

Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Curso Bacharelado em Química
Departamento de Química – DAQUI

JÉSSICA ELIANE NEVES

**LEITE FERMENTADO ACRESCIDO DE FARINHA DE CASCA DE
UVA: DESENVOLVIMENTO, CARACTERIZAÇÃO E ACEITAÇÃO
SENSORIAL**

PATO BRANCO
2015

JÉSSICA ELIANE NEVES

**LEITE FERMENTADO ACRESCIDO DE FARINHA DE CASCA DE
UVA: DESENVOLVIMENTO, CARACTERIZAÇÃO E ACEITAÇÃO
SENSORIAL**

Trabalho de conclusão de curso, apresentado à Comissão de Diplomação do Curso de Bacharelado em Química da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), Campus Pato Branco, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Química.

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

Coorientador: Dra. Tatiane Luiza Cadorin Oldoni.

Pato Branco, 2015

TERMO DE APROVAÇÃO

O trabalho de diplomação intitulado **Leite fermentado acrescido de farinha de casca de uva: desenvolvimento, caracterização e aceitação sensorial** foi considerado **APROVADO** de acordo com a ata da banca examinadora N° **8.1.2015-B** de 2015.

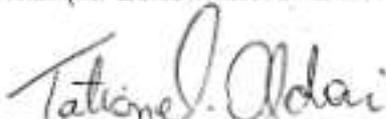
Fizeram parte da banca os professores.



Mario Antonio Alves da Cunha



Marina Leite Mitterer Daltoé



Tatiane Luiza Cadorin Oldoni

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus, por ter me concedido esta oportunidade, iluminando e abençoando toda minha trajetória ao longo do curso que tanto almejei.

Aos meus pais, Generci e Conceição, que sempre estiveram ao meu lado, incentivando e apoiando, com toda paciência e carinho, acreditando e confiando em meus objetivos.

Aos meus irmãos, Danielle e Jeyson, que mesmo distantes, sempre se mantiveram ao meu lado com toda dedicação, companheirismo, amor e amizade sincera.

Aos meus amigos, que sempre estiveram comigo ao longo de toda a graduação, os quais acreditaram, apoiaram e ajudaram na contribuição deste trabalho.

Aos meus amigos Leonardo Alves Chaves e Bruna Carneiro da Silva Baptista, pela paciência, carinho, amizade sincera e companheirismo em todos os momentos, principalmente na realização deste trabalho.

Ao meu orientador Dr. Mário Antônio Alves da Cunha, por transmitir seus conhecimentos, com muita paciência, dedicação, carinho e amizade. Obrigada por sempre me guiar.

À minha co-orientadora Dra. Tatiane Luiza Cadorin Oldoni, por sua atenção, carinho e orientação durante a realização deste trabalho.

À professora Marina L. Mitterer Daltoé, pelo carinho, dedicação, atenção e ensinamentos que foram essenciais para realização deste trabalho.

À minha amiga Roberta Roncatti, pela paciência, amizade, por me auxiliar e transmitir seus conhecimentos.

Ao Laboratório de Qualidade Agroindustrial (LAQUA) e a Central de Análises pelo espaço cedido para a realização das análises.

A todos, o meu muito obrigado, pois sem as suas colaborações seria quase que impossível vencer mais este desafio.

EPÍGRAFE

*“Bom mesmo é ir à luta com determinação,
Abraçar a vida e viver com paixão,
Perder com classe e viver com ousadia,
Pois o triunfo pertence a quem se atreve,
E a vida é “muito” para ser insignificante”.*

(Charles Chaplin)

RESUMO

NEVES, Jéssica Eliane. Leite Fermentado acrescido de farinha de casca de uva: Desenvolvimento, Caracterização e Aceitação Sensorial. 2015. 49f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em Química) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco, 2015.

Cascas de uvas tintas contêm em sua composição quantidades apreciáveis de compostos bioativos, como antocianinas. No entanto, ainda são consideradas resíduos nas agroindústrias beneficiadoras da fruta. Uma estratégia potencial para o aproveitamento destas pode ser sua transformação em farinha para uso como ingrediente em produtos alimentícios. Neste sentido, no presente estudo foi proposto o desenvolvimento de leite fermentado acrescido de farinha de casca de uvas Bordôs (*Vitis labrusca* L.) cultivadas na região Sudoeste do Paraná. Foram desenvolvidas três formulações de leite fermentado contendo 10, 30 e 60 g/L de farinha de cascas de uva. As formulações de leite fermentado desenvolvidas apresentaram conteúdos apreciáveis de fibras e resíduo mineral e baixo conteúdo de gorduras, bem como qualidade microbiológica condizente com a legislação brasileira vigente. Em relação ao teor de gordura os produtos desenvolvidos podem ser classificados como semidesnatados (1,3 – 2,0 g/100g) e apresentaram contagens de bactérias lácticas (na ordem de 10^9 UFC/mL) dentro dos limites estabelecidos pela legislação durante os 21 dias de estocagem em geladeira. As formulações tiveram boa aceitação sensorial pelos provadores, com destaque para a formulação com menor quantidade de farinha de cascas de uva. Teste de avaliação intenção de compra indicou que as três amostras apresentaram índice de intenção de compra superior a 70%, o que sugere potencial comercial para as formulações desenvolvidas. O emprego de farinhas de cascas de uva como ingrediente em formulações de leite fermentado pode ser considerado como inovador, uma vez que, até o momento, não foi observado no mercado consumidor produto similar. Tal aproveitamento poderia agregar valor à cadeia agroindustrial beneficiadora de uvas tintas.

Palavras-chave: Produto Lácteo. Fermentado Lácteo. Atividade Antioxidante. Viabilidade Celular

ABSTRACT

NEVES, Jéssica Eliane. Fermented milk added of grape skin flour: Development, Characterization and Sensory Acceptance. 2015. 49f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em Química) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco, 2015.

Peel of grapes contains appreciable amounts of bioactive compounds, such as anthocyanins and phenolics. However, they are still considered as residues in agroindustries of grape derivatives. One potential strategy for the use of this biomass may be processing into flour for use as an ingredient in food products. In this sense, in the present study fermented milk added of grape peel flour (*Vitis labrusca* L.) grown in the Southwest region of Paraná was developed. Three fermented milk formulations containing 10, 30 and 60 g / L of grape peel flour were produced and characterized. The developed formulations showed appreciable content of fiber and mineral residue and low fat content, as well as microbiological quality in concordance with current Brazilian law. In relation to the fat content, the products developed can be classified as semi-skimmed (1.3 to 2.0 g / 100g), and presented counts of lactic acid bacteria (in the order of 10^9 CFU / ml) within limits established by the legislation for 21 days of storage in refrigerator. The formulations had good sensory acceptance by the tasters with highlight to the formulation with less amount of grape peel flour. Test of purchase intent indicated that all samples showed index of purchase intention over 70%, suggesting commercial potential for developed formulations. The use of grape peel flour as an ingredient in the fermented milk compositions can be considered innovative, since, up to now, was not observed similar product in consumer market. The use of grape peel flour in dairy products could add value to agro industrialization chain of grape.

Keywords: Milk product. Fermented Milk. Antioxidant activity. Cell viability

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Fluxograma da produção do leite fermentado.....	21
Figura 2 - Ficha empregada no teste de avaliação sensorial do leite fermentado	27
Figura 3 - Ficha empregada no teste de avaliação de intenção de compra	28
Figura 4 - Leite fermentado sem adição dos demais ingredientes	30
Figura 5 – Farinha de casca de uva desidratada	30
Figura 6 – Formulações de leite fermentado JM-1, Jm-2 e JM-3	35
Figura 7– Resultados para intenção de compra para formulação JM-1	46
Figura 8 – Resultados para intenção de compra para formulação JM-2	46
Figura 9 – Resultados para intenção de compra para formulação JM-3	47

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Composição média do leite de vaca.....	15
Tabela 2 - Formulação do leite fermentado acrescido de farinha da casca de uva...	20
Tabela 3 – Composição proximal da farinha de casca de uva	31
Tabela 4 - Resultados de Atividade Antioxidante e de Antocianinas da farinha.....	32
Tabela 5 – Parâmetros microbiológicos da formulação JM-1 do leite fermentado	33
Tabela 6 – Parâmetros microbiológicos da formulação JM-2 do leite fermentado	34
Tabela 7 – Parâmetros microbiológicos da formulação JM-3 do leite fermentado	34
Tabela 8 – Viabilidade celular da cultura láctea ao longo do período de estocagem	35
Tabela 9 – Parâmetros físico-químicos das formulações.....	36
Tabela 10 - Diferença total entre a soma das ordenações para o atributo aparência cremosa.....	38
Tabela 11 – Diferença total entre a soma das ordenações para o atributo aparência uniforme	38
Tabela 12 – Diferença total entre a soma das ordenações para o atributo intensidade da cor violeta.....	39
Tabela 13 – Diferença total entre a soma das ordenações para o atributo odor característico a leite	39
Tabela 14 – Diferença total entre a soma das ordenações para o atributo odor ácido	40
Tabela 15 – Diferença total entre a soma das ordenações para o atributo odor característico a iogurte.....	40
Tabela 16 – Diferença total entre a soma das ordenações para o atributo odor característico a Uva.....	41
Tabela 17 – Diferença total entre a soma das ordenações para o atributo textura cremosa.....	41
Tabela 18 – Diferença total entre a soma das ordenações para o atributo textura arenosa	42
Tabela 19 – Diferença total entre a soma das ordenações para o atributo sabor de Uva.....	42
Tabela 20 – Diferença total entre a soma das ordenações para o atributo sabor de leite.....	43

