindo como um carreador passivo destas substâncias, enquanto a  $\beta$ -lactoglobulina, fonte importante do aminoácido cisteína, estimula a síntese da glutathione, um tripeptídeo produzido no fígado e considerado anticarcinogênico (ANTUNES; PACHECO, 2009).

Quanto ao aspecto ambiental, o soro de leite representa um importante poluidor de cursos d'água devido a altos volumes de produção e o alto teor de matéria orgânica que eleva o consumo de oxigênio e reduz a vida aquática. Nos últimos anos, esforços consideráveis têm sido feitos para encontrar novos caminhos para a utilização de soro de leite na indústria alimentar, como a produção de bebidas fermentadas à base de soro de leite (KOUTINAS et al, 2009; GUIMARÃES et al, 2010; MAGALHÃES et al, 2011).

### 3.3 Bebidas Lácteas

Um produto lácteo é obtido a mediante qualquer tipo de leite, podendo conter aditivos alimentícios e outros ingredientes funcionalmente necessários para sua elaboração. Entende-se por bebida láctea o produto lácteo resultante da mistura do leite, podendo este estar em suas diferentes formas: *in natura*, pasteurizado, esterilizado, reconstituído, concentrado, em pó, integral, desnatado ou semidesnatado, e soro de leite (líquido, concentrado e em pó) adicionado ou não de substâncias alimentícias, como gordura vegetal. A base Láctea representa pelo menos 51% da massa total de ingredientes do produto (MAPA, 2005).

Bebida láctea fermentada é o produto lácteo supracitado fermentado mediante a ação de cultivos de microrganismos específicos e/ou adicionado de leites fermentados e que não poderá ser submetido a tratamento térmico após a fermentação. Após a sementeira do leite pasteurizado por um cultivo iniciador selecionado, esses microrganismos provocam a acidificação e coagulação do leite, e em seguida o produto é refrigerado. A contagem total de bactérias lácticas viáveis deve ser no mínimo de  $10^6$  UFC/g, no produto final, para os cultivos lácticos específicos empregados, durante todo o prazo de validade. É comum combinar *Lactobacillus* e Bifidobactérias com *Streptococcus thermophilus*, já que este último metaboliza a lactose e baixa o pH, reduzindo o tempo necessário para a fermentação, além de consumir o oxigênio, facilitando o desenvolvimento de *Bifidobacterium* (MAPA, 2005; ORDONEZ, 2005; MAPA, 2007).

São muitos os microrganismos que metabolizam a lactose como substrato produzindo compostos de menor peso molecular (glicose e galactose). A fermentação láctica ocorre pela ação de bactérias lácticas homo e heterofermentativas seguida de formação de ácido láctico. As fermentações que produzem ácido láctico são as mais importantes para a indústria de laticínios. A acidificação espontânea é o fenômeno mais comum observado no leite mantido na temperatura ambiente. O leite acidificado tem odor e sabor diferentes do ácido láctico puro, pelo fato de também haver formação de outros compostos como diacetil e acetaldeído, importantes para o aroma característico de bebidas lácteas fermentadas (ORDONEZ, 2005).

Dessa forma, os alimentos fermentados estão entre os mais antigos alimentos processados e há milênios têm formado uma parte tradicional da dieta na maioria dos países. As fermentações lácticas estão entre as mais importantes fermentações comerciais. Melhoram as propriedades nutricionais, conferem aroma e textura desejáveis em alimentos e apresentam baixo custo de energia e operação. A composição de bebidas lácteas fermentadas inclui como ingredientes obrigatórios o leite, soro de leite e cultivos de bactérias lácticas específicas e/ou leites fermentados. Entre os ingredientes opcionais adicionados às bebidas lácteas estão citados na legislação produtos lácteos (manteiga, creme, gorduras e proteínas do leite) e não lácteos (açúcares, maltodextrina, edulcorantes, frutas em pedaços, polpa ou suco, geleias, gelatinas, mel, cereais, chocolate, café, entre outros) (MAPA, 2005).

#### 3.4 Umbu (*Spondias tuberosa*)

O Brasil possui um grande número de espécies frutíferas nativas e exóticas de potencial interesse para a agroindústria e fonte de renda para a população local. Estas frutas representam excelente oportunidade para os produtores locais de obter acesso aos consumidores que valorizam o caráter exótico das frutas e seu valor nutricional e terapêutico frente à doenças degenerativas. Há ainda o potencial de uso das polpas de frutas tropicais e de seus subprodutos para isolar fitoquímicos específicos para aplicação em suplementos nutricionais, aditivos alimentares, novos produtos alimentares e farmacêuticos, contribuindo para a valorização de resíduos de processos agroindustriais com maior impacto industrial, econômico e ambiental (ALVES et al, 2008; AYLA-ZAVALA et al, 2011).

No Nordeste do Brasil há muitas áreas onde o clima e solo são especialmente favoráveis à produção de frutos tropicais. A produção e processamento de frutos constituem importantes atividades econômicas para o país, não só devido à comercialização regional relevante, mas também em relação ao crescimento dos mercados nacional e internacional. Os países em desenvolvimento continuam a ser responsáveis por 98% da produção global. O Brasil é o terceiro na produção de frutos frescos e transformados em todo o mundo, seguido por China e Índia. Para frutas tropicais, o Brasil é considerado o maior produtor do mundo; com 47% da sua

produção utilizado no mercado de fruta fresca e 53% no processamento (FAO, 2009; IBRAF, 2009; CLERICI; CARVALHO-SILVA, 2011; TIBURSKI, et al., 2011).

O umbu (*Spondias tuberosa* Arruda Câmara) pertence à família Anacardiaceae, espécie endêmica da caatinga do Nordeste brasileiro. É uma fruta de rápida sazonalidade e perecibilidade. O período de safra compreende o mês de dezembro até final de março. O fruto é caracterizado como uma drupa arredondada, de cor verde amarelada, casca fina e lisa, com endocarpo chamado “caroço”, grande, branco, suberoso e enrugado, localizado na parte central do fruto, no interior do qual se encontram os lóculos, que podem ou não conter uma semente (POLICARPO, 2003; EMBRAPA, 2011).

Euclides da Cunha definiu o umbuzeiro em sua obra “Os Sertões” como a árvore sagrada do sertão: “Se não existisse o umbuzeiro, aquele trato de sertão, tão estéril, estaria despovoado”, escreveu. De fato, tal é a resistência da árvore que frutifica mesmo nas piores estiagens, graças a um tipo de tubérculo que cresce nas raízes do umbuzeiro, tecnicamente chamado de xilopódio. Cada pé tem milhares deles, escondidos debaixo da terra, rente ao chão. São capazes de armazenar água por décadas, garantindo a sobrevivência tanto da própria árvore quanto das pessoas. É uma espécie de grande importância para o bioma da Caatinga. Além de sobreviver sob as condições hostis do clima semiárido, o umbuzeiro consegue produzir uma grande quantidade de frutos ricos em carboidratos e ácidos orgânicos, entre eles a vitamina C (ácido ascórbico), apresentando ainda, teores significativos da pró-vitamina A, B1 e sais minerais (EMBRAPA, 2011).

Os frutos de umbu possuem excelente sabor e aroma, boa aparência e qualidade nutritiva, muito consumidos na forma *in natura*, apresentando rendimento médio de 55 a 65 % em polpa, com potencial para a sua utilização na forma processada como polpa congelada, sucos, néctares, sorvetes, doces, umbuzada, licor, xarope de umbu, pasta concentrada, batida e umbu cristalizado. A polpa deve ser obtida de frutos frescos, são e maduros. Não deve conter sujidades, parasitas, fragmentos de insetos e partes não comestíveis. As características físicas, químicas e organolépticas da polpa não devem ser alteradas pelos equipamentos, utensílios, recipientes e embalagens durante o processamento. (BRASIL, 2000; EMBRAPA, 2011).

Durante a colheita realizada manualmente, ocorre perda considerável de umbu maduro, devido à falta de infraestrutura adequada. A comercialização dos frutos do umbuzeiro é a principal fonte de renda para a maioria dos pequenos agricultores durante a época de safra, realizada nas margens da rodovia e feiras livres. O extrativismo do umbu é uma importante fonte de renda e de absorção de mão-de-obra para as famílias rurais da região semi-árida. Estima-se que o negócio agrícola do umbu gire em torno de 6 milhões de reais por ano na colheita, beneficiamento e comercialização do fruto. A produção pode variar de 65 a 300 quilos de frutos por planta (POLICARPO, 2003; EMBRAPA, 2011).

Ao final do processamento, a massa de subprodutos obtidos de culturas tropicais pode se aproximar ou mesmo exceder a do produto valorizado correspondente, o que afeta a economia do cultivo de culturas tropicais. Subprodutos de frutas são feitos de cascas, sementes e/ou polpa não utilizados que são gerados por diferentes etapas do processo industrial e comumente perdidos ou descartados. A economia do processamento de culturas tropicais poderia ser melhorada através do desenvolvimento do uso de maior valor para os seus subprodutos. A plena utilização dos frutos pode levar ao aumento da rentabilidade industrial, benefícios econômicos para os produtores e ambientais, proporcionando maior diversidade de produtos (MILJKOVIC; BIGNAMI, 2002; PESCHEL et al, 2006; AJILA et al, 2007; AYALA-ZAVALA et al, 2010; GORINSTEIN et al, 2011).

### 3.5 Compostos Antioxidantes

Sabe-se que o consumo de fruta e vegetais reduz a incidência de doenças cardiovasculares, desordens neurológicas como as doenças de Alzheimer e Parkinson, acidente vascular cerebral, câncer, diabetes e doenças relacionadas ao envelhecimento. Este efeito é atribuído à presença de antioxidantes em frutas e vegetais capazes de preservar o equilíbrio do binômio oxidantes/antioxidantes no organismo, perturbado quando há excesso de produção de Espécies Reativas de Oxigênio (ROS) no organismo, culminando no processo chamado Estresse Oxidativo (VALKO et al, 2006; VALKO et al, 2007; ZAFRA-STONE et. al, 2007; ZUJKO; WITKOWSKA, 2014).

O estresse oxidativo envolve uma série complexa de reações químicas que culminam na formação de radicais livres. Radicais livres altamente reativos estão presentes em sistemas biológico se podem interagir com moléculas de ácidos nucleicos, proteínas, lipídios de membrana e DNA, oxidando-os e causando as doenças degenerativas. Um átomo de hidrogênio é retirado de uma cadeia molecular insaturada (que apresenta ligações instáveis) e um átomo de oxigênio é adicionado em seu lugar, formando os radicais peróxidos. Cada radical peróxido pode retirar um hidrogênio de uma molécula não oxidada e desencadear uma série de reações de decomposição e de formação de novos radicais livres (SERAVALLI, 2007).

Neste contexto, os compostos antioxidantes, tais como aminoácidos, peptídios, proteínas, carotenoides, flavonóides e outros compostos fenólicos em alimentos desempenham funções importantes de proteção à saúde. Os antioxidantes naturais ou sintéticos interferem na participação do oxigênio ou atuam como inibidores da reação, fazendo papel de doadores de hidrogênio ou aceptores de radicais livres. Esse mecanismo sugere uma competição entre os antioxidantes e a propagação da reação em cadeia com a presença do substrato normal da reação (SERAVALLI, 2007).

Dietas ricas em fitoquímicos têm atraído grande atenção, devido justamente à prevenção de doenças causadas por estresse oxidativo, em especial os compostos fenólicos e carotenoides. O efeito dos antioxidantes fenólicos se deve à formação de radicais mais estáveis, os quais reduzem a velocidade da reação e o número de radicais livres reativos. São excelentes doadores de hidrogênio ou elétrons, de modo que sua eficácia está relacionada com a estabilidade de seus radicais intermediário se consequente falta de posições adequadas em sua estrutura para ataque pelo oxigênio molecular. Entre os antioxidantes naturais, o tocoferol, composto fenólico, é o mais ativo e apresenta atividade de vitamina E (SERGENT et al, 2010; SNYSER et al, 2011; BUENO et al, 2012; TANAKA et al, 2012).

Os carotenóides são compostos precursores de vitamina A. Somente os carotenoides que contêm em suas moléculas a estrutura cíclica da beta-ionona apresentam atividade de pró-vitamina A. Algumas das misturas mais complexas de carotenoides são encontradas em frutas cítricas. Durante a maturação, grandes



quantidades de carotenoides são formadas. Os mais frequentes são alfa e beta-caroteno e xantofilas. O alfa-caroteno possui uma molécula de pró-vitamina A e o beta-caroteno possui duas. Os carotenoides apresentam propriedades antioxidantes, conhecidos por reagir com o oxigênio e, portanto, proteger as células dos radicais livres. O licopeno é conhecido por ser especialmente eficiente na complexação do oxigênio “singlet” (SERAVALLI, 2007).

Além dos alimentos de origem vegetal, produtos lácteos fermentados têm sido frequentemente estudados para possíveis efeitos fisiológicos benéficos, tais como antimutagenicidade, imunoestimulação, atividades antitumorais e prevenção contra patógenos. Estudos relataram que bebidas fermentadas com bactérias lácticas e grãos de kefir apresentaram maior atividade antioxidante do que as variedades de bebidas não fermentadas. Além disso, uma possível atividade antioxidante do soro de leite também foi relatada que inclui a quelação de metais de transição pela albumina do soro e pela lactoferrina (glicoproteína de ligação de ferro), e uma atividade de eliminação de radicais livres pelos aminoácidos tirosina e cisteína (LIU et al, 2005; VIRTANEN et al, 2006; SIRIRAT; JELENA, 2010; ABDOLMALEKI *et al.*, 2015).

Diante do exposto, a atividade antioxidante de uma bebida láctea fermentada está relacionada a diferentes grupos de compostos bioativos que podem ser provenientes dos ingredientes bem como da tecnologia utilizados em sua preparação, de modo que sua avaliação se torne igualmente complexa e abrangente.

#### 4. REFERÊNCIAS

ABDOLMALEKI, F.; ASSADI, M. M.; AKBARIRAD, H. Assessment of beverages made from milk, soya milk and whey using Iranian kefir starter culture. **International Journal of Dairy Technology**, 2015.

ADOLFO, L. Normas Analíticas. Métodos Físico-Químico para Análise de Alimentos, **Instituto Adolfo Lutz**, 4 ed., São Paulo, 2008.

ANTUNES, A.E.C.; PACHECO, M.T.P. **Leite para adultos: mitos e fatos frente a ciência**. Editora varela, 2009, p. 457.

ANTUNES, A. J. **Funcionalidade de Proteínas do Soro de Leite Bovino**. Ed. 1. Barueri, SP: Manole, 2003.

ARAÚJO, F.P.; SANTOS, C.A.F.; CAVALCANTI, N.B. **Cultivo do Umbuzeiro: Instruções Técnicas**. Embrapa Semi-árido n 24. Petrolina - PE, 2000.

AOAC. Association of Official Analytical Chemistry. **Official Methods of Analysis**. v. 2, ed. 17, 2002, Washington.

AWAD, W.A., GHAREEB, K., ABDEL-RAHEEM, S., BOHM, J. Effects of dietary inclusion of probiotic and synbiotic on growth performance, organ weights, and intestinal histomorphology of broiler chickens. 2009. **Poultry Science**, n 88, p. 49–55.

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

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

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, MAPA. **IN nº 19, 19 de Junho de 2013**. Decreto nº 6.871, de 04 de junho de 2009. Lei nº 8.918, de 14 de julho de 1994.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, ANVISA. **Regulamento Técnico de Substâncias Bioativas e Probióticos Isolados com Alegação de Propriedades Funcional e ou de Saúde**. RDC n.º 2, 7 de janeiro de 2002.

CARDELLI, H.R. **Desenvolvimento de queijo *petit-suisse* simbiótico**. Tese Doutorado. Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, 133p. 2006.

CLERICI, M. T. P. S.; CARVALHO-SILVA, L. B. Nutritional bioactive compounds and technological aspects of minor fruits grown in Brazil. **Food Research International**, n. 44, 2011.

COSTA, M. P., CONTE-JUNIOR, C. A. Leites fermentados como alimentos funcionais. **Animal Business Brasil**, 2013, n 3, p. 60–65.

CRAVEIRO, A. A.; CRAVEIRO, A. C. Alimentos Funcionais: A nova revolução. Ed. Artmed. São Paulo, 2003.

EKINCI, F. Y., GUREL, M. Effect of using propionic acid bacteria as an adjunct culture in yogurt production. **Journal Dairy Science**, 2008, n. 91, p. 892–899.

EMBRAPA; FILHO, J. M. P. L. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, MAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, EMBRAPA. **Ecofisiologia do umbuzeiro (*Spondias tuberosa* Arruda Câmara)**. Documento Online n 240, 2011. Petrolina, PE. Disponível em <http://www.cpatsa.embrapa.br>

FAO. Food and Agriculture Organization of United Nations. World Health Organization. **Evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria**. Córdoba, 2001, p. 34.

FELLOWS, P.J. **Tecnologia do Processamento de Alimentos: Princípios e Práticas**. Ed. Artmed, v. 2, 2006.

