

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA
AGROINDUSTRIAL



Dissertação

**VIABILIDADE DE CULTURAS PROBIÓTICAS DE *Lactobacillus* spp. E
Bifidobacterium spp. EM IOGURTE ADICIONADO DE POLPA E FARINHA DO
ALBEDO DE MARACUJÁ (*Passiflora edulis*)**

Vagna Aparecida Pereira Freire

PELOTAS, 2012

Vagna Aparecida Pereira Freire

**VIABILIDADE DE CULTURAS PROBIÓTICAS DE *Lactobacillus* spp. E
Bifidobacterium spp. EM IOGURTE ADICIONADO DE POLPA E FARINHA DO
ALBEDO DE MARACUJÁ (*Passiflora edulis*)**

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia
Agroindustrial da Universidade Federal de
Pelotas, como requisito parcial à obtenção
do título de Mestre em Ciências

Comitê de Orientação:

Prof. Dr. Wladimir Padilha da Silva

Prof. Dr^a. Ângela Maria Fiorentini

Pelotas, 2012

Dados de catalogação na fonte:

(Marlene Cravo Castillo – CRB-10/744)

F866v Freire, Vagna Aparecida Pereira

Viabilidade de culturas probióticas de *Lactobacillus* spp. e *Bifidobacterium* spp. em iogurte adicionado de polpa e farinha do albedo de maracujá(*Passiflora edulis*) / Vagna Aparecida Pereira Freire ; Orientador Wladimir Padilha da Silva ; Co-orientador Ângela Maria Fiorentini. Pelotas, 2012.141f.. : il..- Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial. Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel. Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, 2012.

1.Probióticos 2.Iogurte 3.Polpa 4.Farinha do albedo de maracujá
5.Atividade antioxidante I.Silva, Wladimir Padilha da(orientador) II. Título.

CDD 637.13

Dedico ao meu amado pai, Antônio Freire (in memoriam)
pelo amor dedicado a mim.
Saudades eternas.

Banca examinadora:

Prof^o. Dr. Wladimir Padilha da Silva, Universidade Federal de Pelotas - UFPel

Prof^a. Dr^a. Ângela Maria Fiorentini, Universidade Federal de Pelotas - UFPel

Prof^a. Dr^a. Maristela Cortez Sawitzki, Universidade Federal do Pampa - UNIPAMPA

Prof^o. Dr. Eliezer Ávila Gandra, Universidade Federal de Pelotas - UFPel

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Antônio (*in memoriam*) e Lídia, pelo apoio incondicional, mesmo estando a quilômetros de distância de casa. E também aos meus irmãos Ismael, Patrício, Daniele e Maria José.

Ao meu namorado e grande amigo André Peres pelo carinho, apoio e paciência dedicados a mim. Não há palavras que descreva o quanto você é importante para mim. “Tantão especial”.

Aos familiares do André, os quais adotei como família do coração.

Ao professor Wladimir pela disponibilidade, acolhida e orientação.

À co-orientadora Ângela, pelo apoio e orientação realizada.

Aos colegas do Microbial que me acolheram no Laboratório. A vocês, Greici, Milena, Massako, Júlia, Carol, Andréia, Márcia, Karla, Simone, Luana, Mariana, Michele, Melina, Joline, Darla, Mayara, Prof. Celso e em especial à Taty, pelos ensinamentos estatísticos de última hora. Obrigada pelos ensinamentos, conversas, risadas e também pelo chimarrão logo pela manhã, afinal eu me tornei uma “mineirucha”.

À empresa Global Food por disponibilizar as Culturas Láticas utilizada no experimento. Em especial ao funcionário Fabrício Paes pela atenção.

Ao pesquisador Jair Natchigal da Embrapa Clima Temperado pela disponibilizar os maracujás utilizados no experimento.

À Universidade Federal de Pelotas/FAEM/DCTA pela oportunidade de realizar o curso de Pós-Graduação.

À Coordenação de Apoio ao Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos.

A todos que direta ou indiretamente, contribuíram para a realização desse trabalho...

RESUMO

FREIRE, V.A.P. **Viabilidade de culturas probióticas de *Lactobacillus spp.* e *Bifidobacterium spp.* em iogurte adicionado de polpa e farinha do albedo de maracujá (*Passiflora edulis*).** 2012. Dissertação de Mestrado - Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

O interesse dos consumidores por alimentos saudáveis vem estimulando o desenvolvimento do mercado de alimentos funcionais como é o caso dos leites fermentados contendo culturas probióticas. A utilização de micro-organismos probióticos no processamento de alimentos, com o intuito de melhorar as características funcionais dos produtos, tem aumentado significativamente. Objetivou-se neste trabalho avaliar a viabilidade de culturas lácticas iniciadoras (*Streptococcus salivarius* spp. *thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* spp. *bulgaricus*) e culturas probióticas (*Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium* spp.), como também as propriedades físico-químicas e sensoriais em iogurtes adicionados de polpa e farinha do albedo de maracujá. Seis iogurtes diferentes foram preparados diferindo-se quanto à adição de polpa e farinha do albedo de maracujá e diferentes combinações de culturas. O delineamento do experimento foi inteiramente casualizado (DIC), com arranjo fatorial (3x2), dois tratamentos e três combinações de culturas, seis tipos de produtos, sendo que cada produto foi elaborado em três repetições, totalizando 18 unidades experimentais a serem avaliadas em cada período de estocagem (1, 7, 14 e 21 dias). Testes sensoriais de aceitação foram realizados com setenta e cinco provadores e os resultados obtidos foram submetidos à análises estatísticas. A viabilidade das culturas probióticas durante o armazenamento foi satisfatória, exceto *L. acidophilus* quando em combinação com *B. Bb-12* e *L. bulgaricus*. A adição de polpa e farinha do albedo de maracujá interferiu nos valores de pH e acidez dos iogurtes, porém não afetou a viabilidade das culturas probióticas. A atividade antioxidante nos iogurtes adicionados de polpa e farinha do albedo de maracujá foi menor em comparação à polpa de maracujá *in natura*. A viscosidade e o índice de sinérese podem ter sido influenciados pela adição de polpa de maracujá. A análise sensorial de iogurte probiótico teve boa aceitação pelos provadores. Os resultados obtidos demonstram um grande potencial para a produção de iogurte probiótico com adição de polpa e farinha do albedo de maracujá.

Palavras-chave: probióticos, iogurte, polpa e farinha do albedo de maracujá, atividade antioxidante

ABSTRACT

FREIRE, V.A.P. **Viability of probiotic cultures of *Lactobacillus* spp. and *Bifidobacterium* spp. in yogurt added to passion fruit pulp and albedo flour (*Passiflora edulis*)**. 2012. Dissertação de Mestrado - Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

The consumer interest in healthy foods has stimulated the development of the market for functional foods such as fermented milks with probiotics cultures. The use of probiotic microorganisms in the food processing, in order to improve the functional characteristics of the products, has increased considerably. The objective of this study was to evaluate the viability of lactic starter cultures (*Streptococcus salivarius* spp. *thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* spp. *bulgaricus*) and probiotic cultures (*Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium* spp.) as well as physico-chemical and sensory yogurt added to passion fruit pulp and albedo flour. Six different types of yogurt were prepared, differing as to the addition of passion fruit pulp and albedo flour, and different combinations of cultures. The design of the experiment was completely randomized (DIC) with factorial arrangement (3x2), two treatments and three crop combinations, six types of products, and each product was prepared in three repetitions, totaling 18 experimental units to be evaluated in each storage period (1, 7, 14 and 21 days). Sensory acceptance tests were conducted with seventy-five tasters and the obtained results were subjected to statistical analysis. The addition of passion fruit pulp and albedo flour interfered in the pH and acidity of the yogurt, but did not affect the viability of probiotic cultures. The antioxidant activity in yogurt added of albedo flour and pulp of passion fruit was lower compared with the passion fruit pulp. The viscosity and the syneresis index may have been influenced by addition of passion fruit pulp. The sensory evaluation of probiotic yogurt was well accepted by the tasters. The obtained results show the great potential for the production the results show great potential for the production of probiotic yogurt added with passion fruit pulp and albedo flour.

Keywords: probiotics, iogurt, pulp and albedo flour from passion fruit, antioxidant activity

Lista de Figuras

Figura 1 –	Fluxograma genérico de produção de iogurte.....	27
Figura 2–	Teor de nutrientes em cascas in natura de maracujá amarelo (<i>P. edulis</i> fo. <i>flavicarpa</i>).....	53
Figura 3–	Fluxograma de produção de iogurte.....	61
Figura 4 –	Tempo de fermentação na elaboração dos seis tratamentos de iogurte.....	67
Figura 5 –	Contagem média de viabilidade de <i>S. thermophilus</i> e <i>L. bulgaricus</i> nos iogurtes Y e YM durante 21 dias de armazenamento sob refrigeração.....	70
Figura 6 –	contagem média de viabilidade de <i>S. thermophilus</i> , <i>L. bulgaricus</i> , <i>B. lactis</i> e <i>L. acidophilus</i> nos iogurtes LABL e LABLM durante 21 dias de armazenamento sob refrigeração.....	74
Figura 7 –	Contagem média de viabilidade de <i>S. thermophilus</i> , <i>L. acidophilus</i> e <i>B.Bb-12 lactis</i> nos iogurtes SBLA e SBLAM durante 21 dias de armazenamento sob refrigeração.....	75
Figura 8 –	Valores médios de pH dos iogurtes Y e YM elaborados com culturas iniciadoras <i>S. thermophilus</i> e <i>L. bulgaricus</i> durante o armazenamento sob refrigeração.....	78
Figura 9 –	Valores médios de acidez expressos em °Dornic dos iogurtes Y e YM elaborados com culturas iniciadoras <i>S.thermophilus</i> e <i>L. bulgaricus</i> durante o armazenamento sob refrigeração.....	79
Figura 10 –	Valores médios de pH dos iogurtes LABL e LABLM elaborados com culturas iniciadoras <i>S. thermophilus</i> e <i>L. bulgaricus</i> e culturas probióticas <i>B. lactis</i> e <i>L. acidophilus</i> durante o armazenamento sob refrigeração.....	80
Figura 11 –	Valores médios de acidez expressos em °Dornic dos iogurtes LABL e LABLM elaborados com culturas iniciadoras <i>S. thermophilus</i> e <i>L. bulgaricus</i> e culturas probióticas <i>B. lactis</i> e <i>L. acidophilus</i> durante o armazenamento sob refrigeração.....	81

Figura 12 -	Valores médios de pH dos iogurtes SBLA e SBLAM elaborados com a cultura iniciadora <i>S. thermophilus</i> e culturas probióticas <i>B. Bb-12</i> e <i>L. acidophilus</i> durante o armazenamento sob refrigeração.....	82
Figura 13 -	Valores médios de acidez expressos em °Dornic dos iogurtes SBLA e SBLAM elaborados com a cultura iniciadora <i>S. thermophilus</i> e culturas probióticas <i>B. Bb-12</i> e <i>L. acidophilus</i> durante o armazenamento sob refrigeração.....	83
Figura 14	Valores médios de índice de sinérese dos iogurtes Y, YM, LABL, LABLM, SBLA e SBLAM no 21° dia de análise.....	89
Figura 15	Atividade antioxidante de polpa de maracujá <i>in natura</i> e dos iogurtes YM, LABLM, SBLAM, Y, LABL e SBLA no 21° dia de armazenamento sob refrigeração.....	90
Figura 16	Valores médios dos atributos sensoriais cor, aroma, sabor, consistência e impressão global do iogurte SBLAM.....	92

Lista de Tabelas

Tabela 1 -	Requisitos físico-químicos de leites fermentados.....	25
Tabela 2 -	Contagem de micro-organismos específicos em leites fermentados.....	25
Tabela 3 -	Composição nutricional em 100g de polpa de maracujá fresco.....	51
Tabela 4 -	Delineamento para avaliar o efeito da polpa e farinha do albedo de maracujá na viabilidade de diferentes probióticos e nas propriedades físico-químicas, reológicas e sensoriais de iogurte.....	60
Tabela 5 -	Caracterização físico-química de polpa <i>in natura</i> de maracujá, cultivar BRS Ouro Vermelho (EC-2-0).....	68
Tabela 6 -	Valores de umidade, cinzas e gordura nos iogurtes, após 21 dias de armazenamento sob refrigeração.....	85
Tabela 7 -	Valores médios de viscosidade das amostras de iogurte a 15° C, expressa em mPa.s ¹ em diferentes taxas de cisalhamento.....	86
Tabela 8 -	Índice de sinérese nas amostras de iogurte.....	87

Lista de abreviaturas e siglas

ABTS (2,2-azinobis[3-etil-benzotiazolin-6-ácido Sulfônico])

B. Bb-12 – *Bifidobacterium Bb-12*

B. - *Bifidobacterium*

B. bifidum - *Bifidobacterium bifidum*

B. Lactis - *Bifidobacterium lactis*

L. - *Lactobacillus*

L. acidophilus - *Lactobacillus acidophilus*

L. bulgaricus - *Lactobacillus delbrueckii* spp. *bulgaricus*

S. thermophilus - *Streptococcus salivarius* spp. *thermophilus*

EST - Extrato Seco Total

DPPH – (2,2-difenil-1-picrilidrazilo)

% - Percentual

°C - Graus Celsius

P. – *Passiflora*

P. edulis - *Passiflora edulis*

P. alata - *Passiflora alata*

pH - Potencial Hidrogeniônico

MRS – Man Rogosa and Sharpe

UHT - Ultra High Temperature (Ultra Alta temperatura)

UFPEl - Universidade Federal de Pelotas

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO.....	16
OBJETIVOS.....	19
1 Objetivo geral.....	19
2 Objetivos específicos.....	19
REVISÃO DE LITERATURA.....	20
1 Iogurte.....	20
1.1 Histórico e definição.....	20
2 Legislação.....	22
2.1 Normas Brasileiras.....	22
2.1.2 Viabilidade das culturas.....	22
2.1.3 Alegações sobre alimentos funcionais.....	22
2.1.4 Leites fermentados.....	22
2.1.5 Classificação.....	23
2.1.6 Composição e requisitos	23
2.1.7 Características Sensoriais.....	24
2.1.8 Requisitos Físico-Químicos.....	24
2.1.9 Contagem de micro-organismos específicos em leites fermentados.....	25
3 Qualidade da matéria-prima.....	25
4 Fluxograma de produção.....	26
5 Culturas ácido lácticas utilizadas na fermentação.....	30
5.1 Culturas iniciadoras (<i>starters</i>).....	30
5.2 Culturas Probióticas.....	32
5.2.1 Definição.....	32
5.2.2 Principais micro-organismos probióticos.....	33
5.2.3 Critérios de seleção de micro-organismos probióticos.....	33
6 Características dos micro-organismos probióticos.....	35
6.1 Gênero <i>Bifidobacterium</i>	35
6.2 Gênero <i>Lactobacillus</i>	38
7 Mecanismos de ação dos probióticos	39

7.1 Atividade antimicrobiana.....	39
7.2 Atividade antagonista.....	40
7.3 Modificações do pH.....	41
7.4 Imunomodulação.....	42
8 Microbiota intestinal humana e probióticos.....	42
9 Benefícios atribuídos aos probióticos.....	44
9.1 Probióticos na intolerância à lactose.....	44
9.2 Atividade antimicrobiana.....	46
9.3 Efeito hipocolesterolêmico.....	46
9.4 Diarréia associada a antibióticos.....	47
9.5 Propriedades tecnológicas.....	48
9 Maracujá.....	49
9.1 Mercado e comercialização	49
9.2 Cultura do maracujá	50
9.3 Espécies Cultivadas.....	52
9.4 Propriedades nutricionais e funcionais da casca do maracujá.....	52
9.5 Atividade antioxidante da polpa de maracujá.....	54
MATERIAIS E MÉTODOS.....	56
1 Testes preliminares.....	56
1.1 Teor de farinha do albedo de maracujá.....	57
1.2 Teor de polpa de maracujá.....	57
1.3 Açúcar.....	57
2 Maracujá.....	57
2.1 Polpa de maracujá <i>in natura</i>	57
2.2 Obtenção de farinha do albedo de maracujá.....	58
3 Culturas láticas.....	58
3.1 Preparo dos inóculos.....	59
3.2 Fermentação.....	59
4 Análises físico-químicas e microbiológicas do iogurte e polpa de maracujá.....	61
4.1 Análises físico-químicas da polpa de maracujá.....	61

5 Análises microbiológicas dos iogurtes.....	62
5.1 Determinação da população estimada de culturas iniciadoras e culturas probióticas.....	62
6 Análises físico-químicas e reológicas do iogurte.....	63
7 Análise sensorial.....	65
8 Análise estatística.....	66
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	67
1 Processo de fermentação do iogurte.....	67
2. Caracterização físico-química da polpa de maracujá.....	68
3 Estudo da viabilidade das Bactérias Ácido Láticas durante o armazenamento do iogurte sob refrigeração.....	69
3.1 Determinação da população estimada das culturas iniciadoras <i>S. thermophilus</i> e <i>L. bulgaricus</i>	69
3.2 Determinação da população estimada das bactérias probióticas <i>Lactobacillus acidophilus</i> e <i>Bifidobacterium</i> spp.....	72
4 Valores de pH e acidez expressa em graus Dornic (°D) durante o armazenamento sob refrigeração	77
5 Caracterização físico-química do iogurte	84
6 Determinação da viscosidade	86
7 Determinação da sinérese	87
8 Determinação da atividade antioxidante	89
9 Análises microbiológicas do iogurte.....	91
10 Avaliação sensorial.....	91
CONCLUSÃO.....	94
REFERÊNCIAS	95
APÊNDICES.....	114

INTRODUÇÃO

O crescente interesse da população por alimentos saudáveis vem estimulando o desenvolvimento do mercado de alimentos funcionais (Suvarna; Body, 2005), como é o caso dos leites fermentados. Estes alimentos, além de contribuírem para a nutrição básica, são benéficos à saúde dos indivíduos que os consomem devido à presença de bactérias lácticas como culturas probióticas (Antunes *et al.*, 2007; Donkor *et al.*, 2007) e dos metabólitos produzidos por elas durante a fermentação do leite.

É cada vez mais comum encontrar no mercado leites fermentados que ofereçam uma série de características dietéticas e terapêuticas baseadas no aporte de micro-organismos que são comuns ao nosso organismo. Os mais conhecidos são os *Lactobacillus acidophilus* e várias espécies do gênero *Bifidobacterium* (ORDÓÑEZ *et al.*, 2005)

Segundo um estudo da *Probiotics Market* desenvolvido pela empresa de consultoria *Markets and Markets*, o mercado de probióticos alcançou ganhos de 15,9 bilhões de dólares no ano de 2008 e tende a alcançar 32 bilhões de dólares até 2014, oferecendo oportunidades para o desenvolvimento de alimentos funcionais para humanos e animais, terapias e prevenção de doenças.

As principais empresas que produzem bactérias probióticas na atualidade são a Danisco, a Morinaga e a BioGaia que fornecem produtos para várias outras grandes companhias alimentícias como a Nestlé. O crescimento no mercado dará pelos mercados europeu e asiático. No Brasil, a tendência é semelhante, a Danone e a Actmel deverão ter um crescimento anual em torno de 8,7% em três anos, superando a Nestlé, com 5,9% e a Unilever, com 4,2% (INPI, 2011).

Dentre os benefícios à saúde do hospedeiro atribuídos à ingestão de culturas probióticas que mais se destacam são: 1) diminuição da frequência e da duração da diarreia associada ao *Clostridium difficile*, diminuição de infecção por rotavírus, diminuição dos efeitos associados à quimioterapia; 2) estimulação da imunidade humoral e celular; e 3) redução dos metabólitos indesejáveis, como amônia e enzimas

pró-carcinogênicas no cólon. Além disso, existem evidências de outros efeitos: 1) redução da infecção por *Helicobacter pylori*; 2) diminuição dos sintomas alérgicos; 3) alívio da constipação; 4) alívio da síndrome do intestino irritado; 5) melhoria do metabolismo de minerais, principalmente a estabilidade e densidade dos ossos; 6) prevenção do câncer; e 7) redução das concentrações de colesterol e triglicerídeos no plasma sanguíneo (SCHREZENMEIR e DE VRESE, 2001).

Bactérias probióticas devem, após a ingestão, alcançar o intestino em níveis elevados para ser capaz de sobreviver, aderir às paredes intestinais, multiplicar-se e, talvez, exercer seus efeitos de promoção da saúde. Conseqüentemente, a viabilidade de espécies probióticas durante a armazenagem de leite fermentado é muito importante (AWAISHEH, HADDADIN e ROBINSON, 2005).

Os micro-organismos probióticos podem ser inoculados a partir de uma preparação que deve conter linhagens definidas e viáveis em número suficiente para alterar a microbiota do consumidor, por implantação ou colonização, e exercer efeitos benéficos à saúde (SHREZENMEIR; DE VRESE, 2001).

É importante ainda considerar que um micro-organismo probiótico não pode ter efeito no ambiente intestinal se sua população não atingir uma quantidade mínima de bactérias que varie entre 10^6 e 10^8 UFC no intestino humano (Charteris *et al.* 1998).

Atualmente é crescente a busca de novos produtos combinando lácteos fermentados e frutas. Os frutos contêm, além dos nutrientes essenciais e de micronutrientes como minerais, fibras e vitaminas, diversos compostos secundários de natureza fenólica, denominados polifenóis (Harbone e Williams, 2000). Segundo Dhawan *et al.* (2004), o gênero *Passiflora* possui importantes componentes fitoquímicos com atividade antioxidante, como compostos fenólicos, glicosídeos e alcalóides. A utilização da polpa de frutas está em expansão nas indústrias de produtos lácteos, de sorvetes, doces, etc., o que aumenta o interesse dos produtores e dos consumidores.

Originário de regiões tropicais, o maracujá encontra no Brasil condições excelentes para seu cultivo. É fruto rico em minerais e vitaminas, principalmente A e C, muito apreciado pela qualidade de seu suco, de aroma e sabor agradáveis (SANTOS, 1980).

A casca de maracujá é constituída basicamente por carboidratos, proteínas e minerais. Dentre os carboidratos da casca, caracterizados essencialmente como fibras alimentares, as pectinas tem destaque como as de maior importância pela capacidade de reduzir riscos de doenças nas populações (SCWEIZER e WÜRSCH, 1991; TURANO, 2002; CHAU e HUANG, 2004). Quando ingerida forma um gel, dificultando a absorção de carboidratos e da glicose produzida no processo digestivo e também nas gorduras, auxilia ainda a redução de glicemia e na taxa de colesterol (SZEGÖ, 2007). Assim, os produtos ricos em fibras tem merecido destaque e encorajado pesquisadores da área de alimentos a estudar novas fontes de fibras e a desenvolver produtos funcionais (OU *et al.*, 2002) e utilizar seu potencial tecnológico como agentes geleificantes, espessantes emulsificantes, estabilizantes (CHEFTEL, 2000).

Devido ao conteúdo nutricional da polpa e da casca de maracujá, optou-se por utilizar essa fruta na composição do leite fermentado elaborado neste estudo. Outro motivo importante foi a escolha do maracujá BRS Ouro vermelho, sendo uma cultivar relativamente recém introduzida no mercado, e com poucas pesquisas a seu respeito.

Considerando a importância dos leites fermentados, das culturas probióticas e do maracujá, este estudo avaliou a potencialidade do aproveitamento de frutas regionais, porém não garante aproveitamento, na elaboração de um novo produto lácteo probiótico, com significativo valor nutricional e potencial antioxidante, já aceito e consumido por grande parte da população.

OBJETIVOS

1 Objetivo geral

Avaliar a viabilidade de culturas probióticas durante o armazenamento de iogurtes adicionados de polpa e farinha do albedo de maracujá, como também analisar as propriedades físico-químicas, reológicas e sensoriais deste produto lácteo.

2 Objetivos específicos

- Verificar a influência da adição de polpa e farinha do albedo de maracujá na viabilidade de diferentes micro-organismos probióticos em iogurtes;
- Avaliar o efeito da adição de polpa e farinha do albedo de maracujá nas propriedades físico-químicas e reológicas de iogurtes contendo probióticos;
- Avaliar o efeito da adição de polpa e farinha do albedo de maracujá nas propriedades sensoriais de iogurtes contendo probióticos.

REVISÃO DE LITERATURA

1 Iogurte

1.1 Histórico e definição

A origem dos leites fermentados data de longo tempo, não sendo possível uma precisa definição de seu aparecimento. O iogurte é um alimento e bebida tradicional nos Bálcãs e na Ásia Mediterrânea e a palavra “iogurte” é derivada da palavra turca “jugurt”, sendo conhecida por uma variedade de nomes em diferentes países (TAMIME; DEETH, 1980).

No início do século XX, a partir de estudos de Metchnikoff, no *Institute Pasteur* (Paris - França), as pesquisas começaram a associar a produção dos leites fermentados com o metabolismo de micro-organismos lácteos. A partir destas descobertas, várias culturas lácticas foram isoladas e caracterizadas, bem como o processo de fermentação passou a ser controlado e padronizado pelas indústrias (ROBINSON, 1991).

O leite é utilizado como a principal matéria-prima para produção de diferentes tipos de produtos lácteos disponíveis no mercado. Dentre eles encontram-se os leites fermentados, como o iogurte, o qual apresenta boa aceitação pelos consumidores.

“Entende-se por leites fermentados, os produtos obtidos por coagulação e diminuição do pH do leite, por fermentação láctica mediante ação de cultivos de micro-organismos específicos.” Incluem-se entre os tipos de leites fermentados o iogurte, o leite acidófilo, o Kefir, o Kumys e a coalhada (BRASIL, 2007).

Iogurte é o produto resultante da fermentação do leite pasteurizado ou esterilizado, cuja fermentação se realiza com cultivos de *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* e *Lactobacillus delbrückii* subsp. *bulgaricus*. O leite utilizado na fabricação de leites fermentados pode ser natural ou reconstituído, adicionado ou não de outros produtos de origem láctea (leite concentrado, entre outros), bem como de

outras substâncias alimentícias (BRASIL, 2004).

Os ingredientes obrigatórios para a produção dos leites fermentados são: leite e/ou leite reconstituído padronizado em seu conteúdo de gordura, cultivos de bactérias lácticas e/ou cultivos de bactérias lácticas específicas. Os ingredientes opcionais permitidos são: leite concentrado, creme, manteiga, gordura anidra do leite ou *butter oil*, leite em pó, caseinatos alimentícios, proteínas lácteas, outros sólidos de origem láctea, soros lácteos, concentrados de soros lácteos e outros ingredientes não lácteos numa proporção máxima de 30% do produto final. Os fermentos lácticos utilizados devem ser viáveis, ativos e abundantes no produto final durante seu prazo de validade (BRASIL, 2007).

A fermentação do leite através das culturas lácticas resulta vários tipos de produtos com vida útil mais extensa do que o leite fresco devido à formação de componentes metabólicos como ácido láctico, ácido propiônico, diacetil que podem exercer efeito inibitório nas bactérias gram-negativas responsáveis pela deterioração do produto (MARTINS *et al.*, 1988; VEDAMUTHU, 1991; VOSNIAKOS *et al.*, 1991). Além de aumentar a vida útil do leite *in natura*, o processo fermentativo em si torna o produto mais seguro e nutritivo (RAPACCI, 1999).

O iogurte contém as mesmas quantidades de nutrientes que o leite do qual ele foi processado, no entanto, alguns nutrientes como proteínas e lipídios, apresentam melhor digestibilidade por sofrerem hidrólise parcial durante a fermentação (FERNÁNDEZ-BAÑARES *et al.*, 2006).

Devido à ação metabólica das bactérias lácticas sobre os componentes do leite, estes são transformados em substâncias mais simples, podendo ser consumidos por pessoas que, devido à deficiência da enzima lactase em seu organismo, não toleram a lactose presente no leite (SALADO & ANDRADE, 1989). Para Kleinmam (1990), é possível os indivíduos aumentarem sua tolerância a produtos lácteos por ingestão de produtos fermentados como o iogurte, devido ao fato do teor de lactose ser menor. A lactose ingerida no iogurte é mais efetivamente digerida que a lactose do leite, ainda que o iogurte tenha quantidade equivalente em lactose. Este fato é atribuído à hidrólise intestinal, pela ação da β -galactosidase microbiana dos organismos presentes no iogurte, durante a passagem no trato gastrointestinal (LIN, SAVIANO e HARLANDER,

1991).

2 Legislação

2.1 Normas Brasileiras

2.1.2 Viabilidades das culturas

A legislação brasileira vigente exige que os leites fermentados apresentem uma contagem mínima de bactérias láticas viáveis de 10^6 UFC.mL⁻¹ durante toda a sua vida de prateleira e que as condições de conservação e comercialização dessas bebidas não ultrapasse 10°C, para garantir essa viabilidade celular (BRASIL, 2004).

2.1.3 Alegações sobre alimentos funcionais

As alegações sobre alimentos funcionais são definidas segundo a legislação brasileira, da seguinte forma:

- a) Alegação de propriedade funcional à qual se refere o papel metabólico ou fisiológico que o nutriente ou o não nutriente tem no crescimento, desenvolvimento, manutenção e outras funções normais do organismo humano;
- b) Alegação de propriedade de saúde, que sugere ou implica na existência de uma relação entre o alimento ou o ingrediente com a doença ou condição relacionada à saúde.

2.1.4 Leites fermentados

No Brasil, a Instrução Normativa n.46 adota o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados (BRASIL, 2007) que estabelece o iogurte como um produto obtido através da fermentação do leite pelos micro-organismos *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*,

os quais devem ser viáveis, ativos e abundantes no produto final. A presença de outras bactérias lácteas, as quais podem contribuir para as características finais do produto também é permitida pelas normas.

A fermentação do leite pode ser realizada com um ou vários dos seguintes cultivos: *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Bifidobacterium* spp., *S. thermophilus* e/ou outras bactérias ácido-láticas que, por sua atividade, contribuem para a determinação das características do produto final (BRASIL, 2007).

2.1.5 Classificação

De acordo com o conteúdo de matéria gorda, os leites fermentados se classificam em:

- Com creme: aqueles cuja base láctea tenha um conteúdo de matéria gorda mínima de 6,0g/100g;
- Integrais: aqueles cuja base láctea tenha um conteúdo de matéria gorda mínima de 3,0g/100g;
- Parcialmente desnatados: aqueles cuja base láctea tenha um conteúdo de matéria gorda máxima de 2,9g/100g;
- Desnatados: aqueles cuja base láctea tenha um conteúdo de matéria gorda máxima de 0,5g/100g (BRASIL, 2007).

2.1.6 Composição e requisitos

Composição

Ingredientes obrigatórios:

- Leite e/ou leite reconstituído padronizado em seu conteúdo de gordura;
- Cultivos de bactérias lácticas e/ou cultivos de bactérias lácticas específicas.

Ingredientes opcionais:

- Leite concentrado, creme, manteiga, gordura anidra de leite ou butter oil, leite em pó, caseinatos alimentícios, proteínas lácteas, outros sólidos de origem láctea, soros lácteos, concentrados de soros lácteos;
- Frutas em forma de pedaços, polpa(s), suco(s) e outros preparados à base de frutas;
- Maltodextrinas;
- Outras substâncias alimentícias tais como: mel, coco, cereais, vegetais, frutas secas, chocolate, especiarias, café, outras, sós ou combinadas;
- Açúcares e/ou glicídios (exceto polialcoóis e polissacarídeos);
- Cultivos de bactérias lácticas subsidiárias;
- Amidos ou amidos modificados em uma proporção máxima de 1% (m/m) do produto final.

Os ingredientes opcionais não-lácteos, sós ou combinados deverão estar presentes em uma proporção máxima de 30% (m/m) do produto final (BRASIL, 2007).

2.1.7 Características Sensoriais

Aspecto: consistência firme, pastosa, semisólida ou líquida;

Cor: branca ou de acordo com a(s) substância(s) alimentícia(s) e/ou corante(s) adicionado(s);

Odor e Sabor: característico ou de acordo com a(s) substância(s) alimentícia(s) e/ou substância(s) aromatizante(s)/saborizante(s) adicionada(s) (BRASIL, 2007).

2.1.8 Requisitos Físico-Químicos

Os Leites Fermentados deverão cumprir os requisitos físico-químicos indicados na Tabela 1 (BRASIL, 2007).

Tabela 1: requisitos físico-químicos de leites fermentados.

Matéria gorda láctea (g/100g)				Acidez (g de ácido láctico/100g)	Proteínas lácteas (g/100g)
Norma FIL 116 A: 1987				Norma FIL 150:1991	
Com creme	Integral	Parcialmente desnatado	Desnatado		
Mín. 6,0	3,0 a 5,9	0,6 a 2,9	Máx. 0,5	0,6 a 2,0	Mín. 2,9

Fonte: BRASIL, 2007

2.1.9. Contagem de micro-organismos específicos em leites fermentados

Os leites fermentados deverão cumprir os requisitos considerados na Tabela 2 durante seu período de validade (BRASIL, 2007).

Tabela 2: Contagem de micro-organismos específicos em leites fermentados.

Produto	Contagem de bactérias lácticas totais (UFC/g)	Contagem de leveduras específicas (UFC/g)
	Norma FIL 117 A: 1988	Norma FIL 94 B: 1990
logurte	Mín. 10^7 (*)	-
Leite fermentado	Mín. 10^6 (*)	-
Leite acidófilo	Mín. 10^7	-
Kefir	Mín. 10^7	Mín. 10^7 (*)
Kumys	Mín. 10^7	Mín. 10^7 (*)
Coalhada	Mín. 10^6	-

(*) No caso em que se mencione o uso de bifidobactérias, a contagem será de no mínimo 10^6 UFC de bifidobactérias/g.

Fonte: BRASIL, 2007

3 Qualidade da matéria-prima

O leite a ser utilizado deverá ser higienizado por meios mecânicos adequados e

submetido à pasteurização, ou tratamento térmico equivalente, para assegurar fosfatase residual negativa (A.O.A.C. 15ª Ed. 1990, 979.13, p. 823) combinado ou não com outros processos físicos ou biológicos que garantam a inocuidade do produto (BRASIL,2007).

4 Fluxograma de produção

Tecnologia de produção

A fabricação de iogurte de boa qualidade higiênica implica cuidados prévios. Nas centrais leiteiras, analisa-se o leite rotineiramente no momento de sua recepção para assegurar-se de que cumpre os requisitos indispensáveis para o processamento e a fabricação de iogurte. Determina-se sua composição, fazem contagens microbiológicas e de células somáticas, analisam-se possíveis resíduos de antibióticos e mede-se a temperatura de recepção do leite. A presença de antibióticos pode prejudicar os micro-organismos iniciadores.

Basicamente a fabricação desses produtos compreende quatro fases (Figura 1): tratamentos prévios do leite (enriquecimento em sólidos lácteos, desaeração, homogeneização, tratamento térmico, adição do iniciador, incubação, resfriamento, envase e armazenamento (ORDÓÑEZ, 2007).

- **Enriquecimento em sólidos lácteos**

O enriquecimento fortificado ou fortificação do leite implica incremento da concentração de sólidos para obter as propriedades reológicas desejadas no iogurte e/ou uma normalização (ajustar o leite a determinada composição). O objetivo principal é aumentar a porcentagem de sólidos lácteos não-gordurosos e, mais concretamente, a porcentagem de proteína, a fim de potencializar a viscosidade do produto acabado.

Dependendo do tipo de iogurte, o extrato seco de procedência láctea (ESL) é diferente. No iogurte natural, de consistência firme, o enriquecimento chega até 16 a 18% de ESL, enquanto o iogurte batido, embora requeira viscosidade elevada, só se

enriquece até 13 a 14%, pois nele permite-se a adição de espessantes.

Quanto à porcentagem de gordura, podem-se elaborar desde iogurtes desnatados (inferior a 0,5%) até os enriquecidos em gordura (estilo grego com aproximadamente 10% de gordura). Embora a gordura não afete a consistência do coágulo, admite-se que a textura dos iogurtes com gordura é melhor.

A forma mais comum de concentração é adicionar leite em pó desnatado. Para acelerar o processo, a dissolução é feita a cerca de 40°C e com ajuda de agitador. Com cada produto obtém-se uma fortificação diferente em termos de gordura, lactose e proteína (ORDÓÑEZ, 2007).