Tabela 21 – Diferença total entre a soma das ordenações para o atributo sabor de iogurte	43
Tabela 22 – Diferença total entre a soma das ordenações para o atributo gosto doce	44
Tabela 23 – Diferença total entre a soma das ordenações para o atributo gosto ácido	44
Tabela 24 – Diferença total entre a soma das ordenações para o atributo gosto amargo	44
Tabela 25 – Diferença total entre a soma das ordenações para o atributo residual adstringente.....	45
Tabela 26 – Diferença total entre a soma das ordenações em relação a preferência	45

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	8
SUMÁRIO	11
1 INTRODUÇÃO	13
2 OBJETIVOS	14
2.1 Objetivo geral	14
2.2 Objetivos específicos	14
3 REFERENCIAL TEÓRICO	15
3.1 LEITE	15
3.2 HISTÓRICO DA UVA	16
3.3 FERMENTAÇÃO LÁCTICA	16
3.4 LEITE FERMENTADO	17
3.5 ANTIOXIDANTES NATURAIS	18
4 MATERIAL E MÉTODOS	19
4.1 PRODUÇÃO DA FARINHA DE CASCA DE UVA	19
4.2 FORMULAÇÃO DO LEITE FERMENTADO	20
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 Caracterização Proximal e Físico-química da Farinha de Uva e do Leite Fermentado	22
4.4.1 Umidade	22
4.4.2 Determinação de proteínas	23
4.4.3 Determinação de resíduo mineral	23
4.4.4 Determinação de fibra bruta	23
4.4.5 Determinação de pH	23
4.4.6 Determinação da acidez total do leite fermentado	23
4.4.7 Determinação de sólidos solúveis	24
4.4.8 Teor de lipídeos na farinha de uva	24
4.4.9 Determinação do teor de gordura no leite fermentado	24
4.4.10 Determinação da Atividade Antioxidante	24
4.4.10.1 Método ABTS	24

4.4.10.2 Método DPPH	25
4.4.10.3 Redução do ferro – FRAP (Poder Antioxidante de Redução do Ferro).....	25
4.4.11 Antocianinas.....	25
4.5 ANÁLISE SENSORIAL.....	26
4.6 ANÁLISE DE INTENÇÃO DE COMPRA	27
4.7 TESTE DE ORDENAÇÃO	28
5 ANÁLISE ESTATÍSTICA	29
6.1 COMPOSIÇÃO PROXIMAL DA FARINHA DE CASCA DE UVA	30
6.2 POTENCIAL ANTIOXIDANTE DA FARINHA DE CASCA DE UVA	32
6.3 QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DO LEITE FERMENTADO	33
6.4 VIABILIDADE CELULAR DA CULTURA LÁCTEA DURANTE ESTOCAGEM SOB REFRIGERAÇÃO	34
6.5 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO LEITE FERMENTADO	35
6.6 AVALIAÇÃO DA ACEITAÇÃO SENSORIAL DO PRODUTO.....	37
6.6 TESTE PREFERÊNCIA GLOBAL	45
6.7 INTENÇÃO DE COMPRA.....	46
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	47
8 REFERÊNCIAS.....	49

1 INTRODUÇÃO

O mercado de alimentos tem sofrido uma série de transformações devido aos novos hábitos alimentares, os quais têm surgido pela preocupação de inúmeros consumidores com a saúde e longevidade. Tal atitude tem levado as indústrias alimentícias a atuarem intensamente no desenvolvimento de produtos com maior valor nutricional e com ingredientes mais saudáveis.

Segundo Monteiro (2009) e Roriz (2012), a propagação e divulgação dos benefícios à saúde do consumo de alimentos com características funcionais tem feito com que o consumidor amplie a ingestão de frutas. O aproveitamento de diversos outros produtos considerados funcionais também tem crescido nos últimos anos, como o consumo de iogurtes e leites fermentados.

Os produtos funcionais se apresentam como uma alternativa viável para sanar algumas deficiências alimentares, pois além de oferecer componentes essenciais para o desenvolvimento e manutenção corporal, promovem saúde e podem estar relacionados à redução de riscos de certas doenças.

Dentre tantas frutas com características funcionais, encontra-se a uva, considerada um alimento com propriedades funcionais devido à presença do resveratrol. O resveratrol é um composto fenólico, antioxidante, que pode auxiliar na prevenção de cânceres e doenças cardiovasculares pela ação anti-inflamatória e inibição da enzima lipoxigenase (SAUTTER et al., 2005).

Durante o processamento da uva, na fabricação de sucos, vinhos e geleias, é gerada grande quantidade de biomassa constituída de cascas, as quais muitas vezes são descartadas no ambiente. No entanto estudos científicos têm demonstrado que o seu aproveitamento é uma alternativa eficiente na diminuição da poluição ambiental e melhoria na qualidade das propriedades sensoriais (CATANTO et al., 2008).

Uma alternativa promissora de aproveitamento é a transformação das cascas de uva em farinhas e a incorporação destas na formulação de alimentos.

Neste contexto, o presente trabalho busca estudar o aproveitamento da casca de uva na forma de farinha como um ingrediente na formulação de um leite fermentado.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Desenvolver um leite fermentado acrescido de farinha da casca de uva como proposta de um novo produto alimentício.

2.2 Objetivos específicos

- Caracterizar a farinha de cascas de uvas oriundas da região sudoeste do Paraná quanto à composição proximal, compostos fenólicos totais e atividade antioxidante;
- Desenvolver leite fermentado acrescido de farinha de cascas de uva visando o aproveitamento tecnológico e agregação de valor a biomassa;
- Caracterizar o produto formulado quanto à composição proximal e parâmetros físico- químicos de qualidade;
- Avaliar a qualidade microbiológica do produto;
- Avaliar parâmetros sensoriais das formulações através do teste de ordenação de atributos e avaliar a aceitação através de teste de intenção de compra.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 LEITE

De acordo com Ordoñez (2005), podem ser observadas várias definições de leite, dentre elas a do ponto de vista físico-químico, que estabelece que “o leite é uma mistura homogênea de grande número de substâncias (lactose, glicérides, 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% da composição corresponda à 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 coloide proteico, que melhora ainda mais a estabilidade dos micro glóbulos de gordura (SALINAS 2002).

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)	Varição (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 HISTÓRICO DA UVA

Segundo relatos arqueológicos, as sementes de uvas mais antigas, datam de 7000 a 5000 anos a.c, as quais foram encontradas na Geórgia, Rússia (PRADO; SILVA, 2008).

As vinhas foram trazidas para as Américas por Cristóvão Colombo conforme descreve Martins (2004):

Da Europa, através das expedições colonizadoras, as vinhas chegaram a outros continentes, se aclimataram e passaram a fornecer bons vinhos, especialmente nas Américas do Norte (Estados Unidos) e do Sul (Argentina, Chile e Brasil) e na África (África do Sul). A uva foi trazida pra as Américas por Cristóvão Colombo, na sua segunda viagem às Antilhas em 1493, e se espalhou, a seguir, para o México e sul dos Estados Unidos e às colônias espanholas da América do Sul. As videiras foram trazidas da Ilha da Madeira ao Brasil em 1543 por Martim Afonso de Souza e plantadas por Brás Cubas, inicialmente no litoral paulista e depois, em 1551, na região de Tatuapé (MARTINS, 2004, pg. 20).

A espécie cultivada primordialmente foi a *Vitis vinífera*, procedente das regiões de Portugal e Espanha. Nos primórdios do século XIX, ocorreu o declínio das plantações de uva em função da disseminação de doenças de origem fúngica devido à importação de videiras da América do Norte. Posteriormente a tal fato, a uva Isabel passou a ser cultivada e mais tarde, (século XX), no oeste de São Paulo a uva Isabel foi substituída pela Niágara e Seibel (PROTAS et al., 2008).

No Estado do Rio Grande do Sul, o elevado desenvolvimento na produção de uva foi consequência do apoio governamental. Na década de 70, houve grande incentivo à produção de parreiras da espécie *Vitis vinífera*. Tal incentivo foi decorrente das empresas multinacionais que se instalaram na região da Serra Gaúcha e da Fronteira Oeste (PROTAS et al., 2008).

3.3 FERMENTAÇÃO LÁCTICA

Uma das maneiras mais antigas de conservação de produtos oriundos da agricultura ou da indústria agroalimentar é a fermentação láctica. Esse tipo de fermentação está relacionado em primeiro lugar com os produtos lácteos, como iogurtes, queijos, manteiga e creme, mas também com carnes, frios, pães, cerveja, vinho entre outros. A fermentação láctica é feita por diversas bactérias conhecidas

como bactérias ácido-lácticas que convertem os açúcares do meio em ácido láctico (PIARD, LOIR, POQUET et al, 1998).

A produção industrial de ácido láctico passou a ter importância depois de 1881. O ácido láctico, obtido por fermentação, usualmente é da forma racêmica, existindo, no entanto, *Lactobacillus* que produzem formas opticamente ativas (AQUARONE et. al., 1992).

De acordo com Silva (2000), nos alimentos, essa fermentação ocorre de acordo com a tolerância dos microrganismos ao pH do substrato. No leite, quando a concentração de ácido láctico atinge de 0,7 a 1,0%, é inibido o crescimento de algumas cepas de microrganismos.

Na fermentação de produtos pouco ácidos como o leite e carne, é realizada com o objetivo de aumentar a concentração de microrganismos fermentadores, para reduzir o tempo de fermentação e inibir crescimento de patogênicos e deterioradores, adiciona-se uma determinada quantidade de microrganismos selecionados, com o objetivo de iniciar a fermentação; essa cultura de microrganismos é conhecida como cultura “*starter*” (Silva, 2000).

A fermentação de produtos lácteos apresenta as seguintes características:

- a) É geralmente descontínua;
- b) Os únicos substratos utilizados pelos microrganismos são: lactose e, em menor grau, citrato e lactato;
- c) O produto obtido, com maior durabilidade, tem características sensoriais e físico-químicas distintas da matéria-prima, com diferentes composições, consistência, textura, sabor e aroma;
- d) Há a produção de diversos componentes e, na maioria dos processos, não são permitidos aditivos na fermentação, com raras exceções; (AQUARONE et. al., 2001).

