

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
COORDENAÇÃO DE QUÍMICA
CURSO DE BACHARELADO EM QUÍMICA

ALINE SACHS
MAURICIO PERIN

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE LEITE
FERMENTADO ACRESCIDO DE MEL DE ABELHAS MELIPONAS
(TETRAGONISCUA ANGUSTULA)**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

PATO BRANCO
2013

ALINE SACHS
MAURICIO PERIN

Desenvolvimento e caracterização de leite fermentado acrescido de mel de abelhas meliponas (*Tetragonisca angustula*)

Pré-projeto referente ao Trabalho de conclusão de Curso como requisito parcial para a conclusão do Curso Bacharelado em Química – habilitação bacharelado da UTFPR – Campus Pato Branco.

Professor Orientador: Prof. Dr. Mário Antônio Alves da Cunha

Pato Branco
2013

TERMO DE APROVAÇÃO

O trabalho de diplomação intitulado “**Desenvolvimento e caracterização de leite fermentado acrescido de mel de abelhas melíponas (*Tetragonisca angustula*)**” foi considerado APROVADO de acordo com a ata da banca examinadora N° 1.1 de 2013.

Fizeram parte da banca os professores.
Letícia Ledo Marciniuk
Simone Beux

DEDICATÓRIA

*A nossa família pelo apoio absoluto
em todos os momentos de nossas vidas.*

AGRADECIMENTOS

Agradecemos primeiramente a Deus que nos possibilitou concretizar este trabalho e atingir todos os nossos objetivos.

Agradecemos especialmente ao nosso orientador professor Dr. Mário Antônio Alves da Cunha que contribuiu diretamente para que este trabalho fosse desenvolvido com grande sucesso.

E por último e não menos importante à nossas famílias pelo apoio, confiança e motivação, pois sem as suas colaborações seria muito difícil vencer mais este desafio.

RESUMO

PERIN, Mauricio; SACHS, Aline. Desenvolvimento e caracterização de leite fermentado acrescido de mel de abelhas melíponas (*Tetragonisca angustula*). 2013. 40f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em Química), Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco, 2013.

Estudos demonstram significativas mudanças nos hábitos alimentares dos brasileiros, os quais têm buscado uma alimentação mais saudável e nutritiva. Dessa forma, o presente trabalho teve como objetivo o desenvolvimento de um leite fermentado acrescido de mel de abelhas melíponas Jataí (*Tetragonisca angustua*). Foram avaliadas as características físico-químicas, microbiológicas, viabilidade celular, aceitação sensorial e intenção de compra da formulação proposta. As análises microbiológicas indicaram boas práticas higiênico-sanitárias durante a elaboração do produto, tendo em vista que todos os parâmetros avaliados estavam de acordo com os padrões preconizados pela legislação brasileira. As análises físico-químicas indicaram aspectos nutricionais relevantes, como elevado conteúdo de proteínas, minerais e carboidratos e baixo conteúdo de lipídeos. O produto desenvolvido teve boa aceitação sensorial pelos provadores nos atributos sabor, viscosidade, aroma e impressão global e o teste de intenção de compra demonstrou que 52,5% dos provadores comprariam o produto. O produto desenvolvido pode ser considerado inovador, uma vez que não foi observado no mercado consumidor leite fermentado acrescido de mel de abelhas melíponas ou trabalho científico similar. O uso de mel de abelhas melíponas em produtos lácteos pode contribuir para o estímulo e fortalecimento da meliponicultura, especialmente entre produtores familiares.

Palavra-chave: leite fermentado, mel, viabilidade celular

ABSTRACT

PERIN, Mauricio; SACHS, Aline. Development and characterization of fermented milk plus honey bees Meliponidae (*Tetragonisca angustula*). 2013. 39f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em Química), Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco, 2013.

Studies show significant changes in the eating habits of Brazilians, who have sought a healthier diet and nutritious. Thus, the present study had aimed to develop a fermented milk plus honey bees Meliponidae Jatahy (*Tetragonisca angustula*). Were evaluated the characteristics physico-chemical, microbiological, cell viability, sensory acceptance and purchase intent of the proposed formulation. Microbiological analysis indicated good hygienic and sanitary practices during the preparation of the product, given that all the parameters were evaluated according to the standards set by Brazilian legislation. The physico-chemical analysis indicated relevant nutritional aspects such as high content of protein, minerals, carbohydrates and low in lipids. The product developed had good sensory acceptance by panelists attributes taste, viscosity, flavor, overall impression test, and purchase demonstrated that 52,5% of the tasters would buy the product. The developed product can be considered innovative, once it was not observed in the consumer market fermented milk plus honey bees Meliponidae or similar scientific work. The use of honey bees meliponidae in dairy products can contribute to the stimulating and strengthening of beekeeping, especially among smallholders.

Key words: fermented milk, honey, cell viability

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Fluxograma da produção do iogurte	21
Figura 2 - Ficha de teste de avaliação sensorial do leite fermentado.....	25
Figura 3 - Fixa de teste de avaliação de intenção de compra	26
Figura 4 - Leite fermentado sem adição do mel	27
Figura 5 - Leite fermentado durante a adição do mel.....	27
Figura 6 - Notas atribuídas pelos provadores para o parâmetro sabor	32
Figura 7 - Notas atribuídas pelos provadores para o parâmetro viscosidade	33
Figura 8 - Notas atribuídas pelos provadores para o parâmetro aroma	34
Figura 9 - Notas atribuídas pelos provadores para o parâmetro Impressão global ...	35
Figura 10 - Resultados para o teste de intenção de compra	35

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição média do leite de vaca.....	15
Tabela 2 - Formulação do leite fermentado acrescido de mel de abelha melípona ..	20
Tabela 3 - Parâmetros microbiológicos das formulações de bebida láctea.....	28
Tabela 4 - Desenvolvimento da cultura mista no leite fermentado no decorrer do armazento	28
Tabela 5 - Parâmetros físico químicos da formulação de leite fermentado	29

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 OBJETIVOS	14
2.1 OBJETIVO GERAL	14
2.2 OBJETIVO ESPECÍFICO	14
3 REFERENCIAL TEÓRICO	14
3.1 LEITE	14
3.2 LEITE FERMENTADO	15
3.3 PROBIÓTICOS	16
3.4 BENEFÍCIOS DO LEITE FERMENTADO	17
3.5 MEL DE ABELHA JATAÍ - <i>Tetragonisca angustula</i>	18
4 MATERIAL E MÉTODOS	19
4.1 OBTENÇÃO DO MEL.....	19
4.2 FORMULAÇÃO DO LEITE FERMENTADO.....	19
4.3 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS DO LEITE FERMENTADO.....	21
4.3.1 Coliformes a 35 °C e a 45 °C	21
4.3.2 <i>Salmonella spp.</i>	22
4.3.3 Avaliação da Viabilidade Celular da Cultura Láctea do Produto Desenvolvido.....	22
4.4 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS DO LEITE FERMENTADO.....	22
4.4.1 Avaliação da estabilidade físico-química.....	22
4.4.2 Determinação de umidade	23
4.4.3 Determinação de lipídios.....	23
4.4.4 Determinação de proteínas	23
4.4.5 Determinação de cinzas.....	23
4.4.6 Determinação de Carboidratos	24
4.4.7 Determinação de fibra bruta.....	24
4.5 ANÁLISE SENSORIAL.....	24
FONTE: AUTORIA PRÓPRIA	25
4.6 ANÁLISE DE INTENÇÃO DE COMPRA	25
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	26
5.1 ASPECTO VISUAL DO PRODUTO FERMENTADO	26
5.2 AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DO LEITE FERMENTADO.....	27
5.3 VIABILIDADE CELULAR.....	28
5.4 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO LEITE FERMENTADO.....	29
5.5 AVALIAÇÃO DA ACEITAÇÃO SENSORIAL DO PRODUTO.....	31
5.5.1 Sabor.....	31
5.5.2 Viscosidade	32

5.5.3 Aroma.....	33
5.5.4 Impressão Global	34
5.6 INTENÇÃO DE COMPRA	35
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS	36
REFERÊNCIAS.....	37

1 INTRODUÇÃO

O homem utiliza micro-organismos para conservar alimentos e preparar bebidas desde tempos remotos e passou a utilizar este benefício e aproveitar reações de caráter espontâneo para tornar sua vida mais simples.