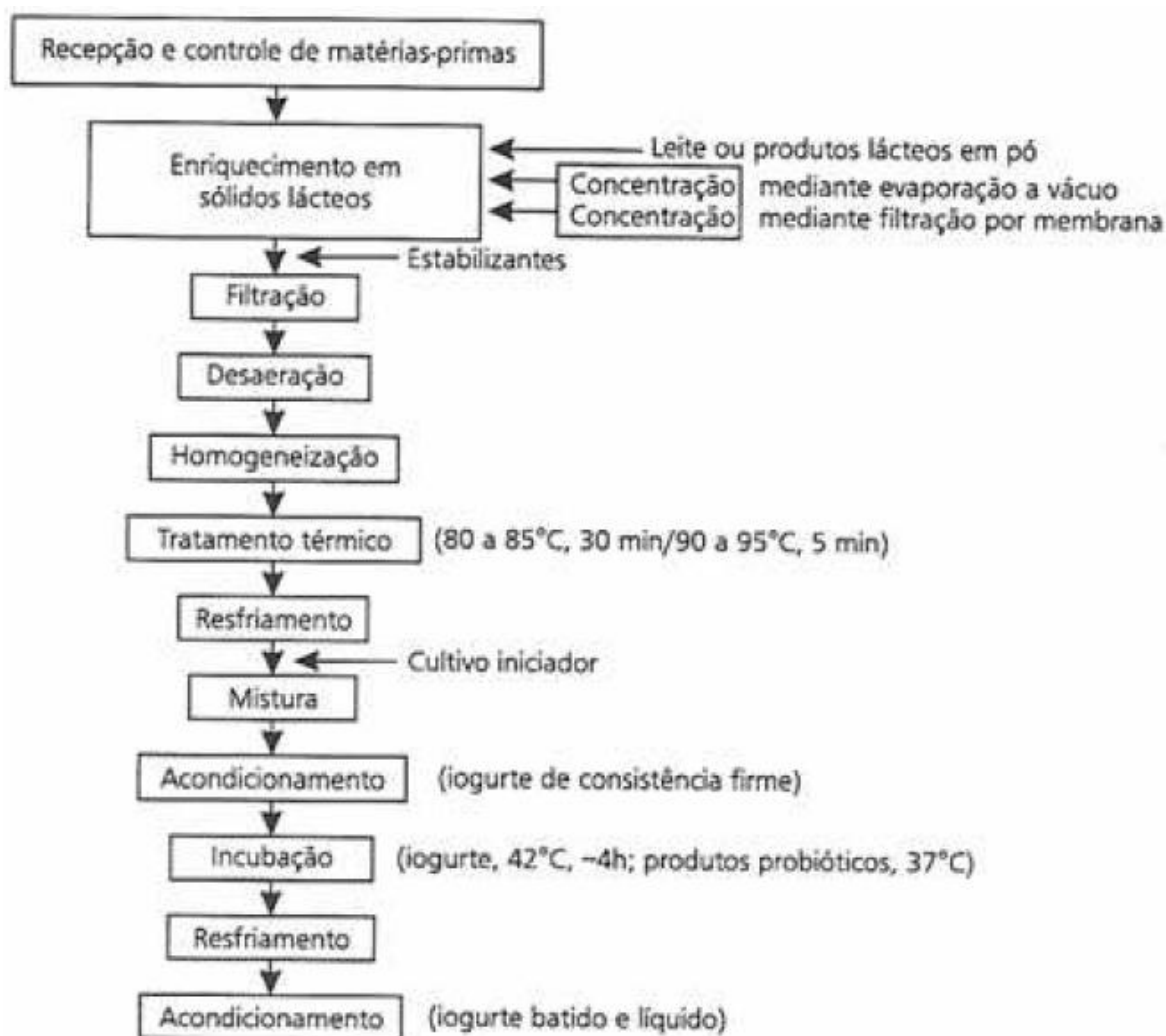


Figura 1: fluxograma genérico de produção de iogurte.

Fonte: ORDÓÑEZ (2005a)

- **Filtração, desaeração e homogeneização**

A filtração é recomendada para eliminar as possíveis partículas não-dissolvidas dos sólidos lácteos - acrescentados na fase anterior – e os grumos procedentes do leite de base. Isso pode ser feito de diversas formas: passando o leite através de filtros cônicos ajustados no interior dos condutores, com centrífugas clareadoras ou com filtros de nylon ou de aço inoxidável. O motivo de eliminar essas partículas é evitar obstruções e danos no orifício do homogeneizador e depósito nos trocadores de calor.

A eliminação de ar é recomendada, sobre tudo, quando o cultivo iniciador cresce mal em presença de tensões elevadas de oxigênio.

Para homogeneizar o leite, deve-se passá-lo através de um pequeno orifício a elevada pressão no homogeneizador, o que reduz o tamanho dos glóbulos de gordura e impede sua coalescência e a formação da linha de nata (ORDÓÑEZ, 2007).

- **Tratamento térmico**

O tratamento térmico pode variar de 75°C durante 15 segundos (pasteurização ordinária) até um tratamento UHT a 133°C durante 1 segundo. Contudo parece que as condições ótimas são de 80 a 85°C durante 30 minutos em sistemas descontínuos e de 90 a 95°C durante aproximadamente 5 minutos em sistemas de fluxo contínuo. Quando se trabalha em sistemas descontínuos para elaboração do iogurte, todas as operações podem ser feitas em uma única cuba ou tanque multifuncional. Esses tanques possuem parede dupla para circulação do agente calefator e refrigerante, normalmente água (ORDÓÑEZ, 2007).

- **Adição do iniciador**

Antes de ser acrescentado o cultivo iniciador, o leite deve ser resfriado até uma temperatura diferente para cada leite fermentado. Essa temperatura é a mesma que a

da incubação, e depende, fundamentalmente, das características do cultivo iniciador. Quando o objetivo é fabricar iogurte, a temperatura ajustada ao desenvolvimento do iniciador situa-se entre 40 e 45°C, mas quando se pretende o desenvolvimento de *Bifidobacterium spp* ou de outras bactérias probióticas, a temperatura deve ser de 37°C.

O iniciador pode ser adicionado em pó, congelado concentrado ou em forma de suspensão líquida. No caso específico de iogurte, o cultivo iniciador adicionado não deve apenas fornecer uma quantidade abundantes de micro-organismos viáveis, mas deve proporcionar também uma população em equilíbrio com o mesmo número de indivíduos das espécies que intervêm na fermentação (*Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*) (ORDÓÑEZ, 2007).

- **Incubação**

A acidificação do leite durante a fabricação de iogurte é um processo biológico que deve ser controlado ao máximo, mantendo-se higiene esmerada e o emprego de condições de incubação definidas.

Para obter iogurte, costuma-se incubar a 42°C, temperatura que representa um compromisso entre a ótima das duas espécies responsáveis pela fermentação: 45°C para a maioria das cepas de *L. bulgaricus* e 39°C para *S. thermophilus*. A essa temperatura, completa-se a fermentação em cerca de 4 horas. É evidente que se a temperatura de incubação for menor, o tempo necessário para completar a fermentação e obter iogurte se prolonga (ORDÓÑEZ, 2007).

- **Resfriamento**

Sua finalidade é frear a atividade do iniciador e suas enzimas para evitar que a fermentação prossiga. Recomenda-se que a temperatura final do iogurte não exceda 5°C; desse modo, tem-se a coexistência de pH baixo e temperatura de refrigeração, que atuam em sinergia para manter o iogurte em um estado apropriado para o consumo, por no mínimo, 15 ou 20 dias. Já se comentou que o resfriamento do iogurte acondicionado pode ser feito em equipamentos multifuncionais ou expressamente em

câmaras frias. Ao que parece, o resfriamento do iogurte não apresenta grandes problemas, mas diversos estudos mostraram que o resfriamento muito rápido pode afetar a estrutura do coágulo; levando à separação do soro devido à intensa retração das proteínas do coágulo, o que, por sua vez, afeta a capacidade de retenção de água destas. Atualmente recomenda-se que o resfriamento do iogurte seja feito em fases sucessivas, primeiras de forma rápida, até 30°C, depois, mais lentamente, a 20°C e mais tarde a 14,5°C, antes de chegar, finalmente, a uma temperatura de 2 a 4°C. Assim consegue-se a melhor textura sem permitir acidificação (ORDÓÑEZ, 2007).

- **Envase e armazenamento**

No caso do iogurte batido, a fermentação é feita em um tanque com posterior embalagem, no qual é envasado depois de resfriado e mantido sob refrigeração por um período superior a 24 horas antes de ser comercializado. A embalagem deve seguir alguns critérios como: ser impermeável aos sabores, corantes, odores do ambiente, oxigênio e contaminações externas; resistir à acidez do iogurte, à umidade, golpes mecânicos a que o produto é sujeito durante o transporte e armazenamento e não permitir exposição do produto à luz. Uma boa opção para produção em pequena escala é a embalagem de polietileno termoformada que apresenta também facilidade para o fechamento térmico.

A temperatura de armazenamento deve ser de 2 a 5°C para conservar e melhorar a consistência do iogurte, que deve ser consumido à temperatura de 10°C a 12°C, na qual o sabor torna-se mais apreciável (ORDÓÑEZ, 2007).

5 Culturas ácido lácticas utilizadas na fermentação

5.1 Culturas iniciadoras (*starters*)

As culturas do iogurte são compostas por *Streptococcus* subsp. *thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, que são bactérias Gram-positivas, homofermentativas e termofílicas, cujo crescimento ótimo a 42°C (SPREER; MIXA,

1998).

S. thermophilus tem a morfologia de cocos unidos, geralmente em cadeias curtas, com crescimento ótimo entre 37 e 45°C, mas pode tolerar até 50°C. Algumas linhagens de *S. thermophilus* sintetizam exopolissacarídeos, polímeros bastante úteis na produção de leites fermentados firmes, responsáveis pela manutenção da textura e da viscosidade adequadas mesmo após a fermentação (COLLET, 2005).

L. bulgaricus apresenta forma bacilar, de 0,5 a 0,8 x 2 a 9 µm; aparece em cadeias curtas ou de forma individualizada. Produz D (+) lactato e acetaldeído a partir de lactose no leite. Algumas linhagens produzem exopolissacarídeos. Crescem muito devagar abaixo de 10°C, sendo que a maioria das linhagens pode crescer entre 50 e 55°C. (ORDÓÑEZ, 2007).

Embora há algum tempo diversas bactérias lácticas tenham sido testadas para a fabricação de iogurte, logo se restringiram as duas: *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. Estas duas bactérias crescem simbioticamente. O resultado do crescimento em conjunto é que se acelera o metabolismo e consegue-se a mesma concentração de ácido láctico e de outros metabólitos em menos tempo do que se crescessem separadas. Desse modo, o tempo de incubação necessário para obter iogurte reduz-se a cerca de 4 horas a 42°C. Atualmente, esse desenvolvimento simbiótico está bem documentado. O *L. bulgaricus* libera, a partir das proteínas lácteas, diversos aminoácidos (entre eles valina, ácido glutâmico, triptofano e metionina) e alguns peptídeos que estimulam o crescimento de *S. thermophilus*. Por sua vez, esta bactéria produz formiato durante o metabolismo da lactose e CO₂ a partir da uréia presente no leite. Os dois metabólitos estimulam o desenvolvimento do lactobacilo (ORDÓÑEZ, 2007).

A ação simbiótica dessas culturas lácteas produz ácido láctico, diacetil, acetona, acetoína, ácido acético e acetaldeído, que é responsável pelo sabor característico do iogurte (MORAES, 2004).

A acidez provocada pela fermentação, além de estar associada ao desenvolvimento do sabor, torna os iogurtes relativamente estáveis, e inibe o crescimento de bactérias deterioradoras (Rodas *et al.*, 2001). O pH do produto final deve estar entre 4,2 e 4,4 uma vez que a produção exagerada de ácido conduz a uma

super acidificação durante a incubação, resfriamento e armazenamento, promovendo características indesejáveis ao produto (MORAES, 2004).

5.2 Culturas Probióticas

5.2.1 Definição

De origem grega o termo probiótico significa ‘para a vida’. Ao longo dos anos e de muitos estudos inúmeras definições surgiram para estabelecer o termo probióticos. Inicialmente foi proposto por Lilly e Stillwell (1965) como sendo compostos ou extratos de tecidos capazes de estimular o crescimento microbiano, posteriormente Parker (1974) definiu probiótico como relativo a organismos e substâncias que contribuem para o equilíbrio microbiano intestinal. Já para Fuller (1989) probióticos eram suplementos alimentares à base de micro-organismos vivos, que afetam benéficamente o animal hospedeiro, promovendo o balanço de sua microbiota intestinal. Entretanto, a definição atualmente aceita internacionalmente é “probióticos são micro-organismos vivos, que quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde do hospedeiro” (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF UNITED NATIONS; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2001, SANDERS, 2003).

Esses micro-organismos, notadamente algumas variedades de lactobacilos e bifidobactérias, fermentam a lactose, produzindo ácido láctico. Eles têm a capacidade de manterem-se vivos no produto fermentado e sobreviverem à passagem pelo trato gastrointestinal, fixando-se no intestino e trazendo melhorias no balanço da microbiota de indivíduos que consumam periodicamente esses produtos (BEHRENS, ROIG; SILVA, 2000).

Inúmeros probióticos para fins de aplicação em produtos lácteos são disponíveis comercialmente e a variedade desses produtos continua em expansão (Stanton *et al.*, 2003). Muitas pesquisas em termos de probióticos encontram-se voltada para produtos como leites fermentados e iogurtes, sendo estes os principais produtos comercializados no mundo, contendo culturas probióticas. Outros produtos comerciais contendo essas culturas incluem sobremesas à base de leite, leite em pó destinado a recém-nascidos,

sorvetes, sorvetes de iogurte e diversos tipos de queijo, além de produtos na fórmula de cápsulas ou produtos em pó para serem dissolvidos em bebidas frias, alimentos de origem vegetal e maionese (STANTON *et al.*, 1998; GARDINER *et al.*, 1999; INGHAM, 1999; DAVIDSON *et al.*, 2000; OLIVEIRA *et al.*, 2002; STANTON *et al.*, 2003).

5.2.2 Principais micro-organismos probióticos

Bactérias pertencentes aos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* e, em menor escala, *Enterococcus faecium*, são mais frequentemente empregadas como suplementos probióticos para alimentos, uma vez que elas têm sido isoladas de porções do trato gastrointestinal do humano saudável. O íleo terminal e o cólon parecem ser respectivamente, o local de preferência para colonização intestinal dos lactobacilos e bifidobactérias (Charteris *et al.*, 1998; Bielecka *et al.*, 2002). Entretanto, deve ser salientado que o efeito de uma bactéria é específico para cada linhagem, não podendo ser extrapolado, inclusive para outras linhagens da mesma espécie (GUARNER, MALAGELADA, 2003).

Dentre as bactérias pertencentes ao gênero *Bifidobacterium*, destacam-se *B. bifidum*, *B. breve*, *B. infantis*, *B. lactis*, *B. animalis*, *B. longum* e *B. thermophilum*. Dentre as bactérias láticas pertencentes ao gênero *Lactobacillus*, destacam-se *L. acidophilus*, *L. helveticus*, *L. casei* - subsp. *paracasei* e subsp. *tolerans*, *L. paracasei*, *L. fermentum*, *L. reuteri*, *L. johnsonii*, *L. plantarum*, *L. rhamnosus* e *L. salivarius* (COLLINS, THORNTON, SULLIVAN, 1998; LEE *et al.*, 1999; SANDERS, KLAENHAMMER, 2001).

5.2.3 Critérios de seleção de micro-organismos probióticos

Linhagens probióticas podem ser utilizadas e são ativas apenas, sobre ou no corpo do hospedeiro se preencherem um grande número de critérios.

Os critérios para a seleção e avaliação de micro-organismos probióticos foram o resultado da colaboração de instituições de pesquisa e universidades com as indústrias de alimentos. A lista de propriedades esperadas dos potenciais probióticos de linhagens

de bactérias lácticas, compilado por diversos autores (1,18-22) são (SUSKOVIC *et al*, 2001):

- Possuir identificação taxonômica exata;
- Ser um habitante normal das espécies alvo: origem humana para probióticos humanos;
- Não ser tóxica e patogênica;
- Ser geneticamente estável;
- Capacidade de sobreviver, proliferar e estimular a atividade metabólica no local alvo.
- Possuir características de aderência e colonização;
- Características desejáveis de viabilidade durante preparação, estocagem e consumo da cultura;
- Viabilidade populacional elevada, apresentando em torno de 10^6 a 10^8 UFC por grama de produto;
- Produção de substâncias antimicrobianas, incluindo bacteriocinas, peróxido de hidrogênio e ácidos orgânicos;
- Antagonista a patógenos;
- Capacidade de competir com a microbiota normal, ou espécie específica, ser potencialmente resistente à bacteriocinas, ácidos e outras substâncias antimicrobianas produzidas pela microbiota residente;
- Resistência ao suco gástrico e à bile;
- Propriedade imunoestimulatória;
- Capaz de exercer efeitos benéficos à saúde (documentados e validados clinicamente);
- Favorável ao processo de produção: crescimento adequado, recuperação, concentração, congelamento, desidratação, estocagem e distribuição;
- Fornecer qualidades organolépticas desejáveis.

6 Características dos micro-organismos probióticos

6.1 Gênero *Bifidobacterium*

As bifidobactérias são micro-organismos Gram-positivos, anaeróbios estritos, que habitam naturalmente o trato gastrointestinal dos humanos. Não possuem motilidade, não formam esporos e apresentam-se em formas bifurcadas (forma de Y ou V), embora em condições desfavoráveis possam também apresentar outras formas (SOLANO-AGUILAR *et al.*, 2008).

Tais micro-organismos são descritos como sendo estritamente anaeróbios, embora algumas espécies consigam tolerar o oxigênio. São ácidos tolerantes e os valores de pH para a sua multiplicação variam entre 6,0 e 7,0. A temperatura ótima de multiplicação desses micro-organismos está na faixa entre 37°C e 41°C, sendo as temperaturas mínimas e máximas compreendidas nas faixas entre 25-28°C e 43-45°C, respectivamente (SHAH, 2007; RIVERA-ESPINOZA e GALLARDO-NAVARRO, 2010). As bifidobactérias são micro-organismos sacarolíticos e possuem a capacidade de fermentar glicose, galactose e frutose, produzindo ácido acético e ácido lático, bem como ácido succínico e CO₂, em pequenas concentrações (LEAHY *et al.*, 2005; ANAL e SINGH, 2007; JALILI *et al.*, 2009).

Esses micro-organismos foram originalmente isolados e descritos no período entre 1899 e 1900 por Henry Tissier, que observou abundância de bactérias com uma forma peculiar (formato em “Y”) nas fezes de bebês saudáveis, quando comparadas às fezes de crianças com diarreia. Tissier, então, sugeriu que esses micro-organismos, até então chamados de “*bifid bactéria*”, poderia ser utilizados no tratamento de pacientes com diarreia (BROEK *et al.*, 2008).

Estima-se que mais de 500 espécies de bactérias habitem o trato gastrointestinal humano, sendo o gênero *Bifidobacterium* pertencente ao grupo dominante dos micro-organismos anaeróbios da microbiota intestinal (ROY, 2005; VOROBJEVA, 2005; SOLANO-AGUILAR *et al.*, 2008; O’FLAHERT e KLAENHAMMER, 2010). Tal população se estabelece rapidamente após o nascimento do ser humano. Porém, diminui no intestino humano adulto, quando passa a ser a terceira maior população

presente depois de *Eubacterium* e *Bacteroides*. Durante a vida adulta, as populações de *Bifidobacterium* spp. do homem permanecem estáveis, sendo relativamente elevadas (10^9 - 10^{10} UFC/g), correspondendo a proporções entre 3 e 6% da microbiota total. Essa população apresenta um declínio considerável, quando o indivíduo atinge a fase senil. Além disso, a dieta, o uso de antibióticos e/ou outros medicamentos e situações de estresse são indicados como fatores importantes capazes de influenciar o decréscimo nas populações de *Bifidobacterium* presentes no intestino humano (SHAH, 2007).

Os micro-organismos do gênero *Bifidobacterium* auxiliam a saúde do hospedeiro, por promoverem o balanço da microbiota intestinal, fermentando carboidratos que não são digeridos e absorvidos no trato intestinal superior e, também, por apresentarem efeitos adversos às bactérias patogênicas. Tais efeitos antagônicos são resultantes da produção de ácidos orgânicos, em particular, ácido acético e ácido lático. Algumas linhagens do gênero *Bifidobacterium* (especialmente *B. bifidum* NCFB, *B. longum* e *B. infantis* BCRC 14602) podem produzir moléculas antibacterianas específicas, como bifidocina B, bifidolina, *bifilong* e bififina I, as quais inibem bactérias patogênicas. Além disso, as bifidobactérias também são capazes de sintetizar vitaminas (YILDIRIM *et al.*, 1999; ALANDER *et al.*, 2001; LÓPEZ-MOLINA *et al.*, 2005; AHMAD *et al.*, 2010).

Diversos mecanismos são sugeridos para a eficácia da inibição de patógenos Gram-negativos por bifidobactérias. Esses mecanismos incluem a diminuição do pH pela produção de ácidos orgânicos, a competição por nutrientes e sítios ativos de adesão, além da estimulação da imunidade do hospedeiro (MAKRAS e VUYST, 2006).

As espécies de *Bifidobacterium* mais utilizadas como probióticas são: *B. longum*, *B. bifidus*, *B. essencis*, *B. adolescentis*, *B. animalis*, *B. bifidum*, *B. breve*, *B. infantis* e *B. lactis* (atualmente classificado como *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*) (ANAL e SINGH, 2007; SHAH, 2007).

Apenas linhagens de *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* têm demonstrado habilidades para sobreviver em ambientes ácidos. Estas culturas são os probióticos preferencialmente utilizados em produtos à base de iogurte (JAYAMANNE; ADAMS, 2006).

No Brasil, como exemplo de produto probiótico comercializado contendo

linhagens de *Bifidobacterium* spp. pode ser citado o iogurte Activia, produzido e comercializado pela Danone®, que contém *Bifidobacterium animalis*, o iogurte BioFibras (Batavo®) que contém, além do *Lactobacillus acidophilus*, a linhagem *Bifidobacterium lactis* e o leite fermentado Nesvita® (*B. animalis*). Além desses produtos, recentemente, foram lançados mais um iogurte contendo Bb-12 (iogurte Lective®, da Leco®) e o único queijo probiótico existente no país: o queijo Minas frescal sanbios®, adicionado de *Bifidobacterium lactis*, produzidos pela Cooperativa Santa Clara/RS.

Além de elevada resistência aos processos digestivos do humano, a linhagem *B. animalis* subsp. *lactis* configura entre as linhagens mais utilizadas como probióticos em alimentos. Esse fato se deve à sua comprovada capacidade de adesão à mucosa intestinal humana, resultando em elevada colonização do epitélio (Mohan *et al.*, 2006; Garrigues *et al.*, 2010). Tal linhagem também é reconhecida por possuir potente eficácia sobre a saúde humana, em se tratando de situações relacionadas à diarreia causada por rotavírus, má absorção da lactose, diarreia associada ao uso de antibióticos e diarreia associada ao *Clostridium difficile* (HASCHKE *et al.*, 1988; MÄTTÖ *et al.*, 2006b; ANTUNES *et al.*, 2007; SHAH, 2007; KUN *et al.*, 2008; GUEIMONDE *et al.*, 2010).

Bactérias bífidas constituem um problema como culturas probióticas, pois são difíceis de serem isoladas e manipuladas, uma vez que são anaeróbias. Quando isoladas, não toleram bem ambiente ácido, sendo, portanto, difíceis de serem carreados em produtos lácteos fermentados, considerados os carreadores universais de bactérias lácteas. Uma alternativa para o aumento de bactérias bífidas no trato gastrointestinal é o emprego de prebióticos (FERREIRA; TESHIMA, 2000).

A interação entre o probiótico e prebiótico *in vivo* pode ser favorecida por uma adaptação do probiótico através do consumo de prebiótico. Isto deve resultar em uma vantagem competitiva para o probiótico se este for consumido juntamente com o prebiótico (PUUPONEN-PIMIÄ *et al.*, 2002).

6.2 Gênero *Lactobacillus*

O gênero *Lactobacillus* é formado por micro-organismos gram-positivos, não formadores de esporos, e que sobrevivem na presença de pequenas quantidades de oxigênio. Sua fonte fermentativa é proveniente do metabolismo fermentativo sendo o ácido láctico o produto final da degradação de carboidratos, motivo pelo qual sobrevive em ambientes ácidos (concentrações entre 0,3% e 1,9%). O pH ótimo de crescimento está na faixa de 5,5 a 6,0 e temperatura ótima entre 35 e 40°C, mas crescem em temperaturas mais elevadas (até 45°C). As espécies, *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. reuteri* e *L. rhamnosus* são os principais probióticos do gênero atualmente empregados em alimentos. Estes micro-organismos são tolerantes ao ácido e a bile presente no trato gastrintestinal e são capazes de aderir às células do epitélio intestinal (GOMES e MALCATA, 1999; GOKTEP *et al.*, 2006).

Lactobacilos pertencem ao grupo da LAB (Bactérias Ácido Lácticas). Normalmente eles são encontrados em meios ricos em que estejam disponíveis fontes de carboidratos, como em mucosas de humanos e animais (cavidade oral, intestino e vagina), em plantas e materiais derivados destas, adubo, alimentos fermentados ou deteriorados. São micro-organismos amplamente presentes na dieta e são encontrados no trato gastrointestinal desde o nascimento (BERNARDEAU *et al.*, 2008).

Lactobacillus, assim como outras LAB, desempenham um papel crucial na produção de alimentos fermentados como vegetais (Gerez *et al.*, 2008; Tolonen *et al.*, 2004), carnes (Cenci-Goga *et al.*, 2008) e principalmente em laticínios (De Souza *et al.*, 2008; Gómez-Ruiz *et al.*, 2008). A contribuição primária destes micro-organismos consiste na rápida formação de ácido láctico a partir das fontes de carbono disponíveis, resultando em acidificação, que é um parâmetro crítico na preservação dos alimentos. Além deste abaixamento do pH, durante a fermentação há o desenvolvimento de importantes características como *flavour*, textura e alterações nutricionais (KLEEREBEZEM, HUGENHOLTZ, 2003).

Dados apontam para uma melhor utilização da sacarose do que da lactose por parte do *Lactobacillus acidophilus*, fato atribuído a diferença nas atividades da β -galactosidase e da β -frutofuranosidase. Enquanto que a β -galactosidase é uma enzima construtiva do *Lactobacillus acidophilus* a β -frutofuranosidase pode ser induzida (GILLILAND *et al.*, 2002).

7 Mecanismos de ação dos probióticos

Os mecanismos pelos quais os probióticos exercem os benefícios são ainda muito desconhecidos, mas podem envolver modificações do pH (produção de ácidos orgânicos), atividade antagonista sobre patógenos por meio da produção de compostos antimicrobianos, competição com patógenos por sítios de ligação, efeito de barreira no intestino, produção de enzimas (β -galactosidase, sal biliar hidrolase), síntese e aumento da disponibilização de nutrientes (hidrólise de proteínas e lipídeos), estimulação de células imunomodulatórias, redução da atividade de enzimas que ativam a carcinogênese e inibição do crescimento ou apoptose de células tumorais (produção de ácidos graxos de cadeia curta, como exemplo, butirato) (PARVEZ *et al.*, 2006; VASILJEVIC; SHAH, 2008; VENTURA *et al.*, 2009).

O desenvolvimento de probióticos eficazes aumenta a resistência contra patógenos. Como citado por Puupponen-Pimiä *et al.* (2002), em que o emprego de culturas probióticas exclui micro-organismos potencialmente patogênicos e reforça os mecanismos naturais de defesa do organismo.

7.1 Atividade antimicrobiana

A atividade antimicrobiana é uma das formas empregadas pelas bactérias probióticas para excluir, competitivamente, ou inibir a atividade das bactérias patogênicas no intestino. Entre os compostos antimicrobianos produzidos por bactérias probióticas estão ácidos orgânicos (ácido láctico e acético), peróxido de hidrogênio (nos ambientes em que oxigênio está presente), diacetil, β -hidroxipropionaldeído (produzido

por *Lactobacillus reuteri*), além de peptídeos (ou proteínas) bacteriostáticos ou bactericidas. Bacteriocinas, compostos protéicos produzidos por bactérias, exibem atividade bacteriostática ou bactericida sobre bactérias susceptíveis. Estudos *in vitro* mostraram que a maioria das linhagens de *Lactobacillus* produz frequentemente, bacteriocinas que destroem espécies intimamente relacionadas. Como exemplo, a linhagem *Lactobacillus acidophilus* NCMF produz a bacteriocina denominada lactacin B, que não apresenta ação contra patógenos (SANDERS e KLAENHAMMER, 2001). MAKRAS e DE VUYST (2006) observaram que as linhagens de *Bifidobacterium* testadas exibiram forte atividade antibacteriana para *Salmonella enterica* sorovar Typhimurium SL1344 e *Escherichia coli* C1845. Segundo tais autores, essa atividade tem origem na produção de ácidos orgânicos, em particular ácido láctico e ácido acético. Geralmente, esses ácidos orgânicos apresentam forte atividade inibitória contra bactérias Gram-negativas, pois a forma não dissociada do ácido orgânico penetra na célula bacteriana e se dissocia no citoplasma. A eventual queda do pH interno ou a acumulação intracelular da forma ionizada do ácido orgânico conduz à morte do patógeno. Outra importante característica funcional das bactérias probióticas é a imunomodulação. Conforme OUWEHAND et al. (1999) para que o microrganismo probiótico consiga influenciar o sistema imune é necessário que a bactéria ative as células do tecido linfóide, associado ao intestino. Os probióticos podem afetar essas células pelas interações entre o tecido linfóide e o microrganismo intacto, seus fragmentos ou metabólitos produzidos *in situ*. O consumo das linhagens adesivas *Lactobacillus johnsonii* Lj1 e *Bifidobacterium lactis* Bb12 aumentou a fagocitose de *Escherichia coli* *in vitro*. Uma preparação, contendo esses dois micro-organismos em conjunto com *Streptococcus thermophilus*, aumentou o nível de IgA contra *Salmonella*.

7.2 Atividade antagonista

A atividade antagonista pode ser por exclusão competitiva ou pela promoção da função de barreira epitelial, ocorrendo basicamente pela competição entre as linhagens patogênicas e os probióticos pelos mesmos sítios de adesão na mucosa intestinal ou por nutrientes. Desta forma, linhagens de lactobacilos mais competitivas apresentam

melhores chances de adesão ao epitélio do intestino em detrimento de patógenos invasivos, promovendo a eliminação dos mesmos. Estudos existem avaliando os lactobacilos que possuem sítios de ligação em comum na mucosa intestinal com patógenos bacterianos como *E. coli* tipo 1 que se ligam a sítios receptores de oligossacarídeos (Lebeer *et al.* 2008). Vários fatores de exclusão competitiva putativos vêm sendo propostos, como a adesina específica à manose de *L. plantarum* (Pretzer *et al.* 2005), sendo que as bactérias mutantes para o gene demonstraram uma menor capacidade de adesão a células HT-29 e permitiram a aderência de *E. coli* enteropatogênica. Segundo Chen *et al.* (2007) extratos de proteínas da camada S de *L. crispatus* foram capazes de competir por sítios de adesão com *E. coli* enterohemorrágica e *Salmonella* entérica. Além da competição molecular, foi demonstrado que certas linhagens de lactobacilos são capazes de induzir a produção de mucinas (Mack *et al.* 2003), estimular a adesão célula a célula (Seth *et al.* 2008) e prevenir a apoptose pelas células intestinais (Yan *et al.* 2007), contribuindo e promovendo a manutenção da barreira epitelial.

7.3 Modificações do pH

Para funcionarem verdadeiramente como probióticos, as bactérias selecionadas devem ser capazes de resistir às condições adversas impostas pelo organismo do hospedeiro como as variações de pH ao longo do trato gastrointestinal, presença de sais biliares, enzimas gástricas, além de serem capazes de aderir à mucosa intestinal (Hoyos, 1997). A bactéria probiótica deve resistir por no mínimo 90 minutos em pH ácido, que é o tempo de trânsito gástrico humano. É importante ainda considerar que um micro-organismo probiótico não pode ter efeito no ambiente intestinal se sua população não atingir uma quantidade mínima de bactérias que varie entre 10^6 e 10^8 UFC no intestino humano (Charteris *et al.* 1998). Tais micro-organismos não devem ter potencial patogênico, devem apresentar características que permitam a sua produção em larga escala, como uma fácil proliferação. Deste modo, testes indiretos baseados nos mecanismos de ação probiótica dos lactobacilos podem direcionar a seleção de isolados com características de interesse.

7.4 Imunomodulação

A imunomodulação se dá principalmente pela indução de células dendríticas regulatórias e células T. O contato entre as superfícies externas das células dendríticas intestinais via receptores *Toll-like* e *DC-SIGN* (sinal da célula dendrítica) e dos probióticos (Moléculas de Associação) induz a produção de citocinas que promovem a apresentação de antígenos do complexo de histocompatibilidade e moléculas co-estimulatórias que polarizam células T em células T regulatórias e auxiliares do tipo 1 e 2 (LEBEER, 2010). Essa regulação é muito interessante, já que a associação de vacinas convencionais e probióticos pode gerar tanto uma resposta imune quanto uma proteção humoral mais eficiente (MAC DONALD e BELL, 2010).

8 Microbiota intestinal humana e probióticos

O trato gastrointestinal humano possui uma ampla e dinâmica colonização. Esse ecossistema complexo é formado por mais de 500 diferentes espécies de bactérias. Essa microbiota residente compreende, em número, aproximadamente 95% do total de células do corpo humano e desempenha um importante papel na manutenção da saúde e na prevenção do aparecimento de doenças, ação esta que é alvo crescente de estudos científicos (KOLIDA *ET AL.*, 2002; VOROBJEVA, 2005; MAKRAS e VUYST, 2006; IAPARRA e SANZ, 2010). O intestino grosso possui um dinâmico ecossistema com uma alta densidade de células vivas, chegando a atingir a concentração de 10^{10} - 10^{12} células por grama de conteúdo intestinal. Essas concentrações são similares às observadas em colônias que se multiplicam sob condições ótimas em laboratório (DEL PIANO *et al.*, 2006a).

A microbiota intestinal exerce influência importante sobre uma série de reações bioquímicas do hospedeiro e, quando em equilíbrio, impede que micro-organismos potencialmente patogênicos presentes se multipliquem e exerçam seus efeitos

patogênicos. As funções principais dessa microbiota natural do organismo humano são: a proteção ecológica (impedindo a proliferação de micro-organismos patogênicos), a imunomodulação (resposta rápida e adequada do sistema imune às agressões infecciosas) e a contribuição nutricional (regula a fisiologia digestiva, fornecendo vitaminas e fontes energéticas). Por outro lado, o desequilíbrio dessa microbiota pode resultar na proliferação de patógenos, com consequente infecção bacteriana (Ziemer e Gibson, 1998; Spiller, 2008). Além disso, a microbiota intestinal contribui para a fisiologia humana, através da transformação de nutrientes complexos, como fibras, que de outra forma poderiam ser eliminados pelo humano, em açúcares simples, ácidos graxos de cadeia curta, aminoácidos e outros nutrientes que podem ser absorvidos. Tais micro-organismos também são capazes de produzir alguns compostos importantes, como vitaminas, incluindo a vitamina K, vitamina B12 e ácido fólico. Além disso, esses micro-organismos são capazes de transformar substâncias cancerígenas potenciais, como compostos N-nitrosos (CONs) e aminas heterocíclicas (HCAs) (MAI e DRAGANOV, 2009).

A modulação da microbiota intestinal pelos micro-organismos probióticos ocorre através de um mecanismo denominando “exclusão competitiva”. Os probióticos impedem a colonização da mucosa intestinal por micro-organismos potencialmente patogênicos através da competição por sítios de adesão nessa mucosa, da competição por nutrientes necessários para a multiplicação de micro-organismos indesejáveis e/ou os efeitos antagônicos. A produção de compostos antimicrobianos como bacteriocinas, ácidos orgânicos e outros compostos como peróxido de hidrogênio também fazem parte do mecanismo de exclusão competitiva (GUARNER e MALAGELADA, 2003; ROUZAUD, 2007; O’FLAHERTY e KLAENHAMMER, 2010).

Como exemplo da competição por nutrientes, pode-se citar a competição por ferro, um elemento essencial para quase todos os micro-organismos. *Lactobacillus acidophilus* é capaz de ligar o hidróxido férrico disponível à sua superfície, tornando-o indisponível para os micro-organismos patogênicos (ELLI *et al.*, 2000; OELSCHLAEGER, 2010).

É importante destacar que a adesão do micro-organismo probiótico à mucosa intestinal humana é de extrema importância para posterior colonização. Esse

mecanismo dificulta a eliminação dos probióticos pelos movimentos peristálticos do intestino, o que provê uma vantagem competitiva sobre os micro-organismos patogênicos (KOS *et al.*, 2003).

Além disso, os probióticos podem proteger o hospedeiro contra patógenos, através da formação de uma barreira física e da modulação dos mecanismos próprios de defesa do hospedeiro. Esses efeitos podem ser resultantes do antagonismo exercido pelo probiótico contra os patógenos e do aumento da efetividade da resposta imune (secreção de IgA, fagocitose), com conseqüente aumento na resistência a infecções. O sistema imune do intestino possui duas vias de defesa: exclusão imune (realizada pelo sistema secretor de imunoglobinas) e eliminação imune, que realiza a remoção de antígenos que penetram na mucosa (HASCHKE *et al.*, 1998).

Além dos fatores citados anteriormente, a influência benéfica dos micro-organismos probióticos sobre a microbiota intestinal humana inclui outros fatores como a degradação, inibição da síntese da ação de toxinas patogênicas (NICOLI *et al.* 2003; JAIN *et al.*, 2004).

Esse conjunto de mecanismos resulta no aumento da resistência contra patógenos, garantindo, assim, a presença dos micro-organismos com atividade benéfica à saúde e impedindo a manifestação dos chamados patogênicos (Nicoli *et al.* 2003). Assim sendo, a utilização de culturas probióticas em alimentos garante a presença dos micro-organismos benéficos à saúde humana na mucosa intestinal, em detrimento à proliferação de bactérias potencialmente prejudiciais, reforçando os mecanismos naturais de defesa do hospedeiro. Essa resistência aumentada contra patógenos é a característica mais promissora no desenvolvimento de probióticos eficazes (PUUPPONEN-PIMIÄ *et al.*, 2002).

Assim, o emprego de probióticos em alimentos, associados ou não às terapias já existentes, pode representar uma estratégia eficiente no combate às infecções que acometem os humanos. Esses novos métodos de tratamento ganham destaque diante do quadro preocupante da resistência a antibióticos, cada vez maior entre os micro-organismos patogênicos (SCHIFFRIN e BLUM, 2002).

9 Benefícios atribuídos pelos probióticos

9.1 Probióticos na intolerância à lactose

A lactose é o único glicídio livre que existe em quantidades importantes no leite, sendo também o componente mais abundante, o mais simples e o mais constante em proporção (45-50g/L). É o único carboidrato presente apenas nos mamíferos. É considerado o componente mais lábil diante da ação microbiana, pelo fato de ser um bom substrato para as bactérias que o transformam em ácido lático. A hidrólise enzimática da lactose é um processo de grande interesse tecnológico, já que os compostos resultantes são facilmente fermentáveis e absorvidos pelo intestino humano. A β -galactosidase ou lactase é a principal enzima responsável por essa hidrólise. Trata-se de uma oxidase que hidrolisa a ligação β -1,4 glicosídica e libera glicose e galactose, moléculas que o homem absorve com facilidade (ORDÓÑEZ *et al.*, 2005; LOWER; PARKES; SANDERSON, 2008).