3.4 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 (MAPA, 2000).

A produção brasileira de bebidas lácteas fermentadas e iogurtes apresentou crescimento significativo na última década devido à 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 mínima de 3,0 g / 100 g;
- Parcialmente desnatados: aqueles cuja base láctea tenha um conteúdo de matéria gorda mínima de 2,9 g / 100 g;
- Desnatados: aqueles cuja base láctea tenha um conteúdo de matéria gorda mínima de 0,5 g / 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 poliálcoois) 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.

3.5 ANTIOXIDANTES NATURAIS

A procura por substâncias bioativas vem crescendo, principalmente os antioxidantes que apresentam a capacidade de reagirem com os radicais livres, mostrando assim, benefícios ao organismo (MELO, 2010).

Os antioxidantes naturais são moléculas presentes nos alimentos, em quantidades menores, que possuem a capacidade de interromper a formação de radicais livres. Esses radicais são moléculas instáveis que para se estabilizar precisam capturar elétrons de outras moléculas, o que causa danos biológicos devido à reação com moléculas de DNA, proteínas entre outros componentes da membrana celular. A principal patologia desencadeada por esses radicais são câncer e doenças cardiopatas (GALLICE, 2010).

Os antioxidantes podem ser classificados como primários e secundários. Os primários fornecem aos radicais livres, elétrons ou hidrogênio ou ainda reagem com estes tornando-os moléculas estáveis. Já os antioxidantes secundários agem na complexação de metais, absorção da radiação ultravioleta, sequestro do oxigênio singlete, entre outros mecanismos que retardam a iniciação da autoxidação (PINTO, 2011).

Grande parte dos métodos de determinação de atividade antioxidante *in vitro* aplicados nos dias de hoje tem como base a formação de radicais livres, os quais são capturados ao ser acionado o composto antioxidante, ou por inibir a formação de radicais livres, ou ainda do consumo de oxigênio por esta. Os radicais livres podem ser gerados por diversos tipos de compostos cromógenos como, por exemplo, o composto azo ABTS (2,2 – azinobis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfônico) ou DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) (ROCKENBACK, 2008). Há também o ensaio do FRAP (Poder Antioxidante de Redução do Ferro) e está baseado na capacidade de um antioxidante em reduzir o Fe^{+3} em Fe^{+2} .

Por estas características, o uso de antioxidantes na indústria de alimentos e seus mecanismos funcionais têm sido amplamente estudados e são bem aceitos pelos consumidores que buscam alimentos saudáveis.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 PRODUÇÃO DA FARINHA DE CASCA DE UVA

A Farinha da casca de uva foi produzida a partir do bagaço de uvas tintas Bordô, variedade *Vitis labrusca L.* oriundo do processamento da produção de vinhos em vinícola localizada na cidade de Mariópolis, região Sudoeste do Paraná. O bagaço de uva foi liofilizado e na sequência triturado utilizando moinho tipo Wiley

4.2 FORMULAÇÃO DO LEITE FERMENTADO

Foram elaboradas três diferentes formulações de leite fermentado, JM-1, JM-2 e JM-3, contendo concentrações distintas de farinha de casca de uva, conforme descrito na Tabela 2, na qual a sigla JM das formulações significa Jéssica/Mário.

Tabela 2 - Formulação do leite fermentado acrescido de farinha da casca de uva

Ingredientes	Formulações		
	JM-1	JM-2	JM-3
Leite Padronizado**	68,0	68,0	68,0
Leite em pó*	5,93	4,93	3,93
Açúcar comercial*	5,0	5,0	5,0
Farinha (casca uva)*	1,0	3,0	6,0
Polpa de uva*	20,0	20,0	20,0
Fermento lácteo*	0,04	0,04	0,04
Sorbato de potássio*	0,03	0,03	0,03

*g/100 mL

**mL/100 mL

#quantidade suficiente para atingir efeito desejado

A polpa de uva foi obtida pelo cozimento de polpa congelada de uva (disponível comercialmente) e açúcar na proporção 1:1 (m/m), concentrada por cozimento até 60 °Brix.

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 comercial BioRich (Chr. Hansen A/S, Dinamarca).

O leite padronizado acrescido do leite em pó e do açúcar foi aquecido em panela de aço inox a 45 °C e então acondicionado em iogurteira doméstica (volume de 1,5 L). Na sequência foi procedida à inoculação da mistura com a cultura “starter” (400 mg de cultura para cada 1 litro de leite) e permitida a fermentação a 45 °C por período de 7 h.

Após a fermentação láctea foi adicionado a farinha de cascas de uva, a polpa de uva e o conservante.

Na Figura 1 está descrito o fluxograma de produção do leite fermentado.



Figura 1 - Fluxograma da produção do leite fermentado.

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 Brillante (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.

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 viabilizar a contagem das colônias. Assim, 1 mL de amostra, nas diluições estabelecidas, foram inoculadas pela técnica de *Pour Plate* em placa de Petri com meio ágar - 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 Caracterização Proximal e Físico-química da Farinha de Uva e do Leite Fermentado

Foi avaliada a composição proximal da farinha de uva e do leite fermentado, sendo determinados os parâmetros umidade, proteínas, lipídeos, resíduo mineral, e fibra alimentar, seguindo os protocolos descritos Instituto Adolfo Lutz (2008).

Foram determinados também a atividade de água, atividade antioxidante, e composição de minerais na farinha de uva e no leite fermentado. No leite fermentado foram ainda determinados os parâmetros físico-químicos: pH, acidez titulável, teor de gordura e sólidos solúveis totais (°Brix).

4.4.1 Umidade

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

4.4.2 Determinação de proteínas

O teor de proteínas presentes 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 foi destilada e com indicador adequado a quantidade de nitrogênio presente foi quantificada por titulometria.

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

4.4.3 Determinação de resíduo mineral

Para a determinação de cinzas a amostra foi previamente carbonizada e em seguida submetida à incineração completa em mufla a 550 °C durante 1 hora. A quantidade de cinzas foi estabelecida através de gravimetria (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

4.4.4 Determinação de fibra bruta

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

4.4.5 Determinação de pH

O pH do leite fermentado foi medido diretamente em pHmetro digital de bancada.

4.4.6 Determinação da acidez total do leite fermentado

A acidez, em termos de ácido láctico, foi determinada titulando-se 10 mL da amostra com solução Dornic (NaOH N/9) por viragem do indicador básico fenolftaleína em solução alcoólica. 1°D = 0,1 g de ácido láctico por litro (MOREIRA et al. 1999).

4.4.7 Determinação de sólidos solúveis

Os teores de sólidos solúveis (°Brix) do leite fermentado foram determinados com auxílio de refratômetro portátil (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

4.4.8 Teor de lipídeos na farinha de uva

Os lipídios foram determinados utilizando-se o método de Soxhlet, o qual consiste na solubilização destes lipídios em solvente orgânico (éter de petróleo e éter etílico 1:1) num sistema de refluxo por um período de 4 horas. Após o processo, ocorreu à evaporação do solvente e a porção lipídica foi determinada gravimetricamente segundo o INSTITUTO ADOLFO LUTZ (2008).

4.4.9 Determinação do teor de gordura no leite fermentado

A determinação do teor de gordura no leite fermentado foi realizada em Butiromêtro de Gerber. O método 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).

4.4.10 Determinação da Atividade Antioxidante

4.4.10.1 Método ABTS

O radical ABTS foi formado pela reação de 1,5 mL de ABTS 7 mM com 26,4 µL de persulfato de potássio 140 mM, incubados em temperatura ambiente por 16 horas na ausência de luz. Após a incubação, a solução foi diluída em Etanol P.A até obter uma absorbância na faixa de $0,700 \pm 0,200$ à 734 nm. O método consistiu na adição de 30 µL do extrato com uma diluição de 1:50 vezes e 3 mL do radical formado, tendo como branco etanol P.A..

A leitura da absorbância foi realizada em espectrofotômetro à 734 nm após 6 minutos de reação. Para a quantificação foi construída uma curva de calibração analítica utilizando o antioxidante Trolox como padrão, o resultado foi expresso em µmol de Trolox por g de amostra ($\mu\text{mol g}^{-1}$).

4.4.10.2 Método DPPH

A metodologia escrita por Brand-Williams et al. (1995) propõe a mistura da reação pela adição de 500 µL do extrato com uma diluição de 1:200, 3,0 mL de etanol 80% (v/v), 300 µL do radical DPPH e incubada em temperatura ambiente e ao abrigo da luz. A estabilidade foi monitorada, até que se atinja a estabilidade da reação – aproximadamente 45 minutos - por espectrofotometria em 517 nm, absorção característica do DPPH, a qual vai desaparecendo após a redução com o hidrogênio extraído de um composto antioxidante. O branco foi preparado substituindo o volume da solução de DPPH por igual volume de metanol.

Foi preparada uma curva padrão com uma solução de Trolox nas concentrações 15 - 100µM de Trolox. Com o auxílio desta curva foi determinada a capacidade antioxidante das amostras por este método, que serão expressas em mmol de Trolox por mL da amostra.

4.4.10.3 Redução do ferro – FRAP (Poder Antioxidante de Redução do Ferro)

Esta metodologia seguiu o proposto por Benzie e Strain (1996) com algumas modificações. O reagente FRAP foi preparado por meio da mistura 55 mL de uma solução de tampão acetato (300mM, pH 3,6), 5,5 mL da solução TPTZ (10mM TPTZ em 40 mM HCl) e 5,5 mL de FeCl₃ (20mM) em solução aquosa. Uma alíquota de 90 µL do extrato com uma diluição de 1:100 foi adicionado a 2,7 mL do reagente FRAP e incubada a 37°C em banho-maria por 30 minutos. A absorbância foi medida a 595 nm após esse tempo e o espectrofotômetro foi zerado com a solução FRAP. A curva de calibração foi feita com sulfato ferroso nas concentrações 100 - 2000µM, e os resultados foram expressos em mmol de Fe²⁺ por mL da amostra.