GAGGIA, F., MATTARELLI, P., BIAVATI, B. Probiotics and prebiotics in animal feeding for safe food production. **International Journal of Food Microbiology**, 2010, n.141, p. 15–S28.

JUNG, S.J., HOUDE, R., BAURHOO, B., ZHAO, X., LEE, B.H. Effects of galacto-oligosaccharides and a Bifidobacteria lactis-based probiotic strain on the growth performance and fecal microflora of broiler chickens. **Poultry Science** n. 87, 2008, p.1694–1699.

KOMATSU, T.R., BURITI, F.C.A.; SAAD, S.M.I. Inovação, persistência e criatividade superando barreiras no desenvolvimento de alimentos probióticos. **Brasilian Journal of Pharmaceutical Sciences**.v.44, n.3, p.329-347, 2008.

OELSCHLAEGER, T. A. Mechanisms of probiotic actions, A review. **International Journal Medical Microbiology**, 2010, v. 300, p. 57–62.

ORDONEZ, J.A. **Tecnologia de Alimentos**. Vol. 2, Porto Alegre: Artmed, 2005.

PORTO, L.M.; SANTOS, R.C.; MIRANDA, T.L.S. **Determinação das melhores condições operacionais do processo de produção da ricota**. Boletim CEPPA, v. 23, n. 1, p. 173 – 182, 2005.

POLICARPO, V. M. et al. Aprovechamiento de la pulpa de “umbu” (*Spondias tuberosa* Arr. Cam.) verde como alternativa para la producción de dulces em masa. **Alimentaria**, n. 344, p. 75-77, 2003.

RENHE, I.R.T.; VOLP, A.C.P.; BARBOSA, K.B.F.; STRINGHETA, P.C. Prebiótico se os benefícios de seu consumo na saúde. **Revista Brasileira de Nutrição Clínica**.v.23, n.2, p.119-126, 2008.

REVOLLEDO, L., FERREIRA, C.S.A., FERREIRA, A.J.P. Prevention of Salmonella typhimurium colonization and organ invasion by combination treatment in broiler chicks. **Poultry Science** n. 88, 2009, p. 734–743.

SCANTLEBURY-MANNING, T., GIBSON, G.R. Prebiotics. *Best Practice and Research Clinical Gastroenterology* n.18, 2004, p. 287–298.

SCOURBOUTAKOS, M. Synbiotics: combining the power of pre- and probiotics. *Journal of Food Science Education* n. 9, 2010, p. 36–37.

TIBURSKI, J. H.; ROSENTHAL, A.; DELIZ, R.; GODOY, R. L. O.; PACHECO, S. Nutritional properties of yellow mombin (*Spondia mombin* L.) pulp. *Food Research International*, n. 44, 2011.

VANDEPLAS, S., DUBOIS-DAUPHIN, R., THIRY, C., BECKERS, Y., WELLING, G.W., THONART, P., THEWIS, A. Efficiency of a *Lactobacillus plantarum*-xylanase combination on growth performances, microflora populations, and nutrient digestibilities of broilers infected with *Salmonella typhimurium*. *Poultry Science* n. 88, 2009, p. 1643–1654.

WANG, S., ZHU, H., LU, C. KANG, Z., LUO, Y., FENG, L., LU, X. Fermented milk supplemented with probiotics and prebiotics can effectively alter the intestinal microbiota and immunity of host animals. *Journal Dairy Science*, 2012, v. 95, p. 4813–4822.

## 5. RESULTADOS (ARTIGO)

### DESENVOLVIMENTO DE BEBIDA LÁCTEA FERMENTADA COM CULTURA PROBIÓTICA E ADIÇÃO DE FRUTOOLIGOSSACARÍDEOS E POLPA DE UMBU (*Spondias tuberosa* ARRUDA CÂMARA)

#### Resumo

O objetivo deste estudo foi desenvolver formulações de bebidas lácteas fermentadas a partir de culturas probióticas e adição de prebiótico e polpa de umbu (*Spondias tuberosa* Arruda Câmara). Foi utilizada a metodologia de superfície de resposta com a finalidade de avaliar a influência do soro lácteo (20%, 30% e 40%) e de FOS (Frutooligossacarídeos) (2%, 4% e 6%) sobre os atributos sensoriais Cor, Sabor, Aroma, Consistência e Qualidade Global, além de Intenção de compra. Os ensaios experimentais foram realizados de acordo com o planejamento fatorial de  $2^2$  completo totalizando 7 ensaios. Foram realizadas análise sensorial de aceitação e intenção de compra, e cálculo de Índice de Aceitabilidade para seleção da formulação com melhores resultados. Esta foi submetida às análises físico-químicas, composição centesimal e avaliação da estabilidade durante 28 dias de estocagem refrigerada. A avaliação do efeito das variáveis demonstrou que o FOS contribuiu para a cor, sabor e intenção de compra, enquanto que o soro apresentou influência apenas na cor da bebida láctea. A polpa de umbu apresentou resultados satisfatórios quanto a avaliação físico-química condizentes à literatura. A análise sensorial apontou o ensaio 3, com 6% de FOS e 20% de soro de leite, como a bebida láctea com melhor aceitação sensorial. A bebida láctea apresentou acidez igual a 0,73g de ácido láctico/100g, pH baixo (4,02) e Sólidos Solúveis 16,77°Brix condizentes com os ingredientes e com a tecnologia utilizados. Os carotenoides e Fenólicos Totais se apresentaram em baixos teores, 0,167 mg/100mL e 0,541 mgGAE/100mL, respectivamente. Quanto à composição centesimal a bebida láctea apresentou umidade elevada, baixo teor de lipídios e cinzas, e teor protéico em conformidade com a legislação. A bebida também apresentou boa estabilidade quanto ao pH, acidez e contagem de bactérias lácticas (6 log UFC/mL) ao final dos 28 dias de armazenamento, concentração mínima preconizada pela legislação. Logo, conclui-se que a bebida fermentada sabor umbu

é tecnologicamente viável, estável até 28 dias de armazenamento refrigerado, do ponto de vista funcional e sensorial.

**Palavras-chaves:** Produto lácteo, alimento funcional, bactérias lácticas.

**Abstract**

The aim of this study was to develop a fermented dairy beverage formulations from probiotic cultures and prebiotic addition and umbu pulp (*Spondias tuberosa* Arruda Câmara). It was used the response surface methodology in order to evaluate the influence of whey (20%, 30% and 40%) and FOS (fructooligosaccharides) (2%, 4% and 6%) on the sensory attributes color, flavor, aroma, consistency and Global Quality, and purchase intention. The assays were performed according to the full factorial design of  $2^2$  totaling 7 tests. Sensory analysis of acceptance and purchase intention, and calculation Acceptability Index were made for formulation selection with better results. This formulation was subjected to physical and chemical analysis, chemical composition and assessment of stability during 28 days of refrigerated storage. The evaluation of the effect of the variables showed that FOS contributed to the color, taste and purchase intent, while the whey showed influence only in the color of milk drink. The pulp umbu presented satisfactory results as the physical-chemical evaluation in accordance with the literature. Sensory analysis showed the test 3, with 6% of FOS and 20% of whey, such as milk drink with better sensory acceptance. The milk drink presented acidity of 0.73g lactic acid / 100 g, low pH (4.02), Soluble Solids 16.77°Brix, in accordance with the use of ingredients and technology. Carotenoids and Phenolic Totals presented at low levels, 0.167 mg / 100 mL and 0.541 mgGAE / 100mL, respectively. About the Centesimal Composition, the milk drink had high moisture, low in fat and ash and protein content in accordance with the law. During the storage period, the milk drink showed good stability for pH and acidity and bacterial of lactic acid count  $1,6 \times 10^6$  CFU/mL at the end of 28 days of storage, minimum concentration recommended by the legislation. Therefore, it is concluded that the fermented drink of umbu is technologically viable, stable up to 28 days of cold storage about functional and sensory point of view.

**Keywords:** dairy product, functional food, lactic acid bacteria.



## Introdução

Produtos lácteos fermentados são utilizados como veículos alimentares para o fornecimento de probióticos aos consumidores de todo o mundo. Alguns benefícios atribuídos aos probióticos incluem equilíbrio microbiano intestinal, desenvolvimento e estimulação do sistema imunológico, síntese e aumento da biodisponibilidade de nutrientes e redução dos sintomas de intolerância à lactose. A indústria de laticínios tem investido em produtos fermentados devido às vantagens sensoriais que algumas cepas bacterianas conferem ao produto final (EKINCI; GUREL, 2008; OELSCHLAEGER, 2010; WANG *et al.*, 2012; DA COSTA, 2013).

Segundo o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), bebida láctea é o produto lácteo resultante da mistura do leite (*in natura*, pasteurizado, esterilizado, UHT, reconstituído, concentrado em pó, integral, semidesnatado e desnatado) e soro de leite (líquido, concentrado e em pó) adicionado ou não de produtos alimentícios, gordura vegetal, leites fermentados, fermentos lácteos selecionados e outros produtos lácteos. A base láctea representa pelo menos 51% m/m do total de ingredientes do produto (BRASIL, 2005).

Os prebióticos inseridos em bebidas juntamente com probióticos estimulam seletivamente a proliferação e atividade de populações dessas bactérias desejáveis no cólon do intestino, induzindo efeitos sistêmicos benéficos dentro do hospedeiro. Desta forma, são elaborados os produtos simbióticos, onde microrganismos vivos são ingeridos com seus substratos específicos para permitir uma ação mais eficaz do produto bioterapêutico. Além de um produto funcional, a própria composição da bebida láctea fermentada a caracteriza como um alimento bastante nutritivo. Sabe-se que as proteínas do soro representam cerca de 20% das proteínas totais do leite, apresentando atividades antimicrobianas, antioxidantes e anticarcinogênicas (KOMATSU; RENHE, 2008; ANTUNES; PACHECO, 2009; SCOURBOUTAKOS, 2010).

Para melhorar as características sensoriais e agregar mais valor por meio de substâncias bioativas, frutos tropicais podem ser adicionados às bebidas lácteas fermentadas. Dentre as polpas, o umbu representa excelente opção por ser um fruto carnoso e de sabor agridoce. Pertencente à família Anacardiaceae, o umbu, de nome científico *Spondias tuberosa*, é uma espécie endêmica da caatinga do

Nordeste brasileiro. Além de desempenhar papel nutricional, a comercialização dos frutos do umbuzeiro é a principal fonte de renda para a maioria dos agricultores durante a época de safra. Os diversos produtos alimentícios possíveis de serem fabricados a partir da fruta umbu reduzem as perdas dos produtores e aumentam a oferta de produtos, enriquecendo o mercado atacadista e gerando acréscimos financeiros para a economia extrativista local. (POLICARPO, 2003; EMBRAPA, 2011).

Os frutos em geral possuem substâncias bioativas produzidas por seu metabolismo secundário com função de defesa contra ataques microbianos e de pragas, apresentando muitas vezes atividades antioxidantes que variam conforme tipo de fruta, solo, clima e graus de maturação. Apesar de representarem um dos mecanismos de defesa mais importantes contra a formação de radicais livres, atuando como inibidores da reação em cadeia, as moléculas antioxidantes endógenas podem não ser eficazes o suficiente para neutralizar os danos causados por Espécies Reativas de Oxigênio. Por esta razão, aumentar a ingestão de antioxidantes na dieta é de grande importância para gozar de boa saúde.(ANTOLOVICH *et al.*, 2002; BRASIL, 2002; POLICARPO *et al.*, 2007).

Diante das evidências, o objetivo do presente trabalho foi desenvolver formulações de bebidas lácteas fermentadas a partir de culturas probióticas e adição de prebióticos, à base de soro de leite e polpa de umbu (*Spondias tuberosa* Arruda Câmara). Os objetivos específicos que conduziram a pesquisa consistiram em: Caracterizar a polpa de umbu utilizada na preparação de bebidas lácteas, selecionar a formulação de bebida láctea com melhor aceitação na avaliação sensorial, caracterizar a bebida selecionada quanto à composição centesimal, análise físico-química e compostos antioxidantes, e avaliar sua estabilidade, bem como da bebida controle (sem adição de polpa de umbu), quanto à viabilidade das bactérias probióticas e às mudanças de pH e acidez durante 28 dias de refrigeração.

## Material e Métodos

### *Planejamento Experimental das bebidas lácteas fermentadas*

Para elaboração das bebidas lácteas fermentadas foi utilizada a metodologia de superfície de resposta com a finalidade de avaliar a influência da porcentagem do soro lácteo e de frutooligossacarídeos (FOS) sobre os atributos sensoriais Cor, Sabor, Aroma, Consistência e Qualidade Global, além de 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:

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

Em que  $\beta_n$  são os coeficientes de regressão,  $y$  é a resposta em questão, ou seja, os atributos sensoriais (cor, aroma, sabor, consistência e qualidade global) e SL e F são as variáveis codificadas (% do Soro Lácteo e % de Frutooligossacarídeos, respectivamente). Na **Tabela 1** verifica-se as formulações das bebidas lácteas geradas pelo planejamento fatorial  $2^2$  completo com as variáveis independentes codificadas e decodificadas.

**Tabela 1.** Formulações das bebidas lácteas fermentadas geradas pelo planejamento fatorial  $2^2$  completo com 3 pontos centrais.

| Ensaio | Soro Lácteo (%) | FOS (%) |
|--------|-----------------|---------|
| 1      | 20 (-1)         | 2 (-1)  |
| 2      | 40 (1)          | 2 (-1)  |
| 3      | 20 (-1)         | 6 (1)   |
| 4      | 40 (1)          | 6 (1)   |
| 5      | 30 (0)          | 4 (0)   |
| 6      | 30 (0)          | 4 (0)   |
| 7      | 30 (0)          | 4 (0)   |

O teor de polpa foi fixado em 20% e o de sacarose em 8%, mediante ensaios prévios. O leite desnatado em pó foi reconstituído a 12% em quantidade de água destilada complementar ao percentual de soro lácteo da formulação. A formulação com melhor aceitação foi encaminhada às etapas seguintes de caracterização do produto.

### ***Elaboração de bebidas lácteas fermentadas***

Foram necessários quatro etapas para a elaboração das bebidas lácteas fermentadas, as quais foram realizadas no Laboratório de Técnica Dietética do Departamento de Ciências Domésticas/UFRPE: 1) Obtenção da polpa de umbu; 2) Preparo do inóculo probiótico; 3) Obtenção do soro lácteo; 4) Preparo das bebidas lácteas fermentadas.

#### *Obtenção da Polpa de Umbu*

Frutos de umbu foram obtidos na Central de Abastecimento da Cidade do Recife (CEASA-PE) e transportados para o Laboratório de Processamento do Departamento de Ciências Domésticas da UFRPE em caixas de isopor. Os umbus foram selecionados de acordo com tamanho, textura e bom estado, características físicas equivalentes ao estado de maturação fisiológica medida posteriormente em 5,87° Brix. Em seguida, foram lavados em água corrente, sanitizados em solução de hipoclorito de sódio 200 ppm durante 20 minutos, cortados e despulpados com uso de despulpadeira da marca Bombina. A polpa obtida foi submetida à tratamento térmico brando na faixa de 50 – 60°C por 15 minutos, fracionada em sacos zipados próprios para alimentos e armazenada em temperatura igual a 22°C negativos.

#### *Obtenção do Soro*

O soro de leite foi obtido pelo método enzimático segundo a metodologia relatada por Furtado e Lorenço Neto (1994) para fabricação de queijo. Foram utilizados leite pasteurizado com 3% de gordura aquecido à 30°C e coagulante líquido HA-LA (Christian Hansen Ind. e Com. Ltda, Valinhos, SP, Brasil, contendo enzima microbiana produzida por cepa de *Aspergillus Niger*) diluído em água

destilada. Cerca de 40 minutos depois, a massa láctea coagulada foi cortada para melhor desprendimento do soro.

#### *Obtenção do Inóculo Probiótico*

O inóculo foi preparado a partir de leite em pó desnatado e culturas de bactérias probióticas liofilizadas BioRich® (Christian Hansen Ind. e Com. Ltda, Valinhos, SP, Brasil) contendo as seguintes espécies: *L.acidophilus*LA-5, *Bifidobacterium*BB-12 e *S. thermophilus*.. As cepas foram ativadas em leite em pó desnatado reconstituído a 12% e previamente pasteurizado em banho térmico (TE-184 Tecnal) a 95°C durante 5 minutos e resfriado a aproximadamente 42°C. Por fim foi levado a estufa a 42±1°C durante 4 horas.