O interesse pela lactose como nutriente ainda é visto com reservas por causa dos problemas de intolerância (Ordóñez *et al.*, 2005). Nos humanos, a intolerância a lactose é provocada pela perda ou diminuição da atividade da lactase (Adam; Teixeira; Polaina, 2004). A origem desta intolerância encontra-se no déficit de β -galactosidase produzida pelas células da mucosa intestinal, mais precisamente nas bordas em escova do intestino delgado. Nesses casos, a lactose comporta-se como um açúcar de absorção lenta e/ou nula (Gassull, 2006; Lower; Parkes; Sanderson, 2008). Quando os carboidratos atingem o cólon sem serem previamente digeridos, servem de substratos para a microflora intestinal, sendo fermentados por bactérias anaeróbicas. O resultado desta fermentação é a produção de ácidos graxos de cadeia curta e dos gases carbônico e hidrogênio, culminando com os sintomas de flatulência, inflamação, náusea, dores abdominais, diarreia e desidratação nos casos de intolerância aguda (Adam; Teixeira; Polaina, 2004; Ordóñez *et al.*, 2005). A severidade desses sintomas depende da quantidade de lactose que cada indivíduo pode tolerar (Adam; Teixeira; Polaina, 2004). O excesso de volume de gás é diminuído por bactérias metanogênicas (pela produção de metano) e bactérias sulfito-redutoras (produzindo gás sulfídrico) (GASSULL, 2006; LOWER; PARKES; SANDERSON, 2008).

Uma função vital das bactérias lácticas na microbiota intestinal é produzir a enzima β -D galactosidase, auxiliando na quebra da lactose no intestino. Assim, dá-se a importância de suplementar a alimentação de intolerantes com os probióticos. Essa enzima microbiana sobrevive ativamente à passagem pelo estômago após o consumo deste alimento, quebrando a lactose no intestino delgado e tornando-a digerível. De acordo com Saad (2006), diversas evidências têm demonstrado que o consumo de quantidades adequadas, de cepas apropriadas de bactérias lácticas (incluindo bactérias lácticas não-probióticas como *Lactobacillus bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus*) é capaz de aliviar os sintomas de intolerância à lactose. Desta maneira, consegue-se incorporar produtos lácteos e os nutrientes importantes que fazem parte desses produtos de volta à dieta de indivíduos intolerantes à lactose, anteriormente obrigados a restringir a ingestão desses produtos.

9.2 Atividade antimicrobiana

Dentre uma variedade de substâncias produzidas pelas bactérias probióticas existem alguns metabólitos que apresentam potenciais inibitórios tanto para bactérias gram-positivas quanto para bactérias gram-negativas (Liong, 2007). Essas substâncias não reduzem apenas o número de células viáveis dos micro-organismos patogênicos, mas também afetam o metabolismo bacteriano ou a produção de toxinas (Rolfe, 2000). Dentre os compostos antimicrobianos estão os ácidos orgânicos, o peróxido de hidrogênio, bacteriocinas, antibióticos e ácidos biliares desconjugados (Lourens-Hattingh; Viljeon, 2001; Sheil; Shanahan; O'Mahony *et al.*, 2007). Outros possíveis mecanismos de inibição seriam a competição por sítios de adesão e nutrientes e a estimulação do sistema imune (LOURENS-HATTINGH; VILJEON, 2001; SHEIL; SHANAHAN; O'MAHONY, 2007).

Shah (2006) afirma que tanto as bifidobactérias quanto o *Lactobacillus acidophilus* apresentam efeito antagonista sobre enteropatógenos como *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* e *Clostridium perfringes*.

9.3 Efeito hipocolesterolêmico

O efeito hipocolesterolêmico das culturas probióticas ainda gera controvérsia (Roberfroid, 2000). Estudos realizados nas décadas de 70 e 80 relatavam reduções de 5-17% na concentração de colesterol sérico após 2-4 semanas de consumo diário de produtos lácteos fermentados (ROBERFROID, 2000).

Hlivak e colaboradores (2005) estudaram o efeito de um ano de administração oral de *Enterococcus faecium* no nível de colesterol sérico de humanos e encontraram uma diminuição no colesterol total de 12% após 56 semanas. A explicação para o possível efeito hipocolesterolêmico reside no fato de que o probiótico deve: interferir com a absorção de colesterol no cólon; assimilar diretamente o colesterol ou produzir metabólitos que interferem no nível de lipídios do sangue (SANDERS, 1994; FOOKS; FULLER; GIBSON, 1999).

No entanto, alguns estudos não indicam nenhum efeito significativo nessa concentração (Roberfroid, 2000; O'Sullivan *et al.*, 2005). Os resultados são em geral difíceis de serem interpretados de acordo com Arunachalam (1999), pois existem variáveis confundidas, como exercício físico e dieta, além da existência de diferentes níveis de colesterol total inicial.

9.4 Diarréia associada a antibióticos

O maior problema associado com o tratamento por antibióticos é o aparecimento de diarréia, causada frequentemente por *Clostridium difficile*. Este micro-organismo é encontrado em pequenas quantidades no intestino de pessoas saudáveis, porém, com a administração de antibióticos e a disfunção da microbiota intestinal, há um aumento no seu número e na produção de toxinas, o que ocasiona o desenvolvimento da diarréia. O tratamento com vancomicina é usualmente efetivo, mas recorrências são comuns (SHAH, 2007).

Segundo O'Grady e Gibson (2005), o mecanismo pelo qual culturas probióticas exerceriam efeito protetor contra diarréias associadas a antibióticos ainda não está elucidado.

9.5 Propriedades tecnológicas

Culturas probióticas com boas propriedades tecnológicas devem apresentar boa multiplicação no leite, promover propriedades sensoriais adequadas no produto e ser estáveis e viáveis durante armazenamento. Desta forma, podem ser manipuladas e incorporadas em produtos alimentícios sem perder a viabilidade e a funcionalidade, resultando em produtos com textura e aroma adequados (Oliveira *et al.*, 2002). Além disso, com relação às perspectivas de processamento de alimentos, é desejável que essas linhagens sejam apropriadas para a produção industrial em larga escala, resistindo a condições de processamento como a liofilização ou secagem por “spray drying” (STANTON *et al.*, 2003).

Os micro-organismos devem estar viáveis, apresentando-se em números elevados ($> 10^6$ log UFC/ mL) durante toda a estocagem do produto (TRABULSI; SAMPAIO, 2000).

Em relação ao sabor do produto fermentado é preciso mencionar que algumas espécies de bactérias probióticas são homofermentativas (produzem apenas ácido láctico), enquanto outras são heterofermentativas (produzem ácido láctico e outros ácidos orgânicos). Por exemplo, as bifidobactérias são heterofermentativas e produzem mistura de ácido acético e ácido láctico na proporção de 3:2, respectivamente. O ácido acético vai proporcionar sabor desagradável de vinagre. Além disso, as bactérias probióticas se multiplicam muito lentamente no leite (por apresentarem baixa atividade proteolítica), gerando pouco ácido láctico, o que aumenta o tempo de fermentação. Assim, as linhagens probióticas não são empregadas sozinhas, mas em conjunto com a cultura iniciadora do iogurte (*Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* subesp. *bulgaricus*) (ORDÓÑEZ *et al.*, 2005; SHAH, 2000).

A combinação da cultura iniciadora com as bactérias probióticas permite obter um produto final com as características ideais de textura, pH, aroma e sabor. Mas, conforme mencionado por Shah (2000), o *Lactobacillus delbrueckii* subesp. *bulgaricus* continua produzindo ácido láctico durante a estocagem sob refrigeração. A indústria

chama esse fenômeno de pós-acidificação. O ácido, produzido durante a estocagem refrigerada, causa diminuição na viabilidade das bactérias probióticas. Portanto, recomenda-se empregar apenas *Streptococcus thermophilus* em conjunto com as bactérias probióticas. Nesse caso, mesmo sendo menos proteolítico do que *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *S. thermophilus* torna-se o principal responsável pela fermentação. A viabilidade das bactérias probióticas também depende da linhagem utilizada, da interação entre as espécies presentes, da acidez final do produto e das concentrações de ácido láctico e acético.

Outros fatores que interferem na viabilidade são: a disponibilidade de nutrientes e de promotores (ou inibidores) de crescimento; a concentração de açúcares (pressão osmótica); o teor de oxigênio dissolvido e a permeabilidade de oxigênio através da embalagem; a quantidade de inóculo; a temperatura de incubação; o tempo de fermentação e a temperatura de estocagem. Entretanto, os principais fatores que levam à perda de viabilidade são a redução do pH do meio e a acumulação de ácidos orgânicos como resultado do crescimento e da fermentação. As bifidobactérias são anaeróbicas por natureza, portanto elevado teor de oxigênio pode afetar seu crescimento e viabilidade. A acumulação de peróxido de hidrogênio é facilitada pelo fato dos lactobacilos não apresentarem a enzima catalase, mas a concentração de peróxido de hidrogênio produzida pelos *starters* parece não ser suficiente para afetar diretamente as células presentes no produto. No entanto, o peróxido de hidrogênio pode reagir com outros compostos e produzir substâncias inibidoras (SHAH, 2000; VINDEROLA, MOCCHIUTTI E REINHEIMER, 2002b; TALWALKAR e KAILASAPATHY, 2003; DONKOR *et al.*, 2006). As bifidobactérias, estritamente anaeróbias, geralmente são consideradas mais vulneráveis aos efeitos deletérios do oxigênio do que o *Lactobacillus acidophilus* (microaerófilo) (TALWALKAR e KAILASAPATHY, 2004a).

10 Maracujá

10.1 Mercado e comercialização

O maracujá (*Passiflora edulis*) é originário da América Tropical, apresenta aceitação pelos consumidores principalmente na forma de suco concentrado. Atualmente, no país é produzido cerca de 450 mil toneladas, o que representa aproximadamente 56% da produção mundial dessa fruta. (ITI TROPICALS, 2007). O uso do maracujá em sobremesas lácteas ainda é muito incipiente, criar novas alternativas para o enriquecimento funcional desta linha alimentícia, proporciona benefícios econômicos, nutricionais e ambientais.

Algumas propriedades funcionais atribuídas ao maracujá estão possivelmente relacionadas ao seu conteúdo de antioxidantes, uma variedade de moléculas que desempenham papel fundamental na manutenção da saúde interferindo no processo de oxidação ao reagir e neutralizar radicais livres (ZERAIL *et al.*, 2007).

A Embrapa Cerrados possui uma coleção com mais de 150 acessos de passifloras, onde se destacam os híbridos recém lançados de *Passiflora edulis*, com maior tolerância às principais doenças do maracujazeiro: O BRS sol do Cerrado, BRS Ouro Vermelho e BRS Gigante.

Características da fruta como pH, sólidos solúveis e acidez total titulável são de grande importância na qualificação do fruto e segundo a legislação brasileira, na Instrução Normativa nº 01/100, preconiza para polpa de maracujá o teor mínimo de sólidos solúveis totais (SST) a 20°C em Brix; pH entre 2,7 e 3,8; acidez titulável (ATT) expressa em ácido cítrico (g/100g) no valor mínimo de 2,50.

10.2 Cultura do maracujá

Os frutos do maracujá são muito cultivados, principalmente, para industrialização em forma de sucos, pertence à família dos *Passifloraceae*, apresentando 14 gêneros com cerca de 580 espécies, destas, três espécies são exploradas comercialmente. O Brasil é o maior produtor mundial e possuem 150 espécies nativas, o mais cultivado deles é o *Passiflora edulis flavicarpa* (maracujá amarelo ou azedo) (CABRAL; FREIRE MATTA; 2005 ; CENTEC, 2004).

Apresenta-se de forma oval ou subglobosa, com grande variação de tamanho e coloração da polpa. Possui, em média, 6 a 8 cm de comprimento por 5 a 7 cm de

largura e peso de 44 a 160 g. A polpa possui de 13 a 18 % de sólidos solúveis, cujos principais componentes são os açúcares e o ácido cítrico (CENTEC, 2004). É fruto rico em minerais e vitaminas principalmente A e C, sendo muito apreciado pela qualidade de seu suco, de aroma e sabor agradáveis. A composição nutricional da polpa de maracujá pode ser observada na Tabela 3.

Tabela 3: Composição nutricional em 100g de polpa de maracujá fresco.

Componentes	<i>P.edulis f. flavicarpa</i> ¹	<i>P.edulis</i> ²
Umidade (%)	72,22	75,10
Proteínas (g)	3,00	2,20
Gordura (g)	0,12	0,70
Glucose (%) ³	38,10	37,10
Frutose (%) ³	29,40	33,50
Sucrose (%) ³	32,40	29,40
Fibras (%)	12,80	0,04
Ácido cítrico (meq) ³	13,10	55,00
Ácido málico (meq) ³	10,55	3,86
Ácido láctico (meq) ³	0,58	7,49
Ácido malônico (meq) ³	0,13	4,95
Ácido succínico (meq) ³	Traços	2,42
Cinzas (%)	0,50	0,80
Sódio (mg)	8,00	28,00
Potássio (mg)	208,00	348,00
Cálcio (mg)	6,80	13,00
Ferro (mg)	0,60	1,60
Fósforo (mg)	63,80	64,00
Magnésio (mg)	28,00 -4	17,00 -5
Zinco (mg)	0,60 -4	0,10 -5
Cobre (mg)	0,19 -4	0,10 -5

Vitamina A (U.I.)	200,00	700,00
Tiamina (mg)	Traços	Traços
Riboflavina (mg)	0,10	0,10
Niacina (mg)	1,50 - 2,20	1,50
Ácido ascórbico (mg)	22,00	30,00

Fonte: ¹Romero-Rodriguez et al.(1994); ²Morton (1987); ³Chan et al. (1972); ⁴Kidoy et al. (1997); ⁵Zibadi & Watson (2004).

10.3 Espécies Cultivadas

A espécie mais cultivada é o maracujá amarelo (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg.), por ser mais vigorosa e mais adaptada aos dias quentes, apresentar frutos de maior tamanho, com peso entre 43 e 250 g, maior produção por hectare, maior acidez total e maior rendimento em suco.

O maracujá-roxo (*Passiflora edulis* Sims) é mais indicado para locais de maior altitude e clima mais frio. Seus frutos apresentam peso entre 32 e 220 g, maior percentagem de açúcares e maior teor de sólidos solúveis (°Brix), quando comparado com o maracujá-amarelo.

O maracujá doce (*Passiflora alata* Curtis) é uma espécie brasileira consumida como fruta fresca, ao contrário do maracujá amarelo ou azedo. Seus frutos são amarelados, com polpa doce, aroma e paladar atraentes e agradáveis, pesando de 80 a 300 g e teor de sólidos solúveis (°Brix) acima de 15.

10.4 Propriedades nutricionais e funcionais da casca do maracujá

A casca do maracujá, principal sub-produto da indústria de sucos, contém pectina, um valorizado ingrediente funcional, largamente utilizado como agente geleificante e estabilizante (Pinheiro *et al.*, 2008). Estas cascas também têm sido estudadas para o uso na produção de balas e farinha para consumo humano (RAMOS *et al.*, 2007). A casca do maracujá é também rica em niacina (vitamina B3), ferro, cálcio,

e fósforo (Figura 2) (GONDIM et al., 2005), e as cascas já foram testadas e usadas com sucesso na alimentação animal (TOGASHI et al., 2007).

Parâmetros	Quantidades em 100 g de cascas
Umidade	87,64 g
Cinzas	0,57 g
Lipídeos	0,01 g
Proteínas	0,67 g
Fibras	4,33 g
Carboidratos	6,78 g
Calorias	29,91 kcal
Cálcio	44,51 mg
Ferro	0,89 mg
Sódio	43,77 mg
Magnésio	27,82 mg
Zinco	0,32 mg
Cobre	0,04 mg
Potássio	178,40 mg

Figura 2: Teor de nutrientes em cascas in natura de maracujá amarelo (*P. edulis* fo. *flavicarpa*).

GONDIM, 2005

A casca do maracujá é composta pelo flavedo (parte com coloração) e albedo (parte branca), sendo este rico em pectina, espécie de fibra solúvel que auxilia na redução das taxas de glicose no sangue, fonte de niacina (vitamina B3), ferro, cálcio, e fósforo. Em humanos, a niacina atua no crescimento e na produção de hormônios, assim como previne problemas gastrointestinais. Os minerais atuam na prevenção da anemia (ferro), no crescimento e fortalecimento dos ossos (cálcio) e na formação celular (fósforo).

Quanto à composição de fibras, a casca do maracujá constitui produto vegetal

rico em fibra do tipo solúvel (pectinas e mucilagens), benéfica ao ser humano. Ao contrário da fibra insolúvel (contida no farelo dos cereais) que pode interferir na absorção do ferro, a fibra solúvel pode auxiliar na prevenção de doenças (Cordova; Gama; Winter; Kaskantzis Neto; Freitas, 2005). A fibra de maracujá apresenta como maior agente a pectina. Quando ingerida forma um gel, dificultando a absorção de carboidratos e da glicose produzida no processo digestivo e também nas gorduras, auxilia ainda a redução de glicemia e na taxa de colesterol (SZEGÖ, 2007).

As pectinas são ácidos pectínicos solúveis em água, com número de metoxilas estereficáveis e grau de neutralização variável. Em meio ácido formam géis com sacarose. As pectinas se localizam principalmente em tecidos poucos rijos como no albedo das frutas cítricas e na polpa da beterraba (BOBBIO, 1992).

O uso de pectinas em alimentos é permitido em todos os países do mundo por ser um aditivo seguro sem dose/diária limite, sendo que a quantidade a ser usada depende apenas da textura desejada a um determinado produto. Esses polímeros podem ser utilizados em grande número de alimentos, atuando como agentes geleificantes, espessantes, emulsificantes, estabilizantes e, recentemente, como substituintes de açúcar e gordura em alimentos dietéticos.

Esta multifuncionalidade das pectinas se origina da natureza de suas moléculas, com regiões polares e não-polares que tornam possível sua incorporação em diversos sistemas alimentícios. Podem ser usadas em alimentos como geléias, sobremesas, bebidas dietéticas e molhos (CHEFTEL, 2000).

As pectinas podem formar gel por dois mecanismos. Aquelas com alto grau de esterificação requerem uma concentração relativamente alta de sólidos solúveis (sacarose, por exemplo) e um baixo pH. As pectinas com baixo grau de esterificação requerem apenas a presença de cátions divalentes para haver a interação entre as cadeias e a geleificação.

10.5 Atividade antioxidante da polpa de maracujá

O maracujá, além de seus nutrientes essenciais e de micronutrientes, apresenta

compostos funcionais com propriedades antioxidantes, tais como os compostos fenólicos e a vitamina C. Os compostos fenólicos são metabólitos secundários que possuem a capacidade de captar radicais livres (atividade antioxidante), além de apresentarem efeitos na prevenção de enfermidades cardiovasculares e circulatorias, cancerígenas, do diabetes e do mal de Alzheimer, destacando-se entre esses compostos, os flavonóides (RAUHA, 200; SOARES, 2002; DEGÁSPARI; NINA, 2004; CHITARRA, 2005).

Os compostos fenólicos estão presentes em muitas plantas, como a *Passiflora edulis* e *Passiflora alata*, principalmente pertencentes à classe C-glicosídeo flavonas (Dhawan, Sharma, 2004). Isoorientin, uma flavona C- glicosídeo encontrado em *P. edulis* (Dhawan *et al.*, 2004), também foi encontrado por ser o principal flavonóide em polpa de extratos desta espécie. Na verdade, o teor de flavonóides na polpa de *P. edulis* foi relatado ser bastante significativo em comparação com outras bebidas que são fontes de flavonóides, como suco de laranja e caldo de cana (ZERAIK; YARIWAKE, 2010).

Devido ao seu alto valor nutricional e conteúdo de flavonóides, pesquisas para avaliar o potencial do maracujá como um alimento funcional ou uma fonte de compostos ativos com finalidades antioxidante e anti-inflamatória, são muito importantes.

As espécies *Passiflora* mencionadas, são amplamente cultivadas e consumidas no Brasil: a polpa de *P. edulis* é usada principalmente na produção de industrial de sucos, enquanto que *P. alata* é normalmente consumida fresca, devido ao seu sabor doce (CARVALHO-OKANO; VIEIRA, 2001).

Estudos recentes têm mostrado o potencial do maracujá e sua casca para vários propósitos, como efeito anti-hipertensivo da casca do maracujá, atribuídos parcialmente pelo efeito vasodilatador dos polifenóis, especialmente o flavonóide luteolina (Ichimura *et al.*, 2006). Entretanto, a atividade biológica da polpa que tem sido a mais consideravelmente estudada é a atividade antioxidante, usando vários métodos, como o DPPH (2,2-difenil-1-picrilidrazilo) e ABTS (2, 2' – Azino – bis (3- ethylbenzo – thiazoline – 6 sulfonic acid) diammoninum salt) (KUSKOSKI, ASUERO, TRONCOSO, MANCINE-FILHO, FETT, 2005; VASCO, RUALES, KAMAL-ELDIN, 2008).

MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado nos laboratórios de Processamento de Produtos de Origem Animal e de Microbiologia de Alimentos do Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial da Universidade Federal de Pelotas, Campus Capão do Leão, Rio Grande do Sul - (DCTA/UFPEL).

O leite utilizado como matéria-prima neste experimento foi o leite UHT integral (Danby). O maracujá utilizado para obtenção de polpa e farinha do albedo pertence à cultivar BRS Ouro Vermelho (EC-2-O), cultivado na Colônia São Manoel, interior de Pelotas/RS.

As análises físico-químicas, microbiológicas e sensoriais foram realizadas em conjunto nos Laboratórios de Microbiologia de Alimentos, Frutas e Hortaliças e Análise sensorial. Através de testes preliminares, todo processamento do iogurte foi definido, assim como a quantidade dos componentes adicionados no mesmo.

Inicialmente foram analisados alguns parâmetros físico-químicos da polpa de maracujá, tais como pH, colorimetria, teor de sólidos solúveis (°Brix) e atividade antioxidante.

Os iogurtes, num total de seis tratamentos (Y, YM, LABL, LABLM, SBLA e SBLAM), foram analisados no 1º, 7º, 14º e 21º dias de estocagem (período o qual foi estabelecido o tempo de armazenamento), quanto ao valor acidez expressa em °Dornic e pH, contagem de culturas iniciadoras do iogurte e, culturas probióticas. O teor de gordura, atividade antioxidante, viscosidade, sinérese e a análise sensorial foram determinados após 21 dias de armazenamento. As análises físico-químicas foram realizadas em triplicata e as microbiológicas em duplicata.

1 Testes preliminares

Testes preliminares foram realizados para determinar os teores de açúcar, polpa e farinha do albedo de maracujá a serem empregados na formulação do iogurte.

1.1 Teor de farinha do albedo de maracujá

Para a elaboração do iogurte, foram testados vários teores de farinha do albedo de maracujá (variando de 0,1 a 0,5%), baseando-se na Resolução N° 05 (BRASIL, 2000) que permite a utilização de espessantes e estabilizantes numa concentração máxima de 5g/Kg (0,5%) de leite fermentado. A partir disso, definiu-se por utilizar 0,1% de farinha do albedo, pois apresentou uma melhor aceitação sensorial.

1.2 Teor de polpa de maracujá

Para determinar a quantidade de polpa de maracujá a ser adicionada no iogurte, foram testados vários teores variando de 5%, 6% e 7%, sendo que considerou-se o teor de 6%, pois teve menos influência no pH final do iogurte e boa aceitação sensorial.

1.3 Açúcar

A quantidade de açúcar adicionado no iogurte foi previamente testada, utilizando-se teores que variavam de 8%, 10% e 12%, sendo o iogurte com percentual de 10% de açúcar obteve-se maior aceitação.

2 Maracujá

2.1 Polpa de maracujá *in natura*

Para obtenção da polpa de maracujá *in natura*, primeiramente deixou-se os maracujás imersos em água clorada contendo 120ppm de cloro durante 10 minutos, a

fim de promover uma sanitização. Em seguida os mesmos foram lavados com água corrente para que o excesso de cloro fosse retirado. Para a separação da polpa das sementes, utilizou-se peneira de *mesh* número 32, de modo que as sementes ficassem retidas e a polpa pura passasse diretamente para um recipiente plástico de um litro. Alguns parâmetros físico-químicos da polpa foram avaliados, sendo eles o pH, °Brix, atividade antioxidante e teste colorimétrico. A polpa foi envasada em garrafas de polietileno branca (para conferir proteção contra luz) e congelada em freezer a temperatura de -18°C.

2.2 Obtenção de farinha do albedo de maracujá

Após obtenção da polpa de maracujá, a casca foi utilizada para elaboração de uma farinha, já que esta possui um conteúdo altamente rico em pectina, podendo ser usada em substituição ao espessante comercial.

Para obtenção de farinha do albedo de maracujá, retirou-se o flavedo da casca (parte amarela), restando o albedo (parte branca), sendo este cortado em tiras finas e levado em estufa com circulação de ar, a temperatura de 45°C por 18 horas. Do albedo de maracujá seco, procedeu-se a trituração em moinho Martelo Laboratory Mill 3100 (empresa Perten instruments) obtendo-se uma farinha de cor ligeiramente amarelada, sem gosto, inodora e com granulometria fina. Para o armazenamento, utilizaram-se sacos plásticos estéreis de polietileno, envoltos por folhas de alumínio, seguido de estocagem em condições de refrigeração (6°C).

3 Culturas láticas

As culturas láticas liofilizadas utilizadas para a elaboração do iogurte foram as seguintes:

- DELVO YOG FVV 21 - Culturas *starters* do iogurte (*Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus bulgaricus*) (Global Food);
- DELVO PRO LAFTI L10 - *Lactobacillus acidophilus* (Global Food);

- DELVO PRO LAFTI B94, *Bifidobacterium lactis* (Global Food);
- ABT7 - *Bifidobacterium* Bb-12, *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus thermophilus* (Chr. Hansen).

3.1 Preparo dos inóculos

O preparo dos inóculos foi realizado de acordo com instruções sugeridas pelo representante técnico da empresa de onde foram obtidas as culturas lácticas. Os envelopes contendo cerca de 9,90 gramas de culturas lácticas foram dissolvidos em 700 mL de leite UHT semidesnatado Molico (Nestlé). Feito isto, os inóculos foram distribuídos em Eppendorfes com capacidade de 2,0 mL e armazenados em *ultrafreezer* a temperatura de -80°C

3.2 Fermentação

A elaboração do iogurte foi realizada em iogurteira com capacidade de 1Litro, de acordo com fluxograma de processamento do iogurte pode ser visto no (Figura 3). Seis tratamentos foram formulados, diferenciando-se na combinação de inóculos adicionados, bem como a adição ou não de polpa e farinha do albedo de maracujá, com o objetivo de avaliar o efeito destes dois últimos ingredientes na viabilidade de diferentes probióticos e nas propriedades físico-químicas, reológicas e sensoriais de iogurte.

O delineamento experimental pode ser verificado na Tabela 4. A base láctea utilizada para o experimento foi o leite UHT integral (Danby) com adição de 10% de açúcar e 0,1% de farinha do albedo de maracujá (nos tratamentos onde constava sua adição). A esta mistura, aplicou-se um tratamento térmico de 90°C durante três minutos, e em seguida promoveu-se o abaixamento para 42°C, temperatura ideal para adição das culturas iniciadoras do iogurte. Nas formulações onde constavam *B. lactis* ou *B. Bb-12* a temperatura requerida foi de 37°C. Após inoculação das culturas lácticas, procedeu-se à homogeneização do leite, seguido de repouso.

Durante o período de incubação foram realizadas coletas de amostra para

monitoramento de pH do iogurte, em intervalos de 30 minutos a partir da terceira hora de fermentação, até quando o mesmo atingiu valor de 4,6 (pH final), sendo então a fermentação interrompida. Em seguida, procedeu-se o resfriamento do coágulo, que ao atingir a temperatura de 10°C, realizou-se sua quebra, seguido de adição de 6% de polpa de maracujá, quando o tratamento o exigia.

Tabela 4 - Delineamento para avaliar o efeito da polpa e farinha do albedo de maracujá na viabilidade de diferentes probióticos e nas propriedades físico-químicas, reológicas e sensoriais de iogurte.

Micro-organismos	Tratamento/ Códigos	Polpa de Maracujá	Farinha do albedo de Maracujá
St e Lb	Y	-	-
Y+ La + Bl	LABL	-	-
St + B. Bb-12 + La	SBLA	-	-
St e Lb	YM	+	+
Y + La + Bl	LABLM	+	+
St + B. Bb-12+ La	SBLAM	+	+

(-) sem adição de polpa e farinha de maracujá; (+) com adição de polpa e farinha de maracujá; (St) *S. thermophilus*; (Lb) *L. bulgaricus*; (Bl) *B. lactis*; (La) *L. acidophilus*, (B. Bb-12) *Bifidobacterium* Bb-12.

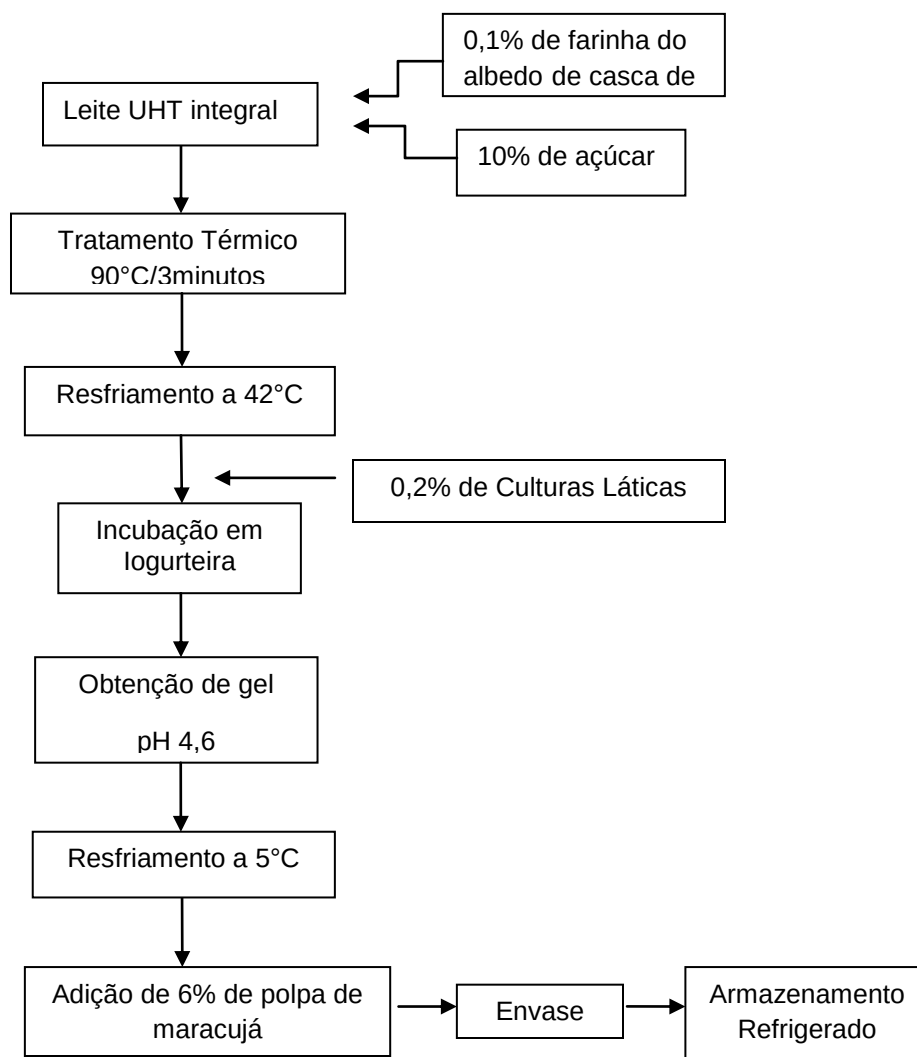


Figura 3 – Fluxograma de produção de iogurte.

4 Análises físico-químicas e microbiológicas do iogurte e polpa de maracujá

4.1 Análises físico-químicas da polpa de maracujá

As análises foram realizadas em triplicata logo após a obtenção manual da

polpa, sendo esta posteriormente congelada em *freezer* a 0°C.

As análises físico-químicas da polpa do maracujá foram realizadas de acordo com a legislação brasileira, na Instrução Normativa 01/100 (BRASIL, 2000) que estabelece os padrões de identidade e qualidade para polpas e sucos de frutas.

O pH da polpa *in natura* foi determinado através do pHmetro digital (marca HANNA *instruments*, modelo HI 221). O teor de sólidos solúveis expressos em °Brix foi determinado em refratômetro. A determinação da atividade antioxidante foi realizada pelo método DPPH (BRAND-WILLIAMS, 1995).

O perfil colorimétrico foi realizado em Colorímetro Minolta Chromameter (CR-300, Osaka, Japan), usando sistema CIEL*a*b*, onde os valores de luminosidade (L*) variam entre zero (preto) e 100 (branco), os valores das coordenadas de cromaticidade a* e b*, variam de: -a* (verde) até +a* (vermelho), e de: -b* (azul) até +b* (amarelo).

5 Análises microbiológicas dos iogurtes

5.1 Determinação da população estimada de culturas iniciadoras e culturas probióticas

A determinação da população estimada de culturas iniciadoras e culturas probióticas foi realizada de acordo com a International Dairy Federation (1997) nos 1°, 7°, 14° e 21° dias de armazenamento do produto. Um mililitro das amostras foi diluído em tubos contendo 9 mL de água peptonada 0,1% (p/v), seguido de homogeneização em aparelho vortex. Em seguida, diluições seriadas foram feitas utilizando-se o mesmo diluente, até a obtenção da diluição desejada para inoculação nos meios seletivos.

Os meios ágar ST, ágar LP-MRS, ágar Bile-MRS foram preparados de acordo com a metodologia descrita por ZACARCHENCO (2004).

Para a contagem de *Bifidobacterium spp.* utilizou-se a técnica de plaqueamento em superfície, inoculando-se 0,1mL de amostra, referente às diluições 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} e 10^{-7} , diretamente sobre a superfície com ágar LP-MRS. Em seguida espalhou-se a amostra com o auxílio da alça de Drigalski até sua total absorção pelo meio. As placas

foram incubadas a 37°C por 72 horas em jarras de anaerobiose, utilizando-se AnaeroGen (Oxoid, Basingstoke) para criar as condições de anaerobiose. Os resultados obtidos foram expressos em UFC/mL. As culturas probióticas *L. acidophilus* foram enumeradas em ágar Bile-MRS, seguindo o mesmo procedimento das Bifidobactérias, e incubadas a 37°C em condições aeróbicas.

As culturas iniciadoras *S. thermophilus* e *L. bulgaricus* foram enumeradas em ágar ST e ágar MRS, respectivamente. Sendo que, para *S. thermophilus* a incubação foi a 30°C durante 48 horas em aerobiose, enquanto *L. bulgaricus*, incubou-se a 37°C durante 72 horas sob condições aeróbicas. Os resultados obtidos foram expressos em UFC/mL.

No produto final (21 dias) além das contagens das culturas iniciadoras e probióticas, realizaram-se a contagem de bolores e leveduras, contagem padrão de bactérias aeróbias mesófilas e pesquisa de coliformes totais e termotolerantes de acordo com a Instrução Normativa nº 46 (BRASIL, 2007) e RDC 12 (BRASIL, 2001). A finalidade da realização dessas análises foi garantir a qualidade microbiológica do iogurte destinado à análise sensorial pelos provadores.

6 Análises físico-químicas e reológicas do iogurte

pH

A determinação do valor de pH foi realizada em pHmetro digital HI 221 marca HANNA *instruments*, aferido com as soluções tampões pH 4,0 e 7,0 (BRASIL, 2006). As análises foram realizadas em triplicata nos tempos 1, 7, 14 e 21 dias de armazenamento do iogurte.

Acidez titulável

A partir de uma solução alcalina de concentração conhecida, foi realizada uma titulometria para determinar a acidez do produto, utilizando-se a fenolftaleína como

indicador (BRASIL, 2006). Os resultados foram expressos em percentual de ácido láctico presente na amostra. A análise de acidez foi realizada em triplicata a partir dos tempos 1, 7, 14 e 21 dias.

Percentual de gordura

O percentual de gordura foi determinado através do método Gerber, conforme descrito por Atherton & Newlander (1977). As análises foram realizadas em triplicata no tempo 21 dias.

Percentual de umidade

O percentual de umidade foi determinado pelo método de secagem em estufa a 105°C (AOAC, 1995) no tempo 21 dias.

Percentual de cinzas

O percentual de cinzas foi determinado pelo método de incineração em forno mufla a 550°C (AOAC, 1995).

Determinação de viscosidade

A viscosidade das amostras de iogurtes foi mensurada em reômetro Haak, modelo RS 150, no módulo rotativo, a 25°C. Utilizou-se sistema coaxial do tipo cone-copo, sensor DG 41, taxa de cisalhamento de 0,01 a 100 s⁻¹ com 50 pontos de aquisição e duração da análise 300s. As análises foram realizadas em triplicata no 21º dia.

Determinação de sinérese

O índice de sinérese das diferentes amostras foi determinado de acordo com a metodologia proposta por Farnsworth *et. al.*, (2006), com modificações. Após 21 dias de armazenamento, as amostras (15g) foram centrifugadas (Eppendorf, Modelo Centrifuge 5430 R) por 10 minutos sob refrigeração (6°), em triplicata. O percentual de sinérese foi calculado pela massa do soro de leite separada da rede de gel, durante a centrifugação, dividido pela massa de iogurte inicial, multiplicado por 100 (FARNSWORTH *et. al.*, 2006).

Determinação de atividade antioxidante

A determinação da atividade antioxidante do iogurte adicionado de polpa de maracujá foi realizada através da captura do radical DPPH (BRAND-WILLIAMS, 1995). As análises de atividade antioxidante foram realizadas em triplicata no tempo 21 dias.

