

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO CENTRO-OESTE - UNICENTRO
DOUTORADO EM QUÍMICA UEL/UEPG/UNICENTRO DEPARTAMENTO DE
QUÍMICA - DEQ

**DESENVOLVIMENTO DE BEBIDA FERMENTADA A BASE DE EXTRATO DE
ARROZ E ANÁLISE DO COMPORTAMENTO FERMENTATIVO ATRAVÉS DE
ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS E SENSORIAIS**

Guarapuava

2021

HENRY CHARLES ALBERT DAVID NAIDOO TERROSO DE MENDONÇA
BRANDÃO

DESENVOLVIMENTO DE BEBIDA FERMENTADA A BASE DE ARROZ E
ANÁLISE DO COMPORTAMENTO FERMENTATIVO ATRAVÉS DE ANÁLISES
FISICO-QUÍMICAS E SENSORIAIS

Tese de doutorado apresentada ao Programa de Associação de Pós-Graduação em Química UEL – UEPG - UNICENTRO, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Química.

Orientadora: Profa. Dra Maria Lurdes Felsner

Guarapuava

2021

Catálogo na Publicação
Rede de Bibliotecas da Unicentro

Brandão, Henry Charles Albert David Naidoo Terroso de
Mendonça

B819
d Desenvolvimento de bebida fermentada a base de extrato de arroz e
análise do comportamento fermentativo através de análises físico-químicas
e sensoriais / Henry Charles Albert David Naidoo Terroso de Mendonça
Brandão. -- Guarapuava, 2021.
xiii, 136 f. : il. ; 28 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual do Centro-Oeste, Programa
de Pós-Graduação em Química, 2021.

Orientadora: Maria Lurdes Felsner
Banca examinadora: Erasmo Benício Santos de Moraes Trindade,
Divair Christ, Sueli Pércio Quináia, Marcos Roberto da Rosa

Bibliografia

1. Probiótico. 2. Fermentação. 3. Matriz não láctea. 4. Saúde. 5.
Adoçantes. I. Título. II. Programa de Pós-Graduação em Química.

CDD 540

HENRY CHARLES ALBERT DAVID NAIDOO TERROSO DE MENDONÇA BRANDÃO

DESENVOLVIMENTO DE UMA BEBIDA FERMENTADA A BASE DE EXTRATO DE ARROZ
E ANÁLISE DO COMPORTAMENTO FERMENTATIVO ATRAVÉS DE ANÁLISES FÍSICO-
QUÍMICAS E SENSORIAIS

Tese apresentada à Universidade Estadual do Centro-Oeste, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Química, para a obtenção do título de Doutor.

Aprovado em 26 de fevereiro de 2021.



Documento assinado digitalmente

Erasmio Benicio Santos de Moraes Trindade

Data: 01/03/2021 11:54:21 -0300

CPF: 240.350.763-68

Prof. Dr. Erasmo Benício Santos de Moraes Trindade - UFSC

Prof. Dr. Divair Christ – Unioeste

Prof.ª Dr.ª Sueli Pércio Quináia – Unicentro

Prof. Dr. Marcos Roberto da Rosa - Unicentro

Prof.ª Dr.ª Maria Lurdes Felsner - Orientadora

GUARAPUAVA-PR

2021

À Deus A minha mãe,
Sarapathy e ao meu pai Carlos
Felipe. A minha esposa Elizete,
companheira nesta trajetória. Aos
meus filhos Thábata e Otto.

DEDICO.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela oportunidade da vida;

Ao meu pai Carlos Filipi, pelo grande amor, apoio e dedicação ao longo dos anos;

A minha mãe Saraspathy, pelo amor, carinho, atenção, dedicação, incentivo, grande apoio e força ao longo de minha trajetória e em especial neste percurso do doutorado, sou eternamente grato por tudo;

A minha esposa Elizete, minha filha, Thábata, e meu filho Otto, pela compreensão, dedicação e incentivo para a conclusão a tese;

Ao meu irmão William, pelo apoio, incentivo e dedicação;

A minha orientadora, Profa. Dra. Maria Lurdes Felsner, pela amizade, constante orientação ao longo do curso de doutorado, pelo empenho e dedicação para me auxiliar na conclusão deste trabalho;

Aos professores da Banca Examinadora, pelas oportunas contribuições;

À Neusa Delgado de Souza, professores e demais funcionários do Programa de Pós-Graduação em Química, pelo apoio e incentivo.

À Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR) Câmpus Medianeira pelo apoio técnico e à Coordenação do curso de doutorado em Química da Universidade Estadual Centro Oeste do Paraná (UNICENTRO) Câmpus Cedeteg, pela atenção e apoio para a conclusão desta tese.

RESUMO

Consumidores têm demonstrado maior atenção à qualidade e funcionalidade dos alimentos consumidos devido ao aumento da incidência de doenças, principalmente aquelas relacionadas à intolerância à lactose e alergia às proteínas do leite bovino e da soja. Neste estudo, de forma inédita, foram elaboradas e caracterizadas bebidas probióticas à base de extrato de arroz. As bebidas fermentadas com extrato de arroz (BA) foram desenvolvidas com a inoculação de microrganismos como: *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus thermophilus* e *Bifidobacterium*, adoçadas com diferentes tipos de substratos, como sacarose, glicose, mel, adoçantes naturais e sintéticos e caracterizadas por análises físico-químicas, microbiológicas e sensoriais. O melhor tempo de fermentação (9 horas) foi alcançado nas formulações com a adição do inóculo SAB (*Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus thermophilus* e *Bifidobacterium*) e de glicose e mel como substratos nas bebidas de extrato de arroz. Todas as bebidas foram caracterizadas como probióticas porque a contagem de células viáveis foi superior a 10^6 UFC mL⁻¹. Pode-se observar que as bebidas A36 (14% (m/v) de extrato de arroz e estévia), A38 (14% (m/v) de extrato de arroz, sacarina e estévia), A39 (14% (m/v) de extrato de arroz, sucralose e estévia) e A40 (14% (m/v) de extrato de arroz, sucralose e sacarina) apresentaram fermentação mais rápida (aproximadamente 8 horas). No primeiro dia de armazenamento o número de células viáveis na bebida fermentada por SAB 440 variou de 8.550 a 10.970 log UFCmL⁻¹, permanecendo ao longo de 28 dias de armazenamento uma contagem de bactérias acidoláticas elevada, demonstrando alta viabilidade de caráter probiótico. A estévia mostrou ser uma alternativa interessante como adoçante e substrato para obter uma bebida fermentada de arroz integral, e seu uso combinado com outros adoçantes, como sacarina e sucralose, melhorou o sabor e a doçura das bebidas fermentadas à base de arroz. Cabe ainda ressaltar que o conteúdo lipídico foi inferior a 0,03%, o que classifica essas bebidas fermentadas como livres de gordura, de acordo com a legislação brasileira vigente. A funcionalidade de bebidas fermentadas elaboradas pode ser atribuída principalmente à sua característica probiótica. As formulações apresentaram aceitabilidade satisfatória, podendo atender às demandas de saúde de consumidores alérgicos e / ou intolerantes ao leite e alérgicos à soja, uma vez que atualmente não existem no mercado bebidas fermentadas à base de arroz, sugerindo inovação tecnológica funcional.

Palavras-chave: Probiótico, Fermentação, Matriz não láctea, Saúde, Adoçantes.

SUMMARY

Consumers have shown greater attention to the quality and functionality of the foods consumed due to the increased incidence of diseases, especially those related to lactose intolerance and allergy to proteins in bovine milk and soy. In this study, in an unprecedented way, probiotic drinks based on rice extract were elaborated and characterized. Beverages fermented with rice extract (BA) were developed with the inoculation of microorganisms such as: *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus thermophilus* and *Bifidobacterium*, sweetened with different types of substrates, such as sucrose, glucose, honey, natural and synthetic sweeteners and characterized by physical analysis -chemical, microbiological and sensory. The best fermentation time (9 hours) was achieved in the formulations with the addition of the SAB inoculum (*Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus thermophilus* and *Bifidobacterium*) and glucose and honey as substrates in rice extract drinks. All drinks were characterized as probiotic because the viable cell count was greater than 10^6 CFU mL⁻¹. It can be seen that the drinks A36 (14% (w/v) rice extract, and stevia), A38 (14% (w/v) rice extract, saccharine and stevia), A39 (14% (w/v) rice extract, sucralose and stevia) and A40 (14% (w/v) rice extract, sucralose and saccharin) showed faster fermentation (approximately 8 hours). On the first day of storage, the number of viable cells in the beverage fermented by SAB 440 ranged from 8,550 to 10,970 log UFCmL⁻¹, with a high acidolytic bacteria count remaining over 28 days of storage, demonstrating high probiotic viability. Stevia has proved to be an interesting alternative as a sweetener and substrate for obtaining a fermented brown rice drink, and its combined use with other sweeteners, such as saccharin and sucralose, improved the taste and sweetness of fermented rice-based drinks. It should also be noted that the lipid content was less than 0.03%, which classifies these fermented drinks as fat-free, according to the Brazilian legislation in force. The functionality of elaborated fermented drinks can be attributed mainly to its probiotic characteristic. The formulations showed satisfactory acceptability, being able to meet the health demands of consumers allergic and / or intolerant to milk and allergic to soy, since currently there are no fermented beverages based on rice on the market, suggesting functional technological innovation.

Keywords: Probiotic, Fermentation, Non-dairy matrix, Health, Sweeteners.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Composição da Estévia.....	20
Figura 2 - Composição da Sacarina.....	22
Figura 3 - Composição da Sucralose.....	22
Figura 4 - Fluxograma de elaboração das formulações de extrato de arroz fermentado.....	27
Figura 5 - Planejamento de misturas simplex, com 8 experimentos aplicado na otimização da formulação de leite fermentado a base de extrato de arroz adicionado de adoçantes.....	36
Figura 6 - Tempo de fermentação das bebidas formuladas com o extrato de arroz.....	40
Figura 7 - Tempo de fermentação das bebidas formuladas com extrato de soja.....	42
Figura 8 - Desenvolvimento do pH referente ao processo fermentativo.....	53
Figura 9 - Produção de ácido lático em função do tempo de fermentação.....	56
Figura 10 - Desenvolvimento do pH referente ao processo fermentativo das formulações com adoçantes.....	62
Figura 11 - Estruturas dos principais extratos da Estévia utilizados como edulcorantes naturais.....	64
Figura 12 - Análise do Atributo Impressão Global.....	75
Figura 13 - Análise do Atributo Aparência.....	75
Figura 14 - Análise do Atributo Cor.....	76
Figura 15 - Análise do Atributo Aroma.....	76
Figura 16 - Análise do Atributo Sabor.....	76
Figura 17 - Análise do Atributo Doçura.....	76
Figura 18 - Análise do Atributo Consistência.....	77
Figura 19 - Correlação entre formulações e atributos.....	77
Figura 20 - Gráfico de contorno gerado pelo ajuste do modelo cúbico especial aos resultados do atributo de impressão global.....	80

Figura 21 - Gráfico de contorno gerado pelo ajuste do modelo cúbico especial aos resultados do atributo sabor.....	81
Figura 22 - Gráfico de contorno gerados pelo ajuste do modelo cúbico especial aos resultados do atributo doçura.....	82
Figura 23 - Representação gráfica do perfil de desejabilidade obtido na otimização da formulação de leite fermentado a base de extrato de arroz adicionado de adoçantes.....	84

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Definição das formulações das bebidas fermentadas a base de extrato de arroz.....	26
Tabela 2- Definição das formulações das bebidas fermentadas a base de extrato de soja.....	28
Tabela 3- Formulações definidas para o estudo da proporção de extrato de arroz e de mel (% , m/v).....	29
Tabela 4- Definição das formulações das bebidas fermentadas a base de extrato de arroz com adoçantes.....	33
Tabela 5- Contagem de bactérias acidoláticas nas bebidas formuladas a base de extratos de arroz e de soja.....	45
Tabela 6- Características físico-químicas expressas como médias \pm desvios padrão das bebidas formuladas descritas na Tabela 1 em relação a fermentação láctica.....	46
Tabela 7- Caracterização físico-química das bebidas formuladas a base de extrato de arroz.....	49
Tabela 8- Análise de Cor das bebidas formuladas a base de extrato de arroz.....	57
Tabela 9- Parâmetros físico-químicos das bebidas em função da viscosidade.....	60
Tabela 10- Características físico-químicas expressas como médias \pm desvios padrão das bebidas formuladas descritas na Tabela 8 em relação a fermentação láctica.....	66
Tabela 11- Características físico-químicas expressas como médias \pm desvios padrão das bebidas formuladas de arroz.....	69
Tabela 12- Resultados da qualidade microbiológica das amostras de bebidas fermentadas.....	70
Tabela 13- Aceitabilidade das novas amostras de bebidas fermentadas de arroz.....	72

Tabela 14- Descrição das 08 formulações de leite fermentado a base de extrato de arroz do planejamento de misturas simplex.....	79
Tabela 15- Análise da variância (ANOVA) dos modelos linear, quadrático e cúbico especial para os atributos de impressão global, sabor e doçura obtidos da análise sensorial de aceitação do leite fermentado a base de extrato de arroz.....	83
Tabela 16- Características físico-químicas expressas como médias \pm desvios padrão das bebidas formuladas em relação a fermentação láctica.....	85
Tabela 17- Caracterização físico-química das bebidas formuladas A45 a A47.....	87
Tabela 18- Análise Comparativa da composição Nutricional das bebidas Fermentadas.....	89
Tabela 19- Determinação de minerais das bebidas fermentadas elaboradas com extrato de arroz.....	90
Tabela 20- Contagem de bactérias acidoláticas durante o período de 0, 7, 14, 21 e 28 dias.....	91
Tabela 21- Resultados de qualidade microbiológica das amostras de bebidas fermentadas.....	93
Tabela 22- Formulações das bebidas envolvidas na Análise Sensorial.....	94
Tabela 23- Dados da avaliação sensorial das amostras de bebida fermentada de arroz e de amostras de marcas regional e nacional de bebida fermentada.....	94

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO.....	1
2 OBJETIVOS.....	3
2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	3
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
3.1 ALIMENTOS FUNCIONAIS	4
3.2 BEBIDAS A BASE DE EXTRATOS VEGETAIS.....	6
3.3 LEITES FERMENTADOS.....	7
3.4 ARROZ: ASPECTOS NUTRICIONAIS E FUNCIONAIS.....	8
3.5 ALIMENTOS PROBIÓTICOS.....	10
3.5.1 Bactérias do gênero Lactobacillus e sua morfologia	14
3.5.1.1 Lactobacillus acidophilus	16
3.5.2 Streptococcus thermophilus	17
3.5.3 Bifidobactérias.....	18
3.6 ADOÇANTES NATURAIS.....	19
3.6.1 Estévia	19
3.7 ADOÇANTES SINTÉTICOS.....	20
3.7.1 Sacarina.....	21
3.7.2 Sucralose.....	22
3.8 MEL.....	23
3.9 SENSORIAL.....	23
4 MATERIAL E MÉTODOS	26
4.1 FERMENTAÇÃO LÁCTEA E CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DAS BEBIDAS FERMENTADAS A BASE DE EXTRATO DE ARROZ.....	26
4.2 ANÁLISE COMPARATIVA DE BEBIDAS PROBIÓTICAS FORMULADAS BASE DE EXTRATO DE ARROZ E DE EXTRATO DE SOJA.....	28

4.3. ELABORAÇÃO DE BEBIDAS PROBIÓTICAS A BASE DE EXTRATO DE ARROZ EM DIFERENTES PROPORÇÕES E COM A UTILIZAÇÃO DE MEL COMO SUBSTRATO.....	29
4.3.1 Métodos De Separação	30
4.3.2 Métodos De Pasteurização	31
4.4 ELABORAÇÃO DE BEBIDAS PROBIÓTICAS A BASE DE EXTRATO DE ARROZ COM A UTILIZAÇÃO DE ADOÇANTE COMO SUBSTRATO.....	32
4.5 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS.....	33
4.5.1 Análise Estatística	34
4.6 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS.....	34
4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	35
4.7.1 Otimização da Formulação de uma Bebida Fermentada a Base de Extrato de Arroz por Planejamento de Misturas	35
4.8 ANÁLISE SENSORIAL.....	37
4.8.1 Análise Estatística	38
4.8.2 Procedimentos Éticos	39
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	40
5.1 ESTUDO DA VIABILIDADE DO EXTRATO DE ARROZ COMO MEIO PARA O DESENVOLVIMENTO DE CULTURAS LÁTICAS.....	40
5.2 ANÁLISE DO DESENVOLVIMENTO E ATUAÇÃO DAS CULTURAS LÁTICAS DIFERENTES EM MEIO DE EXTRATO DE ARROZ.....	45
5.3 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DAS BEBIDAS FORMULADAS COM BASE DE EXTRATO DE ARROZ.....	48
5.4 ANÁLISE DO DESENVOLVIMENTO E ATUAÇÃO DAS CULTURAS LÁTICAS EM MEIO AO EXTRATO DE ARROZ COM ADOÇANTES DIFERENTES.....	62
5.5 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E ANÁLISE SENSORIAL DAS BEBIDAS FORMULADAS À BASE DE EXTRATO DE ARROZ COM ADOÇANTE.....	68
5.5.1 Análise do Planejamento de Misturas.....	78
5.6 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E ANÁLISE SENSORIAL DAS BEBIDAS FORMULADAS A BASE DE EXTRATO DE ARROZ EM COMPARATIVO À DUAS MARCAS DE LEITES FERMENTADOS COMERCIAIS.....	85
5.6.1 Análise de minerais das bebidas fermentadas de extrato de arroz	<u>90</u>
5.6.2 Contagem de bactérias acidoláticas	91

5.6.3 Análise microbiológica.....	92
5.7 ANÁLISE SENSORIAL COMPARATIVA DAS BEBIDAS FORMULADAS DE ARROZ E DUAS MARCAS COMERCIAIS DE LEITES FERMENTADOS.....	93
6 CONCLUSÃO	98
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	<u>100</u>
8 APÊNDICE	128
APÊNDICE A - PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP.....	129
APÊNDICE B- FICHA DE AVALIAÇÃO SENSORIAL PRIMEIRA FASE.....	135
APÊNDICE C - FICHA DE AVALIAÇÃO SENSORIAL SEGUNDA FASE.....	136

INTRODUÇÃO

Nota-se um aumento das doenças inflamatórias intestinais associado ao advento de industrialização e à ocidentalização do estilo de vida como os hábitos alimentares e a prática do tabagismo (BRITO et al., 2020). Nos últimos 50 anos observou-se o avanço de doenças crônicas não transmissíveis como por exemplo as doenças cardiovasculares, hipertensão arterial, diabetes melittus II, obesidade e câncer (SALGADO, 2017). Em decorrência desta realidade, as pessoas têm demonstrado maior atenção quanto à qualidade alimentar buscando alternativas saudáveis. Dentre os alimentos normalmente consumidos destacam-se os orgânicos, não transgênicos, probióticos, prebióticos e os simbióticos (BAMPI et al., 2016; PIMENTEL et al., 2012).

A intolerância a lactose é um problema que está presente em grande parcela da população que reflete a um cenário não somente em outros países, mas também no Brasil. Outro fator preocupante são os casos de pessoas que apresentam alergias a proteínas do leite. Em vista disso, torna-se interessante o desenvolvimento de bebidas fermentadas tendo como base extratos vegetais, em substituição as bases de origem animal (leite bovino).

Em relação a soja, de acordo com a evolução da ciência, descobriram-se aspectos negativos quanto a sua composição nutricional, como o conteúdo proteico. A soja apresenta cerca de 15 proteínas, que podem ocasionar problemas alérgicos, sendo este o motivo de preocupação dos especialistas (SOARES JUNIOR et al 2010; (KATZ et al 2014).

Entretanto, o grão cientificamente denominado *Oryza sativa* L, popularmente conhecido por arroz, é uma das mais importantes fontes de nutrientes difundida mundialmente em mais de 116 países. No Brasil, a produção deste grão é concentrada tendo destaque nas regiões Sul e Centro-Oeste (FERREIRA e DEL VILLAR, 2004). De acordo com a Conab (2020), a safra brasileira de arroz, referente a 2018/2019 apresentou uma produção de 10,30 milhões de toneladas em casca. Com relação a sua disponibilidade nutricional, a cadeia proteica presente no arroz compõe-se por diferentes frações de aminoácidos, destacando-se a prolamina, albumina, globulina e glutelina. A glutelina destaca-se por estar presente em maior

fração no grão (cerca de 70 a 80% da proteína total do grão), assim como apresentar alta digestibilidade (88%), segundo OMS (1985) e hipoalergenicidade (CARVALHO e BASSINELLO, 2006). Ainda, segundo Carvalho e Bassinello (2006), o arroz é um cereal de alto valor nutricional, contendo aproximadamente 90% de amido, além de ser fonte de minerais tais como fósforo, cálcio e ferro, vitaminas do complexo B e apresentar um valor proteico de 7 a 9 %.

O arroz em geral, apresenta um perfil de aminoácidos essenciais mais adequado, em questão nutricional, quando comparado a outros cereais como o milho e o trigo. Jaekel et al. (2010) afirmam que dentre os extratos vegetais para substituição ao leite, destaca-se o extrato de arroz. Isso deve-se ao fato deste oferecer um sabor suave e ligeiramente adocicado, resultante da hidrólise do amido em maltose por ação enzimática. Além disso, as proteínas presentes agregam boa digestibilidade e mínimo potencial alérgico ao consumo.

Sendo assim, o presente trabalho visou estudar a viabilidade do arroz para o desenvolvimento de uma bebida de caráter probiótico, visando atender às expectativas de consumidores quanto à saúde, nutrição, benefícios funcionais e inovação.

2 OBJETIVOS

Desenvolver uma bebida fermentada probiótica saborizada a base de extrato de arroz, para atender às expectativas de saúde dos consumidores de diversas faixas etárias e avaliar a eficiência do processo fermentativo por análises físico-químicas e sensoriais.

2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar proporções de extrato arroz e substratos para as formulações, aplicando-se planejamento de experimentos e estudos univariados;
- Determinar etapas de procedimento (métodos de separação e pasteurização) e incorporação da saborização aplicando-se planejamento de experimentos;
- Avaliar as características físico-químicas (resíduo mineral fixo, umidade, sólidos totais, acidez, pH, carboidratos e proteínas) do produto final;
- Avaliar o desenvolvimento do inóculo probiótico em função do tipo de açúcar utilizado (glicose, sacarose, adoçante e mel);
- Quantificar as Bactérias acidoláticas (*Lactobacillus casei*, *acidophilus*, *Streptococcus thermophilus* e *Bifidunbacterium*) por análises microbiológicas;
- Identificar e quantificar os teores dos minerais P, K, Ca e Mg por espectrometria de absorção atômica e espectrometria de absorção molecular no visível;
- Avaliar a aceitabilidade do produto quanto às suas características sensoriais e verificar se há ou não diferenças entre as formulações por análise estatística;
- Estudo da vida das formulações com melhor desempenho sensorial para a comprovação do seu caráter probiótico.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 ALIMENTOS FUNCIONAIS

Enfatiza-se que a revolução no padrão de vida, hábitos alimentares e um aumento da conscientização sobre a saúde, motivou a aceitação do consumidor para alimentos nutritivos, saudáveis e preventivos de doenças, com benefícios mais amplos para a saúde (PANGHAL et al., 2018).