Atualmente diversos micro-organismos são utilizados em nível industrial para produção de alimentos como iogurtes, leites fermentados, coalhadas, queijos entre outros derivados lácteos. Dentre os grupos microbianos utilizados para tal fim tem-se as bactérias ácido-láticas, empregadas principalmente como culturas iniciadoras em produtos lácteos. Descobertas relacionadas a propriedades probióticas têm ampliado nos últimos anos suas aplicações tanto em produtos alimentícios como farmacêuticos.

Como uma das consequências do crescimento da economia brasileira, a melhoria do poder aquisitivo tem permitido o acesso a alimentos nutritivos as classes mais pobres. Dentre estes alimentos destaca-se o leite, e neste sentido, a produção nacional de leite tem crescido linearmente em quase todas as regiões brasileiras, bem como o consumo de derivados do leite como iogurtes, leites fermentados e queijos.

Na produção de leite fermentado são comumente empregados os micro-organismos *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium lactis* que são probióticos. A ingestão de microrganismos probióticos é importante para repovoar o intestino com bactérias saudáveis e conseqüentemente restabelecer o equilíbrio intestinal, a integridade da mucosa e o equilíbrio funcional do organismo. Para enriquecer a qualidade nutricional de um leite fermentado podem ser acrescentados na formulação diversos ingredientes como o mel que é rico em vitaminas do complexo B, proteínas e minerais.

Neste contexto, o presente projeto tem como principal objetivo o desenvolvimento de um leite fermentado acrescido de mel de abelhas melíponas (sem ferrão) como um produto alimentício com propriedades nutricionais relevantes e com potencial mercado consumidor.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Formular produto lácteo com boa qualidade nutricional e com potencial consumidor, buscando agregação de valor ao leite.

2.2 OBJETIVO ESPECÍFICO

- Desenvolver um leite fermentado acrescido de mel de abelhas meliponas (abelha jataí, *Tetragonisca angustula*);
- Caracterizar os parâmetros físico-químicos de composição centesimal do produto formulado;
- Avaliar a qualidade microbiológica do produto;
- Avaliar a aceitabilidade sensorial da formulação desenvolvida.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 LEITE

De acordo com Ordoñez (2005), quando tratamos do leite, podemos observar várias definições, dentre elas a do ponto de vista físico-químico, que estabelece que “o leite é uma mistura homogênea de grande número de substâncias (lactose, glicerídeos, proteínas, sais, vitaminas, enzimas, etc.), das quais algumas estão em emulsão (a gordura e as substâncias associadas), algumas em suspensão (as caseínas ligadas a sais minerais) e outras em dissolução verdadeira (lactose, vitaminas hidrossolúveis, proteínas do soro, sais, etc.)”.

É um produto de grande complexidade química e física, embora aproximadamente 87 % seja constituído de água. Sua cor esbranquiçada é dada pela refração à luz pela emulsão formada por gotas muito pequenas de gordura, envolvidas em uma leve película de lecitina, dispersas em água e contendo sais em solução, e também um colóide protéico, que melhora ainda mais a estabilidade dos microglóbulos de gordura (SALINAS,2002).

Os elementos nutritivos mais importantes são as gorduras, os glicídeos, as proteínas, uma grande quantidade de minerais e uma variedade de vitaminas. Na tabela 1, pode ser observada a composição média do leite de vaca:

Tabela 1 - Composição média do leite de vaca

Constituinte	Teor (g / Kg)	Variação (g / Kg)
Água	873	855-887
Lactose	46	38-53
Gordura	39	24-55
Proteínas	32,5	23-44
Substâncias minerais	6,5	5,3-8,0
Ácidos orgânicos	1,8	1,3-2,2
Outros	1,4	-

Fonte: Silva (1997)

Os sais majoritários do leite são fosfatos, citratos, cloretos, sulfatos e carbonatos de sódio, potássio, cálcio e magnésio. Qualquer mudança no leite pode modificar o equilíbrio e induzir mudanças na propriedade do mesmo (ORDOÑEZ, 2005).

3.2 LEITE FERMENTADO

De acordo com a Resolução Nº 5, DE 13 de novembro de 2000 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) leite fermentado ou cultivado é o produto resultante da fermentação do leite pasteurizado ou esterilizado, por fermentos lácticos cuja fermentação se realiza com um ou vários dos seguintes cultivos: *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Bifidobacterium sp.*, *Streptococcus salivarius subsp thermophilus* e/ou outras bactérias ácido lácticas que por sua atividade contribuem para a determinação das características do produto final (BRASIL, 2000).

A produção brasileira de bebidas lácteas fermentadas e iogurtes apresentou crescimento significativo na última década devido a imagem positiva de alimento saudável e nutritivo (ROBERT, 2008). Segundo Masson (2010) e Souza (2011), tal tendência será mantida nos próximos anos, pois iogurtes e leites fermentados

probióticos já ocupam uma forte posição no mercado mundial dos produtos lácteos e com grande tendência de crescimento do seu consumo.

De acordo com a legislação brasileira (MAPA, 2005) os leites fermentados classificam-se segundo o conteúdo de matéria gorda, em:

- Com creme: aqueles cuja base láctea tenha um conteúdo de matéria gorda mínima de 6,0 g / 100 g.

- Integrais: aqueles cuja base láctea tenha um conteúdo de matéria gorda mínimo de 3,0 g / 100g.

- Parcialmente desnatados: aqueles cuja base láctea tenha um conteúdo de matéria gorda máximo de 2,9 g / 100g

- Desnatados: aqueles cuja base láctea tenha um conteúdo de matéria gorda máximo de 0,5g / 100 g

- Com adições: Quando em sua elaboração tenham sido adicionados ingredientes opcionais não lácteos, antes, durante ou depois da fermentação, até um máximo de 30% m / m, se classificam como com adições.

- No caso em que os ingredientes opcionais sejam exclusivamente açúcares, acompanhados ou não de glicídios (exceto polissacarídeos e polialcoóis) e/ou amidos ou amidos modificados e/ou maltodextrina e/ou se adicionam substâncias aromatizantes/saborizantes, se classificam como leites fermentados com açúcar, açucarados ou adoçados e/ou aromatizados/saborizados.

3.3 PROBIÓTICOS

Os probióticos são definidos pela Organização Mundial da Saúde, como microrganismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas conferem benefício à saúde do hospedeiro. As características mais importantes dos probióticos são sua capacidade para resistir ao suco gástrico ácido do estômago, aos sais biliares e às enzimas digestivas, capacidade de aderir à mucosa intestinal, conviver com a microbiota intestinal endógena e produzir substâncias que inibem o crescimento de bactérias indesejáveis. Estas características são específicas de cada cepa (GALLINA et al., 2011)

As principais aplicações de culturas probióticas são realizadas em produtos lácteos como leites fermentados e iogurtes (SANTOS et al., 2009). Segundo Brin-

ques (2009), somente micro-organismos classificados como bactérias ácido lácticas são considerados importantes em relação à alimentação.

