

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PAMPA

SABRINA PEREIRA MESSA

**BACTÉRIAS PROBIÓTICAS E PARÂMETROS DE QUALIDADE EM
UM PRODUTO À BASE DE LEITE COCO**

Itaqui

2017

SABRINA PEREIRA MESSA

**BACTÉRIAS PROBIÓTICAS E PARÂMETROS DE QUALIDADE EM
UM PRODUTO À BASE DE LEITE COCO**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Nutrição da
Universidade Federal do Pampa, como
requisito parcial para obtenção do Título
de Bacharel em Nutrição.

Orientadora: Dr^a. Cássia Regina Nespolo

Co-Orientadora: Dr^a. Carla Pohl Sehn

Itaqui

2017

Ficha catalográfica elaborada automaticamente com os dados fornecidos
pelo(a) autor(a) através do Módulo de Biblioteca do
Sistema GURI (Gestão Unificada de Recursos Institucionais) .

M118578bMessa, Sabrina Pereira

BACTÉRIAS PROBIÓTICAS E PARÂMETROS DE QUALIDADE EM UM
PRODUTO À BASE DE LEITE COCO / Sabrina Pereira Messa.
21 p.

Trabalho de Conclusão de Curso(Graduação)-- Universidade
Federal do Pampa, NUTRIÇÃO, 2017.

Orientação: Cássia Regina Nespolo.

1. Alimento funcional. 2. Probióticos. 3. Alimentos de
coco. 4. Avaliação microbiológica. 5. Avaliação físico-
química. I. Título.

BACTÉRIAS PROBIÓTICAS E PARÂMETROS DE QUALIDADE EM UM PRODUTO À BASE DE LEITE COCO

Quero agradecer a Deus por me guiar, iluminar e me dar serenidade para seguir em frente com os meus objetivos e não desanimar com as dificuldades. Agradeço a Ele também por manter a minha mãe Sonia Ghislinho ao meu lado com saúde me proporcionando todo suporte necessário.

A minha orientadora Dr.^a Cássia Regina Naspold pelos ensinamentos, paciência, conhecimento, correções e motivação durante a condução deste trabalho, sou eternamente grata por tudo que fizeste por mim durante toda a graduação. Agradeço também a minha co-orientadora doutora Carla Pohl Sehn por ter compartilhado seu conhecimento e experiência durante a conclusão do curso.

As técnicas do laboratório de biologia que trabalharam em todas as etapas das análises físico-químicas e microbiológicas foram dedicadas às análises físico-químicas e microbiológicas de maneira mais possível. Agradeço aos meus colegas de laboratório Morgana Balduino e Felix Muniewag por gentilmente terem dividido comigo seu conhecimento, além de ter me auxiliado todas as vezes que foram requeridos.

E por fim agradeço minhas felizes amigas Lize Fernandes, Marcia Vieper e Ana Clara Pereira que sempre me motivaram, entenderam as minhas faltas e momentos de afastamento, obrigado imensamente a todas as pessoas que me apoiaram, pois melhor que conquistar é saber que existem muitas pessoas compartilhando contigo esse mesmo sentimento.

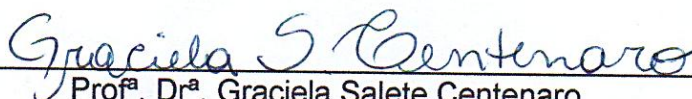
Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Nutrição da Universidade Federal do Pampa, como requisito parcial para obtenção do Título de Bacharel em Nutrição.

Monografia defendida e aprovada em: 12 de junho de 2017.


Banca examinadora:



Prof.^a Dr.^a Carla Pohl Sehn
Co-orientadora
UNIPAMPA



Prof.^a Dr.^a Graciela Salete Centenaro
Convidada
UNIPAMPA



Bióloga Franciane Cabral Pinheiro
Convidada
UNIPAMPA

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer a Deus por me guiar, iluminar e me dar tranquilidade para seguir em frente com os meus objetivos e não desanimar com as dificuldades. Agradeço a Ele também por manter a minha mãe Sonia Gusmão ao meu lado com saúde me proporcionando todo suporte necessário.

A minha orientadora Dr^a. Cássia Regina Nespolo pelos ensinamentos, paciência, conhecimento, correções e motivação durante a condução deste trabalho, sou eternamente grata por tudo que fizeste por mim durante toda a graduação. Agradeço também a minha co-orientadora doutora Carla Pohl Sehn por ter compartilhado seu conhecimento e enriquecido grandemente meu trabalho de conclusão de curso.

As técnicas do laboratório bióloga Franciane Cabral Pinheiro e Giovana Soares que trabalharam em todas as fases deste estudo, por todas as horas dedicadas às análises físico-químicas e microbiológicas, sem o auxílio de ambas nada disso seria possível. Agradeço aos meus colegas de laboratório Morgana Balbuena e Felix Munieweg por gentilmente terem dividido comigo seu conhecimento, além de ter me auxiliado todas as vezes que foram requisitados.

E por fim agradeço minhas fieis amigas Liza Fernandes, Marcela Weber e Ana Clara Pereira que sempre me motivaram, entenderam as minhas faltas e momentos de afastamento, obrigado imensamente a todas as pessoas que me auxiliaram, pois melhor que conquistar é saber que existem muitas pessoas compartilhando contigo desse mesmo sentimento.

SUMÁRIO

1 TITULO	03
2 RESUMO.....	03
2.1 PALAVRAS CHAVE	04
3 INTRODUÇÃO.....	04
4 METODOLOGIA.....	05
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	07
6 CONCLUSÃO	13
7 ABSTRACT.....	13
8 REFERENCIAS.....	14
9 ANEXO.....	19

Este trabalho é apresentado na forma de artigo para publicação na revista científica “Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos”, sendo que a formatação corresponde às normas constantes no Anexo.

BACTÉRIAS PROBIÓTICAS E PARÂMETROS DE QUALIDADE EM UM PRODUTO À BASE DE LEITE COCO

SABRINA PEREIRA MESSA¹
CÁSSIA REGINA NESPOLO^{2*}
CARLA POHL SEHN³
FRANCIANE CABRAL PINHEIRO⁴
MORGANA FERREIRA BALBUENO⁵
GIOVANA MAGALHÃES SOARES⁶

A alimentação saudável é foco de muitos consumidores, principalmente os com restrições alimentares, com uso crescente de probióticos e interesse por alimentos isentos de lactose. Como os probióticos são normalmente ingeridos em alimentos lácteos, o objetivo deste estudo foi desenvolver um produto alternativo preparado com leite de coco e adicionado de probióticos. O produto foi elaborado com leite de coco e ágar e adição das bactérias fermentadoras e probióticas, avaliando-se a qualidade físico-química e microbiológica durante o armazenamento refrigerado. Foram realizadas coletas a cada quinze dias, até os 65 dias de armazenamento, e avaliados pH, atividade de água, acidez titulável, bolores e leveduras, bactérias lácticas, psicotróficos, coliformes totais e termotolerantes. Os resultados de pH e atividade de água demonstraram condições para proliferação de microrganismos indesejáveis e dificuldades para manutenção das bactérias probióticas. A acidez variou entre 0,11 e 0,14%, abaixo do limite mínimo preconizado para leites fermentados. As contagens médias de bactérias lácticas variaram de 3,40 a 4,09 log UFC/g e de bolores e leveduras foram de 3,38 a 9,48 log UFC/g, respectivamente, abaixo e acima dos padrões legais. Isto indica que o produto de leite

1 Estudante de Nutrição, Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA), Campus Itaqui, RS (e-mail: sabrina.messa10@gmail.com).