4.4.11 Antocianinas

Os conteúdos de antocianinas na farinha de uva foram quantificados conforme descrito por Lee et al. (2005). Foram preparadas soluções tampão pH 1,0 (cloreto de potássio, 0,025 M) e pH 4,5 (acetato de sódio, 0,4 M). Foram transferidos 10 mL de amostra para balão volumétrico de 50 mL e o volume foi completado com

solução tampão pH 1,0, sendo o mesmo procedimento realizado com o tampão de pH 4,5. Procederam-se as leituras a 520 nm e 700 nm em pH 1,0 e 4,5. Foi realizado cálculo (Equação 1) da concentração do pigmento e expressa em equivalente de cianidina-3-glicosídeo.

Antocianina pigmento (equivalente cianidina-3-glicosídeo, mg/L) =

$$A \times MW \times DF \times 10^3 / \varepsilon \times 1 \quad (1)$$

Sendo que:

A = (Absorbância a 520 nm, - Absorbância a 700 nm) pH 1,0 – (Absorbância a 520 nm – Absorbância a 700 nm) pH 4,5;

MW (massa molecular): 449,2 g/mol de cianidina-3-glicosídeo (cyd-3-gli);

DF: Fator de diluição;

ε (coeficiente de extinção molar): 26900 em L.mol⁻¹. cm⁻¹, para cyn-3-gli e 10³ = fator de conversão de g para mg.

4.5 ANÁLISE SENSORIAL

Para avaliação do produto desenvolvido foi aplicado o teste de Ordenação, conforme ficha de avaliação sensorial demonstrada na Figura 2. Foram recrutados provadores aleatoriamente não treinados, sendo estes consumidores de iogurtes ou leites fermentados. Os atributos de qualidade avaliados foram: aparência, odor, textura, sabor, gosto e residual.

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 Tecnologia de Alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, campus Pato Branco. Os resultados foram avaliados através de análise de variância (ANOVA de Friedman).

Idade:

Sexo: () Feminino () Masculino

Data: __/__/__

Você está recebendo três amostras de iogurte, ordene da menos intensa para a mais intensa de acordo com os atributos logo abaixo.

	menos intensa		mais intensa
1. Aparência Cremosa			
2. Intensidade da cor violeta			
3. Uniformidade.			
4. Odor característico a leite.			
5. Odor ácido.			
6. Odor característico a iogurte.			
7. Odor característico a Uva.			
8. Textura cremosa.			
9. Textura Arenosa.			
10. Sabor de Uva.			
11. Sabor de Leite			
12. Sabor de iogurte			
13. Gosto doce.			
14. Gosto Acido.			
15. Gosto Amargo.			
16. Residual Adstringente (sensação bucal de amarração)			

Agora ordene da **menos** preferida para **mais** preferida:

Figura 2 - Ficha empregada no teste de avaliação sensorial do leite fermentado

Fonte: Autor próprio

4.6 ANÁLISE DE INTENÇÃO DE COMPRA

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

Teste da Avaliação de Intenção de Compra							
Após ter avaliado a amostra de <i>iogurte</i> , indique na escala abaixo o grau de certeza no qual você estaria disposto a comprar estes produtos, 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							
Amostra	Intenção		Amostra	Intenção		Amostra	Intenção
316			852			451	

Figura 3 - Ficha empregada no teste de avaliação de intenção de compra
Fonte: Autor próprio

4.7 TESTE DE ORDENAÇÃO

Para as análises dos resultados foi utilizado o teste de ordenação e análise pelo teste estatístico de Friedman, através do qual pode ser verificado se k (número de amostras) são provenientes de uma mesma população ou se provém de populações distintas.

A estatística de Friedman é dada pela expressão que define o x^2 .

$$x^2 = \frac{12}{nk(k+1)} \sum_{i=1}^k Ri^2 - 3n(k+1)$$

Onde:

n = número de julgadores;

k = número de amostras;

R_i = soma das colunas;

$\sum R_i$ = somatório dos quadrados das somas das colunas;

Avaliação da diferença média significativa (dms) foi empregada para verificar onde estava a diferença entre as amostras. O resultado do dms foi de 23,198, obtido da seguinte fórmula:

$$dms = q \cdot \sqrt{\frac{n \cdot k(k+1)}{12}}$$

Onde:

$q = 3,314$ (tabelado) que depende de k e α ;

n = número de julgadores;

k = número de amostras.

5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados das análises físico-químicas e composição proximal foram submetidos ao teste de Tukey ao nível de 5% de significância realizada com auxílio do *software* Sistema para Análise e Separação de Médias em Experimentos Agrícolas.

Os testes de ordenação foram avaliados através da ANOVA e a diferença entre as médias foi verificada pela diferença média significativa (dms).

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Como pode ser observado na Figura 4, após o período de fermentação (7h /45 °C), foi obtido um produto fermentado com coloração branca, odor, acidez e consistência firme específicos de fermentado lácteo, sendo estas características desejáveis para um leite fermentado segundo Faria, Benedet, Guerroue, (2006).



Figura 4 - Leite fermentado sem adição dos demais ingredientes
Fonte: Autoria própria

6.1 COMPOSIÇÃO PROXIMAL DA FARINHA DE CASCA DE UVA

A Figura 5 apresenta a farinha de casca de uva desidratada e peneirada. A farinha apresentou coloração violeta-avermelhada intensa e suave odor de vinho de uvas tintas.



Figura 5 – Farinha de casca de uva desidratada
Fonte: Autoria própria

Na Tabela 3 estão descritos os parâmetros de composição proximal da farinha de casca de uva.

Tabela 3 – Composição proximal da farinha de casca de uva

Parâmetros analisados	Resultados (g/100g)*
Umidade	8,16±0,213
Proteínas	9,85±0,221
Lipídeos	7,77±0,146
Resíduo Mineral	10,01±0,223
Fibra Bruta	57,60±2,112
Atividade de Água	0,60±0,011

*valores médios de triplicatas ± desvio padrão

A farinha liofilizada obtida apresentou baixo conteúdo de umidade (8,16%). O baixo conteúdo de água na amostra reduz acentuadamente a microbiota viável, pela baixa disponibilidade de água para as reações metabólicas bacterianas, contribuindo desta forma para a preservação e maior estabilidade da farinha. Da mesma forma, a atividade de água da farinha foi de 0,60, valor que segundo Franco e Landgraf (2003) praticamente impossibilita a proliferação bacteriana.

Com relação ao conteúdo de proteínas (9,85 g/100g) e de lipídeos (7,7 g/100g) foram encontrados valores relativamente elevados considerando a farinha de casca de uva ser uma biomassa de origem vegetal, no entanto cabe salientar que se trata de uma biomassa desidratada e, portanto, os conteúdos proteicos e de lipídeos foram concentrados na amostra em relação a fruta *in natura*. Menciona-se ainda, que os lipídios das uvas estão concentrados principalmente em suas sementes, e a variabilidade nos teores de óleo das sementes pode ser atribuída a diversos fatores, como variedade da uva, composição do solo e grau de maturação (CREWS, 2006).

Elevada quantidade de resíduo mineral (10,01 g/100g) foi verificada o que indica que a farinha de casca de uva apresenta apreciáveis conteúdos de minerais, o que é relevante sob o aspecto nutricional.

Observa-se que as fibras representaram o maior percentual dentro da composição proximal da farinha (57,60%). De fato, comumente as cascas de muitas frutas apresentam em sua composição elevados conteúdos de celulose e pectinas que contribuem para obtenção de maiores conteúdos de fibras. O elevado conteúdo de fibras torna tal biomassa um potencial ingrediente enriquecedor de fibras em formulações de produtos alimentícios. Salientando, que uma dieta rica em fibras é

altamente recomendada, uma vez que estes compostos exercerem vários efeitos funcionais no organismo, como redução de risco de desenvolvimento de câncer, aterosclerose e hipertensão (CHAMP; GUILLON, 2000).

6.2 POTENCIAL ANTIOXIDANTE DA FARINHA DE CASCA DE UVA

Para a determinação da atividade antioxidante, foram utilizados três métodos distintos de análise, utilizando métodos de sequestro dos radicais ABTS^{•+} e DPPH[•] e pela redução do ferro (FRAP).

Tabela 4 - Resultados de Atividade Antioxidante e de Antocianinas da farinha

Amostras de farinha de casca de uva	DPPH μmol de Trolox/g de farinha	ABTS μmol de Trolox/g de farinha	FRAP μmol Fe ⁺² .g ⁻¹	Antocianinas mg.100g ⁻¹
	137,34 \pm 8,72	171,78 \pm 8,29	482,05 \pm 1,89	36,76 \pm 0,11

Os resultados são a média \pm desvio padrão;

A partir dos resultados descritos na Tabela 4, pode ser constatado que a farinha de casca de uva apresenta elevado potencial antioxidante. Foi verificada uma atividade de neutralização do radical DPPH de 137,34 μmol de Trolox/g e atividade de neutralização do radical ABTS^{•+} de 171,78 μmol de Trolox/g. Similarmente, foi verificada elevado potencial redutor do íon férrico (FRAP) (482,05 μmol Fe⁺².g⁻¹).

Kuskoski et al (2005), descreveram valores inferiores de atividade antioxidante em polpa de uva da variedade tal, avaliada pelos métodos de neutralização dos radicais DPPH (8,5 μmol de Trolox / g de polpa) e ABTS^{•+}. (9,2 μmol de Trolox / g de polpa). Os maiores valores de atividade antioxidante encontrados na farinha de casca de uva, para o presente trabalho, em relação aos valores descritos na literatura para a polpa de uva, possivelmente deve-se ao fato dos compostos com propriedades antioxidantes estarem concentrados na casca da fruta.