Os probióticos trazem influências benéficas para a microbiota intestinal humana, entre elas, inclui-se fatores como efeitos antagônicos, competição e efeitos imunológicos, resultando em um aumento da resistência contra patógenos. A utilização de culturas bacterianas probióticas, principalmente as bactérias ácido lácticas, estimula a multiplicação de bactérias benéficas, em detrimento à proliferação de bactérias potencialmente prejudiciais, reforçando os mecanismos naturais de defesa do hospedeiro (SAAD, 2006). Atualmente, os probióticos são utilizados em medicina, visando prevenção e tratamento de doenças, inibição da carcinogênese, regulação da microbiota intestinal e em distúrbios do metabolismo gastrointestinal (SANTOS et al., 2009).

As espécies de *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* são as mais comumente usadas como probióticos, mas o fermento *Saccharomyces cerevisiae* e algumas espécies de *E. coli* e *Bacillus* também são utilizadas como probióticos (WGO, 2011).

3.4 BENEFÍCIOS DO LEITE FERMENTADO

Considera-se que alguns leites fermentados apresentam propriedades terapêuticas por serem elaborados com bactérias que incluem *lactobacilos*, *bifidobactérias* e *estreptococos*, cuja origem geralmente é o trato gastrointestinal humano e que apresentam, além dos efeitos bioquímicos e biológicos sobre os nutrientes do leite, efeitos fisiológicos e terapêuticos para o consumidor (FARIA et al., 2006).

Verificam-se diversos trabalhos na literatura científica que correlacionam o consumo de leites fermentados com benefícios à saúde. Varavallo (2008) aborda em seu trabalho os benefícios que o leite fermentado oferece às pessoas com câncer de colo de intestino, doença de Cronh e diarreias causadas por vírus e bactérias. Já Cenachi (2012) e Laguna (2006) elaboraram leite fermentado a base de leite caprino, mostrando que o leite de cabra possui maior digestibilidade em relação ao leite de vaca, sendo frequentemente utilizado na alimentação de pessoas idosas, com problemas gástricos ou mesmo de crianças com problemas de alergia ao leite de vaca.

Leal (2013) por sua vez, formulou um leite fermentado com leite de ovelha e adição de alecrim, apresentando propriedades capazes de prevenir a oxidação do colesterol e de ácidos graxos insaturados.

Dentre os tantos benefícios que o leite fermentado pode proporcionar ao organismo, podemos citar ainda: controle da microbiota intestinal; diminuição da população de patógenos pela produção de ácidos acético e láctico, diminuição de bacteriocinas e de outros compostos antimicrobianos; viabilidade da digestão da lactose em indivíduos intolerantes a este carboidrato; diminuição das doenças cardiovasculares, concentrações plasmáticas de colesterol, efeitos anti-hipertensivos bem como a redução da atividade ulcerativa (OLIVEIRA et al., 2011).

3.5 MEL DE ABELHA JATAÍ - *Tetragonisca angustula*

As abelhas, de forma geral, são consideradas elementos de extrema importância para a manutenção da vida no planeta; elas são responsáveis pela polinização de ecossistemas agrícolas e naturais. No Brasil são conhecidas mais de 400 espécies de abelhas sem ferrão que apresentam heterogeneidade na cor, tamanho, forma, hábitos de nidificação e população dos ninhos. Algumas se adaptam ao manejo, outras não (SANTOS, 2010).

Essas abelhas, até 1838, eram as únicas produtoras de mel e principais polinizadoras, só então, o Padre Manoel Severiano, introduziu no Rio de Janeiro abelhas européias para a produção de cera para velas. Cada espécie produz um tipo de mel de sabor meio ácido, de textura fina e com valor medicinal, o qual é comumente armazenado em pequenos potes confeccionados com cera (SANTOS, 2010).

Embora produza mel em menor quantidade, os meliponíneos fornecem um produto diferenciado do mel de *Apis mellifera*, pela doçura e aroma inigualáveis, possuindo consumidores distintos, dispostos a pagar altos preços pelo produto no mercado. O mel das meliponas em pouco se diferencia nos parâmetros físico-químicos das melíferas, a principal diferença é na umidade, sendo que no mel de melíponas, esta é bastante elevada, tornando-o menos denso que o mel das abelhas africanizadas e exigindo maiores cuidados quanto a sua conservação (ANACLETO, et al. 2008). O mel de melíponas também contém ácidos orgânicos, enzimas, vitaminas, flavonóides, minerais e uma extensa variedade de compostos

orgânicos, que contribuem para sua cor, odor e sabor específico (CARVALHO, et al. 2005).

De acordo com Gonçalves (2005) e Neto (2004), além de possuir propriedades nutricionais, a utilização do mel na medicina popular se deve também às suas propriedades farmacológicas. Dentre estas propriedades, a atividade antimicrobiana tem despertado interesse entre os pesquisadores devido ao seu potencial de aplicabilidade em casos clínicos, propriedades cicatrizante e antioxidante. O mel das abelhas-sem-ferrão é bastante utilizado em terapias populares, principalmente, nas zonas rurais e entre indígenas, que acreditam que diferentes tipos de mel possuem propriedades curativas específicas, sendo empregado para a cura de um amplo espectro de doenças.

Dentre as abelhas sem ferrão, destaca-se a *Tetragonisca angustula*, popularmente conhecida como Jataí. É uma abelha de pequeno porte, que possui ampla distribuição geográfica, ocorrendo naturalmente no Brasil inteiro. É possível obter de 0,5 a 1,5 L de mel/ano de colônias fortes, sendo uma das abelhas mais criadas no Estado de São Paulo (ANACLETO, et al. 2008). O mel da jataí é recomendado especialmente para tratar problemas oftálmicos e, comprovou-se que ele apresentou ação bactericida quando foram realizados testes de difusão em ágar com *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* (NETO, et al. 2004)

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 OBTENÇÃO DO MEL

O mel empregado no presente trabalho foi adquirido de produtor rural da cidade de São Domingos, na região oeste de Santa Catarina.

4.2 FORMULAÇÃO DO LEITE FERMENTADO

Formulações testes foram elaboradas até definição da formulação descrita na tabela 2. As concentrações dos ingredientes foram ajustadas de maneira a ser obtido um produto com textura, sabor e cor agradáveis.

Tabela 2 - Formulação do leite fermentado acrescido de mel de abelha melípona

INGREDIENTES	QUANTIDADES
Leite padronizado	700 mL
Leite em pó	70 g
Açúcar comercial	70 g
Mel	200 g
Sorbato de potássio	0,3 g
Fermento lácteo	0,4 g

O produto foi obtido através da fermentação láctica do leite, pela ação dos microrganismos *Lactobacillus acidophilus* LA-5[®], *Bifidobacterium* BB-12[®], e *S. thermophilus* oriundos do fermento lácteo específico.

Inicialmente o leite padronizado acrescido do leite em pó e do açúcar foi pasteurizado a 85 °C por 15 minutos em panela de aço inox e a seguir resfriado a 45 °C. Após o resfriamento, a inoculação da cultura “starter” foi procedida, sendo utilizada 400 mg de cultura para cada 1 L de leite.