2* Doutora em Microbiologia Agrícola e do Ambiente. Professora Adjunta de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA), Campus Itaqui, RS (e-mail: cassianespoilo@unipampa.edu.br).

3 Doutora em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Professora Adjunta de Nutrição, Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA), Campus Itaqui, RS (e-mail: carlasehn@unipampa.edu.br).

4 Bióloga, Mestranda em Bioquímica, Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA), Campus Uruguai, RS (e-mail: fcabralpinheiro@gmail.com)

5 Estudante de Nutrição, Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA), Campus Itaqui, RS (e-mail: morgana-bf@hotmail.com).

6 Estudante do Bacharelado Interdisciplinar em Ciência e Tecnologia, Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA), Campus Itaqui, RS (e-mail: soaresgiovana24@yahoo.com.br).

de coco não estava de acordo com o regulamento para leite fermentados, mesmo com resultados adequados para coliformes totais e termotolerantes. Para o produto à base de leite de coco ser uma alternativa de alimento vegetal contendo probióticos, é necessário adicionar facilitadores de multiplicação destas bactérias, controlar o processamento e o armazenamento, para evitar a contaminação microbiológica.

PALAVRAS-CHAVE: ALIMENTO FUNCIONAL; PROBIÓTICOS; ALIMENTOS DE COCO; AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA; AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA.

1 INTRODUÇÃO

A preocupação com a alimentação tornou-se uma prática comum na sociedade atual, com demanda crescente por alimentos que contribuam com a saúde, qualidade de vida e manutenção de uma condição fisiológica salubre (VIANA *et al.*, 2017). Dessa forma a busca por uma dieta rica em nutrientes é considerada aliada na prevenção de doenças crônicas não transmissíveis, como obesidade, hipertrigliceridemia e hipertensão (VIDAL *et al.*, 2012). Neste sentido os alimentos funcionais estão inseridos neste contexto, com o objetivo de promover uma alimentação equilibrada e proporcionar benefícios à saúde do consumidor, desde que associados a hábitos de vida saudáveis (ANVISA, 2016; VIANA *et al.*, 2017).

O coco (*Cocos nucifera* L.) possui em sua composição macronutrientes, tais como lipídios, carboidratos fibras, proteínas e minerais, como fósforo, magnésio e cálcio, (AZIZ *et al.*, 2012; NADEESHANI *et al.*, 2015; NEPA, 2011) seu consumo está associado à prevenção de doenças (ABRAN, 2017). Enquanto o leite de coco é uma emulsão obtida por meio da extração do endosperma sólido do coco, com ou sem adição de água (ALCÂNTARA *et al.*, 2012), com principais componentes sendo umidade, em torno de 78%, e cerca de 18% de lipídios (ALCÂNTARA *et al.*, 2012; NEPA, 2011). Os demais componentes no leite de coco são, aproximadamente, 2,2% de carboidratos totais, destes 0,7% correspondendo à fibra alimentar, 0,6% de proteína, 2,6% de minerais, com valor energético de 302 kcal (NEPA, 2011). Devido ao conteúdo elevado de lipídios saturados em alimentos derivados do coco, especialmente o óleo de coco, há recomendação de que o consumo seja moderado (ABRAN, 2017; CFN, 2015).

Com o intuito de uma alimentação equilibrada, produtos contendo probióticos têm sido utilizados (QUINTO *et al.*, 2014). Estes são definidos como microrganismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, proporcionam benefícios à saúde humana ou ao hospedeiro que o receba (FAO, 2006; MCFARLAND, 2015; QUINTO *et al.*, 2014). Uma diferenciação é feita entre os medicamentos probióticos, com indicação específica para tratamento de uma doença, e os probióticos em alimentos ou suplementos, que possuem uma alegação de saúde baseada em estudos científicos (ANVISA, 2016; HILL *et al.*, 2014; MCFARLAND, 2015). Outras possibilidades são de incluir um microrganismo probiótico em um alimento ou suplemento, mas sem alegação de saúde, ou simplesmente culturas vivas e ativas presentes em um alimento, normalmente envolvidas em algum processo de fermentação, como em iogurtes ou leites

fermentados (HILL et al., 2014; MCFARLAND, 2015). Dentre os estudos envolvendo probióticos, os efeitos benéficos à saúde mais comuns foram regulação do trânsito intestinal, normalização da microbiota intestinal e exclusão competitiva de patógenos (BURKERT et al., 2012; CARVALHO et al., 2012; HILL et al., 2014; MCFARLAND, 2015). Outros efeitos, como síntese de vitaminas, atividade enzimática e neutralização de carcinógenos foram considerados frequentes (BURKERT et al., 2012; HILL et al., 2014), enquanto os efeitos imunológicos e endócrinos, produção de compostos bioativos (BURKERT et al., 2012; CARVALHO et al., 2012; HILL et al., 2014) e diminuição dos níveis de colesterol no plasma sanguíneo (CARVALHO et al., 2012) foram raramente observados em estudos.

O processamento de iogurtes tem como obrigatoriedade a utilização de culturas microbianas específicas, como *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (BRASIL, 2007; HILL et al., 2014), além de cumprir os requisitos de qualidade definidos pela Instrução Normativa nº 46, de 23 de outubro de 2007 (ALMEIDA et al., 2015; BRASIL, 2007), podendo haver introdução de microrganismos probióticos em alguns alimentos lácteos fermentados (FAO, 2006; MUCZUCHA et al., 2015).

No entanto a intolerância à lactose atinge milhares de pessoas a nível mundial, patologia caracterizada pela diminuição ou ausência da enzima lactase no intestino delgado, ocasionando uma série de desordens gastrointestinais e levando à exclusão de produtos lácteos da dieta (MUCZUCHA et al., 2015). Neste sentido, a utilização de beta-galactosidases na indústria de laticínios tem objetivo de promover a hidrólise da lactose nos monossacarídeos glicose e galactose, contribuindo para a textura dos alimentos de origem láctea e facilitando a digestão e solubilização do açúcar do leite no organismo intolerante à lactose (ROSSETO et al., 2012). A formulação de produtos fermentados ou fontes de probióticos isentos de proteína animal torna-se imprescindível para o equilíbrio da dieta de indivíduos intolerantes à lactose, bem como para pessoas que possuem alguma restrição alimentar a produtos de origem animal (MATTAR; MAZZO, 2010).

A partir disso, o objetivo do presente trabalho foi desenvolver um produto à base de leite de coco com adição de microrganismos probióticos e sem adição de aditivos e avaliar aspectos microbiológicos e físico-químicos durante o período de armazenamento do produto.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 MATÉRIAS-PRIMAS

A matéria-prima leite de coco industrializado foi obtida no comércio local em Itaqui, RS. A aquisição das bactérias *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* foi realizada com empresas especializadas em ingredientes para fabricação de iogurte natural, na forma liofilizada (BioRich®, Docina®). E ágar ágar (Himedia®) aberto especificamente para es formulação.

2.2 ELABORAÇÃO DA FORMULAÇÃO À BASE DE LEITE COCO

A fabricação do produto à base de coco foi realizada no Laboratório de Processamento de Alimentos da Universidade Federal do Pampa, Campus Itaqui, seguindo as boas práticas de manipulação de alimentos. O leite de coco industrializado foi aquecido em uma panela de aço inox, em fogo brando, até atingir a temperatura de 60°C. Posteriormente foi adicionado o ágar na proporção de 18g por litro, mexendo até completa dissolução. A panela utilizada foi retirada do fogo e a temperatura monitorada com termômetro tipo espeto, até atingir 40 a 45°C, para permitir a adição das bactérias. Os microrganismos *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* foram adicionados de acordo com as orientações e nas proporções indicadas pelos fabricantes. Após a elaboração do alimento à base de leite de coco, a formulação foi envasada em recipientes de vidro de 250 g com tampa rosca metálica, previamente limpos e esterilizados em autoclave. Posteriormente, o armazenamento dos mesmos foi em ambiente refrigerado com temperatura média de 7°C, totalizando 65 dias.