Há um entendimento de que os alimentos não têm somente a função de saciedade ou de fornecimento de nutrientes ao organismo, e de que a dieta é reconhecida como uma importante ferramenta para a prevenção de doenças crônicas não transmissíveis (DCNT's), bem como há inúmeros estudos para a observação de determinados alimentos na promoção da saúde (SALGADO, 2017). Neste cenário, enquadram-se os alimentos funcionais, que promovem a saúde e apresentam um papel importante na prevenção e tratamento de doenças, como por exemplo as cardiovasculares (SALGADO, 2017).

Segundo Anjo (2004), a denominação “alimento funcional” iniciou-se no Japão por volta dos anos 80 através de uma iniciativa do governo para o desenvolvimento de “alimentos saudáveis” destinado à uma parcela da população que envelhecia precocemente.

De acordo com Neves (2020), os primeiros gêneros alimentícios funcionais foram desenvolvidos em 1991 tendo a designação FOSHU (Foods for Specific Health Use), ou alimentos para uso específico de saúde. Entretanto, um alimento para ter esta designação, deveria ter a comprovação científica sobre a sua eficiência à saúde, tendo assim um selo de aprovação do Ministério da Saúde e Bem-Estar japonês.

De forma geral, não há uma definição universal para se referir aos alimentos funcionais, no qual cada organização internacional tem em particular a sua definição. A American Dietetic Association (2006), reconhece os benefícios dos alimentos funcionais, quando incorporam regularmente a dieta diversificada. Segundo Alvidrez-Morales (2002), a Food Drug Administration, órgão responsável pela proteção à

saúde dos norte-americanos, denota que substâncias específicas presentes nos alimentos, constituem um fator importante para implementação da saúde humana.

Alimentos funcionais são aqueles produtos alimentícios que fornecem os nutrientes essenciais necessários para uma boa saúde (SHIKHA; SHARMA; KHADKE, 2014) e que potencialmente têm um impacto positivo na saúde humana, além de fornecer os necessários requerimentos nutricionais (ALI; RAHUT, 2019).

No Brasil, segundo a Anvisa (1999) a legislação não define alimento funcional, mas sim “alimentos com alegação de propriedade funcional e ou propriedade à saúde, definindo diretrizes para forma de uso e as condições de registro para os alimentos com alegação de propriedade funcional e, ou, a saúde”. Ainda, em 1999 foi regulamentado através da Anvisa, as diretrizes básicas sobre procedimentos para registro de alimentos e, ou, novos ingredientes (Resolução nº16/99), avaliação do risco e segurança dos alimentos (Resolução nº17/99), análise e comprovação de alegação de propriedade funcional e, ou, de saúde alegadas em rotulagem de alimentos (Resolução nº 18/99), e dos procedimentos para registro de alimento com alegação de propriedades funcionais e, ou, de saúde (Resolução nº19/99).

Entretanto, a RDC nº 2/2002 da Anvisa sobrepôs às diretrizes a serem adotadas para a avaliação de segurança, registro e comercialização de substâncias bioativas e probióticos isolados com alegação de propriedades funcionais e, ou, de saúde. Os produtos passaram a ser classificados em: carotenoides, fitoesteróis, flavonoides, fosfolipídios, organossulfurados, polifenóis e probióticos. Uma vez aprovadas, as alegações propostas pelo fabricante são de uso obrigatório (ANVISA, 2002).

Em consequência a mudança relacionada ao aspecto de análise dos alimentos, a Vigilância Sanitária aprovou a Portaria nº15/99 da Anvisa, que constituiu a Comissão de Assessoramento Tecnocientífico em Alimentos Funcionais e Novos Alimentos - CTCAF, com a função de auxiliar a Diretoria de Alimentos e Toxicologia nas deliberações relacionadas a esse tema. A designação da CTCAF foi alterada pela Portaria 386/2005 da Anvisa para Comissão de Assessoramento Tecnocientífico em Alimentos com Alegação de Propriedade Funcional e, ou, de Saúde e Novos Alimentos.

Denota-se que no nível global, as vendas de alimentos fortificados / funcionais chegaram a US \$ 267 bilhões, e as vendas de alimentos naturalmente saudáveis foram de US \$ 259 bilhões em fevereiro de 2020. As vendas nos EUA alcançaram US \$ 63 bilhões e US \$ 42 bilhões, respectivamente (ANGUS; WESTBROOK, 2020), e a Ásia-Pacífico apresenta crescimento global de saúde / bem-estar em alimentos e nutrição (BARBALOVA, 2019). A China lidera a lista de mercados com maior potencial de crescimento para alimentos fortificados; é seguida pela Indonésia, Japão, Hong Kong, Índia, Vietnã, Arábia Saudita, México, Malásia e Brasil (MASCARAQUE, 2019). Neste contexto de alimentos funcionais, as bebidas a base de extratos vegetais podem contribuir para este mercado.

3.2 BEBIDAS A BASE DE EXTRATOS VEGETAIS

Nota-se um empenho para a inovação quanto ao desenvolvimento de bebidas fermentadas probióticas não – lácteas a partir de inúmeros substratos como a soja, milho, milheto, cevada, aveia, trigo, centeio, chá e sucos de frutas, entendendo-se que constituem um importante mercado de alimentos funcionais (MARSH et al., 2014).

A pesquisa de probióticos não-lácteos é antiga, e em 2006, nos Estados Unidos da América do Norte, produtos comerciais como a fórmula infantil probiótica “Good Start” da Nestlé e o “GoodBelly” preparado a partir de farinha de aveia com *Lactobacillus plantarum*, foram elaborados. Os substratos de origem vegetal constituem as fontes de menor custo, maior teor de fitoquímicos e que contribuem para a redução de colesterol e constituem uma alternativa de consumo para o público intolerante à lactose (PANGHAL et al., 2018), bem como os indivíduos alérgicos às proteínas do leite de vaca.

Diante deste contexto, o desenvolvimento de um produto com a possibilidade de contribuição tecnológica inovadora, pode atender um potencial nicho de mercado, contemplando consumidores intolerantes à lactose e alérgicos às proteínas do leite bovino e da soja. Desta maneira, há várias classificações quanto ao grau de inovação de produtos, e a abordagem de Garcia e Calantone (2002), combina o

impacto na cadeia de valor, a novidade tecnológica e a novidade comercial do produto para propor três tipos de inovação de produto: Radical, Realmente Novo e Incremental. O estudo de desenvolvimento de bebidas fermentadas tendo como base um extrato vegetal pode contribuir para uma inovação incremental.

3.3 LEITES FERMENTADOS

A descoberta dos leites fermentados data-se de longo tempo, não sendo possível uma confirmação precisa de seu aparecimento. Por volta do século XX, a partir de estudos de Metchnikoff, no *Institute Pasteur* (Paris – França), as pesquisas iniciaram-se com a associação da produção dos leites fermentados com o metabolismo de micro-organismos lácteos. Com o surgimento destas descobertas, várias culturas lácticas passaram a ser isoladas e caracterizadas, assim como o processo de fermentação foi controlado e padronizado pelas indústrias (ROBINSON, 1991).

Produtos à base de leite fermentado utilizam culturas lácticas *starter*, as quais colonizam o intestino em grande número, interagindo com a microbiota (MATHUR; SINGH, 2005).

A Federação Internacional de Laticínios (IDF, 1992a; 1992b; 1983), define o leite fermentado como sendo um produto desenvolvido a partir de leite, desnatado ou não, com culturas lácticas específicas, mantidas vivas em quantidade de 10^6 UFC/g⁻¹, até o seu consumo, não apresentando patógenos. As culturas utilizadas incluem várias bactérias, dentre elas: *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Propionibacterium*, *Leuconostoc*, *Bifidobacterium*, *Pediococcus* e *Acetobacter*, dentre outras.

A legislação brasileira, em acordo com a Resolução GMC 47/97, aprovada pelo Mercosul no subgrupo 3, também define leite fermentado como sendo um produto ao qual é adicionado ou não, outras substâncias alimentares, obtido por decréscimo de pH no leite ou leite reconstituído, no qual outro produto lácteo possa ser adicionado ou não, através de fermentação láctica pela ação de micro-organismos específicos (KHURANA; KANAWJIA, 2007). O estudo de produtos fermentados

apartir de matrizes não lácteas, embora não contemplado na legislação brasileira para leites fermentados, torna-se importante para à demanda de pessoas alérgicas ou intolerantes ao leite de vaca e a soja.

3.4 ARROZ: ASPECTOS NUTRICIONAIS E FUNCIONAIS

De acordo com a Embrapa (2008), as referencias mais antigas ao arroz encontram-se na literatura chinesa, como a primeira planta cultivada na Ásia sendo o principal alimento do continente. Segundo Soares (2010), o arroz é um dos cereais mais antigos sendo consumido a nível mundial, e em sua história ele apresentou uma grande dimensão em termos de importância nos países orientais, onde era utilizado até como moeda de troca nas transações comerciais. Brito (2006) ressalta que o cultivo do arroz nas regiões asiáticas como Japão e na Coréia já acontecia desde 1.000 a.C, onde em meados do século XV, o cereal já iniciava sua propagação pelo mundo.

A introdução do cereal (arroz) no Brasil segundo Pereira (2002), sucedeu-se através da frota de Pedro Alvares Cabral, no qual o seu cultivo no país foi somente relatado por volta de 1530, na capitania de São Vicente, e espalhando-se em pequenas lavouras de subsistência.

O grão cientificamente denominado *Oryza sativa* L, popularmente conhecido por arroz, é uma das mais importantes fontes de nutrientes difundida mundialmente em mais de 116 países. De acordo com a USDA/FAZ (2015) a produção mundial de arroz é superior a 475 milhões de toneladas, sendo que neste montante, o Brasil foi responsável por algo em torno de 8,3 milhões de toneladas. Neste delineamento, a Fao (2004) enfatiza que restritamente na Ásia, aproximadamente 70% do consumo energético de mais de 2 bilhões de pessoas é originário do grão de arroz e seus subprodutos. No Brasil, a produção deste grão é concentrada tendo destaque nas regiões Sul e Centro-Oeste (FERREIRA; DEL VILLAR, 2004). De acordo com a Conab (2020), a safra brasileira de arroz, referente a 2018/2019 apresentou uma produção de 10,30 milhões de toneladas em casca.

Segundo Bassinello e Castro (2004), o arroz (*Oryza sativa* L.) é mais consumido na forma in natura, mas existem também produtos processados a base de arroz, dentre os quais se podem citar: a farinha de arroz, creme de arroz, arrozina, bebida de arroz, arroz integral em pó e seus derivados.

Dentre as suas características nutricionais, o arroz pode ser considerado um alimento funcional de grande validade em nível de consumo, assim como, de grande potencial a ser explorado. Os alimentos funcionais representam um novo segmento dentro do mercado de alimentos e possuem como principais características suas alegações de saúde, que são veiculadas pelo rótulo e pela propaganda, tendo o propósito de proporcionar expectativa positiva aos consumidores, induzindo-os ao seu consumo (ALKHATIB *et al.*, 2017).

Com relação a sua disponibilidade nutricional, a cadeia protéica presente no arroz compõe-se por diferentes frações de aminoácidos, destacando-se a prolamina, albumina, globulina e glutelina. A glutelina destaca-se por estar presente em maior fração no grão (cerca de 70 a 80% da proteína total do grão), assim como apresentar alta digestibilidade (88%) segundo OMS (1985) e hipoalergenicidade (CARVALHO; BASSINELLO, 2006). Ainda, segundo Carvalho e Bassinello (2006), o arroz é um cereal de alto valor nutricional, contendo aproximadamente 90% de amido, além de ser fonte de minerais tais como fósforo, cálcio e ferro, vitaminas do complexo B e apresentar um valor proteico de 7 a 9%. Em estudos mais recentes, alguns autores acentuam e intensificam as propriedades funcionais em destaque do arroz, dentre estas, destacam-se como fonte de fibra alimentar a hemicelulose, arabinogalactana, arabinoxilano, xiloglicano, proteoglicano, arabinofuranosídeo e rafinose, assim como antioxidantes, como o orizanol, o tocoferol, tocotrienol e ácido ferúlico (Demirci *et al.* 2017; Kataoka *et al.*, 2008; Sierra *et al.*, 2005; Zubaidah *et al.*.,2012)

É interessante ressaltar que o arroz em geral, apresenta um perfil de aminoácidos essenciais mais adequado, em questão nutricional, quando comparado a outros cereais como o milho e o trigo. Jaekel *et al.* (2010), afirmam que dentre os extratos vegetais para substituição ao leite, destaca-se o extrato de arroz. Isso deve-se ao fato deste oferecer um sabor suave e ligeiramente adocicado, resultante da hidrólise do amido em maltose por ação enzimática. Além disso, as proteínas presentes agregam boa digestibilidade e mínimo potencial alérgico ao consumo. De

forma geral, segundo Rafe e Sadeghian (2017b), Rafe et al. (2017a), assim como Younas et al. (2011), dentre a todas suas características que conferem ao seu consumo, o arroz pode proporcionar e oferecer propriedades que o classificam como um alimento funcional saudável tendo propriedades hipoalergênicas, hipocolesterolêmicas e antioxidantes, podendo prevenir algumas doenças degenerativas crônicas, como colesterol alto, alguns tipos de câncer e diabetes. Diante deste cenário, este estudo propôs a fermentação de extrato de arroz para o desenvolvimento de uma bebida probiótica como uma alternativa alimentar.

3.5 ALIMENTOS PROBIÓTICOS

Um alimento probiótico é um produto que contém micro-organismos definidos, viáveis e em quantidades suficientes que promova alteração na microflora do hospedeiro exercendo efeitos benéficos à saúde, encontrados principalmente em produtos lácteos fermentados (YEBRA et al., 2011).

O termo probiótico advém do grego tendo o significado de “pró-vida”, sendo o antônimo de antibiótico, no qual significa “contra a vida”. Segundo Sandres et al. (2016) assim como Patel e Denning (2013), o termo probiótico passou a ser definido inicialmente como: “organismos vivos que quando ingeridos exercem efeito benéfico no balanço da flora bacteriana intestinal do hospedeiro” e aprimorado posteriormente para: “organismos vivos que quando ingeridos em determinado número exercem efeitos benéficos para a saúde”. Atualmente sua definição é: “suplemento alimentar microbiano vivo, que afeta de forma benéfica seu receptor, através da melhoria do balanço microbiano-intestinal” (COPPOLA; GIL-TURNES, 2004; (SHOKRYAZDAN et al., 2017).

Confere-se a característica probiótica aos gêneros alimentícios que apresentarem em sua composição organismos vivos que exercem ação benéfica sobre a saúde quando ingeridos em determinado número. Esta ação está associada ao equilíbrio da flora intestinal, podendo também ter efeito na redução do colesterol sanguíneo e no controle de desconfortos intestinais, assim como na redução do

risco de desenvolvimento de algumas formas de câncer. Uma das principais formas de atuação dos probióticos, é a ação inibidora da proliferação das bactérias patogênicas no intestino. Dentre os probióticos, destacam-se: *Lactobacillus acidófilos*, *casei*, *bulgárico*, *lactis*, *plantarum*; *Streptococcus termófilos*; *Enterococcus faecium* e *faecalis*; *Bifidobactéria bifidus*, *longus* e *infantis* (LOPES et al, 2019).

O uso de culturas probióticas, previne uma variedade de malefícios à saúde, devido ao seu efeito protetor contra patógenos, incluindo coliformes (SAKHARE; NARASIMHA, 2003; COEURET; GUEGUEN; VERNOUX, 2004), *Staphylococcus aureus* (SAKHARE; NARASIMHA, 2003; COEURET; GUEGUEN; VERNOUX, 2004; AMESHIMA et al., 1998), *Listeria monocytogenes* (BARRANTES et al, 2004; COEURET; GUEGUEN; VERNOUX, 2004), *Salmonella* (COEURET; GUEGUEN; VERNOUX, 2004) e *Cândida* spp., *Zygosaccharomyces bailiie* *Penicillium* sp.

Acentua-se que os produtos alimentícios intitulados como probióticos apresentem qualidades funcionais, pois, além de suas características nutricionais, influenciam benéficamente uma ou mais funções relevantes do organismo do consumidor (RIBEIRO; SIMÕES; JURKIEWICZ, 2009; HILL et al., 2014, GOLDENBERG et al 2015).

No mercado brasileiro os gêneros probióticos estão relacionados a diversos tipos de bebidas fermentadas. Nos Estados Unidos, Canadá e Europa, existem diversos tipos de queijos e cereais com a característica probiótica. Diversos fatores devem ser observados para o desenvolvimento de um alimento contendo bactérias probióticas, sendo eles: conteúdo de oxigênio, pH, teor de sal e os outros ingredientes presentes, de forma que as bactérias probióticas permaneçam viáveis e em número elevado durante a vida de prateleira do produto, além da atividade de água, temperatura de processamento e armazenamento e tempo de estocagem, (RIBEIRO; SIMÕES; JURKIEWICZ, 2009).

Segundo Cruz, Mortazavian e Karini (2011), durante as três últimas décadas, prestou-se grande atenção aos produtos lácteos fermentados de características probióticas, de forma que o crescimento do mercado dos alimentos funcionais demanda crescente pesquisa ao desenvolvimento de produtos que contenham a funcionalidade probiótica.

Para o alcance do efeito benéfico e contínuo, os probióticos devem ser ingeridos diariamente, sendo que para um resultado desejável na composição da

microbiota intestinal foi observado a partir de doses de 100 gramas de produto alimentício, que estes devem conter 10^8 a 10^9 UFC/g de micro-organismos probióticos (BADARÓ *et al.*, 2008). Segundo Rybka e Kailasapathy (1995), é reconhecido que um ótimo balanço na população microbiana no trato digestivo esteja associado com a adequada nutrição e saúde. Os micro-organismos primariamente associados com este balanço são os lactobacilos e as bifidobactérias (LOURENS-HATTINGH; VILJOEN, 2001).

Segundo Ashraf e Shah (2011), Davoodi *et al.* (2013), Hassan e Amjad (2010), Martinez-Gonzalez *et al.* (2014), McFarland (2015) e Prasanna *et al.* (2014), os probióticos exercem as seguintes funções no organismo:

- aumentam de maneira significativa o valor nutritivo e terapêutico dos alimentos, pois ocorre um aumento dos níveis de vitaminas do complexo B e aminoácidos. Absorção acrescida de cálcio e ferro;
- fortalecem o sistema imunológico, através de uma maior produção de células protetoras;
- possuem efeito funcional benéfico no organismo, equilibrando a flora intestinal, atuando no controle do colesterol e na redução do risco de câncer;
- possuem uma particular importância para os indivíduos com intolerância à lactose, devido ao aumento de uma enzima que facilita a digestão da lactose.

De acordo com estudos recentes, além destas funções os probióticos podem contribuir no sistema imunológico, favorecendo o organismo a desenvolver defesas contra bactérias e micro-organismos maléficos (MIURA; OHNISHI, 2014; AMBALAM *et al.* 2016). Além das propriedades mencionadas, os probióticos devem ser inócuos, manterem-se viáveis durante a vida de prateleira do produto, tolerar o baixo pH do suco gástrico e resistir à ação da bile e das secreções pancreática e intestinal, não transportar genes transmissores de resistência a antibióticos e possuir propriedades antimutagênicas e anticarcinogênicas, assim como resistir a fagos e ao oxigênio (AGUIRRE VALADEZ *et al.*, 2016). Os probióticos normalmente têm pouco tempo de duração e, por isso mesmo, devem ser mantidos bem refrigerados. Segundo Coppola, Gil e Tunes (2004) assim como Usami *et al.* (2015), ao serem ingeridos através dos alimentos, vão para o intestino e ali se somam à flora já

existente, sem se fixarem, equilibrando-a e, com isso, auxiliando no trabalho de absorção dos nutrientes (COPPOLA; GIL-TUNES, 2004).

Os probióticos podem ser aditivos de gêneros alimentícios industrializados presentes no mercado, como leites fermentados, iogurtes, ou podem ser encontrados na forma de pó ou cápsulas (HILL et al., 2014).

Os leites fermentados são o exemplo mais comum de fonte de probióticos. Mas é preciso manter uma frequência de ingestão diária para que os efeitos desejados dos alimentos probióticos se comprovem (LOPES, 2011).

De forma geral, respaldando-se também em Sanders et al. (2019), pode-se afirmar que os probióticos são micro-organismos vivos e promotores da saúde, podendo ser incorporados a vários tipos de alimentos (KABOOSI, 2011). Para atuar com um efeito benéfico para a saúde, os micro-organismos precisam ser viáveis, ativos e abundantes na concentração de no mínimo 10^6 UFC g^{-1} no produto no decorrer da vida de prateleira especificada (OSTLIE; HELLAND; NARVHUS, 2003). Sendo assim, no momento do seu consumo o produto deve conter um mínimo aceitável, de bactérias probióticas de 10^6 UFC g^{-1} (BLANCHETTE *et al.*, 1996; GOMES; MALCATA, 1999; HEKMAT; MCMAHON, 1992; KURMAN; RASIC, 1991; RYBKA; KAILASAPATHY 1995). Entretanto, muitos autores citam que a ingestão de probióticos na quantidade de 10^8 – 10^9 UFC g^{-1} diariamente é primordial para a promoção de efeitos benéficos para os seres humanos (OLIVEIRA *et al.*, 2001; SAXELIN, 1997; VINDEROLA *et al.*, 2000; PANDEY et al., 2017).

Produtos contendo probióticos constituem-se em um grande grupo do setor de “alimentos funcionais”. Infelizmente, as bactérias probióticas desenvolvem-se fracamente no leite e são necessários meios de estimular o seu desenvolvimento em uma perspectiva para a obtenção de produtos lácteos em que se possa ser conferida a característica de serem probióticos (GAUDREAU; CHAMPAGNE; JELEN, 2005). A substituição de açúcares por adoçantes, apresenta uma importante aplicação tecnológica na fermentação de leite e de matrizes não lacteas, inclusive com o uso de *Lactobacillus*.