7 Análise sensorial

Somente o tratamento LABLM foi escolhido para aplicação da análise sensorial. A mesma foi conduzida depois de obtidos os resultados das análises microbiológicas de coliformes totais e termotolerantes e pesquisa de bolores e leveduras com o objetivo de assegurar a qualidade do produto antes de ser oferecido aos provadores. A amostra de iogurte probiótico foi avaliada por 75 provadores não treinados através de teste e aceitabilidade (ABNT-NBR 14141) (BRASIL, 1998), utilizando-se escala hedônica estruturada de 9 pontos, com variação de gostei muitíssimo (ou 9 pontos) a desgostei muitíssimo (ou 1 ponto). O modelo da ficha utilizada nas análises encontra-se no **Apêndice 1**.

Antes de participarem da análise sensorial, os provadores foram convidados a ler o TCLE - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (**Apêndice 2**), contendo a identificação da pesquisa e dos responsáveis pela mesma, além de apresentar os

aspectos legais da pesquisa. Dessa forma, os provadores foram informados sobre o objetivo da pesquisa, bem como os ingredientes que foram utilizados na formulação dos iogurtes probióticos. Em caso de concordância, os provadores entregavam o termo preenchido e assinado. O projeto obteve aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia da UFPel, conforme consta no Parecer nº 225/2011 (Apêndice 3).

Após este procedimento, a amostra de iogurte probiótico (25mL acondicionadas em copos de polietileno) foi servida aos provadores.

8 Análise Estatística

A partir dos resultados obtidos foi realizada a Análise de Variância (ANOVA) e o teste de Tuckey para comparação de médias utilizando-se o Programa *Statistica*, versão 8.0 (Statsoft Inc, Tulsa, OK, USA). Em todas as análises foi considerado nível de significância $P \leq 0,05$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

1 Processo de fermentação do iogurte

O tempo total de fermentação dos iogurtes até atingirem um valor de pH de 4,6, aproximadamente, podem ser observados na Figura 4. Ressalta-se que a polpa de maracujá, nos tratamentos onde constava sua adição, foi adicionada somente depois do término da fermentação, após o resfriamento e quebra do coágulo.

Testes prévios foram realizados para definir a quantidade de inóculo a ser empregada, de modo a assegurar a contagem inicial superior a $10^8 \text{LogUFC.mL}^{-1}$.

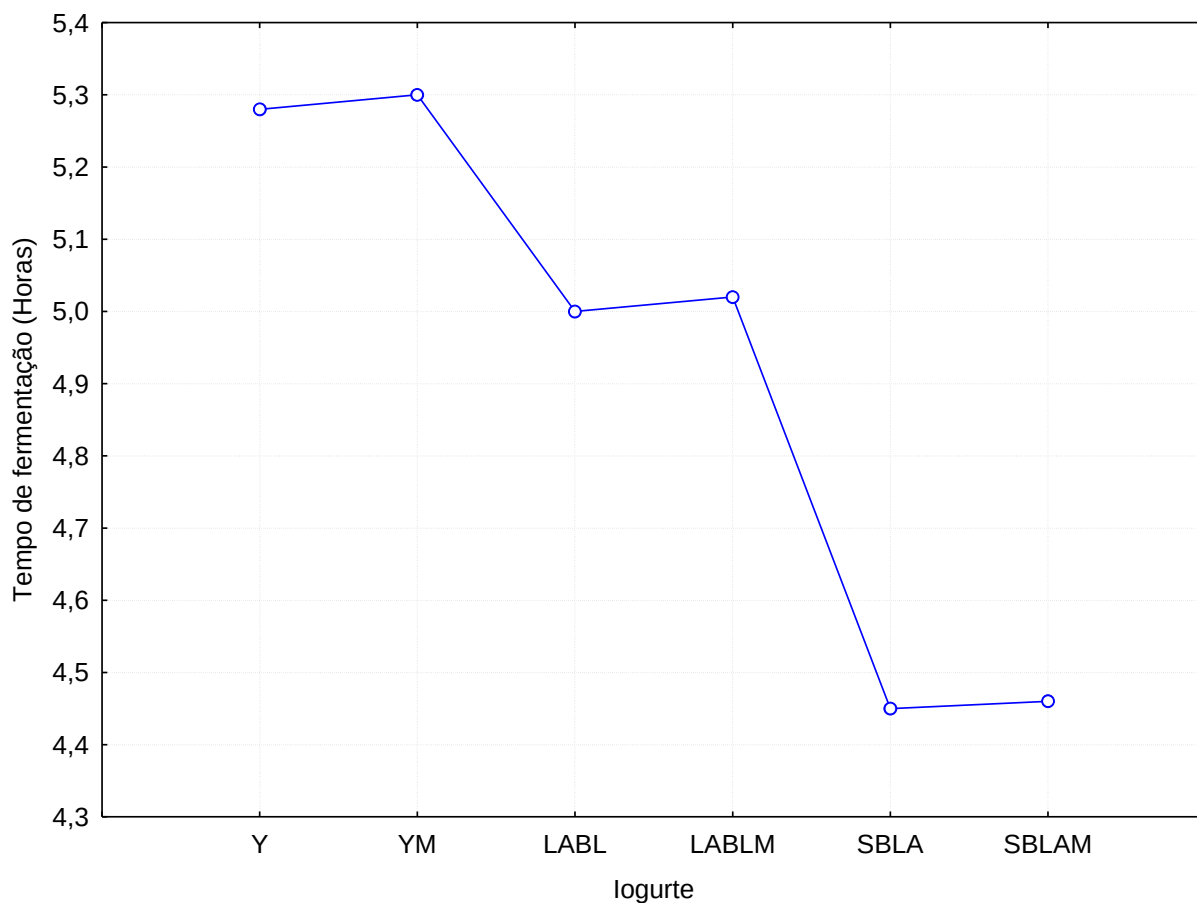


Figura 4 – Tempo de fermentação na elaboração dos seis tratamentos de iogurte.

Através dos resultados obtidos, nota-se que nos iogurtes contendo bactérias probióticas o tempo médio de fermentação foi menor quando comparado ao iogurte somente com bactérias iniciadoras. Segundo Saccaro (2008), a redução do tempo de fermentação do iogurte com adição de probióticos é devido ao fato das bactérias probióticas contribuírem para aceleração da acidificação do leite através da hidrólise da lactose em metabólitos secundários. O tempo de fermentação do iogurte probiótico LABL e LABLM foi reduzido de 16,8 minutos a menos quando comparado ao iogurte Y (sem probiótico). Já para o iogurte probiótico SBLA e SBLAM a redução no tempo de fermentação foi maior, aproximadamente 50 minutos, em comparação ao iogurte Y.

Pereira (2002) utilizando as culturas tradicionais (*S. thermophilus* e *L. bulgaricus*) e probióticas (*L. acidophilus* e *Bifidobacterium spp.*) observou que o tipo de cultura afetou significativamente o tempo de fermentação dos iogurtes. A autora relatou que os produtos fermentados apenas pelas culturas tradicionais apresentaram maior tempo de fermentação.

2 Caracterização físico-química da polpa de maracujá

Na tabela 5 são apresentados os valores de pH, teor de sólidos solúveis (°Brix), atividade antioxidante ($\mu\text{mol/g}$) e perfil colorimétrico (luminosidade, (a) vermelho e (b) amarelo) da polpa *in natura* de maracujá.

Tabela 5 – Caracterização físico-química de polpa *in natura* de maracujá, cultivar BRS Ouro Vermelho (EC-2-0).

pH	Sólidos solúveis (°Brix)	Atividade antioxidante ($\mu\text{mol.g}^{-1}$)	Colorimetria		
			Luminosidade	a (Vermelho)	b (Amarelo)
3,14	10,03	44,15	44,50	+ 0,87	+ 23,41

A região sul do estado, busca a diversificação de culturas, alguns produtores

rurais, Colônia São Manoel, interior de Pelotas/RS, estão iniciando o cultivo do maracujá, optando pela cultivar BRS Ouro Vermelho (EC-2-0).

De acordo com os resultados obtidos, o teor de sólidos solúveis expressos em °Brix encontra-se pouco abaixo do valor estabelecido pela legislação brasileira, na Instrução Normativa 01/100 que é de 11°Brix. Já em relação ao pH obtido está na faixa estabelecida pela legislação, entre 2,7 a 3,8. Resultados semelhantes em relação ao pH da polpa de maracujá da mesma cultivar foram encontrados por CITADIN et al (2008) onde obtiveram um valor de pH 3,11., porém, com relação aos sólidos solúveis, o valor encontrado foi superior (14°Brix) em relação ao presente estudo.

Com relação ao perfil colorimétrico da polpa de maracujá *in natura* os valores positivos de a+ e b+ indicaram uma cor tendendo mais para o vermelho e amarelo, indicando que o fruto estava maduro e em condições de ser utilizado. A atividade antioxidante apresentou valores semelhantes aos encontrados por Jáuregui et al (2007) maracujá (*Passiflora mollissima*), 41,18 µmol/g, e valores inferiores aos encontrados por Vasco et al (2008), 70µmol/g.

3. Estudo da viabilidade das Bactérias Ácido Láticas durante o armazenamento do iogurte sob refrigeração

3.1 Determinação da população estimada das culturas iniciadoras *S. thermophilus* e *L. bulgaricus*

A contagem média das bactérias iniciadoras *S. thermophilus* e *L. bulgaricus* em seus respectivos iogurtes (com e sem adição de polpa e farinha do albedo de maracujá no período do 1° ao 21° dia de armazenamento sob refrigeração, pode ser visualizada na Figura 5 e **Apêndice 4**.

A partir da ANOVA verificou-se que existiam diferenças significativas ($p < 0,05$) na viabilidade de *S. thermophilus* e *L. bulgaricus* entre os tratamentos Y e YM (**Apêndice 5**), LABL e LABLM (**Apêndice 6**) e SBLA e SBLAM (**Apêndice 7**) durante o armazenamento, pontualmente nos mesmos dias de análise. Porém, não foi constatada diferença significativa ($p > 0,05$) na viabilidade de *S. thermophilus* e *L.*

bulgaricus (Apêndice 8 e Apêndice 9, respectivamente) do iogurte YM com o iogurte Y nos dias de análise.

A contagem de *S. thermophilus* nos iogurtes Y e YM apresentou-se superior a 6LogUFC.mL⁻¹ de células viáveis durante o armazenamento, merecendo destaque para o tratamento Y, onde a contagem de *S. thermophilus* no 1º dia esteve mais elevada, com valores acima de 8LogUFC.mL⁻¹. Entretanto, no 7º dia houve uma redução de um ciclo logarítmico dessa linhagem, que mesmo assim, permaneceu com contagens superiores em relação ao tratamento YM.

A contagem de *L. bulgaricus* em ambos os tratamentos apresentou quantidade de células viáveis inferiores quando comparadas à contagem de *S. thermophilus*. No 21º, a população de *L. bulgaricus* forneceu contagens acima de 6LogUFC.mL⁻¹, em ambos os tratamentos.

Apesar de verificar-se uma diminuição na contagem de *L. bulgaricus* ao longo do armazenamento, sua viabilidade no iogurte Y manteve-se sempre superior em relação ao iogurte YM.

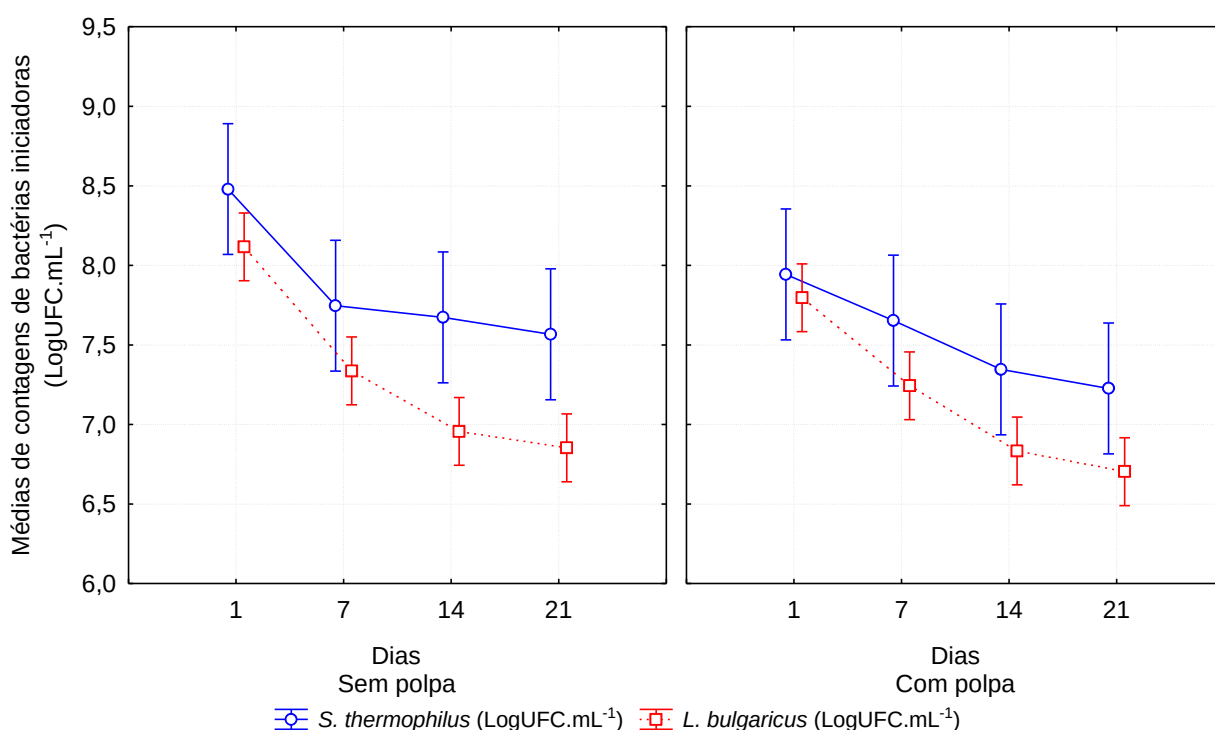


Figura 5 – Contagem média de viabilidade de *S. thermophilus* e *L. bulgaricus* nos iogurtes Y e YM durante 21 dias de armazenamento sob refrigeração.

Na avaliação de *S. thermophilus* do iogurte LABL e LABLM verificou-se diferença significativa ($p < 0,05$, **Apêndice 10**) no 1º dia de análise em ambos os tratamentos, porém, não houve diferença significativa ($p > 0,05$) nos 7º, 14º e 21º dias de análise, denotando que a diminuição da viabilidade de *S. thermophilus* no iogurte LABLM não foi significativa em relação ao iogurte LABL a partir do 7º dia de análise.

Para a contagem de *L. bulgaricus*, verificou-se que não existiam diferenças significativas ($p > 0,05$, **Apêndice 11**) na viabilidade desse micro-organismo entre os iogurtes LABL e LABLM nos 1º, 7º, 14º e 21º dias de análise.

A contagem de *S. thermophilus* permaneceu acima de 7LogUFC.mL^{-1} até o 21º dia de análise em ambos os tratamentos. A partir do 14º dia, *L. bulgaricus* teve uma redução de um ciclo logarítmico em sua população e permaneceu com contagens acima de 6LogUFC.mL^{-1} até o 21º dia nos iogurtes LABL e LABLM.

Para a contagem de *S. thermophilus* nos iogurtes SBLA e SBLAM verificou-se que não houve diferença significativa ($p > 0,05$, **Apêndice 12**) na viabilidade desse micro-organismo entre os dois iogurtes nos 1º, 7º, 14º e 21º dias de análise.

Ao final de 21 dias de armazenamento observou-se que a contagem de *S. thermophilus* tanto no iogurte SBLA quanto no iogurte SLABM permaneceu em torno de 7LogUFC.mL^{-1} .

No contagem final do número de células viáveis da bactéria iniciadora *S. thermophilus* atende aos valores estabelecidos pela legislação brasileira em vigor em todos os iogurtes elaborados, com e sem adição de polpa e farinha do albedo de maracujá. De acordo com os Padrões de Identidade e Qualidade (PIQ) de Leites Fermentados, Resolução Nº 5, 13 de novembro de 2000 (BRASIL, 2000) a contagem total de bactérias lácticas viáveis deve ser no mínimo de 7LogUFC.mL^{-1} no produto final, durante todo o prazo de validade.

A legislação brasileira vigente exige que os leites fermentados apresentem uma contagem mínima de bactérias lácticas viáveis de 6LogUFC.mL^{-1} durante toda a sua vida de prateleira e que as condições de conservação e comercialização dessas bebidas não ultrapasse 10°C, para garantir essa viabilidade celular (BRASIL, 2004).

Com relação à cultura iniciadora *L. bulgaricus*, a contagem final apresentou valores inferiores ao estabelecido pela legislação. Ressalta-se que a legislação não separa os micro-organismos, portanto, na enumeração geral as amostras de iogurtes estavam de acordo com os padrões preconizados.

Estudos têm mostrado que as bactérias do iogurte (*S. thermophilus* e *L. bulgaricus*) sobrevivem bem no produto durante a vida de prateleira (DONKOR *et alii*, 2006). O *L. bulgaricus* é o principal responsável pela pós-acidificação dos iogurtes, mas por outro lado, contribui consideravelmente para a produção de compostos aromáticos, especialmente o acetaldeído, característico do iogurte (GUYOT, 1992).

De acordo com Tamime e Robinson (1991) o valor de pH implica na atividade metabólica das bactérias, podendo favorecer um determinado grupo, em detrimento do outro. No caso do iogurte, bactérias do gênero *Lactobacillus* crescem e toleram valores de pH mais baixos do que as pertencentes ao gênero *Streptococcus*.

Segundo Lourens-Hattingh e Viljoen (2001), uma excessiva pós-acidificação (acidificação indesejada ao produto) ocorre, principalmente, devido ao crescimento incontrolável de *L. bulgaricus* nas temperaturas de refrigeração e a baixos valores de pH. Portanto, as indústrias fabricantes de culturas lácticas fornecem culturas tradicionais de iogurte com uma menor concentração de *L. bulgaricus* e uma maior concentração de *S. thermophilus*. A redução na contagem de *L. bulgaricus* no produto final contribui para diminuir a pós-acidificação do iogurte durante a vida de prateleira. Isto é importante tanto para garantir ao produto final um sabor suave, quanto para evitar efeitos adversos do pH baixo sobre as bactérias probióticas (DAVE e SHAH, 1997b).

3.2 Determinação da população estimada das bactérias probióticas *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium spp.*

A contagem média das bactérias probióticas *B. lactis*, *B. Bb-12* e *L. acidophilus* em seus respectivos iogurtes (com e sem adição de polpa e farinha do albedo de maracujá no período do 1º ao 21º dia de armazenamento sob refrigeração, pode ser visualizada nas Figuras 6 e 7 e no **Apêndice 13**.

Através das análises realizadas, verificou-se que não houve diferença significativa ($p>0,05$) na viabilidade das bactérias probióticas *B. lactis* e *L. acidophilus* (**Apêndice 14** e **Apêndice 15**, respectivamente) dos iogurtes LABL e LABLM durante os dias de análise.

A cultura probiótica *B. lactis* apresentou crescimento satisfatório, com contagens em torno de 7LogUFC.mL^{-1} durante todo o período de análise, em ambos os tratamentos.

L. acidophilus foi considerada a cultura menos estável dentre os probióticos nos dois tratamentos. O iogurte LABL apresentou contagens acima de 7LogUFC.mL^{-1} no 1º dia, porém sua população reduziu de um ciclo logarítmico entre os 1º e 7º dias de análise, permanecendo com contagens acima de 6LogUFC.mL^{-1} . Do 14º ao 21º dia, *L. acidophilus* apresentou crescimento insatisfatório, sua população reduziu um ciclo logarítmico, permanecendo com valores em torno de 5LogUFC.mL^{-1} . Já no iogurte LABLM, *L. acidophilus* também apresentou algumas variações, sendo que contagens acima de 7LogUFC.mL^{-1} foram obtidas no 1º dia de análise, porém uma posterior redução de um ciclo logarítmico ocorreu entre os 7º e 14º dias. Essa diminuição foi igualmente repetida entre os 14º e 21º dias de análise, quando a população atingiu contagens acima de 5LogUFC.mL^{-1} .

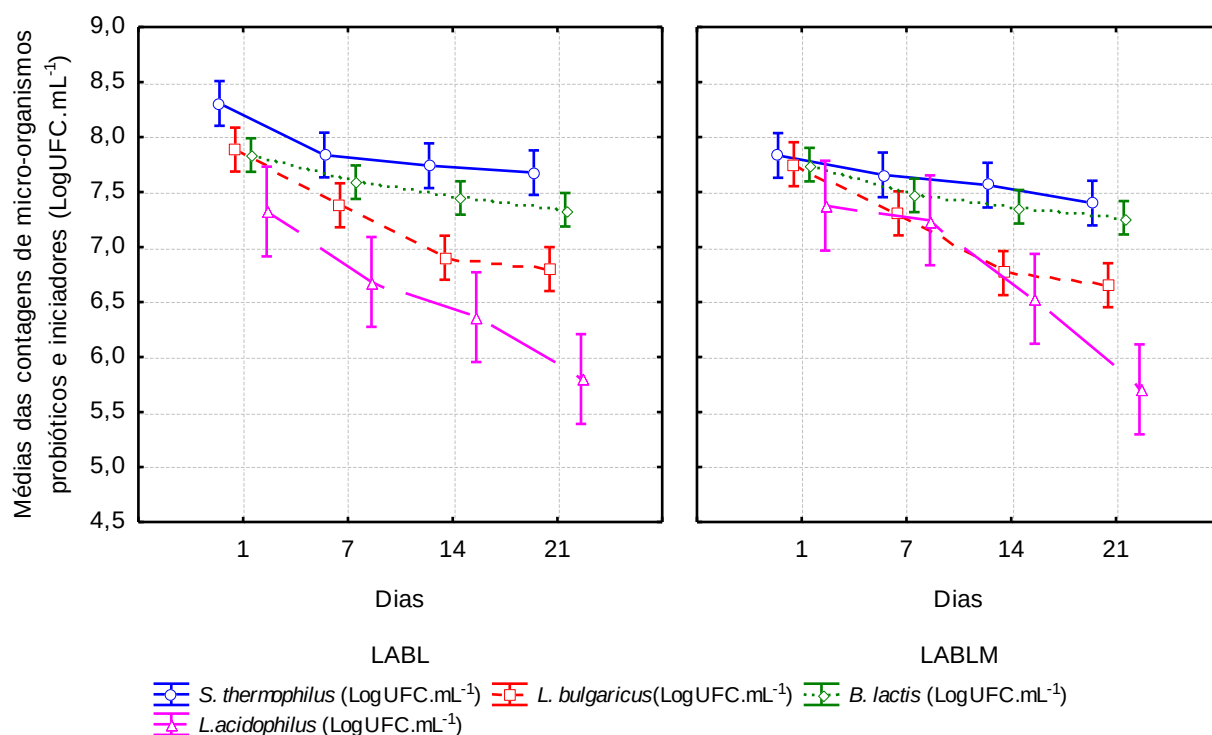


Figura 6: contagem média de viabilidade de *S. thermophilus*, *L. bulgaricus*, *B. lactis* e *L. acidophilus* nos iogurtes LABL e LABLM durante 21 dias de armazenamento sob refrigeração.

Constatou-se também que não houve diferença significativa ($p > 0,05$) na viabilidade de *B. Bb-12* e *L. acidophilus* (**Apêndice 16** e **Apêndice 17**, respectivamente) dos iogurtes SBLAM e SBLA nos períodos 1°, 7°, 14° e 21° dia de análise.

De todas as bactérias probióticas adicionadas, tanto em iogurtes com adição de polpa e farinha do albedo de maracujá quanto em iogurte sem adição de polpa e farinha do albedo de maracujá, a cultura *B. Bb-12* (SBLA) foi a que apresentou maior viabilidade até o 21° dia análise., com contagens de mais de 6LogUFC.mL^{-1} . Observou-se que a viabilidade de *B. Bb-12* em ambos os tratamentos (SBLA e SBLAM) foi semelhante até o 14° dia de análise, com populações em torno de 7LogUFC.mL^{-1} . Porém, no 21° dia, seu crescimento no iogurte SBLAM apresentou uma redução de um ciclo logarítmico, mantendo-se em torno de 6LogUFC.mL^{-1} . Resultados semelhantes foram encontrados por Silva (2007) em iogurtes probióticos com adição de prebióticos.

A contagem da cultura *L. acidophilus* nos dois iogurtes apresentou semelhança

durante todo o período de armazenamento. Apesar da diminuição de um ciclo logarítmico entre o 7° e 14° dia de análise, em ambos os tratamentos, esta cultura apresentou viabilidade até o 21° dia, mantendo-se em torno de $6 \text{ UFC} \cdot \text{mL}^{-1}$ nos iogurtes SBLA e SBLAM.

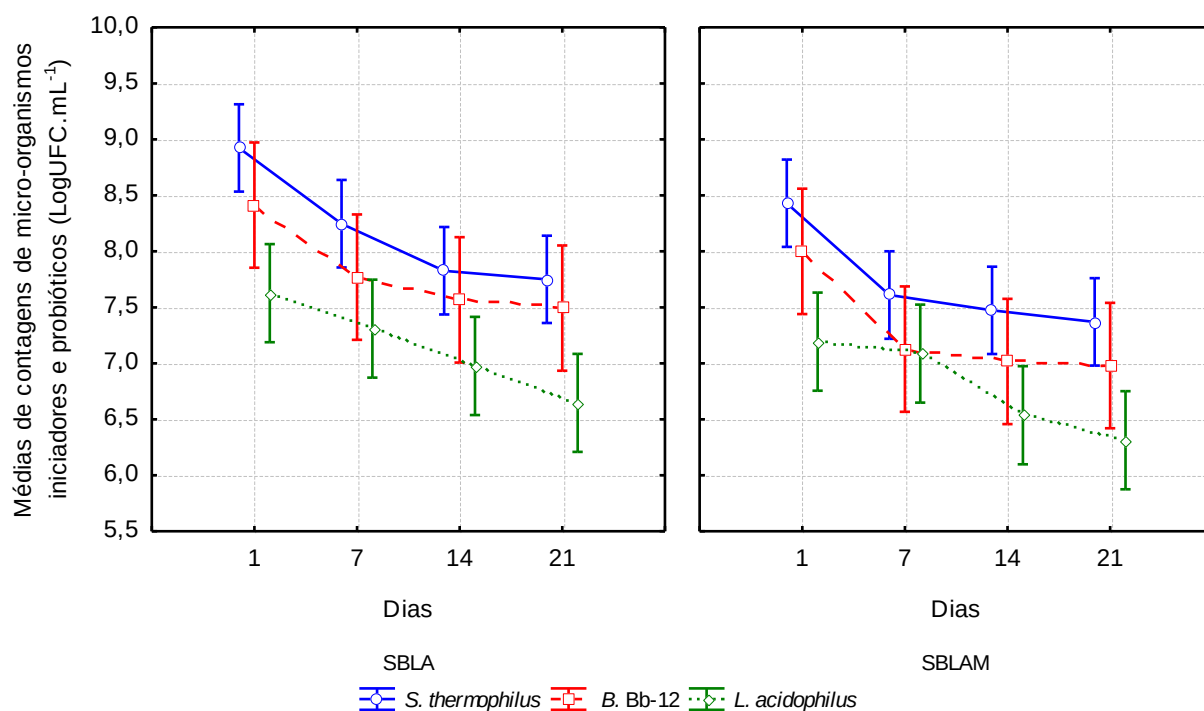


Figura 7: Contagem média de viabilidade de *S. thermophilus*, *L. acidophilus* e *B. Bb-12 lactis* nos iogurtes SBLA e SBLAM durante 21 dias de armazenamento sob refrigeração.

A atividade metabólica de *L. bulgaricus* e *S. thermophilus* durante a armazenagem resulta na produção de ácidos orgânicos que futuramente podem afetar a viabilidade das células probióticas (DONKOR *et al*, 2006). Embora *L. acidophilus* tolere a acidez, um rápido decréscimo no seu número foi observado nos iogurtes LABL e LABLM (ambos contendo as duas bactérias iniciadoras) quando comparado aos iogurtes SBLA e SBLAM (ambos contendo somente *S. thermophilus*), sendo que em LABL e LABLM a população de *L. acidophilus* atingiu valores próximos a $6 \text{ LogUFC} \cdot \text{mL}^{-1}$, contagem suficiente para promover efeitos terapêuticos à saúde do consumidor.

Resultados semelhantes foram encontrados também por Saccaro (2008) em leites fermentados contendo *L. acidophilus*, *B. lactis*, *S. thermophilus* e *L. bulgaricus*. Em seu experimento, *L. acidophilus* atingiu populações menores que 5LogUFC.mL^{-1} entre o 7° e 14° dia de armazenamento.

Resultados semelhantes à contagem de *B. lactis* foram encontrados por Kailasapathy (2008) em iogurtes adicionados de polpa de maracujá, porém em seus estudos a viabilidade de *L. acidophilus* mostrou-se superior em relação à *B. lactis*.

Zacarchenco e Massanguer-Roig (2004) constataram a redução de dois ciclos logarítmicos nas contagens de *L. acidophilus*, quando associado a *S. Thermophilus* e *B. longum*, ao final da estocagem do leite fermentado em cultura mista. Vinderola Mocchiutti e Reinheimer (2002) consideraram o *L. acidophilus*, a estirpe mais inibida no iogurte em cultura mista em relação às demais bactérias ácido lácticas avaliadas (*S. thermophilus*, *L. bulgaricus*, *Lactococcus lactis*, *L. casei* e *Bifidobacterium* spp.).

Gilliland e Speck (1977) consideram o peróxido de hidrogênio, substância resultante do metabolismo do *L. bulgaricus*, o principal agente responsável pela diminuição da viabilidade do *L. acidophilus* em cultura mista no iogurte. A partir desse resultado, esses pesquisadores concluíram que o iogurte não deve ser considerado um meio adequado para a inoculação de *L. acidophilus*, já que, devido ao longo período de estocagem, não é possível considerar que o *L. acidophilus* sobreviva em contagem suficiente para beneficiar a microbiota intestinal.

Segundo Mättö *et al.* (2006), *Bifidobacterium lactis* é a espécie mais utilizada em aplicações probióticas, já que o crescimento desse probiótico após fermentação fornece produtos com maior estabilidade durante estocagem.

Gueimonde *et al.* (2004), relataram que as linhagens de *B. lactis* são bastante utilizadas em produtos probióticos na Europa devido à grande resistência desta espécie em meios ácidos e sob condições de estresse oxidativo. Contudo, mesmo as bactérias *B. lactis* consideradas estáveis podem apresentar limitações e deficiências tecnológicas para aplicações na indústria (Mattila-Sandholm *et al.*, 2002). Por conta desses fatores, Yolanda (2007) sugere um método alternativo para aumentar a estabilidade e viabilidade das bifidobactérias, que pode ser desenvolvido através de aplicações prolongadas desse micro-organismo em meios altamente ácidos. As mudanças

fenotípicas e o aperfeiçoamento das propriedades biológicas estimularão o aumento da resistência de novas linhagens probióticas para utilização comercial.

Diante dos resultados obtidos constata-se que a adição de polpa e farinha do albedo de maracujá no iogurte não mostrou efeito negativo nem positivo sobre as bactérias probióticas, após 21 dias de armazenamento sob refrigeração.

4 Valores de pH e acidez expressa em graus Dornic (°D) durante o armazenamento sob refrigeração

Os valores médios de pH e acidez (°Dornic) dos iogurtes Y, YM, LABL, LABLM, SBLA, SBALM nos 21 dias de armazenamento, podem ser observados na Figura 8 e no **Apêndice 18**.

Verificou-se que houve diferença significativa ($p < 0,05$) nos valores de pH e acidez de todos os iogurtes durante o período de armazenamento. Foram constatadas diferenças significativas ($p < 0,05$, **Apêndice 19**) no 1° e 7° dia de armazenamento do iogurte YM em comparação com o iogurte Y, porém, não houve diferença significativa entre o 14° e 21° dia de análise nas mesmas condições.

A partir da análise realizada, pode-se inferir que a diminuição do pH do iogurte YM no 1° e 7° dia de análise foi mais acentuada em comparação com o iogurte Y e que no 14° e 21° dia de armazenamento o pH nos dois tratamentos apresentavam valores relativamente próximos.

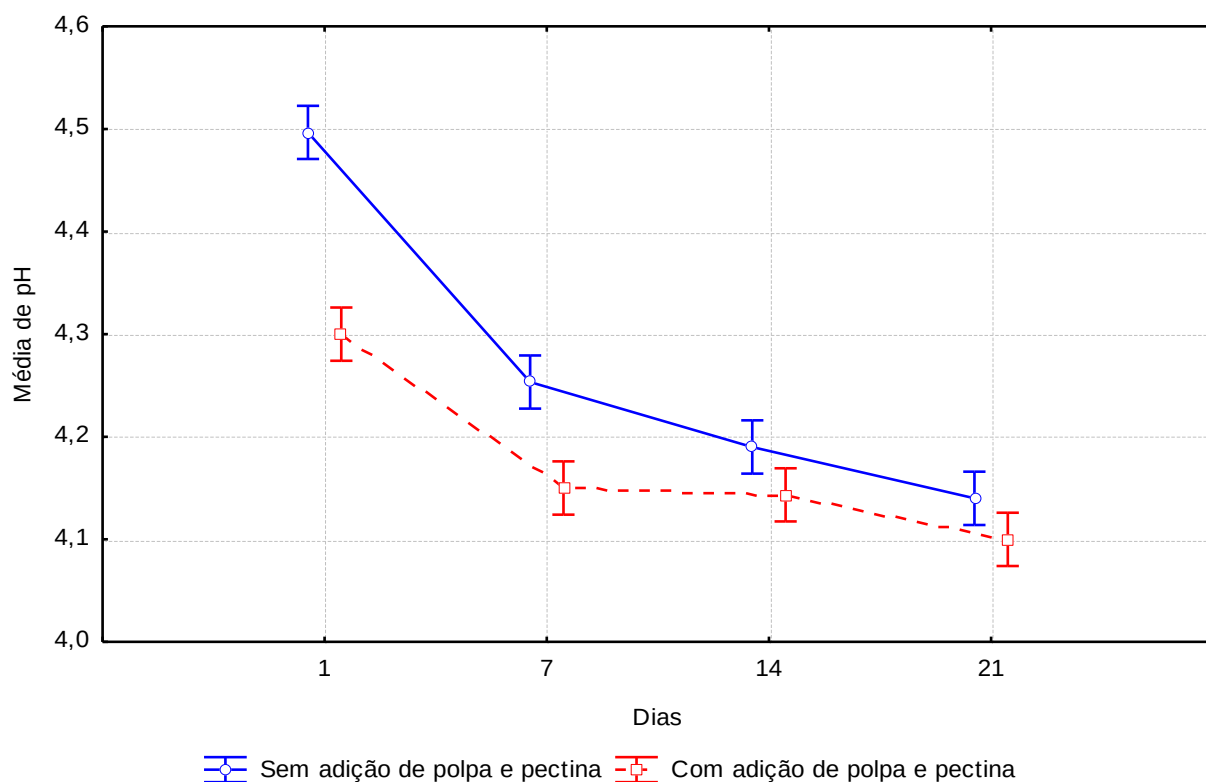


Figura 8: Valores médios de pH dos iogurtes Y e YM elaborados com culturas iniciadoras *S. thermophilus* e *L. bulgaricus* durante o armazenamento sob refrigeração.

Foram constatadas diferenças significativas ($p < 0,05$) da acidez do iogurte Y em comparação com o iogurte YM no 1º, 7º e 14º dia de armazenamento, porém não houve diferença significativa no 21º dia de análise. A partir da análise realizada, pode-se inferir que o aumento da acidez do iogurte YM foi mais significativo até o 14º dia de análise quando comparado ao iogurte Y (**Apêndice 20** e Figura 9).

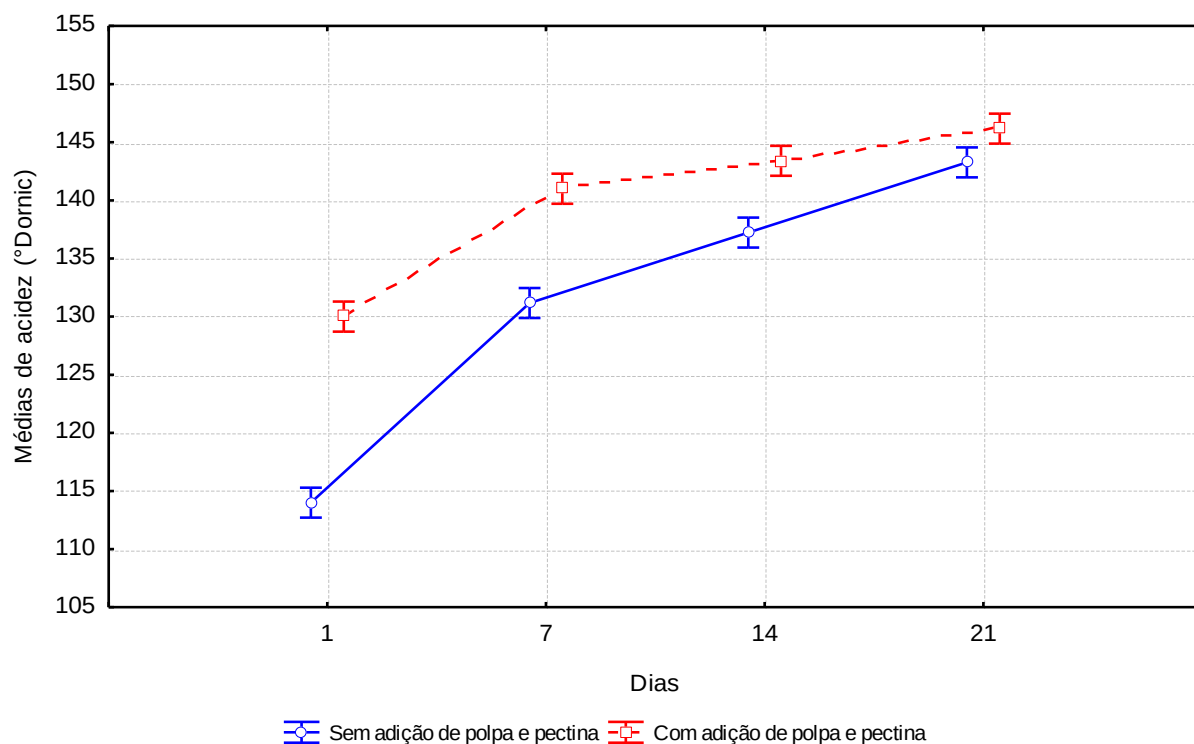


Figura 9: Valores médios de acidez expressos em °Dornic dos iogurtes Y e YM elaborados com culturas iniciadoras *S.thermophilus* e *L. bulgaricus* durante o armazenamento sob refrigeração.