O leite inoculado com a cultura foi acondicionado em potes de 250 mL previamente higienizados, sendo os mesmos colocados em estufa bacteriológica a 45 °C por 6 horas. Após a fermentação láctea foram adicionados o mel, e o conservante, conforme formulação descrita na Tabela 2.

A Figura 1 apresenta o fluxograma de produção do iogurte.

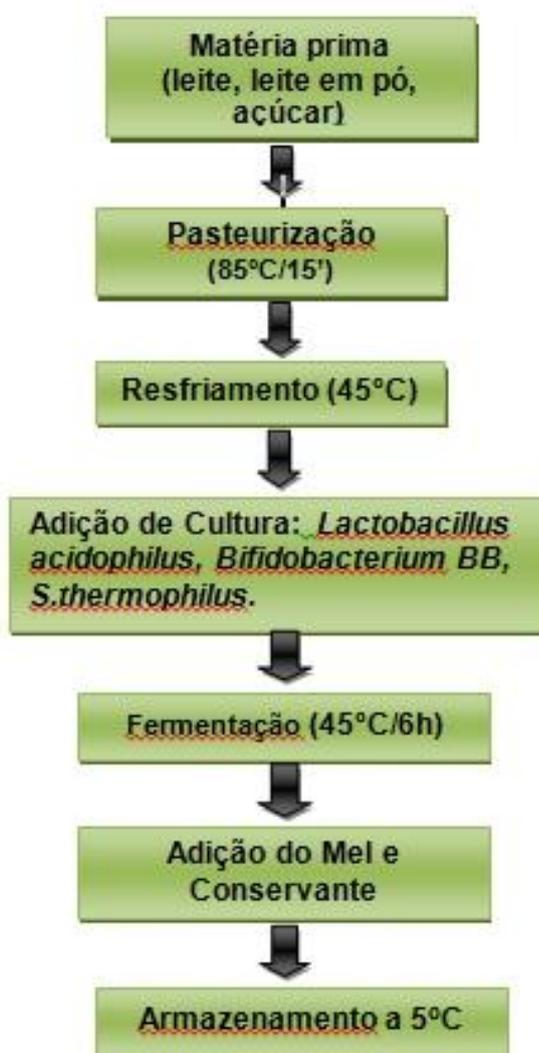


Figura 1 - Fluxograma da produção do iogurte
Fonte: autoria própria

4.3 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS DO LEITE FERMENTADO

4.3.1 Coliformes a 35 °C e a 45 °C

Para determinação de coliformes a 35 °C e a 45 °C, as amostras foram devidamente diluídas em água peptonada e inoculadas em Caldo Verde Bile Brilhante (VB) de 24 a 48 horas, 35 °C, para coliformes totais e em Caldo *E.coli* (EC) por 24 horas a 45 °C para coliformes termotolerantes. A análise foi realizada seguindo método do Número Mais Provável (NMP) (SILVA et al, 2007).

4.3.2 *Salmonella spp*

A técnica utilizada para a análise de *Salmonella* foi baseada em quatro etapas fundamentais: pré-enriquecimento em caldo não seletivo, enriquecimento em caldo seletivo, plaqueamento seletivo diferencial e confirmação sorológica. O resultado foi expresso por presença ou ausência em 25 g de amostra, conforme Manual de Métodos de Análises Microbiológicas de Alimentos (SILVA et al. 2010).

4.3.3 Avaliação da Viabilidade Celular da Cultura Láctea do Produto Desenvolvido

A viabilidade celular das bactérias lácticas foi determinada pela contagem total de células viáveis em placas. Diferentes diluições da amostra em água peptonada 0,1% (m/v) foram efetuadas, para que fosse possível a contagem das colônias. Assim, 1 mL de amostra, nas diluições estabelecidas, foi inoculada pela técnica de *Pour Plate* em placa de Petri com meio agar - Man, Rogosa e Sharpe (MRS). As placas invertidas foram incubadas em jarras de anaerobiose, contendo gerador de atmosfera de CO₂, dentro de estufa a 42 °C por 48 horas (KEMPKA et al. 2008).

4.4 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS DO LEITE FERMENTADO

4.4.1 Avaliação da estabilidade físico-química

A estabilidade físico química foi avaliada através de determinações de pH e acidez total (% de ácido láctico).

4.4.1.1 pH

Os valores de pH foram determinados em potenciômetro digital (Gehaka, modelo), devidamente calibrado com soluções tampão de pH 7,0 e 4,0 (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

4.4.1.2 Determinação da acidez total

A acidez, em termos de ácido láctico, foi determinada titulando-se 10mL da amostra com solução Dornic ($\text{NaOH } 0,111 \text{ mol.L}^{-1}$) por viragem do indicador básico fenolftaleína em solução alcoólica. $1^{\circ}\text{D} = 0,1\text{g}$ de ácido láctico por litro (MOREIRA et al. 1999).

4.4.2 Determinação de umidade

A umidade das amostras foi determinada através de método gravimétrico, o qual se fundamenta na diferença de peso da amostra após desidratação a 105°C até peso constante (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

4.4.3 Determinação de lipídios

A determinação do teor lipídico foi realizada através do método de extração por Butiromêtro de Gerber o qual é baseado na quebra da emulsão do leite pela adição de ácido sulfúrico e álcool isoamílico e posterior centrifugação e leitura do teor de gordura na escala do butirômetro (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

4.4.4 Determinação de proteínas

O teor de proteínas presente foi determinado pelo método de Kjeldahl, que consiste em digestões ácidas e básicas onde o nitrogênio é transformado em sal de amônia. Posteriormente, a amostra é destilada, e com indicador adequado, as quantidades de nitrogênio presentes são quantificadas por titulometria.

O conteúdo de nitrogênio obtido foi convertido em proteína por meio de fator de conversão 6,25, que é baseado na existência de 16% de nitrogênio, em média nas proteínas alimentares (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

4.4.5 Determinação de cinzas

A determinação de cinzas foi realizada através do método de carbonização prévia da amostra, seguido de incineração completa em mufla a 550°C durante 1 h.

A quantidade de cinzas foi determinada por gravimetria (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

4.4.6 Determinação de Carboidratos

O valor de carboidratos foi obtido por diferença, ou seja, somando-se os demais parâmetros da composição centesimal analisados e o que faltava para um total de 100% (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

4.4.7 Determinação de fibra bruta

Para a determinação de fibra bruta, as amostras foram submetidas à digestão ácida e básica, e após filtragem em cadinho de Gocch. As frações de fibra bruta foram então determinadas por gravimetria (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

4.5 ANÁLISE SENSORIAL

Para avaliação da aceitação sensorial do produto desenvolvido foi empregado teste de aceitação por Escala Hedônica de 9 pontos com escala variando de “desgostei muitíssimo” a “gostei muitíssimo”, conforme ficha de avaliação sensorial apresentada na Figura 2. Foram recrutados aleatoriamente 80 provadores, não treinados, com idade entre 17 a 50 anos, sendo estes consumidores de iogurtes ou leites fermentados. Os atributos de qualidade avaliados foram: sabor, textura, aroma e impressão global.

As amostras foram oferecidas aos julgadores (40 mL) em copos descartáveis de café de 50 mL. Os provadores receberam também um copo com água, caneta e ficha para avaliação. A avaliação sensorial foi realizada no Laboratório de Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, campus Pato Branco.