3.5.1 Bactérias do gênero *Lactobacillus* e sua morfologia

Cerca de 56 espécies do gênero *Lactobacillus* foram descritas até hoje. Estas bactérias estão distribuídas por vários nichos ecológicos, sendo encontradas por todo o trato gastrointestinal e gênito-urinário, constituindo-se de importante parte da microbiota indígena de homens e animais. A sua distribuição é afetada por diversos fatores ambientais como: pH, disponibilidade de oxigênio, nível de substrato específico, presença de secreções e interações bacterianas. Elas são raramente relacionadas com casos de infecções gastrointestinais. As cepas empregadas tecnologicamente são micro-organismos seguros e não patogênicos. Além disto, os lactobacilos possuem propriedades potencialmente probióticas, favorecendo beneficemente o organismo humano (PENNA, 2002).

Os *lactobacillus* probióticos são indicados para promover inúmeros benefícios à saúde, incluindo efeitos antimicrobianos contra patógenos, antitumorais, anticolesterol, imunomodulação, antidiabetes, e tratamento contra a diarreia e intolerância à lactose (NAGPAL *et al.*, 2007; NAGPAL; KUMAR; ARORA, 2010).

Por isto, *L. acidophilus*, *L. delbrueckii ssp bulgaricus* e *L. casei* têm sido amplamente utilizados pelos laticínios para a produção de leites fermentados e outros derivados lácteos.

De acordo com Vogel *et al.* (1993), Moro foi o primeiro pesquisador a isolar anaeróbios facultativos das fezes de crianças amamentadas ao peito, os quais foram tipificados como *Bacillus acidophilus*, um nome genérico para lactobacilos intestinais. As bactérias do gênero *Lactobacillus* são geralmente identificadas como bastonetes Gram-positivos, microaerófilas, não esporuladas e sem flagelos (VOGEL *et al.*, 1993).

Estudos genéticos têm demonstrado que as espécies originais realmente consistem em grupos apresentando homologia de DNA, incluindo: *L. crispatus*, *L. gallinarum*, *L. gasseri*, *L. amylovorus* e *L. johnsonii*. Embora estas espécies estejam bem definidas, existem dificuldades na classificação de cepas recentemente descobertas. Investigações baseadas em testes de aglutinação, antígenos de parede celular e características de eletroforese e antigênicas de D- e L-lactato

desidrogenase também demonstram a heterogeneidade dessas espécies (MITAL; GARG, 1992).

De acordo com Penna (2002), os lactobacilos podem ser divididos em três grupos em função do metabolismo de carboidratos:

- Grupo I: homofermentadores obrigatórios. Fermentam hexoses predominantemente a ácido láctico, via Embden-Meyerhof, não fermentando pentoses;
- Grupo II: heterofermentadores facultativos. Ao fermentarem hexoses, produzem ácidos láctico, acético, fórmico e etanol. As pentoses também podem ser fermentadas através da indução da enzima fosfoctolase;
- Grupo III: heterofermentadores obrigatórios. Fermentam hexoses a ácidos láctico e acético.

A divisão clássica dos lactobacilos está baseada em suas características fermentativas: (FERREIRA, 2001) – obrigatoriamente homofermentativos; (FELIS, 2001) – facultativamente heterofermentativos; (VASQUEZ *et al.*, 2005) – obrigatoriamente heterofermentativos (AXELSSON, 2004). Vários lactobacilos obrigatoriamente homofermentativos e facultativamente heterofermentativos e alguns obrigatoriamente heterofermentativos são utilizados em alimentos fermentados. Porém, este último grupo é comumente associado à deterioração de alimentos (VASQUEZ *et al.*, 2005).

Os lactobacilos obrigatoriamente homofermentativos incluem aqueles que fermentam glicose exclusivamente em ácido láctico e não fermentam pentoses ou gliconato (VASQUEZ *et al.*, 2005). Exemplos desse grupo são as espécies *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus johnsonii*, *Lactobacillus delbrukii*, *Lactobacillus helveticus* e *Lactobacillus salivarius* (HOLZAPFEL *et al.*, 2001; AXELSSON, 2004).

Os obrigatoriamente heterofermentativos incluem os lactobacilos que fermentam hexoses em ácido láctico, ácido acético e/ou etanol e dióxido de carbono, sendo que a produção de gás a partir da glicose é uma característica marcante dessas bactérias (VASQUEZ, 2005). São exemplos desse grupo as espécies *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus fermentum* e *Lactobacillus reuteri* (AXELSSON, 2004; HOLZAPFEL; SCHILLINGER, 2002).

Os facultativamente heterofermentativos incluem os lactobacilos que fermentam hexoses em ácido-lático e podem produzir gás a partir de gliconato, mas não através da glicose. Esses micro-organismos também fermentam pentoses, através de uma fosfoacetolase induzida para produzir ácidos lático e acético. As espécies *Lactobacillus curvatus*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus sakei* e do grupo *Lactobacillus casei* são importantes representantes dos lactobacilos facultativamente heterofermentativos (VASQUEZ *et al.*, 2005; AXELSSON, 2004).

3.5.1.1 *Lactobacillus acidophilus*

O *L. acidophilus* é um bastonete Gram-positivo que pode ocorrer isolado, assim como em pares ou em cadeias curtas. O tamanho típico é de 0,6 - 0,9 μm de largura e 1,5 - 6,0 μm de comprimento. Este micro-organismo não contém citocromos e, por isso, é benzidina negativo. Além disso, é um micro-organismo microaerófilo, tanto que o crescimento superficial em meio sólido é geralmente favorecido pela anaerobiose, pela redução da pressão de oxigênio ou manutenção de 5 a 10% de CO_2 . A maioria das cepas de *L. acidophilus* pode fermentar, celobiose, frutose, galactose, glicose, lactose, maltose, manose, sacarose e trealose (SAMONA; ROBINSON, 1991).

L. acidophilus metaboliza a glicose oriunda da lactose através da via Embden-Meyerhof, tendo como ácido lático, o principal produto. O rendimento do ácido lático é 1,8 mol/mol glicose, acompanhado de uma pequena quantidade de outros componentes. O acetaldeído, um composto aromático, também pode ser formado durante o metabolismo da lactose, entretanto, em alguns casos ele pode ser produzido a partir do metabolismo de substâncias nitrogenadas, como por exemplo, a treonina, sendo que uma grande atividade de treonina aldolase tem sido encontrada em *L. acidophilus* (MARSHAL; COLE, 1983).

O crescimento do *L. acidophilus* pode ocorrer a altas temperaturas como 45 °C, embora o crescimento ótimo seja em torno de 35-40 °C. A tolerância dos lactobacilos ao ácido varia de 0,3 até 1,9%, sendo que o pH ótimo para seu desenvolvimento está entre 5,5-6,0 (GOMES; MALCATA, 1999).

Atualmente, existem várias possibilidades de utilização terapêutica de *L. acidophilus*, como a reposição de microbiota intestinal, desejável após longa exposição a uma antibioticoterapia. Essas bactérias auxiliam na digestão e no tratamento de doenças imunossupressoras. Isto acontece, provavelmente, porque o *L. acidophilus* estimula a produção de citocinas por macrófagos (DONNET-HUGHES, 1999), a redução dos níveis plasmáticos de colesterol e da ocorrência de doenças cardíacas coronarianas (NGONGANG et al., 2016), a biodegradação de nitrosaminas carcinogênicas no intestino (ROBINSON, 1991; Davoodi et al., 2013), o tratamento de câncer de intestino (ROBINSON, 1991; Davoodi et al., 2013), o aumento da absorção de lactose em pessoas intolerantes (MUSTAPHA; JIANG; SAVAIANO, 1997), bem como auxilia também no tratamento de infecções e diarreias causadas por leveduras (RANI; KHETARPAUL, 1998) e tem efeito de imunomodulação em pessoas com deficiência do sistema imunológico (DONNET-HUGHES, 1999), o possível tratamento de AIDS (TIHOLE, 1988).

3.5.2 *Streptococcus thermophilus*

O *S. thermophilus* tem sido amplamente utilizado como uma cultura iniciadora para produção de iogurtes, queijos e leites fermentados. As principais características dos *S. thermophilus* são (ROBINSON, 2002):

- células esféricas ou ovais;
- bactéria Gram-positiva, anaeróbia facultativa, imóvel, não-esporulante;
- crescimento entre 40 e 50 °C com auxílio de vitaminas e aminoácidos para máximo crescimento;
- bactérias ácido-láticas homofermentativas, produtoras de L (+) lactato, acetaldeído e diacetil a partir da lactose do leite;
- secreção de exopolissacarídeos.

Em ensaios *in vitro*, *S. thermophilus* apresentou resultados que demonstraram a cepa com possíveis propriedades anti-inflamatórias, sendo ferramenta eficaz como probiótico (PACHEKREPAPOL et al., 2017).

3.5.3 *Bifidobactérias*

As *Bifidobactérias* foram estudadas inicialmente no final do século XIX por TISSIER, que as descreveu como formas alongadas, não produtoras de gás, anaeróbicas com morfologia *Bifid*, presente nas primeiras fezes dos recém-nascidos, então chamadas de *Bacillus bifidus* (BRANDÃO, 2007). Atualmente o gênero *Bifidobacterium* compõe-se de 30 espécies, 10 das quais são de origem humana, 17 de origem animal, 2 de águas residuais e 1 de leite fermentado. Todas as bifidobactérias de origem humana podem ser utilizadas como substrato, além da glicose, da galactose, da lactose e usualmente da frutose (MICHELINI et al., 2018 ; MODESTO et al., 2018).

Essas bactérias do gênero *Bifidobacterium* são amplamente utilizadas devido aos seus benefícios conferidos pelos probióticos, sendo encontradas em iogurte e em outros derivados fermentados do leite. Produzem no organismo humano antibióticos naturais, que auxiliam a flora intestinal. Contribuem, portanto, ao bom funcionamento do intestino, o que se reflete também na beleza da pele. No momento de consumir o produto, a concentração de bifidobactérias deve ser superior a 10^6 UFC g⁻¹ para que se possa sentir seu efeito benéfico (AWASTI et al., 2016; HIDALGO-CANTABRANA et al., 2017; BUNESOVA et al., 2012).

O uso das Bifidobactérias em fermentações de leite é limitado, devido ao lento crescimento, embora o leite seja um meio satisfatório por conter nutrientes essenciais, aminoácidos e pequenos peptídeos, estes estão presentes em quantidades insuficientes para o crescimento de Bifidobactérias. O desenvolvimento das bactérias probióticas ocorre lentamente devido à baixa atividade proteolítica no leite, sendo prática comum a adição de bactérias do iogurte para reduzir o tempo de fermentação (BUNEŠOVÁ et al., 2017; MILANI et al., 2016).

As Bifidobactérias são conhecidas por estimularem o sistema imunológico, produzirem vitamina B, inibirem a multiplicação de patógenos, reduzirem a concentração de amônia e colesterol no sangue e ajudarem a restabelecer a microbiota normal após tratamento com antibióticos (KOMATSU; BURITI; SAAD, 2008, MILANI et al., 2016 ; POKUSAEVA; FITZGERALD; VAN SINDEREN, 2011; ALBERT; RANI; SELA, 2018).

3.6 ADOÇANTES NATURAIS

Estudos sobre o uso de adoçantes em substituição à sacarose já foram implementados, incluindo fatores de interesse como intensidade e duração do gosto residual ou sua ausência, que são fatores importantes para seleção, aplicação e aceitação pelo consumidor (MARCELLINI; CHAINHO; BOLINI, 2005; (PRIYA, GUPTA E SRIKANTH 2011). Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BRASIL, 2005), complementada por Bruyère et al. (2015), segundo a regulamentação brasileira, os adoçantes dietéticos ou adoçantes de mesa são alternativas utilizadas para substituir o açúcar refinado. Estes conferem sabor adocicado aos alimentos e ao mesmo tempo, fornecem poucas ou nenhuma caloria. Uma vez que o consumo de açúcar tem sido associado a doenças não transmissíveis como obesidade e distúrbios metabólicos, a redução do teor de açúcar em alimentos processados é um grande desafio para a indústria de alimentos (OZCAN et al., 2017). Dentre os adoçantes naturais, destaca-se a estévia, muito utilizada na indústria de alimentos.

3.6.1 Estévia

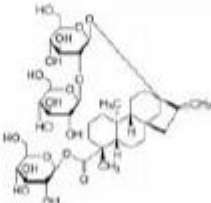
Há indícios que um botânico suíço denominado Moisés Santiago Bertoni no século XIX, fez os primeiros relatos da planta estévia, sobre a sua utilização pelas tribos Guaraní situadas no Paraguai e no Brasil, percebidos pelos espanhóis e franceses, (ABUDULA et al., 2004). Lima Filho et al. (2004), acentuam que a primeira descrição da estévia no Brasil foi em 1926, no Dicionário das Plantas Úteis do Brasil, de Manuel Pio Correa, e na década de 70 surgiu o interesse comercial na planta pelos japoneses.

Segundo Jarma et al. (2010), a estévia é pertencente a família das Astareceas, desenvolve-se em forma de arbusto selvagem, compreendendo as regiões tropicais e subtropicais das Américas.

De acordo com Sharma et al. (2006), a composição química total da estévia ainda não está disponível, mas dentre ao que se conhece, destaca-se beta-

sitosterol, apigenina, ácido cafeico, avicularina, luteonina, stigmaesterol, clorofil, quercitina, cariofileno, ácido clorogênico, campesterol e outros. Ainda assim, encontram-se quantidades significativas de beta-caroteno, glicosídeos, ácido ascórbico, além de alguns minerais como, fósforo, zinco, estanho, ferro, potássio, cobalto, magnésio, cromo e vitaminas do complexo B, riboflavina e tiamina (SHARMA et al., 2006).

Gardana (2003), Abou-Arab et al. (2010), Jeppesen et al. (2002), Chan et al. (2000) e Lemus-Mondacar et al. (2012) ressaltam que em comparativo a sacarose a estévia (figura 01) possui um poder de doçura 300 vezes superior, além de oferecer vantagens como: agente antioxidante, anti-hipertensivo, hipoglicemiante, não apresentar valor calórico e não ser metabolizado pelo organismo. Dentre a todas estas características, a estévia é um edulcorante de grande uso na indústria alimentícia e farmacêutica (KATRIN; MANCZYK, 2003).

Formula molecular	Estrutura	Massa molar (g/mol)
$C_{35}H_{60}O_{15}$	 <p>The image shows the chemical structure of a steviol glycoside, which is a complex molecule consisting of a steviol aglycone core linked to a glucose moiety. The structure is highly branched and contains multiple hydroxyl groups and ether linkages.</p>	804,87

Fonte: www.sigmaaldrich.com (Acesso em 11/06/2017)

Figura 01- Composição da Estévia

3.7 ADOÇANTES SINTÉTICOS

De acordo com Zanini et al. (2011), os adoçantes dietéticos (ADDs) são compostos por edulcorantes não calóricos que conferem o sabor doce sem calorias. Segundo a legislação brasileira, (ADDs) são definidos como “sendo produtos formulados para a utilização em dietas com restrição de sacarose, frutose, ou

glicose, para atender as necessidades de pessoas sujeitas a restrição desses carboidratos” (BRASIL 1998).

Segundo Chattodhyay et al. (2014), os edulcorantes são “aditivos intencionais” utilizados para intensificar o sabor doce, vindo a substituir parcialmente ou totalmente os açúcares convencionais, a pessoas que necessitam de controle de ingestão de açúcares ou calorias. Montebello et al. (2007) acentuam que o poder de doçura dos adoçantes dietéticos (ADDs) são muitas vezes, superior a sacarose, e o seu poder edulcorante é normalmente medido em comparação a uma solução de sacarose (TORLONI et al., 2007). Dubois e Prakash (2012), acentuam que para ter alto poder comercial, um edulcorante deve atender a seis indicadores: segurança, estabilidade, solubilidade, sabor agradável, custo e ser patenteável.

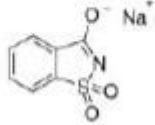
No Brasil, a regulamentação de edulcorantes quanto ao consumo é regimentada pelo Ministério da Saúde através da Anvisa, tendo como base às normas internacionais sobre o uso de aditivos em alimentos. Segundo a Anvisa, no Brasil os edulcorantes não calóricos permitidos para a comercialização e consumo são: neotame, taumatina, esteviosídeo, aspartame, sucralose, sacarina sódica, ciclamato de sódio e acessulfame de potássio (BRASIL 2008). Todos os ADDs possuem uma recomendação de ingestão diária aceitável (IDA). A Sociedade Brasileira de Diabetes (SBD) acentua que os ADDs são seguros quando consumidos até o nível diário aceitável de ingestão, estabelecido pela Food and Drug Administration (FDA) (SBD, 2014).

3.7.1 Sacarina

De acordo com Yang (2010), a sacarina (figura 02) foi descoberta por Constantine Fahlberg quando trabalhava com derivados de alcatrão em 1879, podendo ser apresentada na forma de sal de sódio ou cálcio, e não apresentando valor calórico (CHATTODHYAY et al., 2014).

Segundo Montebello et al. (2007), a sacarina possui um poder de doçura superior a sacarose em 300 vezes, apresentando baixo custo e sendo considerado o

primeiro adoçante sintetizado. É estável a uma larga faixa de pH, também a altas temperaturas e possui grande solubilidade (MONTEBELLO et al., 2007).

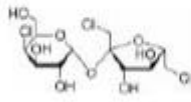
Formula molecular	Estrutura	Massa molar (g/mol)
C ₇ H ₄ NNaO ₃ S		205,18

Fonte: www.sigmaldrich.com (Acesso em 11/06/2017)

Figura 02- Composição da Sacarina

3.7.2 Sucralose

De acordo com Torloni et al. (2007), a sucralose foi descoberta em 1976, mas somente foi aceita pelo FDA para o consumo humano em 1998. A sucralose é o único adoçante derivado da sacarose obtido através da substituição de três átomos de hidrogênio por três átomos de cloro na estrutura da sacarose (SHIBÃO et al 2009). Apesar de ser obtido através da sacarose, a sucralose não possui valor calórico, pois o organismo humano não a reconhece como açúcar, sendo assim não metabolizada e passando a ser excretada pelas fezes (CHATTODHYAY et al., 2014). Segundo Richter e Lannes (2007), a sucralose (figura 03) possui um valor de doçura 600 vezes superior a sacarose, não possui sabor residual, apresenta alta solubilidade em água e é estável a altas temperaturas.

Formula molecular	Estrutura	Massa molar (g/mol)
C ₁₂ H ₁₀ Cl ₃ O ₈		397,63

Fonte: www.sigmaldrich.com (Acesso em 11/06/2017)

Figura 03- Composição da Sucralose

3.8 MEL

De acordo com Mahmoudi e Pakbin (2015), e Saba, Suzana e My (2013), o mel é um adoçante obtido de fonte animal, produzido pelas abelhas, e possui um alto valor nutricional e uma gama de propriedades benéficas. A qualidade do mel, depende, exclusivamente, das flores visitadas pelas abelhas, por consequência da presença de componentes minoritários, como lipídeos e aminoácidos (TOUSSAINT-SAMAT, 2009; SOMME et al., 2015).

De forma geral, o mel é composto em grande parte por carboidratos, como: glicose, frutose, sacarose, maltose e trealose (SOMME et al., 2015). Para a composição proteica destacam-se aminoácidos como: isoleucina, leucina, aspartato, glutamato, prolina, fenilalanina e valina. Para os minerais, segundo Bosi e Battaglini (1978), Alvarez-Suarez et al. (2010), há a presença de ferro, manganês, cromo, selênio, zinco, cobre, cálcio, magnésio, fósforo, além de sódio, potássio e cálcio no mel. Corroborando, Bizzaria e Filgueiras (2003) condizem que na avaliação do mel como um alimento rico sendo de grande importância para a saúde ao organismo humano, destacam-se diversas propriedades funcionais como antimicrobiana, curativa, calmante, regenerativa de tecidos, estimulante, dentre outras. Devido às suas características nutricionais e funcionais, o mel tem grande destaque de uso tanto na indústria alimentícia quanto na indústria farmacêutica. O mel destaca-se também pelo sabor adocicado, contribuindo para a aceitabilidade dos produtos alimentícios adicionados deste adoçante de origem animal.

3.9 SENSORIAL

A ciência da avaliação sensorial é uma ferramenta de interesse para avaliar a aceitabilidade de novos produtos contendo adoçantes. A análise sensorial é uma disciplina científica que visa evocar, medir, analisar e interpretar reações às características dos alimentos e outros materiais, e como estas são percebidas pelos

órgãos sensoriais de visão, olfato, paladar, tato e audição, sendo, portanto, uma importante ferramenta para uso durante o desenvolvimento do produto (DUTCOSKY, 2013).

O sucesso de marketing de um produto alimentar depende de muitos fatores, incluindo satisfação sensorial do consumidor. Portanto, a determinação das expectativas do consumidor e atitudes para um determinado alimento, e expressão das demandas do consumidor em termos científicos quanto aos descritores sensoriais são essenciais para o marketing de alimentos (YILMAZ; AYDENIZ, 2012).

Para a compreensão sobre o comportamento do consumidor, procedimentos de teste sensorial afetivo são usados. O principal objetivo dos testes afetivos é avaliar as respostas pessoais apresentadas por potenciais clientes de produtos. Normalmente, testes de aceitação e preferência são realizados através de várias técnicas (YILMAZ; AYDENIZ, 2012). Entre outros, a escala hedônica de nove pontos é uma técnica comum usada para testes de consumidor (MEILGAARD; CIVILLE; CARR, 2007).

Tão simples quanto a seguinte regra de mercado pode parecer, se os consumidores não gostam da aparência, sabor ou textura de um determinado produto alimentar, não o comprarão. Portanto, a experiência sensorial global resultante é crucial para o sucesso comercial de produtos alimentícios (SIRANGELO, 2019).

A avaliação sensorial pode ser realizada através de testes objetivos e subjetivos. A primeira análise gera tanta informação neutra quanto possível, idealmente comparáveis aos dados processados por meio de produtos químicos ou instrumentação física. Testes subjetivos, em vez disso, baseiam-se nas impressões pessoais, como a preferência final dos consumidores pelo produto considerado (SIRANGELO, 2019).

Quando aplicada corretamente, a avaliação sensorial permite compreensão e controle dos atributos-chave para o sucesso de produtos alimentícios e bebidas no mercado (FRANCES, 2014), fornecendo dados sobre os consumidores, atitudes e percepções para a indústria de alimentos (SIRANGELO, 2019).

O sabor é um dos atributos de qualidade importantes que determinam a aceitação do consumidor e o faz repetir a compra de um produto alimentar. Isto tem a contribuição de vários componentes ativos de odor, sabor reativo e químico.

Embora o sabor seja um dos mais importantes atributos sensoriais de alimentos, outras características e parâmetros sensoriais como aparência (por exemplo a cor), e a textura ou consistência, também são importantes na percepção dos consumidores sobre os alimentos (ONG; LIU, 2011).