2.3 ACOMPANHAMENTO DA VIDA DE PRATELEIRA

Foram analisados parâmetros de qualidade microbiológica e físico-química ao longo do armazenamento refrigerado. As coletas ocorreram a cada 15 dias, iniciando no quinto dia, com três frascos avaliados em cada período de coleta.

2.3.1 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

A acidez titulável foi determinada na amostra diluída em água destilada recentemente fervida e neutralizada, seguida da titulação com solução de hidróxido de sódio 0,1 N, na presença de solução indicadora de fenolftaleína 1 %. Os valores gastos foram calculados em acidez titulável em percentual (m/v), usando-se o equivalente-grama do ácido láctico para comparação a acidez de produtos lácteos (BRASIL, 2006).

Para determinação do pH, foi empregado um medidor de pH modelo pg1800 (GGHAKA®), previamente calibrado. As amostras foram diluídas em água destilada previamente fervida, submetidas à agitação até homogeneizar e, posteriormente, foi realizada a medição no equipamento calibrado (IAL, 2008).

Para a determinação da atividade de água utilizou o equipamento Aqualab 4TE (Decagon®) conforme instruções contidas no fabricante (DECAGON DEVICES, 2015).

2.3.1 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

A avaliação microbiológica nas amostras do produto à base de leite de coco incluiu microrganismos indicadores de qualidade e baseou-se nos requisitos da legislação (BRASIL, 2001; 2007), quantificando-se bactérias lácticas, bolores e leveduras, grupos coliformes totais, coliformes termotolerantes e psicrotóxicos.

As amostras foram submetidas a uma diluição inicial contendo 25 g da amostra e 225 mL de água peptonada 0,1%, com homogeneização em equipamento tipo *Stomacher*. Posteriormente, foram efetuadas as diluições seriadas até 10^{-6} .

A determinação de bactérias lácticas foi realizada em Ágar Man Rogosa e Sharpe (MRS, Merck®), com inoculação de 100 μ L das diluições 10^{-1} a 10^{-6} . A incubação das placas foi realizada em jarra de anaerobiose contendo gerador de anaerobiose, em estufa bacteriológica a $37 \pm 1^\circ\text{C}$, por 48 a 72 horas. Após este período, foi feita a quantificação das colônias nas placas (APHA, 2004; CASTEELE et al., 2006; SÜLE et al., 2014).

A quantificação de bolores e leveduras foi feita em Ágar batata dextrose (Himedia®) acidificado a pH 3,5. Foram inoculadas alíquotas de 100 μ L a partir da diluição inicial 10^{-1} até 10^{-6} . A incubação ocorreu em estufa a $25 \pm 1^\circ\text{C}$, por 5 a 7 dias, com posterior contagem das colônias (BRASIL, 2003).

Na análise de coliformes, foi utilizada a técnica dos tubos múltiplos com tubo de Durhan invertido. Foi inoculado 1mL das diluições 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} em cada série de três tubos contendo caldo lactosado (Dinamica®) em concentração dupla para teste presuntivo. Os tubos foram incubados a $36 \pm 1^\circ\text{C}$, por 24 a 48 horas, e realizou-se a leitura dos tubos. A suspeita no teste presuntivo para coliformes foi indicada pela formação de gás nos tubos, seguindo para os testes confirmatórios. A confirmação de coliformes totais foi realizada utilizando caldo bile verde brilhante 2% (Himedia®) com posterior incubação em estufa a $35 \pm 1^\circ\text{C}$, durante 24 a 48 horas. Já a verificação da presença de coliformes termotolerantes foi através do caldo *Escherichia Coli* (caldo EC) (Himedia®) com incubação a $45 \pm 0,2^\circ\text{C}$ por 24-48 horas (BRASIL, 2003; SILVA, 2007). Após o período de incubação, foi realizada a leitura dos tubos positivos e a quantificação do número mais provável (NMP) utilizando Tabela de Hoskins (BRASIL, 2003).

Para a contagem de psicrotróficos, empregou-se o método de plaqueamento em superfície no Agar Padrão de Contagem Plate Count Agar (PCA) (Himedia®) diluições 10^{-1} a 10^{-6} , com incubação a 7°C , por 10 dias (SILVA et al., 2007).

2.4. AVALIAÇÃO ESTATÍSTICA

Os resultados foram tabulados em programa Microsoft Excel 2010 para obter as médias e desvios padrão da média e os valores das contagens microbiológicas foram convertidos em logaritmos (log). Os dados foram avaliados pelo programa ASSISTAT 7.7 beta, onde foi aplicada análise de variância seguida pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de significância (SILVA; AZEVEDO, 2016).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 1 apresenta os valores de pH, Aw e acidez do produto à base de leite de coco com adição de microrganismos probióticos, ao longo do tempo de refrigeração.

TABELA 1 – VALORES MÉDIOS DE pH, ATIVIDADE DE ÁGUA (Aw) E ACIDEZ DO PRODUTO À BASE DE LEITE DE COCO DURANTE O ARMAZENAMENTO REFRIGERADO.

Período de Armazenamento	pH	Aw	Acidez titulável (% de ácido láctico)
Dia 5	5,86 ± 0,24 ^c	0,9979 ± 0,0014 ^{ab}	0,12 ± 0,02 ^{ab}
Dia 20	6,63 ± 0,12 ^a	0,9953 ± 0,0008 ^b	0,12 ± 0,01 ^{ab}
Dia 35	6,31 ± 0,02 ^{ab}	0,9975 ± 0,0012 ^{ab}	0,14 ± 0,01 ^a
Dia 50	6,03 ± 0,05 ^{bc}	0,9986 ± 0,0011 ^a	0,12 ± 0,02 ^{ab}
Dia 65	6,10 ± 0,10 ^{bc}	0,9981 ± 0,0012 ^{ab}	0,11 ± 0,01 ^b

Valores médios ± desvio padrão da média (n=3); Letras iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente entre si ($p < 0,05$), Teste de Tukey.

Os valores de pH variaram de 5,86, no quinto dia de armazenamento, a 6,63 aos vinte dias, com um aumento estatisticamente significativo. A partir dos 35 dias do envase, os valores diminuíram chegando a 6,10 ao final do período, porém não foi observada variação significativa entre a primeira e a última coleta. Estes resultados demonstram que os valores de pH não sofreram grandes alterações ao longo do armazenamento refrigerado, sendo valores próximos ao observado em estudo com a matéria-prima leite de coco, que apresentou pH 6,0 (LADOKUN; ONI, 2014). Um sorvete de leite de coco foi desenvolvido com adição dos probióticos *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* e *Lactobacillus acidophilus* e apresentou pH 5,50 após a fermentação (ABOULFAZLI; BABA, 2015). Através dos valores de pH observados, o produto formulado no presente trabalho pode ser classificado como um alimento de baixa acidez, o que aumenta o risco de contaminação por microrganismos patogênicos (FORSYTHE, 2013).