Com relação ao conteúdo de antocianinas totais, expresso como cianidina-3-glicosídeo, foram verificados conteúdos de 36,76 \pm 0,11 mg/100g⁻¹. Ao analisar trabalhos na literatura, observa-se que Soares et al (2008) encontraram valores entre 7,02 e 82,15 mg.100g⁻¹ de peso fresco em extrato de bagaço de uva Isabel e Niágara. Segundo Vedana (2008) os principais fatores que influenciam na estabilidade das

antocianinas são: a temperatura, onde elas são sensíveis; o pH que influencia na cor das antocianinas, sendo mais estáveis em soluções ácidas; estrutura química; a presença de oxigênio degrada mais rapidamente este componente; degradação enzimática, por ação de enzimas endógenas presentes no tecido das plantas, como peroxidases, glicosidases, dentre outras; presença de luz que acelera a sua degradação e as interações entre os componentes dos alimentos.

6.3 QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DO LEITE FERMENTADO

De acordo com os resultados demonstrados nas Tabelas 5, 6 e 7, pode-se constatar que todas as formulações apresentaram qualidade microbiológica em concordância com os parâmetros de qualidade preconizados pela RDC nº. 12, de 02 de Janeiro de 2001 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Segundo tal Resolução o produto leite fermentado deve apresentar os seguintes padrões microbiológicos: coliformes totais (35 °C) e termotolerantes (45 °C) a tolerância para amostra indicativa é de 10 NMP/g; para *Salmonella* é preconizada a ausência em 25 g. Os resultados obtidos indicam que as formulações foram desenvolvidas seguindo condições adequadas de higiene e segurança alimentar.

De acordo com a RDC nº 275 da ANVISA (BRASIL, 2002), a adoção de boas práticas de fabricação durante a manipulação de alimentos é um procedimento essencial para assegurar sua qualidade sanitária e assim garantir que o mesmo não cause doenças ao consumidor.

Tabela 5 – Parâmetros microbiológicos da formulação JM-1 do leite fermentado

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>	Não detectável em 25 g	Não detectável em 25 g

* RDC nº. 12, de 02 de Janeiro de 2001

Tabela 6 – Parâmetros microbiológicos da formulação JM-2 do leite fermentado

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>	Não detectável em 25 g	Não detectável em 25 g

* RDC nº. 12, de 02 de Janeiro de 2001

Tabela 7 – Parâmetros microbiológicos da formulação JM-3 do leite fermentado

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>	Não detectável em 25 g	Não detectável em 25 g

* RDC nº. 12, de 02 de Janeiro de 2001

6.4 VIABILIDADE CELULAR DA CULTURA LÁCTEA DURANTE ESTOCAGEM SOB REFRIGERAÇÃO

Conforme verificado na Tabela 8 a cultura láctea manteve-se viável ao longo do período de estocagem (21 dias) em geladeira. Foram verificadas contagens de bactérias lácteas da ordem de 10^9 UFC/mL, estando, portanto, as amostras em concordância com a Portaria nº 71 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA, 2004), que estabelece uma contagem de bactérias lácticas totais de no mínimo de 10^6 UFC/mL ao longo de todo período de armazenamento.

A manutenção da viabilidade da cultura láctea ao longo do período de estocagem é fundamental para garantir a qualidade funcional do produto e, portanto manter os efeitos benéficos do produto à saúde.

Cabe ressaltar que a adição de farinha nas diferentes formulações não alterou a viabilidade dos probióticos, sendo de suma importância para a qualidade do produto.

Tabela 8 – Viabilidade celular da cultura láctea ao longo do período de estocagem

Amostras	Células viáveis (UFC. mL ⁻¹) durante armazenamento (dias)			
	0	7	14	21
JM-1	4,29×10 ^{9a}	3,98×10 ^{9b}	2,6×10 ^{9c}	2,4×10 ^{9c}
JM-2	7,85×10 ^{9a}	1,505×10 ^{9b}	1,42×10 ^{9b}	1,0×10 ^{9c}
JM-3	9,16×10 ^{9a}	8,5×10 ^{9b}	6,1×10 ^{9c}	5,9×10 ^{9c}

Médias seguidas de letras iguais, na mesma linha, não diferem significativa (p<0,05)

6.5 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO LEITE FERMENTADO

Na Figura 7 pode ser verificado o aspecto visual das formulações JM-1, JM-2 e JM-3.

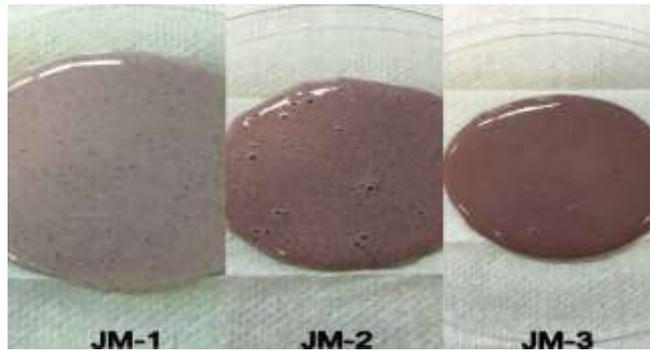


Figura 6 – Formulações de leite fermentado JM-1, JM-2 e JM-3
Fonte: Autoria própria

Na Tabela 9 estão descritos os parâmetros físico-químicos das três formulações (JM-1, JM-2 e JM-3) de leite fermentado produzidos.

Tabela 9 – Parâmetros físico-químicos das formulações

Parâmetros	JM-1*	JM-2*	JM-3*	Legislação brasileira**
pH	4,28	4,15	4,08	-
Acidez Total (°Dornic)	1,17±0,01 ^c	1,29±0,01 ^b	1,41±0,01 ^a	0,6 a 2,0 g/100g
Gordura (g/100g)	2,0±0,32 ^{ab}	2,7±0 ^a	1,3±0 ^b	Mínimo 3 g/100g
Proteína (g/100g)	2,3±0,26 ^c	3,2±0,20 ^b	4,3±0,31 ^a	Mínimo 2,9 g/100g
Umidade (g/100g)	71,4±0,15 ^b	73,9±0,10 ^a	71,5±0,44 ^b	-
Sólidos Solúveis (°Brix)	25 °B	26 °B	27 °B	-

*valores médios de triplicatas ± desvio padrão

**MAPA, Instrução Normativa N° 46 de 26 Outubro de 2007

Médias seguidas de letras iguais, na mesma linha, não diferem estatisticamente entre si (p<0,05)

Através dos dados demonstrados na Tabela 9 verifica-se que as amostras apresentaram pH ácido, característico de leite fermentado. Os valores variaram de 4,08 e 4,28. Valores semelhantes são descritos por Gallina et al. (2011) ao longo de 28 dias de estocagem em geladeira em formulações de leite fermentados formulados com próbióticos e prebióticos. A diminuição do pH de um alimento contribui para reduzir a capacidade de desenvolvimento de microrganismos patogênicos.

Como pode ser verificado, a formulação JM-1 apresentou acidez de 1,17 g de ácido láctico / 100 g de amostra, a formulação JM-2 apresentou acidez de 1,29 g de ácido láctico / 100 g e a JM-3 acidez de 1,41 g de ácido láctico / 100 g. Todas as formulação apresentaram acidez expressa em graus Dornic em concordância com a legislação, que estipula valores de acidez entre 0,6 e 2 g/100g (FREIRE, 2012). Valores muito elevados de acidez podem indicar problemas de qualidade do produto, incluindo possibilidade de contaminação microbiana ou uso de matéria-prima (leite) com acidez fora dos padrões de qualidade sanitária.

Com relação ao conteúdo de gordura, observa-se que as formulações apresentaram conteúdos inferiores (2,0 g/100, 2,7 g/100g e 1,3 g/100g) aos preconizados pela legislação. O menor conteúdo de gordura encontrado pode ser justificado pela capacidade que os microrganismos componentes do fermento, em especial o *L. acidophilus*, tem de aumentar a lipólise, por meio de lipases (ALBENZIO, 2007).

Gallina et al. (2011) descreve conteúdos de gordura de 2,8 g/100g em leites fermentados com e sem adição de prebióticos (frutooligosacarídeos, Beneo P95®).

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.

Elevados valores de umidade (71,4 a 73,4%) foram observados, o que está diretamente relacionado aos elevados conteúdos de água presentes nos principais constituintes do leite fermentado.

As amostras JM-2 e JM-3 apresentaram conteúdos de proteínas de 3,2 e 4,3 g/100g estando ambas de acordo com a legislação. Por outro lado, a formulação JM-1 apresentou conteúdo inferior (2,3 g/100g) e em discordância com a legislação que preconiza um valor proteico mínimo de 2,9 g/100g. Interessante avaliar, que nas formulações JM-2 e JM-3, as quais apresentaram conteúdos superiores de proteínas em relação a JM-1, foram empregados maiores conteúdos de farinha de casca de uva, a qual apresentou quantidades relativamente elevadas de material proteico.

Galina et al (2011) descrevem valores em torno de 4,2 g/100 de proteínas em leites fermentados. Sacks. Perin (2012) descreveram conteúdos de 3,51 g/100g de proteínas em leite fermentado acrescido de mel de abelhas melíponas.

6.6 AVALIAÇÃO DA ACEITAÇÃO SENSORIAL DO PRODUTO

As técnicas de análise sensorial têm sido largamente empregadas com eficiência na avaliação da qualidade de alimentos, sendo úteis na identificação da presença ou ausência de diferenças perceptíveis, detectando peculiaridades do produto avaliado (OLIVEIRA; BENASSI, 2003).

Foram feitas tabelas com a diferença total entre a soma das ordenações atribuídas pelos provadores em cada parâmetro obtidos da avaliação sensorial. Os parâmetros avaliados foram aparência, odor, textura, sabor, gosto e residual.