#### *Preparação das formulações de bebida láctea fermentada*

As bebidas lácteas foram preparadas conforme a RDC 275 de 22 de setembro de 2005 da ANVISA que dispõe sobre as Boas Práticas de Fabricação de Alimentos. A preparação teve início com a pesagem dos ingredientes secos: açúcar (8% v/v), leite em pó desnatado (12% v/v) e frutooligossacarídeos (FOS) (2%, 4% ou 6%), os quais foram adicionados à água destilada e ao soro lácteo (20%, 30% ou 40%), dependendo da formulação. Após homogeneização, as bebidas lácteas foram pasteurizadas em banho térmico a 95°C por 5 minutos e resfriadas em banho de água até temperatura próxima a 42±1°C para posterior inoculação da cultura probiótica a 2% (v/v). A fermentação foi realizada em estufa a 42 ±1°C por 4 horas até obtenção da bebida láctea fermentada com pH próximo a 4,6. As bebidas foram resfriadas em banho de gelo, seguidas das etapas de quebra de coágulo, adição da polpa de umbu, homogeneização e refrigeração a 3°C ±1 para posteriores análises.

#### ***Análise físico-química e de Composição Centesimal da polpa de umbu***

As análises físico-químicas e de composição centesimal foram conduzidas em triplicata e realizadas no Laboratório de Análises Físico-químicas de Alimentos do Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos da UFRPE, de acordo com metodologia descrita pela AOAC (2002).

### *Sólidos Solúveis (SS)*

A determinação dos sólidos solúveis (SS) foi realizada com uso de refratômetro automático portátil r2 i300 Reichert, segundo método nº 932.12 da AOAC (2002).

### *Acidez Titulável*

A acidez titulável foi realizada pelo método de titulação e o valor calculado em equivalência a gramas de ácido cítrico e expresso em percentual, segundo método nº 942.15 da AOAC (2002).

### *pH*

O pH foi determinado através do uso de pHmetro digital TEC - 3MP Tecnal, segundo método nº 981.12 da AOAC (2002).

### *Razão SS/AT*

A razão SS/AT foi calculada através da relação entre sólidos solúveis totais e acidez titulável, segundo Reed *et al.* (1986).

### *Determinação de umidade*

O teor de umidade foi determinado pelo método de secagem por infravermelho (Balança com Infravermelho ID50 Marconi).

### *Determinação de lipídios*

A determinação do teor de lipídios foi realizada pelo método gravimétrico de extração direta da fração lipídica da amostra em Equipamento Soxhlet (Soxhlet – QUIMIS Q-308 – 23 B) por meio do solvente orgânico apolar éter etílico, segundo AOAC (2002).

### *Determinação de proteínas*

A fração protéica foi determinada pelo método de Kjeldahl, nº 920.152 da AOAC (2002), o qual a quantificação de proteínas baseia-se em 3 etapas: decomposição da matéria orgânica por combustão úmida à 400°C na presença de ácido sulfúrico concentrado e catalisador em Bloco digestor de proteínas TE 040/25-

GE; destilação por arraste de vapor em Destilador de Nitrogênio TE- 0363 Tecnal e titulação com ácido bórico 4%.

#### *Determinação de cinzas*

O resíduo mineral, também denominado Cinzas, foi determinado pelo método gravimétrico nº 940.26 da AOAC (2002) que consistiu na combustão em Mufla EDG 7000 EDGCON 1P da matéria orgânica presente na amostra a uma temperatura próxima a 550°C durante 4 horas e posterior pesagem em Balança analítica JKI modelo JK-EB-224N-03-0121.

#### ***Análise Sensorial das formulações de bebida láctea fermentada***

Esta pesquisa foi previamente submetida ao Comitê de Ética da Universidade de Pernambuco com nº de protocolo (CAAE): 55480815.0.0000.5207. As análises sensoriais foram realizadas no Laboratório de Análise Sensorial do Departamento de Ciências Domésticas da Universidade Federal Rural de Pernambuco (DCD/UFRPE), em Recife – PE. O painel sensorial foi formado por 112 provadores não treinados na faixa etária de 18 a 60 anos de idade, de ambos os sexos e diferentes níveis de escolaridade, sendo em sua maioria estudantes da própria Universidade. Foram selecionados quanto aos requisitos: gostar de umbu, não estar gripado e não ter o hábito de fumar.

Foram avaliados os seguintes atributos sensoriais: Cor, aroma, sabor, consistência e qualidade global, por meio de escala hedônica de 9 pontos (1- desgostei muitíssimo a 9- gostei muitíssimo), além de Intenção de Compra utilizando-se escala de 5 pontos (1 - jamais compraria a 5 - certamente compraria). Antes do início da avaliação, os provadores receberam instruções de uso da água e bolacha sem sal em cada troca de amostra. Também foi apresentado um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para registro do pesquisado sobre sua participação na pesquisa (DUTCOSKY, 2013).

Cada avaliador, em cabines individuais, recebeu cerca de 30 mL de cada bebida láctea refrigerada ( $3\pm 1^\circ\text{C}$ ), identificadas por códigos e oferecidas aleatoriamente. Antes de submeter as bebidas à avaliação sensorial, as mesmas foram analisadas quanto aos padrões de qualidade (Coliformes/mL ou/g – 30/35°C e

45°C e Bolores e Leveduras) segundo AOAC (2002), conforme recomendação da RDC 12/2001 (DUTCOSKY, 2013; BRASIL, 2001).

#### *Índice de Aceitabilidade*

Calculou-se o IA para cada um dos atributos avaliados de acordo com a equação:  $IA (\%) = Y \times 100/Z$ , onde Y = nota média obtida para o produto e Z= nota máxima obtida (TEIXEIRA; MEINERT; BARBETA, 1987).

#### ***Análise físico-química e de compostos bioativos da bebida láctea fermentada***

As análises físico-químicas e de compostos bioativos foram conduzidas em triplicata e realizadas no Laboratório de Análises Físico-químicas de Alimentos do Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos da UFRPE.

#### *Sólidos Solúveis (SS)*

A determinação dos sólidos solúveis totais (SST) foi realizada com uso de refratômetro automático portátil r2 i300 Reichert, segundo método nº 932.12 da AOAC (2002).

#### *Acidez Titulável*

A acidez titulável foi realizada pelo método de titulação e o valor calculado em equivalência a gramas de ácido cítrico e expresso em percentual, segundo método nº 942.15 da AOAC (2002).

#### *pH*

O pH foi determinado através do uso de pHmetro digital TEC - 3MP Tecnal, segundo método nº 981.12 da AOAC (2002).

#### *Cor*

A cor foi avaliada através de colorímetro digital Minolta modelo Chroma Meter CR-200b, previamente calibrado em superfície branca de acordo com Bible e Singha, 1997. A medição foi realizada pelo sistema de cor CIElab, onde foram medidas as coordenadas L\*, que representa a luminosidade numa escala de 0



(preto) a 100 (branco),  $a^*$  que representa uma escala de tonalidade de vermelho (0+a) a verde (0-a) e  $b^*$  que representa uma escala de amarelo (0+b) a azul (0-b), em 5 pontos diferentes em triplicata.

#### *Determinação de Carotenóides*

A extração e quantificação de carotenoides foram determinadas pelo método de Rodriguez-Amaya (1999) que consistiu em maceração, filtração e lavagem em funil de separação. A absorvância do pigmento extraído foi lido em espectrofotômetro a 450 nm.

#### *Determinação de Fenólicos Totais*

Para a determinação de fenólicos totais, foi realizada a extração dos fitoquímicos pelo método de ultrassom durante 60 minutos e os extratos hidroalcoólicos foram armazenados a 22°C negativos. A determinação de compostos fenólicos se deu pelo método Folin Ciocalteu descrito por Wettasinghe e Shahidi (1999). A leitura da absorvância foi realizada a 725 nm.

#### ***Análise de Composição Centesimal da bebida láctea fermentada***

As análises de Composição Centesimal foram conduzidas em triplicata e realizadas no Laboratório de Análises Físico-químicas de Alimentos do Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos da UFRPE, de acordo com a metodologia descrita pela AOAC (2002) e IAL (2008) para leites fermentados.

#### *Determinação de umidade*

O teor de umidade foi determinado pelo método de secagem por infravermelho (Balança com Infravermelho ID50 Marconi).

#### *Determinação de lipídios*

A determinação do teor de lipídios foi realizada pelo método gravimétrico de extração direta da fração lipídica da amostra em Equipamento Soxhlet (Soxhlet – QUIMIS Q-308 – 23 B) por meio do solvente orgânico apolar éter etílico, segundo AOAC (2002).

#### *Determinação de proteínas*

A fração protéica foi determinada pelo método de Kjeldahl, nº 920.152 da AOAC (2002), o qual a quantificação de proteínas baseia-se em 3 etapas: decomposição da matéria orgânica por combustão úmida à 400°C na presença de ácido sulfúrico concentrado e catalisador em Bloco digestor de proteínas TE 040/25-GE; destilação por arraste de vapor em Destilador de Nitrogênio TE- 0363 Tecnal e titulação com ácido bórico 4%.

#### *Determinação de cinzas*

O resíduo mineral, também denominado Cinzas, foi determinado pelo método gravimétrico nº 940.26 da AOAC (2002), adaptado para leites fermentados por Adolfo Lutz (2008), que consistiu na combustão em Mufla EDG 7000 EDGCON 1P da matéria orgânica presente na amostra a uma temperatura próxima a 550°C durante 4 horas e posterior pesagem em Balança analítica JKI modelo JK-EB-224N-03-0121.

#### *Determinação de Carboidratos*

O teor de carboidratos foi calculado pela diferença entre 100 e a soma das porcentagens de umidade, proteína, lipídeos e cinzas. Os valores de carboidratos incluem a fibra alimentar total.

#### *Determinação do valor calórico*

O valor calórico da bebida láctea fermentada foi calculada segundo a expressão matemática:

$$\text{Teor de carboidratos} \times 4 + \text{teor de proteínas} \times 4 + \text{teor de lipídios} \times 9$$

#### ***Avaliação da Estabilidade da Bebida Láctea Fermentada***

A bebida láctea com as melhores médias para os atributos cor, aroma, sabor, consistência e qualidade global, incluindo melhor intenção de compra, foi submetida às análises físico-químicas de pH e acidez titulável e viabilidade de bactérias lácticas

nos tempos 0, 14 e 28 dias de estocagem sob refrigeração ( $3^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ ). O tempo zero (T0) representou a bebida sob refrigeração poucas horas após a preparação, o tempo T14 representou a bebida sob refrigeração ( $3^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ ) durante 14 dias e o tempo T28 representou a bebida sob refrigeração durante 28 dias. O teste de estabilidade também foi realizado com a bebida láctea fermentada sem adição da polpa de umbu, na função de bebida controle, visando avaliar a influência de compostos bioativos presentes na polpa de umbu sobre o crescimento microbiano.

### *Bactérias Lácticas Totais*

A preparação das amostras (com e sem polpa de umbu) 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*. 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).

### **Análise Estatística**

Os dados foram analisados pela ANOVA utilizando-se o Teste de Duncan para comparação ao nível de 5% de significância através do Programa Computacional *Statistica for Windows 7.0* (STATSOFT, 2004).

## Resultados e Discussão

### **Análise físico-química e de Composição Centesimal da polpa de umbu**

Considerando a ausência de legislação específica referente ao Padrão de Identidade e Qualidade para polpa de umbu, os dados obtidos foram comparados com os valores para polpa de cajá, espécie do mesmo gênero *Spondias*, preconizados pela Instrução Normativa nº 01 de 2000 (MAPA), os quais se apresentaram semelhantes. Os resultados das análises físico-químicas e de composição centesimal da polpa de umbu estão apresentados na **Tabela 2**.

**Tabela 2.** Características físico-químicas e de Composição Centesimal da polpa de umbu destinada à preparação das bebidas lácteas.

| <b>Análises*</b>          | <b>Polpa de umbu<br/>(pasteurizada)</b> |
|---------------------------|-----------------------------------------|
| pH                        | 2,73±0,02                               |
| Acidez Titulável (g/100g) | 1,80±0,01                               |
| Umidade (%)               | 87,67±0,07                              |
| Sólidos Solúveis (°Brix)  | 10,57±0,06                              |
| Relação SS/AT             | 5,87±0,01                               |
| Proteínas (g/100g)        | 0,73±0,02                               |
| Lipídios (% p/p)          | 0,97±0,01                               |
| Cinzas (%)                | 0,37±0,01                               |

\*Média de triplicatas.

Quanto ao pH, a polpa de umbu apresentou pH ácido (2,73) próximo ao valor mínimo definido na legislação para polpa de cajá (pH 2,2). Também se apresentou em concordância com valores de pH para polpa de umbu *in natura* (2,47), encontrado por Paula *et al.* (2012), polpa de umbu branqueada à uma faixa de temperatura entre 88 - 96°C por um período de tempo que variou de 10 a 30 segundos (2,95), encontrado por Oliveira *et al.* (2011) e polpa de umbu-cajá *in natura* (2,40), encontrado por Santos *et al.* (2010).

O baixo valor de pH que caracteriza os frutos ácidos é devido à presença de ácidos orgânicos em sua constituição química. É possível observar que os valores de pH das polpas de umbu que sofreram tratamento térmico, pasteurização (pH 2,73) e branqueamento (pH 2,95), apresentaram-se maiores do que o pH da polpa de umbu (2,47) e umbu-cajá (pH 2,40) no estado *in natura*. Este fato pode ser atribuído ao fenômeno da volatilização dos ácidos orgânicos, como o ácido cítrico e o ácido ascórbico, que pode ter ocorrido durante o processamento térmico submetido às polpas (SANTOS *et al.*, 2014).

Quanto à acidez, a polpa de umbu apresentou 1,80g/100g de bebida láctea, acima do mínimo exigido por lei para polpa de cajá (*Spondias sp.*) (0,90 g/100g em ácido cítrico) e coerente com os resultados encontrados por Paula *et al.* (2012) (1,38g/100g para polpa de umbu *in natura*), Oliveira *et al.* (2011) (1,36g/100g para polpa de umbu branqueada) e Santos *et al.* (2010) (1,32g/100g para polpa de umbu-cajá *in natura*). A acidez está diretamente relacionada com o pH baixo encontrado na polpa de umbu. O resultado ligeiramente superior aos demais autores se deve provavelmente às diferenças de maturação dos frutos e ao efeito do calor sobre as propriedades físico-químicas da polpa *in natura* durante o tratamento térmico.

A umidade da polpa de umbu apresentou-se alta (87,67%) e ligeiramente inferior às umidades encontradas por Oliveira *et al.* (2011) para polpa de umbu branqueada (89,04%), por Paula *et al.* (2012) para polpa de umbu *in natura* (89,48%) e Santos *et al.* (2010) para polpa de umbu-cajá (91,3%). Estas divergências também podem ser explicadas pelo tratamento térmico brando, porém prolongado, da polpa de umbu no presente estudo, podendo ter ocorrido desidratação e concentração de sólidos solúveis da polpa.

O alto teor de umidade em alimentos exige maiores cuidados em sua manipulação e transporte, por se tratar de um fator intrínseco ao desenvolvimento microbiano. Entretanto, devido ao pH bastante ácido, a polpa de umbu configura-se de pouca importância para bactérias patogênicas, que se desenvolvem em pH > 4, como *Clostridium botulinum*, exigindo maior atenção para a contaminação por bolores, capazes de se desenvolver em alimentos muito ácidos (pH < 4,0). Essas espécies de fungos, no entanto, são sensíveis ao calor. Considerando a inexistência

de legislação que preconiza um método adequado de tratamento térmico para polpas de fruta e o fato deste ser considerado facultativo no processamento de vegetais, o tratamento térmico aplicado neste estudo, associado ao congelamento imediato, configura um procedimento seguro contra a contaminação microbiológica de polpa de fruta (BRASIL, 2009; FRANCO, 2008; JAY, 2005).

Quanto ao teor de sólidos solúveis, constituídos em sua maior parte por açúcares sob a forma de glicose, frutose e sacarose, a polpa de umbu apresentou a maior quantidade por mL de amostra, equivalente a 10,57°Brix. Este resultado está em conformidade com o valor mínimo de sólidos solúveis determinado por lei para polpa de cajá (*Spondias sp.*) (9,00°Brix). Quanto à literatura, o valor encontrado se aproximou mais da polpa de umbu branqueada (8,96°Brix) e da polpa de umbu-cajá in natura (10,00°Brix) do que da polpa de umbu *in natura* que apresentou menor valor (6,47°Brix), segundo Paula *et al.* (2012). A concentração de sólidos solúveis do fruto pode variar entre espécimes em função de fatores genéticos e ambientais, além de processamentos industriais como desidratação (BRASIL, 2000; LUTZ *et al.*, 2008; SANTOS *et al.*, 2010; OLIVEIRA *et al.*, 2011; PAULA *et al.*, 2012).

A relação SS/AT é uma das melhores formas de avaliação do sabor, sendo mais representativa que a medição isolada de açúcares e de acidez, e um indicativo do estágio de maturação dos frutos. O valor encontrado em umbu (5,87) está abaixo do mínimo exigido, conforme o PIQ para frutos de cajá (10,0). Porém, este valor se mostrou próximo à polpa de umbu *in natura* (4,6), estuda por Paula *et al.* (2012), e branqueada (6,5), estudada por Oliveira *et al.* (2011), indicando estágios de maturação semelhantes. O tratamento térmico também influencia na relação SS/AT, uma vez que concentra o teor de sólidos solúveis. No mercado consumidor brasileiro, a preferência é por uma relação maior, verificada por altos teores de sólidos solúveis e baixa acidez (CARVALHO, *et al.*, 2008; SANTOS *et al.*, 2010).