A aceitabilidade dos alimentos é um fator importante a ser considerado no comportamento do consumidor. Assim, a análise sensorial é uma ciência que mede, analisa e interpreta as reações das pessoas aos produtos percebidos pelos sentidos. Por meio dessa metodologia é possível determinar se as diferenças de produto são percebidas, a base para as diferenças e se um produto é mais apreciado do que outro, e o valor dessa ciência está no uso de um número limitado de consumidores para tomar decisões, que pode ser extrapolado para populações maiores com uma certa confiança. Esse conceito significa que os sujeitos são representativos da população consumidora para a qual o produto se destina e possuem as habilidades sensoriais necessárias (STONE, 2018).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 FERMENTAÇÃO LÁCTEA E CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DAS BEBIDAS FERMENTADAS A BASE DE EXTRATO DE ARROZ

A fermentação láctea e a caracterização físico-química das bebidas fermentadas a base de extrato de arroz foram realizadas no Laboratório de Laticínios da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, *campus* de Medianeira - PR. Utilizou-se na inoculação os micro-organismos *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus thermophilus* e *Bifidobacterium*. Estes micro-organismos constituem os fermentos lácteos probióticos denominados de SAB (*Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium*), de BLC (*Bifidobacterium lactis*) e La (*L. acidophilus*) juntamente com o extrato solúvel de arroz (25%, m/v), adoçado com diferentes tipos de substratos como sacarose, glicose e mel na proporção de 10 % (m/v). A adição destes serviu também para promover o crescimento dos micro-organismos. Sendo assim, as nove formulações elaboradas são descritas na Tabela 1.

Tabela 1- Definição das formulações das bebidas fermentadas a base de extrato de arroz

Formulações	Reconstituição do Extrato de Arroz (% , m/v)	Tipo de açúcar (% , m/v)	*Inóculo
A1	25	Glicose (10)	La
A2	25	Glicose (10)	BLC
A3	25	Glicose (10)	SAB
A4	25	Sacarose (10)	La
A5	25	Sacarose (10)	BLC
A6	25	Sacarose (10)	SAB
A7	25	Mel (10)	La
A8	25	Mel (10)	BLC
A9	25	Mel (10)	SAB

*SAB(440) = cultura mista composta por *Streptococcus thermophilus* com *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium lactis*; BLC = cultura pura composta por *Bifidobacterium lactis*; La = *Lactobacillus acidophilus*.

Para a elaboração das nove formulações, primeiramente foi obtido o extrato de arroz através da quebra do grão de arroz do tipo “branco” fazendo-se uso de

liquidificador industrial (M Vithory, Modelo TR030), conforme descrito na figura 04. Os ingredientes (extrato de arroz e açúcares) foram pesados separadamente e o arroz foi reconstituído e homogeneizado em liquidificador industrial, sendo pasteurizado separadamente, utilizando-se o binômio de Davídek et al (1990) de 75-85 °C/16-18s. Em seguida, o extrato reconstituído foi resfriado em banho de gelo até alcançar a temperatura de 42 °C para a adição do fermento lácteo e da cultura probiótica. A fermentação foi realizada em fermenteira industrial de marca Brasholanda ® modelo 2 x 25, série G, com aquecimento em banho-maria, a uma temperatura controlada de 41 °C, até se alcançar o pH próximo de 4,8, utilizando-se balões volumétricos com a capacidade de 500 mL. Após se atingir o ponto ideal determinado pelo pH, efetuou-se o resfriamento até aproximadamente 10 °C, para interromper a atividade fermentativa das formulações evitando-se a formação de sabor ácido.

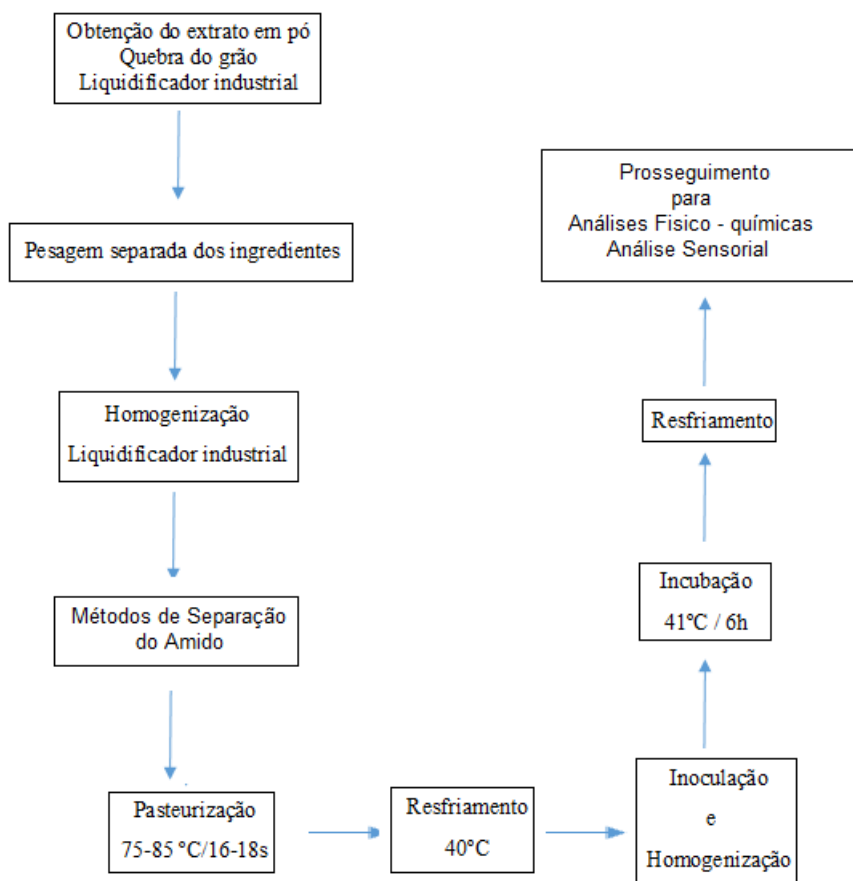


Figura 04- Fluxograma de elaboração das formulações de bebidas fermentadas de extrato de arroz

Fonte: Autoria Própria

4.2 ANÁLISE COMPARATIVA DE BEBIDAS PROBIÓTICAS FORMULADAS A BASE DE EXTRATO DE ARROZ E DE EXTRATO DE SOJA

Para a elaboração das bebidas a base de extrato de arroz foi utilizado o procedimento descrito no tópico 4.1. Para a elaboração das bebidas à base de extrato de soja (obtida em comércio local), aplicou-se o procedimento descrito no item 4.1, mas sem a realização da etapa da quebra do grão, pois o extrato hidrossolúvel empregado foi adquirido pronto, iniciando a sua utilização a partir da reconstituição na proporção de 10 % (m/v). Desta forma, as formulações elaboradas encontram-se detalhadas na Tabela 2.

Tabela 2- Definição das formulações das bebidas fermentadas a base de extrato de soja

Formulações	Extrato base	Reconstituição do Extrato de Soja (% , m/v)	Tipo de açúcar (% ,m/v)	Inóculo
A10	Soja	10	Glicose (10)	<i>La</i>
A11	Soja	10	Glicose (10)	<i>BLC</i>
A12	Soja	10	Glicose (10)	<i>SAB</i>
A13	Soja	10	Sacarose (10)	<i>La</i>
A14	Soja	10	Sacarose (10)	<i>BLC</i>
A15	Soja	10	Sacarose (10)	<i>SAB</i>
A16	Soja	10	Mel (10)	<i>La</i>
A17	Soja	10	Mel (10)	<i>BLC</i>
A18	Soja	10	Mel (10)	<i>SAB</i>

*SAB(440) = cultura mista composta por *Streptococcus thermophilus* com *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium lactis*; BLC = cultura pura composta por *Bifidobacterium lactis*; La = *Lactobacillus acidophilus*

4.3. ELABORAÇÃO DE BEBIDAS PROBIÓTICAS A BASE DE EXTRATO DE ARROZ EM DIFERENTES PROPORÇÕES E COM A UTILIZAÇÃO DE MEL COMO SUBSTRATO

Nesta etapa, realizou-se a elaboração das formulações das bebidas perfazendo a diferenciação no percentual de arroz utilizado (proporção de 8, 10, 12 e 14% (m/v)) tanto quanto no percentual de mel como substrato para o prosseguimento à fermentação láctica (proporção de 8 e 12,0 % (m/v)). Para esta etapa, almejou-se analisar as formulações quanto ao desempenho que assumiriam no processo de fermentação, assim como na análise de cor e percentual de sólidos solúveis. Para o processo de fermentação utilizou-se na inoculação os microorganismos *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus thermophilus* e *Bifidunbacterium lactis* (SAB) e as formulações elaboradas encontram-se descritas na Tabela 3.

Tabela 3- Formulações definidas para o estudo da proporção de extrato de arroz e de mel (% , m/v) nas bebidas fermentadas de extrato de arroz (inóculo SAB)

Formulações	Extrato de Arroz (%, m/v)	Mel (%, m/v)
A19	8	8
A20	8	12
A21	10	8
A22	10	12
A23	12	8
A24	12	12
A25	14	8
A26	14	12

Para o preparo das formulações das bebidas fermentadas de arroz (BFA), utilizou-se arroz integral e mel, ambos obtidos em comércio local. Nesta etapa do trabalho fez-se a substituição do arroz branco pelo integral devido a contribuição de fibras do último que poderia auxiliar no desenvolvimento de uma bebida simbiótica, agregando a característica funcional. Como fermento lácteo utilizou-se a cultura (SAB 440) composta por *Streptococcus thermophilus* com *L. acidophilus* e Bifidobactérias, cultura esta adquirida da indústria. Para a elaboração das oito

formulações descritas na Tabela 3 realizaram-se as etapas apresentadas no fluxograma mostrado na Figura 1.

Durante o processo de fermentação, realizaram-se análises de pH e de acidez, assim como foram realizadas as análises de cor e de sólidos solúveis das bebidas formuladas conforme descrito no item 4.5.

Em seguida, considerando a formulação A26 como a melhor proporção de mel e de extrato de arroz, descrita na tabela 3, prosseguiu-se o estudo almejando analisar as formulações utilizando diferentes métodos de pausterização por aquecimento e de separação para a retenção do amido presente no extrato de arroz. O restante do processo de obtenção das bebidas fermentadas foi realizado de acordo com o fluxograma apresentado na Figura 4.

4.3.1 Métodos De Separação

Separação por Peneira

Após o processo de reconstituição e homogeneização da mistura obtida para a composição da formulação A26, utilizou-se a peneira com tamanho granulométrico de 2,4mm para fazer a retenção do excesso de amido do sobrenadante.

Decantação seguida de separação por peneira

O uso deste método consistiu no armazenamento da mistura obtida para a formulação A26 em refrigeração por um período de 15 minutos para promover a deposição do excedente do amido no fundo do recipiente, para na sequência realizar o processo de separação por Peneira conforme descrito no tópico anterior.

Diluição

Neste método utilizou-se a diluição em água da mistura obtida para a formulação A26 na proporção de 5:1 (v/v) na tentativa de diminuir a participação do amido na mistura e tentar não afetar a viscosidade da formulação.

Filtração

Este método consistiu no uso de filtros de algodão como material semipermeável para a retenção do excesso de amido do sobrenadante presente na mistura obtida para formulação A26.

4.3.2 Métodos De Pasteurização

Aquecimento Direto

O uso deste método fez a utilização de um recipiente de aço inox contendo a mistura da formulação A26, após diferentes processos de separação do amido (Formulações A27 a A30 do Quadro 1) o qual foi submetido ao aquecimento direto da chama do fogão, conforme o binômio de Davídek et al (1990) de 75-85 °C/16-18s;

Aquecimento Indireto

O uso deste método fez a utilização de um recipiente de aço inox contendo mistura da formulação A26, após diferentes processos de separação do amido (Formulações A31 a A34 do Quadro 1) com preparação para aquecimento em banho-maria, conforme o binômio de Davídek et al (1990) de 75-85 °C/16-18s;

Tendo a preocupação nesta etapa referente a elaboração da mistura base, onde as formulações instituíram-se nos diferentes meios de pasteurização por aquecimento e de métodos de separação, realizou-se um estudo físico-químico das

bebidas formuladas (A27 a A34) analisando-se os parâmetros de sólidos totais, viscosidade, análise de cor e °Brix conforme descrito no item 4.5.

As formulações em estudo variando os métodos de aquecimento e os métodos de separação estão descritas conforme o quadro 1.

Quadro 1- Formulações estabelecidas para o estudo de métodos de separação e de pasteurização por aquecimento

Formulações	Métodos de Separação	Métodos de Pasteurização
A27	Separação por Peneira	Aquecimento direto
A28	Decantação seguida de separação por peneira	Aquecimento direto
A29	Diluição	Aquecimento direto
A30	Filtração	Aquecimento direto
A31	Separação por Peneira	Aquecimento indireto
A32	Decantação seguida de separação por peneira	Aquecimento indireto
A33	Diluição	Aquecimento indireto
A34	Filtração	Aquecimento indireto

Fonte: Autoria Própria

4.4 ELABORAÇÃO DE BEBIDAS PROBIÓTICAS A BASE DE EXTRATO DE ARROZ COM A UTILIZAÇÃO DE ADOÇANTE COMO SUBSTRATO

Nesta etapa, realizou-se a elaboração das formulações das bebidas perfazendo o uso do mesmo percentual de arroz utilizado (proporção de 14% (m/v)) tanto quanto no percentual de substrato para o prosseguimento à fermentação láctica (proporção de 12% (m/v)). Mas para tanto, utilizou-se adoçantes em substituição ao mel tendo o intuito de elaboração de bebidas dietéticas. Para esta etapa, almejou-se analisar as formulações quanto ao desempenho que assumiriam no processo de fermentação, perfazendo o uso de adoçantes como stévia, sucralose e sacarina. Para o processo de fermentação utilizou-se na inoculação os micro-organismos *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus thermophilus* e *Bifidunbacterium* e as formulações elaboradas encontram-se descritas na Tabela 4, tendo a amostra A44

como controle sem a adição de adoçante para comparativo com as demais formulações.

Tabela 4- Definição das formulações das bebidas fermentadas a base de extrato de arroz com adoçantes

Formulações	Tipo de adoçante
A35	Sacarina 0,5% (v/v)
A36	Estévia 0,5% (v/v)
A37	Sucralose 0,38% (v/v)
A38	0,25% (v/v) Sacarinae 0,25% (v/v) Estévia
A39	0,25% (v/v) Estévia e 0,19% (v/v) Sucralose
A40	0,19% (v/v) Sucralose e 0,25% (v/v) Sacarina
A41	0,165% (v/v) Estévia, 0,165% (v/v) Sacarina e 0,13% (v/v) Sucralose
A42	0,165% (v/v) Sacarina, 0,13% (v/v) Sucralose e 0,165% (v/v) Estévia
A43	0,13% (v/v) Sucralose, 0,165% (v/v) Estévia e 0,165% (v/v) Sacarina
A44	Sem adoçante

*

formulações A35 a A44 utilizaram 14% (m/v) em reconstituição de arroz integral

Fonte: Autoria Própria:

4.5 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

A análise da acidez titulável foi realizada durante o processo fermentativo para acompanhar a produção de ácido láctico decorrente do desenvolvimento dos inóculos respectivos de acordo com o método 427/IV descrito nos Métodos Físico-Químicos de Análise de Alimentos (IAL, 2008). Outros parâmetros físico-químicos como teor de cinzas (método 437/IV), teor de proteínas (método 036/IV), teor de lipídeos (método 433/IV) e o valor de pH (método 417/IV) foram realizados na bebida fermentada (Tabelas 1 e 2) de acordo com as metodologias descritas nos Métodos Físico-Químicos de Análise de Alimentos (IAL, 2008) para avaliar sua qualidade físico-química. O teor de carboidratos foi determinado por diferença dos constituintes da composição centesimal (umidade, cinzas, lipídeos e proteínas), de acordo com as recomendações da AOAC (2005). Para tanto, o valor de umidade foi obtido através da diferença de valor obtido pela análise de sólidos totais, segundo o método nº

429/IV descrito nos Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos (2008). Para a análise de cor utilizou-se o colorímetro portátil (Minolta CR400), com fonte de luz D65, na escala de L*, -a*, +b* do sistema CIELab, a 25 °C, (DE MAGALHÃES; TORRE 2018). A calibração do aparelho foi realizada seguindo as instruções do fabricante. Para a análise da viscosidade das formulações, utilizou-se o método descrito por Fox, McDonald e Pritchard (2006) através da análise da viscosidade cinemática dinâmica. Para a análise de sólidos solúveis totais (°Brix), utilizou-se a metodologia presente na pesquisa de Cavalcanti et al. (2006). A quantificação de minerais como Fe, Ca e Mg foi realizada por meio da análise de espectrometria de absorção atômica com chama (F AAS), sendo, o elemento K avaliado por fotometria de chama e o elemento P determinado por colorimetria, segundo a AOAC (1990).

4.5.1 Análise Estatística

Os resultados das análises físico-químicas foram expressos como médias e desvios padrão. Uma análise de variância (ANOVA) de um fator no nível de 95% de confiança foi realizada para verificar se havia diferenças significativas nas características físico-químicas entre as formulações desenvolvidas nas diferentes etapas do desenvolvimento de uma bebida probiótica fermentada a base de extrato de arroz utilizando a estratégia univariada.

4.6 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

Foram realizadas as análises de contagem de bactérias lácticas presentes em cada formulação, desenvolvida com o intuito de determinar sua característica probiótica, e ao mesmo tempo acompanhar a evolução do crescimento das bactérias (*Lactobacillus casei*, *acidophilus* *Streptococcus thermophilus* e *Bifidunbacterium*) de acordo com a metodologia descrita pelo IDF (1999).

Para a contagem de bactérias lácticas, o método em si consiste no plaqueamento em profundidade com o uso do meio Man, Rogosa, Sharpe (MRS),

seguido de enriquecimento com adição de solução de maltose e crescimento em anaerobiose a 37 °C por 72 horas, segundo preconizado por IDF (1999). Desta forma, as análises de contagem de bactérias acidoláticas foram realizadas nas etapas de caracterização das bebidas, tanto quanto, no estudo das bebidas no período logo após a fermentação e após 7, 14, 21 e 28 dias de armazenamento sob refrigeração.

4.7 DELINEAMENTO DAS MISTURAS

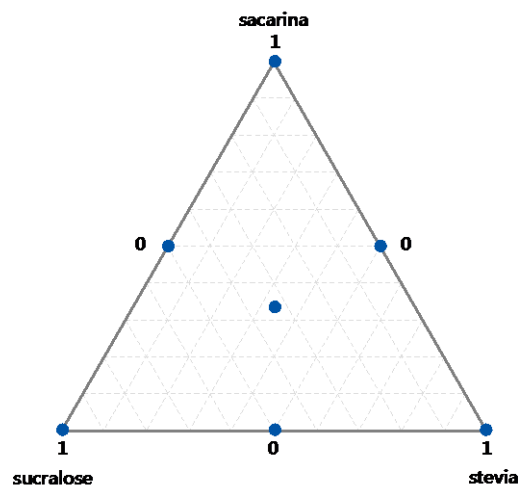
Para estabelecer qual a melhor formulação de bebida fermentada a base de extrato de arroz adicionado de adoçantes foi utilizada uma estratégia multivariada que fez uso da técnica de metodologia de superfície de resposta conhecida como planejamento de misturas. Toda a análise de dados foi realizada no nível de 95% de confiança fazendo uso do software estatístico Minitab v. 16.2.2 (Minitab Inc., USA, 2010).

4.7.1 Otimização da Formulação de uma Bebida Fermentada a Base de Extrato de Arroz por Planejamento de Misturas

A otimização da formulação de bebida fermentada a base de extrato de arroz considerando a adição de adoçantes foi realizada utilizando um planejamento de misturas com três componentes (estévia, sacarina e sucralose). O planejamento de misturas é uma ferramenta estatística que possibilita a otimização da proporção ideal dos componentes da mistura em relação a determinadas respostas, com um número reduzido de experimentos (BARROS NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2010). Nesse estudo foi empregado o planejamento de misturas simplex fornecido pelo software Minitab, em que o diagrama do modelo pode ser visualizado na Figura 5. O intuito do estudo foi avaliar a adição de três diferentes adoçantes as formulações de

bebida fermentada a base de extrato de arroz propostas pelo planejamento de misturas e observar como estas formulações interferem nos atributos (Impressão Global, Cor, Aparência, Aroma, Sabor, Doçura e Consistência) obtidos em testes de aceitação sensorial com um grupo de 120 provadores não treinados utilizando a escala hedônica conforme descrito no item 4.8. Os 8 ensaios do planejamento, bem como a composição de cada ensaio, podem ser visualizados na Tabela 4. Foram realizadas duas réplicas no ponto central (ensaios 7 e 8) para estimar o erro experimental.

Figura 5- Planejamento de misturas simplex, com 8 experimentos aplicado na otimização na formulação de leite fermentado a base de extrato de arroz adicionado de adoçantes



Aos resultados da análise sensorial, considerando-se a soma das notas dos 120 provadores como resposta, foi aplicada uma análise de regressão linear no nível de 95% de confiança para verificar qual modelo (linear, quadrático e especial cúbico) apresenta melhor ajuste aos dados. Uma Análise da Variância (ANOVA) foi realizada para testar a falta de ajuste e significância dos modelos. Todas as análises estatísticas foram realizadas no software Minitab for Windows versão 16.2.2. (Minitab Inc., USA, 2010).

4.8 ANÁLISE SENSORIAL

A análise sensorial das formulações de bebidas fermentadas a base de extrato de arroz integral, foi realizada em duas etapas, em dias diferentes, no Laboratório de Análise Sensorial da Universidade Tecnológica Federal do Paraná campus Medianeira, após as análises microbiológicas a fim de garantir a segurança alimentar dos avaliadores. A análise sensorial foi conduzida por teste de aceitação mediante a escala hedônica estruturada de nove pontos (INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION, 1987; MININ, 2006; FARIA; YOTSUYANAGI, 2002; MEILGAARD; CIVILLE; CARR, 2007; DUTCOSKY 2013), utilizando-se para codificação das amostras a tabela de números aleatórios, mediante o Delineamento de Blocos Completos Casualizados – DBC de acordo com Ferreira *et al.* (2000). Para a realização deste teste, foram necessários 240 avaliadores não treinados do quadro de docentes, técnicos-administrativos, funcionários terceirizados e discentes dos cursos de Tecnologia de Alimentos, Tecnologia Ambiental, Desenvolvimento de Sistemas, Engenharia de Alimentos, Engenharia de produção, Engenharia Elétrica, PROFOP, Engenharia Ambiental, Licenciatura em Química, Mestrado em Tecnologia de Alimentos, Mestrado em Tecnologias Computacionais para o Agronegócio, Mestrado em Tecnologias Ambientais da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR) campus Medianeira. Os provadores tinham idade acima de 18 anos, eram de ambos os sexos, e distribuiu-se 120 consumidores em cada uma das duas etapas, seguindo a recomendação de Hough et al. (2006), para determinação do número de avaliadores não treinados no teste de aceitabilidade.