Com relação aos valores de pH e acidez (**Apêndice 21** e **Apêndice 22**, respectivamente) de LABL e LABLM, verificou-se que houve diferença significativa ($p < 0,05$) nos 1°, 7°, 14° e 21° dias de análise (Figura 10). Pode-se inferir que o pH foi significativamente maior no iogurte LABL em comparação ao iogurte LABLM. Com relação à acidez, também houve diferença significativa entre os valores de acidez do iogurte LABL e do iogurte LABLM nos 1°, 7°, 14° e 21° dias de armazenamento. A partir dessa análise, pode-se inferir que os valores de acidez do iogurte LABLM foram superiores em relação aos valores de acidez do iogurte LABLA, quando comparados no 1°, 7°, 14° e 21° dia de armazenamento (Figura 11).

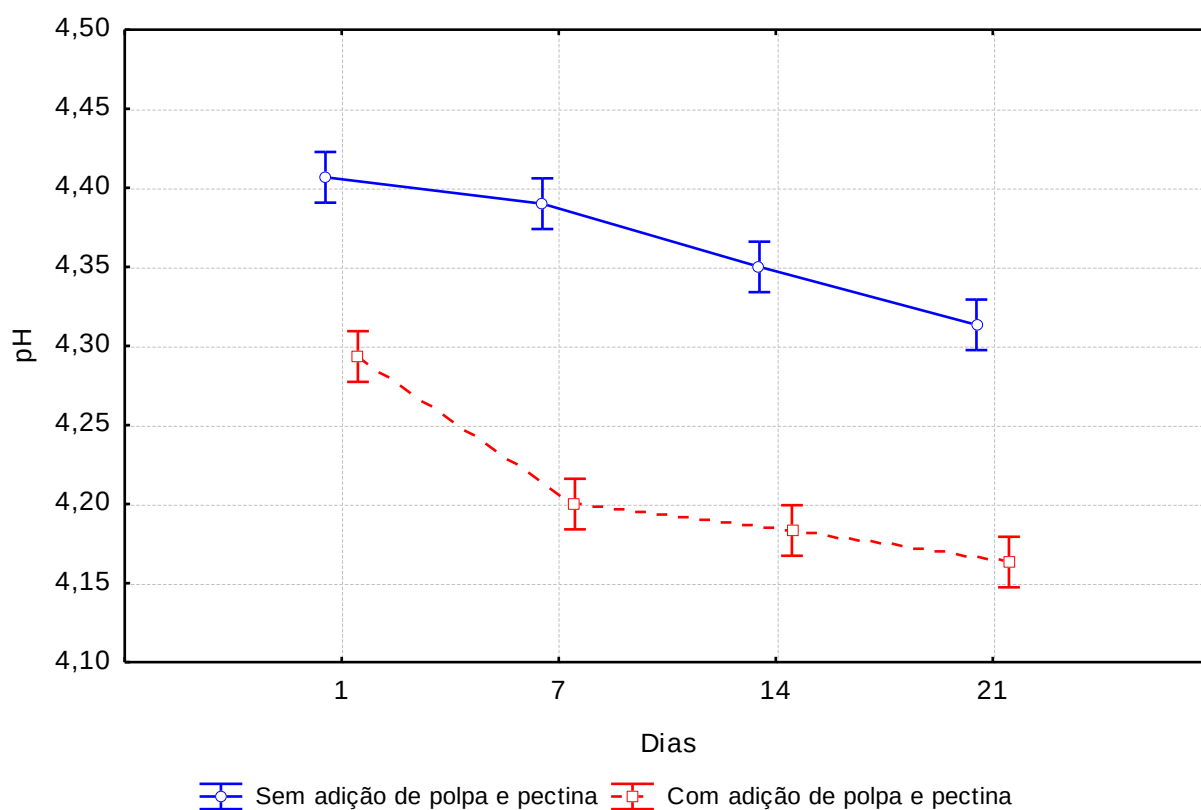


Figura 10: Valores médios de pH dos iogurtes LABL e LABLM elaborados com culturas iniciadoras *S. thermophilus* e *L. bulgaricus* e culturas probióticas *B. lactis* e *L. acidophilus* durante o armazenamento sob refrigeração.

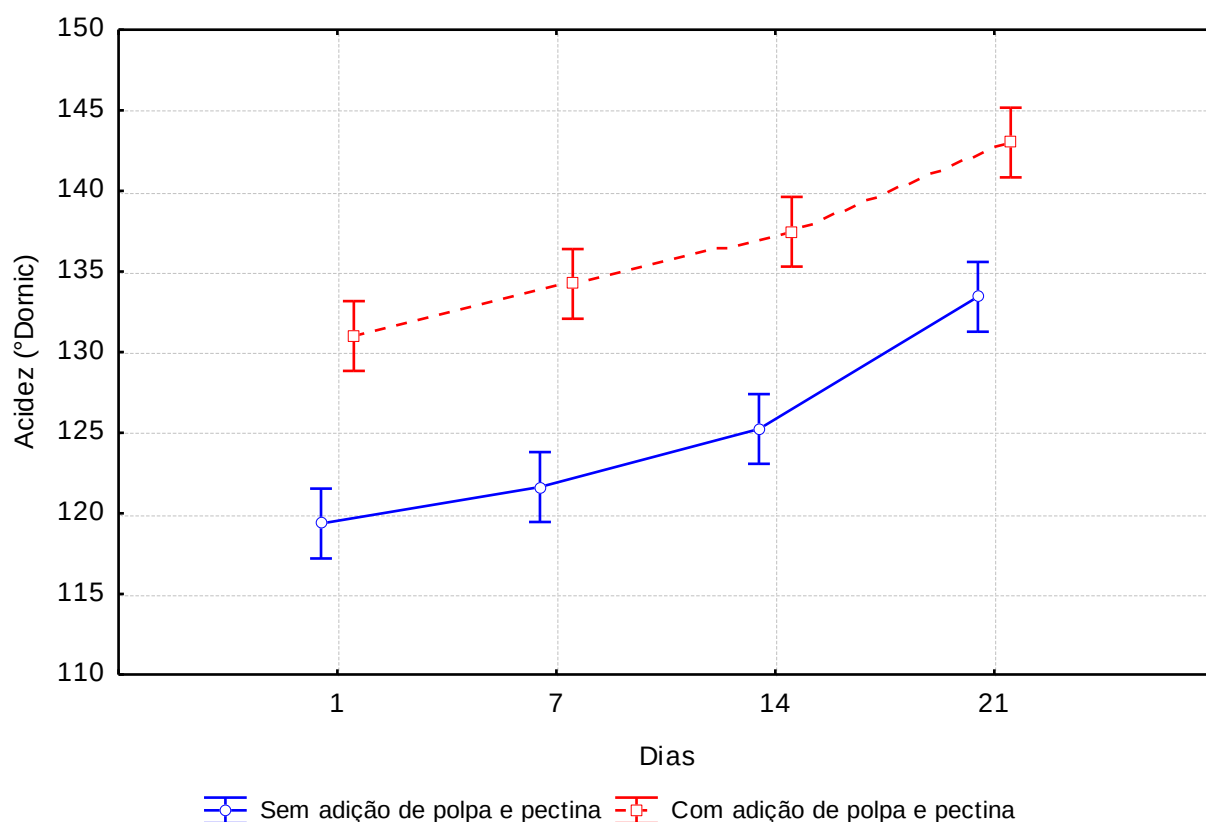


Figura 11: Valores médios de acidez expressos em °Dornic dos iogurtes LABL e LABLM elaborados com culturas iniciadoras *S. thermophilus* e *L. bulgaricus* e culturas probióticas *B. lactis* e *L. acidophilus* durante o armazenamento sob refrigeração.

Através das análises realizadas verificou-se que existe diferença significativa ($p < 0,05$, **Apêndice 23**) nos valores de pH nos iogurtes SBLA e SBLAM em todos os dias de análise (1°, 7°, 14° e 21°). A partir dessa análise, pode-se concluir que o pH do iogurte SBLAM foi significativamente inferior quando comparado ao iogurte SBLA em todos os dias de análise (Figura 12).

Com relação à acidez verificou-se que houve diferença significativa ($p < 0,05$, **(Apêndice 24)**) entre os valores de acidez dos iogurtes SBLA e SBLAM no 1°, 7° e 14° dia de análise. A partir do 21° dia de análise não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre a acidez do iogurte SBLA e SBLAM. A partir da análise realizada, pode-se inferir que a acidez do iogurte SBLAM foi significativamente superior, até o 14° dia de análise, em comparação ao iogurte SBLA. No 21° dia de análise, embora a acidez do iogurte SBLAM ainda permanecesse maior em relação ao iogurte SBLA, essa diferença não foi

significativa (Figura 13).

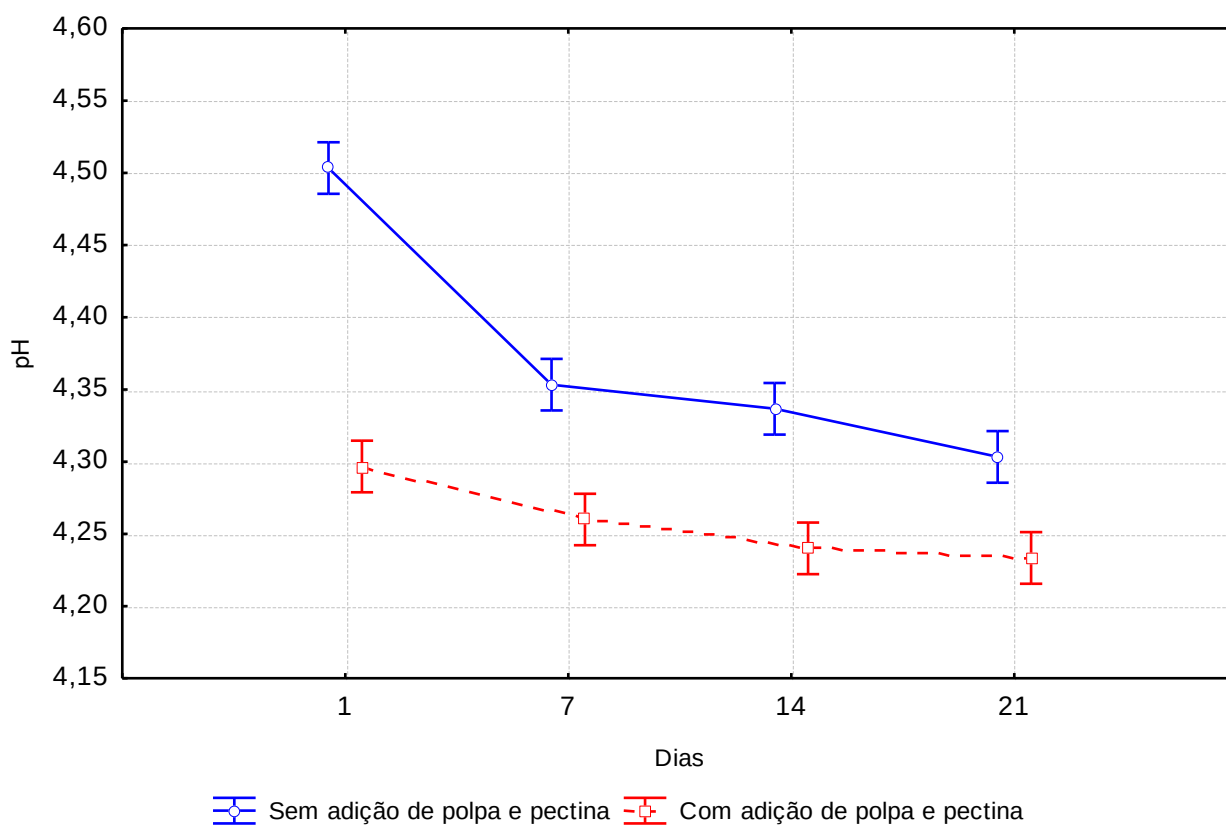


Figura 12: Valores médios de pH dos iogurtes SBLA e SBLAM elaborados com a cultura iniciadora *S. thermophilus* e culturas probióticas *B. Bb-12* e *L. acidophilus* durante o armazenamento sob refrigeração.

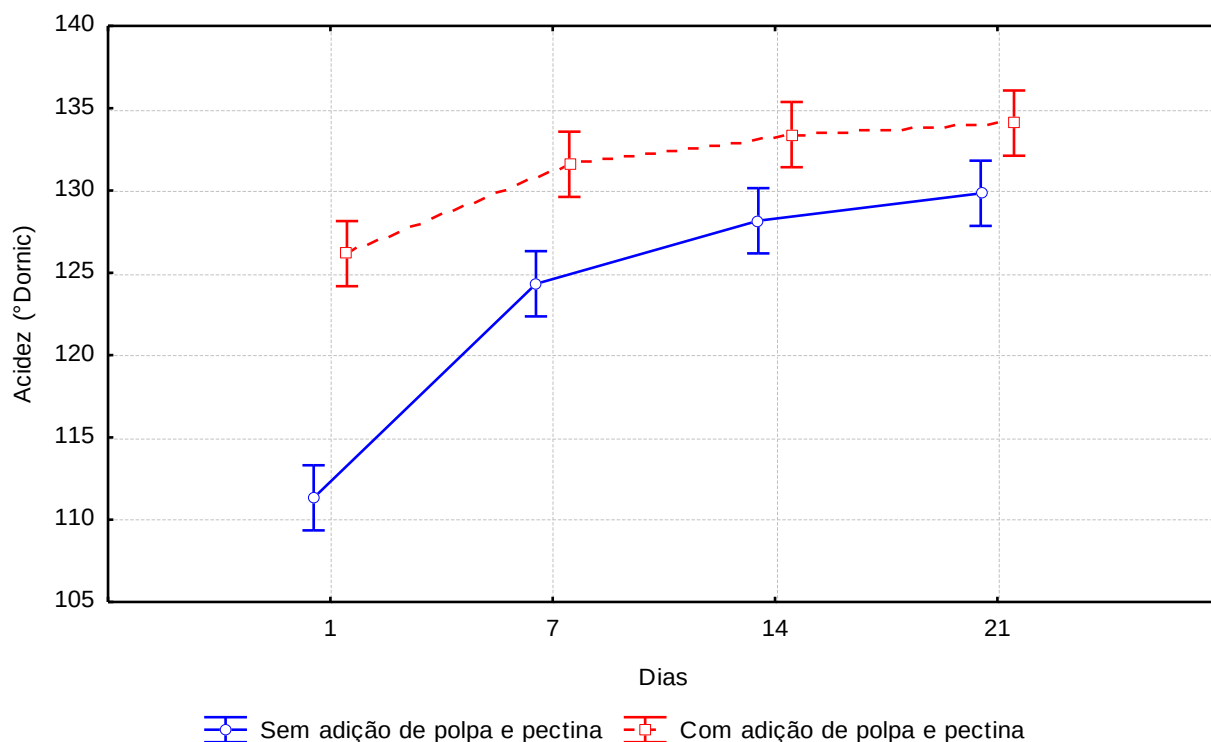


Figura 13: Valores médios de acidez expressos em °Dornic dos iogurtes SBLA e SBLAM elaborados com a cultura iniciadora *S. thermophilus* e culturas probióticas *B. Bb-12* e *L. acidophilus* durante o armazenamento sob refrigeração.

Ao comparar os valores de pH e acidez expressa em °Dornic obtidos no final da fermentação e os obtidos durante o período de estocagem, verificou-se que houve um decréscimo do valor de pH e aumento da acidez expressa em °Dornic durante o armazenamento refrigerado de todos os iogurtes devido à contínua produção de ácidos pelas bactérias lácticas. Nos iogurtes onde constava a adição de polpa de maracujá, esses valores eram mais relevantes.

Dos iogurtes probióticos, LABLM foi o iogurte que apresentou maior acidez, com valores de 143,00°D, porém quando comparado iogurte YM (146,17°D) apresentou acidez um pouco menor. Já o iogurte sem adição de polpa e farinha do albedo LABL atingiu valores superiores comparado ao iogurte Y.

A menor acidez constada foi a do iogurte SBLA, com valores de 129,8°D, pouco menor que o iogurte Y, que apresentou 130°D.

Com relação aos valores de pH, o iogurte LABLM apresentou o menor pH (4,16) de todos os iogurtes probióticos, porém não apresentou pH menor quando comparado

ao iogurte YM (4,10). Já o iogurte LABL apresentou o maior pH (4,31) entre os iogurtes probióticos e também quando comparado ao iogurte Y (4,14).

Segundo Beal *et al* (1999) os iogurtes estão sujeitos ao decréscimo de pH e aumento da acidez durante a estocagem refrigerada, isso devido à atividade das bactérias durante a estocagem do produto.

Estudos anteriores tem relatado que o fator mais importante que contribui na perda da viabilidade das células são a diminuição do pH durante o armazenamento (pós acidificação) e o acúmulo de ácidos orgânicos como produto de crescimento e fermentação (HOOD & ZOTTOLA, 1998; SHAH, 2000).

A atividade metabólica de *L. bulgaricus* e *S. thermophilus* durante a armazenagem resulta na produção de ácidos orgânicos que futuramente podem afetar a viabilidade das células probióticas (DONKOR *et alii*, 2006). Embora *L. acidophilus* tolere a acidez, um rápido decréscimo no seu número foi observado sob condições ácidas. Bifodobactérias não são tão tolerantes ao ácido quanto *L. acidophilus*; o crescimento dos últimos organismos cessa a um pH menor que 4,0, enquanto o crescimento de *Bifidobacterium* sp. é retardado a pH abaixo de 5,0 (SHAH & LANKAPUTHRA, 1997). No presente estudo aconteceu exatamente o contrário, a viabilidade de *Bifidobacterium* sp mostrou-se elevada em comparação a *L. acidophilus*.

5. Caracterização físico-química do iogurte

Os valores médios de umidade, gordura e cinzas dos iogurtes avaliados no 21º dia de armazenamento são apresentados na Tabela 6. Os valores encontrados foram inferiores ao de Cunha *et al.* (2009) em leite fermentado sem adição de soro de leite.

Tabela 6 - Valores de umidade, cinzas e gordura nos iogurtes, após 21 dias de armazenamento sob refrigeração.

Iogurte	Umidade (%)	Cinzas (%)	Gordura (%)
Y	77	0,81	3,05
YM	75	0,83	3,00
LABL	78	0,82	3,10
LABLM	77	0,80	3,2
SBLA	74	0,81	3,04
SBLAM	79	0,79	3,06

Os resultados de cinzas e umidade foram semelhantes ao encontrado por Silva (2007). Os percentuais de umidade e de cinzas teor de umidade apresentaram valores próximos aos estabelecidos para a principal matéria-prima do iogurte, o leite.

Quanto ao teor de gordura, os percentuais encontrados estão de acordo com a legislação brasileira em vigor que estabelece para iogurtes integrais uma faixa de 3,0 a 5,9% (BRASIL, 2000).

6. Determinação da viscosidade

Pela determinação da viscosidade todas as amostras de iogurte analisadas tiveram, conforme esperado, comportamento não Newtoniano. Os resultados podem ser vistos na Tabela 7.

Tabela 7 – Valores médios de viscosidade das amostras de iogurte a 15° C, expressa em mPa.s¹ em diferentes taxas de cisalhamento.

Amostras	Taxa de cisalhamento			
	10 s ⁻¹	30 s ⁻¹	60 s ⁻¹	100 s ⁻¹
Y	172	116	129	123
YM	80,5	57	67,3	94,3
LABL	260	236	218	179
LABLM	252	169	106	71,3
SBLA	474	382	262	186
SBLAM	229	159	67,7	51,0

A amostra de iogurte SBLA foi a mais viscosa ou consistente, em todas as taxas de cisalhamento. A amostras SBLAM, LABLM e LABL tiveram, na taxa de 10 s⁻¹, viscosidades equivalentes e que corresponderam à segunda maior viscosidade neste cisalhamento. Entretanto, tiveram comportamento diverso com aumento da viscosidade. Na amostra YM verificou-se a menor viscosidade, em todas as taxas de cisalhamento analisadas.

As amostras SBLAM, LABLM, YM e Y foram, inicialmente, as mais pseudoplásticas, ou seja, tiveram maior diminuição da viscosidade com o aumento da tensão de cisalhamento (Rodrigues, 1975); entretanto, com exceção da SBLAM e LABLM, não mantiveram este comportamento com o aumento da taxa de cisalhamento. Já a amostra LABL teve a menor pseudoplasticidade. A amostra SBLA, embora não tenha tido a maior pseudoplasticidade, manteve este comportamento durante toda a faixa de cisalhamento analisada, o que é importante, já que a faixa de cisalhamento em questão simula o que ocorre durante a mastigação e deglutição. Na amostra YM, no intervalo entre as taxas de 30 e 100 s⁻¹, verificou-se o indesejado comportamento dilatante, quando ocorre o aumento da viscosidade com o aumento da tensão de cisalhamento (Rodrigues, 1975). A influência da pseudoplasticidade sobre as qualidades sensoriais do produto está relacionada com a redução da viscosidade durante a mastigação, diminuindo a sensação de gomosidade, e possibilitando uma

melhor percepção do sabor (CHALLEN, 1993), características estas que potencializam a aceitação do produto. Deste modo, pode-se afirmar que a amostra SBLA apresentou os resultados mais desejáveis. Diferentes fatores tecnológicos influenciam as propriedades reológicas dos iogurtes como: (a) fatores envolvidos durante a preparação da base láctea e seu tratamento térmico; (b) temperatura de incubação e tipo de cultura empregada e (c) processo de resfriamento (Penn; Convert; Oliveira, 2006)

Conclui-se que a amostra SBLA, foi a mais viscosa ou consistente, tendo comportamento pseudoplástico em toda faixa de cisalhamento analisada.

Entre os tratamentos observou-se que todos os tratamentos adicionados de polpa e farinha do albedo de maracujá, apresentaram menores valores de viscosidade. Segundo Garcês (1968) uma das alterações que se pode observar nos produtos elaborados à base de frutas é a textura. Essa alteração é originada geralmente pela ação de enzimas hidrolíticas da pectina, especialmente a pectinesterase.

7. Determinação da sinérese

A sinérese espontânea é o produto da contração de um gel sem a aplicação de uma força externa e está relacionada com a instabilidade da rede do gel (por exemplo, rearranjos em grande escala) resultando na perda da habilidade de reter a fase aquosa (LUCEY, 2002).

As variações no perfil de sinérese dos iogurtes, em função da adição ou não de polpa e farinha do albedo de maracujá e das combinações das bactérias probióticas podem ser observadas na Tabela 8 e Figura 14.

Tabela 8 – Índice de sinérese nas amostras de iogurte.

Iogurte	Sinérese (%)					
	Y	YM	LABL	LABLM	SBLA	SBLAM
Média	16,40	17,29	9,65	11,29	14,84	16,69

De acordo com as análises realizadas, verificou-se que houve diferença significativa ($p < 0,005$ **Apêndice 25** e **Apêndice 26**) do índice de sinérese entre o iogurte YM e o iogurte LABL no 21º dia de armazenamento. Pode-se inferir que o índice de sinérese do iogurte YM é superior em relação ao iogurte LABL, o que significa que LABL apresentou capacidade de retenção de soro significativamente maior, pois apresentou índices de sinérese menor.

Os iogurtes onde constava a adição de bactérias probióticas, o índice de sinérese apresentou-se menor quando comparado ao iogurte sem adição de bactérias probióticas, tal fato pode estar relacionado com a temperatura de incubação, já que a temperatura de incubação dos iogurtes probióticos era de 37°C e 42°C para os iogurtes sem probióticos. Em todos os tratamentos o índice de sinérese apresentou resultados inferiores ao de Landim (2011) em bebidas lácteas com adição de diversos tipos de espessantes.

As propriedades físicas do iogurte, incluindo a separação do soro (sinérese), apresentam um papel importante na qualidade do produto e aceitação pelo consumidor. A separação do soro na superfície do produto é considerada o principal defeito na produção do iogurte (SANDOVAL-CASTILLA et al., 2004). As causas mais comuns para a ocorrência da sinérese incluem a utilização de alta temperatura de incubação, altas concentrações de proteínas do soro em relação às caseínas, baixa concentração de sólidos totais e alteração física do produto durante o armazenamento e distribuição (LUCEY, 2004). Para evitar este tipo de problema, pode-se realizar o enriquecimento do conteúdo de matéria seca e/ou do conteúdo protéico do leite antes da fermentação (LORENZEN et al., 2002).

Apesar de Walsh-o'grady et. al., (2001) e Lee e Lucey (2004) relatarem que as causas da sinérese ainda não são bem compreendidas, este defeito poderia ser creditado à ação conjunta de vários fatores. Portanto, resultados relativos à sinérese são influenciados conjuntamente pelo tipo de matéria-prima (González-Martínez et. al., 2002; Bertrand e Turgeon, 2007), tipo de proteína presente (Piyasena e Chambers, 2003; Sodini et. al., 2006), pelos valores do pH (Piyasena e Chambers, 2003) e da acidez (Güler-Akin e Akin, 2007) apresentados pelas bebidas lácteas avaliadas.

As bactérias ácido lácticas utilizadas em produtos lácteos sintetizam ácidos graxos de cadeia curta, vitaminas e exopolissacarídeos (EPS) (SHENE e BRAVO, 2006), sendo que EPS tem uma importante função como agente natural para melhorar a reologia de produto fermentado, como estabilizador físico e para reter água e limitar a sinérese (DUBOC e BEA, 2001).

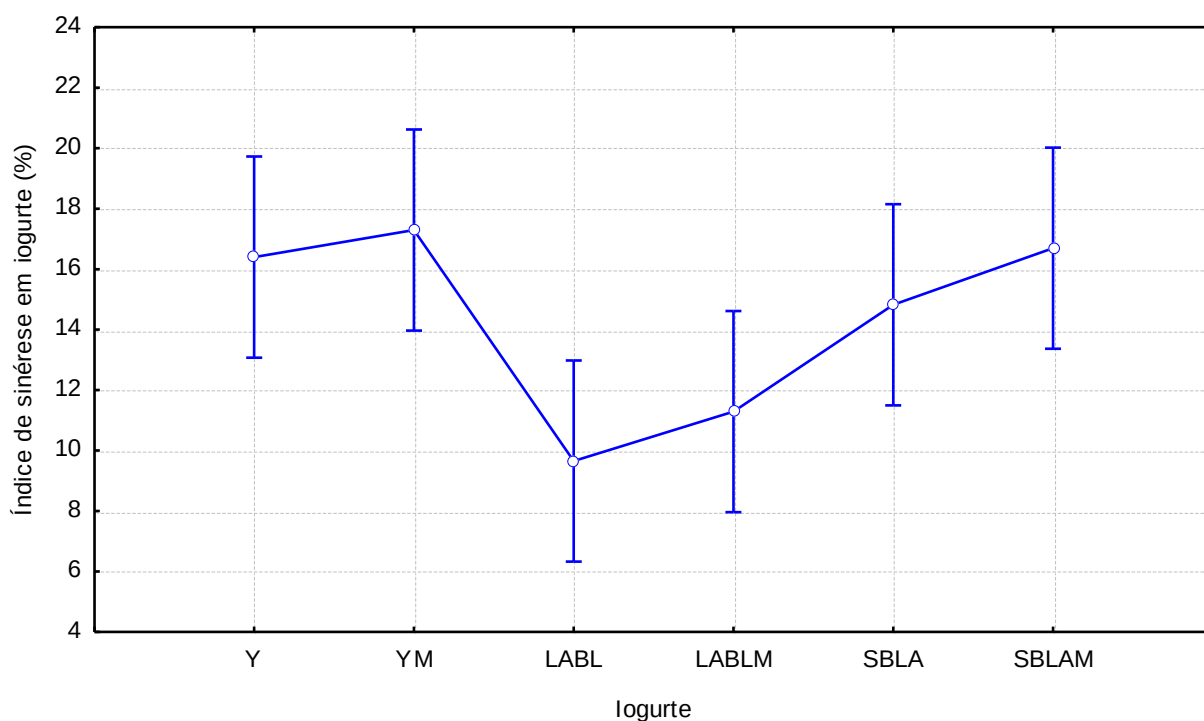


Figura 14 – Valores médios de índice de sinérese dos iogurtes Y, YM, LABL, LABLM, SBLA e SBLAM no 21º dia de análise.

8 Determinação da atividade antioxidante

Os valores médios de atividade antioxidante da polpa de maracujá e dos iogurtes podem ser observados na figura 15.

Não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre a atividade antioxidante dos iogurtes com adição de polpa e farinha do albedo de maracujá e dos iogurtes sem adição de polpa e farinha do albedo de maracujá. A partir dessa análise, pode-se inferir

que a adição de polpa de maracujá nos iogurtes YM, LABLM e SBLAM não interferiu significativamente na atividade antioxidante.

Para obter uma quantidade significativa de atividade antioxidante nos iogurtes adicionados de polpa e farinha do albedo de maracujá, recomenda-se adicionar um percentual acima de 6%, já que esse percentual apresentou baixos valores de atividade antioxidante no iogurte quando comparado à atividade antioxidante da polpa. Porém deve-se levar em consideração o pH e a acidez final do iogurte.

A título de comparação, não foram encontrados trabalhos onde comparava-se a atividade antioxidante entre polpa de frutas *in natura* e produtos adicionados das mesmas.

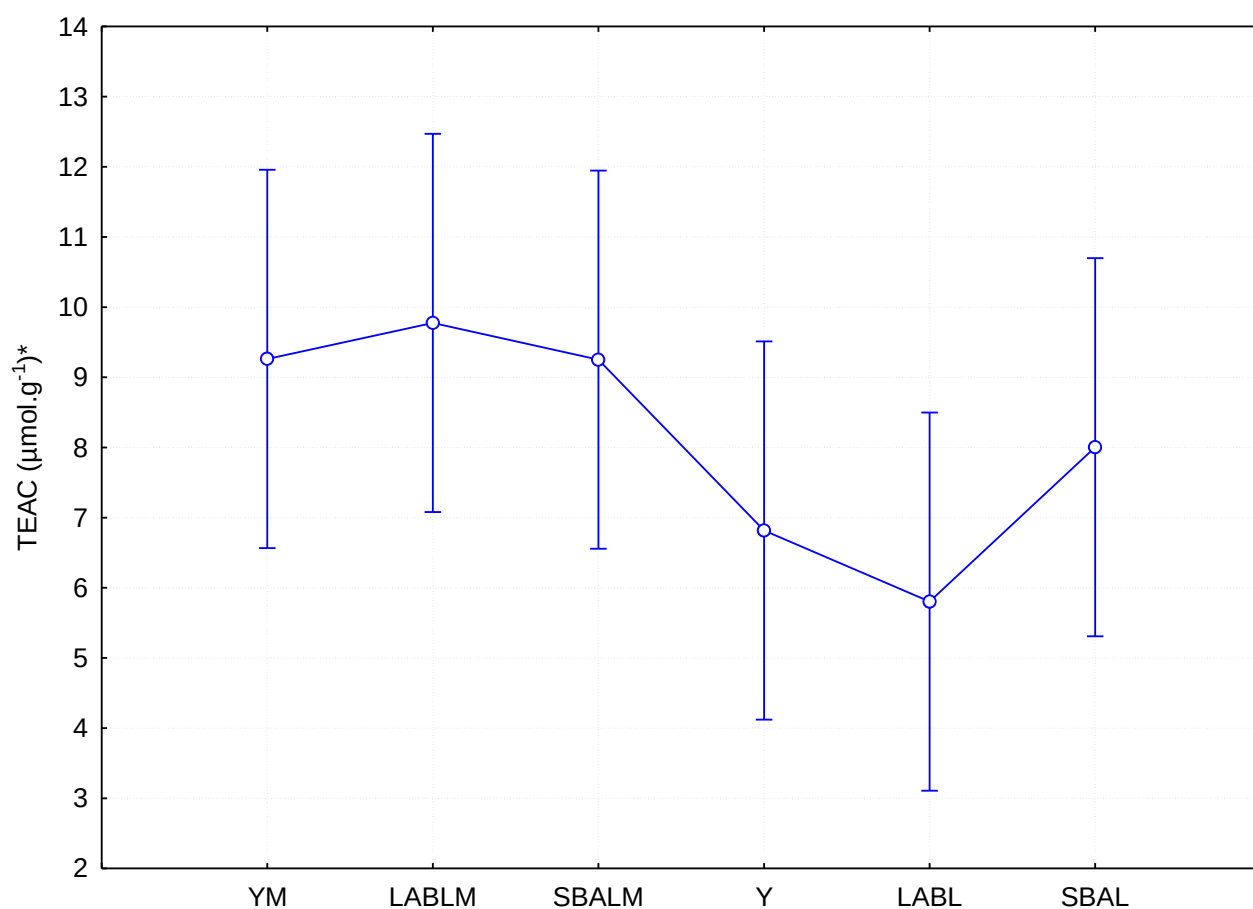


Figura 15: Atividade antioxidante de polpa de maracujá *in natura* e dos iogurtes YM, LABLM, SBLAM, Y, LABL e SBLA no 21º dia de armazenamento sob refrigeração.

*Atividade antioxidante equivalente ao Trolox

9 Análises microbiológicas do iogurte

Na pesquisa de coliformes totais e termotolerantes no iogurte SBLAM, não foi observada presença de gás em nenhum dos tubos contendo caldo Lauril Sulfato de Sódio com tubos de Durhan invertidos. Por isso, somente a Prova Presuntiva foi realizada durante essa análise.

Os resultados obtidos indicam ausência de coliformes totais e termotolerantes no iogurte no segundo dia de estocagem sob refrigeração. Tais resultados indicam qualidade higiênica satisfatória durante todo o processo de produção e armazenamento do iogurte, obtendo assim qualidade microbiológica exigida pela Instrução Normativa nº 46 (Brasil, 2007) que estabelece como critério microbiológico para iogurtes no momento da produção, um limite máximo de coliformes a 45°C de até 10 NMP/g (Número Mais Provável) e de 100 NMP/g para coliformes a 30°C/g e RDC nº 12 (BRASIL, 2001) que estabelece que o iogurte não pode conter mais que 10 NMP/g de coliformes termotolerantes.

Com relação à pesquisa de bolores e leveduras, não foi observado crescimento nas placas, indicando ausência de bolores e leveduras no iogurte no segundo dia após a fermentação e qualidade exigida pela Instrução Normativa nº 46 (Brasil, 2007), que permite até duas amostras entre cinco com contagens entre 50 a 200 UFC/g e demonstraram que não ocorreu contaminação ambiental ou por manipulação com esses micro-organismos.

10 Avaliação sensorial

Na Figura 16 estão os valores médios de cor, aroma, sabor, consistência e impressão global do iogurte SBLAM atribuídos pelos provadores.

A partir da ANOVA verificou-se que houve diferença significativa ($p < 0,05$) em relação aos atributos sensoriais avaliados no iogurte SBLAM. Verificou-se que a consistência diferiu significativamente ($p < 0,05$, **Apêndice 27**) entre os atributos impressão global, sabor e cor e não diferiu significativamente entre o aroma ($p > 0,05$). Através dos resultados obtidos, pode-se inferir que a consistência e o aroma foram os atributos sensoriais com menor aceitação pelos provadores.

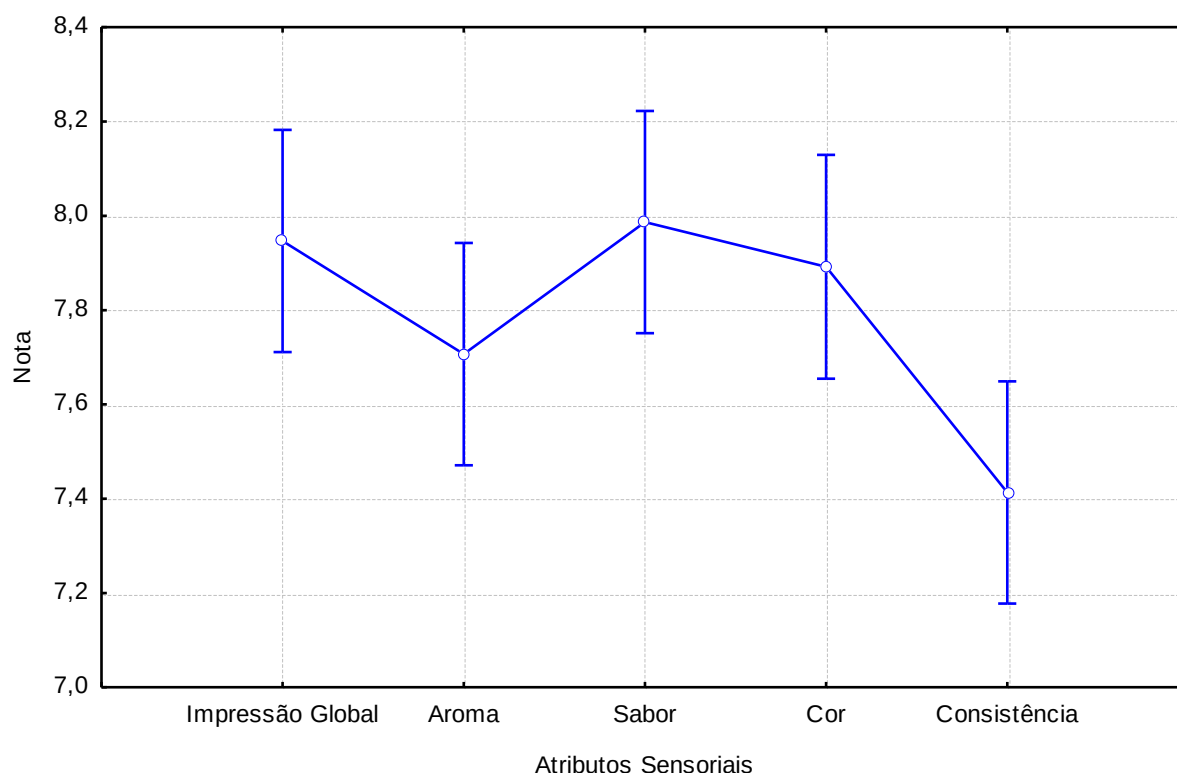


Figura 16 - Valores médios dos atributos sensoriais cor, aroma, sabor, consistência e impressão global do iogurte SBLAM.