Quanto à Composição centesimal, a polpa de umbu apresentou baixo teor de proteínas e lipídios. O conteúdo protéico (0,73 g/100g) se mostrou dentro dos resultados obtidos por outros autores. Paula *et al.* (2012) encontraram 0,44 g/100g de proteínas em polpa de umbu *in natura*, enquanto Oliveira *et al.* (2011) encontraram 1,19 g/100g em polpa de umbu branqueada e Santos *et al.* (2010), 0,63

g/100g de proteínas em polpa de umbu-cajá. Para lipídios, o valor obtido no presente estudo foi 0,97%, o maior teor quando comparado com os demais autores: 0,39% em polpa de umbu *in natura*, 0,41% em polpa de umbu branqueada e 0,11% em polpa de umbu-cajá.

Diante do exposto, os conteúdos, protéico e lipídico, obtidos da polpa de umbu (*in natura* e tratada) se apresentaram em pequenas quantidades quanto à sua composição química, de modo que a polpa de umbu não contribui significativamente com tais nutrientes em preparações lácteas com adição do fruto. No tocante ao conteúdo mineral, a análise de cinzas apontou resultado semelhante aos demais autores. A polpa de umbu pasteurizada apresentou 0,37% de conteúdo mineral, enquanto Paula *et al.* (2012) encontraram 0,41%, Oliveira *et al.* (2011) encontraram 0,36% e Santos *et al.* (2010), 0,99%.

Apesar dos baixos percentuais, o conteúdo mineral representa diversos minerais que estão contidos na polpa de umbu, uns em grandes quantidades, como o potássio, encontrado em 44 mg/100g por Santos (2014) e 237, 67 mg/100g por Sacramento *et al.* (2007), e outros em pequenas quantidades como o fósforo, cálcio, ferro, zinco e manganês (SACRAMENTO *et al.*, 2007; SANTOS *et al.*, 2010).

### ***Análise Sensorial das formulações de bebida láctea fermentada***

Todas as bebidas lácteas fermentadas apresentaram condições higiênico-sanitárias satisfatórias condizentes com a legislação para Padrão de Qualidade de Bebidas Lácteas. Na **Tabela 3** estão apresentados os resultados da análise sensorial. Para os atributos Cor, sabor, consistência, qualidade global e intenção de compra a formulação 3 (20%SL e 6% FOS) diferiu significativamente das demais formulações ( $p < 0,05$ ) (BRASIL, 2005; TEBALDI *et al.*, 2007).

As médias das notas para os atributos sensoriais variaram entre 7,26 e 5,29, correspondentes aos termos hedônicos “gostei regularmente” e “nem gostei/nem desgostei”. Para intenção de compra, as médias variaram entre 4,10 e 3,08, correspondentes aos termos hedônicos “talvez compraria” e “talvez compraria/talvez

não compraria” (Tabela 3). Foi possível observar que a bebida 3 obteve as maiores médias para todos os atributos sensoriais, seguida da bebida 1 (SL 20% e FOS 2%) e 6 (SL 30% e FOS 4%). Em relação à intenção de compra, a bebida 3 também obteve a maior média (4,10), seguida da bebida 7 (SL 30% e FOS 4%) (3,57) e 6 (3,50).

**Tabela 3.** Média dos resultados da análise sensorial das variáveis dependentes do Planejamento fatorial 2<sup>2</sup> para bebidas lácteas fermentadas sabor umbu.

| Ensaio | Soro (%) | FOS (%) | Cor   | Sabor | Aroma  | Consistência | Qualidade Global | Intenção compra |
|--------|----------|---------|-------|-------|--------|--------------|------------------|-----------------|
| 1      | 20 (-1)  | 2 (-1)  | 6,30b | 6,42b | 6,83ab | 6,18b        | 6,36b            | 3,46b           |
| 2      | 40 (1)   | 2 (-1)  | 6,50b | 6,14b | 6,61bc | 5,56c        | 6,12bc           | 3,08c           |
| 3      | 20 (-1)  | 6 (1)   | 7,18a | 7,26a | 7,12a  | 6,80a        | 7,09a            | 4,10a           |
| 4      | 40 (1)   | 6 (1)   | 6,30b | 6,41b | 6,65bc | 5,34c        | 6,10bc           | 3,28bc          |
| 5      | 30( 0)   | 4 (0)   | 6,56b | 6,48b | 6,35c  | 5,25c        | 5,72c            | 3,46b           |
| 6      | 30( 0)   | 4 (0)   | 6,60b | 6,56b | 6,42bc | 6,18b        | 6,22b            | 3,50b           |
| 7      | 30( 0)   | 4 (0)   | 6,50b | 6,57b | 6,46bc | 5,29c        | 5,95bc           | 3,57b           |

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

Quanto ao atributo cor, a bebida 3 obteve a média 7,18, correspondente ao termo hedônico “gostei regularmente”, diferindo de todas as outras. A tonalidade amarelada provavelmente se deve à polpa de umbu e soro lácteo em sua preparação, ambos com coloração definida pelo Padrão de Identidade e Qualidade da legislação brasileira. Ramos *et al.* (2013) não observaram influência do teor de soro sobre a cor em seu estudo com bebidas lácteas adicionadas de polpa de cajá, e sim influência do teor de polpa sobre este atributo (BRASIL, 2000; BRASIL, 2002).

Quanto ao atributo sabor, a bebida 3 recebeu a maior média quando comparada com todos os atributos e formulações (7,26), correspondente à “gostei regularmente”. O sabor agridoce característico pode estar relacionado à polpa de umbu, ao soro lácteo e principalmente ao processo de fermentação do qual a bebida láctea foi submetida. Ramos *et al.* (2013) não encontraram relação entre quantidade de soro e maior aceitação de sabor nas bebidas lácteas de cajá. Tanto as bebidas



com 40% de soro, quanto com 20%, ambas com 15% de polpa de cajá, obtiveram as maiores médias para este atributo.

Para o atributo aroma, a bebida 3 recebeu média 7,12. O odor característico também pode ser atribuído à polpa de umbu, ao soro lácteo e ao próprio processo de fermentação. Ramos *et al.* (2013) observaram maior aceitação para o aroma da bebida láctea com 20% de soro e 25% de polpa de cajá, bem como para a bebida com 30% de soro e 25% de polpa. Ou seja, em ambos os trabalhos, o teor de soro das bebidas mais aceitas estava em porcentagens reduzidas e o teor de polpa aproximado (BRASIL, 2000; BRASIL, 2002).

Sabor e aroma, juntamente com qualidade global, são considerados os parâmetros mais importantes para a aceitação do consumidor e a decisão de compra de produtos lácteos. Os lactobacilos podem produzir compostos aromáticos, tais como acetaldeído, que são reconhecidos como componentes de sabor e frescor importantes em bebidas lácteas. Além disso, o umbu contém carotenoides, compostos responsáveis pela pigmentação amarela, e ácidos orgânicos responsáveis pelo aroma e sabor agridoce (GULER-AKIN; AKIN, 2007; EKINCI; GUREL, 2008).

Quanto ao atributo consistência, as bebidas que obtiveram as maiores médias foram aquelas que apresentaram as menores porcentagens de soro lácteo: bebida 3 (FOS 6%, Soro 20%) com média 6,80, bebida 1 (FOS 2%, Soro 20%) e 6 (FOS 4%, Soro 30%), ambas com média 6,18. A presença de polissacarídeos na polpa pode atuar como estabilizadores coloidais em bebidas lácteas e promover maior consistência. Variações na consistência de bebidas lácteas são devido às diferentes concentrações de compostos como ácido láctico, aldeídos voláteis, cetonas, ácidos orgânicos e diacetil, formados durante a fermentação láctica (MAPA, 2005; DAMIN *et al.*, 2009; CANTERI *et al.*, 2012).

Ramos *et al.* (2013) também encontraram as maiores médias para o atributo consistência em formulações com 20% de soro, sendo 20% e 25% de polpa de cajá, semelhantes ao presente trabalho. Por sua vez, a formulação com maior porcentagem de soro (40% de soro e 15% de polpa) apresentou a menor média. Ramos *et al.* (2013) relataram que o menor percentual de soro favoreceu uma bebida láctea de cajá com textura firme.

Quanto à qualidade global, a bebida 3 obteve média 7,09, seguida da bebida 1 (6,36) e 6 (6,22). A qualidade global está associada com a perspectiva do consumidor quanto a um produto. As médias mais altas para este atributo também foram direcionadas às bebidas lácteas com menor porcentagem de soro lácteo. Ramos *et al.* (2013) também obtiveram as melhores médias para qualidade global em bebidas com 20% e 30% de soro.

As bebidas 5, 6 e 7, caracterizadas pela mesma porcentagem de soro e FOS (FOS 4% e SL 30%), apresentaram resultados próximos para os atributos avaliados e intenção de compra, indicando coerência na formulação das bebidas e no julgamento dos avaliadores. Porém, a bebida 6 divergiu quanto ao atributo consistência (6,18) em comparação com as bebidas 5 (5,25) e 7 (5,29), o que pode ser explicado pela ausência de treinamento e prática em análise sensorial dos avaliadores que participaram da pesquisa.

No tocante a intenção de compra, a média atribuída à bebida 3 (4,10) está coerente com as médias elevadas obtidas na análise sensorial para os atributos sensoriais. Na **Tabela 4**, é possível verificar o percentual de intenção de compra das formulações geradas pelo planejamento. Verificou-se que ao somar os termos “Talvez compraria” com “Certamente compraria” a formulação 3 (F. 6%, S. 20%) obteve o maior percentual (73,28%), ratificando os resultados obtidos na análise sensorial. Em contrapartida, o que teve menor percentual foi a formulação 2 (41,08%) com 40% de soro.

**Tabela 4.** Percentual das notas de intenção de compra obtidas na análise sensorial de bebida láctea fermentada sabor umbu.

| INTENÇÃO DE COMPRA (%) |                     |                         |                                              |                     |                         |
|------------------------|---------------------|-------------------------|----------------------------------------------|---------------------|-------------------------|
| Ensaio                 | Jamais<br>compraria | Talvez não<br>compraria | Talvez compraria/<br>talvez não<br>compraria | Talvez<br>compraria | Certamente<br>compraria |
| 1                      | 8,03                | 14,28                   | 24,11                                        | 25,89               | 27,69                   |
| 2                      | 10,71               | 23,21                   | 25                                           | 25                  | 16,08                   |
| 3                      | 0,89                | 10,71                   | 15,18                                        | 40,18               | 33,04                   |
| 4                      | 8,03                | 20,53                   | 24,11                                        | 27,68               | 19,65                   |
| 5                      | 8,93                | 29,46                   | 18,75                                        | 31,25               | 11,61                   |
| 6                      | 5,36                | 11,61                   | 24,11                                        | 28,57               | 30,35                   |
| 7                      | 6,25                | 18,75                   | 23,21                                        | 35,71               | 16,08                   |

Dessa forma, é possível observar que o teor de soro influenciou na intenção de compra, pois ao somar os termos “Jamais compraria” e “Talvez não compraria”, a porcentagem foi maior para a bebida 5 (38,39%) e 2 (33,92%), indicando a menor intenção de compra para as formulações com maior porcentagem de soro, 30 e 40% respectivamente. A **Tabela 5** apresenta os efeitos das variáveis independentes (Soro Lácteo e FOS) sobre os atributos sensoriais (Cor, Sabor, Aroma, Consistência, Qualidade Global) e Intenção de compra da bebida láctea fermentada sabor umbu.

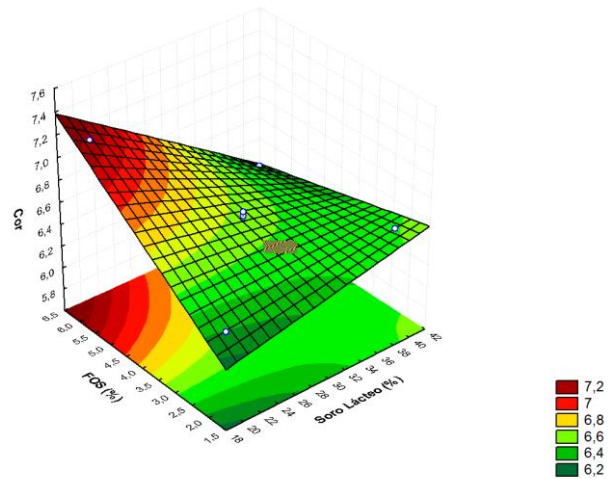
**Tabela 5.** Efeito das variáveis independentes (Soro e FOS) sobre os atributos sensoriais (Cor, Sabor, Aroma, Consistência, Qualidade Global) e Intenção de Compra da Bebida Láctea fermentada sabor umbu.

| Coefficiente              | Cor   | Sabor | Aroma | Consistência | Qualidade Global | Intenção de Compra |
|---------------------------|-------|-------|-------|--------------|------------------|--------------------|
| <b>B<sub>0</sub></b>      | 6,56  | 5,99  | 6,61  | 5,80         | 6,22             | 3,31               |
| <b>B<sub>1</sub></b>      | -0,34 | NS    | NS    | NS           | NS               | NS                 |
| <b>B<sub>2</sub></b>      | 0,34  | 0,35  | NS    | NS           | NS               | 0,27               |
| <b>B<sub>12</sub></b>     | -0,54 | -0,01 | NS    | NS           | NS               | NS                 |
| <b>R<sup>2</sup></b>      | 0,989 | 0,99  | 0,374 | 0,612        | 0,574            | 0,987              |
| <b>R<sup>2</sup>ajust</b> | 0,979 | 0,984 | 0,000 | 0,224        | 0,148            | 0,974              |

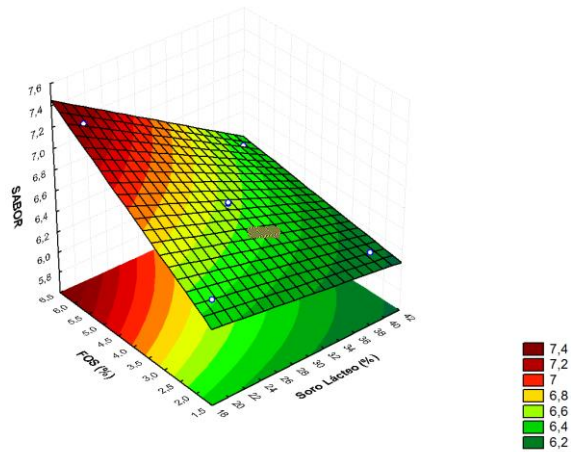
**B<sub>1</sub>**: Soro Lácteo (mL); **B<sub>2</sub>**: FOS (%); NS: não significativo ( $p > 0,05$ )

Na **Tabela 5** constata-se que os atributos Aroma, Consistência e Qualidade Global não tiveram um bom ajuste ao modelo proposto, e que nenhuma das variáveis independentes (soro e FOS) teve influência sobre estes atributos. Os atributos Cor, Sabor e Intenção de Compra tiveram um bom ajuste ao modelo.

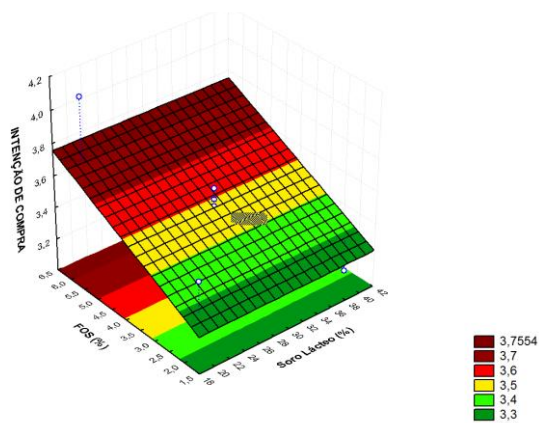
O atributo cor foi influenciado pelo percentual de FOS e de soro, bem como por suas interações (Tabela 5). Este fato pode ser constatado na **Figura 1**, onde o aumento da quantidade de FOS e redução de soro lácteo promovem um aumento das notas para o atributo cor. Quanto ao sabor e intenção de compra, constata-se a influência do percentual de FOS (Figura 2 e 3). O aumento deste percentual favoreceu a obtenção das maiores notas para o atributo sabor e intenção de compra. Os atributos cor e sabor foram determinantes para a intenção de compra do produto. Quanto ao soro lácteo, verifica-se na **Figura 2** que apresentou pouca influência sobre o sabor, ao passo que para a intenção de compra não apresentou nenhuma influência (Figura 3).