Na primeira etapa foram avaliadas 9 amostras de bebida fermentada probiótica de arroz integral (Formulações A35 a A43) conforme descritas na Tabela 4. Na segunda etapa, foram avaliadas 5 amostras, sendo uma formulação de bebida fermentada probiótica de arroz integral com mel (A45), uma formulação de bebida probiótica de arroz integral com adoçante de melhor aceitação (entre as formulações A35 a A43) definidas na primeira etapa passando a ser a formulação

A46, uma formulação de bebida probiótica de arroz definida pelo planejamento de misturas (A47), juntamente com a amostra A48 (leite fermentado da marca A comercializada em nível regional) e a amostra A49 (leite fermentado da marca B comercializada em nível nacional).

Desta forma, determinou-se a formulação de bebidas fermentadas a base de extrato de arroz com propriedades funcionais de maior aceitabilidade.

As amostras de bebidas fermentadas foram servidas resfriadas a 7°C de forma aleatória em copos brancos descartáveis de 50mL, codificadas com algarismos de três dígitos. Água ficou à disposição dos avaliadores não treinados para enxágue do palato, entre a degustação das amostras, visando evitar possíveis interferências de gostos residuais.

O teste de escala hedônica estruturada de nove pontos, utilizado nas duas etapas de análise sensorial, avaliou a preferência nos atributos de cor, sabor, aroma, aparência, variando de 1 = “Desgostei muitíssimo” a 9 = “Gostei muitíssimo” (ABNT, 1999), conforme fichas apresentadas no APÊNDICE B e no APÊNDICE C.

4.8.1 Análise Estatística

A análise estatística dos resultados da análise sensorial foi realizada por meio da análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey no nível de significância de 5% (BARBETTA, 2002). A análise de componentes principais (PCA), segundo Valentin (2012) também foi aplicada, utilizando o programa Statistic 7, Statsoft (2006), mediante os dados obtidos na primeira etapa e segunda etapas da avaliação sensorial. Na segunda etapa foi aplicada a análise estatística de otimização mediante o planejamento de misturas Simplex, com o uso do Software Minitab (BARROS NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2001).

4.8.2 Procedimentos Éticos

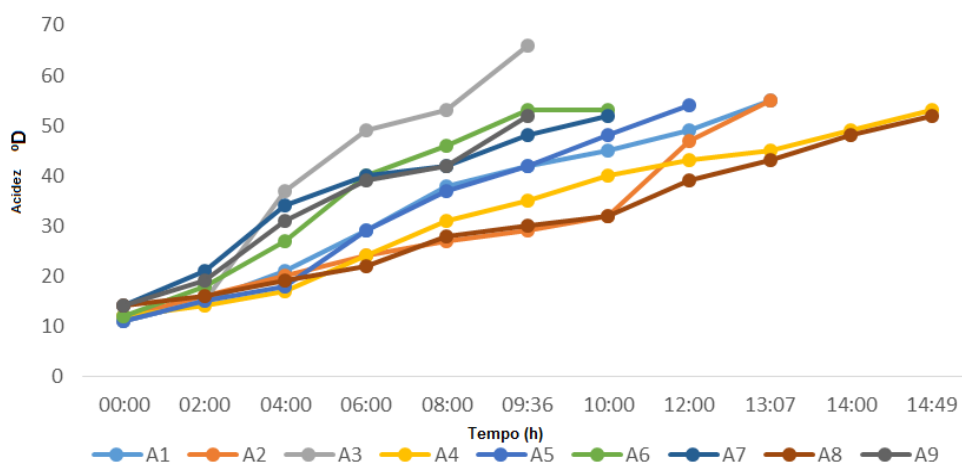
O Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Tecnologia do Paraná-UTFPR aprovou o projeto de pesquisa sob o número 3.264.356 / 2019, conforme Resolução Brasileira nº. 466/2012 e suas complementares. Os voluntários assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido (TCE), conforme os preceitos éticos estabelecidos pela Resolução 466/2012.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 ESTUDO DA VIABILIDADE DO EXTRATO DE ARROZ COMO MEIO PARA O DESENVOLVIMENTO DE CULTURAS LÁTICAS

Realizada a etapa de fermentação das bebidas à base de extrato de arroz (A1 a A9) e de extrato de soja (A10 a A18), realizou-se um acompanhamento do processo fermentativo destas avaliando-se a evolução da acidez das formulações que perfizeram o uso de inóculos diferentes, mas que tem em comum o uso do extrato de arroz e do extrato de soja (Figuras 6 e 7).

Figura 6- Tempo de fermentação das bebidas formuladas com o extrato de arroz.



A1(La/glicose); A2(BLC/glicose); A3(SAB/glicose); A4(La/sacarose); A5(BLC/sacarose); A6(SAB/sacarose); A7(La/mel); A8(BLC/mel); A9(SAB/mel);

Fonte: Autoria Própria

Em uma análise do comportamento láctico da cultura em meio aos diferentes açúcares, observou-se que o *L. acidophilus* portou-se de forma mais efetiva quando em uso do extrato de arroz suplementado por mel como fonte de açúcar (A7), frente às outras formulações em uso desta cultura (A1 e A4), oportunizando à uma fermentação mais rápida (aproximadamente 12 horas). O tempo de fermentação sucedeu-se até alcançar um valor de pH igual a 4,8 sendo este o pH controle do

processo fermentativo. Para as formulações que perfizeram o uso do inóculo *BLC*, observou-se comportamentos discrepantes. Com o uso da sacarose, este tipo de inóculo (formulação A5), demonstrou maior rapidez no processo fermentativo (aproximadamente 12 horas) quando foi utilizado o extrato de arroz como base para a elaboração da bebida fermentada. Entretanto, este inóculo em presença de mel como substrato, mostrou menor afinidade ao desenvolvimento fermentativo, prolongando para aproximadamente 15 horas o processo de fermentação.

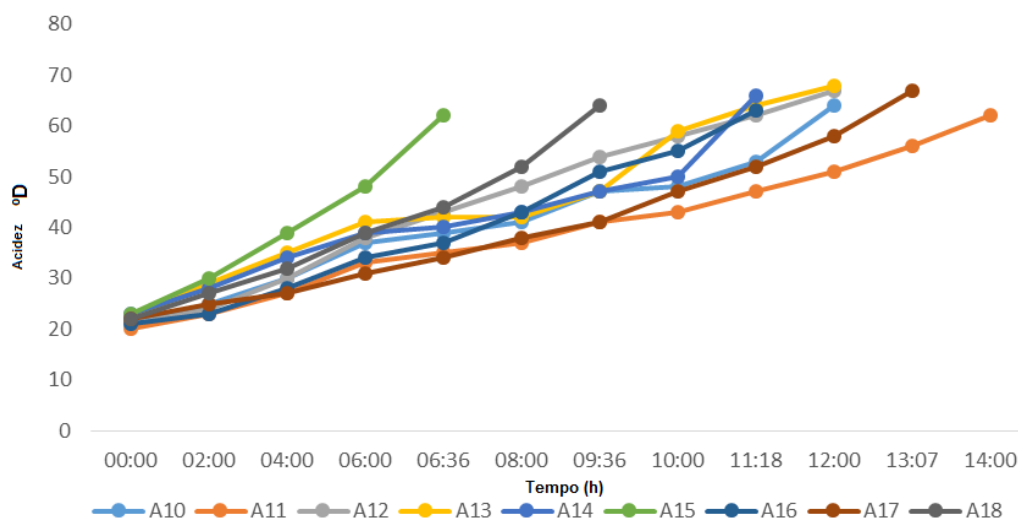
Para o uso do inóculo *SAB*, observou-se que os resultados quanto ao tempo de fermentação foram menores, pois em meio ao extrato de arroz, verificou-se que o uso do açúcar de maior preferência visando à redução do período fermentativo foi a glicose (A3) e o mel (A9), que apresentaram resultados semelhantes, tendo o período de fermentação aproximado de 9 horas. Também se deve frisar que a cultura pura composta pelo *L acidophilus* presente na formulação A7, apresentou o mesmo tempo de fermentação quando comparado a formulação A6 que é composta pelo fermento lácteo misto (*SAB*). A este resultado, ressalta-se que a formulação A7 foi suplementada por mel, e a formulação A6 foi adicionada de sacarose. Entretanto, a combinação do *L acidophilus* com mel (presente na formulação A7) conferiu uma estimativa fermentativa em questão de tempo, igual a do comportamento fermentativo de uma cultura mista.

A cultura láctea mista em comparativo a culturas lácteas puras, sempre apresentará menor tempo de fermentação por esta ser composta de microrganismos (de dois a três tipos diferentes) que atuam em faixas de pHs diferentes (LUIZ et al., 2017; SIEUWERTS et al., 2010).

De forma geral, em uma investigação comparando todas as bebidas formuladas a base de extrato de arroz (A1 a A9, Tabela 1) e ponderando-se somente na discrepância das culturas lácticas, constatou-se que a cultura *SAB* procede de forma mais acentuada na redução do período de fermentação láctica, tendo destaque para as formulações A3, A6 e A9.

Em relação as formulações que perfizeram uso da mistura base de soja, os resultados obtidos são ilustrados na figura 7.

Figura 7 - Tempo de fermentação das bebidas formuladas com extrato de soja.



A10(La/glicose); A11(BLC/glicose); A12(SAB/glicose); A13(La/sacarose); A14(BLC/sacarose); A15(SAB/sacarose); A16(La/mel); A17(BLC/mel); A18(SAB/mel).

Fonte: Autoria Própria

Para uma análise comparativa entre as formulações que fizeram uso de inóculos diferentes, também diferenciadas quanto ao uso de glicose, sacarose e mel, mas mantendo-se a mistura base do extrato de soja, percebeu-se que a formulação (A15) apresentou um menor tempo de fermentação. Desta forma, sabendo que a formulação que apresentou menor tempo de fermentação foi a que esteve presente o inóculo SAB juntamente ao substrato sacarose, procurou-se observar o comportamento deste inóculo frente ao substrato glicose (A12). De acordo com a figura 6, constatou-se que esta formulação apresentou maior tempo de fermentação (aproximadamente 12 horas) quando comparada com a formulação que fez uso do mel como substrato (A18 com aproximadamente 9 horas).

Confrontando a cinética do processo fermentativo das culturas lácticas aos suplementos de açúcares utilizados, notou-se que ambas as espécies lácticas em meio ao extrato de soja constituíram interesse à sacarose, validando uma redução ao tempo do processo de fermentação (A13, A14 e A15).

Para uma análise visando a estimativa de fermentação, em acompanhamento as figuras 6 e 7, pode-se perceber que entre as bebidas formuladas houve diferença no tempo de fermentação, pois as bebidas A3, A6, A9, A15 e A18 destacaram-se por apresentarem menor tempo de fermentação. Para estas bebidas agrega-se a presença do mesmo inóculo o qual é composto por um

fermento misto *SAB*, que contêm os microorganismos *Streptococcus thermophilus* com *L. acidophilus* e Bifidobactérias. Sendo assim, os microrganismos nesta situação trabalham no processo fermentativo em simbiose, tendo um pH ótimo de crescimento individual, mas ao mesmo tempo contribuindo para a outra cultura iniciar a fermentação.

Segundo Sieuwerts et al. (2010), a presença do micro-organismo *Streptococcus thermophilus* favorece o processo por se tratar de uma cultura iniciadora de leites fermentados e iogurtes. Com isso, o processo de fermentação inicia-se com maior rapidez, continuando, neste caso, com os inóculos *L. acidophilus* e *Bifidobactérias* nos quais o pH ótimo, para o início da atividade do Lactobacilos é entre 5,5 a 6,2 segundo Luiz et al., (2017).

As bebidas (A4, A8 e A11) apresentaram tempo de fermentação maior (até aproximadamente 15 horas), por se tratar de culturas puras, que apresentam pH inicial de crescimento diferente da bebida no estado inicial. Outro fator que pode contribuir para a diminuição do tempo de fermentação de ambos as bebidas formuladas é a suplementação de açúcares e mel. Desta forma, Gašić et al. (2015), Biluca et al. (2016), Se et al. (2018), Mahmoodi-Khaledi et al (2017) e De-Melo et al. (2018) afirmam que basicamente os carboidratos fermentescíveis em predominância presentes no mel constituem-se na proporção de 34 % de glicose e 41 % de frutose, mas o perfil de carboidratos no mel pode atender a aspectos qualitativos como uma espécie de “impressão digital”. Já Almeida (2002), Almeida-Anacleto (2007), Arruda (2003) e Sodre et al (2007) corroboram afirmando que os principais açúcares encontrados no mel se limitam a glicose, sacarose, frutose e maltose. Ainda em conformidade, Ajlouni e Sujirapinyokul (2010), Arruda (2003), Mendes et al (2009) e Sodre et al (2005) ressaltam que em frações dominantes, a glicose e a frutose encontram-se nas proporções de 85 a 95%. De forma geral, esses açúcares presentes no mel também são uma fonte de substrato biodisponível ao microrganismo para promover a fermentação láctica, complementando a mistura de base de arroz que possui carboidratos, mas em grande parte na forma de polímeros (amido).

Há cinética do processo fermentativo das culturas probióticas em meio ao extrato de arroz como base das formulações, justifica-se a presença de carboidratos. Segundo Wani et al. (2012), os carboidratos compõem-se como o principal

constituente do arroz, sendo que destes, o amido representa cerca de 80 % do peso seco do grão. Os outros 20% são correspondentes a açúcares livres e fibras. Entretanto, Van Hung *et al.* (2016) acentuam que a concentração de amido no arroz integral pode variar devido a fatores genéticos ambientais. De acordo com Frei *et al.* (2003), essa alternância pode ser de 72 a 82% da sua representação justificado por diferentes cultivares.

Os açúcares livres no arroz localizam-se principalmente nas camadas externas do grão, onde a sua disponibilidade em questão de proporção pode ser afetada de acordo com o beneficiamento que o grão pode vir a sofrer.

Nos valores de pH e de acidez livre, os resultados diferenciados entre as bebidas formuladas justificam-se em função do desenvolvimento dos inóculos utilizados, além de culturas diferentes e substratos diferentes, e essas diferenças foram significativas no nível de 95 % de confiança. As medidas de acidez foram realizadas nos mesmos tempos para as bebidas formuladas com extratos de arroz e de soja, mas o desenvolvimento da mesma cultura nas bebidas de mistura base diferente, podem adotar caminhos de desenvolvimento também distintos. Os valores de pH obtidos referem-se ao ponto ideal do término do processo de fermentação (próximo de 4,8). Nesta situação, os valores de pH foram adotados simplesmente como um fator para estabelecer o término do processo fermentativo, tendo como objetivo alcançar a proximidade do pH referência de 4,8.

Para que a bebida possua o caráter probiótico, de acordo com Ostlie, Helland e Narvhus (2003), deve apresentar uma contagem de cultura probiótica acima de 10^6 UFC/mL ou 6log UFC/mL, conforme os dados apresentados na tabela 5.

Tabela 5- Contagem de bactérias acidoláticas nas bebidas formuladas a base de extratos de arroz e de soja

Bebida a base de extrato de arroz	(LOG UFC/ mL)	Bebida a base de extrato de soja	(LOG UFC/ mL)
A1	1,01E+10	A10	3,43E+13
A2	1,07E+08	A11	2,20E+13
A3	1,64E+11	A12	1,33E+11
A4	1,56E+11	A13	4,00E+13
A5	1,03E+09	A14	2,03E+13
A6	1,38E+10	A15	8,13E+13
A7	4,30E+09	A16	5,70E+12
A8	2,47E+08	A17	3,64E+12
A9	1,68E+11	A18	2,76E+13

Fonte: Autoria Própria

Entre as bebidas formuladas foram evidenciadas diferenças significativas ($p < 0,05$) com relação à contagem de bactérias acidoláticas. Apesar desse resultado todas as bebidas formuladas podem ser classificadas como probióticas considerando-se a contagem de bactérias acidoláticas. Esta diferença deve-se ao fato de o microrganismo poder assumir comportamento diferenciado em relação ao meio que está presente, tendo diferentes substratos disponíveis ao seu desenvolvimento, assim como os fermentos lácteos mistos apresentarem culturas lácticas diferentes, podendo contabilizar maior contagem probiótica.

5.2 ANÁLISE DO DESENVOLVIMENTO E ATUAÇÃO DAS CULTURAS LÁTICAS DIFERENTES EM MEIO DE EXTRATO DE ARROZ

Para que a mistura base apresente as características de uma bebida probiótica, primordialmente deve-se analisar o comportamento lácteo da cultura probiótica em meio da base da bebida proponente. Outro fator a ser analisado é o tempo de desenvolvimento do inóculo que deve atingir a contagem mínima de microrganismos para possibilitar caracterizar uma bebida como probiótica.

Na Tabela 6 são apresentadas as características físico-químicas em particular do desenvolvimento das culturas lácticas diferentes em meio de extrato de arroz, tendo por intuito analisar os respectivos parâmetros e avaliar se o extrato de

arroz é uma base vegetal adequada para o desenvolvimento de culturas probióticas na elaboração de bebidas funcionais.

Tabela 6- Características físico-químicas expressas como médias \pm desvios padrão das bebidas formuladas descritas na Tabela 1 em relação a fermentação láctica

Formulações	Contagem de Bactérias Acidoláticas (log)	Acidez (°D)	pH	Tempo de fermentação (minutos)
A1	10,01 \pm 0,09	55 \pm 1,00	4,78 \pm 0,00	787 \pm 0,00
A2	8,07 \pm 0,95	55 \pm 2,64	4,71 \pm 0,00	787 \pm 0,00
A3	11,64 \pm 0,82	55 \pm 2,08	4,56 \pm 0,00	484 \pm 0,00
A4	10,56 \pm 0,67	54 \pm 0,5	4,71 \pm 0,00	890 \pm 0,00
A5	8,90 \pm 1,34	54 \pm 2,00	4,76 \pm 0,00	714 \pm 0,00
A6	10,38 \pm 0,60	53 \pm 2,00	4,67 \pm 0,00	517 \pm 0,00
A7	9,69 \pm 1,38	53 \pm 1,00	4,78 \pm 0,00	577 \pm 0,00
A8	8,37 \pm 0,42	54 \pm 0,00	4,76 \pm 0,00	897 \pm 0,00
A9	10,93 \pm 0,51	55 \pm 2,00	4,65 \pm 0,00	517 \pm 0,00

Fonte: Autoria Própria

Uma mistura base para ser adequada ao desenvolvimento do inóculo probiótico, deve proporcionar o desenvolvimento do mesmo, garantindo uma contagem de bactérias acidoláticas elevada para no decorrer de sua vida de prateleira apresentar contagem igual ou superior a 10^6 UFC/ml, conforme preconizado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BRASIL, 1999). Outro fator importante é em relação ao tempo de fermentação láctea necessária para o desenvolvimento dos inóculos probióticos, devendo assumir o menor tempo possível.

Analisando-se os resultados da Tabela 6 observou-se que todas as formulações, contendo diferentes carboidratos como substrato atingiram o ponto final de fermentação láctica conforme demonstrado pelos valores de acidez e de pH. Segundo Luiz et al. (2017), aos valores de acidez e de pH devem-se a rota bioquímica que proporciona a atividade microbiana probiótica tendo como principal função a produção de ácido láctico, característico nas bebidas probióticas.

Analisando-se o período de fermentação entre as formulações, observou-se que as bebidas A3, A6 e A9 destacaram-se por apresentarem menor tempo de fermentação em minutos. Sendo assim, os micro-organismos nesta situação atuam no processo de fermentação em simbiose, apresentando um pH ótimo de crescimento individual, mas ao mesmo tempo contribuindo para a outra cultura

iniciar a fermentação. Segundo Sieuwerts et al. (2010), a presença do micro-organismo *Streptococcus thermophilus* favorece o processo por se tratar de uma cultura iniciadora de leites fermentados e iogurtes. Com isso, o processo de fermentação inicia-se com maior rapidez, continuando, neste caso, com os inóculos *L. acidophilus* e *Bifidobactéria* nos quais o pH ótimo, para o início da atividade do Lactobacilos é entre 5,5 e 6,2, segundo Luiz et al. (2017).

Ao contrário do observado por Božanić et al. (2008), neste estudo mostrou-se inicialmente que os micro-organismos em questão desempenharam a mesma eficiência quanto ao seu desenvolvimento em substrato diferente da glicose. Souza (2003) ressalta que a frutose é existente em grande parte do mel, apresentando alta higroscopicidade, contribuindo para a doçura do mel.

Ponderando-se sobre os dados obtidos para a contagem de bactérias acidoláticas, observou-se que todos os resultados foram condizentes e satisfatórios quando confrontados com a legislação de leites fermentados segundo Brasil (2007), ao qual preconiza uma contagem de cultura probiótica acima de 10^6 UFC/mL. Para que a bebida possua o caráter probiótico, de acordo com Ostlie, Helland e Narvhus (2003) e Brasil (2007), esta deve apresentar uma contagem de cultura probiótica acima de 10^6 UFC/mL ou $6\log$ UFC/mL. Sendo assim, todas as formulações apresentaram conformidade com a legislação vigente, podendo ser consideradas probióticas. Segundo Carvalho et al. (2017), em uma análise das bebidas lácteas probióticas disponíveis em mercados da cidade de Sete Lagoas-MG, constatou-se que a contagem de bactérias acidoláticas (BAL) apresentaram valores entre $\log 7,40$ à $\log 10,82$ UFC/mL.

Em comparativo à Carvalho et al. (2017), neste estudo pode-se observar que ambas as amostras apresentaram contagens favoráveis de BAL, no qual as amostras A3, A6 e A9, destacaram-se por apresentarem as contagens mais elevadas. Caldeira et al (2018) realizou um estudo fermentativo lácteo para a elaboração de bio iogurtes suplementados por mel das espécies *Jataí* e *Apis*, perfazendo o uso de culturas lácteas da mesma espécie que esta pesquisa (*Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobactérias*). Em relação ao estudo de Caldeira e colaboradores constatou-se contagens de BAL superiores as observadas por estes autores. Sendo assim, dentre as culturas utilizadas no processo de fermentação, a *SAB* demonstrou destaque no quesito de tempo de fermentação, apresentando os

menores tempos de atuação, evidenciando as formulações A3, A6 e A9. Do ponto de vista industrial, essa característica é desejável por diminuir o tempo de processo e conseqüentemente o custo agregado ao produto resultante. De maneira geral todas as formulações (A1 a A9) apresentaram uma fermentação láctica adequada enquadrando-se na funcionalidade de probiótica, e poderiam ser utilizadas e desenvolvidas como bebidas fermentadas funcionais. Mesmo algumas se destacando, a caracterização físico-química foi realizada para todas as nove formulações.