Os valores médios das notas apresentadas para os diferentes atributos avaliados foram correspondentes a gostei moderadamente/gostei muito, sendo o sabor o atributo sensorial com a maior média (7,99), seguido de impressão global (7,95), cor (7,89), aroma (7,71) e por último a consistência (7,41).

De acordo com os resultados obtidos na análise sensorial constatou-se que o iogurte com polpa e farinha do albedo de maracujá elaborado com culturas probióticas teve boa aceitação pelos provadores.

A análise sensorial é efetiva no controle de qualidade de produtos alimentícios, prevendo a aceitação ou rejeição destes produtos pelo público consumidor, definindo o seu sucesso ou insucesso mercadológico (FERREIRA *et. al.*, 2000).

O corpo do iogurte é devido, principalmente aos ingredientes acrescentados durante o processo de fabricação. Deve possuir suficiente viscosidade para resistir ao manuseio normal durante todo o processo e armazenamento. A contração do coágulo e a separação do soro durante o envase são considerados defeitos do corpo. A separação do soro não é apenas prejuízo na aparência visual, mas também revela problemas de corpo e textura do produto (PINHEIRO, 2003).

A aparência global é traduzida pelo “conjunto”, relativa à primeira impressão causada pelo produto como um todo, sem representar a média das notas das outras características avaliadas.

O sabor e aroma do iogurte dependem inteiramente da cultura e de seu metabolismo durante a fermentação. Sabores e odores estranhos são geralmente causados por subprodutos da fermentação inadequada. Estes atributos devem-se ao ácido láctico e em quantidades muito pequenas de acetaldeído, diacetil e ácido acético e dependem também do tipo e da qualidade dos ingredientes utilizados na mistura do iogurte, do tempo e da temperatura de fermentação (VEDAMUTHU, 1991b).

De acordo com os resultados obtidos na análise sensorial constatou-se que o iogurte com polpa e farinha do albedo de maracujá elaborado com culturas probióticas teve boa aceitação pelos provadores.

CONCLUSÃO

Através dessa pesquisa foi possível concluir que:

- A viabilidade das culturas probióticas durante o armazenamento apresentou-se em conformidade com a Legislação vigente, porém, *L. acidophilus* quando em combinação com *Bifidobacterium* Bb-12 e *L. bulgaricus* apresentou contagens maiores quando comparado em combinação com *B. lactis* e as bactérias iniciadoras, demonstrando dificuldades de crescimento. Já as bactérias do gênero *Bifidobacterium* apresentaram contagens elevadas em todos os iogurtes probióticos;
- A adição de polpa e farinha do albedo de maracujá não afetou significativamente a viabilidade das culturas probióticas;
- A adição de polpa e farinha do albedo de maracujá afetou significativamente os valores de pH e acidez, porém não interferiu nos valores de proteína, gordura, cinzas e umidade. Já a viscosidade e o índice de sinérese podem ter sido influenciados pela adição de polpa e farinha do albedo de maracujá devido à mudança do pH dos iogurtes.
- A adição de 6% de polpa de maracujá no iogurte não apresentou diferença significativa para manter uma atividade antioxidante elevada no iogurte em comparação à polpa *in natura*;
- Com relação à análise sensorial, o iogurte com polpa e farinha do albedo de maracujá adicionado de bactérias probióticas teve boa aceitação pelos consumidores, sendo o sabor o atributo sensorial com maior média.

REFERÊNCIAS

- ADAM, A. C.; TEIXEIRA, M. R.; POLAINA, J. Lactose: The Milk Sugar from a Biotechnological Perspective. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.44, p.553–557, 2004.
- ADOLFSSON, O.; MEYDANI, S. N.; RUSSEL, R. M. Yogurt and gut function. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 80, n. 2, p. 245-256, 2004.
- AHMAD, C.; NATASCHA, C. HAIQIN, C.; JIANXIN, Z; JIAN, T.; HAO, Z; WEI, C. Bifidin I - A new bacteriocin produced by *Bifidobacterium infantis* BCRC 14602: Purification and partial amino acid sequence. **Food control**, v.21, p.746-753, 2010.
- ALANDER, M.; MÄTTÖ, J.; KNEIFEL, W.; JOHANSSON, M. KÖGLER, B. CRITTENDEN, R.; MATTILA-SANDHOLM, T.; SAARELA, M. Effect of galacto-oligosaccharide supplementation on human faecal microflora and on survival persistence of *Bifidobacterium lactis* Bb-12 in the gastrointestinal tract. **International Dairy Journal**, v.11, p.817-825, 2001.
- ANAL, A. K.; SINGH, H. Recent advances in microencapsulation of probiotics for industrial applications and targeted delivery. *Trends in Food Science & Technology*, v.18, p.240-251, 2007.
- ANTUNES, L. A. F. Micro-organismos probióticos e alimentos funcionais. **Indústria de Laticínios**, v. 6, n. 34, p. 30-34, 2001.
- ANTUNES, A. E. C.; MARASCA, E. T. G.; MORENO, I.; DOURADO, F.M.; RODRIGUES, L. G.; LERAYER, A. L. S. Desenvolvimento de buttermilk. **Ciência e Tecnologia de Alimentos. Campinas**, v. 27, n.1, p. 83-90, 2007.
- APHA-AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Standard methods for examination of dairy products**. Marshall, R.T. Ed. 16 th ed. Washington: APHA, 1992. 543p.
- ARUNACHALAM, K. D. Role of bifidobacteria in nutrition, medicine and technology. **Nutrition Research**, v. 19, n. 10, p. 1559-1597, 1999.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of Analysis of AOAC International**. 16. ed. Washington, 1995. v.1-2.
- ATHERTON, H. V.; NEWLANDER, J. A. Chemistry and testing of dairy products. 4a ed. Westport: Avi Publishing Company Inc., 1977. 388p.

AWAISHEH, S. S.; HADDADIN, M. S. Y.; ROBINSON, R. K. Incorporation of selected nutraceuticals and probiotic bacteria into fermented milk. **International Dairy Journal**, v. 15, p. 1184-1190, 2005.

BEAL, C. et al. Combined effects of culture conditions and storage time on acidification and viscosity of stirred yogurt. **Journal of Dairy Science**, v. 82, n. 4, p. 673-681, 1999.

BEHRENS, J. H.; ROIG, S. M.; SILVA, M. A. P. Aspectos de funcionalidade, de rotulagem e de aceitação de extrato hidrossolúvel de soja fermentado e culturas lácteas probióticas. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 34, n. 2, p. 99-106, 2000.

BERNADEAU, M. et al. Safety assessment of dairy microorganisms: The *Lactobacillus* genus. **International Journal of Food Microbiology**, v. 126, p.278-285, 2008.

BERTRAND, M.; TURGEON, S. L. Improved gelling properties of whey protein isolate by addition of xanthan gum. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 21, n. 2, p. 159-166, 2007.

BIELECKA, M.; BIEDRZYCKA, E.; MAJKOWSKA, A. Selection of probiotics and prebiotics for synbiotics and confirmation of their *in vivo* effectiveness. **Food Res. Int.**, Amsterdam, v.35, n.2/3, p.125-131, 2002.

BOBBIO, F.Q BOBBIO,P.A. **Introdução a química de alimentos**. 2ª ed. São Paulo, Varela, 1992, p.61-64.

BRANCO et al. **Identification and *in vitro* production of *Lactobacillus* antagonists from women with or without bacterial vaginosis**. *Braz J Med Biol Res*. v. 43, n. 4, p. 338-344, 2010.

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

BRASIL, Anvisa – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Alimentos. **Alimentos com alegações de propriedades funcionais e ou de saúde, novos alimentos/ingredientes, substâncias bioativas e probióticos**. Atualizado em agosto de 2007. IX – Lista das alegações de propriedades funcionais aprovadas. Disponível em:<http://anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno_lista_alega.htm>. Acesso em: 09 dez. 2009.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 46 de 23 de outubro de 2007. Regulamento técnico de identidade e qualidade de leites fermentados. **Diário Oficial [da] União**, Brasília, DF, 24 out. 2007. Seção I, p.5.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Instrução

Normativa nº.46 de 23/10/2007. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados. Brasília, 2007.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa nº 68, de 12 de dezembro de 2006. **Métodos Analíticos Oficiais Físico-Químicos para Controle de Leite e Produtos Lácteos**. DOU 14 de dezembro de 2006.

BRASIL, Portaria 71. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regulamento Técnico de identidade e qualidade de bebidas lácteas**. Diário Oficial da União de 21/09/2004.

BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução – RDC n.12, 2 de janeiro de 2001. Revoga Portaria n. 451, de 19 de setembro de 1997. **Diário Oficial [da] União**, Brasília, DF, 2 jul. 1998. Seção I, p. 1- 48.

BRASIL, Leis, Decretos, etc. Instrução Normativa nº 1, de 7 de Jan. 2000, do Ministério da Agricultura. **Diário Oficial da União**, Brasília, n. 6, 10 Jan. Seção I, p. 54-58. [Aprova os Regulamentos Técnicos para fixação dos padrões de identidade e qualidade para polpas e sucos de frutas].

BRASIL, Ministério Da Agricultura e Do Abastecimento. Secretaria De Defesa Agropecuária. Departamento De Inspeção De Produtos De Origem Animal. **Padrões de Identidade e Qualidade (PIQ) de Leites Fermentados**, Resolução Nº 5, 13 de novembro de 2000. Disponível em: www.agricultura.gov.br/sislegis.

BROEK, L. A. M.; HINZ, S. W. A.; BELDMAN, G.; VINCKEN, J. P.; VORAGEN, A. G. J. *Bifidobacterium* carbohydrases- their role in breakdown and synthesis of (potential) prebiotics. **Molecular Nutrition & Food Research**, v.52, p.146-163, 2008.

CABRAL, L.M. C; FREIRE JUNIOR, M; MATTA, V.M. **Tecnologia de bebidas**.1ª ed, São Paulo, Edgard Blücher, 2005, p.293- 309.

CARVALHO-OKANO, R. M., & Vieira, M. F. (2001). Morfologia externa e taxonomia. In C. H. Bruckner & M. C. Picanço (Eds.), Maracujá. **Tecnologia de produção, pós-colheita, agroindústria, mercado** (pp. 33–49). Porto Alegre: Cinco Continentes.

CENCI-GOGA, B. T. *et al.* Use of starter culture of dairy origin in the production of *salame nostrano*, and Italian dry-cured sausage. **Meat Science**, v.78, p.381-390, 2008.

CENTEC. Instituto Centro de Ensino Tecnológico. **Produtos de Maracujá**. 2ª ed. Fortaleza, Demócrito Rocha, 2004.

CHALLENG, I. A. Xanthan gum: a multifunctional stabilizer for food products. In: NISHINARI, K.; DOI, E. **Food Hydrocolloids: Structure, Properties, and Functions**. New York: Plenum Press, 1993, p.135-140.

CHEN, X. Y. *et al.* **The S-layer proteins of *Lactobacillus crispatus* strain ZJ001 is responsible for competitive exclusion against *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella typhimurium*.** *International Journal of Food Microbiology*, v. 115, n. 3, p. 307-312, Apr 2007.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio.** Lavras: UFLA, 2005, 785p.

COLLINS, J.K.; THORNTON, G.; SULLIVAN, G.O. Selection of probiotic strains for human applications. *Int. Dairy J.*, Amsterdam, v.8, p.487-490, 1998.

COLLINS, E. B.; HALL, J.B. Growth of bifidobacteria in milk and preparation of *B. infantis* for a dietary adjunct. **Journal of Dairy Science**, v. 67, n. 7, p. 1376-1380, 1984.

COLLINS, E. B.; ARAMAKI, K. Production of hydrogen peroxide by *Lactobacillus acidophilus*. **Journal of Dairy Science**, v. 62, p. 353, 1980.

CORDOVA, K. R. V.; GAMA T. M. M. T. B.; WINTER C. M. G.; KASKANTZIS NETO G.; FREITAS R. J. S. Características físico-químicas da casca do maracujá-amarelo (*Passiflora edulis Flavicarpa Degener*) obtida por secagem. **Boletim do CEPPA**. Curitiba, v. 23, n. 2, p. 221-230, jan./jun. 2005.

CHARTERIS, W. P. **Development and application of an *in vitro* methodology to determine the transit tolerance of potentially probiotic *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* species in the upper human gastrointestinal tract.** *Journal of Applied Microbiology*, v. 84, n. 5, p. 759-768, 1998.

CHAU, C.F.; HUANG, Y.L. Characterization of passion fruit seed fibres: a potential fibre source. *Food Chemistry, China*, v. 85, p. 189-194, 2004.

CHEFTEL, J.C; CHEFTEL,H. **Introducción a la bioquímica y tecnología de los alimentos**, Zaragoza, Acribia, 2000, p.162-169, v.1.

DAVIDSON, R.H.; DUNCAN, S.E.; HACKNEY, C.R.; EIGEL, W.N.; BOLING, J.W. Probiotic culture survival and implications in fermented frozen yogurt characteristics. *J. Dairy Sci.*, Lancaster, v.83, n.4, p.666- 673, 2000.

DAVE, R. I.; SHAH, N. P. Viability of yogurt and probiotic, in yogurt made from commercial starter cultures. **International Dairy Journal**, v. 7, n. 1, p. 31-41, 1997.

DAVE, R. I.; SHAH, N. P. Viability of yogurt and probiotic, in yogurt made from commercial starter cultures. **International Dairy Journal**, v. 7, n. 1, p. 31-41, 1997a.

DAVE, R. I.; SHAH, N. P. Effect of cysteine on the viability of yoghurt and probiotic bacteria in yoghurt made with commercial starter cultures. **International Dairy Journal**, v. 7, n. 8, p. 537-545, 1997b.

DEGÁSPARI, C.H. ; NINA, W. Propriedades antioxidantes de compostos fenólicos. **Visão Acadêmica**, v.5, n.1, p. 33-40, 2004.

DEL PIANO, M.; MORELLIC, L.; STROZZI, G. P.; ALLESINA, S.; BARRA, M.; DEIDDA, F.; LORENZINI, P.; BALLARÉ, M.; MONTINO, F.; ORSELLO, M.; SARTORI, M.; GARELLO, E.; CARMAGNOLA, S.; PAGLIARULO, M.; CAPURSO, L. Probiotics: from research to consumer. **Digestive and Liver Disease**, v.38, suppl.2, p.S248-S255, 2006a.

DE SOUZA, C. H. B. *et al.* Sensory evaluation of probiotic Minas fresh cheese with *Lactobacillus acidophilus* added solely or in co-culture with a thermophilic starter culture. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 43, p.871-877, 2008.

DE VRESE, M.; STEGELMANN, A.; RICHTER, B.; FENSELAN, S.; LAUE, C.; SCHREZENMEIER, J. Probiotics- compensation for lactase insufficiency. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 73, n. 2, p. 421- 429, 2001.

DHAWAN, K., DHAWAN, S., & SHARMA, A. Passiflora: A review update. **Journal of Ethnopharmacology**, 94(1), 1–23, 2004.

DONKOR, O. N. *et al.* Survival and activity of selected probiotic organisms in set-type yoghurt during cold storage. **International Dairy Journal**, v. 17, n. 6, p. 657-665, 2007.

DONKOR, O. N.; HENRIKSSON, A.; VASILJEVIC, T., SHAH, N. P. Proteolytic activity of dairy lactic acid bacteria and probiotics as determinant of growth and *in vitro* angiotensin-converting enzyme inhibitory activity in fermented milk. **Dairy Science and Technology**, v. 86, p.21-38, 2007.

DONKOR, O.N.; HENRIKSSON, A.; VASILJEVIC, T.; SHAH, N.P. Effect of acidification on the activity of probiotics in yoghurt during cold storage. **International Dairy Journal**, v. 16, n. 10, p. 1181-1189, 2006.

DUTCOVSKY, S. D. **Análise sensorial dos alimentos**. Curitiba: Champagnat, 1996. 123p.

ELLI, M.; ZINK, R.; RYTZ, A.; RENIERO, R.; MORELLI, L. Iron requirement of *Lactobacillus* spp. In completely chemically defined growth media. **Journal of Applied Microbiology**, v.88, p.695-703, 2000.

FARNSWORTH, J. P.; LI, J.; HENDRICKS, G. M.; GUO, M. R. Effects of transglutaminase treatment on functional properties and probiotic culture survivability of goat milk yogurt. **Small Ruminant Research**, 65, 113–121. (2006).

FERREIRA, C. L. L.; TESHIMA, E. Prebióticos: Estratégia dietética para manutenção da microbiota colônica desejável. **Biotecnologia, Ciência & Desenvolvimento**, n. 16, p. 22-25, 2000.

FERREIRA, V. L.; ALMEIDA, T. C. A.; PERTINELLI, M. L. C. V.; SILVA, M. A. A. P.; CHAVES, J. B. P. Análise Sensorial. Testes discriminativos e afetivos. **Manual-Série Qualidade**. [Campinas]: PROFIQUA/SBCTA, 2000. 127p.

FERREIRA, C.L.L.F.; **Produtos lácteos fermentados (Aspectos Bioquímicos e Tecnológicos)**. 1. ed. Viçosa: Imprensa Universitária, 1997. p. 4-6.

FERNÁNDEZ-BAÑARES, F.; ROSINACH, M.; ESTEVE, M.; FORNÉ, M.; ESPINÓS, J. C.; VIVER, J. M. Sugar malabsorption in functional abdominal bloating: A pilot study on the long-term effect of dietary treatment. **Clinical Nutrition**, v. 25, p. 824– 831, 2006.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE 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. 34p.

FOOKS, L. J; FULLER, R.; GIBSON, G. R. Prebiotics, probiotics and human gut microbiology. **International Dairy Journal**, v. 9, n. 1, p. 53-61, 1999.

GARDINER, G.E.; ROSS, R.P.; WALLACE, J.M.; SCANLAN, F.P.; JAGERS, P.P.; FITZGERALD, G.F.; COLLINS, J.K.; STANTON, C. Influence of a probiotic adjunct culture of *Enterococcus faecium* on the quality of cheddar cheese. *J. Agric. Food. Chem.*, Washington, v.47, n.12, p.4907-4916, 1999.

GARRIGUES, C.; JOHANSEN, E.; PEDERSEN, M. B. Complete genome sequence of *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12, a widely consumed probiotic strain. **Journal of Bacteriology**, v.192, n.9, p.2468, 2010.

GASSULL, M. A. Review article: The intestinal lumen as a therapeutic target in inflammatory bowel disease. **Alimentary Pharmacology & Therapeutics**, v. 24, n.3, p.90-95, 2006.

GERES, C. L. *et al.* *Lactobacillus reuteri* CRL 1100 as starter culture for dough fermentation. **Food Microbiology**, v. 25, n.2, p.253-259, 2008.

GILLILAND, S.E.; REILLY, S.S.; KIM, G.B.; KIM, H.S. Viability during storage of selected probiotic lactobacilli and bifidobactérias in a yogurt-like product. **Food Microbiology and Safety**, v. 67, n. 8, p. 3091-3095, 2002.

GOMES, A.M.P.; MALCATA, F. X. *Bifidobacterium* spp. and *Lactobacillus acidophilus*: Biological, biochemical, technological and therapeutical properties relevant for use as probiotic. **Trends and food science & technology**, v.10, p.139-158, 1999.

GOMES, A.M.P.; MALCATA, F.X. Development of a probiotic cheese manufactured from goat milk: response surface analisys via technological manipulation. **Journal of**

Dairy Science, 81, 1492, 1998.

GÓMEZ-RUIZ, J. A. *et al.* Influence of a defined-strain starter and *Lactobacillus plantarum* as adjunct culture on volatile compounds and sensory characteristics of Manchego cheese. **European Food Research and Technology**, v.227, n.1, p.181-190, 2008.

Gondim, J.A.M.; Moura, M.F.V.; Dantas, A.S.; Medeiros, R.L.S.; Santos, K.M. Composição centesimal e de minerais em cascas de frutas. *Cien Tecnol Aliment* 25: 825-827.

GONZÁLEZ-MARTINEZ, C.; BECERRA, M.; CHÁFER, M.; ALBORS, A.; CAROT, J. M.; CHIRALT, A. Influence of substituting milk powder for whey powder on yogurt quality. **Trends in Food Science and Technology**, Wageningen, v. 13, n. 9-10, p. 334-340, 2002.

GORBACH, S.L. Probiotics and gastrointestinal health. **American Journal of Gastroenterology**, v.95, n.1, suppl., p.S2-S4, 2000.

GUARNER, F.; MALAGELADA, J.R. Gut flora in health and disease. **The Lancet**, v.360, p.512-519, 2003.

GUEIMONDE, M.; FLÓREZ, A. B.; VAN HOEK, A. H. A. M.; STUER-LAURIDSEN, B.; STROMAN, P.; REYES-GAVILÁN, C. G.; MARGOLLES, A. Genetic basis of tetracycline resistance in *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*. **Applied and environmental Microbiology**, v.76, n.10, p.3364-3369, 2010.

GUEIMONDE, M.; JALONEN, L.; HE, F.; HIRAMATSU, M.; SALMINEN, S. Adhesion and competitive inhibition and displacement of human enteropathogens by selected lactobacilli. **Food Research International**, v. 39, p. 467–471, 2006.

GUEIMONDE, M.; DELGADO, S.; MAYO, B.; RUAS- MADIEDO, P.; MARGOLLES, A.; DE LOS REYES-GAVILA, C. G. Viability and diversity of probiotic *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* populations included in commercial fermented milks. **Food Research International**, v.37, p.839-850, 2004.

GÜLER-AKIN, M. B.; AKIN, M. S. Effects of cysteine and different incubation temperatures on the microflora, chemical composition and sensory characteristics of bio-yogurt made from goat's milk. **Food Chemistry**, Oxford, v. 100, n. 2, p. 788-793, 2007.

GUYOT, A. Les yoghourts. **Le Lait et Nous**, n. 2, p. 6-12, 1992.

HASCHKE, F.; WANG, W.; PING, G.; VARAVITHYA, W.; PODHIPAK, A.; ROCHAT, F.; LINK-AMSTER, H.; PFEIFER, A.; DIALLO-GINSTL, E.; STEENHOUT, P. Clinical trials prove the safety and efficacy of the probiotic strain *Bifidobacterium* Bb12 in follow-up

formula and growing-up milks. **Monatsschr Kinderheilkd**, v.146, suppl.1, p.26-30, 1998.

HARBORNE, J.B.; WILLIAMS, C.A. Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*, v.52, p.481-504, 2000.

HELLER, K. J. Probiotic bacteria in fermented foods: product characteristics and starter organisms. ***American Journal of Clinical Nutrition***, v. 73, suplem., p. 374S-379S, 2001.

HLIVAK, P. *et al.* One-year application of probiotic strain *Enterococcus faecium* M-74 decreases serum cholesterol levels. **Bratisl Lek Listy**, v. 106, n. 2, p. 67-72, 2005.

HOYOS, G. **Aplicación de la biotecnología en la producción animal: La experiencia mexicana de una década**. Memoriais del 1er Simposio Mexicano sobre Probióticos, 1997. p. pp. 131-148.

HOOD, S. K.; ZOTTOLA, M. L. Effects of low pH on the ability of *Lactobacillus acidophilus* to survive and adhere to human intestinal cells. *Journal of Food Science*, 53, 1514–1516, 1998.

ICHIMURA, T., YAMANAKA, A., ICHIBA, T., TOYOKAWA, T., KAMADA, Y., TAMAMURA, T., *et al.* Antihypertensive effect of an extract of *Passiflora edulis* rind in spontaneously hypertensive rats. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, 70(3), 718–721, 2006.

INGHAM, S.C. Use of modified *Lactobacillus* selective medium and *Bifidobacterium* iodoacetate medium for differential enumeration of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium* spp. in powdered nutritional products. *J. Food Prot.*, Des Moines, v.62, n.1, p.77-80, 1999.

INSTITUTO NACIONAL DE PROPRIEDADE INDUSTRIAL (INPI). Endereço na Internet: <http://www.inpi.gov.br/menu-superior/imprensa/clipping/novembro-2007-1-old-version-replaced-12112007-124018/22-11-2007#2>

INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. **Yogurt: enumeration of characteristic microorganisms**. IDF/ISO Standard, 1997. 5 p.

ITI TROPICALS. 2007. Disponível em: <<http://www.passionfruitjuice.com>>. Acesso em: 30 jul. 2009.

JAIN, P. K.; MCNAUGHT, C. E.; ANDERSON, A. D.; MACFIE, J.; MITCHELL, C.J. Influence of synbiotic containing *Lactobacillus acidophilus* La5, *Bifidobacterium lactis* Bb12, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus* and oligoructose on gut barrier function and sepsis in critically ill patients: a randomized controlled trial. **Clinical Nutrition**, v.23, n.4, p.467-475, 2004.

JALILI, H.; RAZAVI., S.H.; SAFÁRI, M.; MALCATA, F. X. Enhancement of growth rate and β -galactosidase activity, and variation in organic acid profile of *Bifidobacterium animalis* subsp. *Lactis* Bb 12. **Enzyme and Microbial Technology**, v.45, p.469-476, 2009.

JAYAMANNE, V. S.; ADAMS, M. R. Determination of survival, identity and stress resistance of probiotic bifidobacteria in bio-yoghurts. **Letters in Applied Microbiology**, v. 42, p. 189-194, 2006.

Journal of Ethnopharmacology, Lausanne, v. 94, n. 1, p. 1-23, set. 2004.

KAILASAPATHY, K. Survival of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* in stirred fruit yogurts. **LWT Food Science and Technology**, 41, 1317–1322, 2008.

KLAENHAMMER, T.R. Probiotics and prebiotics. In: DOYLE, M.P.; BEUCHAT, L.R.; MONTVILLE, T.J. *Food microbiology: fundamentals and frontiers*. 2.ed. Washington: ASM, 2001. p.797-811.

KLEEREBEZEM, M.; HUGENHOLTZ, J. Metabolic pathway engineering in lactic acid bacteria. **Current Opinion in Biotechnology**, v.14, p.234-237, 2003.

KLEINMAM, R. E. Pratical significance of lactose intolerance in children: supplement. **Pediatric**, v. 86, n. 4, p. 643-644, 1990.

KOLIDA, S.; GIBSON, G. R. Prebiotic effects of inulin and oligofructose. **British Journal of Nutrition**, v.87, suppl. 2, p. S193-S197, 2002.

KOS, B.; SUSKOVIC, L.; GORETA, J. A. H.; MATOSIC, S. Effect of protectors on the viability of *Lactobacillus acidophilus* M92 in simulated gastrointestinal conditions. **Food Technology and Biotechnology**, v.38, n.2, p.121-127, 2000.

KUN, S.; REZESSY-SZABO, J.M.; NGUYEN, Q.D.; HOSCHKE, A. Changes of microbial population and some components in carrot juice during fermentation with selected *Bifidobacterium* strains. **Process Biochemistry**, v.43, p.816-821, 2008.

KUSKOSKI, E. M., ASUERO, A. G., TRONCOSO, A. M., MANCINI-FILHO, J., & FETT, R. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante em pulpa de frutos. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 25(4), 726–732, 2005.

KUSKOSKI, E. M.; ASUERO, A. G.; TRONCOSO, A. M.; MANCINI-FILHO, J.; FETT, R. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante em pulpa de frutos. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v.25, n.4, p.726-732, 2005.

LANDIM, L. B., Desenvolvimento, Processamento e Caracterização de Produtos a Base de Jaca e seus Subprodutos. Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itapetinga, Brasil, 2011.

LAPARRA, J. M.; SANZ, Y. Interactions of gut microbiota with funcional food components and nutraceuticals. **Pharmacological Research**, v.61, p.219-255, 2010.

LAWLESS, H. T.; HEYMANN, H. **Sensory Evaluation of foods: Principles and Practices**. Gaithersburg: Aspen, 1999. 827p.

LEAHY, S. C.; HIGGINS, D. G.; FITZGERALD, G. F.; van SINDEREN, d. Getting better with bifidobactérias. **Journal of Applied Microbiology**, v.98, p.1303-1315, 2005.

LEBEER, S. *et al.* **Host interactions of probiotic bacterial surface molecules: comparison with commensals and pathogens.** *Nature Reviews Microbiology*, v. 8, n. 3, p. 171-184, 2010.

LEBEER, S. *et al.* **Genes and Molecules of Lactobacilli Supporting Probiotic Action.** *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, v. 72, n. 4, p. 728, 2008.

LEE, W. J.; LUCEY, J. A. Structure and physical properties of yogurt gels: effect of inoculation rate and incubation temperature. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v. 87, n. 10, p. 3153-3164, 2004.

LEE, Y.K.; NOMOTO, K.; SALMINEN, S.; GORBACH, S.L. *Handbook of probiotics*. New York: Wiley, 1999. 211p.

LILLY, D. M. E STILLWELL, R. H. Probiotics: Growth promoting factors produced by microorganisms. **Science** 147, 747-748, 1965.

LIN, M.; SAVIANO, D.; HARLANDER, S. Influence of nonfermented dairy products containing bacterial starter cultures on lactose maldigestion in humans. **Journal of Dairy Science**, v. 74, p. 87-95, 1991.

LIONG, M. T. Probiotics: a critical review of their potential role as antihypertensives, immune modulators, hypocholesterolemics and perimenopausal treatments. **Nutrition Reviews**, v. 65, n. 7, p. 16-328, 2007.

LÓPEZ-MOLINA, D.; NAVARRO-MARTÍNEZ, M.D.; MELGAREJO, F.R.; HINER, A.N.P.; CHAZARRA, S.; RODRÍGUES-LÓPEZ, J.N. Molecular properties and prebiotic effect of inulin from artichoke (*Cynara scolymus* L.) **Phytochemistry**, v.66, p.1476-1484, 2005.

LORENZEN, P. C.; NEVE, H.; MAUTNER, A.; SCHLIMME, E. Effect of enzymatic crosslinking of milk proteins on functional properties of set-style yoghurt. **International Journal of Dairy Technology**, v. 55, n. 3, p. 152-157, 2002.

LOURENS-HATTINGH, A.; VILJOEN, B. C. Yogurt as probiotic carrier food.

International Dairy Journal, v. 11, n. 1/2, p. 11-17, 2001.

LOWER, C. E.; PARKES, G. C.; SANDERSON, J. D. Review article: lactose intolerance in clinical practice – myths and realities. **Alimentary Pharmacology & Therapeutics**, v.27, p.93-103, 2008. MASSAGUER, P. R. Microbiologia

LUCEY, J. A. Cultured dairy products: an overview of their gelation and texture properties. **International Journal of Dairy Technology**, v. 57, p. 77-84, 2004.

LUCEY, J. A. Formation and physical properties of milk protein gels. **Journal of Dairy Science**, v. 85, n.2, p. 281-294, 2002.

MACDONALD, T. T.; BELL, I. **Probiotics and the immune response to vaccines**. *Proceedings of the Nutrition Society*, v. 69, n. 3, p. 442-446, Aug 2010.

MACK, D. R. *et al.* **Extracellular MUC3 mucin secretion follows adherence of *Lactobacillus* strains to intestinal epithelial cells micro-organismo**. *Gut*, v. 52, n. 6, p. 827-833, Jun 2003.

MAI, V.; DRAGANOV, P. V. Recent advances and remaining gaps in our knowledge of associations between gut microbiota and human health. **World Journal of Gastroenterology**, v.15, n.1, p.81-85, 2009.

MAKRAS, L.; VUYST, L. The micro-organismo inhibition of Gram-negative pathogenic bacteria by bifidobacteria is caused by the production of organic acids. **International Dairy journal**, v.16, p. 1049-1057, 2006.

MARGOLLES, A.; DE LOS REYES-GAVILA, C. G.. Viability and diversity of probiotic *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* populations included in commercial fermented milks. **Food Research Internacional** , v. 37, p 839-850, 2004.

MARTINS, J.F.P.; LUCHESE, R.H. Determinação da compatibilidade de crescimento associativo entre cepas de *Lactobacillus bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus*. **Revista do Instituto Laticínios Cândido Tostes**, v.43, n.256, p.11-13, 1988.

MATTILA-SANDHOLM, T.; MYLLÄRINEN, P.; CRITTENDEN, R.; MOGENSEN, G.; FONDER, R.; SAARELA, M. Technological challenges for future probiotics foods. **International Dairy journal**, v. 12, n.2, p. 173-182, 2002.

MATTILA-SANDHOLM, T.; MYLLÄRINEN, P.; CRITTENDEN, R.; MOGENSEN, G.; FONDER, R.; SAARELA, M. Technological challenges for future probiotics foods. **International Dairy journal**, v. 16, p. 1029-1037, 2006.

MÄTTÖ, L.; ALAKOMI, H. L.; VAARI.; VIRKAJARVI, I.; SAARELA, M. Influence of processing conditions on *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* functionality with a special focus on acid tolerance and factors affecting it. **International Dairy Journal**, v. 16, p. 1029-1037, 2006.

MÄTTÖ, J.; FONDÉN, R.; TOLVANEN, T.; VON WRIGHT, A.; VILPPONEN-SALMELEDA, T.; REETTA, S.; SAARELA, M. Intestinal survival and persistence of probiotic *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains administered in triple-strain yoghurt. **International Dairy Journal**, v.16, p.1174-1180, 2006b.

MOHAN, R.; KOEBNICK, C.; SCHILDT, J.; SCHMIDT, S.; MUELLER, M.; POSSNER, M.; RADKE, M.; BLAUT, M. Effects of *Bifidobacterium lactis* Bb 12 supplementation on intestinal microbiota of preterm infants: a double-blind, placebo-controlled, randomized study. **Journal of Clinical Microbiology**, v.44, n.11, p.4025-4031, 2006.

MORAES, P. C. B. T. **Avaliação de iogurtes líquidos comerciais sabor morango: estudo de consumidor e perfil sensorial**. 2004. 128p. Tese (Mestrado em Alimentos e Nutrição) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

NICOLI, J. R.; VIEIRA, E. C.; PENNA, F. J.; VIEIRA, L. Q.; RODRIGUES, A. C. P.; NEUMANN, E.; SILVA, A. M.; FILHO, J. V. M. L.; BAMBIRRA, E. A.; ARANTES, R. M. E.; MACHADO, D. C. C. Probióticos: experiências com animais gnotobióticos. In: FERREIRA, C. L. L. F., Ed. **Prebióticos e probióticos: atualização e prospecção**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2003, p.123-133.

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

O'FLAHERTY, S.; KLAENHAMMER, T. R. the role and potential of probiotic bacteria in the gut, and the communication between gut microflora and gut/host. **International Dairy Journal**, v.20, p.262-268, 2010.

O'GRADY, B.; GIBSON, G. R. Microbiota of the human gut. In: TAMIME, A. Y. (ed.). **Probiotic Dairy Products**. Ames: Blackwell Publishing, 2005. p. 1-15.\

OLIVEIRA, M.N.; SIVIERI, K.; ALEGRO, J.H.A.; SAAD, S.M.I. Aspectos tecnológicos de alimentos funcionais contendo probióticos. *Rev. Bras. Cienc. Farm.*, São Paulo, v.38, n.1, p.1-21, 2002.

ORDÓÑEZ, J. A. P. *Tecnologia de Alimentos: Alimentos de Origem Animal*. Porto Alegre: Artmed, v.2, 2007. 279p.

ORDÓÑEZ, J. A. P.; RODRIGUEZ, M. I. C.; ÁLVAREZ, L. F.; SANZ, M. L. G.; MINGUILLÓN, G. D. G. F.; PERALES, L. H.; CORTECERO, M. D. S. **Tecnologia de Alimentos**: Alimentos de Origem Animal. Porto Alegre: Artmed, v. 2, 2005. 279p.

ORDÓÑEZ, J.A. **Tecnologia de alimentos**: alimentos de origem animal. Porto Alegre: Artmed, 2005a.

O'SULLIVAN, G. C. *et al.* Probiotics: an emerging therapy. **Current Pharmaceutical Designs**, v. 11, n. 1, p. 3-10, 2005.

OU, S.; KWOK, K.C.; LI, Y.; FU, L. "In vitro" study of possible role of dietary fibre in lowering postprandial serum glucose. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, v.49, p. 1026-1029, 2001.

OUWEHAND, A.C.; KIRJAVAINEN, P.V.; SHORTT, C.; SALMINEN, S. Probiotics: mechanisms and established effects. **International Dairy Journal**, v. 9, n. 1, p. 43-52, 1999.

PARKER, R. B. 1974. Probiotics, the other half of the antibiotics story. **Animal Nutrition and Health**. 29, 4-8. PETIT, H.V., Digestion, milk production, milk composition, and blood composition of dairy cows fed whole flaxseed. **J. Dairy Sci.**, 85:1482-1490, 2002.

PARVEZ, S.; MALIK, K. A.; KANG, S. Ah; KIM, H. Y. Probiotics and their fermented food products are beneficial for health. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v. 100, p. 1171-1185, 2006.

PEREIRA, M. A. G. Efeito do teor de lactose e do tipo de cultura na acidificação e pós-acidificação de iogurtes. 2002. 86 p. Dissertação de Mestrado (Mestre em Tecnologia de Alimentos), Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas. 2002.

PINHEIRO, M. V. S. **Caracterização de iogurtes fabricados com edulcorantes, fermentados por culturas lácticas probióticas**. 2003. 196 p. Dissertação de Mestrado (Mestre em Engenharia e Ciência de Alimentos) - Instituto de Iociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto, 2003.