**Figura 1.** Superfície de Resposta da Cor em função do Soro (%) e FOS (%).



**Figura 2.** Superfície de Resposta do Sabor em função do Soro (%) e FOS (%).



**Figura 3.** Superfície de Resposta da Intenção de Compra em função do Soro (%) e FOS (%).

Para que um produto alimentício seja considerado aceito, é necessário que ele obtenha um Índice de Aceitabilidade (IA) maior ou igual a 70%. A importância do IA reside na predição do comportamento de um produto dentro do mercado consumidor. O IA de cada bebida e atributo sensorial pode ser visto na **Tabela 6** (TEIXEIRA; MEINERT; BARBETA, 1987; DUTCOSKY, 2013).

**Tabela 6.** Índice de Aceitabilidade dos 7 ensaios de bebidas lácteas fermentadas sabor umbu.

| Ensaio   | Índice de Aceitabilidade das Bebidas Lácteas (%) |       |       |              | Qualidade Global |
|----------|--------------------------------------------------|-------|-------|--------------|------------------|
|          | Cor                                              | Aroma | Sabor | Consistência |                  |
| Bebida 1 | 72,2                                             | 75,5  | 71,1  | 68,9         | 70               |
| Bebida 2 | 73,3                                             | 73,3  | 68,9  | 62,2         | 66,7             |
| Bebida 3 | 76,7                                             | 76,7  | 80    | 75,5         | 77,8             |
| Bebida 4 | 71,1                                             | 73,3  | 71,1  | 58,9         | 67,8             |
| Bebida 5 | 70                                               | 72,2  | 73,3  | 58,9         | 65,5             |
| Bebida 6 | 67,8                                             | 70    | 72,2  | 57,8         | 63,3             |
| Bebida 7 | 74,4                                             | 74,4  | 77,8  | 68,9         | 74,4             |

Os Índices de Aceitabilidade (IA) das bebidas lácteas fermentadas sabor umbu variaram entre 57,8% e 80%. Todas as formulações receberam pontuações superiores à 70%, porém a bebida 3 foi a única formulação de bebida láctea cujo IA foi superior à 70% para todos os atributos, variando de 75,5 %, para o atributo consistência, a 80% para o atributo sabor. Os índices elevados de aceitabilidade da bebida 3 estão de acordo com as médias de seus atributos sensoriais apresentadas na **Tabela 3**.

O atributo cor recebeu IA mínimo de 67,8% para a bebida 6 (F.4%, S.30%) e máximo de 76,7 para a bebida 3 (F.6%, S.20%), indicando que apenas a formulação da bebida 6 não apresentou boa aceitabilidade para este atributo. Para o atributo aroma, todas as bebidas apresentaram IA superior ou igual a 70%, portanto boa aceitabilidade. O atributo sabor apresentou IA mínimo de 68,9% para bebida 2 (F.2%, S.40%) e máximo de 80% para bebida 3 (F.6%, S.20%), de modo que

apenas a bebida 2 não apresentou boa aceitabilidade para este atributo. Quanto à consistência, somente a bebida 3 apresentou boa aceitabilidade com índice igual a 75,5%. O atributo Qualidade Global apresentou boa aceitabilidade apenas nas formulações com menores percentuais de soro lácteo (20 e 30%): bebida 3 (77,8%), bebida 7 (74,4%) e bebida 1 (70%).

Sendo assim, a análise sensorial, juntamente com os Índices de Aceitabilidade superiores a 70% para todos os atributos, apontam a bebida 3, caracterizada por 6% de FOS e 20% de soro em sua formulação, como a bebida láctea fermentada de umbu com maior aceitação sensorial.

### ***Análise físico-química e Composição Centesimal da bebida láctea fermentada***

Na **Tabela 7** estão apresentados os resultados obtidos da análise físico-química da bebida láctea selecionada pela Análise Sensorial (formulação 3). As características físico-químicas se apresentaram condizentes com os ingredientes e com a tecnologia utilizados na preparação, e desejáveis em produtos lácteos fermentados.

**Tabela 7.** Características físico-químicas e compostos bioativos da bebida láctea fermentada sabor umbu.

| <b>Características físico-químicas</b> | <b>Valores obtidos</b> |            |
|----------------------------------------|------------------------|------------|
| pH                                     | 4,02±0,02              |            |
| Acidez Titulável (g/100g)              | 0,73±0,03b             |            |
| Brix (°Brix)                           | 16,77±0,15             |            |
| L*                                     | 76,22±0,10             |            |
| Cor                                    | a*                     | -3,12±0,01 |
|                                        | b*                     | 14,65±0,40 |
| Fenólicos Totais (mgGAE/100mL)         | 0,541                  |            |
| Carotenóides (mg/100mL)                | 0,167                  |            |

A formulação 3 apresentou elevada acidez (0,73g de ácido láctico por 100g de amostra) e pH baixo (4,02). A alta acidez é provavelmente um reflexo dos processos metabólicos que envolveram as bactérias lácticas durante o processo de fermentação, ou seja, a conversão da lactose em ácido láctico. Além da refrigeração, a conservação de leites com culturas probióticas é alcançada também pela acidez elevada (MAPA, 2005; THAMER; PENNA, 2006; LEE; LUCEY, 2010).

Ramos *et al.* (2013) encontraram acidez igual a 0,69g/100g e pH 3,79 em bebidas lácteas fermentadas com polpa de cajá, valores aproximados aos desta pesquisa. Os valores de pH das bebidas podem variar conforme a quantidade de leite e soro de leite, atividade da cultura Starter, adição de ingredientes e tempo de armazenamento. Neste trabalho, o soro de leite destinado à preparação das bebidas lácteas apresentou pH 6,66, classificado como soro doce pela legislação brasileira na qual estabelece pH entre 6,0 e 6,8 e acidez titulável em ácido láctico entre 0,08 – 0,14g/100g. Como ingrediente determinante do pH ácido da formulação 3, pode ser mencionado também a polpa de umbu, que nesta pesquisa apresentou pH 2,73 e acidez igual a 1,80g/100g (Tabela 2) (MAPA, 2005; THAMER; PENNA, 2006; LEE; LUCEY, 2010; BRASIL, 2013).

Algumas pesquisas relacionam o pH de bebidas lácteas fermentadas com o tipo de leite utilizado em suas preparações, de modo que elevados valores de pH em uma bebida láctea podem estar relacionados com o teor de cálcio do leite e sua interação com as caseínas presentes no leite, formando o composto cálcio-fosfo-caseinato. Este fenômeno químico é mais recorrente em leites de cabra, cujo teor de cálcio é maior do que em leite de vaca. Dessa forma, fica estabelecido que o leite de vaca é o mais adequado para a fabricação de bebidas lácteas fermentadas, nas quais o pH baixo é desejável (GALINA *et al.*, 2007; GOMES *et al.*, 2013).

Quanto ao teor de Sólidos Solúveis Totais (SST), a formulação 3 apresentou teor igual a 16,77°Brix. Ramos *et al.* (2013) encontraram 16,1°Brix em bebida láctea fermentada sabor cajá com 20% de soro e 15% de polpa, semelhantes aos percentuais da bebida láctea estudada nesta pesquisa (formulação 3). Gomes *et al.* (2013) também encontraram resultado aproximado de SST (20,47°Brix) em leite fermentado com leveduras e bactérias probióticas sem adição de polpa. O teor



elevado de SST contribui para o sabor e consistência do produto lácteo final, podendo estar relacionado ao tipo de fermentação e ingredientes adicionais utilizados na preparação da bebida láctea (VARGAS *et al.*, 2008; GAUCHE *et al.*, 2009; KUÇUKÇETIN *et al.*, 2011; BEZERRA *et al.*, 2012).

Assim como o sabor e a consistência, a cor pode determinar a aceitabilidade ou rejeição de uma bebida láctea e está relacionada ao aspecto visual do produto. Quanto à análise físico-química da cor, o valor  $a^*$  caracteriza coloração na região do vermelho ( $+a^*$ ) ao verde ( $-a^*$ ), o valor  $b^*$  indica coloração no intervalo do amarelo ( $+b^*$ ) ao azul ( $-b^*$ ) e o valor L nos fornece a luminosidade, variando do branco ( $L=100$ ) ao preto ( $L=0$ ). Os valores encontrados na formulação 3 para os parâmetros  $L^*$  (76,22),  $a^*$  (- 3,12) e  $b^*$  (14,65) foram similares aos resultados de Ramos *et al.* (2013) em bebidas lácteas fermentadas de cajá com 20% de soro e 15% de polpa,  $L^*$  (78,17),  $a^*$  (3,04) e  $b^*$  (16,07). A cor amarelada é resultante da deposição de grupos de pigmentos carotenoides, como as xantofilas, presentes na polpa de umbu (HARDER *et al.*, 2005; BERMÚDEZ-AGUIRRE *et al.*, 2010).

Entretanto, os compostos carotenoides não só conferem cor aos produtos, mas podem apresentar outras características funcionais atribuídas aos compostos bioativos, como atividade antioxidante. É sabido que frutas tropicais representam uma fonte valiosa de compostos bioativos. No entanto, os resultados da presente pesquisa apresentaram baixo teor de carotenoides (0,167 mg/100mL) na formulação 3, constituída de 20% de polpa de umbu.

Zeraiket *et al.* (2016) identificaram 8 compostos responsáveis por atividade antioxidante alta em polpa de umbu, por meio do métodos DPPH, ABTS e ORAC. Paz *et al.* (2015), por sua vez, encontraram teor elevado de carotenoides totais na polpa de umbu (744 mg/100g). Porém, Oliveira *et al.* (2011) encontraram baixo teor de carotenoides totais (0,68 mg/100g) em polpa de umbu branqueada, o que sugere a provável perda destes compostos pelo tratamento térmico e ausência deles nas bebidas lácteas preparadas com a polpa tratada (ZERAIK *et al.*, 2011; ZERAIK *et al.*, 2016).

Quanto ao conteúdo de fenólicos totais, a presente pesquisa também obteve baixo teor na formulação 3 (0,541 mgGAE/100mL). Em contrapartida, Maleki *et al.* (2015) encontraram teor elevado ( $130,42 \pm 1,42$  mg de GAE/100 mL) em leite fermentado com grãos de kefir (*Lactobacillus* spp., *Streptococcus thermophilus*, *Saccharomyces* sp.) e adicionado de avelã, indicando a presença destes compostos no fruto, muito conhecido como fonte rica de polifenóis. Gregoris *et al.* (2013), por sua vez, encontraram 140,0 mg/100g de compostos fenólicos totais em polpa de umbu. Sah *et al.* (2014) também encontraram conteúdo elevado de fenólicos totais em leite fermentado (91,75 mg/100g), soro de leite (50,67 mg/100g) e em leite não fermentado (130,42 mg/100g), indicando o leite como uma excelente fonte de compostos bioativos.

Entretanto, o conteúdo fenólico do leite fermentado com grãos de kefir e avelã diminuiu após 48 horas de fermentação láctica, de  $130,42 \pm 1,42$  para 91,75 mg de GAE / 100 mL. Os resultados obtidos por Sah *et al.* (2014) e Maleki *et al.* (2015) apresentaram queda no teor de fenólicos após o processo de fermentação. Esse fenômeno foi atribuído à metabolização de compostos fenólicos pelos microorganismos fermentadores, o que pode explicar o baixo teor de fenólicos encontrado na presente pesquisa.

Além da ação microbiana, a temperatura de fermentação pode influenciar no teor de compostos fenólicos em uma bebida láctea. No leite fermentado com grãos de kefir e avelã, a redução máxima ocorreu nas amostras fermentadas a 25 °C (30% de inóculo). Também foi observado redução do conteúdo fenólico com o aumento do tamanho do inóculo (cultura starter), em comparação com os controles. A menor redução do conteúdo fenólico (leite fermentado com 8% de inóculo) apresentou uma queda de 48 mg de GAE / 100mL. Esse resultado pode ser atribuído ao número de microorganismos, em concentrações elevadas, que contribuíram para a degradação de compostos fenólicos (MALEKI *et al.*, 2015).

Contudo, são necessárias mais análises para que seja possível concluir sobre a atividade antioxidante da bebida láctea fermentada sabor umbu, considerando que diversos compostos naturalmente presentes no leite fermentado e não fermentado, e que não foram estudados, são capazes de apresentar atividade antioxidante. Apesar

da redução significativa de fenólicos totais após 48 horas de fermentação, Maleki *et al.* (2015) observaram aumento da atividade de eliminação de radicais livres, de 50,47 para 81,65%, determinada pelo método de DPPH, exatamente no mesmo período da diminuição de fenólicos (MALEKI *et al.*, 2015).

Além dos compostos fenólicos, as proteínas do soro são conhecidas por possuir propriedades antioxidantes atribuídas aos seus peptídios. O aumento da atividade antioxidante após uma fermentação láctica pode estar relacionada com a mobilização de compostos fenólicos e a proteólise, ou seja, formação de peptídios. Virtanen *et al.* (2006) relataram aumento na atividade de eliminação de radicais DPPH no soro durante a fermentação devido à hidrólise das proteínas e formação de peptídios. Liu *et al.* (2005) observaram essa atividade mais elevada em fermentados do que em não fermentados e sugeriram que componentes de um antioxidante presente nos grãos de kefir foram transferidos para o leite durante a fermentação (PEÑA-RAMOS *et al.*, 2004; MCCUE; SHETTY, 2005).

Quando o leite fermentado é produzido utilizando-se culturas mistas de bactérias do ácido láctico, apresenta uma atividade de eliminação de radicais livres maior do que em leites fermentados com uma única cepa. De acordo com Foh *et al.* (2010), a atividade de peptídios depende de fatores como a sequência de aminoácidos, tamanho e estrutura da cadeia química. A capacidade antioxidante dos peptídios para o mesmo substrato depende de enzimas específicas produzidas por bactérias do ácido láctico capazes de hidrolisar ligações peptídicas específicas (RAJAPAKSE *et al.*, 2005; VIRTANEN *et al.*, 2007; LIU *et al.*, 2013; SAH *et al.*, 2014).

Quanto à Composição Centesimal da bebida láctea fermentada sabor umbu, verifica-se elevado teor de umidade, baixo teor de lipídios e resíduo mineral (cinzas) e conteúdo protéico em conformidade com a legislação específica para bebidas lácteas (Tabela 8) (BRASIL, 2005).

**Tabela 8.** Composição Centesimal da bebida láctea fermentada sabor umbu com 20% de soro lácteo e 6% de FOS (formulação 3).

| <b>Composição Centesimal</b>          | <b>Valores obtidos</b> |
|---------------------------------------|------------------------|
| Umidade (%)                           | 80,51±0,36             |
| Proteínas (g/100g)                    | 1,95±0,07              |
| Lipídios (% p/p)                      | 0,78±0,03              |
| Cinzas (%)                            | 0,70±0,03              |
| Carboidratos (g/100g <sup>-1</sup> )* | 16,20±0,01             |
| Valor calórico (Kcal/100g)            | 78,41±0,06             |

\* Valores estimados por diferença

A composição centesimal da bebida láctea fermentada sabor umbu (formulação 3) se assemelhou com os valores obtidos por Ramos *et al.* (2013) em bebida láctea com 20% de polpa de cajá e 40% de soro. A presente pesquisa observou teor elevado de umidade (80,51%) na formulação 3. A umidade da polpa de umbu (87,67%), utilizada em sua preparação, provavelmente contribuiu para esta característica na bebida láctea. Ramos *et al.* (2013) observaram divergências no teor de umidade entre bebidas lácteas com diferentes porcentagens de polpa de cajá, de modo que quanto maior o percentual de polpa, maior a umidade da bebida láctea fermentada.

Quanto ao conteúdo protéico, a formulação 3 de bebida láctea apresentou teor igual a 1,95g/100g. Segundo a legislação vigente, bebidas lácteas fermentadas com adições em sua composição, devem conter o mínimo de 1,0g de proteínas de origem láctea/100g de amostra. O teor protéico obtido neste estudo, portanto, está dentro da legislação para bebidas lácteas. Gomes (2013) encontrou teor de proteínas ainda mais elevado em bebida láctea fermentada (3,08g/100g). As variações podem estar principalmente relacionadas às características químicas e nutricionais do leite de vaca utilizado para a elaboração da bebida láctea, bem como ao tratamento industrial submetido.

Quanto ao conteúdo lipídico, bebidas lácteas desnatadas são aquelas cuja base láctea apresenta matéria lipídica máxima de 0,5g/100g. A formulação 3 de

bebida láctea fermentada, no entanto, apresentou teor lipídico de 0,78g/100g, um pouco maior do que o recomendado pela legislação, embora tenha sido elaborado com leite desnatado. Isso pode ser explicado pela presença de lipídios no soro de leite, extraído de leite integral pasteurizado, ainda que em quantidades pequenas (BRASIL, 2002; BRASIL, 2007).

Gomes (2013) obteve teor de lipídios mais elevado em bebida láctea fermentada (2,03g/100g). Abdolmaleki *et al.* (2015) constataram que o teor de lipídios após a fermentação não diferiu do teor de lipídios do substrato a partir da qual as bebidas foram preparadas (leite e soro). Outros autores mais antigos como Huerta-Gonzalez e Wilbey (2001) e Assadi *et al.* (2008) encontraram achados semelhantes para leites fermentados.