Estudos que desenvolveram bebidas fermentadas contendo leite de coco e verificaram que o processo de fermentação por bactérias foi favorecido pela adição de leite em pó e açúcar, alcançando valores de pH de 3,79 a 3,84 após vinte e quatro horas a 37-42 °C (YULIANA et al., 2010), ou apenas pela adição de açúcar obtendo-se um pH 5,33 após 72h de fermentação a 45°C (LADOKUN; ONI, 2014).

Já em iogurte desenvolvido com adição de *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus*, o pH inicial foi de 6,51 diminuindo para 4,5 ao final de cerca de quatro horas de fermentação, em temperatura de 44 °C (SARVARI; MORTAZAVIAN; FAZELI, 2014). Em iogurtes produzidos com combinações das bactérias *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus lactis*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium*, o pH variou de 4,10 a 4,60 ao longo de 25 dias de armazenamento (YILMAZ-ERSAN; KURDAL, 2014). Uma formulação de bebida láctea fermentada contendo *Camellia sinensis* apresentou valor médio de pH 6,48 (RIBEIRO et al., 2014), enquanto em bebida láctea com adição de ferro constatou-se pH 6,53 (SOUSA; FERNANDES; FERNANDES, 2015). O teor de carboidratos disponíveis no leite de coco é baixo, cerca de 1,5% (NEPA, 2011), portanto a adição de substratos fermentescíveis, como açúcar ou leite em pó, pode ser útil para atingir um pH mais baixo em alimentos à

base de leite de coco e que utilizem microrganismos fermentadores (LADOKUN; ONI, 2014; YULIANA et al., 2010).

A verificação do pH é essencial para vida útil do produto, pois está relacionado à proliferação de microrganismos e à atividade enzimática, afetando a qualidade nutricional e qualidade sensorial do alimento (AGIBERT, 2013; LADOKUN; ONI, 2014). Além disso, o pH é um parâmetro determinante para o desenvolvimento das bactérias probióticas inseridas na formulação do produto em estudo, pois estas têm seu desenvolvimento dificultado em pH inferior a 4,5 (FERDOUSI et al., 2013; MAZO et al., 2009). Por outro lado, um alimento de baixa acidez, com pH acima de 4,5, favorece a proliferação de microrganismos patogênicos ou deteriorantes no alimento (FORSYTHE, 2013). O produto à base de leite de coco desenvolvido apresentou características de pH que beneficiam a proliferação de microrganismos indesejáveis e dificultam o desenvolvimento de bactérias probióticas.

A atividade de água (A_w) do produto formulado com leite de coco não teve variação entre as coletas inicial e final, mas variou significativamente entre os tempos 20, com 0,9953 de A_w , e 50 dias, com 0,9986 de A_w (Tabela 1). Valores inferiores ao do presente estudo foram encontrados em uma formulação de iogurte natural com adição de inulina, com valores de A_w entre 0,97 e 0,98 para todas as amostras (FIDELIS et al., 2014), enquanto em amostras de iogurte natural constatou-se um valor de 0,94 para A_w (SANTOS et al., 2016). Da mesma forma que o pH, os valores de atividade de água encontrados no produto desenvolvido no presente estudo estão acima dos limites mínimos para multiplicação das bactérias patogênicas (FORSYTHE, 2013), o que torna imprescindível o monitoramento microbiológico neste produto.

A acidez do produto à base de leite de coco não apresentou variação estatística entre os extremos das coletas, demonstrando o menor valor aos 65 dias de armazenamento, com 0,11% de ácido láctico, e um valor significativamente maior aos 35 dias, com 0,14% de ácido láctico (Tabela 1). Um sorvete desenvolvido com 55% de leite de coco e 7% de leite em pó desnatado na formulação apresentou acidez de 0,27% de ácido láctico (ABOULFAZLI; BABA, 2015). Estes valores foram menores, em comparação aos encontrados em alimentos lácteos fermentados, como em bebidas lácteas de morango, com acidez de 0,64 a 0,70% de ácido láctico (LANDIM et al., 2015). Enquanto em um iogurte adicionado de polpa de abacaxi e mel, foi constatado valores superiores de acidez atingindo 0,80 a 0,93% de ácido láctico ao final das análises físico-químicas (PAIVA et al., 2015). Segundo a IN nº 46/ 2007, a acidez em iogurtes deve ser entre 0,6 e 1,5% de ácido láctico (BRASIL, 2007), valor bem acima do obtido no produto à base leite de coco, que atingiu seu valor máximo no dia 35 obtendo então 0,14% de ácido láctico. Os resultados encontrados na literatura e o padrão de acidez previsto em legislação são distintos dos valores observados no presente estudo, entretanto é válido ressaltar que o produto desenvolvido nesta pesquisa era isento de lactose, componente essencial para fermentação láctica em iogurtes, bebidas lácteas e produtos lácteos fermentados, em geral (YULIANA et al., 2010).

A verificação da presença de bolores e leveduras no produto à base de leite de coco, ao longo do armazenamento refrigerado, é apresentada na Figura 1. Os valores foram crescentes a partir do 20º dia de armazenamento refrigerado, sem diferenças significativas entre as duas primeiras coletas, e com aumento significativo

a partir do 35° dia. As duas últimas coletas foram significativamente acima das demais, atingindo o valor de 9,48 log UFC/g, porém sem sinais visíveis de deterioração fúngica no produto. De acordo com a IN nº 46/2007, a contagem de bolores e leveduras em leites fermentados não pode ultrapassar 1,70 log UFC/g (BRASIL, 2007). As amostras estariam reprovadas em todos os tempos de coleta, com base neste critério, no entanto, o produto desenvolvido à base de leite de coco não pode ser definido como um leite fermentado.

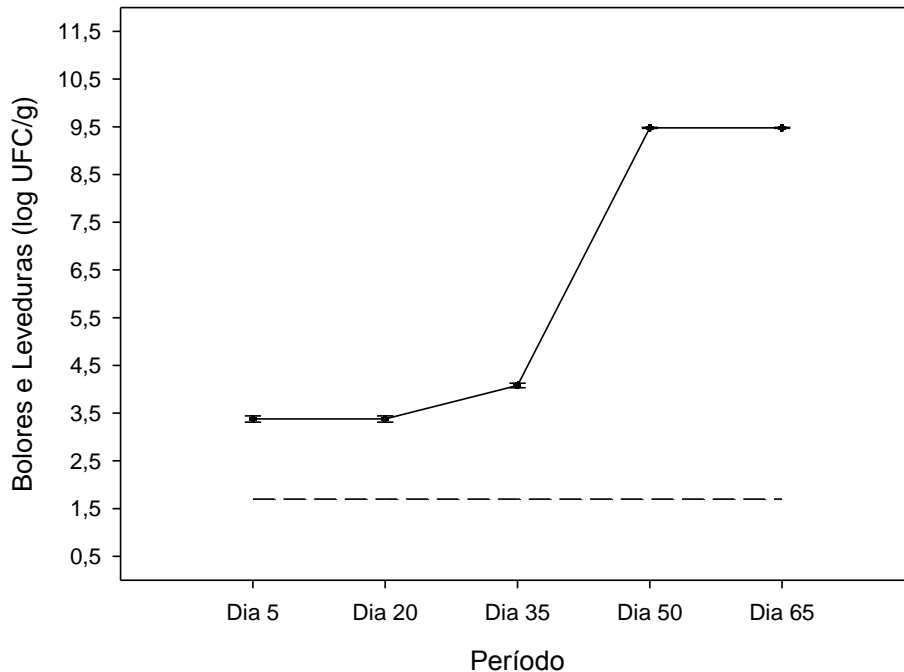


FIGURA 1- AVALIAÇÃO DE BOLORES E LEVEDURAS NO PRODUTO À BASE DE LEITE DE COCO AO LONGO DO ARMAZENAMENTO REFRIGERADO.