Atributo Aparência Cremosa

Podemos observar através da Tabela 10, que as amostras JM-1 e JM-3 não diferem entre si em relação a sua aparência cremosa. Mas em relação à soma das ordenações realizadas pelos julgadores, a formulação JM-3 apresentou uma aparência cremosa mais intensa em relação às demais. Tal resultado possivelmente está associado ao fato desta amostra possuir quantidade mais elevada de farinha.

Tabela 10 - Diferença total entre a soma das ordenações para o atributo aparência cremosa

Amostras	Somadas das Ordenações	Diferença entre as Ordenações		
		JM-1	JM-2	JM-3
JM-1	107	-	44 ^s	11 ^{ns}
JM-2	63	44 ^s	-	55 ^s
JM-3	118	11 ^{ns}	55 ^s	-

(ns) Não significativa; (s) Significativa; dms = 23,198; $\alpha = 0,05$

Não houve diferença significativa (Tabela 11) com relação ao atributo aparência uniforme, entre as amostras JM-1 e JM-2. Já a amostra JM-3 diferiu das demais amostras e os provadores perceberam um aspecto mais homogêneo, o que é verificado pela soma das ordenações (36).

A aparência do produto é um fator decisivo na aceitação do mesmo, podendo ter uma influência direta nos demais atributos sensoriais. Em relação a este atributo, o leite fermentado que apresentou mais quantidade de farinha obteve maiores somas das ordenações.

Tabela 11 – Diferença total entre a soma das ordenações para o atributo aparência uniforme

Amostras	Somadas das Ordenações	Diferença entre as Ordenações		
		JM-1	JM-2	JM-3
JM-1	88	-	6 ^{ns}	36 ^s
JM-2	82	6 ^{ns}	-	42 ^s
JM-3	124	36 ^s	42 ^s	-

(ns) Não significativa; (s) Significativa; dms = 23,198; $\alpha = 0,05$

Atributo Cor

Com relação à intensidade da cor, verifica-se pelos dados apresentados na Tabela 12 que as três as formulações diferiram significativamente entre si. A formulação JM-3 (código 451) apresentou maior resultado em relação à intensidade da cor violeta.

Tabela 12 – Diferença total entre a soma das ordenações para o atributo intensidade da cor violeta

Amostras	Somadas das Ordenações	Diferença entre as Ordenações		
		JM-1	JM-2	JM-3
JM-1	52	-	45 ^s	93 ^s
JM-2	97	45 ^s	-	48 ^s
JM-3	145	93 ^s	48 ^s	-

(ns) Não significativa; (s) Significativa; dms = 23,198; $\alpha = 0,05$

Odor

O odor é a propriedade sensorial percebida pelos sentidos do olfato e pode ser definido como a sensação produzida ao se estimular os quimiorreceptores olfativos, produzindo resposta do primeiro par de nervos cranianos.

De acordo com a Tabela 13, verifica-se que a formulação JM-1, obteve maior resultado com relação ao odor característico a leite, de acordo com a soma das ordenações realizada pelos julgadores. Interessante destacar que a formulação JM-1 contém a menor quantidade de farinha de casca de uva, o que indica que o aumento da farinha contribui para a aceitação do odor do produto. De fato, maiores quantidades de farinha na formulação proporcionaram odor característico de vinho, conforme descrito nas fichas de avaliação sensorial por alguns provadores.

Tabela 13 – Diferença total entre a soma das ordenações para o atributo odor característico a leite

Amostras	Somadas das Ordenações	Diferença entre as Ordenações		
		JM-1	JM-2	JM-3
JM-1	127	-	29 ^s	55 ^s
JM-2	97	29 ^s	-	26 ^s
JM-3	71	55 ^s	26 ^s	-

(ns) Não significativa; (s) Significativa; dms = 23,198; $\alpha = 0,05$

Os dados descritos na Tabela 14 indicam que não houve diferença significativa entre as formulações quanto ao atributo sensorial odor ácido. No entanto, nota-se em particular que a amostra JM-3 apresentou valor de soma das ordenações numericamente superior, o que corrobora com os valores de acidez descritos na Tabela 9, onde é verificado que tal formulação apresentou maior acidez (1,41 °Dornic).

Tabela 14 – Diferença total entre a soma das ordenações para o atributo odor ácido

Amostras	Somadas das Ordenações	Diferença entre as Ordenações		
		JM-1	JM-2	JM-3
JM-1	91	-	0 ^{ns}	21 ^{ns}
JM-2	91	0 ^{ns}	-	21 ^{ns}
JM-3	112	21 ^{ns}	21 ^{ns}	-

(ns) Não significativa; (s) Significativa; dms = 23,198; $\alpha = 0,05$

As amostras JM-2 e JM-3 não diferiram entre si quanto ao atributo odor característico de iogurte (Tabela 15). Já a formulação JM-1 diferiu das demais quanto a tal atributo e obteve maior valor quanto à soma das ordenações. Tais resultados indicam que a formulação JM-1 apresentou odor característico de iogurte mais pronunciado e perceptível. Possivelmente, maiores quantidades de farinha na formulação contribuí para mascarar o odor característico de fermentado lácteo. De fato, correlacionando os resultados de percepção do atributo odor ácido e odor característico de leite (Tabela 13) nota-se boa concordância dos resultados. O aumento da concentração de farinha na formulação também levou a menor percepção de odor característico de leite.

Tabela 15 – Diferença total entre a soma das ordenações para o atributo odor característico a iogurte

Amostras	Somadas das Ordenações	Diferença entre as Ordenações		
		JM-1	JM-2	JM-3
JM-1	123	-	29 ^s	46 ^s
JM-2	94	29 ^s	-	17 ^{ns}
JM-3	77	46 ^s	17 ^{ns}	-

(ns) Não significativa; (s) Significativa; dms = 23,198; $\alpha = 0,05$

Similarmente, o uso de maiores quantidades de farinha contribuiu também para maior percepção quanto ao odor característico de uva (Tabela 16).

A amostra JM-3, com maior conteúdo de farinha, apresentou maior somatório das ordenações quanto ao atributo odor característico a Uva.

Tabela 16 – Diferença total entre a soma das ordenações para o atributo odor característico a Uva

Amostras	Somadas das Ordenações	Diferença entre as Ordenações		
		JM-1	JM-2	JM-3
JM-1	68	-	33 ^s	57 ^s
JM-2	101	33 ^s	-	24 ^s
JM-3	125	57 ^s	24 ^s	-

(ns) Não significativa; (s) Significativa; dms = 23,198; $\alpha = 0,05$

Textura

Para o atributo textura cremosa nota-se que não houve diferença significativa entre as amostras JM-1 e JM-3, mas houve diferença entre as amostras JM-1 e JM-2. No entanto, pela soma das ordenações pode inferir-se que a amostra JM-1 apresentou uma textura mais cremosa em relação às demais formulações. Possivelmente a farinha por apresenta-se como um produto com granulometria relativamente grande, contribui para percepção de produto menos cremoso quando empregado maiores quantidades de farinha na formulação.

Tabela 17 – Diferença total entre a soma das ordenações para o atributo textura cremosa

Amostras	Somadas das Ordenações	Diferença entre as Ordenações		
		JM-1	JM-2	JM-3
JM-1	118	-	45 ^s	15 ^{ns}
JM-2	73	45 ^s	-	30 ^s
JM-3	103	15 ^{ns}	30 ^s	-

(ns) Não significativa; (s) Significativa; dms = 23,198; $\alpha = 0,05$

De fato, analisando-se os dados da avaliação sensorial do atributo textura arenosa (Tabela 18), constata-se que o aumento da concentração de farinha tem influência sobre a percepção de textura. Em relação ao atributo textura arenosa,

houve diferença significativa entre todas as amostras. Na formulação JM-3 (maior conteúdo de farinha) observa-se uma soma das ordenações maior, demonstrando que a granulometria da farinha de fato influencia na percepção do atributo textura, contribuindo para percepção de arenosidade no produto.

Tabela 18 – Diferença total entre a soma das ordenações para o atributo textura arenosa

Amostras	Somadas das Ordenações	Diferença entre as Ordenações		
		JM-1	JM-2	JM-3
JM-1	68	-	33 ^s	57 ^s
JM-2	101	33 ^s	-	24 ^s
JM-3	125	57 ^s	24 ^s	-

(ns) Não significativa; (s) Significativa; dms = 23,198; $\alpha = 0,05$

Sabor

Com relação ao atributo sabor de Uva, pode-se verificar que a amostra JM-3 apresentou maior somatório das ordenações, indicando que maior quantidade de farinha na formulação contribui para maior percepção de sabor de uva.

Tabela 19 – Diferença total entre a soma das ordenações para o atributo sabor de Uva

Amostras	Somadas das Ordenações	Diferença entre as Ordenações		
		JM-1	JM-2	JM-3
JM-1	67	-	36 ^s	57 ^s
JM-2	103	36 ^s	-	21 ^{ns}
JM-3	124	57 ^s	21 ^{ns}	-

(ns) Não significativa; (s) Significativa; dms = 23,198; $\alpha = 0,05$

Já em relação ao sabor de leite (Tabela 20) assim como verificado em relação à percepção de sabor de iogurte (Tabela 21), a formulação JM-1 apresentou maior soma das ordenações, possivelmente devido à menor concentração de farinha de casca de uva.

Tabela 20 – Diferença total entre a soma das ordenações para o atributo sabor de leite

Amostras	Somadas das Ordenações	Diferença entre as Ordenações		
		JM-1	JM-2	JM-3
JM-1	132	-	40 ^s	70 ^s
JM-2	96	40 ^s	-	36 ^s
JM-3	60	70 ^s	36 ^s	-

(ns) Não significativa; (s) Significativa; dms = 23,198; $\alpha = 0,05$

Tabela 21 – Diferença total entre a soma das ordenações para o atributo sabor de iogurte

Amostras	Somadas das Ordenações	Diferença entre as Ordenações		
		JM-1	JM-2	JM-3
JM-1	129	-	29 ^s	64 ^s
JM-2	100	29 ^s	-	35 ^s
JM-3	65	64 ^s	35 ^s	-

(ns) Não significativa; (s) Significativa; dms = 23,198; $\alpha = 0,05$

Gosto

O gosto é percebido através de excitações nervosas que são provocadas por substâncias químicas em solução quando introduzidas na cavidade oral, ou por substâncias que se dissolvam na saliva e entram em contato com os quimiorreceptores presentes nos botões gustativos localizados na superfície da língua.