Ramos *et al.* (2013) observaram que os teores de proteínas e lipídios mostraram-se indiferentes nas bebidas lácteas fermentadas quanto ao teor de polpa de cajá, indicando que este ingrediente pouco contribuiu com esses nutrientes para a composição das bebidas lácteas, devendo seus conteúdos proverem do leite e soro de leite.

Quanto ao conteúdo mineral, a formulação 3 apresentou teor igual a 0,70g/100g, semelhante aos dados de Ramos *et al.* (2013) (0,63 mg/100g) para bebida láctea fermentada de cajá. Este conteúdo, em parte, tem origem na polpa de umbu (0,37g/100g), além da base láctea. Entretanto, Ramos *et al.* (2013) não observaram diferenças significativas de resíduo mineral entre as bebidas com menor e maior percentual de polpa de cajá.

A polpa de umbu fornece minerais como potássio, cálcio, fósforo, magnésio, ferro e zinco, em diferentes proporções. O leite, por sua vez, também é rico em minerais como potássio, cálcio, cloro, magnésio, sódio e fósforo. Chitarra *et al.* (2005) relatam que o papel dos minerais na nutrição é de grande importância, considerando que esses compostos se encontram em equilíbrio dinâmico permanente nos tecidos animais e vegetais e que representam cerca de 4% dos tecidos de um indivíduo adulto (MATTIETTO *et al.*, 2005; SACRAMENTO *et al.*, 2007; SANTOS *et al.*, 2010).

Quanto ao teor de carboidratos, a formulação 3 apresentou 16,20g/100g, valor próximo ao encontrado por Ramos *et al.* (2013) em bebida láctea de cajá (15,56g/100g). Este conteúdo abrange percentuais de lactose presente no leite e soro de leite, frutose e glicose presentes na polpa de umbu e sacarose adicionada na preparação das bebidas lácteas (8% da bebida). Os frutos maduros em geral apresentam baixo conteúdo de amido. Mesmo assim, representam uma parcela adicional de açúcares quando comparada à glicose e frutose, sendo dessa forma fontes potenciais de energia (SANTOS *et al.*, 2010).

Gomes (2013) encontrou teor de lactose igual a 4,39g/100g em bebida láctea fermentada com *Streptococcus salivarius*, *S. thermophilus*, *Lactococcus delbrueckii* e *L. bulgaricus*. Os carboidratos podem estar em associação com outras moléculas, como proteínas, e/ou dissociadas na forma de monossacarídeos e dissacarídeos. A glicose, devido à sua estrutura molecular simples, é o açúcar ideal para servir de substrato aos *Lactobacillus*, por exemplo, por demandar menos energia celular para a quebra das ligações glicosídicas. Portanto, estes açúcares simples apresentam essencial importância na vitalidade das bactérias lácticas e, conseqüentemente, no sucesso em obter uma bebida láctea fermentada e funcional (FELLOWS, 2006; SERAVALLI, 2007).

As diferenças na composição química de bebidas lácteas fermentadas estão relacionadas com fatores que vão além do tipo de leite utilizado em sua fabricação. Fatores como estágio de lactação, idade e raça dos animais, ordenha e condições ambientais, nutrição animal, além do metabolismo específico dos microrganismos da Cultura Starter, tempo de fermentação e adições posteriores à bebida, como gordura vegetal, mel, frutas, cereais, gelatina, entre outros, influenciam diretamente na composição e características físico-químicas do produto lácteo (TAMIME *et al.*, 2011).

### ***Estabilidade da bebida láctea fermentada***

A bebida láctea selecionada pela Análise Sensorial (formulação 3) foi caracterizada quanto à estabilidade para mensuração da vida de prateleira. Quanto à viabilidade das bactérias lácticas, a bebida láctea mostrou característica de fermentado, condizente com a proposta do estudo, em atendimento a Instrução

Normativa nº 16 do MAPA (2005) durante todo o período de armazenamento em refrigeração. Quanto ao pH e acidez titulável, os dados se mantiveram estáveis de modo que não houve acidificação do produto durante o período de 28 dias de armazenamento. Foi analisada também a bebida láctea fermentada sem a polpa de umbu (bebida controle), com intuito de verificar a que ponto substâncias bioativas presentes no tecido vegetal do fruto interfeririam na viabilidade das bactérias lácticas (Tabela 9).

**Tabela 9.** Acidez, pH e viabilidade das bactérias lácticas durante o período de armazenamento sob refrigeração a 3°C de bebida láctea fermentada sabor umbu (formulação 3) e de bebida controle (sem adição de polpa).

| Intervalos<br>(dias) | Bebida láctea fermentada com umbu               |      |                 |
|----------------------|-------------------------------------------------|------|-----------------|
|                      | Log <sub>10</sub> UFC/mL <sup>-1</sup>          | pH   | Acidez (g% p/v) |
| T0                   | 7 log                                           | 4,01 | 1,015           |
| T14                  | 6 log                                           | 4,04 | 1,047           |
| T28                  | 6 log                                           | 4,26 | 1,020           |
| Intervalos<br>(dias) | Bebida láctea fermentada sem Umbu<br>(Controle) |      |                 |
|                      | Log <sub>10</sub> UFC/mL <sup>-1</sup>          | pH   | Acidez (g% p/v) |
| T0                   | 7 log                                           | 5,62 | 0,444           |
| T14                  | 6 log                                           | 5,23 | 0,562           |
| T28                  | 6 log                                           | 5,22 | 0,547           |

Segundo a legislação para bebidas lácteas fermentadas, o produto deve apresentar o mínimo de 6 log UFC/mL durante toda a vida de prateleira do produto. Nesta pesquisa foi observado 7 log UFC/mL no Tempo Zero (T0), ou seja, poucas horas após sua elaboração, 6 log UFC/mL no T14, onde foi possível observar uma queda de 1 log no número de colônias viáveis em 2 semanas, e 6 log UFC/mL no T28, permanecendo praticamente a mesma quantidade de colônias viáveis por mais 2 semanas (Tabela 9) (BRASIL, 2002).

A **Tabela 9** apresenta resultados semelhantes de UFC/mL em ambas as bebidas lácteas, com e sem polpa, o que indica ausência de interação entre as bactérias lácticas e possíveis fitoquímicos provenientes do metabolismo secundário do umbuzeiro. Também é possível observar que a redução de pH e o aumento da acidez na bebida controle não desfavoreceu o crescimento das bactérias lácticas em todo o período de armazenamento (7 e 6 log UFC/mL). Na bebida láctea com polpa de umbu, o pH sofreu um leve aumento, porém a acidez se manteve praticamente estável, não inibindo a viabilidade das bactérias lácticas.

Abdolmaleki *et al.* (2015) encontraram um número mais elevado de bactérias probióticas viáveis em leite cultivado com 3% (v/v) de inóculo de espécies produtoras de ácido láctico, porém observaram uma queda de 8 log para 3 log UFC/mL, após 4 semanas de armazenamento. Sah *et al.* (2014) alcançaram contagem de bactérias lácticas entre 7,28 e 7,58 log UFC/mL em leite fermentado. Ramos et al (2013) também apresentou resultados mais elevados a partir de 2% de inóculo, porcentagem utilizada na bebida láctea de umbu, para *Lactobacillus acidophilus* (11,6 log UFC/ml) e *Streptococcus thermophilus* (11 log UFC/ml) em bebida láctea fermentada sabor cajá.

Entretanto, a definição do termo “probiótico” vem mudando com o passar do tempo em decorrência de maior quantidade de estudos cinéticos, genéticos e dos efeitos comprovados cientificamente sobre a saúde do hospedeiro. Nos dias atuais, a definição aceita internacionalmente é aquela proposta pela FAO/WHO (2001): “probióticos são microrganismos vivos que, quando administrados em quantidade adequadas, conferem benefícios à saúde dos hospedeiros” (FAO/WHO, 2001).

Segundo a RDC nº 2 de 2002 da ANVISA, que dispõe de substâncias bioativas e probióticos isolados com alegação de propriedade funcional, um produto é denominado fermentado quando contém  $10^6$  células viáveis por grama ou mL do produto. Define também que um produto “probiótico” deve estar com a quantidade mínima de bactérias viáveis situada na faixa entre 8 e 9 log UFC/mL por porção, na recomendação diária do produto pronto para o consumo, conforme indicação do fabricante. Este montante, porém, pode ser traduzido para uma contagem de 6 log UFC/mL por 100 mL de porção diária do produto lácteo fermentado, resultado obtido



pelo presente estudo. Valores menores podem ser aceitos, desde que a empresa comprove sua eficácia (BRASIL, 2002; SAH *et al.*, 2014).

A viabilidade dessas bactérias até o final da vida de prateleira está relacionada com a acidificação do produto, nível de oxigênio no produto, permeação de oxigênio pela embalagem, compostos antimicrobianos naturais e atividade de água. A umidade elevada da bebida láctea fermentada conferiu características intrínsecas favoráveis ao desenvolvimento e manutenção das bactérias lácticas por 28 dias. Um possível efeito protetor dos frutoligossacarídeos (FOS) sobre as bactérias lácticas também deve ser levado em consideração (ABDOLMALEKI *et al.*, 2015).

Segundo a RDC nº 359 de 2003 da ANVISA, para que os FOS contribuam para o equilíbrio da flora intestinal, a porção do produto pronto para o consumo deve fornecer no mínimo 1,5g de FOS em alimentos líquidos. O uso do ingrediente não deve ultrapassar 30g na recomendação diária do produto pronto para consumo. Na formulação 3 há 60g de FOS em 1 litro de bebida láctea sabor umbu, de modo que a ingestão de FOS seria de 6g por porção diária de 100g, dentro da recomendação definida pela ANVISA (BRASIL, 2003).

Os produtos lácteos fermentados se conservam por período maior de tempo do que o leite não fermentado. O pH baixo do meio impede o crescimento de mofo e bactérias contaminantes no produto, evitando a formação de gás e de reações de proteólise ou lipólise que alteram o sabor e aroma do alimento (GRANATO, 2007; ABDOLMALEKI *et al.*, 2015).

Quanto ao pH, a bebida láctea com polpa apresentou pH mais baixo (4,01) e maior acidez (1,015g% p/v) no T0 quando comparado com a bebida controle (pH 5,62) e (Acidez 0,444) no mesmo tempo, devido à presença de ácidos orgânicos no umbu, como o ácido cítrico e o tartárico (Tabela 9). Durante o período de armazenamento refrigerado, o pH aumentou de 4,01 (T0) para 4,04 (T14) e 4,26 (T28), ou seja, não ocorreu acidificação durante o período de armazenamento da bebida láctea com umbu. Enquanto que a bebida controle apresentou uma acidificação significativa no decorrer dos 28 dias. O pH inicial 5,62 (T0) reduziu para 5,22 na última semana (T28). A acidificação de bebidas lácteas durante o período de

armazenamento pode estar relacionada com a redução da viscosidade nestes produtos devido ao aumento progressivo de reticulação na matriz de caseína (WANG, *et al.* 2012; KUÇUKETIN, *et al.* 2012; GOMES, *et al.* 2013).

Quanto à acidez, a bebida láctea com polpa de umbu aumentou nas primeiras 2 semanas, de 1,015 g% p/v (T0) para 1,047g% p/v (T14) e apresentou redução nas últimas 2 semanas, atingindo 1,020 g% p/v (T28). Este fenômeno também ocorreu com a bebida controle que apresentou acidez inicial de 0,444 g% p/v (T0) e aumentou para 0,562 g% p/v (T14) nas primeiras 2 semanas e caiu para 0,547 g% p/v (T28) nas últimas 2 semanas do período de armazenamento. Apesar disso, a análise de Acidez Titulável de ambas as bebidas se mostrou relativamente estável e coerente com os valores de pH (Tabela 9).

Ramos *et al.*(2013) também relataram pH e acidez constantes durante o armazenamento refrigerado de bebidas lácteas fermentadas sabor cajá. Os resultados foram semelhantes aos da bebida láctea de umbu: valores de pH entre 3,89 e 3,83 e acidez entre 0,76 e 0,73 g% p/v. Observou também que quanto maior o teor de polpa na bebida láctea, menor foi o valor de pH e maior a acidez. Sah (2014) também encontrou pH próximo ao presente estudo (pH 4,5) em iogurte fermentado com *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* e *Lactobacillus paracasei*.

Abdolmaleki *et al.* (2015) relataram uma diminuição significativa no pH após 24 horas de fermentação por bactérias produtoras de ácido láctico, entre eles *Lactobacillus kefir*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus casei* e *Streptococcus lactis*, nos substratos leite e soro de leite. No final de 24 horas de fermentação, o leite fermentado apresentou pH 4,4. Durante a primeira semana, diminuiu ligeiramente alcançando um valor médio de 4,34 e após 4 semanas, pouca mudança significativa ocorreu ( $p < 0,05$ ), semelhante aos valores encontrados no teste de estabilidade da bebida controle no presente estudo.

Alguns aspectos como crescimento bacteriano, solubilidade de proteínas, efeito do dióxido de enxofre livre e reações de escurecimento estão diretamente relacionados ao pH e acidez. Gomes *et al.* (2013) também observaram diminuição

de pH e da lactose, com aumento de acidez e posterior estabilização durante o armazenamento. Eissa *et al.* (2011), Kucukçetin *et al.* (2011) e Wang *et al.* (2012) também encontraram achados semelhantes em iogurte. A estabilização do pH e da acidez pode estar relacionada com a inibição de atividade enzimática e a diminuição da população bacteriana, possivelmente devido à diminuição da lactose do substrato (PAULA *et al.*, 2012; GOMES *et al.*, 2013).

Na cinética de fermentação, o consumo do substrato (açúcares) e a formação do produto (ácido láctico) são graduais em função do tempo durante todo o período de fermentação. Estudos constataram que, durante 24 horas de fermentação, os açúcares são consumidos e 20-25% de seu conteúdo diminuído. Esta redução de sólidos solúveis e a conversão lenta da lactose estão relacionados com as curvas de pH e acidez total. O tipo de fermentação depende do microrganismo utilizado e da temperatura utilizada no processo. Sendo a lactose fonte de energia, as bactérias lácticas precisam hidrolisá-la em moléculas de glicose e galactose antes de serem metabolizadas em ácido láctico. Esse processo de hidrólise da lactose necessita de um tempo maior, principalmente quando a fermentação é conduzida a baixas temperaturas, devido à baixa velocidade metabólica da célula bacteriana (PAULA *et al.*, 2012; ABDOLMALEKI *et al.*, 2015).

Em leite fermentado, Gomes *et al.* (2013) e Abdolmaleki *et al.* (2015) relataram reduções sucessivas de lactose desde o primeiro dia de armazenamento até o 28º dia. Paralelamente à redução da lactose (de 4,39 a 4,17), Gomes *et al.* (2013) observaram acidificação de pH 4,24 (dia 1) para 4,13 (dia 28). Abdolmaleki *et al.* (2015) relataram que durante as primeiras 24 horas de fermentação por bactérias do ácido láctico em substrato leite, o nível de açúcares reduziu significativamente ( $P < 0,01$ ) e em seguida diminuiu mais lentamente até as 48 horas e após 2 semanas de armazenamento (RAJAS-CASTRO *et al.*, 2007; GOMES *et al.*, 2013; ABDOLMALEKI *et al.*, 2015).

A acidificação dos produtos lácteos pode continuar durante o armazenamento, porém torna-se menos intenso devido ao efeito de baixa temperatura de armazenamento. Este fenômeno não foi observado durante o armazenamento da bebida láctea com umbu, apenas na bebida controle, indicando

a ocorrência de degradação de açúcares nas primeiras semanas de armazenamento refrigerado e possível interferência do umbu no processo fermentativo. Gomes *et al.* (2013) e Abdolmaleki *et al.* (2015) observaram redução de pH mais acentuada na primeira semana de armazenamento em leite e soro de leite fermentados (sem adição de polpa), quando comparados com os períodos posteriores de armazenamento, e em seguida, estabilização destes valores, também observada na bebida controle (RAJAS-CASTRO *et al.*, 2007; GOMES *et al.*, 2013; ABDOLMALEKI *et al.*, 2015).

Diante do exposto, a bebida láctea sabor umbu apresentou características de fermentado e boa estabilidade durante o período de armazenamento de 28 dias sob refrigeração no tocante à manutenção do pH e acidez e viabilidade das bactérias lácticas, condizentes com a legislação para bebidas lácteas fermentadas. Quanto à alegação de alimento funcional, estes estão relacionados com o papel metabólico ou fisiológico que um nutriente (fibras, por exemplo) ou não nutriente (licopeno) apresenta no crescimento, desenvolvimento e manutenção do organismo. Significa que estes alimentos contêm ingredientes que podem auxiliar em funções como: manutenção de níveis saudáveis de triglicerídeos, proteção das células contra radicais livres, redução da absorção do colesterol, equilíbrio da flora intestinal, entre outros. Portanto, as alegações de propriedade funcional estão de acordo com a composição química e microbiológica da bebida láctea de umbu, indicando-a como potencial alimento funcional (BRASIL, 2000; BRASIL, 2002).