TESTE DE ACEITABILIDADE SENSORIAL			
DATA __/__/__			
Idade _____. Sexo: <input type="checkbox"/> Masculino <input type="checkbox"/> Feminino			
Por favor, você está recebendo uma amostra de leite fermentado. Avalie- a utilizando a escala de valores abaixo, demonstrando o quanto você gostou ou desgostou:			
(9) gostei muitíssimo			
(8) gostei muito			
(7) gostei regularmente			
(6) gostei ligeiramente			
(5) nem gostei nem desgostei			
(4) desgostei ligeiramente			
(3) desgostei regularmente			
(2) desgostei muito			
(1) desgostei muitíssimo			
Descreva o quanto você gostou e ou desgostou, com relação aos atributos:			
SABOR	VISCOSIDADE	AROMA	IMPRESSÃO GLOBAL
Comentários: _____			

Obrigado pela colaboração!			

Figura 2 - Ficha de teste de avaliação sensorial do leite fermentado
Fonte: autoria própria

4.6 ANÁLISE DE INTENÇÃO DE COMPRA

Para verificar a intenção de compra do produto elaborado, foi utilizada escala hedônica estruturada com 5 pontos, com notas variando de “certamente não compraria” (1) à “certamente compraria” (5). A análise foi realizada com 80 avaliadores não treinados que receberam uma amostra (uma unidade) do produto e também a ficha de avaliação (Figura 3).

Teste de Avaliação da Intenção de Compra
Após ter avaliado a amostra de <i>leite fermentado</i> , indique na escala abaixo o grau de certeza no qual você estaria disposto a comprar este produto, se o encontrasse à venda:
(1) Certamente não compraria
(2) Provavelmente não compraria
(3) Talvez comprasse, talvez não comprasse
(4) Provavelmente compraria
(5) Certamente compraria
Justifique sua avaliação e intenção de compra dizendo:
O que você mais gostou no <i>leite fermentado</i> :
E o que você menos gostou:

Figura 3 - Fixa de teste de avaliação de intenção de compra
Fonte: autoria próprio

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 ASPECTO VISUAL DO PRODUTO FERMENTADO

Após período de fermentação, foi obtido um produto homogêneo o qual apresentou coloração branca, odor e acidez característicos de fermentado lácteo e consistência firme como pode ser observado na Figura 4. Mesmo após a quebra da coalhada e estocagem sob refrigeração o produto manteve textura e viscosidade compatível com um leite fermentado.



Figura 4 - Leite fermentado sem adição do mel
Fonte: autoria própria

Na figura 5 pode-se observar o aspecto do leite fermentado durante a adição do mel.



Figura 5 - Leite fermentado durante a adição do mel
Fonte: autoria própria

5.2 AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DO LEITE FERMENTADO

De acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) Resolução – RDC nº. 12, de 02 de Janeiro de 2001, o produto leite fermentado deve apresentar os seguintes padrões microbiológicos: para coliformes totais e

termotolerantes, a tolerância para amostra indicativa é de 10 NMP/ g (Número Mais Provável por grama); para *salmonella*, a tolerância é de ausência em 25 g de alimentos.

De acordo com os dados demonstrados na Tabela 3, pode-se constatar que o produto formulado apresentou adequados parâmetros de qualidade microbiológica em relação às determinações de coliformes totais (35°), termotolerantes (45°) e *salmonella*. Foram verificadas contagens abaixo de 3 NMP/g para coliformes (35 °C e 45 °C) e ausência de *Salmonella*. Isso indica que o produto foi formulado seguindo boas condições de higiene e segurança alimentar e é adequado para o consumo e testes sensoriais.

Tabela 3 - Parâmetros microbiológicos das formulações de bebida láctea

Parâmetros analisados	Resultados	Legislação brasileira
Coliformes totais (35°C)	<3,0 NMP/g	10 NMP/ g
Termotolerantes (45°C)	<3,0 NMP/g	10 NMP/ g
<i>Salmonella spp</i>	Ausente em 25 g	Ausência em 25 g

Fonte: ANVISA

5.3 VIABILIDADE CELULAR

Os resultados obtidos em relação à avaliação da viabilidade celular estão demonstrados na Tabela 4.

Tabela 4 - Desenvolvimento da cultura mista no leite fermentado no decorrer do armazenamento

	Tempo de armazenamento (dias)			
	0	7	14	21
Células viáveis (UFC.mL ⁻¹)	3 x 10 ⁷	2,8 x 10 ⁷	2,4 x 10 ⁶	2,2 x 10 ⁶

Como pode ser verificado, o produto desenvolvido apresentou contagens de bactérias lácticas compatíveis com a legislação vigente durante os 21 dias de estocagem sob refrigeração. Segundo a portaria 71 do Ministério da Agricultura, pecuária e abastecimento (MAPA, 2004), para leites fermentados é exigido contagem de bactérias lácticas totais de no mínimo de 10⁶ unidades formadoras de colônia por mL (UFC.mL⁻¹) do produto em todo período de armazenamento.

No produto desenvolvido foi verificada contagem de $3,5 \times 10^7$ UFC. mL⁻¹ no produto antes da estocagem e de $2,8 \times 10^7$ UFC. mL⁻¹ após sete dias sob refrigeração, o que indica que durante a primeira semana de estocagem houve manutenção da viabilidade das células da cultura láctea. No décimo quarto e vigésimo dias de estocagem foi verificada pequena redução no número de células viáveis no produto, as quais foram da ordem de grandeza de 10^6 UFC. mL⁻¹ ($2,4 \times 10^6$ e $2,2 \times 10^6$, respectivamente). Kempka et al. (2008) descrevem valores similares ($2,5 \times 10^7$ UFC. mL⁻¹) de contagem bacteriana em bebida láctea sabor pêssego antes da estocagem. No entanto, os autores descrevem maior redução no número de células viáveis após 7 dias de refrigeração ($1,2 \times 10^7$). Por outro lado, os mesmos autores descrevem contagem na mesma ordem de grandeza (10^6 UFC. mL⁻¹) após 14 dias ($4,5 \times 10^6$ UFC. mL⁻¹) e 22 dias (1×10^6 UFC. mL⁻¹) de estocagem.

A contagem de células viáveis é de fundamental importância para que seja possível a verificação da estabilidade da cultura microbiana frente a condições de estocagem sob refrigeração, bem como a manutenção de adequado número de células. Esta manutenção no número de células de bactérias lácticas ao longo do período de estocagem é necessária para que o produto tenha atividade probiótica, considerando que os micro-organismos que constituem o fermento empregado são considerados probióticos.

5.4 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO LEITE FERMENTADO

Na Tabela 5 estão descritos os parâmetros físico-químicos da formulação do leite fermentado.

Tabela 5 - parâmetros físico químicos da formulação de leite fermentado

Parâmetros analisados (g / 100g)	Resultados*
pH	4,5
Acidez total (ácido láctico)	147 ±0,1
Umidade	84,7 ±0,44
Lipídeos	0,33 ±0,06
Proteínas	3,51 ±0,05
Cinzas	0,85 ±0,01
Carboidratos	13,86 ±0,66
Fibra bruta	0,65 ±0,27

*valores médios de triplicatas ± desvio padrão

Como pode ser observado, o produto apresentou acidez de 1,47 g de ácido láctico / 100 g de amostra. A acidez de leite fermentado deve estar na faixa de 0,6 g a 2,0 g de ácido láctico / 100g de acordo com a legislação brasileira vigente (FREIRE, 2012), o que indica que produto formulado estava de acordo com legislação vigente em relação ao parâmetro acidez.