5.3 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DAS BEBIDAS FORMULADAS COM BASE DE EXTRATO DE ARROZ

As formulações descritas na Tabela 1 (A1 a A9) foram submetidas à caracterização físico-química e os resultados estão apresentados na Tabela 7.

Para a análise de cinzas, as formulações não apresentaram diferença significativa entre si ($p > 0,05$). Nas formulações que apresentam a adição de mel, justifica-se uma pequena elevação no teor de cinzas mesmo sendo esta não significativa, devido à presença de minerais, pois segundo Brasil (2000) e Osterkamp (2009), o teor de cinzas do mel pode variar de 0,2 a 0,6 %.

Com relação ao °Brix, não houve diferenças significativas entre as formulações (A1 a A9) ($p > 0,05$). Desta forma, mesmo não havendo uma diferença significativa justifica-se uma pequena redução do valor dos sólidos solúveis totais nas formulações que foram adoçadas com mel, quando comparadas as demais bebidas fermentadas adicionadas de glicose e de sacarose (Tabela 7). De acordo com Barbosa et al. (2014), o valor de °Brix para o mel pode demonstrar valores mínimos e máximos que variaram de 77,50 % a 82,33 %.

Tabela 7- Caracterização físico-química das bebidas formuladas com base de extrato de arroz

Formulações	Cinzas (%)	°Brix (%)	Umidade (%)	Carboidratos (%)	Proteínas (%)	Lipídeos (%)
A1	0,03±0,00	12,0±0,02	87,0 ±0,02	12,0 ±0,02 ^a	0,68 ±0,00	0,02 ±0,00
A2	0,04±0,00	12,0±0,00	86,0 ±0,02	13,0 ±0,02 ^a	0,69 ±0,00	0,02 ±0,00
A3	0,03±0,00	12,0±0,00	83,0 ±0,03	16,0 ±0,02 ^b	0,66 ±0,00	0,02 ±0,00
A4	0,03±0,00	12,0±0,00	91,0 ±0,03	8,0 ±0,01 ^c	0,62 ±0,00	0,02 ±0,00
A5	0,03±0,00	12,0±0,00	87,0 ±0,02	12,0 ±0,01 ^a	0,62 ±0,00	0,02 ±0,00
A6	0,04±0,00	12,0±0,00	87,0 ±0,04	12,0 ±0,01 ^a	0,65 ±0,00	0,03 ±0,00
A7	0,04±0,00	11,0±0,00	89,0±0,02	9,91 ±0,01 ^d	0,75 ±0,00	0,02 ±0,00
A8	0,06±0,00	11,0±0,00	88,0 ±0,02	10,93 ±0,04 ^e	0,71 ±0,00	0,02 ±0,00
A9	0,05±0,00	11,0±0,00	84,0 ±0,04	14,92 ±0,02 ^b	0,73 ±0,00	0,02 ±0,00
Valor de p	>0,05	>0,05	>0,05	<0,05	>0,05	>0,05

Fonte: Autoria Própria

Analisando-se o teor de umidade das formulações, constatou-se que não houve diferença significativa entre as bebidas formuladas, o que se deve ao processo de filtração com filtros de algodão, para auxiliar na retenção do amido e amenizar o processo de gelificação quando este estiver em quantidade elevada.

Segundo Stonyfield Farm (2007), o amido do arroz em contato com outros compostos pode gerar um agente de gelificação, o qual pode interferir diretamente na viscosidade da bebida resultante. Martins *et al.* (2013), elaboraram uma bebida fermentada probiótica a base de extrato hidrossolúvel de soja, e obtiveram um percentual de umidade na bebida em torno de 85,2% muito similar aos determinados por este estudo. Entretanto, Verruma *et al.* (1993) em seus estudos na elaboração de iogurte integral a base de leite de vaca, apresentaram valores médios quanto ao teor de umidade em torno de 86,5%, assim como Fidelis *et al.* (2014), obtiveram o teor de umidade para a elaboração de iogurte a base de leite de vaca desnatado em torno 84,50%.

Defrontando aos resultados obtidos por Martins *et al.* (2013), tanto quanto Verruma *et al.* (1993) e Fidelis e seus colaboradores (2014), pode-se afirmar que a bebida fermentada de arroz mostrou uma proximidade quanto ao teor de umidade às bebidas a base de soja e a base de leite de vaca integral e desnatado. Esse fator pode ser favorável no quesito de se ter uma similaridade na viscosidade das bebidas.

O percentual de carboidratos nas amostras foi determinado por diferença, levando-se em consideração as porcentagens de umidade, cinzas, lipídeos e proteínas, todos expressos em g 100 g⁻¹. Foram observadas diferenças significativas entre os teores de carboidratos das nove formulações analisadas (A1 a A9) ($p < 0,05$). Comparando-se os teores de açúcares foi observado que as formulações A4, A7 e A8, apresentaram os menores teores para este parâmetro. Podem-se justificar estes resultados pelo fato destas formulações terem apresentado uma inadequação no processo de homogeneização, na etapa da reconstituição do extrato de arroz em água. Durante esta etapa, observou-se a presença de corpo de fundo nos respectivos recipientes destas formulações devido ao uso do extrato de arroz com um tamanho granulométrico maior. Desta forma, a representação do extrato de arroz na bebida elaborada apresentou uma alteração, quando comparada às demais formulações que foram homogêneas no processo (A1, A2, A3, A5, A6, A8 e A9) e que apresentaram teores de açúcares entre 12 a 16%. Comparando-se os resultados para este parâmetro físico-químico com os de Martins *et al.* (2013), (15,51 %) e Haully *et al.* (2005), (16,2%), ambos para bebidas probióticas a base de soja pode-se afirmar que a bebida fermentada de arroz também mostrou uma similaridade de teores neste parâmetro físico-químico. Quando defrontadas as bebidas quanto ao °Brix pode-se observar que a bebida de arroz mostrou uma característica positiva neste atributo, pois Marin *et al.* (2014), em seus ensaios na elaboração de uma bebida probiótica à base de extrato de soja perfazendo uso do mel como substrato adoçante e prebiótico, obteve para sólidos solúveis um valor médio de 17,5%. Entretanto, conforme visualizado na Tabela 7 pode-se constatar que ambas as bebidas fermentadas a base de extrato de arroz (A1 a A9) apresentaram valores médios de 11 a 12% de sólidos solúveis. Sendo assim, pode-se afirmar que a bebida de arroz comparada a bebida elaborada por Marin e seus colaboradores, possui menor participação de açúcares de alto índice glicêmico, e possui maior participação de açúcares de baixa digestibilidade, açúcares esses caracterizados por apresentarem cadeias longas, tais como as fibras alimentares. Essa característica pode ser favorável por dar expectativas da bebida apresentar percentuais de fibras, podendo desempenhar também características prebióticas.

Quanto ao teor de proteínas, entre as nove bebidas formuladas (A1 a A9) não houve diferença significativa no nível de 95% de confiança ($p > 0,05$). O teor proteico

é justificado pelo uso do extrato de arroz, assim como nas formulações A7, A8 e A9, fez-se o uso da adição de mel, sendo este considerado também uma fonte de proteínas, repercutindo no teor deste componente na bebida elaborada. Segundo Bath e Singh (1999) e da Silva et al. (2016), a variação do valor de proteína no mel ocorre em função de sua origem floral, constatando-se médias de 0,04 % e 0,65 %. No Brasil, segundo Imperatriz et al. (1987), o valor de proteína em méis pode chegar até 2,76 %, e nos estudos supracitados por Silva, Aquino e Rodrigues (2009), encontraram-se teores de proteína até 2,84%. Sendo assim, justificam-se os teores de proteína encontrados nestas formulações, pois estes se apresentaram acima dos valores obtidos nas demais formulações (A1 a A6) que não foram adicionados de mel.

Quanto ao teor de lipídeos, todos os tratamentos apresentaram valores entre 0,02% a 0,03%. Segundo a Tabela de Composição Química dos Alimentos (TACO, 2011), o arroz tipo 1 cru, possui um teor de gordura total de 0,3g/100g, e neste estudo utilizou-se a reconstituição percentual de arroz, onde na mistura a presença do arroz já é limitada, e com isso contribuindo para uma menor representação de gordura na bebida. Em comparativo a bebida probiótica de soja elaborada por Marin et al (2014) com 3,13% de lipídeos, assim como Kolling, Lehn e Souza (2014) no iogurte de soja apresentando 1,3% de lipídeos, pode-se afirmar que a bebida probiótica de arroz apresentou um baixo índice de lipídeos. Em comparativo ao leite desnatado, segundo a Normativa nº 14, de 22 de abril de 2013, o leite para ser considerado desnatado deve apresentar valor não superior a 0,5% de lipídeos para que tenha essa classificação, (BRASIL, 2013). Entretanto a bebida desenvolvida nesta pesquisa apresentou valor inferior a esta referência. De acordo com a Resolução RDC nº54 de 12 de novembro de 2012, um alimento pode apresentar como informação nutricional complementar, o atributo “não contém”, se for composto de no máximo 0,5 g de gorduras totais (ANVISA, 2012), e desta forma, as formulações elaboradas neste estudo, podem apresentar este atributo no rótulo.

Realizou-se um estudo comparativo da composição nutricional das bebidas fermentadas à base de extrato de arroz, com duas marcas A e B, comercializadas no mercado (sendo uma regional e outra nacional), na porção de consumo do produto (80g). As formulações de bebida fermentada de arroz com o substrato glicose (A1, A2 e A3) apresentaram valores médios de 38,46 Kcal, 0,54g de

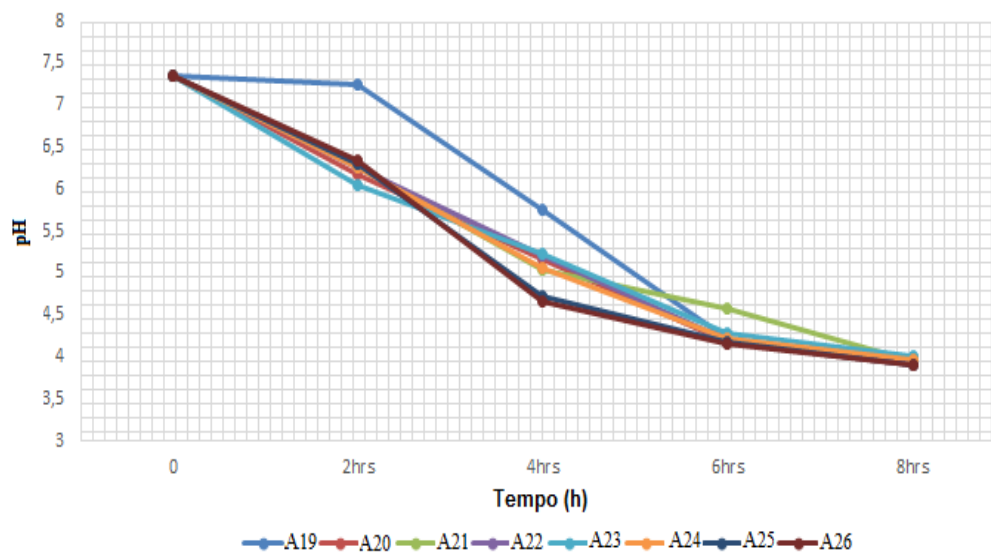
proteína, 9,04 g de carboidratos e 0,01 de gorduras totais. As formulações com o substrato sacarose (A4, A5 e A6) obtiveram valores médios de 34,16 Kcal, 0,50g de proteína, 8,0 g de carboidratos e 0,01 g de gorduras totais. As bebidas fermentadas de arroz com o substrato mel (A7, A8 e A9) apresentaram valores médios de 40,5Kcal, 0,58g de proteína, 9,52g de carboidratos e 0,01g de gorduras totais.

Quando comparadas às bebidas fermentadas de leite bovino, disponíveis no mercado de Marca A (regional) e marca B (nacional), que apresentaram respectivamente valores de 56 Kcal e 51Kcal, 2,0g e 1,6 g de proteína, 13g e 12g de carboidratos e 0g de gorduras totais (marcas A e B), observou-se que as bebidas desenvolvidas neste estudo apresentaram resultados menores para o valor energético, proteína, carboidratos e gorduras totais, podendo se enquadrar como produtos de baixo valor energético e com relação à gorduras totais, pode-se utilizar o atributo “ não contém ” de acordo com a Resolução RDC nº 54 de 12 de novembro de 2012 (Brasil, 2012), o que pode atender à expectativa dos consumidores quanto à alternativas alimentares mais saudáveis.

Em prosseguimento ao estudo, no decorrer do processo de elaboração das bebidas a base de extrato de arroz observou-se alguns pontos críticos que necessitavam ser analisados, os quais poderiam interferir diretamente na viscosidade da bebida e conseqüentemente afetar a aceitabilidade do produto pelo consumidor. Devido ao arroz apresentar um grande percentual de amido, este pode influenciar diretamente na viscosidade da bebida, necessitando assim, realizar-se um estudo quanto a proporção adequada de extrato de arroz, a proporção adequada de mel como substrato (formulações A19 - A26), assim como os processos de aquecimento para o tratamento térmico visando minimizar os processos de gelificação do amido presente no extrato de arroz, e o processo de separação ou retenção de resíduos de arroz não dissolvido (formulações A27 – A34). Para tanto, definiram-se as formulações em função das proporções (% (m/v)) de arroz e de mel (conforme descrito na tabela 3), tanto quanto considerando-se o uso do aquecimento direto e indireto, e os métodos de separação do amido proveniente do extrato de arroz (conforme descrito no Quadro 1).

Primeiramente, iniciou-se com as análises referentes ao processo fermentativo desenvolvido pelas formulações respectivas, e os resultados são ilustrados na figura 8.

Figura 8- Desenvolvimento do pH referente ao processo fermentativo



A19 (8%extrato de arroz +8%mel);A20 (8%extrato de arroz +12%mel);A21 (10%extrato de arroz +8%mel);A22 (10%extrato de arroz +12%mel);A23 (12%extrato de arroz +8%mel);A24 (12%extrato de arroz +12%mel); A25 (14%extrato de arroz +8%mel); A26 (14%extrato de arroz +12%mel);

Fonte: Autoria Própria

Como se pode observar, as oito formulações (A19 a A26) apresentavam o mesmo valor de pH inicial no início do processo de fermentação. Inicializando-se com a fermentação láctica, transcorridas duas horas de processo, observou-se que a maioria das formulações desempenharam o mesmo comportamento quanto ao abaixamento dos valores de pH. No entanto, como comportamento discrepante a formulação A19 mostrou-se inerte, onde quase não se nota diferenciação do valor de pH inicial e do valor de pH após duas horas de fermentação. Esta formulação diferencia-se das demais quanto a proporção de arroz (8,0 %, m/v) e de mel (8,0 %, m/v), sendo esta a formulação que apresenta menor participação de extrato de arroz e de mel. Entretanto, após quatro horas de fermentação observaram-se três situações com relação aos valores de pH das formulações. A primeira situação refere-se a formulação A19. Esta mostrou um valor de pH próximo de 6,0, sendo este valor mais distante dos valores de pH observados nas demais formulações (A20 a A26). A segunda situação é referente as formulações A20 a A24, com valores de pH próximos a 5,0. Já a terceira situação refere-se aos resultados apresentados pelas formulações A25 e A26 que apresentaram valores de pH em torno de 4,6. As formulações A25 e A26 tem seus comportamentos em relação aos

valores de pH justificados por apresentarem maior participação de arroz como extrato base e de mel em sua composição.

Na continuidade do processo fermentativo, o próximo ponto de observação com relação aos valores de pH ocorreu com seis horas de processo, em que de acordo com a Figura 8 destacam-se duas situações diferentes. A primeira situação refere-se ao comportamento demonstrado pela formulação A21, onde o pH assumiu um valor próximo de 4,5. Entretanto, a outra situação refere-se à todas as demais formulações que apresentarem valores de pH próximos de 4,0. Em seguimento a fermentação láctica das formulações, o próximo e último ponto de controle de processo foi no período de oito horas de fermentação, onde se pode afirmar que todas as formulações assumiram valores de pH próximos de 3,90. Para discutir a respeito do processo fermentativo consequente a ação das culturas lácticas probióticas (*Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus* e as Bifidobacterias), primeiramente deve-se compreender a composição química das bebidas que resultaram nas formulações A19 a A26, ou seja, compreender a composição química do mel e do arroz.

De forma geral a adição do mel juntamente ao extrato de arroz, proporcionou as formulações, a qualidade de um suplemento de alto valor nutricional. De acordo com Barth (2005), Zhao *et al.* (2016), e Finola *et al.* (2007), sobre a composição do mel além de ser uma fonte de minerais (Ca, Cu, Mg, P, K, entre outros), aminoácidos, ácidos orgânicos (ácido acético, ácido cítrico, entre outros) e vitaminas do complexo B, vitaminas C, D, e E, tanto quanto apresentar um teor considerável de antioxidantes (flavonoides e fenólicos), em sua grande representação o mel é constituído por hidrocarbonetos sendo neste caso os açúcares simples (glicose e frutose) tendo uma representatividade de 75%. Nesta perspectiva, os açúcares oriundos do mel influenciam na biodisponibilidade de substrato para os microrganismos no processo de fermentação láctica, assim como a presença dos ácidos orgânicos podem influenciar na ativação do crescimento da cultura probiótica devido a contribuição no abaixamento do pH, tornando o meio levemente ácido.

Em contrapartida, na composição do arroz de acordo com Soares (2010), Bassinello e Castro (2004), encontra-se uma rica fonte de proteínas (de 7 a 8%), assim como alguns minerais em destaque (P, Fe e Ca), tanto quanto vitaminas do complexo B. Bassinello e Castro (2004) ressaltam que a proteína encontrada no

arroz é de alta qualidade, pois contém oito aminoácidos essenciais que se encontram dispersos no endosperma do grão. Entre as qualidades da composição do arroz, há um grande destaque com relação a representação de amido que o grão apresenta como também os carboidratos disponíveis, sendo estes os nutrientes de grande impacto no processo fermentativo. Segundo Ascheri et al (2002), na literatura encontra-se que o arroz apresenta aproximadamente 2,1% de fibras, assim como também 2,1% de cinzas sendo este representado pelos minerais em destaque conforme Bassinello e Castro (2004) citaram anteriormente. Ainda assim, Juliano (1993) ressalta que dentre a composição do arroz destaca-se o amido sendo representado por aproximadamente 90% do peso da matéria seca, onde no endosperma também se encontra uma pequena fração de outros carboidratos. Frei et al. (2003), ressaltam que a concentração de amido no arroz "pode variar devido a fatores genéticos e ambientais", que no qual segundo suas pesquisas os teores de amido podem variar entre 72 e 82% no arroz integral de diferentes cultivares.

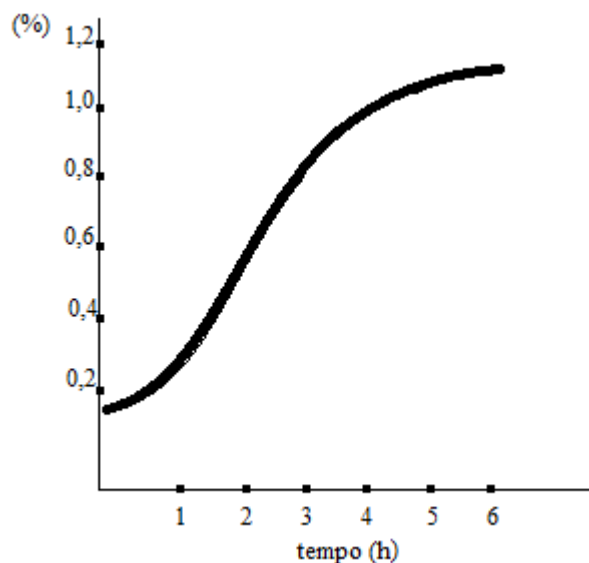
Com relação a pequena fração de carboidratos diversos citados anteriormente por Juliano (1993), de acordo com Matsuo et al. (1995), os mesmos açúcares podem ser identificados como sendo a sacarose com a representação aproximada de 90% assim como a glicose e a frutose para o restante desta composição. Em consonância a afirmação de Matsuo e seus colaboradores, Tran et al. (2004), em seus estudos observou que dentre os açúcares encontrados no arroz integral, mereceu destaque a sacarose tendo 685 mg do açúcar respectivo e 40mg de glicose para cada 100 gramas de arroz integral, onde após o processo de polimento do grão ocorre uma redução drástica desses valores como também de mais nutrientes presentes.

Sendo assim, através de diversas afirmações citadas anteriormente tendo o interesse comum sobre os carboidratos presentes no arroz e no mel, observa-se que na composição do arroz apresenta-se uma pequena porção de carboidratos diversos que poderiam ser utilizados como substrato para o desenvolvimento dos inóculos no processo de fermentação láctica. Entretanto, com a suplementação do mel no extrato das respectivas bebidas, a disponibilidade de carboidratos aumentou consideravelmente, onde dentre as formulações realizadas, mereceu destaque aquelas que perfizeram uso de maior proporção de arroz e de mel como substrato.

A Fermentação Lática consiste na conversão anaeróbica parcial de carboidratos (mais especificamente a glicose), com a produção final de ácido láctico, entre outras substâncias orgânicas (FERREIRA, 2001).

Durante o processo de fermentação, as culturas mistas (formadas por dois ou três microrganismos diferentes), crescem de forma simbiótica, produzindo ácido láctico (conforme demonstrado na figura 8) e compostos aromáticos. No início da fermentação lática a acidez da bebida (estando menor que 20 °D) favorece o desenvolvimento do *S. termophilus*, sendo este estimulado pela produção de aminoácidos livres produzidos pelo Lactobacillus, promovendo assim o aumento da acidez. Desta forma, com o desenvolvimento do *S. termophilus* aumenta-se a presença do ácido fórmico, estimulando o desenvolvimento do Lactobacillus devido ao decaimento do pH, alcançando a acidez desejável para o desenvolvimento dos Lactobacillus, (SIEUWERTS et al. 2010).

Figura 9- Produção de ácido láctico em função do tempo de fermentação



Em decorrência do processo fermentativo com formulações diferenciadas pelas proporções de arroz e de mel, aferiu-se a determinação dos sólidos solúveis e a análise de cor para analisar diferenças entre estas e os resultados obtidos encontram-se descritos na tabela 8.

Tabela 8- Análise de Cor das bebidas formuladas a base de extrato de arroz

Formulações	°Brix	L*	a*	b*
A19	10	40,81	-0,89	0,91
A20	13	47,58	-1,07	3,02
A21	12	46,14	-0,95	1,36
A22	11	48,07	-0,81	3,32
A23	13	44,44	-0,91	4,71
A24	12	52,94	-0,86	5,17
A25	13	50,1	-0,52	4,3
A26	13	55,22	-0,82	8,05

Fonte: Autorial Própria

Pode-se observar com relação ao percentual de sólidos solúveis, entre as oito formulações (A19 a A26), somente a formulação A19 se diferenciou drasticamente quando comparada as demais que mantiveram valores próximos entre 12 e 13 %. A diferença entre as bebidas formuladas conforme demonstrado na tabela 8 pode ser justificada devido às mesmas apresentarem proporções diferentes de arroz e de mel em sua composição.