A linha contínua indica os valores médios \pm desvio padrão da média e a linha tracejada indica o valor máximo para Bolores e leveduras em leites fermentados (BRASIL, 2007).

A avaliação em diferentes lotes de leites fermentados desnatados de cinco marcas brasileiras indicou ausência de bolores e leveduras em todas as amostras (CASTILHO; CUNHA; ARAUJO, 2013), enquanto em outro estudo, com duas marcas, as contagens variaram de 2,7 a 4,7 log UFC/mL (NESPOLO et al., 2014). Já a contagem de bolores e leveduras realizada em uma formulação de bebida láctea contendo leite bovino, soro de leite e extrato hidrossolúvel de soja demonstrou ausência de bolores e leveduras até o sétimo dia de armazenamento, com o limite máximo sendo extrapolado a partir dos 14 dias de armazenamento e atingindo 3,70 log UFC/g aos 25 dias (KRÜGER et al., 2008). Esta última formulação também apresentou problemas em relação à quantificação de bolores e leveduras, assim como o produto à base de coco, o que pode indicar que a adição de extrato de origem vegetal necessite tratamento térmico adicional para evitar a contaminação fúngica.

A presença de bolores e leveduras no produto é preocupante, pois este grupo é indicativo de má conservação, condições higiênicas insatisfatórias ou mesmo manutenção em temperaturas inadequadas, uma vez que o produto formulado necessita temperaturas de refrigeração para sua conservação (FORSYTHE, 2013; KRÜGER et al., 2008). Além disso, a presença desses contaminantes pode estar relacionada à incidência de micotoxinas no produto final, compostos estes que são prejudiciais à saúde do consumidor (FORSYTHE, 2013).

Na Figura 2, observa-se a quantificação de bactérias lácticas no produto formulado. Os valores médios ao longo do período de armazenamento foram, consecutivamente, 4,09, 3,40, 3,60, 3,79 e 3,80 log UFC/g, com diferença significativa apenas entre a primeira e a segunda coletas, todas abaixo do limite mínimo estabelecido para iogurtes ou leites acidófilos (BRASIL, 2007).

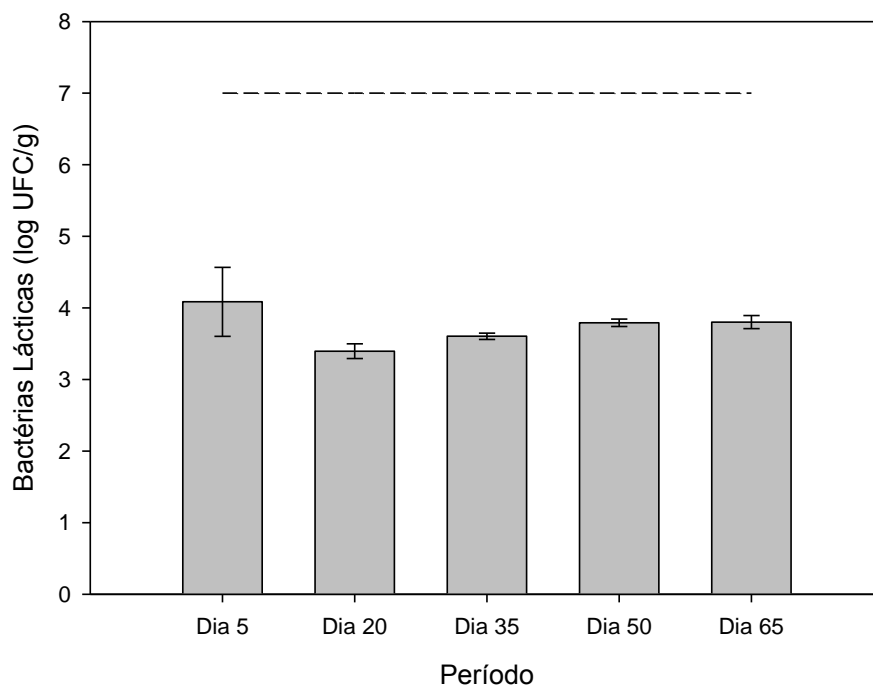


FIGURA 2 - CONTAGEM DE BACTÉRIAS LÁCTICAS NO PRODUTO À BASE DE LEITE DE COCO DURANTE O ARMAZENAMENTO REFRIGERADO.

As barras verticais indicam os valores médios \pm desvio padrão da média e a linha tracejada indica o valor mínimo para Bactérias lácticas em iogurtes e leites acidófilos (BRASIL, 2007).

Uma avaliação sobre a qualidade de diferentes marcas de leites fermentados comercializados no mercado brasileiro constatou que 28% (n=7) não atingiu a contagem mínima de 6 log UFC/mL de bactérias lácticas (CASTILHO; CUNHA; ARAUJO, 2013), valor mantido somente até os 22 dias de armazenamento de uma bebida láctea desenvolvida com cultura mista armazenada a 4°C (KRÜGER et al., 2008). Outro estudo com cinco marcas de iogurtes contendo polpa de frutas demonstrou contagens de bactérias lácticas acima de 9 log UFC/g no primeiro dia e diminuindo para 6 log UFC/g ao final de 44 dias de armazenamento a 7°C, porém os

valores decaíram abaixo do limite mínimo em temperaturas de 15°C, considerada pelos autores como a submetida durante a distribuição dos produtos (ALMEIDA et al., 2015). Em um estudo com iogurtes com adição de *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus acidophilus* ou *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*, verificou-se que a viabilidade dos dois foi mais afetada pelo armazenamento a 20°C e que o *Lactobacillus rhamnosus* foi o mais resistente à interrupção da estocagem a frio (FERDOUSI et al., 2013). A perda de viabilidade do *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* e do *Lactobacillus acidophilus* também foi observada em outros estudos, como no armazenamento refrigerado de iogurtes (SARVARI; MORTAZAVIAN; FAZELI, 2014; YILMAZ-ERSAN; KURDAL, 2014), ou sob condições de congelamento de um “frozen” iogurte estocado a -20°C (MUZAMMIL et al., 2015). Estes resultados demonstram que a contagem de bactérias lácticas totais é dependente das temperaturas de refrigeração e que variações no armazenamento de produtos de base láctea podem levar a não conformidades com a legislação vigente.

O produto formulado à base de leite de coco não atingiu a contagem de bactérias lácticas totais definida para leites fermentados (Figura 2), entretanto a matéria-prima principal do produto é de origem vegetal que não possui componentes como hidrolisados proteicos, caseína, soro e glicose, classificados como facilitadores da multiplicação de bactérias lácticas (CASTILHOS; CUNHA; ARAUJO, 2013; FERDOUSI et al., 2013). Na formulação, também não há presença de aditivos, como açúcar, considerados pela indústria fundamentais para o crescimento de bactérias lácticas e probióticas (MAZO et al., 2009), ou fruto-oligossacarídeos, que aumentaram significativamente a contagem das bactérias *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium* em formulações de bebidas lácteas (BURKERT et al., 2012). Os microrganismos utilizados no produto à base de leite de coco, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium*, são usualmente utilizados em produtos de base láctea. Para estes permanecerem viáveis no produto, é necessário pH próximo a 4,5, o que não foi alcançado no produto à base de leite de coco (Tabela 1). Um estudo avaliou a viabilidade dos probióticos *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* e *Lactobacillus acidophilus* em sorvetes de leite de coco e de leite bovino sob condições gástricas e observou-se que a primeira matriz foi pior para manutenção destes microrganismos (ABOULFAZLI; BABA, 2015). Isto pode ser atribuído ao fato das proteínas do coco terem menor propriedade emulsificante que as proteínas lácteas bovinas, acarretando revestimento proteico menos estável em torno dos probióticos, uma liberação mais rápida e eliminação destes sob condições gástricas (ABOULFAZLI; BABA, 2015). O produto à base do leite de coco formulado no presente estudo não foi submetido a estas condições adversas, tanto que as contagens não variaram bruscamente, porém as condições de substrato e pH não foram proporcionadas para que o crescimento das bactérias lácticas ocorresse.