O produto apresentou elevado conteúdo de umidade (84,7%). Este parâmetro está diretamente relacionado aos elevados conteúdos de água presentes nos principais constituintes do leite fermentado, ou seja, o leite e o mel. Nesse sentido, cabe salientar que o mel de abelhas meliponas apresenta maiores teores de umidade que o mel produzidos por abelhas européias ou africanizadas (RODRIGUES et al, 2005). Segundo Anacleto (2009), cerca de 24% do mel de abelha Jataí é composto por água e de acordo com Duque (2012), o leite bovino possui cerca de 87% de umidade em sua composição.

Característica interessante foi verificada em relação ao conteúdo de lipídios da formulação, ou seja, foi verificado conteúdo bastante reduzido (0,33 g / 100 g) embora o produto tenha elevada quantidade de leite com teor de gordura em torno de 3% em sua composição. Baixo teor de lipídeos (0,01 g / 100g) em leite fermentado formulado com o mesmo tipo de cultura láctea foi descrito por Riggo (2009). Os autores mencionam a capacidade que os microrganismos componentes do fermento, em especial o *L. acidophilus*, tem de aumentar a lipólise, por meio de lípases. Tal característica de lipólise também foi descrita por Albenzio *et al*, (2007), que, quando alimentando cordeiros que fornecem pasta de coalho para produção de queijos, com leite suplementado com *L. acidophilus* em diferentes concentrações, percebeu um aumento significativo dos teores de lipólise mesmo do queijo já maturado.

Segundo Oliveira (2012), o leite bovino possui alto teor de proteínas, cerca de 3,4 g /100g, já no mel de Jataí esse teor é relativamente baixo, cerca de 0,90 g/100g (CARVALHO 2005). Isso pode explicar o teor de proteínas verificado no leite fermentado desenvolvido que foi de (3,51 g / 100 g). Segundo a Instrução normativa nº 46 de 26 de outubro de 2007, o teor mínimo de proteínas para o leite fermentado deve ser de 2,9 g/100g, estando o produto adequado aos padrões de qualidade quanto ao conteúdo de proteínas. Os percentuais de cinzas observados (0,85 g / 100 g) foram superiores aos relatados na literatura para bebidas lácteas fermentadas. Santos, (2006) verificou teor de cinzas de 0,37% em bebida láctea com

polpa de Umbu, enquanto Thamer e Pena (2006) ao elaborar leite fermentado acrescido de probióticos encontram um teor de cinzas variando de 0,53% a 0,61%.

O teor de carboidratos total da amostra foi maior do que o encontrado na literatura para leite fermentado bovino, que segundo Macêdo (2011) esta em torno de 5,7g / 100g, porém a adição de mel, rico em carboidratos justificaria o aumento significativo nos valores determinados.

5.5 AVALIAÇÃO DA ACEITAÇÃO SENSORIAL DO PRODUTO

Segundo Noronha (2003), análise sensorial é o exame das características organolépticas de um produto pelos órgãos dos sentidos. A análise sensorial permite determinar diferenças, caracterizar e medir atributos sensoriais de forma rápida, e que não podem ser detectadas por outros procedimentos analíticos, além de verificar se os produtos serão aceitos ou não pelo consumidor.

Para melhor entendimento dos resultados da avaliação sensorial, foram construídos histogramas de distribuição de frequência das notas de aceitação atribuídas pelos provadores em cada parâmetro.

5.5.1 Sabor

A Figura 6 apresenta os resultados do teste de aceitação sensorial para o atributo sabor.



Figura 6 - Notas atribuídas pelos provadores para o parâmetro sabor
Fonte: Autor próprio

Em relação ao atributo sabor foi verificado que 85,78 % dos provadores afirmaram ter gostado do produto com algum grau de intensidade, sendo que 53,66 % afirmaram ter gostado muito ou muitíssimo. Um percentual de 10,3 % afirmaram ter desgostado do sabor do leite fermentado, sendo que apenas 2,43% deles afirmaram ter desgostado muitíssimo (nota 1). Possivelmente, o pequeno grau de descontentamento com o sabor do produto pode estar relacionado com a intensidade da doçura do mesmo, visto que alguns provadores descreveram na ficha de avaliação que o produto apresentava-se extremamente doce. De fato, o mel de abelhas melíponas empregado apresentava elevado grau de doçura. Uma redução no conteúdo de mel da formulação provavelmente contribuiria para melhor aceitação do sabor do produto.

5.5.2 Viscosidade

A Figura 7 apresenta os resultados do teste de aceitação sensorial para o atributo viscosidade.

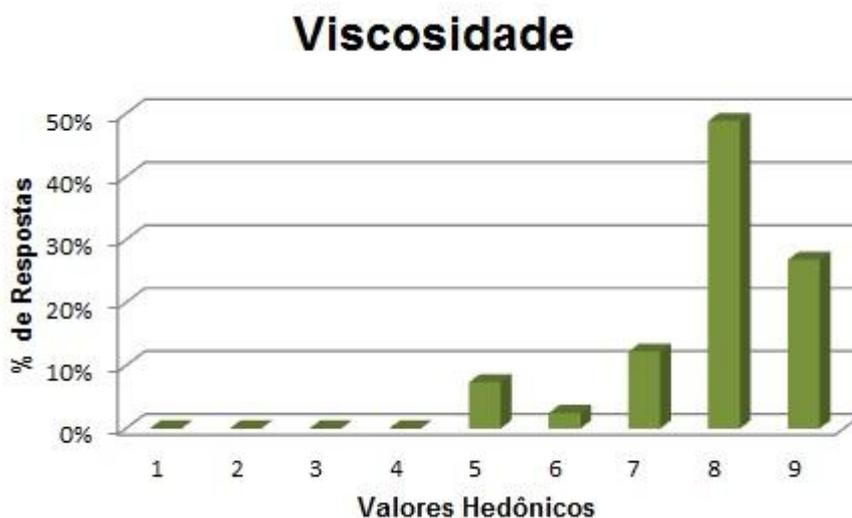


Figura 7 - Notas atribuídas pelos provadores para o parâmetro viscosidade
Fonte: Autor próprio

As notas atribuídas para este atributo sensorial variaram de 5 (nem gostei nem desgostei) a 9 (gostei muitíssimo), sendo que 75,6% afirmaram ter gostado muito (nota 8) ou muitíssimo (nota 9). Não foi observada rejeição em relação a viscosidade em nenhum grau de intensidade. De fato, pode ser considerado que o produto apresentou apreciável consistência e viscosidade.

5.5.3 Aroma

A Figura 8 apresenta os resultados do teste de aceitação sensorial para o atributo aroma.