Gosto doce – compostos orgânicos como açúcares

Gosto amargo – compostos orgânicos como alcaloides

Gosto ácido – íon H_3O^+

Pode ser verificado através da Tabela 22, que a amostra JM-1 apresentou maior soma das ordenações realizadas pelos julgadores, em relação ao atributo gosto doce, o que indica que o aumento do conteúdo de farinha na formulação leva a menor percepção de doçura do produto. Tal resultado pode estar associado ao fato que de a casca de farinha de uva contém elevados teores de compostos fenólicos e alguns destes compostos contribuem para adstringência desta biomassa, o que pode ter influência sobre a percepção do sabor doce.

Tabela 22 – Diferença total entre a soma das ordenações para o atributo gosto doce

Amostras	Somadas das Ordenações	Diferença entre as Ordenações		
		JM-1	JM-2	JM-3
JM-1	130	-	34 ^s	62 ^s
JM-2	96	34 ^s	-	28 ^s
JM-3	68	62 ^s	28 ^s	-

(ns) Não significativa; (s) Significativa; dms = 23,198; $\alpha = 0,05$ **Tabela 23 – Diferença total entre a soma das ordenações para o atributo gosto ácido**

Amostras	Somadas das Ordenações	Diferença entre as Ordenações		
		JM-1	JM-2	JM-3
JM-1	72	-	22 ^{ns}	44 ^s
JM-2	94	22 ^{ns}	-	22 ^{ns}
JM-3	116	44 ^s	22 ^{ns}	-

(ns) Não significativa; (s) Significativa; dms = 23,198; $\alpha = 0,05$

Para o atributo gosto ácido, conforme apresentado na Tabela 23, só houve diferença significativa entre as amostras JM-1 e JM-3. A percepção de maior gosto ácido na formulação JM-3 em relação a JM-1, pode estar associada a maior acidez Dornic verificada na formulação JM-3 (Tabela 9) e não necessariamente em relação ao conteúdo de farinha empregado nas formulações.

Da mesma forma, como pode ser verificado na Tabela 24, o aumento do conteúdo de farinha nas formulações proporcionou maior percepção de gosto amargo. Cabe salientar, que os compostos fenólicos e taninos presentes nas cascas podem contribuir para maior amargor.

Tabela 24 – Diferença total entre a soma das ordenações para o atributo gosto amargo

Amostras	Somadas das Ordenações	Diferença entre as Ordenações		
		JM-1	JM-2	JM-3
JM-1	59	-	35 ^s	64 ^s
JM-2	94	35 ^s	-	29 ^s
JM-3	123	64 ^s	29 ^s	-

(ns) Não significativa; (s) Significativa; dms = 23,198; $\alpha = 0,05$

Residual

Com relação ao residual adstringente, atributo relacionado à sensação de secura na boca, a amostra JM-3 obteve maiores resultados, com uma soma das ordenações de 118. Possivelmente, assim como observado com o atributo gosto amargo, a farinha de cascas de uva também contribui para a percepção de adstringência.

Tabela 25 – Diferença total entre a soma das ordenações para o atributo residual adstringente

Amostras	Somadas das Ordenações	Diferença entre as Ordenações		
		JM-1	JM-2	JM-3
JM-1	58	-	48 ^s	60 ^s
JM-2	106	48 ^s	-	12 ^{ns}
JM-3	118	60 ^s	12 ^{ns}	-

(ns) Não significativa; (s) Significativa; dms = 23,198; $\alpha = 0,05$

6.6 TESTE PREFERÊNCIA GLOBAL

De acordo com o somatório das ordenações apresentado na Tabela 26, à amostra JM-1 (menor conteúdo de farinha) teve maior preferência entre as formulações. A avaliação desse item indica que a formulação JM-1 foi a mais apreciada pelos julgadores de acordo com os parâmetros aparência, odor, textura, sabor, gosto e residual, sendo que a mesma é a que continha menor quantidade de farinha de casca de uva (30 g).

Tabela 26 – Diferença total entre a soma das ordenações em relação a preferência

Amostras	Somadas das Ordenações	Diferença entre as Ordenações		
		JM-1	JM-2	JM-3
JM-1	134	-	45 ^s	63 ^s
JM-2	89	45 ^s	-	18 ^{ns}
JM-3	71	63 ^s	18 ^{ns}	-

(ns) Não significativa; (s) Significativa; dms = 23,198; $\alpha = 0,05$

6.7 INTENÇÃO DE COMPRA

Resultados obtidos com relação à avaliação de intenção de compra das formulações estão apresentados nas figuras 7, 8 e 9.

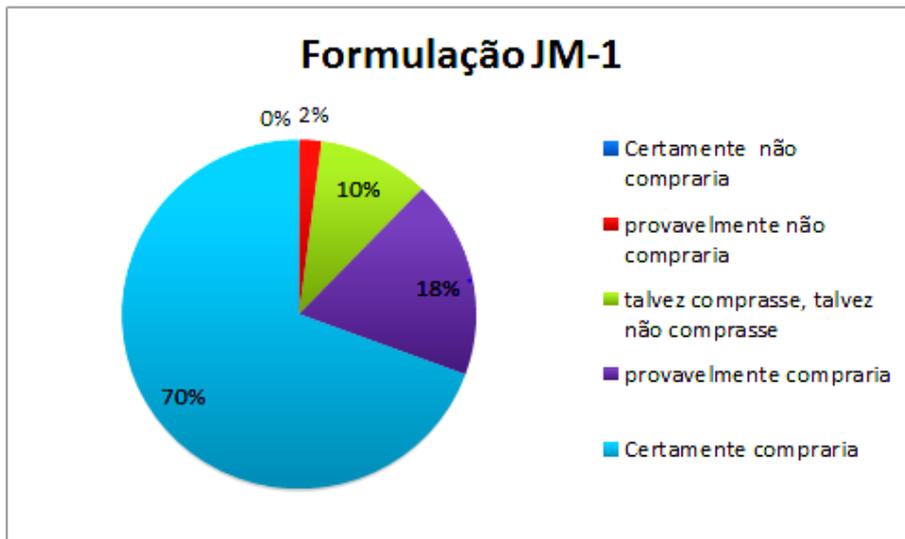


Figura 7 – Resultados para intenção de compra para formulação JM-1
Fonte: Autoria própria

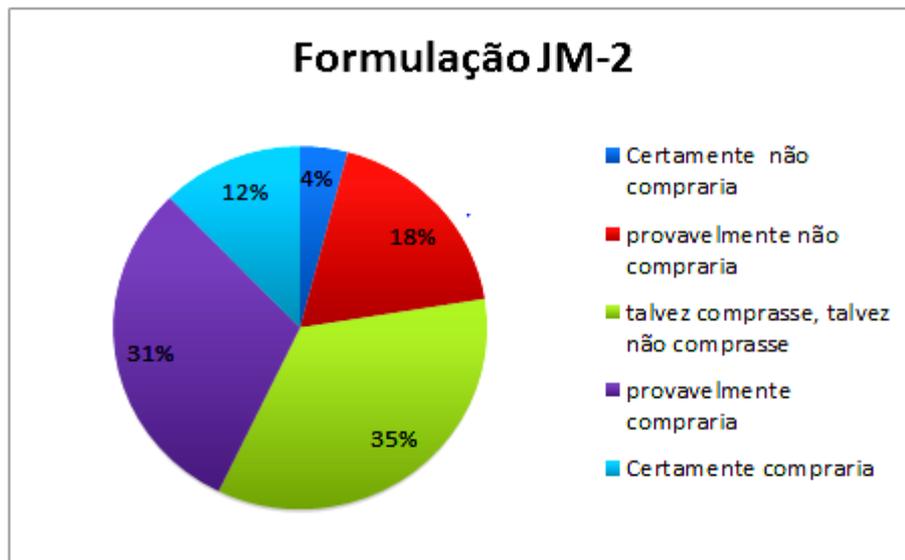


Figura 8 – Resultados para intenção de compra para formulação JM-2
Fonte: Autoria própria

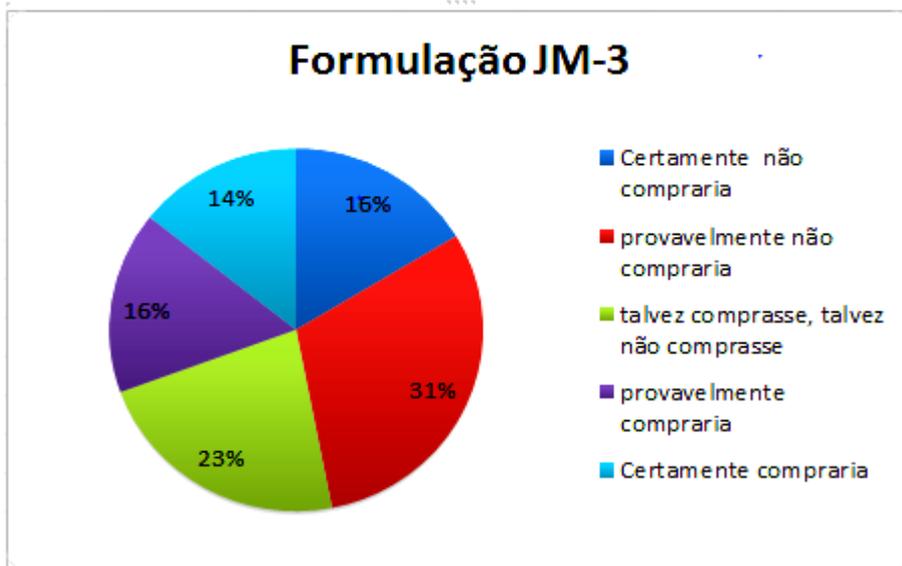


Figura 9 – Resultados para intenção de compra para formulação JM-3
 Fonte: Autoria própria

O teste de intenção de compra confirmou que de fato a amostra JM-1 foi mais preferida em relação às demais. Cerca de 70% dos julgadores indicaram que certamente comprariam (nota 5) tal produto, ao passo que apenas 12% e 14% indicaram tal condição para as amostras JM-2 e JM-3, respectivamente.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O uso de farinha de casca de uva como ingrediente em formulação de leite fermentado demonstrou potencialidade. A farinha avaliada apresentou características nutricionais e funcionais relevantes especialmente em relação ao elevado conteúdo de fibras e atividade antioxidante.