PINHEIRO, E. R., SILVA, I. M. D. A., GONZAGA, L. V., AMANTE, E. R., TEÓFILO, R. F., FERREIRA, M. M. C., *et al.* Optimization of extraction of high-ester pectin from passion fruit rinds (*Passiflora edulis flavicarpa*) with citric acid by using response surface methodology. **Bioresource Technology**, 99(13), 5561–5566, 2008.

PIYASENA, P.; CHAMBERS, J. Influence of whey protein on syneresis of raw milk curds. **International Journal of Food Science and Technology**, London, v. 38, n. 6, p. 669-675, 81, 2003.

PRETZER, G. *et al.* **Biodiversity-based identification and functional characterization of the mannose-specific adhesin of *Lactobacillus plantarum***. *Journal of Bacteriology*, v. 187, n. 17, p. 6128-6136, Sep 2005.

PUUPPONEN-PIMIÄ, R.; AURA, A.M.; OKSMAN-CALDENTY, K.M.; MYLLÄRINEN,

P.; SAARELA, M.; MATTILA-SANHOLM, T.; POUTANEN, K. Development of functional ingredients for gut health. **Trends in Food Science & Technology**, Amsterdam, v.13, p. 3-11, 2002.

PORTARIA n°. 108, de 04 de setembro de 1991, Método n°. 08, do Ministério da Agricultura, publicado no Diário Oficial da União em 17 de setembro de 1991, página 19.814, Seção I.

RAMOS, A. T., CUNHA, M. A. L., SABAA-SRUR, A. U. O., PIRES, V. C. F., CARDOSO, M. A. A., DINIZ, M. F. M., *et al.* Uso de *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* na redução do colesterol. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 17(4), 592–597, 2007.

RAPACCI, M. Leites Fermentados. Curitiba: PUC-PR, Departamento de Engenharia de Alimentos, 1999. 29p. Apostila digitada.

RAUHA, J.P.; REMES, S.; HEINONEN, M.; HOPIA, A.; KÄHKÖNEN, M.; KUJALA, T.; PIHLAJA, K.; VUORELA, H.; VUORELA, P. Antimicrobial effects of Finnish plant extracts containing flavonoids and other phenolic compounds. **International Journal of Food Microbiology**, v.56, n.1, p. 3-12, 2000.

RIVERA-ESPINOZA, Y.; GALLARDO-NAVARO, U. Non-dairy probiotic products. **Food Microbiology**, v.27, p.1-11, 2010.

ROBERFROID, M. B. Prebiotics and probiotics: are they functional foods? **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 71, n. 6, p. 1682-1687, 2000.

RODRIGEZ, F. Principles of polymer systems. McGraw-Hill; segunda edição, 1975.

ROLFE, R. D. The role of probiotic cultures in the control of gastrointestinal health. **Journal of Nutrition**, n. 130, n. 2, p. 396-402, 2000.

ROY, D. Technological aspects related to the use of *Bifidobacteria* in dairy products. **Lait**, v.85, p.39-56, 2005.

ROUZAUD, G. C. M. Probiotics, prebiotics, and synbiotics: functional ingredients for microbial management strategies. In BILIADERIS, C. G.; IZYDORCZYK, M. S., Eds. **Functional food carbohydrates**. CRC Press, 2007, p. 479-509.

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

SACCARO, D. M., Efeito da associação de culturas iniciadoras e probióticas na acidificação, textura e viabilidade em leite fermentado. **Dissertação de Mestrado**, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil, 2008.

SALADO, G. A.; ANDRADE, M. O. Processamento e qualidade nutricional do iogurte. **Boletim Cultura**, v. 7, p. 1-35, 1989.

SANDERS, M. E, Probiotics: Considerations for human health. **Nutrition Reviews**, v.61, n.3, p.91-99, 2003.

SANDERS, M.E.; KLAENHAMMER, T.R. Invited review: the scientific basis of *Lactobacillus acidophilus* NCFM functionality as a probiotic. *J. Dairy Sci.*, Savoy, v.84, p.319-331, 2001.

SANDERS, E.M.; HUIS IN'T VELD, J. Bringing a probiotic containing functional food to the market: microbiological, produto regulatory, and labelling issues. *Antonie Van Leeuwenhoek*, v. 76, p 293-315, 1999.

SANDERS, M. E. Lactic acid bacteria as promoters of human health. In: GOLDBERG, I. (Ed.). **Functional foods**: designer foods, pharmafoods, nutraceuticals. New York: Chapman and Hall, 1994. p. 294-322.

SANDOVAL-CASTILLA, O.; LOBATO-CALLEROS, C.; AGUIRRE-MANDUJANO, E.; VERMON-CARTER, E.J. Microstructure and texture of yogurt as influenced by fat replacers, **International Dairy Science**, v. 14, p. 151-159, 2004.

SANTOS, J. E., 1980. FCA/UNESP, Jaboticabal, 1980.

SCHIFFRIN, E.J.; BLUM, S. Interactions between the microbiota and the intestinal mucosa. **European Journal of Clinical Nutrition**, v.56, suppl.3, p.S60-S64, 2002.

SCHWEIZER, T.F.; WÜRSCH, P. The physiological and nutritional mportance of dietary fiber. *Experientia*, Basel, v. 47, p. 181-186,1991.

SETH, A. *et al.* **Probiotics ameliorate the hydrogen peroxide-induced epithelial barrier disruption by a PKC- and MAP kinase-dependent mechanism.** *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, v. 294, n. 4, p. G1060-G1069, Apr 2008.

SHAH, N. P. Functional cultures and health benefits. **International Dairy Journal**, v. 17, n. 11, p. 1262-1277, 2007.

SHAH, N. P. Health benefits of yogurt and fermented milks. In: CHANDAN, R. C. (Ed.), **Manufacturing yogurt and fermented milks**. Iowa, USA: Blackwell Publishing Professional, 2006. p. 327-340.

SHAH, N.P. Probiotic bacteria: selective enumeration and survival in dairy foods. **Journal of Dairy Science**, v. 83, n. 4, p. 894-907, 2000.

SHAH, N.P.; LANKAPUTHRA, W.E.V. Improving viability of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium* spp. in yogurt. *Int. Dairy J.*, Amsterdam, v.7, p.349-356, 1997.

SHEIL, B.; SHANAHAN, F.; O'MAHONY, L. Probiotic effects on inflammatory bowel disease. **Journal of Nutrition**, v. 137, n. 3, p. 819-824, 2007.

SILVA, S. V., Desenvolvimento de iogurte probiótico com prebiótico. **Dissertação de Mestrado**, Universidade Federal de Santa Maria, Brasil, 2007.

SOARES, S. E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Rev. Nutr.**, v.15, n.1, p.71-81, 2002.

SOLANO-AGUILAR, G.; DAWSON, R.; RESTREPO, M.; ANDREWS, K.; VINYARD, B.; URBAN, J. F. Detection of *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* (Bb12) in the intestine after feeding of sows and their piglets. **Applied and Environmental microbiology**, v.74, n.20, p.6338-6347, 2008.

SPILLER, R. Review article: probiotics and prebiotics in irritable bowel syndrome. **Alimentary Pharmacology & Therapeutics**, v.28, p.385-396, 2008.

SPREER, E.; MIXA, A. **Milk and dairy product technology**. New York: Marcel Dekker, 1998. 483p. (Food Science and Technology, v.84)

SUSKOVIC, J.; KOS, B.; GORETA, J.; MATOSIC, S. Role of lactic acid bacteria and bifidobacteria in symbiotic effect. **Food Technology and Biotechnology**, v. 39, n. 3, p. 227-235, 2001.

SUVARNA, V.C.; BODY, V.U. Probiotics in human health: A current assessment, **Current Science** .VOL. 88, NO. 11, 10 JUNE 2005.

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

SZEGÖ, T. <http://saude.abril.com.br/edicoes/0272/aberto/nutricao/conteudo_127583.shtml>. Acesso em 26/04/2007.

TALWALKAR, A.; KAILASAPATHY, K. A review of oxygen toxicity in probiotic yogurts: influence on the survival of probiotic bacteria and protective techniques. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 3, n. 3, p. 117-124, 2004a.

TALWALKAR, A.; KAILASAPATHY, K. Metabolic and biochemical responses of probiotic bacteria to oxygen. **Journal of Dairy Science**, v. 86, n. 8, p. 2537-2546, 2003.

TAMIME, A. Y.; ROBINSON, R. K. **Yogurt: ciencia y tecnologia**. Zaragoza: Acribia, 1991. 368 p.

TAMIME, A.Y.; DEETH, H.C. Yogurt: technology and biochemistry. **Journal of Food Protection**, v. 43, n. 12, p. 939-977, 1980.

TANELLO, Ana Cristina. Perfil de compostos voláteis e propriedades físicas e químicas de iogurte probiótico mantido sob refrigeração. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Brasil, 2004.

Togashi C.K.; Fonseca J.B.;, Soares RTRN; Gaspar A.; Detmann E.; Composição em ácidos graxos dos tecidos de frangos de corte alimentados com subprodutos de maracujá. *Rev Bras Zootec* 36: 2063-2068, 2007.

TOLONEN, M. *et al.* Formation of nisin, plant-derived biomolecules and antimicrobial activity in starter culture fermentations of sauerkraut. **Food Microbiology**, v.21, n.2, p.167-179, 2004.

TRABULSI, L. P.; SAMPAIO, M. M. S. C. Probióticos, probióticos e simbióticos. In: TRABULSI, L. R.; CARNEIRO- SAMPAIO, M. M. S. **Os probióticos e a saúde infantil**. São Paulo: Nestlé,2000. 15p . (Temas de Pediatria da Nestlé, 3).

TURANO, W. Estimativa de consumo diário de fibra alimentar na população adulta, em regiões metropolitanas do Brasil. *Nutrição Brasil*, n.3, p. 130-135, set/out. 2002.

VARGAS, A. J., GEREMIAS, D. S., PROVENSI, G., FORNARI, P. E., REGINATTO, F. H., GOSMANN, G., *et al.* Passiflora alata and Passiflora edulis spray-dried aqueous extracts inhibit inflammation in mouse model of pleurisy. **Fitoterapia**, 78(2), 112–119, 2007.

VASCO, C., RUALES, J., & KAMAL-ELDIN, A. Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits from Ecuador. *Food Chemistry*, 111(4), 816–823, 2008.

VASILJEVIC, T.; SHAH, N. P. Probiotics - From Metchnikoff to bioactives. **International Dairy journal**, Barking, v. 18, p. 714-728, 2008.

VEDAMUTHU, E.R. The yogurt story – past, present and future. Part. VI. **Dairy, Food and Environmental Sanitation**, v.11, n.9, p.513-514, 1991.

VEDAMUTHU, E. R. The yogurts story – past, present and future. Part V. **Dairy, Food Environmental Sanitarians**, v. 11, n. 8, p. 444-446, 1991b.

VENDRAMINI, A.L.A; TRUGO, L.C. Phenolic compounds in acerola fruit (Malpighia punicifolia, L.). *Journal of Brazilian Chemistry society*, v. 15, n.5, p. 664-668, 2004).

VENTURA, M.; O'FLAHERTY, S.; CLAEISSON, M. J.; TURRONI, F.; KLAENHAMMER, T. R.; SINDEREN, D. V.; O'TOOLE. P. W. Genome-scale analyses of healthpromoting bacteria: probiogenomics. *Nature Reviews - Microbiology*, v. 7, p. 61-67, 2009.

VINDEROLA, C.G.; MOCCHIUTTI, P.; REINHEIMER, J.A. Interactions among lactic acid starter and probiotic bacteria used for fermented dairy products. **Journal of Dairy Science**, v. 85, n. 4, p. 721-729, 2002b.

VOROBJEVA, N. V. Selective stimulation of the growth of anaerobic microflora in the human intestinal tract by electrolyzed reducing water. **Medical Hypotheses**, v. 64, p.543-546, 2005

VOSNIAKOS, F. et.al. Effect of 1311 on lactic acid microflora of yogurt. **Dairy Food and Environmental Sanitation**, v.8, n.11, p.433-435, 1991.

WALSH-O'GRADY, C. D.; O'KENNEDY, B. T.; FITZGERALD, R. J.; LANE, C. N. A. Rheological study of acid-set "simulated yogurt milk" gels prepared from heat- or pressure-treated milk proteins. **Le Lait: Dairy Science and Technology**, Les Ulis, v. 81, n. 5, p. 637-650, 2001.

YAN, F. *et al.* **Soluble proteins produced by probiotic bacteria regulate intestinal epithelial cell survival and growth.** *Gastroenterology*, v. 132, n. 2, p. 562-575, Feb 2007.

YILDIRIM, Z.; WINTERS, D. K.; JOHNSON, M. G. Purification, amino acid, sequence and mode of action of Bifidocin B produced by *Bifidobacterium bifidum* NCFB 1454. **Journal of Applied Microbiology**, v.86, p.45-54, 1999.

YOLANDA, S. Ecological and functional implications of the acid- adaptation ability of *Bifidobacterium*: a way of selecting improved probiotic strains. **International Dairy Journal**, v. 17, p. 1284-1289, 2007. [Review].

ZACARCHENCO. P. B., Leites fermentados por *S. thermophilus* adicionados de *L. acidophilus* e *B.longum*: Isolamento diferencial dos micro-organismos, multiplicação em diferentes condições e efeitos nas características sensoriais dos leites fermentados naturais ou modificados. **Tese de doutorado**, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, Brasil, 2004.

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

ZERAIK, M. L., & YARIWAKE, J. H. Quantification of isoorientin and total flavonoids in *Passiflora edulis* fruit pulp. **Microchemical Journal**, 96(1), 86–91, 2010.

ZERAIK, M. L., & YARIWAKE, J. H. Comparação da capacidade antioxidante do suco de maracujá (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Degener) e da garapa (*Saccharum officinarum* L.) **Anais da 30° reunião anual da Sociedade Brasileira de Química**, 2007.

ZUCOLOTTO, S. M., GOULART, S., MONTANHER, A., REGINATTO, F. H., SCHENKEL, E. P., & FRODE, T. S.. Bioassay-guided isolation of anti-inflammatory C-glucosylflavones from *Passiflora edulis*. **Planta Medica**, 75(11), 1221–1226, 2009.

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

APÊNDICES

APÊNDICE 1

TESTE DE ACEITAÇÃO

Nome: _____

Data: __/__/__

Você está recebendo uma amostra de iogurte probiótico sabor maracujá. Por favor, avalie a amostra e use a escala abaixo para indicar o quanto você gostou ou desgostou da amostra.

9- gostei extremamente

Impressão global ----

8- gostei muito

Aroma ----

7- gostei moderadamente

Sabor ----

6- gostei ligeiramente

Cor ----

5- nem gostei / nem desgostei

Consistência ----

4- desgostei ligeiramente

3- desgostei moderadamente

2- desgostei muito

1- desgostei extremamente

Comentários:-----

Figura 1- Modelo da Ficha Sensorial utilizada na análise sensorial de iogurte probiótico.

APÊNDICE 2

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE

Eu, **Vagna Aparecida Pereira Freire**, estou juntamente com uma equipe inter institucional de pesquisadores, desenvolvendo a pesquisa **Viabilidade de culturas probióticas de *Lactobacillus* spp. e *Bifidobacterium* spp. em iogurte adicionado de polpa e farinha do albedo de maracujá (*Passiflora edulis*)**, com o objetivo de desenvolver iogurtes probióticos adicionado de polpa e farinha do albedo de maracujá, visando estudar a interação entre diferentes micro-organismos probióticos, analisando a viabilidade destes quando permanecem em um mesmo ambiente e caracterizar este produto físico-químico, microbiológico e sensorialmente.

O produto elaborado, iogurte probiótico, leva na sua formulação: leite UHT desnatado, açúcar refinado, polpa e farinha do albedo de maracujá e as seguintes culturas comerciais: culturas tradicionais do iogurte (*Streptococcus delbrueckii* subesp *thermophilus* e *Lactobacillus bulgaricus*) e culturas probióticas *Bifidobacterium lactis*, *Lactobacillus casei* e *Lactobacillus acidophilus*. Após o processamento, o produto será armazenado sob refrigeração, sendo que nos tempos 1, 7, 14 e 21 serão realizadas análises microbiológicas e físico-química do produto. Após o término das análises, será feita a análise sensorial, que consistirá da degustação do produto por provadores não treinados, com a finalidade de saber sua aceitação. Ressalta-se que tal análise não oferece nenhum tipo de risco nem desconfortos à saúde do provador, ao contrário, como se trata de um produto probiótico, inúmeros benefícios podem ser proporcionados ao consumidor uma vez que seu consumo seja constante. Declara-se também que a análise sensorial será realizada somente se os resultados das análises microbiológicas de controle de qualidade estiverem de acordo com os padrões estabelecidos pela legislação vigente, garantindo, dessa forma que o provador irá consumir um produto seguro e de qualidade. Esclarecimentos sobre a pesquisa serão fornecidos sempre que se fizer necessário.

Se você estiver de acordo em participar, posso garantir que as informações fornecidas serão confidenciais e só serão utilizadas nesta pesquisa.

Pesquisador responsável: Vagna Aparecida Pereira Freire

Eu, _____, fui esclarecido(a) sobre a pesquisa **Viabilidade de culturas probióticas de *Lactobacillus* spp. e *Bifidobacterium* spp. em iogurte adicionado de polpa e farinha do albedo de maracujá (*Passiflora edulis*)** e concordo que os dados da minha avaliação sensorial do iogurte probiótico sejam utilizados na realização da mesma.

Assinatura: _____ RG : _____

Pelotas, ____/____/____

Figura 2 - Modelo de Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

APÊNDICE 3

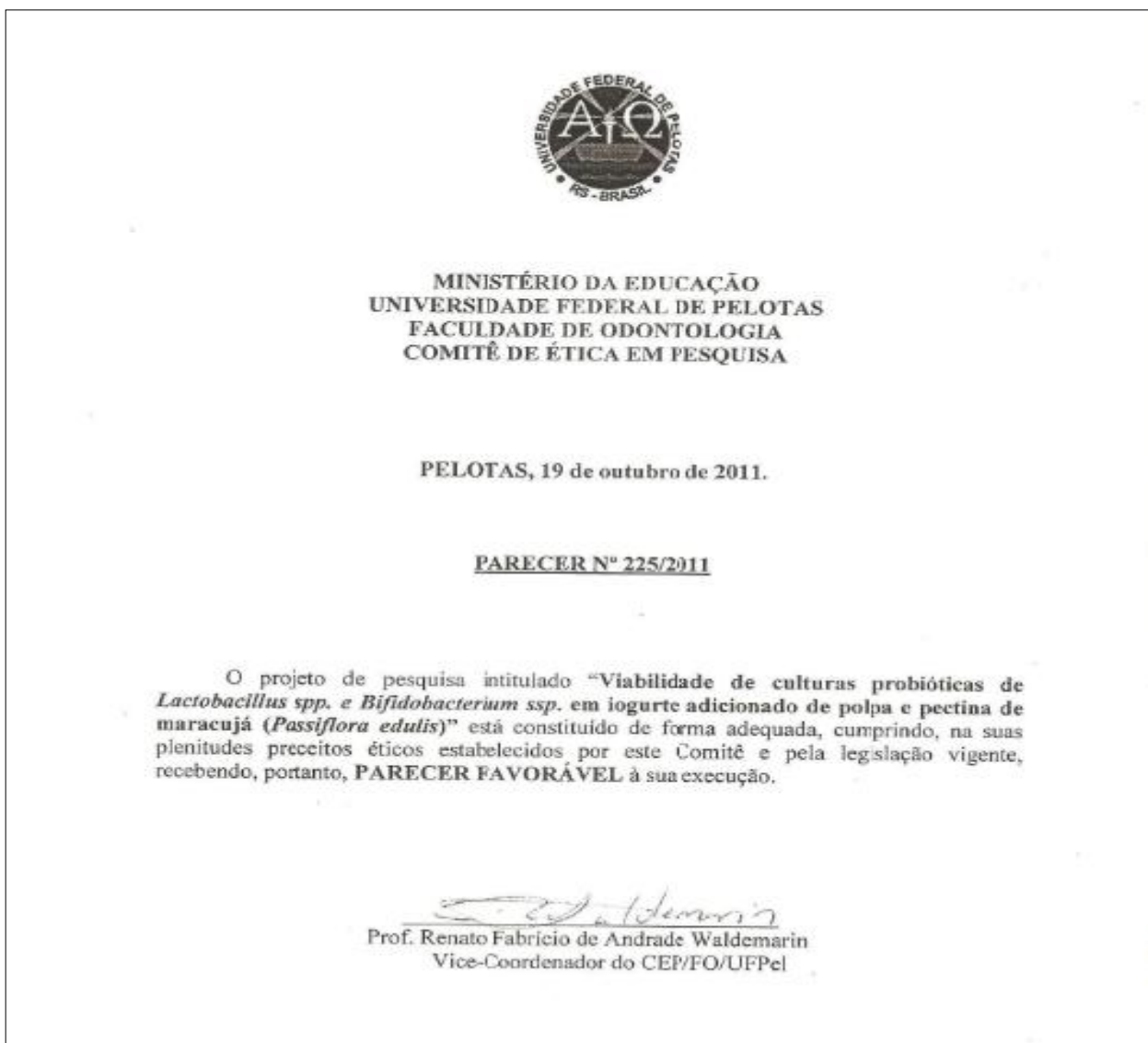


Figura 3- Documento comprobatório de Parecer pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia da UFPel

APÊNDICE 4

Tabela 1 - Contagem média de bactérias probióticas nos iogurtes LABL, LABLM, SBLA e SBLAM no período do 1° ao 21° dia de armazenamento.

Contagem média de bactérias iniciadoras (LogUFC.mL ⁻¹)										
logurte	Y		YM		LABL		LABLM		SBLA	SBLAM
Dias	St	Lb	St	Lb	St	Lb	St	Lb	St	St
1°	8,48	8,12	7,94	7,80	8,31	7,89	7,83	7,75	8,92	8,43
7°	7,75	7,34	7,65	7,24	7,84	7,38	7,66	7,31	8,25	7,61
14°	7,67	6,96	7,34	6,83	7,74	6,90	7,56	6,76	7,83	7,47
21°	7,57	6,85	7,23	6,70	7,68	6,80	7,40	6,53	7,75	7,37

Y = logurte sem adição de polpa e farinha do albedo de maracujá contendo *S. thermophilus* e *L. bulgaricus*

YM = logurte com adição de polpa e farinha do albedo de maracujá contendo *S. thermophilus* e *L. bulgaricus*

LABL = logurte sem adição de polpa e farinha do albedo de maracujá contendo *S. thermophilus*, *L. bulgaricus*, *B. lactis* e *L. acidophilus*

LABLM = logurte com adição de polpa e farinha do albedo de maracujá contendo *S. thermophilus*, *L. bulgaricus*, *B. lactis* e *L. acidophilus*

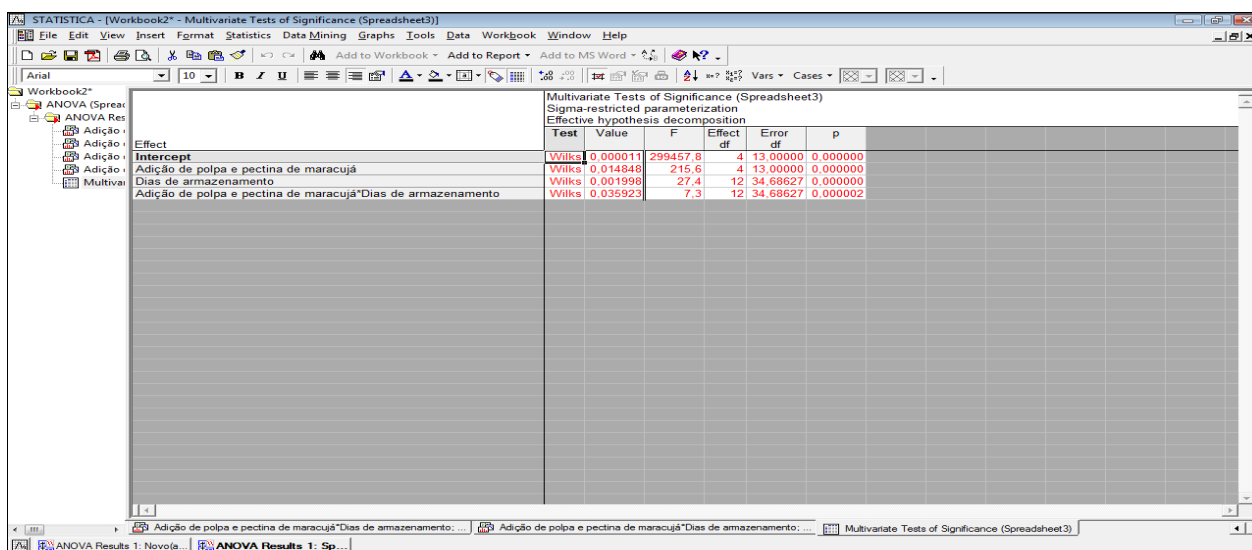
SBLA = logurte sem adição de polpa e farinha do albedo de maracujá contendo *S. thermophilus*, *B. Bb-12* e *L. acidophilus*

SBLAM = logurte com adição de polpa e farinha do albedo de maracujá contendo *S. thermophilus*, *B. Bb-12* e *L. acidophilus*

St = *Streptococcus thermophilus*

Lb = *Lactobacillus bulgaricus*

APÊNDICE 5



The screenshot shows the STATISTICA software interface with the 'Multivariate Tests of Significance (Spreadsheet3)' window open. The window displays a table of results for various effects, including Intercept, Adição de polpa e pectina de maracujá, Dias de armazenamento, and their interaction. The table includes columns for Test, Value, F, Effect df, Error df, and p.

Effect	Test	Value	F	Effect df	Error df	p
Intercept	Wilks	0,000011	299457,8	4	13,00000	0,000000
Adição de polpa e pectina de maracujá	Wilks	0,014948	215,6	4	13,00000	0,000000
Dias de armazenamento	Wilks	0,001998	27,4	12	34,68627	0,000000
Adição de polpa e pectina de maracujá*Dias de armazenamento	Wilks	0,035923	7,3	12	34,68627	0,000002

Figura 4- Análise de variância de viabilidade de micro-organismos iniciadores em iogurte com e sem polpa e farinha do albedo de maracujá YM e Y no período de armazenamento de 21 dias.

APÊNDICE 6

STATISTICA - [Workbook4* - Multivariate Tests of Significance (Spreadsheet9)]

File Edit View Insert Format Statistics Data Mining Graphs Tools Data Workbook Window Help

Workbook4*

- ANOVA (Spreadsheet9)
- ANOVA Results 1: Sp...
- Adição de polpa e pectina de maracujá
- Adição de polpa e pectina de maracujá*Dias de armazenamento
- Multivariate Tests of Significance (Spreadsheet9)

Multivariate Tests of Significance (Spreadsheet9)
Sigma-restricted parameterization
Effective hypothesis decomposition

Effect	Test	Value	F	Effect df	Error df	p
Intercept	Wilks	0.000003	716664.9	6	11.00000	0.000000
Adição de polpa e pectina de maracujá	Wilks	0.010909	166.2	6	11.00000	0.000000
Dias de armazenamento	Wilks	0.005970	9.0	18	31.59798	0.000000
Adição de polpa e pectina de maracujá*Dias de armazenamento	Wilks	0.118154	2.0	18	31.59798	0.045225

ANOVA Results 1: Sp... | Adição de polpa e pectina de maracujá*Dias de armazenamento: ... | Multivariate Tests of Significance (Spreadsheet9)

For Help, press F1 | Spreadsheet9 | C1,V1 | Wilks | CAP | NUM | GRA

Figura 5- Análise de variância de viabilidade de micro-organismos iniciadores e probióticos do iogurte LABL e LABLM com e sem polpa e farinha do albedo de maracujá no período de armazenamento de 21 dias

APÊNDICE 7

STATISTICA - [Workbook1* - Multivariate Tests of Significance (Spreadsheet1)]

File Edit View Insert Format Statistics Data Mining Graphs Tools Data Workbook Window Help

Workbook1* ANOVA (Spreadsheet1) ANOVA Results 1: Sp... Multivariate Tests of Significance (Spreadsheet1)

Multivariate Tests of Significance (Spreadsheet1)
Sigma-restricted parameterization
Effective hypothesis decomposition

Test	Value	F	Effect df	Error df	p
Intercept	Wilks 0,000005	497520,5	5	12,00000	0,000000
Adição de polpa e pectina de maracujá	Wilks 0,026108	89,5	5	12,00000	0,000000
Armazenamento (Dias)	Wilks 0,014869	8,0	15	33,52812	0,000000
Adição de polpa e pectina de maracujá*Armazenamento (Dias)	Wilks 0,101224	2,9	15	33,52812	0,005248

Ready

Spreadsheet1 C1.V1 Wilks Sel:OFF Weight:OFF CAP NUM GRA

Figura 6- Análise de variância de viabilidade de micro-organismos iniciadores e probióticos do iogurte com e sem polpa e farinha do albedo de maracujá: Tratamentos SBLA e SBLAM, no período de armazenamento de 21 dias

APÊNDICE 8

STATISTICA - [Workbook2* - Tukey HSD test; variable Viabilidade de S. thermophilus (LogUFC.mL-1) (Spreadsheet3)]

File Edit View Insert Format Statistics Data Mining Graphs Tools Data Workbook Window Help

Workbook2*
ANOVA (Spreadsheet3)
ANOVA Results 1: Novo(a)...

Tukey HSD test; variable Viabilidade de S. thermophilus (LogUFC.mL-1) (Spreadsheet3)
Approximate Probabilities for Post Hoc Tests
Error: Between MS = ,11294, df = 16,000

Cell No.	Adição de polpa e pectina de maracujá	Dias de armazenamento	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)
			8,4800	7,7467	7,6733	7,5667	7,9433	7,6533	7,3467	7,2267
1	SEM	D1		0,200642	0,128529	0,064202	0,536562	0,113260	0,013983	0,006015
2	SEM	D7	0,200642		0,999993	0,997191	0,995156	0,999962	0,817895	0,572366
3	SEM	D14	0,128529	0,999993		0,999906	0,970467	1,000000	0,923457	0,728723
4	SEM	D21	0,064202	0,997191	0,999906		0,856709	0,999977	0,990564	0,907992
5	COM	D1	0,536562	0,995156	0,970467	0,856709		0,957202	0,413760	0,220939
6	COM	D7	0,113260	0,999962	1,000000	0,999977	0,957202		0,943438	0,768539
7	COM	D14	0,013983	0,817895	0,923457	0,990564	0,413760	0,943438		0,999795
8	COM	D21	0,006015	0,572366	0,728723	0,907992	0,220939	0,768539	0,999795	

Ready

Spreadsheet3 C1.V1 SEM CAP NUM GBA

Figura 7- Teste de Tuckey para verificação de diferenças significativas entre a viabilidade de *S. thermophilus* nos iogurtes com e sem adição de polpa e farinha do albedo de maracujá: Tratamentos Y e YM.

APÊNDICE 9

STATISTICA - [Workbook2* - Tukey HSD test; variable Viabilidade de *L. bulgaricus* (LogUFC.mL⁻¹) (Spreadsheet3)]

File Edit View Insert Format Statistics Data Mining Graphs Tools Data Workbook Window Help

Workbook2*

ANOVA (Spreadsheet3)

ANOVA Results

Adição de polpa e pectina de maracujá

Dias de armazenamento

Tukey HSD test: variable Viabilidade de *L. bulgaricus* (LogUFC.mL⁻¹) (Spreadsheet3)

Approximate Probabilities for Post Hoc Tests

Error: Between MS = .03030, df = 16,000

Cell No.			(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)
1	SEM	D1		0,001125	0,000178	0,000175	0,373977	0,000438	0,000175	0,000175
2	SEM	D7	0,001125		0,200211	0,056137	0,075922	0,997171	0,043147	0,007441
3	SEM	D14	0,000178	0,200211		0,994712	0,000589	0,500980	0,985153	0,639149
4	SEM	D21	0,000175	0,056137	0,994712		0,000274	0,178634	1,000000	0,957486
5	COM	D1	0,373977	0,075922	0,000589	0,000274		0,022064	0,000251	0,000185
6	COM	D7	0,000438	0,997171	0,500980	0,178634	0,022064		0,141169	0,026413
7	COM	D14	0,000175	0,043147	0,985153	1,000000	0,000251	0,141169		0,980086
8	COM	D21	0,000175	0,007441	0,639149	0,957486	0,000185	0,026413	0,980086	

Tukey HSD test: variable Viabilidade de *L. bulgaricus* (LogUFC.mL⁻¹) (Spreadsheet3)

Tukey HSD test: variable pH (Spreadsheet3)

Tukey HSD test: variable Acidez ("Domic") (Spreadsheet3)

ANOVA Results 1: Novo(a)...

ANOVA Results 1: Sp...

Spreadsheet3 C1.V1 SEM CAP NUM GRA

Figura 8- Teste de Tukey para verificação de diferenças significativas entre a viabilidade de *L. bulgaricus* nos iogurtes com e sem adição de polpa e farinha do albedo de maracujá: Tratamentos Y e YM, respectivamente

APÊNDICE 10

STATISTICA - [Workbook* - Tukey HSD test: variable Viabilidade de *S. thermophilus* (LogUFC.mL⁻¹) (Spreadsheet9)]

File Edit View Insert Format Statistics Data Mining Graphs Tools Data Workbook Window Help

Workbook*

ANOVA (Spreadsheet9)

Tukey HSD test: variable Viabilidade de *S. thermophilus* (LogUFC.mL⁻¹) (Spreadsheet9)

Approximate Probabilities for Post Hoc Tests

Error: Between MS = .02755, df = 16,000

Cell No.	Adição de polpa e farinha de maracujá	Dias de armazenamento	(1) 8,3067	(2) 7,8367	(3) 7,7400	(4) 7,6767	(5) 7,8333	(6) 7,6567	(7) 7,5633	(8) 7,4000
1	SEM	D1		0,049544	0,012664	0,005152	0,047313	0,003899	0,001132	0,000265
2	SEM	D7	0,049544		0,995294	0,926389	1,000000	0,875177	0,501124	0,077975
3	SEM	D14	0,012664	0,995294		0,999682	0,996203	0,998127	0,884801	0,258955
4	SEM	D21	0,005152	0,926389	0,999682		0,933385	1,000000	0,987971	0,487065
5	COM	D1	0,047313	1,000000	0,996203	0,933385		0,884801	0,515311	0,081523
6	COM	D7	0,003899	0,875177	0,998127	1,000000	0,884801		0,996203	0,573058
7	COM	D14	0,001132	0,501124	0,884801	0,987971	0,515311	0,996203		0,918956
8	COM	D21	0,000265	0,077975	0,258955	0,487065	0,081523	0,573058	0,918956	

For Help, press F1

Spreadsheet9 C1.V1 SEM CAP NUM GRA

Figura 9- Teste de Tuckey para verificação de diferenças significativas entre a viabilidade de *S. thermophilus* nos iogurtes com e sem adição de polpa e farinha do albedo de maracujá: Tratamentos LABL e LABLM, respectivamente.

APÊNDICE 11

STATISTICA - [Workbook4* - Tukey HSD test: variable Viabilidade de *L. bulgaricus* (LogUFC.mL⁻¹) (Spreadsheet9)]

File Edit View Insert Format Statistics Data Mining Graphs Tools Data Workbook Window Help

Workbook4* (Spreadsheet9)

Tukey HSD test: variable Viabilidade de *L. bulgaricus* (LogUFC.mL⁻¹) (Spreadsheet9)

Approximate Probabilities for Post Hoc Tests

Error: Between MS = .02670, df = 16, 000

Adição de polpa e pectina de maracujá	Dias de armazenamento	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)
		7,8867	7,3800	6,9033	6,8000	7,7533	7,3067	6,7633	6,6533
1 SEM	D1								
2 SEM	D7	0,026518							
3 SEM	D14	0,000195	0,040678						
4 SEM	D21	0,000178	0,009184	0,992288					
5 COM	D1	0,967948	0,163402	0,000346	0,000208				
6 COM	D7	0,009184	0,999090	0,111201	0,026518	0,061948			
7 COM	D14	0,000177	0,005421	0,958727	0,999991	0,000193	0,015633		
8 COM	D21	0,000175	0,001207	0,584958	0,947849	0,000178	0,003233	0,988909	

For Help, press F1

Spreadsheet9 C1.V1 SEM CAP NUM GRA

Figura 10 Teste de Tuckey para verificação de diferenças significativas entre a viabilidade de *L. bulgaricus* nos iogurtes com e sem adição de polpa e farinha do albedo de maracujá: Tratamentos LABL e LABLM, respectivamente

APÊNDICE 12

STATISTICA - [Workbook1* - Tukey HSD test; variable Viabilidade S. thermophilus (LogUFC.mL⁻¹) (Spreadsheet1)]

File Edit View Insert Format Statistics Data Mining Graphs Tools Data Workbook Window Help

Workbook1*

ANOVA (Spreadsheet1)

Adição de polpa e pectina de maracujá

Tukey HSD test; variable Viabilidade S. thermophilus (LogUFC.mL⁻¹) (Spreadsheet1)

Approximate Probabilities for Post Hoc Tests

Error: Between MS = .10168, df = 16,000

Cell No.	Adição de polpa e pectina de maracujá	Armazenamento (Dias)	(1) 8,9233	(2) 8,2467	(3) 7,8267	(4) 7,7500	(5) 8,4300	(6) 7,6100	(7) 7,4733	(8) 7,3700
1	SEM	D1		0,225412	0,011925	0,006758	0,572500	0,002465	0,000987	0,000547
2	SEM	D7	0,225412		0,736876	0,564919	0,995652	0,284669	0,121931	0,059761
3	SEM	D14	0,011925	0,736876		0,999986	0,341978	0,988302	0,863332	0,656017
4	SEM	D21	0,006758	0,564919	0,999986		0,220933	0,999209	0,956002	0,817028
5	COM	D1	0,572500	0,995652	0,341978	0,220933		0,088873	0,033560	0,015668
6	COM	D7	0,002465	0,284669	0,988302	0,999209	0,088873		0,999323	0,979227
7	COM	D14	0,000987	0,121931	0,863332	0,956002	0,033560	0,999323		0,999892
8	COM	D21	0,000547	0,059761	0,656017	0,817028	0,015668	0,979227	0,999892	

Ready

General ANOVA/MAN... Spreadsheet1 C1.V1 SEM CAP NUM GBA

Figura 11- Teste de Tuckey para verificação de diferenças significativas entre a viabilidade de *S. thermophilus* nos iogurtes com e sem adição de polpa e farinha do albedo de maracujá: Tratamentos SBLAM e SBLA, respectivamente.