Conforme já discutido anteriormente por Juliano (1993), o arroz possui em sua composição uma grande contribuição de amido assim como também há a presença de outros carboidratos de cadeias simples. Entretanto, como também citado anteriormente por Barth (2005) na composição do mel encontram-se carboidratos como glicose e frutose na proporção aproximada de 75%. Sendo assim, a quantidade de sólidos solúveis determinado pelo °Brix nas formulações justifica-se pelos carboidratos oriundos do arroz e do mel.

Ainda assim, observou-se que as formulações que apresentaram menor participação de mel manifestaram resultados iguais em porcentagem de sólidos solúveis, quando comparadas as formulações que apresentavam maior participação do mel como suplementação (neste caso a formulação A20 apresentou o mesmo resultado quando comparada a bebida A26, assim como este comportamento se repete nas bebidas A21 e A24. A justificativa para esse comportamento seria uma deficiência no processo de separação ou retenção do arroz na bebida. Como o método de separação pode ser um fator que poderia afetar diretamente na viscosidade do produto, decidiu-se avaliar a influência do uso de métodos diferentes

de separação e de aquecimento aplicados no processo de pasteurização presente no procedimento de elaboração das bebidas. Este estudo foi o objeto de investigação o qual foi realizado na segunda etapa desta pesquisa, como será demonstrado mais adiante.

Para a análise de cor foram observados resultados discrepantes entre as bebidas formuladas A19 a A26, valores estes indicados pelos índices L^* , a^* e b^* .

O parâmetro L^* indica a luminosidade e pode determinar valores entre zero (0) e cem (100), sendo denominado preto e branco, respectivamente. De acordo com García-Pérez et al (2005), uma vez que aumenta o teor de constituintes no produto como gorduras e proteínas, ocorre uma redução de água livre em função do aumento da participação dos sólidos totais ocasionando menor reflexão de luz. Neste caso, a participação dos sólidos totais seria oriunda dos ingredientes mel e arroz. Observando os resultados obtidos quanto ao critério de luminosidade, o comportamento das bebidas formuladas (A19 a A26) estão em conformidade à interpretação apontada por García-Pérez, onde nas formulações tendo maior participação de sólidos totais o valor da luminosidade passa a ser maior (A24, A25 e A26).

Com relação a interpretação dos valores de a^* e b^* , as coordenadas de cromaticidade a^* indicam as direções das cores, onde a^* maior que zero vai em direção ao vermelho e a^* menor que zero vai em direção ao verde. Com relação as coordenadas de cromaticidade b^* , o valor apresentado sendo maior que zero sugere uma proximidade em direção ao amarelo e b^* apresentando valores menores que zero sugere uma proximidade de cor em direção ao azul. Analisando os valores obtidos para as bebidas A19 a A26, constatou-se que estas bebidas apresentaram valores negativos para a cromaticidade a^* (tendenciando ao valor esverdeado e afastando-se do eixo do valor vermelho). Para a cromaticidade b^* observou-se também valores positivos, tendenciando a cor amarelada e distanciando-se da cor azul. Neste caso, em ambos os valores obtidos de cromaticidade, os resultados foram coerentes pois o extrato de arroz apresenta uma cor ligeiramente amarelada devido a presença do amido, assim como a coloração do mel também contribui para a coloração levemente amarelada, apontando destaque para as bebidas A25 e A26. Segundo Crane (1985), a coloração do mel pode assumir variações desde o branco-aquoso ao preto, bem como variações tendendo para matizes de verde ou vermelho,

ou mesmo azul. De acordo com Pamplona (1989) acredita-se que a cor do mel pode estar associada à sua origem floral, porém as substâncias responsáveis pela cor são ainda desconhecidas. Entretanto Bertonselj et al. (2007), LIVIU et al. (2009), Ferreira et al. (2009) , Meda et al. (2005) e Karabagias et al. (2016), acentuam que a coloração do mel pode justificar-se pela presença dos flavonoides, ácidos fenólicos, ácidos benzoicos, assim como presume-se que os minerais podem estar entre os fatores responsáveis pela coloração deste ingrediente. Entretanto, o armazenamento prolongado, a luz, as possíveis reações enzimáticas, aquecimento e o processo de colheita podem escurecer o mel (CRANE 1985).

Com relação aos resultados observados a bebida formulada que demonstrou melhor comportamento quanto a análise da fermentação láctica, sólidos solúveis e análise de cor foi a formulação A26, na qual a participação de arroz no extrato foi de 14% e na adição de mel como substrato foi de 12%.

Apesar destes resultados interessantes, observou-se que no procedimento de elaboração das bebidas ocorreram algumas deficiências no processo. Deficiências essas que podem ocasionar divergências muito acentuadas na viscosidade do produto, sendo que a deficiência no processo se encontrava nas etapas de separação do arroz do extrato e no método de aquecimento para a pasteurização. Desta forma, os valores referentes aos percentuais de mel e de arroz foram fixados de acordo com as proporções de arroz e mel avaliadas na formulação A26 e inferiu-se um estudo em prosseguimento ao processo de homogeneização e de pasteurização, (etapas presentes na figura 4 referente ao fluxograma de elaboração das bebidas fermentadas de extrato de arroz). Considerando os métodos a serem estudados para melhorar o procedimento de elaboração da mistura base de extrato de arroz, organizou-se o estudo em oito formulações, conforme descrito no Quadro 1.

Em função do processo de elaboração das bebidas, o estudo prosseguiu-se com oito novas formulações diferenciadas pelos métodos de separação (peneira, decantação seguida de separação por peneira, diluição e filtração) e pelo método de aquecimento no processo de pasteurização (sendo o aquecimento direto e indireto).

Uma vez que estabelecida a forma de obtenção do extrato de arroz de todas as formulações procedeu-se a avaliação de sólidos totais presentes nos extratos

respectivos. Após a análise de sólidos totais, na sequência efetuou-se a análise da viscosidade das bebidas, onde os resultados encontram-se organizados na tabela 9.

Tabela 9- Parâmetros físico-químicos das bebidas em função da viscosidade

FORMULAÇÕES	VISCOSIDADE (Cp)	° BRIX	SOLIDOS TOTAIS
A27	11,63	15	10,83
A28	7,23	12	8,15
A29	8,63	10	4,41
A30	6,54	12	3,03
A31	8,89	15	7,98
A32	6,01	15	6,32
A33	5,03	10	1,02
A34	4,86	10	4,46
Valor de <i>p</i>	<i>p</i> <0,05	<i>p</i> <0,05	<i>p</i> <0,05

Fonte: Autoria Própria

Pode-se observar na tabela 9, as formulações que perfizeram uso do método de diluição e o método de separação com algodão, apresentaram os menores valores para o parâmetro de sólidos totais. O método de diluição não é um método de separação propriamente dito, mas foi uma forma encontrada de amenizar a presença do amido do arroz na bebida, diminuindo sua participação através da diluição em si. No comparativo entre as formulações no quesito da viscosidade, observou-se que as bebidas que perfizeram uso do aquecimento indireto (A32, A33 e A34) apresentaram os menores valores de viscosidade, apresentando maior fluidez. Esta diferenciação nos resultados pode estar diretamente relacionada ao efeito do aquecimento promovendo a interferência na característica do amido quanto a sua capacidade hidrofílica. O aquecimento direto pode promover maior acentuação na capacidade hidrofílica do amido, favorecendo a uma elevação na característica de viscosidade da bebida. Neste caso, o amido presente no extrato do arroz usado para a elaboração da bebida possui uma única característica indesejável que é a alteração que promove diretamente na viscosidade da bebida. Segundo Zavareze et al. (2011), o amido possui em sua grande maioria, frações de amilose e amilopectina, no qual a sua utilidade consequente estará diretamente relacionada

com a proporção dos dois componentes com a organização interna da estrutura granular do amido. Nas temperaturas abaixo da temperatura de gelatinização, as regiões amorfas são menos densas e organizadas, sendo estas mais susceptíveis a absorção de água quando comparadas as regiões cristalinas. A amilose possui estrutura essencialmente linear, sendo encontrada nas regiões amorfas e semicristalinas do grânulo de amido, assim como possui em sua estrutura, parte helicoidal em alfa-hélice com átomos de hidrogênio, conferindo à molécula a característica hidrofóbica (ZAVAREZE et al, 2010 e ZOU et al., 2012). No entanto, a amilose pode apresentar capacidade de formar complexos com ácidos graxos, álcoois e na parte externa da molécula há ainda a presença de grupos hidroxila. Desta forma, segundo BeMiller (2011), esta pode conferir alterações na temperatura de gelatinização, na textura ou no perfil de viscosidade, interferindo no perfil da retrogradação do amido e, portanto, nas bebidas formuladas a base de extrato de arroz.

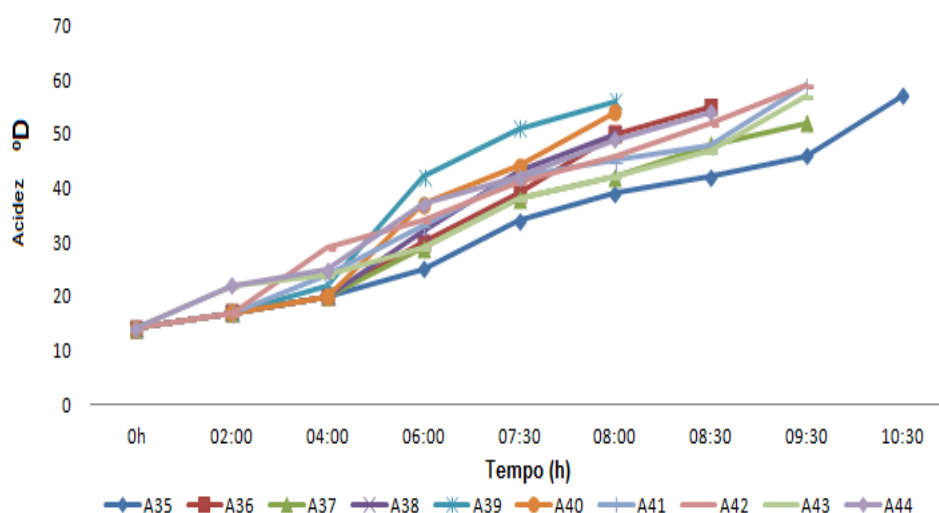
Segundo Syahariza et al. (2013), existem diversos estudos que correlacionam a digestibilidade do amido com a presença da amilose, a qual é afetada pela formação de complexos com as proteínas e lipídeos mesmo quando estes componentes estão presentes em proporções minoritárias.

Entretanto, a amilopectina sendo a outra fração presente no amido que pode assumir a representação de até 75%, possui uma estrutura altamente ramificada. Essas ramificações são agrupadas, e as cadeias possuem ligações glicosídicas alfa-1,4 e por ligações alfa-1,6, detendo uma massa molar superior à da amilose (ZOU et al., 2012). Lin et al. (2016), acentuam que propriedades importantes do amido que afetam a viscosidade das bebidas formuladas estão relacionadas a proporção de amilose e de amilopectina, pois há interferência no quesito da relação entre cadeias curtas, médias e longas de amilopectina e quão ramificadas são essas cadeias, especialmente com relação a temperatura de gelatinização, o que afetará a viscosidade das bebidas preparadas.

5.4 ANÁLISE DO DESENVOLVIMENTO E ATUAÇÃO DAS CULTURAS LÁTICAS EM MEIO AO EXTRATO DE ARROZ COM ADOÇANTES DIFERENTES

Em uma análise do comportamento láctico da cultura em meio aos diferentes adoçantes (Figura 10), observou-se que as bebidas A38, A39 e A40, apresentaram uma fermentação mais rápida (aproximadamente 8 horas).

Figura 10- Desenvolvimento do pH referente ao processo fermentativo das formulações com adoçantes



A35 (Sacarina 0,5% (v/v)); A36 (Estévia 0,5% (v/v)); A37 (Sucralose 0,38% (v/v)); A38 (0,25% (v/v) Sacarina e 0,25% (v/v) Estévia); A39 (0,25% (v/v) Estévia e 0,19% (v/v) Sucralose); A40 (0,19% (v/v) Sucralose e 0,25% (v/v) Sacarina); A41 (0,165% (v/v) Estévia, 0,165% (v/v) Sacarina e 0,13% (v/v) Sucralose); A42 (0,165% (v/v) Sacarina, 0,13% (v/v) Sucralose e 0,165% (v/v) Estévia); A43 (0,13% (v/v) Sucralose, 0,165% (v/v) Estévia e 0,165% (v/v) Sacarina); A44 (Sem adoçante)

Fonte: Aatoria Própria

O tempo de fermentação sucedeu-se até alcançar um valor de pH igual a 4,8 sendo este o pH controle do processo fermentativo. Ainda sobre estas três formulações, A38 a A40, destacam-se que estas utilizam em sua composição, dois tipos de adoçantes distintos, perfazendo na proporção de 50% cada, conforme descrito na tabela 4. Em sequência ao tempo de fermentação, as formulações A36 e A44 atingiram o pH controle de término de fermentação com 8 horas e 30 minutos de processo. A formulação A36 apresentou em sua composição o adoçante Stévia e a formulação A44 não apresentou adição de adoçante em sua composição.

Entretanto, as formulações A37, A41, A42 e A43 apresentaram tempo de fermentação láctica aproximada de 9h e 30 min de processo. Para a bebida com maior tempo de fermentação, destacou-se a formulação A35 que fez uso do adoçante sacarina como substrato, totalizando em mais de 10h de fermentação.

Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (2005), juntamente a complementação de Zanini, Araújo e Martínez-Mesa (2011) e Bruyère et al. (2015), os adoçantes dietéticos, ou adoçantes de mesa, segundo a regulamentação brasileira, são alternativas à substituição ao uso do açúcar refinado, conferindo sabor doce aos alimentos e ao mesmo tempo apresentando baixa ou nenhuma caloria. Para o presente estudo, dentre a gama de adoçantes existentes, utilizou-se em específico a Sacarina, a Stévia e a Sucralose.

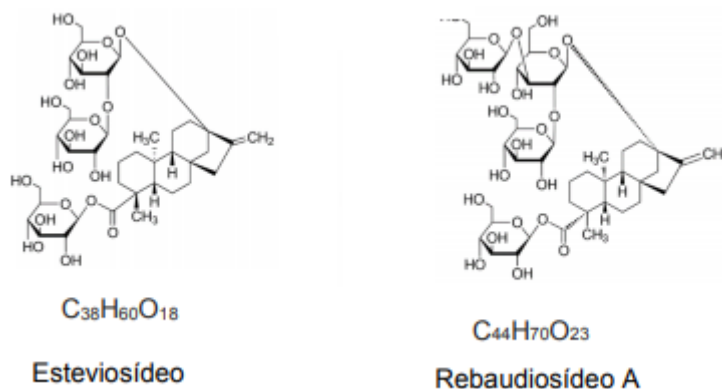
Sobre a sacarina, de acordo com O'Donnel e Kearsley (2012), foi uma das primeiras moléculas diferentes da sacarose com capacidade adoçante a ser descoberta acidentalmente no fim do século XIX. Ela é um edulcorante artificial cuja substância original é a sulfilimina benzóica, o qual não apresenta calorias em quantidade significativa, sendo utilizada amplamente pela indústria de alimentos, na produção de: bebidas, doces, sobremesas, biscoitos do tipo "cookies", etc. (NEACŞU; MADAR, 2014 e ROBERTS, 2016).

A sucralose, de acordo com Jecfa (1991b), Jenner e Smithson (1989), tanto quanto Roberts (2016), Rulis e Levitt (2009), é um dissacarídeo com 3 átomos de cloro substituindo 3 grupos hidroxila, sendo denominado como 1,6-dicloro-1,6-didesoxi- β -D-frutofuranosil-4-cloro-4-desoxi- α -D-galactopiranosídeo, que também pode ser descrito como 4,1', 6'-triclorigalactosucrose (TGS). Sua descoberta procedeu-se de um projeto de pesquisa colaborativo da Tate & Lyle Company e do Queen Elizabeth College da Universidade de Londres durante o final da década de 1980 (Knight, 1994). Grandes agências reguladoras de segurança e saúde alimentar em todo o mundo, incluindo Health Canada, 2016; US FDA, 1998; US FDA, 1999; US FDA, 2015; União Europeia (SCF, 2000a), Austrália, Nova Zelândia, Japão (JMOHW - JFCRF, 1999) e outros (GROTZ; MUNRO, 2009) realizaram estudos intensivos sobre a sua qualidade e segurança alimentar, e todas as agências revisoras aprovaram a sucralose para o uso pretendido como adoçante em uma variedade de produtos.

Segundo Wiet e Beyts (1992), dentre a característica sensorial e nutricional, a sucralose se destaca por apresentar um poder de doçura equivalente a 600 vezes superior comparado ao açúcar comum (sacarose) e por não apresentar valor calórico, podendo assim segundo a American Heart Association (GARDNER et al., 2012), a American Diabetes Association (GARDNER et al., 2012) e a Academia de Nutrição e Dietética (FITCH; KEIM, 2012), ser um adoçante não calórico usado globalmente em alimentos e bebidas, para pessoas com diabetes ou com o objetivo de reduzir calorias ou ingestão de carboidratos.

Em sequencia aos edulcorantes apresentados, segundo Mondaca et al. (2012), assim como Moraes et al. (2013), a stévia é uma erva pertencente a família Asteraceae, sendo nativa da América do Sul, conhecida devido ao seu grande poder de doçura e baixo poder calórico. Dentre a estévia, os principais extratos são obtidos dos compostos Esteviosídeo e Rebaudiosídeo A (MONDACA et al., 2012; MONTORO et al., 2013), conforme ilustrado suas estruturas químicas na figura 11.

Figura 11 - Estruturas dos principais extratos da Estévia utilizados como edulcorantes naturais



Em deferimento, segundo Lopes et al. (2015), assim como Oliveira et al. (2011), enfatizam estudos anteriores sobre a estévia retratando sobre sua estrutura, caracterizando-a como presença de polissacarídeos do tipo frutano, tendo aplicações industriais como a inulina. Pertencente ao grupo dos carboidratos, os frutanos enquadram-se como não digeríveis, apresentando uma estrutura linear que compreende em unidades β - D-frutofuranosil ligadas a $(2 \rightarrow 1)$ terminando principalmente com um resíduo de glicose (VERSPREET et al., 2015).

Karimi et al. (2015), juntamente com Meyer et al. (2011), condizem que Frutooligosacarídeos (FOSs) são frutanos de cadeia curta (DP = 3-8) e as moléculas de frutano com DP > 10 são denominadas inulina.

A Inulina e os FOSs têm aplicações como prebiótico pois a configuração β do carbono anomérico C2 nessas moléculas o torna um carboidrato não digerível no trato intestinal humano, mas eles podem ser fermentados no cólon por um número limitado de bactérias colônicas benéficas que podem influenciar no crescimento ou atividade (CALEFFI et al., 2015, MORRIS; MORRIS, 2012, ROBERFROID et al., 2010).

A fermentação láctica desenvolvida em associação a essas moléculas disponíveis, resultam em vários benefícios como melhorias no sistema imunológico (DWIVEDI et al., 2016; MORENO-VILET et al., 2014; PESHEV; VAN DEN END, 2014), melhora na absorção de minerais no intestino (Lobo et al., 2011), redução dos níveis de triglicerídeos e colesterol, modulação da hiperglicemia (NISHIMURA et al., 2015). Assim como, tendo importante propriedade tecnológica na indústria substituindo a gordura, o açúcar, e como fibra alimentar em alimentos de baixa caloria, devido a sua alta solubilidade e doçura característica (CRISPÍN-ISIDRO et a., 2015; SOŁOWIEJ ET AL., 2015; VILLEGAS et al., 2010).

De forma geral as fermentações das bebidas assumiram comportamentos diferentes quanto ao tempo e valor de acidez livre. Os resultados diferenciados entre as bebidas formuladas justificam-se em função do desenvolvimento dos inóculos utilizados considerando que são culturas mistas, além da utilização de adoçantes diferentes e proporções diferentes. Analisando o tempo de fermentação entre as bebidas, cabe destacar que as formulações que perfizeram uso de stévia apresentaram melhor desempenho quanto ao quesito de tempo de processo para a fermentação. Entretanto, para que a bebida possua o caráter probiótico, de acordo com Ostlie, Helland e Narvhus (2003), deve apresentar uma contagem de cultura probiótica acima de 10^6 UFC/mL ou 6 log UFC/mL, ao qual os resultados obtidos encontram-se na tabela 10.

Tabela 10. Características físico-químicas expressas como médias \pm desvios padrão das bebidas formuladas descritas na Tabela 8 em relação a fermentação láctica

Formulações	Contagem de Bactérias Acidoláticas (log)	Acidez (°D)	pH	Tempo de fermentação (minutos)
A35	9,54 \pm 0,32	57 \pm 1,18	4,81 \pm 0,00	630 \pm 0,00
A36	8,85 \pm 0,07	55 \pm 1,35	4,79 \pm 0,00	510 \pm 0,00
A37	10,97 \pm 0,48	52 \pm 1,03	4,78 \pm 0,00	570 \pm 0,00
A38	9,79 \pm 0,12	50 \pm 0,87	4,84 \pm 0,00	480 \pm 0,00
A39	8,55 \pm 1,45	56 \pm 2,15	4,77 \pm 0,00	480 \pm 0,00
A40	10,16 \pm 1,12	54 \pm 1,65	4,82 \pm 0,00	480 \pm 0,00
A41	10,29 \pm 0,89	59 \pm 1,18	4,55 \pm 0,00	570 \pm 0,00
A42	10,87 \pm 1,24	59 \pm 0,59	4,63 \pm 0,00	570 \pm 0,00
A43	10,24 \pm 0,54	57 \pm 0,39	4,69 \pm 0,00	570 \pm 0,00
A44	10,48 \pm 0,39	54 \pm 2,00	4,80 \pm 0,00	510 \pm 0,00
Valor de p	$p < 0,05$	$p < 0,05$	$p > 0,05$	$p < 0,05$

Fonte: Autoria Própria

O tempo de fermentação láctea necessária para o desenvolvimento dos inóculos probióticos, deve ser o menor possível, uma vez que a cultura láctea mista em comparação às culturas lácteas puras, sempre apresentará menor tempo de fermentação por ser composta de microrganismos que atuam em faixas de pH diferentes (LUIZ et al., 2017; SIEUWERTS et al., 2010).