## **Conclusões**

A partir dos resultados obtidos conclui-se que a bebida láctea fermentada sabor umbu, preparada com 6% de FOS e 20% de soro de leite, pode ser considerada viável do ponto de vista nutricional e tecnológico por apresentar características sensoriais, físico-químicas e de composição centesimal satisfatórias, além de boa estabilidade durante 28 dias de armazenamento refrigerado, condizente com a legislação brasileira vigente.

Quanto ao efeito das variáveis independentes nos atributos sensoriais da bebida láctea, foi possível observar a influência significativa do FOS sobre os atributos sabor, cor e intenção de compra, enquanto que o soro lácteo apresentou efeito apenas na cor da bebida láctea.

Por fim, a bebida láctea sabor umbu apresentou características de fermentado com potencial propriedade funcional e atividade simbiótica, conforme indicação da porção diária de ingestão, devendo a eficácia ser comprovada mediante estudos minuciosos em nível orgânico.

## Referências

ABDOLMALEKI, F.; ASSADI, M. M.; AKBARIRAD, H. Assessment of beverages made from milk, soya milk and whey using Iranian kefir starter culture. **International Journal of Dairy Technology**, 2015.

ADOLFO, L. Normas Analíticas. Métodos Físico-Químico para Análise de Alimentos, **Instituto Adolfo Lutz**, 4 ed., São Paulo, 2005.

AJILA, C. M.; BHAT, S. G.; RAO, U. J. S. P. Valuable components of raw and ripe peels from two Indian mango varieties. **Journal of Food Chemistry**, v. 102, n. 4, p. 1006-1011, 2007.

ALVES, R. E.; BRITO, E. A.; RUFINO, M. S. M.; SAMPAIO, C. G. Antioxidant activity measurement in tropical fruits: a case study with acerola. **Acta Horticulturae**, n. 773, p. 299–305, 2008.

AOAC. Association of Official Analytical Chemistry. **Official Methods of Analysis**. v. 2, ed. 17, 2002, Washington.

APOSTOLIDIS, E.; KWON, Y., GHAEDIAN, R.; SHETTY, K. Fermentation of milk and soymilk by *Lactobacillus bulgaricus* and *Lactobacillus acidophilus* enhances functionality for potential dietary management of hyperglycemia and hypertension. **Food Biotechnology**, n. 21, p. 217-236, 2007.

ASSADI, M. M.; POURAHMAD, R.; MOAZAMI, N. Use of isolated kefir starter cultures in kefir production. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, n. 16, p. 541–543, 2000.

ASSADI, M. M.; ABDOLMALEKI, F.; MOKARRAME, R. R. Application of whey in fermented beverage production using kefir starter culture. **Nutrition and Food Science**, n. 38, p. 121–127, 2008.

AYALA-ZAVALA, J. F.; ROSAS-DOMINGUEZ, C.; VEJA-VEJA, V.; GONZALEZ-AGUILAR, G. A. Antioxidant enrichment and antimicrobial protection of fresh-cut

fruits using their own byproducts: Looking for integral exploitation. **Journal of Food Science**, v. 25, n. 8, p. 175-181, 2010.

BASSI, L. G.; FERREIRA, G. C. C.; SILVA, A. S.; SIVIERI, K.; ARAGON-ALEGRO, L. C.; COSTA, M. R. Evaluation of physicochemical, microbiological and sensorial characteristics of fermented milk beverages with buttermilk addition. **International Journal of Dairy Technology**, 2011.

BECKMAN, K. B.; AMES, B. N.; The free radical theory of aging matures. **Physiological Reviews**, n. 78, p. 547-581, 1998.

BEDANI, R.; ROSSI, E. A.; SAAD, S. M. I. Impact of inulin and okara on *Lactobacillus acidophilus* La-5 and *Bifidobacterium animalis* Bb-12 viability in a fermented soy product and probiotic survival under in vitro simulated gastrointestinal conditions. **International Journal of Food Microbiology**, n. 34, p. 382–389, 2013.

BERMÚDEZ-AGUIRRE, D.; YÁÑEZ, J. A.; DUNNE, C. P.; DAVIES, N. M.; BARBOSA-CÁNOVAS, G. V. Study of strawberry flavored milk under pulsed electric field processing. **Food Research International**, Malaysia, v. 43, n. 8, p. 2201-2207, 2010.

BEZERRA, M. F.; SOUZA, D. F. S.; CORREIA, R. T. P. Acidification kinetics, physicochemical properties and sensory attributes of yoghurts prepared from mixtures of goat and buffalo milks. **International Journal of Dairy Technology**, n. 65, p. 1-7, 2012.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) n. 2**, 07 de janeiro de 2002. Aprova o Regulamento Técnico de Substâncias Bioativas e Probióticos Isolados com Alegação de Propriedades Funcionais e ou de Saúde. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 9 jan. 2002.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução de Diretoria Colegiada, RDC359, 23 de dezembro de 2003. Aprova o Regulamento Técnico de

Substâncias Bioativas e Probióticos Isolados com Alegação de Propriedades Funcionais e ou de Saúde. **Diário Oficial da União**, Brasília.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº. 46, 23 de outubro de 2007**. Regulamento técnico de identidade e qualidade de leites fermentados. Brasília, Diário Oficial da República Federativa do Brasil.

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

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

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, MAPA. **IN nº 19, 19 de Junho de 2013**. Decreto nº 6.871, de 04 de junho de 2009. Lei nº 8.918, de 14 de julho de 1994.

BRASIL. Resolução RDC n.12, de 02 de janeiro de 2001. **Aprova o regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos**. Brasília, Ministério da Saúde, 2001.

BUENO, S. M. Avaliação da qualidade de polpas congeladas. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 61, p. 121-126, 2002.

CANTERI, M. H. G.; MORENO, L.; WOSIACKI, G. **Pectina: da Matéria-Prima ao Produto Final**. Polímeros, n. 22, p. 149-157, 2012.

CARVALHO, W.; FONSECA, M. E. N.; SILVA, H. R.; BOITEUX, L. S.; GIORDANO, L. B. Indirect analysis of lycopene levels in tomato genotypic fruits using colorimetric analysis. **Horticultura Brasileira**, n. 232, p. 819-825, 2005.



CECCHI, H. M. **Fundamentos Teóricos e Práticos em Análise de Alimentos**. 2 ed. São Paulo, 2003.

CHANG, C. T.; HSU, C. K.; CHOU, S. T.; CHEN, Y. C.; HUANG, F. S.; CHUNG, Y. C. Effect of fermentation time on the antioxidant activities of tempeh prepared from fermented soybean using *Rhizopus oligosporus*. **International Journal of Food Science and Technology**, n. 44, p. 799-806, 2009.

CLERICI, M. T. P. S.; CARVALHO-SILVA, L. B. Nutritional bioactive compounds and technological aspects of minor fruits grown in Brazil. **Food Research International**, n. 44, 2011.

CODEX ALIMENTARIUS. Codex standard for fermented milks. 2nd ed. **Codex standard 243-2003 in Codex Alimentarius: Milk and Milk Products**. Codex Alimentarius Commission, Brussels, Belgium, 2010.

COSTA, M. P.; BALTHAZAR, C. F.; FRANCO, R. M.; MÁRSICO, E. T.; CRUZ, A. G. T.; CONTE-JUNIOR, C. A. Changes in expected taste perception of probiotic and conventional yogurts made from goat milk after rapidly repeated exposure. **Journal of Dairy Science**. Niterói, n. 97, p. 2610-2618, 2014.

COSTA, M. P.; CONTE-JUNIOR, C. A. Leites fermentados como alimentos funcionais. **Animal Business Brasil**, n. 3, p. 60–65, 2013.

COSTA, N. P.; LUZ, T. L. B.; GONÇALVES, E. P.; BRUNO, R. L. A. Caracterização Físico-química de Frutos de Umbuzeiro (*Spondias tuberosa* Arruda Câmara) colhidos em quatro estádios de maturação. **Bioscience Journal**, v. 20, n. 2, p. 65 – 71. Uberlândia, 2004.

DA COSTA, M. P.; DA SILVA, H. L. A.; BALTHAZAR, C. F.; FRANCO, R. M.; CORTEZ, M. A. S. **Economic performance and sensory analysis of probiotic “Minas Frescal” cheese produced using bovine and caprine milk**. *EnciclopediaBiosfera*, n.17, p. 2306–2314, 2013.

DOGAN, M. Rheological behaviour and physicochemical properties of kefir with honey. **Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit**. Journal of Consumer Protection and Food Safety, n. 6, p. 327-332, 2011.

EISSA, E. A.; AHMED, I. A. M.; YAGOUB, A. E. A.; BABIKER, E. E. Physicochemical, microbiological and sensory characteristics of yoghurt produced from goat milk. **Livestock Research for Rural Development**, v. 22, n. 137, 2011.

EKINCI, F. Y.; GUREL, M. Gurel. Effect of using propionic acid bacteria as an adjunct culture in yogurt production. **International Journal of Dairy Science**, n. 91, p. 892–899, 2008.

EMBRAPA; FILHO, J. M. P. L. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, MAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, EMBRAPA. **Ecofisiologia do umbuzeiro (*Spondias tuberosa* Arruda Câmara)**. Documento Online n 240, 2011. Petrolina, PE.

EVERETT, D. W.; MCLEOD, R. E. Interactions of polysaccharide stabilizers with casein aggregates in stirred skim-milk yoghurt. **International Dairy Journal**, n. 15, p. 1175-1183, 2005.

FAO. **Food and Agriculture Organization of the United Nations**, 2009. <http://faostat.fao.org/site/609/DesktopDefault.aspx?PageID=609#ancor>.

FOH, M. B. K.; AMADOU, I.; FOH, B. M.; KAMARA, M. T.; XIA, W. Functionality and antioxidant properties of tilapia (*Oreochromis niloticus*) as influenced by the degree of hydrolysis. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 11, n. 4, p. 1851–1869, 2010.

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

GALINA, M. A.; OSNAYA, F.; CUCHILLO, H. M.; HAENLEIN, G. F. W. Cheese quality from milk of grazing or indoor fed Zebu cows and Alpine crossbred goats. **Small Ruminant Research**, n. 71, p. 264-272, 2007.

GAUCHE, C.; TOMAZI, T.; BARRETO, P. L. M.; OGLIARI, P. J.; BORDIGNON-LUIZ, M. T. Physical properties of yoghurt manufactured with milk whey and transglutaminase. **Journal of Food and Science Technology**, n. 42, p. 239-243, 2009.

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

GILLILAND, S. E. Health and nutritional benefit from lactic acid bacteria. **FEMS Microbiology Letters**, n. 87, p. 175-188, 1999.

GOMES, J. J. L.; DUARTE, A. M.; BATISTA, A. S. M.; FIGUEIREDO, R. M. F.; SOUSA, E. P.; SOUZA, E. L.; QUEIROGA, R. C. R. E. Physicochemical and sensory properties of fermented dairy beverages made with goat's milk, cow's milk and a mixture of the two milks. **Journal of Food Science and Technology**, 2013.

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

GONÇALVES, G. M. S.; SANTOS, N. P.; SREBERNICH, S. M. Antioxidant and antimicrobial activities of propolis and açai (*Euterpe oleracea* Mart) extracts. **Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 32, n. 3, p. 349-356, 2011.

GRANATO, D. Leites fermentados: algumas considerações. **Leite e Derivados**, v. 16, n. 100, p. 16-33, 2007.

GREGORIS, E.; LIMA, G. P. P.; FABRIS, S.; BERTELLE, M.; SICARI, M.; STEVANATO, R. Antioxidant Properties of Brazilian Tropical Fruits by Correlation between Different Assays. **BioMed Research International**, 2013.

GUIMARÃES, P. M. R.; TEIXEIRA, J. A.; DOMINGUES, L. Fermentation of lactose to bio-ethanol by yeasts as part of integrated solutions for the valorization of cheese whey. **Biotechnology advances**, n. 28, p. 375-384, 2010.

GULER-AKIN, M. B.; AKIN, M. S. Effects of cysteine and diferente incubation temperatures on the microflora, chemical composition and sensory characteristics of bio-yogurt made from goat's milk. **Journal Food Chemistry**, n. 100, p. 788–793, 2007.

HASSIMOTTO, N. M. A. Antioxidant capacity of Brazilian fruit, vegetables and commercially-frozen fruit pulps,” **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 22, n. 5, p. 394–396, 2009.

HOGAN, S.; CHUNG, H.; ZHANG, L.; LI, J.; LEE, Y.; DAI, Y. Antiproliferative and antioxidant properties of anthocyanin-rich extract from açai. **Journal Food Chemistry**, n. 118, p. 208–214, 2010.

HUERTA-GONZALEZ L.; WILBEY, R. A. Determination of free fatty acids produced in filled–milk emulsion as result of the lipolytic activity of lactic acid bacteria. **Journal of Food chemistry**, n. 72, p. 301–307, 2001.

HUGHES, B. B.; HOOVER, D. G. Viability and enzymatic activity of bifidobacteria in milk. **Journal of Dairy Science**, n. 78, p. 268-276, 1995.

IAL.INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: métodos químicos e físicos para análise de alimentos**. 4.ed. São Paulo, 2008.

IBRAF. **Brazilian Institute of Fruits**. Brazilian fruits in demand, 2009. [http://www.ibraf.org.br/imprensa/0901\\_FrutasBrasileirasAscensao.asp](http://www.ibraf.org.br/imprensa/0901_FrutasBrasileirasAscensao.asp)

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

JORGE, E. C. et al. Caracterización física, físico química y microbiológica de pulpas de “umbu” (*Spondias tuberosa* Arr. Camâra) obtenidas por metodos combinados. **Alimentaria**, n. 355, p. 51-55, 2004.

KOUTINAS, A. A.; PAPAPOSTOLOU, H.; DIMITRELLOU, D.; KOPSAHELIS, N.; KATECHAKI, E.; BEKATOROU, A.; BOSNEA L. A. Whey valorization: A complete and novel technology development for dairy industry starter culture production. **Bioresource Technology**, n. 100, p. 3734-3739, 2009.

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

KUÇUKÇETIN, A.; DEMIR, M.; ASÇI, A.; COMAK, E. M. Graininess and roughness of stirred yoghurt made with goat's, cow's or a mixture of goat's and cow's milk. **Small Ruminant Research**, n. 96, p. 173-177, 2011.

LEE, W. J.; LUCEY, J. A. Formation and physical properties of yogurt. **Asian-australasian Journal of Animal Sciences**, n. 23, p. 1127-1136, 2010.

LIEVORE, P.; SIMÕES, D. R. S.; SILVA, K. M.; DRUNKLER, N. L.; BARANA, A. C.; NOGUEIRA, A.; DEMIATE, I. M. Chemical characterisation and application of acid whey in fermented milk. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 52, n. 4, p. 2083–2092, 2015.

LIU, J. R.; CHEN, M. J.; LIN, C. W. Antimutagenic and antioxidant properties of milk kefir and soy milk kefir. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, n. 53, p. 2467-2474, 2005.

MAGALHÃES, K. T.; DIAS, D. R.; MELO, G. V. P.; OLIVEIRA, J. M.; DOMINGUES, L.; TEIXEIRA, J. A.; SILVA, J. B. A.; SCHWAN R. F. Chemical composition and sensory analysis of cheese whey-based beverages using kefir grains as starter culture. **International Journal of Food Science and Technology**, n. 46, p. 871-878, 2011.

MAGALHÃES K. T.; PEREIRA, M. A.; NICOLAU, A.; DRAGONE, G.; DOMINGUES, L.; TEIXEIRA, J. A.; SILVA, J .B. A.; SCHWAN, R. F. Production of fermented cheese whey-based beverage using kefir grains as starter culture: Evaluation of morphological and microbial variations. **Bioresource Technology**, n. 101, p. 8843-8850, 2010.

MALEKI, N.; KHODAIYAN, F.; MOUSAVI, S. M. Antioxidant Activity of Fermented Hazelnut Milk. **Food Science and Biotechnology**, v. 24, n. 1, p. 107-115, 2015.

MATTIETTO, R.A. **Estudo tecnológico de um néctar misto de cajá (*Spondias lútea* L.) e umbu (*Spondias tuberosa*, Arruda Câmara)**. Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005.

MELO, E. A.; ANDRADE, R. A. M. S. Compostos bioativos e potencial antioxidante de frutos do umbuzeiro. *Brazilian Journal of Food and Nutrition*, v. 21, n. 3, p. 453-458. Recife, 2010.

MENDES, B.V. **Umbuzeiro (*Spondias tuberosa* Arr. Cam.): importante fruteira do semi-árido**. ESAM. Coleção Mossoreense. Mossoró, série C, v.564, p. 63, 1990.

OELSCHLAEGER, T. A. Mechanisms of probiotic actions - A review. **International Journal of Medical Microbiology**, n. 300, p. 57–62, 2010.