APÊNDICE 13

Tabela 2- Contagem média de bactérias probióticas nos iogurtes LABL, LABLM, SBLA e SBLAM no período do 1° ao 21° dia de armazenamento

Contagem média de bactérias probióticas (LogUFC.mL ⁻¹)								
logurte	LABL		LABLM		SBLA		SBLAM	
Dias	BI	La	BI	La	B. Bb-12	La	B.Bb-12	La
1°	7,84	7,32	7,75	7,38	8,41	7,63	8,00	7,19
7°	7,59	6,68	7,47	7,24	7,77	7,31	7,13	7,09
14°	7,45	6,36	7,37	6,53	7,57	6,98	7,02	6,54
21°	7,34	5,80	7,27	5,71	7,49	6,65	6,98	6,31

LABL = logurte sem adição de polpa e farinha do albedo de maracujá contendo *S. thermophilus*, *L. bulgaricus*, *B. lactis* e *L. acidophilus*

LABLM = logurte com adição de polpa e farinha do albedo de maracujá contendo *S. thermophilus*, *L. bulgaricus*, *B. lactis* e *L. acidophilus*

SBLA = logurte sem adição de polpa e farinha do albedo de maracujá contendo *S. thermophilus*, *B. Bb-12* e *L. acidophilus*

SBLAM = logurte com adição de polpa e farinha do albedo de maracujá contendo *S. thermophilus*, *B. Bb-12* e *L. acidophilus*

BI = *Bifidobacterium lactis*

La = *Lactobacillus acidophilus*

B. Bb-12 = *Bifidobacterium Bb-12*

APÊNDICE 14

STATISTICA - [Workbook4* - Tukey HSD test: variable Viabilidade de *B. lactis* (LogUFC.mL⁻¹) (Spreadsheet9)]

File Edit View Insert Format Statistics Data Mining Graphs Tools Data Workbook Window Help

Workbook4*

ANOVA (Spreadsheet9)

ANOVA Results 1: Spreadsheet9

Tukey HSD test: variable Viabilidade de *B. lactis* (LogUFC.mL⁻¹) (Spreadsheet9)

Approximate Probabilities for Post Hoc Tests

Error: Between MS = .01547, df = 16, 000

Cell No.	Adição de polpa e farinha de maracujá	Dias de armazenamento	(1) 7,8367	(2) 7,5900	(3) 7,4467	(4) 7,3400	(5) 7,7500	(6) 7,4700	(7) 7,3667	(8) 7,2667
1	SEM	D1		0,291512	0,024417	0,003267	0,986485	0,037848	0,005355	0,000920
2	SEM	D7	0,291512		0,839533	0,277752	0,757417	0,926050	0,400679	0,083502
3	SEM	D14	0,024417	0,839533		0,958505	0,118395	0,999997	0,991478	0,645022
4	SEM	D21	0,003267	0,277752	0,958505		0,016717	0,893535	0,999993	0,994930
5	COM	D1	0,986485	0,757417	0,118395	0,016717		0,174804	0,027688	0,004175
6	COM	D7	0,037848	0,926050	0,999997	0,893535	0,174804		0,964773	0,509441
7	COM	D14	0,005355	0,400679	0,991478	0,999993	0,027688	0,964773		0,970336
8	COM	D21	0,000920	0,083502	0,645022	0,994930	0,004175	0,509441	0,970336	

For Help, press F1

Spreadsheet9 C1.V1 SEM CAP NUM GRA

Figura 12- Teste de Tuckey para verificação de diferenças significativas entre a viabilidade de *B. lactis* nos iogurtes com e sem adição de polpa e farinha do albedo de maracujá: Tratamentos LABL e LABLM, respectivamente

APÊNDICE 15

STATISTICA - [Workbook* - Tukey HSD test: variable Viabilidade de *L. acidophilus* (LogUFC.mL⁻¹) (Spreadsheet9)]

File Edit View Insert Format Statistics Data Mining Graphs Tools Data Workbook Window Help

Workbook*
ANOVA (Spreadsheet9)
ANOVA Results 1: Sp...

Tukey HSD test: variable Viabilidade de *L. acidophilus* (LogUFC.mL⁻¹) (Spreadsheet9)
Approximate Probabilities for Post Hoc Tests
Error: Between MS = .11129, df = 16,000

Cell No.	Adição de polpa e pectina de maracujá	Dias de armazenamento	(1) 7,3233	(2) 6,6833	(3) 6,3633	(4) 5,8000	(5) 7,3767	(6) 7,2433	(7) 6,5300	(8) 5,7067
1	SEM	D1		0,326875	0,044565	0,000950	0,999999	0,999986	0,134669	0,000570
2	SEM	D7	0,326875		0,928072	0,075067	0,244896	0,478861	0,998940	0,039700
3	SEM	D14	0,044565	0,928072		0,471967	0,030745	0,076755	0,998184	0,299507
4	SEM	D21	0,000950	0,075067	0,471967		0,000701	0,001553	0,198221	0,999960
5	COM	D1	0,999999	0,244896	0,030745	0,000701		0,999569	0,095648	0,000445
6	COM	D7	0,999986	0,478861	0,076755	0,001553	0,999569		0,218483	0,000880
7	COM	D14	0,134669	0,998940	0,998184	0,198221	0,095648	0,218483		0,111277
8	COM	D21	0,000570	0,039700	0,299507	0,999960	0,000445	0,000880	0,111277	

Tukey HSD test: variable Viabilidade de *L. acidophilus* (LogUFC.mL⁻¹) (Spreadsheet9) | Tukey HSD test: variable pH (Spreadsheet9) | Tukey HSD test: variable Acidez ("Domic") (Spreadsheet9)

ANOVA Results 1: Sp... | Spr | STATISTICA - [Workbook* - Tukey HSD test: variable Viabilidade de *L. acidophilus* (LogUFC.mL⁻¹) (Spreadsheet9)]

For Help, press F1

Figura 13 - Teste de Tukey para verificação de diferenças significativas entre a viabilidade de *L. acidophilus* nos iogurtes com e sem adição de polpa e farinha do albedo de maracujá: Tratamentos LABL e LABLM, respectivamente.

APÊNDICE 17

STATISTICA - [Workbook1* - Tukey HSD test; variable Viabilidade de *L. acidophilus* (LogUFC.mL⁻¹) (Spreadsheet1)]

File Edit View Insert Format Statistics Data Mining Graphs Tools Data Workbook Window Help

Workbook1*
ANOVA (Spreadsheet1)
ANOVA Results
ANOVA Residuals
ANOVA Total
ANOVA Error
ANOVA F
ANOVA P
ANOVA T
ANOVA D
ANOVA S
ANOVA E
ANOVA M
ANOVA N
ANOVA O
ANOVA R
ANOVA U
ANOVA I
ANOVA J
ANOVA K
ANOVA L
ANOVA M
ANOVA N
ANOVA O
ANOVA P
ANOVA Q
ANOVA R
ANOVA S
ANOVA T
ANOVA U
ANOVA V
ANOVA W
ANOVA X
ANOVA Y
ANOVA Z
ANOVA AA
ANOVA AB
ANOVA AC
ANOVA AD
ANOVA AE
ANOVA AF
ANOVA AG
ANOVA AH
ANOVA AI
ANOVA AJ
ANOVA AK
ANOVA AL
ANOVA AM
ANOVA AN
ANOVA AO
ANOVA AP
ANOVA AQ
ANOVA AR
ANOVA AS
ANOVA AT
ANOVA AU
ANOVA AV
ANOVA AW
ANOVA AX
ANOVA AY
ANOVA AZ
ANOVA BA
ANOVA BB
ANOVA BC
ANOVA BD
ANOVA BE
ANOVA BF
ANOVA BG
ANOVA BH
ANOVA BI
ANOVA BJ
ANOVA BK
ANOVA BL
ANOVA BM
ANOVA BN
ANOVA BO
ANOVA BP
ANOVA BQ
ANOVA BR
ANOVA BS
ANOVA BT
ANOVA BU
ANOVA BV
ANOVA BW
ANOVA BX
ANOVA BY
ANOVA BZ
ANOVA CA
ANOVA CB
ANOVA CC
ANOVA CD
ANOVA CE
ANOVA CF
ANOVA CG
ANOVA CH
ANOVA CI
ANOVA CJ
ANOVA CK
ANOVA CL
ANOVA CM
ANOVA CN
ANOVA CO
ANOVA CP
ANOVA CQ
ANOVA CR
ANOVA CS
ANOVA CT
ANOVA CU
ANOVA CV
ANOVA CW
ANOVA CX
ANOVA CY
ANOVA CZ
ANOVA DA
ANOVA DB
ANOVA DC
ANOVA DD
ANOVA DE
ANOVA DF
ANOVA DG
ANOVA DH
ANOVA DI
ANOVA DJ
ANOVA DK
ANOVA DL
ANOVA DM
ANOVA DN
ANOVA DO
ANOVA DP
ANOVA DQ
ANOVA DR
ANOVA DS
ANOVA DT
ANOVA DU
ANOVA DV
ANOVA DW
ANOVA DX
ANOVA DY
ANOVA DZ
ANOVA EA
ANOVA EB
ANOVA EC
ANOVA ED
ANOVA EE
ANOVA EF
ANOVA EG
ANOVA EH
ANOVA EI
ANOVA EJ
ANOVA EK
ANOVA EL
ANOVA EM
ANOVA EN
ANOVA EO
ANOVA EP
ANOVA EQ
ANOVA ER
ANOVA ES
ANOVA ET
ANOVA EU
ANOVA EV
ANOVA EW
ANOVA EX
ANOVA EY
ANOVA EZ
ANOVA FA
ANOVA FB
ANOVA FC
ANOVA FD
ANOVA FE
ANOVA FF
ANOVA FG
ANOVA FH
ANOVA FI
ANOVA FJ
ANOVA FK
ANOVA FL
ANOVA FM
ANOVA FN
ANOVA FO
ANOVA FP
ANOVA FQ
ANOVA FR
ANOVA FS
ANOVA FT
ANOVA FU
ANOVA FV
ANOVA FW
ANOVA FX
ANOVA FY
ANOVA FZ
ANOVA GA
ANOVA GB
ANOVA GC
ANOVA GD
ANOVA GE
ANOVA GF
ANOVA GG
ANOVA GH
ANOVA GI
ANOVA GJ
ANOVA GK
ANOVA GL
ANOVA GM
ANOVA GN
ANOVA GO
ANOVA GP
ANOVA GQ
ANOVA GR
ANOVA GS
ANOVA GT
ANOVA GU
ANOVA GV
ANOVA GW
ANOVA GX
ANOVA GY
ANOVA GZ
ANOVA HA
ANOVA HB
ANOVA HC
ANOVA HD
ANOVA HE
ANOVA HF
ANOVA HG
ANOVA HH
ANOVA HI
ANOVA HJ
ANOVA HK
ANOVA HL
ANOVA HM
ANOVA HN
ANOVA HO
ANOVA HP
ANOVA HQ
ANOVA HR
ANOVA HS
ANOVA HT
ANOVA HU
ANOVA HV
ANOVA HW
ANOVA HX
ANOVA HY
ANOVA HZ
ANOVA IA
ANOVA IB
ANOVA IC
ANOVA ID
ANOVA IE
ANOVA IF
ANOVA IG
ANOVA IH
ANOVA II
ANOVA IJ
ANOVA IK
ANOVA IL
ANOVA IM
ANOVA IN
ANOVA IO
ANOVA IP
ANOVA IQ
ANOVA IR
ANOVA IS
ANOVA IT
ANOVA IU
ANOVA IV
ANOVA IW
ANOVA IX
ANOVA IY
ANOVA IZ
ANOVA JA
ANOVA JB
ANOVA JC
ANOVA JD
ANOVA JE
ANOVA JF
ANOVA JG
ANOVA JH
ANOVA JI
ANOVA JJ
ANOVA JK
ANOVA JL
ANOVA JM
ANOVA JN
ANOVA JO
ANOVA JP
ANOVA JQ
ANOVA JR
ANOVA JS
ANOVA JT
ANOVA JU
ANOVA JV
ANOVA JW
ANOVA JX
ANOVA JY
ANOVA JZ
ANOVA KA
ANOVA KB
ANOVA KC
ANOVA KD
ANOVA KE
ANOVA KF
ANOVA KG
ANOVA KH
ANOVA KI
ANOVA KJ
ANOVA KK
ANOVA KL
ANOVA KM
ANOVA KN
ANOVA KO
ANOVA KP
ANOVA KQ
ANOVA KR
ANOVA KS
ANOVA KT
ANOVA KU
ANOVA KV
ANOVA KW
ANOVA KX
ANOVA KY
ANOVA KZ
ANOVA LA
ANOVA LB
ANOVA LC
ANOVA LD
ANOVA LE
ANOVA LF
ANOVA LG
ANOVA LH
ANOVA LI
ANOVA LJ
ANOVA LK
ANOVA LL
ANOVA LM
ANOVA LN
ANOVA LO
ANOVA LP
ANOVA LQ
ANOVA LR
ANOVA LS
ANOVA LT
ANOVA LU
ANOVA LV
ANOVA LW
ANOVA LX
ANOVA LY
ANOVA LZ
ANOVA MA
ANOVA MB
ANOVA MC
ANOVA MD
ANOVA ME
ANOVA MF
ANOVA MG
ANOVA MH
ANOVA MI
ANOVA MJ
ANOVA MK
ANOVA ML
ANOVA MN
ANOVA MO
ANOVA MP
ANOVA MQ
ANOVA MR
ANOVA MS
ANOVA MT
ANOVA MU
ANOVA MV
ANOVA MW
ANOVA MX
ANOVA MY
ANOVA MZ
ANOVA NA
ANOVA NB
ANOVA NC
ANOVA ND
ANOVA NE
ANOVA NF
ANOVA NG
ANOVA NH
ANOVA NI
ANOVA NJ
ANOVA NK
ANOVA NL
ANOVA NM
ANOVA NO
ANOVA NP
ANOVA NQ
ANOVA NR
ANOVA NS
ANOVA NT
ANOVA NU
ANOVA NV
ANOVA NW
ANOVA NX
ANOVA NY
ANOVA NZ
ANOVA OA
ANOVA OB
ANOVA OC
ANOVA OD
ANOVA OE
ANOVA OF
ANOVA OG
ANOVA OH
ANOVA OI
ANOVA OJ
ANOVA OK
ANOVA OL
ANOVA OM
ANOVA ON
ANOVA OO
ANOVA OP
ANOVA OQ
ANOVA OR
ANOVA OS
ANOVA OT
ANOVA OU
ANOVA OV
ANOVA OW
ANOVA OX
ANOVA OY
ANOVA OZ
ANOVA PA
ANOVA PB
ANOVA PC
ANOVA PD
ANOVA PE
ANOVA PF
ANOVA PG
ANOVA PH
ANOVA PI
ANOVA PJ
ANOVA PK
ANOVA PL
ANOVA PM
ANOVA PN
ANOVA PO
ANOVA PP
ANOVA PQ
ANOVA PR
ANOVA PS
ANOVA PT
ANOVA PU
ANOVA PV
ANOVA PW
ANOVA PX
ANOVA PY
ANOVA PZ
ANOVA QA
ANOVA QB
ANOVA QC
ANOVA QD
ANOVA QE
ANOVA QF
ANOVA QG
ANOVA QH
ANOVA QI
ANOVA QJ
ANOVA QK
ANOVA QL
ANOVA QM
ANOVA QN
ANOVA QO
ANOVA QP
ANOVA QQ
ANOVA QR
ANOVA QS
ANOVA QT
ANOVA QU
ANOVA QV
ANOVA QW
ANOVA QX
ANOVA QY
ANOVA QZ
ANOVA RA
ANOVA RB
ANOVA RC
ANOVA RD
ANOVA RE
ANOVA RF
ANOVA RG
ANOVA RH
ANOVA RI
ANOVA RJ
ANOVA RK
ANOVA RL
ANOVA RM
ANOVA RN
ANOVA RO
ANOVA RP
ANOVA RQ
ANOVA RR
ANOVA RS
ANOVA RT
ANOVA RU
ANOVA RV
ANOVA RW
ANOVA RX
ANOVA RY
ANOVA RZ
ANOVA SA
ANOVA SB
ANOVA SC
ANOVA SD
ANOVA SE
ANOVA SF
ANOVA SG
ANOVA SH
ANOVA SI
ANOVA SJ
ANOVA SK
ANOVA SL
ANOVA SM
ANOVA SN
ANOVA SO
ANOVA SP
ANOVA SQ
ANOVA SR
ANOVA SS
ANOVA ST
ANOVA SU
ANOVA SV
ANOVA SW
ANOVA SX
ANOVA SY
ANOVA SZ
ANOVA TA
ANOVA TB
ANOVA TC
ANOVA TD
ANOVA TE
ANOVA TF
ANOVA TG
ANOVA TH
ANOVA TI
ANOVA TJ
ANOVA TK
ANOVA TL
ANOVA TM
ANOVA TN
ANOVA TO
ANOVA TP
ANOVA TQ
ANOVA TR
ANOVA TS
ANOVA TT
ANOVA TU
ANOVA TV
ANOVA TW
ANOVA TX
ANOVA TY
ANOVA TZ
ANOVA UA
ANOVA UB
ANOVA UC
ANOVA UD
ANOVA UE
ANOVA UF
ANOVA UG
ANOVA UH
ANOVA UI
ANOVA UJ
ANOVA UK
ANOVA UL
ANOVA UM
ANOVA UN
ANOVA UO
ANOVA UP
ANOVA UQ
ANOVA UR
ANOVA US
ANOVA UT
ANOVA UU
ANOVA UV
ANOVA UW
ANOVA UX
ANOVA UY
ANOVA UZ
ANOVA VA
ANOVA VB
ANOVA VC
ANOVA VD
ANOVA VE
ANOVA VF
ANOVA VG
ANOVA VH
ANOVA VI
ANOVA VJ
ANOVA VK
ANOVA VL
ANOVA VM
ANOVA VN
ANOVA VO
ANOVA VP
ANOVA VQ
ANOVA VR
ANOVA VS
ANOVA VT
ANOVA VU
ANOVA VV
ANOVA VW
ANOVA VX
ANOVA VY
ANOVA VZ
ANOVA WA
ANOVA WB
ANOVA WC
ANOVA WD
ANOVA WE
ANOVA WF
ANOVA WG
ANOVA WH
ANOVA WI
ANOVA WJ
ANOVA WK
ANOVA WL
ANOVA WM
ANOVA WN
ANOVA WO
ANOVA WP
ANOVA WQ
ANOVA WR
ANOVA WS
ANOVA WT
ANOVA WU
ANOVA WV
ANOVA WW
ANOVA WX
ANOVA WY
ANOVA WZ
ANOVA XA
ANOVA XB
ANOVA XC
ANOVA XD
ANOVA XE
ANOVA XF
ANOVA XG
ANOVA XH
ANOVA XI
ANOVA XJ
ANOVA XK
ANOVA XL
ANOVA XM
ANOVA XN
ANOVA XO
ANOVA XP
ANOVA XQ
ANOVA XR
ANOVA XS
ANOVA XT
ANOVA XU
ANOVA XV
ANOVA XW
ANOVA XX
ANOVA XY
ANOVA XZ
ANOVA YA
ANOVA YB
ANOVA YC
ANOVA YD
ANOVA YE
ANOVA YF
ANOVA YG
ANOVA YH
ANOVA YI
ANOVA YJ
ANOVA YK
ANOVA YL
ANOVA YM
ANOVA YN
ANOVA YO
ANOVA YP
ANOVA YQ
ANOVA YR
ANOVA YS
ANOVA YT
ANOVA YU
ANOVA YV
ANOVA YW
ANOVA YX
ANOVA YY
ANOVA YZ
ANOVA ZA
ANOVA ZB
ANOVA ZC
ANOVA ZD
ANOVA ZE
ANOVA ZF
ANOVA ZG
ANOVA ZH
ANOVA ZI
ANOVA ZJ
ANOVA ZK
ANOVA ZL
ANOVA ZM
ANOVA ZN
ANOVA ZO
ANOVA ZP
ANOVA ZQ
ANOVA ZR
ANOVA ZS
ANOVA ZT
ANOVA ZU
ANOVA ZV
ANOVA ZW
ANOVA ZX
ANOVA ZY
ANOVA ZZ

Tukey HSD test; variable Viabilidade de *L. acidophilus* (LogUFC.mL⁻¹) (Spreadsheet1)
Approximate Probabilities for Post Hoc Tests
Error: Between MS = 12809, df = 16,000

Adição de polpa e pectina de maracujá	Armazenamento (Dias)	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)
SEM	D1	7,6267	7,3100	6,9767	6,6467	7,1933	7,0867	6,5367	6,3133
SEM	D7	0,951442	0,387812	0,061276	0,805584	0,600363	0,030178	0,006920	
SEM	D14	0,387812	0,937520	0,364888	0,999888	0,992870	0,209185	0,055137	
SEM	D21	0,061276	0,364888	0,940495	0,586806	0,794132	0,999924	0,937520	
COM	D1	0,805584	0,999888	0,994048	0,586806	0,794132	0,999938	0,376247	0,113509
COM	D7	0,600363	0,992870	0,999924	0,794132	0,999938	0,580036	0,209185	
COM	D14	0,030178	0,209185	0,794132	0,999924	0,376247	0,580036	0,992870	
COM	D21	0,006920	0,055137	0,364888	0,937520	0,113509	0,209185	0,992870	

General ANOVA/MAN... Spreadsheet1 C1 V1 SEM CAP NUM GBA

Figura 15 - Teste de Tuckey para verificação de diferenças significativas entre a viabilidade de *L. acidophilus* nos iogurtes com e sem adição de polpa e farinha do albedo de maracujá: Tratamentos SBLAM e SBLA, respectivamente.

APÊNDICE 18

Tabela 3 - Valores médios de pH e acidez (°Dornic) dos iogurtes Y, TM, LABL, LABLM, SBLA e SBLAM durante 21 dias de armazenamento refrigerado.

logurte	Dias	pH	Acidez (°D)
Y	1	4,50	114,00
Y	7	4,25	131,17
Y	14	4,19	137,23
Y	21	4,14	143,27
YM	1	4,30	130,00
YM	7	4,15	141,00
YM	14	4,14	143,40
YM	21	4,10	146,17
LABL	1	4,41	119,37
LABL	7	4,39	121,63
LABL	14	4,35	125,23
LABL	21	4,31	133,43
LABLM	1	4,29	131,00
LABLM	7	4,20	134,23
LABLM	14	4,18	137,47
LABLM	21	4,16	143,00
SBLA	1	4,50	111,33
SBLA	7	4,35	124,33
SBLA	14	4,34	128,17
SBLA	21	4,30	129,83
SBLAM	1	4,30	126,17
SBLAM	7	4,26	131,60
SBLAM	14	4,24	133,40
SBLAM	21	4,23	134,10

APÊNDICE 19

STATISTICA - [Workbook2* - Tukey HSD test; variable pH (Spreadsheet3)]

File Edit View Insert Format Statistics Data Mining Graphs Tools Data Workbook Window Help

Workbooks: Workbook2*
 ANOVA (Spreadsheet3)
 ANOVA Results: 1: Novoja...
 ANOVA Results 1: Sp...

Tukey HSD test; variable pH (Spreadsheet3)
 Approximate Probabilities for Post Hoc Tests
 Error: Between MS = .00045, df = 16,000

Cell No.	Adição de polpa e pectina de maracujá	Dias de armazenamento	(1) 4,4967	(2) 4,2533	(3) 4,1900	(4) 4,1400	(5) 4,3000	(6) 4,1500	(7) 4,1433	(8) 4,1000
1	SEM	D1		0,000175	0,000175	0,000175	0,000175	0,000175	0,000175	0,000175
2	SEM	D7	0,000175		0,034710	0,000299	0,193731	0,000547	0,000353	0,000175
3	SEM	D14	0,000175	0,034710		0,140736	0,000353	0,345746	0,193731	0,001865
4	SEM	D21	0,000175	0,000299	0,140736		0,000175	0,998755	0,999999	0,345746
5	COM	D1	0,000175	0,193731	0,000353	0,000175		0,000175	0,000175	0,000175
6	COM	D7	0,000175	0,000547	0,345746	0,998755	0,000175		0,999912	0,140736
7	COM	D14	0,000175	0,000353	0,193731	0,999999	0,000175	0,999912		0,261681
8	COM	D21	0,000175	0,000175	0,001865	0,345746	0,000175	0,140736	0,261681	

Tukey HSD test; variable Viabilidade de L. bulgaricus (LogUF...)
 Tukey HSD test; variable pH (Spreadsheet3)
 Tukey HSD test; variable Acidez ("Domic") (Spreadsheet3)

Ready

Figura 16 - Teste de Tuckey para verificação de diferenças significativas entre pH nos iogurtes com e sem adição de polpa e farinha do albedo de maracujá: Tratamentos Y e YM, respectivamente

APÊNDICE 20

Tukey HSD test: variable Acidez ("Domic) (Spreadsheet3)
Approximate Probabilities for Post Hoc Tests
Error: Between MS = 1.1092, df = 16,000

Cell No.	Adição de polpa e pectina de maracujá	Dias de armazenamento	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)
1	SEM	D1	114,00	131,17	137,23	143,27	130,00	141,00	143,40	146,17
2	SEM	D7	0,000175	0,000175	0,000175	0,000175	0,000175	0,000175	0,000175	0,000175
3	SEM	D14	0,000175	0,000215	0,000215	0,000215	0,000175	0,000175	0,000175	0,000175
4	SEM	D21	0,000175	0,000175	0,000218	0,000218	0,000175	0,000175	0,000206	0,000175
5	COM	D1	0,000175	0,000175	0,000177	0,000175	0,000175	0,000175	0,000175	0,000175
6	COM	D7	0,000175	0,000175	0,000175	0,212678	0,000175	0,000175	0,165383	0,000175
7	COM	D14	0,000175	0,000175	0,000206	1,000000	0,000175	0,165383	0,078638	0,000175
8	COM	D21	0,000175	0,000175	0,000175	0,059180	0,000175	0,000175	0,078638	0,000175

Figura 17 - Teste de Tuckey para verificação de diferenças significativas entre acidez nos iogurtes com e sem adição de polpa e farinha do albedo de maracujá: Tratamentos Y e YM, respectivamente.

APÊNDICE 21

STATISTICA - [Workbook4* - Tukey HSD test: variable pH (Spreadsheet9)]

File Edit View Insert Format Statistics Data Mining Graphs Tools Data Workbook Window Help

Workbook4* (Spreadsheet9)

ANOVA Results 1: Sp...

Tukey HSD test: variable pH (Spreadsheet9)

Approximate Probabilities for Post Hoc Tests

Error: Between MS = .00017, df = 16, 000

Cell No.	Adição de polpa e pectina de maracujá	Dias de armazenamento	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)
1	SEM	D1	4,4067	4,3900	4,3500	4,3133	4,2933	4,2000	4,1833	4,1633
2	SEM	D7		0,764905	0,001524	0,000176	0,000175	0,000175	0,000175	0,000175
3	SEM	D14		0,001524	0,029151	0,000205	0,000175	0,000175	0,000175	0,000175
4	SEM	D21		0,000176	0,000205	0,052615	0,052615	0,000175	0,000175	0,000175
5	COM	D1		0,000175	0,000175	0,001524	0,584806	0,000176	0,000175	0,000175
6	COM	D7		0,000175	0,000175	0,000175	0,000175	0,000176	0,764905	0,052615
7	COM	D14		0,000175	0,000175	0,000175	0,000175	0,000175	0,764905	0,584806
8	COM	D21		0,000175	0,000175	0,000175	0,000175	0,052615	0,584806	

For Help, press F1

Spreadsheet9 C1.V1 SEM CAP NUM GRA

Figura 18 - Teste de Tuckey para verificação de diferenças significativas entre os pH dos iogurtes com e sem adição de polpa e farinha do albedo de maracujá: Tratamentos LABL e LABLM, respectivamente

APÊNDICE 23

STATISTICA - [Workbook1* - Tukey HSD test: variable pH (Spreadsheet1)]

File Edit View Insert Format Statistics Data Mining Graphs Tools Data Workbook Window Help

Add to Workbook Add to Report Add to MS Word

Arial 10 B I U

Workbook1*

ANOVA (Spreadsheet1)

ANOVA Residuals

Adição de polpa e pectina de maracujá

Armazenamento (Dias)

Cell No.

1 SEM D1

2 SEM D7

3 SEM D14

4 SEM D21

5 COM D1

6 COM D7

7 COM D14

8 COM D21

Tukey HSD test: variable pH (Spreadsheet1)

Approximate Probabilities for Post Hoc Tests

Error: Between MS = .00021, df = 16, 000

	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)
	4,5033	4,3533	4,3367	4,3033	4,2967	4,2600	4,2400	4,2333
1		0,000175	0,000175	0,000175	0,000175	0,000175	0,000175	0,000175
2	0,000175		0,844613	0,012189	0,004166	0,000182	0,000175	0,000175
3	0,000175	0,844613		0,162776	0,060482	0,000325	0,000179	0,000176
4	0,000175	0,012189	0,162776		0,998973	0,035768	0,001495	0,000614
5	0,000175	0,004166	0,060482	0,998973		0,100485	0,004166	0,001495
6	0,000175	0,000182	0,000325	0,035768	0,100485		0,698918	0,379619
7	0,000175	0,000175	0,000179	0,001495	0,004166	0,698918		0,998973
8	0,000175	0,000175	0,000176	0,000614	0,001495	0,379619	0,998973	

Tukey HSD test: variable Viabilidade de L. acidophilus (LogUF...)

Tukey HSD test: variable pH (Spreadsheet1)

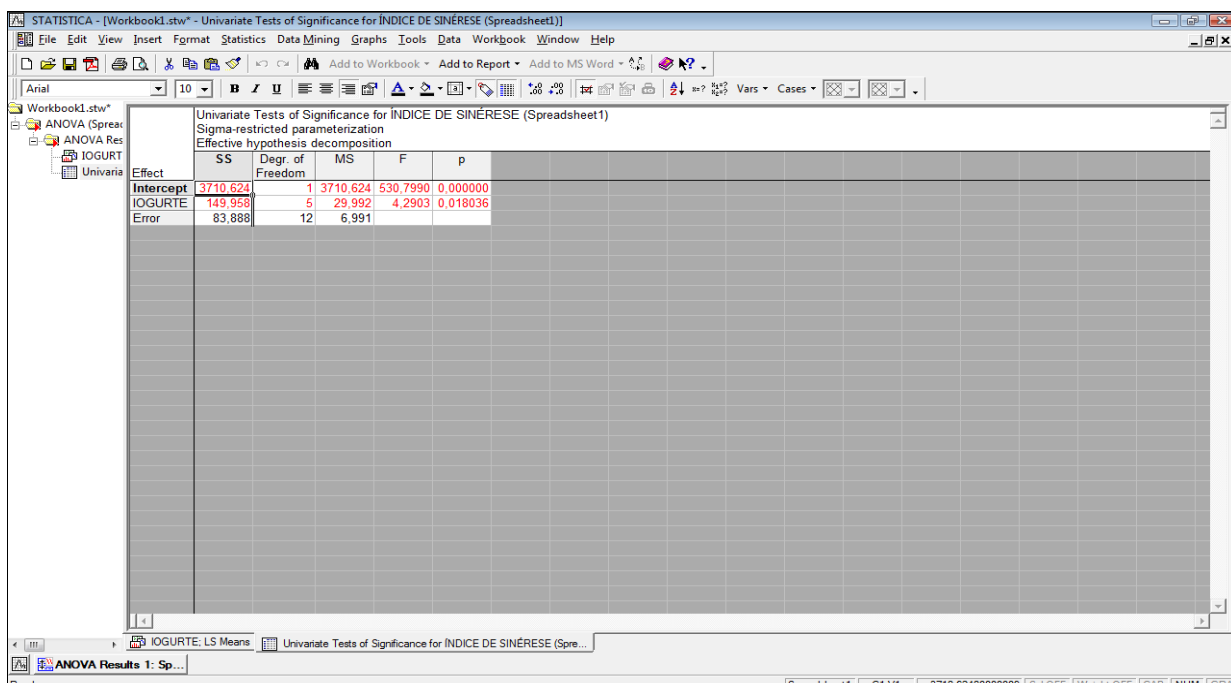
Tukey HSD test: variable Acidez ("Domic) (Spreadsheet1)

General ANOVA/MAN...

Spreadsheet1 C1 V1 SEM CAP NUM GBA

Figura 19 - Teste de Tukey para verificação de diferenças significativas entre os valores de pH dos iogurtes com e sem adição de polpa e farinha do albedo de maracujá: Tratamentos SBLAM e SBLA, respectivamente.

APÊNDICE 25



STATISTICA - [Workbook1.stw* - Univariate Tests of Significance for ÍNDICE DE SINÉRESE (Spreadsheet1)]

File Edit View Insert Format Statistics Data Mining Graphs Tools Data Workbook Window Help

Univariate Tests of Significance for ÍNDICE DE SINÉRESE (Spreadsheet1)

Sigma-restricted parameterization

Effective hypothesis decomposition

Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	3710.624	1	3710.624	530.7990	0.000000
IOGURTE	149.958	5	29.992	4.2903	0.018036
Error	83.888	12	6.991		

IOGURTE: LS Means

ANOVA Results 1: Sp...

Spreadsheet1 C130 3710.624/08888889 [S] [OFF] [MESSAGE] [FAR] [NUM] [GRA]

Figura 21- Análise de variância índice de sinérese em iogurtes Y, YM, LABL, LABLM, SBLA E SBLAM no 21º dia de análise.

APÊNDICE 26

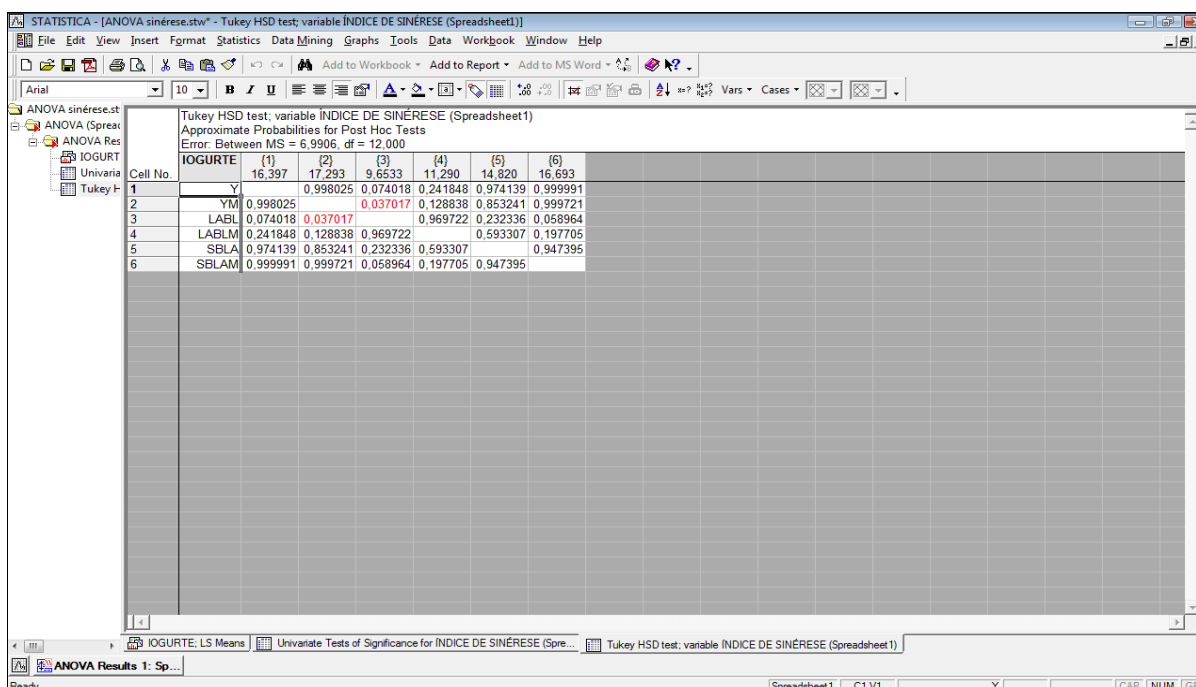


Figura 22 - Teste de Tuckey para avaliação índice de sinérese em iogurtes Y, YM, LABL, LABLM, SBLA E SBLAM no 21º dia de análise.

APÊNDICE 27

STATISTICA - [Teste Tukey Nota x Atributos sensoriais.stw - Tukey HSD test; variable Nota (Spreadsheet4)]

File Edit View Insert Format Statistics Data Mining Graphs Tools Data Workbook Window Help

Teste Tukey Nota x Atributos sensoriais.stw

ANOVA Results 1: Spread...

Tukey HSD test; variable Nota (Spreadsheet4)

Approximate Probabilities for Post Hoc Tests

Error: Between MS = 1,0776, df = 369,00

Cell No.	Atributos Sensoriais	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)
1	Impressão Global	7,9467	7,7067	7,9867	7,8919	7,4133
2	Aroma	0,617444	0,617444	0,999316	0,997679	0,014307
3	Sabor	0,999316	0,464203	0,464203	0,812346	0,415151
4	Cor	0,997679	0,812346	0,981078	0,981078	0,006475
5	Consistência	0,014307	0,415151	0,006475	0,039346	0,039346

For Help, press F1

Spreadsheet4 C1.V1 Impressão Global CAP NUM GRA

Figura 23 - Teste de Tukey para avaliação dos atributos sensoriais cor, sabor, consistência, impressão global e aroma de iogurte SBLAM.