As formulações de leite fermentado desenvolvidas apresentaram conteúdos apreciáveis de fibras e resíduo mineral e baixo conteúdo de gorduras, bem como qualidade microbiológica condizente com a legislação brasileira vigente. Foi verificada boa estabilidade do produto em relação à viabilidade celular da cultura láctea empregada ao longo do período de estocagem sob refrigeração.

O teste de intenção de compra indicou boa aceitação das formulações de leite fermentado desenvolvidas, com destaque para formulação com menor quantidade de farinha de cascas de uva.

O emprego de farinhas de cascas de uva como ingrediente em formulações de leite fermentado pode ser considerado como inovador, uma vez que, até o momento, não foi observado no mercado consumidor produto similar.

O emprego de farinhas de cascas de uva como ingrediente alimentar pode ser uma boa opção para o melhor aproveitamento desta biomassa, ainda considerada um resíduo nas indústrias produtoras de sucos e geleias de uva, bem como em vinícolas. Tal aproveitamento poderia agregar valor à cadeia agroindustrial beneficiadora de uvas tintas.

8 REFERÊNCIAS

ALTHAUS, R. A., CANTERI, M. G., GIGLIOTI, E.A. **Tecnologia da informação aplicada ao agronegócio e ciências ambientais: sistema para análise e separação de médias pelos métodos de Duncan, Tukey e Scott-Knott.** Anais do X Encontro Anual de Iniciação Científica, Parte 1, Ponta Grossa, p. 280 - 281 2001.

ANVISA – LEGISLAÇÃO. Legislação para leites fermentados. Disponível em:<<http://www.anvisa.gov.br/elegis>> Acesso em: 14 de Outubro de 2009.

AQUARONE, E.; BORZANI, W.; LIMA, U. A.; **Biotecnologia: Tecnologia das Fermentações.** São Paulo, Ed. Edgard Blücher Ltda., 1992.

AQUARONE, E.; BORZANI, W.; LIMA, U. A.; SCHMIDELL, W.; **Biotecnologia Industrial: Biotecnologia na Produção de Alimentos.** São Paulo, Ed. Edgard Blücher Ltda., 2001.

BELAN, H. C., CANTERI, M. G. AGROSTAT - **Sistema de Análise e separação de médias em experimentos agrícolas.** XIII Encontro Anual de Iniciação Científica, Londrina, 2004.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT – food Science and Technology.** London, v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995.

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.

CANTERI, M. G., ALTHAUS, R. A., VIRGENS FILHO, J. S., GIGLIOTI, E. A., GODOY, C. V. **SASM - Agri : Sistema para análise e separação de médias em experimentos agrícolas pelos métodos Scott - Knott, Tukey e Duncan.** Revista Brasileira de Agrocomputação, V.1, N.2, p.18-24. 2001.

CATANTO, C. B.; CALIARI, V. GONZAGA, L. V.; KUSKOSKI, E. M.; FETT, R. **Atividade antioxidante e conteúdo fenólico do resíduo agroindustrial da produção de Vinho.** Semina: Ciências Agrárias, Londrina, v. 29, n.1, p. 93-102, 2008.

CHAMP, M.; GUILLON, F. Structural and physical properties of dietary fibres, and consequences of processing on human physiology. **Food Research International,** Kidlington, v. 33, n. 3, p.233-245, Apr-2000.

CREWS, C. et al. Quantitation of the main constituents of some authentic grapeseed oils of different origin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 54, n. 17, p. 6261-6265, July 2006.

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.

FRANCO, B. D. G.M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. 2. Ed. São Paulo: Atheneu, 2003.

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

GALLICE, Wellington C. **Caracterização do potencial antioxidante e vinhos e quantificação de fenóis totais e trans-resveratrol utilizando técnicas cromatográficas e espectroscópicas multivariadas**. 2010. 87f. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2010.

GALLINA D. A. **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**. Instituto de Tecnologia de Alimentos, São Paulo, 2011.

INSTITUTO ADOLF LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. Edição IV. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008.

KALLITHRAKA, S. et al. **Determination of major anthocyanin pigments in Hellenic native grape varieties (*Vitis vinifera sp.*): association with antiradical activity**. J. Food Comp. Anal., v. 18, p. 375-386, 2005.

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.

LEE, J; DURST, R. W.; WROLSTAD, R. E.; **Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method: Collaborative study**. Journal AOAC International, Oregon, v. 88, n. 5, p. 1269-1278, 2005.

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

MARTINS, Marcelo C. **Análise de vinhos por RMN**. 2004. 37f. Relatório de estágio supervisionado. (Graduação em Química) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2004.

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.

MELO, Priscilla S. **Composição química e atividade biológica de resíduos agroindustriais**. 2010. 100f. Dissertação (Mestrado em Ciências e Tecnologia de Alimentos) – Universidade de São Paulo - Escola Superior de Agricultura “Luiz Queiroz”, Piracicaba, 2010.

MENESES, Flávia; MESSIAS, Gisele M.; BARROS, Natalia E. R. Análise sensorial de suco de uva orgânico – teste de aceitação. **Revista Eletrônica: Novo Enfoque**, Rio de Janeiro, v. 12, n. 12, p. 01– 05. 2011.

MONTEIRO, B. A. **Valor nutricional de partes convencionais e não convencionais de frutas e hortaliças**. 2009. 62p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu, 2009.

MOREIRA, S. R.; SCHWAN, R. F.; CARVALHO, E. P.; FERREIRA, C. Análise microbiológica e química de iogurtes comercializados em lavras – MG. **Ciênc. Tecnol. Aliment.** vol.19 n.1 Campinas Jan./Apr. 1999.

OLIVEIRA, A. P. V.; BENASSI, M. T. Perfil livre: uma opção para análise sensorial descritiva. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 24, n. 3, p.468-472, jul./set.2003.

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

PERIN, Mauricio; SACHS, Aline. **Desenvolvimento e caracterização de leite fermentado acrescido de mel de abelhas melíponas (Tetragonisca angustula)**. 2013. 39f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em Química), Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco, 2013.

PIARD, J.C.; LOIR, Y.L.; POQUET, I. et al. **As bactérias lácticas no centro de novos desafios tecnológicos**. Disponível em: <<http://www.icb.ufmg.br/~vasco/baclac>> Acesso em: 16 mai. 2015.

PINTO, Ellen P.; MOREIRA, Angelita da S.; MACHADO, Mirian R. G.; RODRIGUES, Rosane da S. A uva como um alimento funcional. **Revista Brasileira de Viticultura e Enologia**, Bento Gonsalves, v. 3, p. 66 – 73, set. 2011.

PRADO, Anderse; SILVA, Tiago M. **Mundo vino**. 2007. 83f. Monografia (Graduação em Jornalismo) – Faculdade de Ciências Sociais e Aplicadas da Universidade de Tuiuti do Paraná, Curitiba, 2008.

PROTAS, José F. da S.; CAMARGO, Umberto A.; MELO, Loiva M. R. **A vitivinicultura Brasileira: perspectivas e realidades**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2008. Disponível em: <<http://www.cnpqv.embrapa.br/publica/artigos/vitivinicultura/>> Acesso em 19 de junho de 2014.

Robert, N. F. **Fabricação de logurtes**. Dossiê Técnico – Rede de Tecnologia do Rio de Janeiro – REDETEC. Serviço Brasileiro de propostas técnicas – SBRT, 2008.

ROCKENBACK, I. **Compostos fenólicos, ácidos graxos e capacidade antioxidante do bagaço da vinificação de uvas tintas**. Dissertação (Mestrado). Centro de Ciências Agrárias. Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2008.

RORIZ, R. F. C. **Aproveitamento dos resíduos alimentícios obtidos das Centrais de Abastecimento do Estado de Goiás S/A para alimentação humana**. Dissertação de Mestrado. Universidade federal de Goiás. Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos. 2012.

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

SAUTTER, C. K.; DENARDIN S.; ALVES A. O.; MALLMANN C.A.; PENNA N.G.; HECKTHEUER L.H. Determinação de resveratrol em sucos de uva no Brasil. *Ciênc. Technol. Aliment. Campinas*, vol.25, n.3, p.437-442, jul/set, 2005.

SILVA, J. A.; **Tópicos da Tecnologia dos Alimentos**. São Paulo, Ed. Varela, 2000.

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.

SINGLETON, Vernon. L.; ORTHOFER, Rudolf.; LAMUELA, Rosa. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. **Methods of Enzymology**, San Diego, v. 299, p. 152-178, 1999.

SOARES, M.; WELTER, L.; KUSKOSKI, E. M.; GONZAGA, L.; FETT, R. **Compostos fenólicos e atividade antioxidante da casca de uvas Niágara e Isabel**. *Revista Brasileira Fruticultura*, v.30, n.1, p. 59-64, 2008.

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

VEDANA, M. I. S. **Efeito do processamento na atividade antioxidante da uva**. 2008, 88 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia em Alimentos) Universidade Federal do Paraná (UFPR).