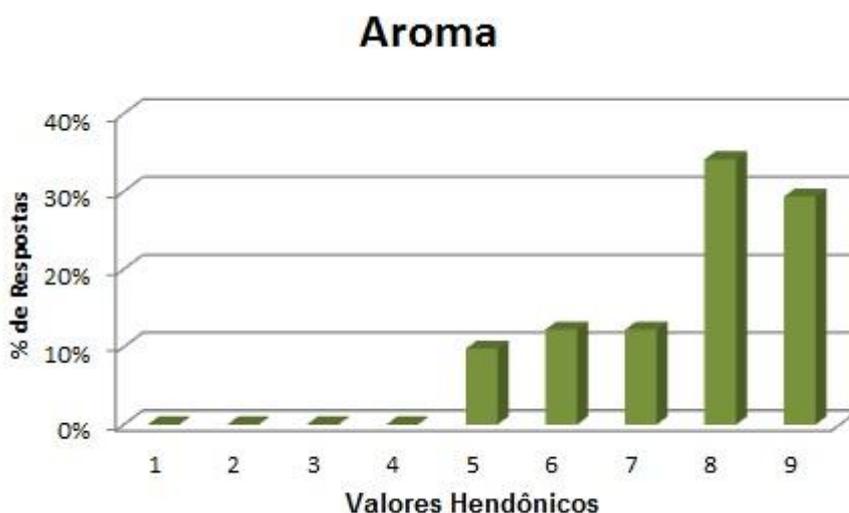


Figura 8 - Notas atribuídas pelos provadores para o parâmetro aroma
Fonte: Autor próprio

Similarmente ao verificado no atributo viscosidade, não houve rejeição do aroma do leite fermentado em nenhum grau de intensidade, apenas 9,76% descreveram não ter gostado e nem desgostado (nota 5) do produto. Verifica-se no histograma da Figura 8 que 63,4% indicaram ter gostado muito ou muitíssimo, o que demonstra uma boa aceitação do atributo aroma.

5.5.4 Impressão Global

A Figura 9 apresenta os resultados do teste de aceitação sensorial para o atributo impressão global.



Figura 9 - Notas atribuídas pelos provadores para o parâmetro Impressão global
 Fonte: Autor próprio

Através da avaliação da Figura 9, verifica-se que a avaliação desse quesito também variou de desgostei regularmente (nota 3) a gostei muitíssimo (nota 9; 12,20%), sendo que, apenas 2,43% das pessoas atribuíram a nota 3. Pode-se observar, também que 53,66% indicaram ter gostado muito ou muitíssimo. O atributo impressão global reflete a aceitação geral do produto e nesse sentido, possivelmente a percepção de elevado grau de doçura por alguns provadores pode ter contribuído para uma aceitação global inferior a almejada no trabalho, porém bastante elevada.

5.6 INTENÇÃO DE COMPRA

A figura 10 mostra os resultados para o teste de intenção de compra.

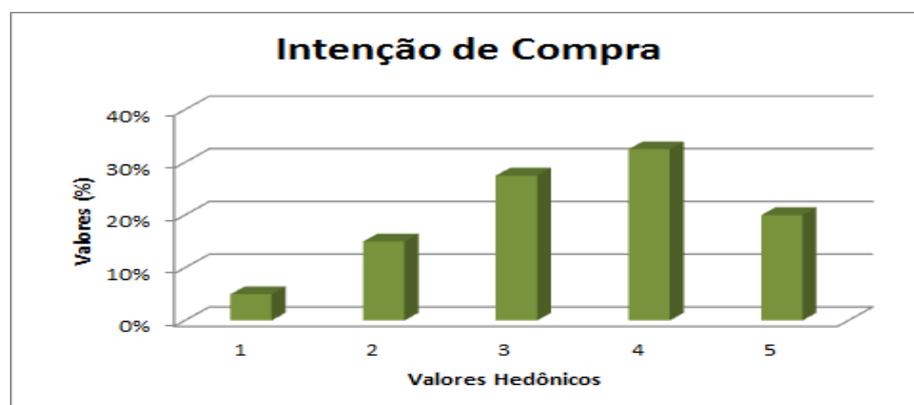


Figura 10 - Resultados para o teste de intenção de compra
 Fonte: autoria própria

Pode se observar que as opiniões dos provadores ficaram divididas. A maior porcentagem de provadores, cerca de 32,5 % afirmaram que provavelmente comprariam e 20% que certamente comprariam, enquanto 27,5% demonstraram dúvida quanto a comprar ou não o produto (nota 3). Por outro lado, apenas 5 % afirmaram que certamente não comprariam. Pelos resultados do teste de intenção de compra pode ser considerado que o produto teria uma boa aceitação de mercado e possivelmente um ajuste na doçura do mesmo possivelmente contribuiu para obtenção de melhores resultados.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Há uma preocupação por parte das pessoas em consumir alimentos mais saudáveis, dentre estes alimentos tem se destacado nos últimos anos os iogurtes, bebidas lácteas e leites fermentados com propriedades probióticas, os quais além de possuir características nutricionais básicas, também contribuem para efeitos benéficos à saúde do consumidor.

O leite fermentado desenvolvido no presente trabalho apresentou características físico-químicas e qualidade microbiológica de acordo com a legislação vigente. Foi verificada boa estabilidade do produto em relação a viabilidade celular da cultura láctea empregada ao longo do período de estocagem e a formulação proposta exibiu bom índice de aceitação sensorial, o que sugere que esta pode apresentar bom potencial comercial caso fosse lançada no mercado. O produto desenvolvido pode ser considerado como inovador, uma vez que, até o momento, não foi observado no mercado consumidor e nem na literatura científica leite fermentado acrescido de mel de abelhas meliponas.

REFERÊNCIAS

- ALBENZIO, M.; SANTILLO, A.; QUINTO, M.; DENTICO, M.; MUSCIO, A.; SEVI, A. R. **Paste from Lambs Fed a Milk Substitute Supplemented with *Lactobacillus acidophilus*: Effects on Lipolysis in Ovine Cheese**. American Dairy Science Association. 2007.
- ANACLETO, D. A.; SOUZA, B. A.; MARCHINI, L. C.; MORETI, A. C. C. C. Composição de amostras de mel de abelha Jataí (*Tetragonisca angustula* Latreille, 1811), **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, vol.29 n.3 Campinas, 2009.
- BRASIL, **Instrução Normativa nº 71, de 21 de setembro de 2004**. Adota o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Bebidas Lácteas. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Diário oficial da União, 21 de setembro de 2004.
- BRASIL. **Instrução Normativa nº 46, de 23 de outubro de 2007**. Adota o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 23 de out. de 2007.
- BRINQUES, G. B. **Otimização da produção de probióticos em biorreatores e suas aplicações em sistemas alimentícios sob a forma imobilizada**. Tese (Pós Graduação em Engenharia Química) Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2009. Disponível em:
<<http://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/18601/000731004.pdf?sequence=1>>. Acesso em 15 out 2011.
- CARVALHO, C. A. L.; SOUZA, B. A.; SODRÉ, G. S.; MARCHINI, L. C.; ALVES, R. M. O. **Mel de abelhas sem ferrão: contribuição para a caracterização físico-química** – Série meliponicultura – Nº 4. 1ª edição. INSECTA, Centro de Ciências Agrárias e Ambientais / UFBA, Bahia, 2005.
- CENACHI, D. B. **Desenvolvimento de leite de cabra fermentado prebiótico com baixo teor de lactose adicionado de β -ciclodextrina** - Dissertação (Mestrado Profissional em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados), Universidade Federal de Juiz de Fora, 2012.
- DUQUE, A. C. A.; SÁVIA, J. S.; BORGES, A. L. C. C.; SILVA, R. R.; PACONTI, C. G.; MOURÃO, R. C. FERREIRA, A. L.; SOUZA, A. S. **Água, o nutriente essencial para vacas em lactação**. Revista Veterinária, Uberlândia, v.18. n. 1, p. 6-12, 2012.

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

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*)**. Dissertação de Pós Graduação em ciência e tecnologia Agroindustrial da Universidade Federal de Pelotas, 2012.