A contagem microrganismos psicrotrofos variou de 2,19 a 2,52 log UFC/g, sem alterações significativas ao longo do período de armazenamento refrigerado. Em outro estudo com leites fermentados de duas marcas comerciais, a contagem para este grupo foi inferior a 1 log UFC/g (NESPOLO et al., 2014). O resultado encontrado no presente estudo é considerado positivo, pois a proliferação pode ocasionar danos na textura, sabor e consistência dos alimentos, especialmente os de origem láctea (MONTANHINI, 2012; OLIVEIRA et al., 2012). A principal causa de

contaminação por microrganismos psicrotóxicos são as más condições de higiene na manipulação das matérias-primas, além de condições inadequadas dos equipamentos e utensílios utilizados para este fim (OLIVEIRA et al, 2012).

Os valores obtidos para os grupos coliformes totais e termotolerantes no produto de leite de coco foram menores que 0,48 log NMP/g em todos os tempos de coleta, resultados estes de acordo com o estipulado pela legislação para leites fermentados (BRASIL, 2001; 2007). Número de unidade formadora de colônias similar para coliformes totais foi encontrado em uma bebida láctea pasteurizada com adição de ferro (SOUSA; FERNANDES; FERNANDES, 2015). O grupo coliformes é indicador da qualidade higiênico-sanitária e valores baixos demonstram que as condições de processamento e manipulação foram adequadas para este tipo de alimento (FORSYTHE, 2013; SOUSA; FERNANDES; FERNANDES, 2015).

Um avaliou a vida útil e a taxa de deterioração diária para cinco amostras comerciais de iogurte, considerando a contagem de bactérias lácticas totais, e os cálculos indicaram que a vida útil destes produtos foi de 39 a 40 dias, quando armazenados a 7°C (ALMEIDA et al., 2015), que foi a temperatura média do armazenamento refrigerado utilizada no presente estudo. Além disso, foi o período a partir do qual a multiplicação de bolores e leveduras intensificou-se no produto à base de leite de coco.

4. CONCLUSÃO

Através da caracterização físico-química do produto à base de leite de coco, foi possível constatar valores elevados de pH e de atividade de água e os de acidez não estavam dentro dos limites estabelecidos pela legislação brasileira para leites fermentados. A verificação microbiológica evidenciou que o produto de leite de coco estava em conformidade para coliformes totais e termotolerantes, em todos os tempos de coleta, no entanto foi observada uma contaminação excessiva por bolores e leveduras durante o armazenamento refrigerado. Aliado a isso, a contagem de bactérias lácticas não atingiu o valor de referência para leites fermentados, uma vez que a matéria-prima principal da formulação é de origem vegetal e não possui facilitadores de multiplicação destas bactérias. O produto à base de leite de coco aparece como uma alternativa de produto de origem vegetal contendo probióticos, entretanto é necessária a adição de substratos que facilitem a multiplicação dos microrganismos benéficos e cuidados adicionais no processamento para evitar a contaminação microbiológica.

PROBIOTIC BACTERIA AND QUALITY PARAMETERS IN A COCONUT MILK-BASED PRODUCT

ABSTRACT

Healthy eating is aim of many consumers, especially those with dietary restrictions, with increasing use of probiotics and interest in lactose-free foods. As probiotics are usually ingested in dairy foods, the objective of this study was to develop an alternative product prepared with coconut milk and addition of probiotics. Product

was made with coconut milk and agar and inclusion of probiotic and fermenting bacteria, evaluating physical-chemical and microbiological quality during cooled storage. Samples were collected every fifteen days, until to 65 days of storage, evaluating pH, water activity, titratable acidity, molds and yeasts, lactic acid bacteria, psychrotrophic bacteria, total and fecal coliforms. Results for pH and water activity demonstrated conditions for proliferation of undesirable microorganisms and difficulties for maintenance of probiotic bacteria. The acidity varied between 0.11 and 0.14%, below the minimum limit recommended for fermented milks. Mean counts of lactic acid bacteria ranged from 3.40 to 4.09 log CFU/g, and yeasts and molds were 3.38 to 9.48 log CFU/g, respectively, below and above legal standards. This indicates that coconut milk product was not according to the fermented milk regulation, even with adequate results for total and fecal coliforms. In order for coconut milk product be an alternative vegetable food containing probiotics, it is necessary to add facilitators of multiplication of these bacteria, to control the processing and the storage, and to avoid the microbiological contamination.

REFERÊNCIAS

1. ABOULFAZLI, F.; BABA, A.S. Effect of Vegetable Milk on Survival of Probiotics in Fermented Ice Cream under Gastrointestinal Conditions. **Food Science and Technology Research**, v. 21, n.3, p.1 -7, 2015.
2. ABRAN. Associação Brasileira de Nutrologia. **Posicionamento oficial da Associação Brasileira de Nutrologia a respeito da prescrição de óleo de coco**. 27 mar. 2017. Disponível em <http://abran.org.br/para-publico/posicionamento-oficial-da-associação-brasileira-de-nutrologia-respeito-da-prescrição-de-óleo-de-coco/>. Acesso em 12 abr. 2017.
3. ALCÂNTARA, L.Y.P.; FONTAN, R.C.I.; BONOMO, R.C.F; LEMOS, A.R. Efeito da Temperatura e Teor de Gordura nas Propriedades Termofísicas do Leite de Coco. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v.14, n.1, p.21-30, 2012.
4. ALMEIDA, D.M.; PRESTES, R.A.; RIBEIRO, M.C.O.; PIETROWSKI, G.M.R. Determinação do Tempo de Vida de Prateleira de Iogurte com de Polpa de Fruta por meio da População de Bactérias Lácticas Totais. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 9, n. 1: p. 1671-1681, 2015.
5. ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Alimentos Com Alegações de Propriedades Funcionais e ou de Saúde. 2016. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/alimentos/alegacoes>. Acesso em: 22 março 2017.
6. AZIZ, A.A.; AZIZ, R.; SARMIDI, M.R.; SUAN, C.L.; ANNUAR, N.A.S.; NOOR, N.M.; NOR, N.A. Fermented Coconut Milk and Coconut Oil. *In*: HUI, Y.H.; EVRANUZ, E.O. **Handbook of Plant-Based Fermented Food and Beverage Technology**. 2 ed. Boca Raton: CRC Press, 2012. cap.41, p.664-665.

7. BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA). Instrução Normativa nº 46, 23 de outubro de 2007. Regulamento técnico de identidade e qualidade de leites fermentados. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 24 de setembro de 2007. Seção 1, p.4.
8. BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução – RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001. Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 2 de janeiro de 2001. Seção 1.
9. BURKERT, J.F.M.; FONSECA, R.A.S.; MORAES, J.O.; SGANZERLA, J. Aceitação sensorial de bebidas lácteas potencialmente simbióticas. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 15, n. 4, p. 325-332, 2012.
10. CARVALHO, E.B.; SOARES, A.G.; SOARES, L.S. Incorporação dos Probióticos na Alimentação Humana. **Nutrir Gerais**, v. 6 n. 10, p. 900-917, 2012.
11. CASTEELE, S.V.; VANHEUVERZWIJN, T.; RUYSSSEN, T.; VAN ASSCHE, P.; SWINGS, J.; HUYS, G. Evaluation of culture media for selective enumeration of probiotic strains of lactobacilli and bifidobacteria in combination with yoghurt or cheese starters. **International Dairy Journal**, v.16, p.1470–1476, 2006.
12. CASTILHO, N.P.A.; CUNHA, A.F.; ARAÚJO, M.M.P. Qualidade de Leites Fermentados Brasileiros e Atividade Antagonista *in vitro* de suas Bactérias Ácido Lácticas. **Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, v. 31, n. 2, p. 207-214, 2013.
13. CFN. Conselho Federal de Nutricionistas. **Óleo de coco**. 21 ago. 2015. Disponível em <http://www.cfn.org.br/index.php/saiba-mais-sobre-oleos-de-coco-e-de-canola/>. Acesso em 11 abr. 2017.
14. ERSANAN, Y.L.; KURDAL, E. The Production of Set-Type-Bio-Yoghurt with Commercial Probiotic Culture. **International Journal of Chemical Engineering and Applications**, v. 5, n. 5, p. 402-408, 2014.
15. FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Probiotics in food: Food and Nutrition Paper 85**. Roma: FAO, 2006. 56p. Disponível em <http://www.fao.org/3/a-a0512e.pdf>. Acesso em 04 abr. 2017.
16. FERDOUSI, R.; ROUHI, M.; MOHAMMADIC, R.; MORTAZAVIAND, A.M.; DARANIA, K.K.; RAD, A.H. Evaluation of Probiotic Survivability in Yogurt Exposed To Cold Chain. **Iranian Journal of Pharmaceutical Research**, v.12, p.139-144, 2013.
17. FIDELIS, J.C.F., SCAPIM, M.R.S., TONON, L.A.C., POZZA, M.S.S., PIERETTI, G.G., ANTIGO, J.L., MADRONA, G.S. Iogurte Natural Desnatado

- Adicionado de Inulina. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 08, n. 02, p.1478-1487, 2014.
18. FORSYTHE, S.J. **Microbiologia da Segurança dos Alimentos**. 2ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 607p. cap.2, p. 104-117; cap.3, p. 162-163; cap.4, p.205-245.
 19. HILL, C.; GUARNER, F.; REID, G.; GIBSON, G.R.; MERENSTEIN, D.J.; POT, B.; MORELLI, L.; CANANI, R.B.; FLINT, H.J.; SALMINEN, S.; CALDER, P.C.; SANDERS, M.E. Expert consensus document. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. **Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology**, v.11, n.8, p.506-514, 2014. Disponível em: <<http://www.nature.com/nrgastro/journal/v11/n8/full/nrgastro.2014.66.html>>. Acesso em 03 abr. 2017.
 20. KRÜGER, R.; KEMPKA, A.P.; OLIVEIRA, D.; VALDUGA, A.; CANSIAN, R.L.; TREICHEL, H.; LUCCIO, M. Desenvolvimento de uma Bebida Láctea Probiótica Utilizando como Substratos Soro de Leite e Extrato Hidrossolúvel de Soja. **Alimentos e Nutrição**, v.19, n.1, p. 43-53, 2008.
 21. LADOKUN, O.; ONI, S. Fermented Milk Products from Different Milk Types. **Food and Nutrition Sciences**, n. 5, p.1228-1233, 2014.
 22. LANDIM, L.B., SAMPAIO, V.S., SOUZA, E.C.J., BONOMO, R.C.F., LEITE, C.X.S. Avaliação de Diferentes Espessantes nas Propriedades Físico-Químicas, Sensoriais e Reológicas de Bebida Láctea. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v.17, n.1, p.87-96, 2015.
 23. MATTAR, R.; MAZO, D.F.C. Intolerância à Lactose: Mudança de Paradigmas com a Biologia Molecular. **Revista Associação Médica Brasileira**. v.56, n.2, p. 230-6, 2010.
 24. MAZO, J.Z.; ILHA, E.C.; ARISI, A.C.; SANT'ANNA, E.S. Bifidobactérias: Isolamento, Identificação e Aplicação em Alimentos Probióticos. **Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, v. 27, n. 1, 2009.
 25. MCFARLAND, L.V. From Yaks to Yogurt: The History, Development, and Current Use of Probiotics. **Clinical Infectious Diseases**, v. 60, p. S85-S90, 2015.
 26. MONTANHINI, M. T. M. **Caracterização fenotípica e genotípica de *Bacillus cereus* isolado em produtos lácteos com relação ao seu comportamento psicrotrófico**. Tese (Doutorado), Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, 2012.

27. MUCZUCHA, M.J.; CESTONARO, T.; MEDEIROS, C.O.; CAVAGNARI, M.A.V. Uso da enzima lactase sintética e consumo de leite e derivados entre intolerantes a lactose. **Revista Brasil Nutrição**, v. 30, n. 1, p. 1-5, 2015.
28. MUZAMMIL, H.S.; JAVED, I.; RASCO, B.; ZAHOOOR, A.T. Viability of Probiotics in Frozen Yogurt with different levels of Overrun and Glycerol. **International Journal of Agriculture & Biology**, v. 17, n.3, p. 649-652, 2015.
29. NADEESHANI, D.L.W.R.; SENEVIRATNE, K.N.; JAYATHILAKA, N. Determination of Nutrient composition of domestic and commercially available coconut milk preparations. p. 180. *In: Proceedings of the International Postgraduate Research Conference 2015*. University of Kelaniya, Kelaniya, Sri Lanka, 339 p.
30. NEPA. Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação. **Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO)**. 4 ed. Campinas: NEPA – UNICAMP, 2011. 161p. Disponível em http://www.unicamp.br/nepa/taco/contar/taco_4_edicao_ampliada_e_revisada.pdf?arquivo=taco_4-versao_ampliada_e_revisada.pdf. Acesso em 11 abr. 2017.
31. NESPOLO, C.R.; BALLARDINA, A.C.; FAGUNDES, D.I.; GUIZZO, F.M.; ZUCATTI, K.P. Análise de Microrganismos Presentes em Amostras de Leite Fermentado Durante a Vida de Prateleira do Produto. II Congresso de Pesquisa e Extensão da FSG, 2., 2014, Caxias do Sul. **Anais...** Caxias do Sul, 2014. p. 388- 399.
32. OLIVEIRA, D.T.; MOREIRA, A.; URNAU, L.; NOSKOSKI, L.; CERESER, N. D. Psicrótrófos na Indústria de Laticínios. In: XVII Seminário Interdisciplinar de Ensino Pesquisa e Extensão, 2012 Cruz Alta. **Anais...** Cruz Alta: SBCTA, 2012. p.1-4.
33. OLIVEIRA, D.T.; MOREIRA, A.U.; NOSKOSKI, L.; CERESER, L.; DEBONI, N. PAIVA, Y.F.; DEODATO, J.N.V.; SILVA, E.V.; SILVA, E.V.; ARAÚJO, A.S. Iogurte Adicionado de Polpa de Abacaxi, Base Mel: Elaboração, Perfil Microbiológico e Físico-Químico. **Revista Verde**, v.10, n.5, p.22 - 26, 2015.
34. QUINTO, E.J.; R JIMÉNEZ, P.; CARO, I.; TEJERO, J.; MATEO, J.; GIRBÉS, T. Probiotic Lactic Acid Bacteria: A Review. **Food and Nutrition Sciences**, v.5, p. 1765-1775, 2014.
35. ROSSETTO, B.P.; MORAES, F.F.; ZANIN, G.M. Determination of the activity of the enzyme β -galactosidase by lactose whey cheese. **Biochemistry and Biotechnology Reports**, v. 1, n. 2, p. 28-32, 2012.
36. SANTOS, J.; ARAUJO, L.F.; JUNIOR, A.M.O.; NUNES, T.P.; PAGANI, A.A.C. Estudo da Estabilidade Microbiológica do Iogurte Liofilizado. XXV Congresso

- brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 2016, Gramado. **Anais...** Gramado, p. 1-6, 2016.
37. SARVARI, F.; MORTAZAVIAN, A.M.; FAZELI, M.R. Biochemical Characteristics and Viability of Probiotic and Yogurt Bacteria in Yogurt during the Fermentation and Refrigerated Storage. **Applied Food Biotechnology**, v.1, n.1, p.55-61, 2014.
38. SILVA, F.A.S.; AZEVEDO, C.A.V. The Assistat Software Version 7.7 and its use in the analysis of experimental data. **African Journal of Agricultural Research**, v.11, n.39, p. 3733-3740, 2016.
39. SOUSA, C.S.; FERNANDES, B.C.T.M.; FERNANDES, P.H. Caracterização de bebida láctea pasteurizada com adição de ferro. **Revista Teccen**, v.6, n. 1, p.1 -32, 2015.
40. SÜLE, J.; KÖRÖSI, T.; HUCKER, A.; VARGA, L. Evaluation of culture media for selective enumeration of bifidobacteria and lactic acid bacteria. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.45, n.3, p.1023-1030, 2014.
41. TREICHEL, H.; DI LUCCIO, M. Desenvolvimento de uma Bebida Láctea Probiótica Utilizando como Substratos Soro de Leite e Extrato Hidrossolúvel de Soja. **Alimentos e Nutrição**, v.19, n.1, p. 43-53, 2008.
42. VIANA, M.R.; NEVES, A.S., CAMARGO, K.R.J.; PRADO, S.D.; MENDONÇA, A.L.O. A racionalidade nutricional e sua influência na medicalização da comida no Brasil. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 22, n.2, p.447-456, 2017. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/csc/v22n2/1413-8123-csc-22-02-0447.pdf>. Acesso em: 22 mar. 2017.
43. VIDAL, A.M.; DIAS, D.O.; MARTINS, E.S.; OLIVEIRA, R.S.; NASCIMENTO, R.M.S.; CORREIA, M.S. A Ingestão de Alimentos Funcionais e sua Contribuição para a Diminuição da Incidência de Doenças. **Cadernos de Graduação - Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 1 n.15 p. 43-52, 2012.
44. YULIANA, N.; RANGGA, A.; RAKHMIATI, A. Manufacture of fermented coco milk-drink containing lactic acid bacteria cultures. **African Journal of Food Science**, v.4, n. 9 p. 558 - 562, 2010.

ANEXO

Diretrizes para Autores Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos

Disponível em: <http://revistas.ufpr.br/ojs2/index.php/alimentos/about/submissions#authorGuidelines>. Acesso em 01 jun. 2017.

As colaborações devem ser enviadas pelo Sistema Eletrônico de Revistas da UFPR, digitadas em **Word for windows**, usando fonte **Arial, tamanho 12**, espaçamento simples e organizadas da seguinte forma:

- título breve e descritivo do conteúdo do artigo;
- nome do autor (titulação, instituição a que pertence e endereço eletrônico em nota de rodapé);
- resumo em português (250 palavras ou 5% do texto - NBR-6028/03);
- palavras-chave (de 3 a 6 – recomenda-se consulta aos tesouros da área);
- introdução;
- material e métodos;
- resultados e discussão;
- conclusão;
- título em inglês, abstract (resumo em inglês) e palavras-chave em inglês;
- referências (em sua maioria publicada após 2000).

Tabelas e ilustrações

As tabelas e ilustrações devem ser numeradas distinta e consecutivamente, inseridas o mais próximo possível do local em que são mencionadas no texto e apresentar títulos explicativos. Enviar figuras e gráficos em arquivos separados com extensão *.jpeg.

Para assegurar nitidez, os desenhos, mapas e fotografias devem ser apresentados no original em preto-e-branco.

Equações e fórmulas

Devem ser destacados no texto (em negrito, itálico ou outra maneira) de forma que facilite a leitura. Se necessário, podem ser numeradas com algarismos arábicos entre parênteses, alinhados à direita. Para acomodar seus elementos como expoentes, índices, entre outros, é permitido usar uma entrelinha maior. Não serão aceitos artigos contendo equações e fórmulas na forma de figuras.

Conjugação verbal

Recomenda-se a expressão impessoal evitando o uso da primeira pessoa do singular ou plural. Os dados referentes aos resultados de experiências e observações devem ser expressos no passado. Generalidades, verdades imutáveis, fatos e situações estáveis exigem formas verbais indicativas de seu valor constante (presente).

Referências

As referências efetivamente citadas no artigo pelo sistema autor/data devem constituir lista única (em ordem alfabética) no final do trabalho e serem apresentadas de acordo com a NBR - 6023/02 (reeditada em agosto de 2002) da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT).

Modelos

Livros

Ex.: WHITE, C.; ZAINASHEFF, J. **Yeast**: the practical guide to beer fermentation. Boulder, Colorado: Brewers Publications, 2010. 304 p.

Capítulos de livro

Ex.: WHITE, C.; ZAINASHEFF, J. Biology, enzymes and esters. In: WHITE, C.; ZAINASHEFF, J. **Yeast**: the practical guide to beer fermentation. Boulder, Colorado: Brewers Publications, 2010. p.17-40

Publicações periódicas

Ex.: MARTINS, M.; PACHECO, A.M.; LUCAS, A.C.; ANDRELLO, A.C.; APPOLONI, C.R.; XAVIER, J.J.M. Brazil nuts: determination of natural elements and aflatoxin. **Acta Amazonica**, v.42, n.1, p. 157-164, mar. 2003.

Dissertações e teses

Ex.: SANTANA, A.A. **Influência de características físicas de plastificantes na confecção e no comportamento estrutural e higroscópico de filmes de alginato de cálcio**. 2010. 155 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2010.

Legislação

Ex.: BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n. 12 de 4 de setembro de 2003. Regulamento técnico para fixação dos padrões de identidade e qualidade gerais para suco tropical. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 9 de setembro de 2003. Seção 1, p. 2.

Anais de Congressos, Simpósios, Seminários e Conferências

Ex: PIMENTEL, T.C.; GARCIA, S.; GARCIA, S.; PRUDÊNCIO, S.H. Efeito do grau de polimerização de frutanos tipo inulina sobre os atributos de qualidade de iogurtes probióticos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 10., 2010, Curitiba. **Anais...** Curitiba: SBCTA, 2010. p. 1-10.

Documentos eletrônicos

Ex.: TUNGLAND, C. **Inulin**: a comprehensive scientific review. 2000. Disponível em: <http://members.shaw.ca./duncancrow/inulin_review.html>. Acesso em: 07/02/2011.

Declaração de Direito Autoral

Direitos Autorais para artigos publicados nesta revista são do autor, com direitos de primeira publicação para a revista. Em virtude de aparecerem nesta revista de acesso público, os artigos são de uso gratuito, com atribuições próprias, em aplicações educacionais e não-comerciais.

Política de Privacidade

Os nomes e endereços de email neste site serão usados exclusivamente para os propósitos da revista, não estando disponíveis para outros fins.