OLIVEIRA, E. A.; BORGES, S. V.; FURTADO, A. A. L.; MODESTA, R. C. D.; GODOY, R. O. Heatprocessing (HTST) of umbu (*Spondias tuberosa* Arruda Câmara) pulp. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 31, n. 4, p. 923-928. Campinas, 2011.

PARK, Y. W.; JUAREZ, M.; RAMOS, M.; HAENLEIN, G. F. W. Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk. **Small Ruminant Research**, n. 68, p. 88–113, 2007.

PAULA, B.; FILHO, C. D. C.; MATTA, V. M.; RAMOS, J. S.; LIMA, P. C.; PINTO, C. O.; CONCEIÇÃO, L. E. M. G. Produção e caracterização físico-química de fermentado de umbu. **Ciência Rural**, v.42, n.9, p.1688-1693. Santa Maria, 2012.

PAZ, M.; GÚLLON, P.; BARROSO, F.; CARVALHO, A. P.; DOMINGUES, V. F.; GOMES, A. M.; BECKER, H. LONGHINOTTI, E.; DELERUE-MATOS, C. Brazilian fruit pulps as functional foods and additives: Evaluation of bioactive compounds. **Journal Food Chemistry**, n. 172, p. 462-468, 2015.

PEÑA-RAMOS, E. A.; XIONG, Y. L.; ARTEAGA, G. E. Fractionation and characterization for antioxidant activity of hydrolysed whey protein. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, n. 84, p. 1908-1918, 2004.

POLICARPO, V. M. et al. Aprovechamiento de la pulpa de “umbu” (*Spondias tuberosa* Arr. Cam.) verde como alternativa para la producción de dulces em masa. **Alimentaria**, n. 344, p. 75-77, 2003.

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

REED, J. B.; HENDRIX, D. L.; HENDRIX-JUNIOR., C. M. **Quality control manual for citrus processing plants**. Safety Harbor, v. 1, 1986.

RITZINGER, R.; SOARES-FILHO, W. S.; CARVALHO, P. C. L.; FOLEGATTI, M.I. S.; MATSUURA, F.C.A.U.; CERQUEIRA, E.Q.; KISARI, R.G.; SILVA-NETO, C.N. Caracterização e avaliação de germoplasma de umbu-cajazeira no Estado da Bahia. Congresso Brasileiro de Melhoramento de Plantas, Goiânia, 2001.

ROJAS-CASTRO, W.; VILLALOBOS, A. C.; CASTRO, M. L. P. Características del yogurt batido de fresa derivadas de diferentes proporciones de leche de vaca y cabra. **Agronomía Mesoamericana**, n. 18, p. 221-237, 2007.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; PEREZ-JIMENEZ, J.; SAURACALIXTO, F.; MANCINI-FILHO, J. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, n. 121, p. 996-1002, 2010.

SACRAMENTO, C.K.; MATOS, C.B.; SOUZA, C.N.; BARRETTO, W.S.; FARIA, J.C. Características físicas, físico-químicas e químicas de cajás oriundos de diversos municípios da região sul da Bahia. **Magistra**, Cruz das Almas, v.19, n.4, p.283- 289, 2007.

SAH, B. N. P.; VASILJEVIC, T.; MCKECHNIE, S.; DONKOR, O. N. Effect of probiotics on antioxidant and antimutagenic activities of crude peptide extract from yogurt. **Journal Food Chemistry**, n. 156, p. 264–270, 2014.

SANTOS, M. B.; CARDOSO, R. L.; FONSECA, A. A. O.; CONCEIÇÃO, M. N. Caracterização e qualidade de frutos de umbu-cajá (*Spondias tuberosa* x *S. mombin*) provenientes do Recôncavo Sul da Bahia. **Revista Brasileira de Fruticultura**. Jaboticabal –SP, v. 32, n. 4, p. 1089-1097, 2010.

SANTOS, J. S.; SANTOS, M. L. P.; AZEVEDO, A. S. Validação de um Método para Determinação Simultânea de Quatro Ácidos Orgânicos por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência em Polpas de Frutas Congeladas. **Química Nova**, v. 37, n. 3, p. 540-544. Bahia, 2014.

SERGENT, T.; PIRONT, N.; MEURICE, J.; TOUSSAINT, O.; SCHEINDER, Y. J. Antiinflammatory effects of dietary phenolic compounds in an in vitro model of inflamed human intestinal epithelium. **Chemico-Biological Interactions**, n. 188, p. 659-667, 2010.



SHINMOTO, H.; DOSAKO, S.; NAKAJIMA, I. Antioxidant activity of bovine lactoferrin on iron/ascorbate induced lipid peroxidation. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, n. 56, 1992.

SILVA, L. M. R.; FIGUEIREDO, E. A. T.; RICARDO, N. M. P. S.; VIEIRA, I. G. P.; FIGUEIREDO, R. W.; BRASIL, I. M.; GOMES, C. L. Quantification of bioactive compounds in pulps and by-products of tropical fruits from Brazil. **Journal Food Chemistry**, n. 143, p. 398-404, 2014.

SIRIRAT, D.; JELENA, P. Bacterial inhibition and antioxidant activity of kefir produced from thai jasmine rice milk. **Biotechnology**, n. 9, p. 332-337, 2010.

SISO, M. I. G.; The biotechnological utilization of cheese whey: A review. **Bioresource Technology**, n. 57, p. 1-11, 1996.

SOUSA, V. R.; PEREIRA, P. A. P.; QUEIROZ, F.; BORGES, S. V.; CARNEIRO, J. D. D. S. Determination of bioactive compounds, antioxidant activity and chemical composition of Cerrado Brazilian fruits. **Journal Food Chemistry**, n. 134, p. 381–386, 2012.

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

STONE, L. H. J.; SIDEL, L. Sensory evaluation practices. 2nd ed. **Academic Press**. London, UK, 1993.

TAMIME, A. Y.; WSZOLEK, M.; BOZANIC, R.; OZER, B. Popular ovine and caprine fermented milks. *Small Ruminant Research*, n. 101, p. 2–16, 2011.

TANAKA, T.; SHNIMIZU, M.; MORIWAKI, H. Cancer chemoprevention by carotenoids. **Molecules**, n. 17, p. 3202–3242, 2012.

TEBALDI, V. M. R.; RESENDE, J. G. O. S.; RAMALHO, G. C. A.; OLIVEIRA, T. L. C.; ABREU, L. R.; PICCOLI, R. H. Avaliação microbiológicas de bebidas lácteas

fermentadas adquiridas no comércio varejista do Sul de Minas Gerais. **Ciência e agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n.4, p. 1085-1088, 2007.

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.

TIBURSKI, J. H.; ROSENTHAL, A.; DELIZ, R.; GODOY, R. L. O.; PACHECO, S. Nutritional properties of yellow mombin (*Spondia mombin* L.) pulp. **Food Research International**, n. 44, 2011.

VALKO, M.; LEIBFRITZ, D.; MONCOL, J.; CRONIN, M. T. D.; MAZUR, M.; TELSER, J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, v. 39, n. 1, p. 44-84, 2007.

VALKO, M.; RHODES, C. J.; MONCOL, J.; IZAKOVIC, M.; MAZUR, M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress induced cancer. **Chemico-Biological Interactions**, v. 160, n. 1, p. 1–40, 2006.

VARGAS, M., CHAFER, M.; ALBORS, A.; CHIRALT, A.; GONZALEZ-MARTINEZ, C. Physicochemical and sensory characteristics of yoghurt produced from mixtures of cows' and goats' milk. **International Dairy Journal**, n. 18, p. 1146-1152, 2008.

VINDEROLA, C. G.; COSTA, G. A.; REGENHARDT, S.; REINHEIMER, J. A. Influence of compounds associated with fermented dairy products on the growth of lactic acid starter and probiotic bacteria. **International Dairy Journal**, Barking, v. 12, n. 7, p. 579-589, 2002.

VIRTANEN T.; PIHLANTO, A.; AKKANEN, S.; KORHONEN, H. Development of

antioxidant activity in milk whey during fermentation with lactic acid bacteria. **Journal of Applied Microbiology**, n. 102, p.106-115, 2006.

ZAFRA-STONE, S.; YASMIN, T.; BAGCHI, M.; CHATTERJEE, A.; VINSON, J. A.; BAGCHI, D. Berry anthocyanins as novel antioxidants in human health and disease prevention. **Molecular Nutrition and Food Research**, v. 51, n. 6, p. 675-683, 2007.

ZERAIK, M. L.; QUEIROZ, E. F.; MARCOURT, L.; CICLET, O.; CASTRO-GAMBOA, I.; SILVA, D. H. S.; CUENDET, M.; BOLZANI, V. S.; WOLFENDER, J. L. Antioxidants, quinone reductase inducers and acetylcholinesterase inhibitors from *Spondias tuberosa* fruits. **Journal of Functional Foods**, n. 21, p. 396–405, 2016.

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

ZUJKO, M. E.; WITKOWSKA, A. M. Antioxidant potential and polyphenol content of beverages, chocolates, nuts, and seeds. **International Journal of Food and Science**, n. 17, p. 86-92, 2014.

WANG, S.; ZHU, H.; LU, C.; KANG, Z.; LUO, Y.; FENG, L.; LU, X. Fermented milk supplemented with probiotics and prebiotics can effectively alter the intestinal microbiota and immunity of host animals. **International Journal of Dairy Science**, n. 95, p. 4813–4822, 2012.

## 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

É possível produzir uma bebida láctea fermentada com polpa de umbu com características sensoriais, físico-químicas e nutricionais satisfatórias e adequadas à Legislação vigente, configurando uma alternativa tecnologicamente viável. A viabilidade das bactérias lácticas durante todo o período de armazenamento refrigerado permite o processamento em grande escala da bebida láctea fermentada para a indústria de laticínios. Além disso, a produção de bebidas lácteas à base de umbu pode representar um incremento na economia local e na renda das famílias do sertão nordestino que sobrevivem do extrativismo do umbu. Para tal alcance e como perspectivas futuras, são necessárias mais pesquisas a fim de buscar o aumento da contagem de bactérias lácticas, bem como sua quantificação em nível de espécie, possibilidade de microencapsulação de probióticos e comprovação científica dos efeitos simbióticos e funcionais da bebida láctea fermentada sabor umbu.

## 7. APÊNDICES

### 7.1 Ficha do Avaliador para Análise Sensorial

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

Nome: \_\_\_\_\_ Idade: \_\_\_\_\_  
Escolaridade: \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/2015  
Email: \_\_\_\_\_ Fone/Celular: \_\_\_\_\_

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

Você está recebendo 4 amostras, e depois mais 3 amostras diferentes e codificadas de bebida láctea sabor umbu. Prove-as e escreva na tabela o valor da **escala ao lado de 9 pontos** que você considera correspondente à cada atributo da amostra. Antes de cada avaliação, você deverá fazer uso da água e da bolacha para limpeza do palato.

| Código da amostra | 587 | 648 | 465 | 319 | 120 | 953 | 526 |
|-------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Cor               |     |     |     |     |     |     |     |
| Sabor             |     |     |     |     |     |     |     |
| Aroma             |     |     |     |     |     |     |     |
| Consistência      |     |     |     |     |     |     |     |
| Qualidade global  |     |     |     |     |     |     |     |

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

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

5 – Certamente compraria  
4 – Talvez compraria  
3 – Talvez compraria, talvez não compraria  
2 – Talvez não compraria  
1 – Jamais compraria

Amostra **587** (\_\_\_\_)  
Amostra **648** (\_\_\_\_)  
Amostra **465** (\_\_\_\_)  
Amostra **319** (\_\_\_\_)  
Amostra **120** (\_\_\_\_)  
Amostra **953** (\_\_\_\_)  
Amostra **526** (\_\_\_\_)

**1) Qual é a sua freqüência 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 dos produtos lácteos fermentados para a saúde?**

( ) Sim ( ) Não

## 7.2 Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE



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



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

Convidamos V.Sa. a participar da pesquisa “Desenvolvimento de bebida láctea fermentada sabor umbu (*Spondias tuberosa* ARRUDA CÂMARA) com característica simbiótica”, sob responsabilidade da pesquisadora Maria das Neves Medeiros Sampaio e orientada pela Professora Celiane Gomes Maia da Silva.

**OBJETIVOS:** Conhecer a aceitabilidade e intenção de compra da bebida láctea fermentada sabor umbu (*Spondias tuberosa* ARRUDA CÂMARA) com característica simbiótica elaborada no Laboratório de Processamento de Alimentos do DCD/UFRRPE.

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

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

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

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

### BENEFÍCIOS DA REALIZAÇÃO DA PESQUISA:

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

O (A) senhor (a) terá os seguintes direitos: a garantia de esclarecimento e resposta a qualquer pergunta; a liberdade de abandonar a pesquisa a qualquer momento sem prejuízo para si ou para seu tratamento; a garantia de que em caso haja algum dano a sua pessoa (ou o dependente), os prejuízos serão assumidos pelos pesquisadores ou pela instituição responsável inclusive acompanhamento médico e hospitalar (se for o caso). Caso haja gastos adicionais, os mesmos serão absorvidos pelo pesquisador. Nos casos de dúvidas e esclarecimentos o (a) senhor (a) deve procurar a pesquisadora Maria Sampaio, Endereço Rua João Francisco Lisboa, 121, Bloco 15, apto 204, Várzea, Recife – PE. CEP: 50741-100; Contato: (81) 98801-6971; email: mariamaria.sampaio@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 e-mail comite.etica@upe.br.

### Consentimento Livre e Esclarecido

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

Recife, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 2015.

\_\_\_\_\_  
Assinatura do pesquisado

\_\_\_\_\_  
Assinatura do pesquisador

## 8. ANEXOS



UNIVERSIDADE DE PERNAMBUCO/  
PROPEGE/

### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

#### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Pesquisador:** Maria Sampaio

**Título da Pesquisa:** DESENVOLVIMENTO DE BEBIDA LÁCTEA FERMENTADA SABOR UMBU  
(Spondias tuberosa Arruda Câmara) COM CARACTERÍSTICA SIMBIÓTICA

**Área Temática:**

**Versão:**3

**CAAE:** 55480815.0.0000.5207

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

**Patrocinador principal:** UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO

#### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 1.834.028

#### **Apresentação do Projeto:**

2a versão.

#### **Objetivo da Pesquisa:**

2a versão.

#### **Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

O presente projeto inclui uma etapa de análise sensorial na qual aproximadamente 100 participantes degustarão e analisarão 7 formulações de bebida láctea sabor umbu. Sob o risco informado de possível intoxicação, sensibilidade ou reação alérgica, a autora do projeto informa que os participantes que apresentarem algum quadro suspeito após a ingestão do produto serão

imediatamente encaminhados para a unidade de pronto atendimento mais próxima (UPA Dois Irmãos).

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

2a versão.

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

Todos os documentos foram apresentados.

**Recomendações:**

Sem recomendações

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

Aprovado.

**Considerações Finais a critério do CEP:**

**Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:**

| Tipo Documento                                            | Arquivo                                      | Postagem               | Autor         | Situação |
|-----------------------------------------------------------|----------------------------------------------|------------------------|---------------|----------|
| Informações Básicas do Projeto                            | PB_INFORMAÇÕES_BASICAS_DO_PROJETO_641026.pdf | 09/10/2016<br>22:11:44 |               | Aceito   |
| Outros                                                    | consentimentoumbu.pdf                        | 09/10/2016<br>22:11:02 | Maria Sampaio | Aceito   |
| Cronograma                                                | cronogramaumbu.pdf                           | 09/10/2016<br>22:09:56 | Maria Sampaio | Aceito   |
| Projeto Detalhado / Brochura Investigador                 | umbu.pdf                                     | 04/07/2016<br>13:10:43 | Maria Sampaio | Aceito   |
| Outros                                                    | Observacao_tcle.pdf                          | 04/07/2016<br>12:55:11 | Maria Sampaio | Aceito   |
| Outros                                                    | Lattesceliane.pdf                            | 21/04/2016<br>12:50:08 | Maria Sampaio | Aceito   |
| Outros                                                    | LattesMaria.pdf                              | 21/04/2016<br>12:49:39 | Maria Sampaio | Aceito   |
| Outros                                                    | concessaoumbu_PDF.JPG                        | 21/04/2016<br>12:45:38 | Maria Sampaio | Aceito   |
| Outros                                                    | anuenciaumbu_PDF.JPG                         | 21/04/2016<br>12:44:24 | Maria Sampaio | Aceito   |
| Parecer Anterior                                          | Parecer_PDF.pdf                              | 07/12/2015<br>15:36:31 | Maria Sampaio | Aceito   |
| TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência | FichaAvaliador_PDF.pdf                       | 07/12/2015<br>15:24:22 | Maria Sampaio | Aceito   |
| TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência | confidencialidade_PDF.pdf                    | 07/12/2015<br>15:21:48 | Maria Sampaio | Aceito   |
| Folha de Rosto                                            | folha_PDF.pdf                                | 07/12/2015<br>15:09:55 | Maria Sampaio | Aceito   |



**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

RECIFE, 24 de Novembro de 2016

---

**Assinado por:**  
**Marco Aurélio de Valois Correia Junior**  
**(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