GALLINA, D. A.; ALVES, A. T. S.; TRENTO, F. K. H. S.; CARUSI, J. **Caracterização de Leites Fermentados Com e Sem Adição de Probióticos e Prebióticos e Avaliação da Viabilidade de Bactérias Lácticas e Probióticas Durante a Vida-de-Prateleira**. UNOPAR Cient Ciênc Biol Saúde 2011.

GUIA MUNDIAL DA WGO - **Probióticos e prebióticos** - Diretrizes Mundiais da Organização Mundial de Gastroenterologia. Disponível em: http://www.worldgastroenterology.org/assets/export/userfiles/Probiotics_FINAL_pt_2012.pdf>. Acesso em 11 mar 2012.

KEMPKA, A. P.; KRÜGER, R.L.; VALDUGA, E.; LUCCIO, M. D.; TREICHEL, H.; CANSIAN, R.; OLIVEIRA, D. **Formulação de bebida láctea fermentada sabor pêssego utilizando substratos alternativos e cultura probiótica** - Departamento de Engenharia de Alimentos, Universidade Regional Integrada – URI, RS, 2007.

KROLOW, A. C. R. **Iogurte integral sabor café** – Comunicado Técnico - Ciência e Tecnologia Agroindustrial – EMBRAPA - Pelotas, RS, 2008.

LAGUNA, L. E.; EGITO, A. S. **Iogurte Batido de Leite de Cabra Adicionado de Polpa de Frutas Tropicais**, Circular 32 técnica online, EMBRAPA, Sobral, CE, 2006.

LEAL, N. S.; ZAMBRANO, F.; SERAPHIM, L. C.; DIBBERN, L. S.; ALMEIDA, L. C. F.; FERNANDES, S. **Aceitabilidade de iogurte de leite de ovelha com adição de alecrim (*rosmarinus officinalis L.*)**. Veterinária e Zootecnia – UNESP- SP, mar 2013.

MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e abastecimento – **Leite e derivados**. Legislação N° 5 de 13 de novembro de 2000.

ROBERT, N. F. **Fabricação de iogurtes**. Dossiê Técnico - Rede de tecnologia do Rio de Janeiro - REDETEC. Serviço Brasileiro de respostas técnicas – SBRT, 2008.

MASSON, L. M. P. **Desenvolvimento de bebida láctea fermentada submetida ao processamento térmico e/ou à homogeneização à ultra-alta pressão.** Tese de doutorado de Pós Graduação em processos Químicos e Bioquímicos. UFRJ – Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2010.

MOREIRA, S. R.; SCHWAN, R. F.; CARVALHO, E. P.; FERREIRA, C. Análise microbiológica e química de iogurtes comercializados em lavras – MG. **Ciência Tecnologia de Alimentos** vol.19 n.1 Campinas, 1999.

NETO, E. M.; PACHECO, J. M. **Utilização medicinal de insetos no povoado de Pedra Branca, Santa Terezinha, Bahia, Brasil** –UFSCAR, 2004.

NORONHA, J. F. **Análise Sensorial – Metodologia. Material de apoio às aulas de Análise Sensorial.** Escola Superior Agrária de Coimbra, 2003

OLIVEIRA, P. C.; SILVA, J. A. Leite fermentado probiótico e suas implicações na saúde. **Revista verde de agroecologia e desenvolvimento sustentável Grupo verde de agricultura alternativa.** v.6, n.3, p. 25 -31, Mossoró, RN, 2011.

OLIVEIRA, L. R. S.; ALVES, K. Z.; GOMES, D. I.; LIMA, E. V.; BARCELOS, S. S.; MEZZOMO, R. Qualidade físico-química do leite fluido comercializado no sudoeste paranaense. **Revista de Ciencias Agrarias Amazonian Journal – of agricultural and Environmental Sciences.** v.55, n.1, p. 61-65, 2012.

ORDOÑEZ, J. A.; **Tecnologia de Alimentos de Origem Animal.** Porto Alegre. Ed. Artmed, 2005.

PENNA, A. L. B.; GURRAM, S.; BARBOSA-CÁNOVAS, G. V. **Effect of high hydrostatic pressure processing on rheological and textural properties of probiotic low-fat yogurt fermented by different starter cultures.** Journal of Food Process Engineering. Texas, v. 29, n. 5, p. 447-461, 2006.

RIGGO, C. A.; SCOPEL, J.; GERON. M. C.; **Desenvolvimento de um leite fermentado acrescido de farinhas de cascas de jabuticaba e maracujá como ingrediente com potencialidades funcionais.** Trabalho de Diplomação do curso de química – UTFPR- Pato Branco 2009.

RODRIGUES, A. E.; SILVA, E. M. S.; BEZERRA, E. M. F.; RODRIGUES, M. L. Análise físico-química dos méis das abelhas *Apis mellifera* e *Melipona*

scutellaris produzidos em regiões distintas no Estado da Paraíba. **Ciência Rural**, v. 35 n.5 Santa Maria, 2005.

SAAD, S. M. I. **Probióticos e prebióticos: o estado da arte**. Universidade de São Paulo. Departamento de Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica. Revista Brasileira de Ciências farmacêuticas. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences, vol. 42, n. 1, 2006. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbcf/v42n1/29855.pdf>>. Acesso em 27 fev 2013.

SILVA, A. I. D.; PEREIRA, F. J. C.; BEIRAO, M. C. R.V.; GOMES, M. R. F. S.; MOURA, P. C.; PORFÍRIO, P. A.; FERNANDES, P. D. L. **Produção de logurte**. Projeto FEUP- Universidade do Porto- Faculdade de Engenharia, 2010.

SILVA, S. V. **Desenvolvimento de logurte probiótico com prebiótico**. Dissertação de mestrado do programa de pós graduação em ciência e tecnologia dos alimentos. UFSM – Universidade Federal de Santa Maria- RS, 2007.

SILVA, N. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água**. 4 ed. São Paulo: Varela, 2010.

SALINAS, R.D. ; **Alimentos e Nutrição: Introdução à bromatologia**. Porto Alegre, Ed. Artmed, 2002.

SANTOS, A. B. **Abelhas nativas: polinizadores em declínio** - Universidade Federal de Sergipe. Natureza online - ISSN 1806–7409. SE, 2010. Disponível em: <http://www.naturezaonline.com.br/natureza/conteudo/pdf/01_SantosAB_103106.pdf> Acesso em: 18 fev 2013.

SANTOS, L. C.; CANÇADO, I. A. C. **Probióticos e prebióticos: Vale a pena incluí-los em nossa alimentação**. Revista Digital FAPAM, Pará de Minas, v.1, n.1, 308-317, 2009

SANTOS, Calila. T et al. Elaboração e caracterização de uma bebida láctea fermentada com polpa de umbu (*Spondias tuberosa sp*). **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**. Campina Grande, v.8, n.2, p.111-116, 2006.

THAMER, Karime. G; PENNA, Ana. L. B. Caracterização de bebidas lácteas funcionais fermentadas por probióticos e acrescidas de prebiótico. **Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas, v. 26, n.3, 2006.

SOUZA, L. J.; **Industria de Laticínios** - Revista laticínios - Ano XVI – nº 93 –ISSN 1678-7250. Ed. Green Office Morumbi – SP, dez 2011.

VARAVALLO, M. A.; THOMÉ, J. N.; TESHIMA, E. **Aplicação de bactérias Probióticas para profilaxia e tratamento de doenças gastrointestinais** - Semina: Ciências Biológicas e da Saúde, v. 29, n. 1, p. 83-104, Londrina-PR jun. 2008.