Diferenças significativas nas contagens de bactérias probióticas foram observadas entre as formulações (valor de $p < 0,05$). A contagem total de probióticos nas dez formulações variou de 8,550 a 10,970 log UFC / mL no primeiro dia. Esses níveis atenderam aos requisitos descritos na literatura e também na legislação brasileira para leite fermentado, Brasil (2000), que recomenda que todos os microrganismos produtores de fermentação láctica devem estar presentes e viáveis no produto a um nível de 7 log UFC / mL.

Analisando-se os resultados da Tabela 10, observou-se que todas as formulações, contendo diferentes adoçantes em proporções diferentes como substrato atingiram o ponto final de fermentação láctica conforme demonstrado pelos valores de acidez e de pH. De acordo com Luiz et al. (2017), os valores de acidez e de pH devem-se ao processo bioquímico que ocorre devido a atividade microbiana probiótica tendo como principal função a produção de ácido, característico nas bebidas probióticas. Pode-se observar em interpretação à Tabela 10, que as formulações compostas pela estévia apresentaram menor tempo de fermentação

assim como contagem de bactérias ácido lácticas mais elevada, comportamento que foi também observado no estudo de Ozcan et al. (2017), que também encontraram resultados similares em leite fermentado adoçado com estévia. De acordo com Lopes et al (2015) e Oliveira et al. (2011), a estévia apresenta em sua estrutura, polissacarídeos do tipo frutano, que podem ter aplicações industriais similares a inulina, favorecendo o crescimento da cultura probiótica. Além desse efeito positivo observado, a estévia já vem sendo utilizada pela indústria alimentícia como estratégia para diminuir o consumo de açúcar e de adoçantes sintéticos, justificando sua utilização nos produtos funcionais elaborados, acentuam Barba, Grimi e Vorobiev (2015) e Barroso et al. (2016). Ressalta-se que a estévia é um adoçante natural, não tóxica, consumida por seres humanos sem apresentar efeitos negativos, e considerada de uso vantajoso, em comparação aos adoçantes artificiais, de acordo com Mondaca et al. (2012), e pode ser uma interessante alternativa para a substituição da sacarose, reduzindo os seus efeitos na formulação de produtos alimentícios segundo Sharma et al. (2016).

Em estudos evidenciados por Lopes et al. (2019) e Motta et al. (2015), sobre iogurtes a base de leite de vaca, pode-se observar valores similares para a contagem de bactérias acidoláticas. Entretanto, em comparação aos estudos de Wang et al. (2018) que elaboraram um iogurte a base de grão de bico como opção diferenciada ao extrato de soja ($7,4 \times 10^6$ UFC mL⁻¹), este estudo de bebida fermentada de extrato de arroz, denotou contagens de bactérias ácido-láticas superiores. Considerando-se a pesquisa de Battistini et al. (2018), envolvendo uma bebida probiótica à base de soja, em que obtiveram resultados próximos de 10^8 UFC mL⁻¹, denota-se que a contagem de bactérias ácido lácticas obtida para a bebida fermentada de extrato de arroz, foi superior (valores entre 10^8 a 10^{10} UFC mL⁻¹), demonstrando que a matriz não láctea, a base de extrato de arroz, foi mais favorável para o desenvolvimento da cultura probiótica.

5.5 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E ANÁLISE SENSORIAL DAS BEBIDAS FORMULADAS À BASE DE EXTRATO DE ARROZ COM ADOÇANTE

As formulações descritas na Tabela 4 (A35 a A44) foram submetidas à caracterização físico-química e os resultados estão apresentados na Tabela 11.

Para a análise de cinzas, as formulações não apresentaram diferença significativa entre si ($p > 0,05$). Este resultado justifica-se devido a mistura base (extrato de arroz) ser a mesma para todas as bebidas, assim como, a fonte para a saborização foi unicamente a adição de edulcorantes naturais e artificiais (estévia, sucralose e sacarina) para incrementar na doçura das bebidas.

Com relação ao °Brix, não houve diferenças significativas entre as formulações (A35 a A44) ($p > 0,05$). Este resultado pode ser justificado pela adição de adoçantes às bebidas formuladas. Em comparativo ao estudo anterior envolvendo o uso de açúcares como glicose, sacarose e mel como adoçantes (formulações A1 a A9), notou-se uma redução de 50% do valor em comparação ao °Brix. Abreu et al. (2007), em seus estudos no desenvolvimento de bebida fermentada de soja, obtiveram valores médios para sólidos solúveis totais de 10,73 a 12,85 °Brix. Neste comparativo, observa-se que a bebida fermentada de arroz apresentou um valor expressivamente menor (6 °Brix). Sendo assim acentua-se que na composição das bebidas fermentadas de arroz suplementadas com adoçantes, estas possuem menor participação de açúcares de alto índice glicêmico, e possuem maior participação de açúcares de baixa digestibilidade, açúcares esses caracterizados por apresentarem cadeias longas, tais como as fibras alimentares (no caso da estévia) como por moléculas indigeríveis pelo organismo humano (como no caso da sucralose e da sacarina) (CHATTODHYAY et al 2014).

Tabela 11. Características físico-químicas expressas como médias \pm desvios padrão das bebidas formuladas de arroz.

Formulações	Cinzas (%)	°Brix (%)	Umidade (%)	Carboidratos (%)	Proteínas (%)	Lipídeos (%)
A35	0,03 \pm 0,87 ^a	6,0 \pm 0,00 ^a	90,0 \pm 1,37 ^a	6,78 \pm 0,24 ^a	0,66 \pm 0,02 ^a	0,02 \pm 0,00 ^a
A36	0,03 \pm 1,47 ^a	6,0 \pm 0,00 ^a	92,0 \pm 0,84 ^a	6,73 \pm 0,08 ^a	0,68 \pm 0,07 ^a	0,02 \pm 0,00 ^a
A37	0,03 \pm 1,21 ^a	6,0 \pm 0,00 ^a	91,0 \pm 0,28 ^a	6,81 \pm 0,52 ^a	0,65 \pm 0,18 ^a	0,02 \pm 0,00 ^a
A38	0,03 \pm 0,65 ^a	6,0 \pm 0,00 ^a	91,0 \pm 0,72 ^a	7,05 \pm 0,18 ^a	0,64 \pm 0,21 ^a	0,02 \pm 0,00 ^a
A39	0,03 \pm 0,78 ^a	6,0 \pm 0,00 ^a	92,0 \pm 0,37 ^a	6,95 \pm 0,64 ^a	0,63 \pm 0,02 ^a	0,02 \pm 0,00 ^a
A40	0,03 \pm 1,43 ^a	6,0 \pm 0,00 ^a	89,0 \pm 0,08 ^a	6,76 \pm 0,11 ^a	0,65 \pm 0,05 ^a	0,02 \pm 0,00 ^a
A41	0,03 \pm 0,52 ^a	6,0 \pm 0,00 ^a	91,0 \pm 0,09 ^a	7,12 \pm 1,78 ^a	0,66 \pm 0,07 ^a	0,02 \pm 0,00 ^a
A42	0,03 \pm 0,47 ^a	6,0 \pm 0,00 ^a	92,0 \pm 0,32 ^a	7,05 \pm 0,69 ^a	0,65 \pm 0,35 ^a	0,02 \pm 0,00 ^a
A43	0,03 \pm 0,23 ^a	6,0 \pm 0,00 ^a	90,0 \pm 0,27 ^a	6,86 \pm 0,94 ^a	0,67 \pm 0,08 ^a	0,02 \pm 0,00 ^a
A44	0,03 \pm 0,37 ^a	5,0 \pm 0,00 ^b	91,0 \pm 0,15 ^a	6,68 \pm 0,94 ^a	0,61 \pm 0,02 ^a	0,02 \pm 0,00 ^a
Valor de p	<i>p</i> >0,05	<i>p</i> >0,05	<i>p</i> >0,05	<i>p</i> >0,05	<i>p</i> >0,05	<i>p</i> >0,05

Fonte: Autoria Própria

Analisando-se o teor de umidade das formulações, constatou-se que não houve diferenças significativas entre as bebidas formuladas, o que se deve ao processo de filtração com algodão. Também, a estes resultados (com grande porcentagem de umidade) justifica-se pela substituição na elaboração das bebidas de extrato de arroz fermentado dos substratos (glicose, sacarose e mel) por adoçantes, tendo assim a diminuição da participação de sólidos nas bebidas. Trindade et al. (2001), relataram em seus estudos na elaboração de “iogurte” de soja, percentuais de umidade entre 89,00 e 91,20%. Desta forma, em comparação aos dados obtidos neste presente estudo das bebidas fermentadas de extrato de arroz para o percentual de umidade (89 a 92%), observa-se uma semelhança aos valores obtidos por Trindade e seus colaboradores.

O percentual de carboidratos nas amostras foi determinado por diferença, levando-se em consideração as porcentagens de umidade, cinzas, lipídeos e proteínas, todos expressos em g 100 g⁻¹. Porém, não foram observadas diferenças significativas entre os teores de carboidratos das dez formulações analisadas (A35 a A44) (*p* >0,05). Devido a substituição dos substratos (glicose, sacarose e mel) por adoçantes na elaboração das bebidas de extrato de arroz fermentado, houve diminuição da participação de carboidratos nas bebidas.

Quanto ao teor de proteínas, entre as dez bebidas formuladas (A35 a A44) não houve diferenças significativas no nível de 95% de confiança ($p > 0,05$). O teor proteico é justificado pelo uso do extrato de arroz, sendo este a única fonte de proteínas neste momento do estudo. Segundo Carvalho e Bassinello (2006), o arroz é um cereal de alto valor nutricional, além de ser fonte de minerais tais como P, Ca e Fe, vitaminas do complexo B, podendo apresentar um valor proteico de 7 a 9%.

Quanto ao teor de lipídeos, todos os tratamentos apresentaram valores de 0,02%. Como já citado em outro momento neste trabalho, segundo a Normativa nº 14, de 22 de abril de 2013, o leite para ser considerado desnatado deve apresentar valor não superior a 0,5% de lipídeos para que tenha essa classificação, (BRASIL, 2013). Entretanto a bebida desenvolvida nesta pesquisa apresentou valor inferior a esta referência, e de acordo com a Resolução RDC nº54 de 12 de novembro de 2012, um alimento pode apresentar como informação nutricional complementar, o atributo “não contém”, se for composto de no máximo 0,5 g de gorduras totais (ANVISA, 2012). Sendo assim, as formulações elaboradas neste estudo, podem apresentar este atributo no rótulo.

Em sequência ao estudo, a tabela 12 apresenta os resultados da avaliação microbiológica das nove amostras de bebida fermentada de extrato de arroz.

Tabela 12 Resultados de qualidade microbiológica das amostras de bebidas fermentadas

**Amostra	Salmonella/25mL	Coliformes 35	Coliformes 45	Leveduras e Fungos
		MPN/MI	MPN/MI	MPN/mL
		10	10	
A35	Ausente	<3,0	<3,0	0
A36	Ausente	<3,0	<3,0	0
A37	Ausente	<3,0	<3,0	0
A38	Ausente	<3,0	<3,0	0
A39	Ausente	<3,0	<3,0	0
A40	Ausente	<3,0	<3,0	0
A41	Ausente	<3,0	<3,0	0
A42	Ausente	<3,0	<3,0	0
A43	Ausente	<3,0	<3,0	0
*Critério de Aceitação	Ausente	10²	10	10²
				MPN/mL

** A35 (100% sacarina); A36 (100% Sucralose); A37 (100% Estévia); A38 (50% de sacarina e 50% de Estévia); A39 (50% Estévia e 50% Sucralose); A40 (50% Sucralose e 50% Sacarina); A41 (33,3% Sacarina + 33,3% Sucralose + 33,3% Estévia); A42 (33,33% Estévia + 33,3% Sacarina + 33,3% Sucralose); A43 (33,3% Sucralose + 33,3% Estévia + 33,3% Sacarina).

Em todas as formulações observou-se que o NMP de coliformes 35° e 45° (NMP/mL) apresentou valores inferiores a 3 NMP/mL e para bolores, leveduras e salmonella, não foi detectado presença de crescimento. Para tanto, de acordo com a legislação vigente (Brasil, 2019) as bebidas elaboradas apresentaram valores em conformidade com a legislação para o consumo, garantindo a inocuidade aos avaliadores e consumidores. A Tabela 13 mostra os resultados obtidos através da avaliação sensorial aplicada.

Tabela 13. Aceitabilidade das nove amostras de bebida fermentada de arroz

Atributos / ** Amostras	* Médias								
	(A35)	(A36)	(A37)	(A38)	(A39)	(A40)	(A41)	(A42)	(A43)
Impressão Global	5,49±1,92 ^{abc}	5,37±1,89 ^{ab}	5,48±2,07 ^{abc}	5,45±1,96 ^{abc}	5,27±1,81 ^a	5,53±1,91 ^{abc}	5,88±1,92 ^{bc}	5,93±1,85 ^c	5,39±1,91 ^{ab}
Cor	6,08±1,79 ^a	6,08±1,81 ^a	6,19±1,76 ^a	6,04±1,76 ^a	6,09±1,61 ^a	6,16±1,59 ^a	6,18±1,77 ^a	6,10±1,78 ^a	5,87±1,92 ^a
Aparência	6,09±1,77 ^a	5,92±1,80 ^{ab}	6,00±1,82 ^{ab}	5,92±1,78 ^{ab}	5,70±1,74 ^{ab}	6,07±1,73 ^a	5,88±1,91 ^{ab}	5,97±1,84 ^{ab}	5,67±1,97 ^b
Aroma	5,45±2,29 ^a	5,72±1,89 ^{ab}	5,95±2,01 ^{ab}	5,46±2,04 ^{ab}	5,66±1,79 ^{ab}	5,69±1,96 ^{ab}	6,07±1,88 ^{ab}	6,17±1,75 ^b	5,45±2,09 ^{ab}
Sabor	5,07±2,12 ^{ab}	4,53±2,11 ^a	4,98±2,34 ^{ab}	5,08±2,27 ^{ab}	4,93±2,18 ^a	5,10±2,21 ^{ab}	5,60±2,26 ^b	5,62±2,13 ^b	4,73±2,39 ^a
Doçura	5,51±2,21 ^{ab}	4,90±2,12 ^a	5,00±2,27 ^a	5,18±2,20 ^{ab}	4,87±2,09 ^a	5,07±1,99 ^{ab}	5,68±2,12 ^b	5,67±2,12 ^b	4,88±2,17 ^a
Consistência	5,67±1,94 ^{abc}	5,41±1,97 ^{ab}	5,55±1,99 ^{abc}	5,65±1,94 ^{abc}	5,41±1,95 ^{ab}	5,49±1,96 ^{ab}	5,87±1,87 ^{bc}	5,97±1,89 ^c	5,30±2,03 ^a

* a, b, c, d As pontuações (média e desvio padrão) seguidas da mesma letra (mesma coluna) não diferem entre si. Escala hedônica: (9) Gostei extremamente; (8) Gostei muito; (7) Gostei moderadamente; (6) Gostei ligeiramente; (5) Nem gostei e nem desgostei; (4) Não gostei ligeiramente; (3) Não gostei moderadamente; (2) Não gostei muito; (1) Não gostei extremamente. ** A35 (Sacarina 0,5% (w/v)); A36 (Estévia 0,5% (w/v)); A37 (Sucralose 0,38% (w/v)); A38 (0,25% (w/v) Sacarina e 0,25% (w/v) Estévia); A39 (0,25% (w/v) Estévia e 0,19% (w/v) Sucralose); A40 (0,19% (w/v) Sucralose e 0,25% (w/v) Sacarina); A41 (0,165% (w/v) Estévia, 0,165% (w/v) Sacarina e 0,13% (w/v) Sucralose); A42 (0,165% (w/v) Sacarina, 0,13% (w/v) Sucralose e 0,165% (w/v) Estévia); A43 (0,13% (w/v) Sucralose, 0,165% (w/v) Estévia e 0,165% (w/v) Sacarina)

Notou-se através da avaliação sensorial das nove formulações, que no atributo de Impressão Global, a formulação (A39) diferiu das formulações (A41) e (A42), no nível de 5% de probabilidade (p -valor $< 0,05$). As formulações (A41) e (A42) se aproximaram da categoria “gostei ligeiramente” da escala Hedônica de nove pontos.

No atributo Cor, observou-se que não houve diferença significativa entre as formulações, no nível de 5% de probabilidade (p -valor $> 0,05$). Todas as formulações situaram-se na categoria “gostei ligeiramente”.

Para o atributo Aparência, notou-se que a amostra (A43), diferiu das formulações (A35) e (A40), no nível de 5% de probabilidade (p -valor $< 0,05$). Todas as formulações situaram-se na categoria “gostei ligeiramente”. A diferença apresentada entre estas amostras, pode ser atribuída a decantação dos sólidos constituintes da bebida em razão do tempo necessário para análise sensorial dos avaliadores não treinados, o que variou subjetivamente entre os participantes. Enfatiza-se que as características visuais de um alimento podem contribuir para motivar o consumidor para a sua percepção de um determinado sabor almejado (DUTCOSKY, 2013).

Observou-se que no atributo Aroma, as formulações (A35) e (A42), diferiram entre si, no nível de 5% de probabilidade (p -valor $< 0,05$). Todas as formulações situaram-se na categoria “gostei ligeiramente”. Observou-se que a intensidade de sabor e aroma presentes em bebidas, diferenciaram-se de acordo com os tipos de adoçantes utilizados (HEWSON et al., 2008; MATYSIAK et al., 1991; WISEMAN e MCDANIEL, 1991). Estudos anteriores também relataram que as quantidades de compostos aromáticos liberados no *headspace* das bebidas e seu comportamento variavam de acordo com os tipos de adoçantes ou suas concentrações (DA PORTO et al., 2006; DEIBLER AND ACREE, 2000; HANSSON et al., 2001; KING et al., 2006; NAHON et al., 1998; RABE et al., 2003). Desta maneira, a diferença observada nas amostras quanto ao atributo aroma, possivelmente esteja atribuído à influência dos adoçantes nas bebidas fermentadas a base de extrato de arroz. Adoçantes podem no entanto, influenciarem na cinética de liberação da boca de odorantes durante o consumo das bebidas, e conseqüentemente, alteram a composição do aroma retronasal. Mudanças na composição do aroma devido aos

adoçantes podem resultar em diferentes percepções de aroma das bebidas (ITOBÉ e KUMAZAWA, 2017).

Em relação ao atributo Sabor, notou-se que as formulações (A36), (A43), e (A35), diferiram das formulações (A41) e (A42), no nível de 5% de probabilidade (p -valor $< 0,05$), embora as formulações A43, A41 e A42, tenham a mesma composição, os avaliadores não identificaram esta similaridade, o que é normal em consumidores/avaliadores no caso de amostras repetidas, considerando-se que não são tecnicamente treinados, opinando livremente quanto a sua percepção de gostar ou não gostar das amostras que lhes são apresentadas para avaliação quanto aos atributos sensoriais. As formulações (A35), (A36), (A37), (A38), (A39), (A40), e (A43), apresentaram-se na categoria “indiferente”, comportamento que pode ser atribuído ao fato de que o adoçante estévia, embora seja 150 a 300 vezes mais doce do que a sacarose, apresenta um forte gosto residual (*aftertaste*), de acordo com Dutra e Bolini (2013), e ao gosto amargo residual da sacarina segundo Cardello; Da Silva; Damásio (2000). As formulações (A41) e (A42), situaram-se na categoria “gostei ligeiramente”, embora com a mesma composição (sacarina, estévia e sucralose), não identificadas pelos consumidores, apresentaram avaliações próximas, e a combinação dos três adoçantes pode ter contribuído para uma melhor aceitação destas formulações.

Notou-se que para o atributo Doçura, as amostras (A39), (A43), (A36), (A37), diferiram das amostras (A42) e (A41), no nível de 5% de probabilidade (p -valor $< 0,05$). As amostras (A41) e (A42) apresentaram-se na categoria “Gostei ligeiramente”; ressalta-se que o uso de sucralose associado a outros edulcorantes possibilita melhor estabilidade e aceitação segundo Katrin e Manczyk (2003).

Considerando-se o atributo Consistência, observou-se que a amostra (A43) diferiu das amostras (A41) e (A42), no nível de 5% de probabilidade (p -valor $< 0,05$); ressalta-se, porém, que estas três amostras possuem a mesma formulação, o que denota que os consumidores por não serem treinados, não distinguiram a semelhança, uma vez que as três amostras foram codificadas diferentemente impossibilitando a sua identificação. A amostra (A42) diferiu das amostras (A35), (A36) e (A40), no nível de 5% de probabilidade (p -valor $< 0,05$). As amostras (A35), (A38), (A41) e (A42), situaram-se na categoria “Gostei Ligeiramente”.

A Análise de Componentes Principais efetuada apresenta os resultados dos atributos através das Figuras 12 a 19.

Figura12 Análise do atributo Impressão Global.

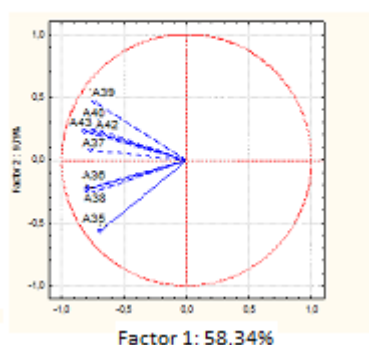
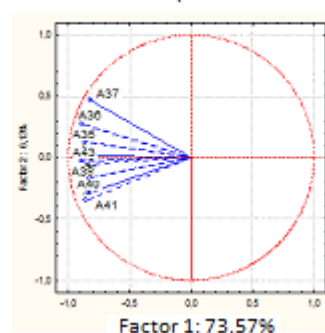


Figura 13-Análise do atributo Aparência.



Observou-se que houve uma correlação positiva entre as nove amostras nas Figuras 12 e 13. Observando-se a Figura 12, as formulações de bebida fermentada de extrato de arroz (A36), (A41) mostram uma correlação muito próxima, sugerindo que não apresentam diferença sobre a característica de impressão global pelos consumidores. Observou-se que houve 58,34% da variabilidade entre as formulações, explicados pelo primeiro componente principal e deve-se ao atributo de impressão global, que apresentou correlação de 0,68; 0,77; 0,76; 0,79; 0,73; 0,75; 0,79; 0,74 e 0,81 respectivamente, com este componente. A Figura 13 apresenta os resultados para o atributo de aparência; notou-se a variabilidade de 73,57% entre as formulações, explicados pelo primeiro componente principal, com uma correlação de 0,86; 0,88; 0,81; 0,89; 0,82; 0,83; 0,86; 0,88; e 0,83 respectivamente com este componente.

Figura 14- Análise do Atributo Cor.

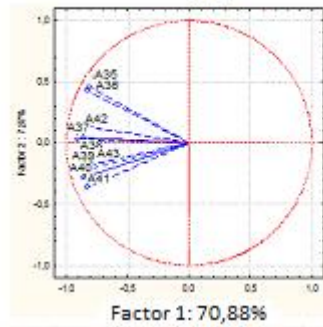
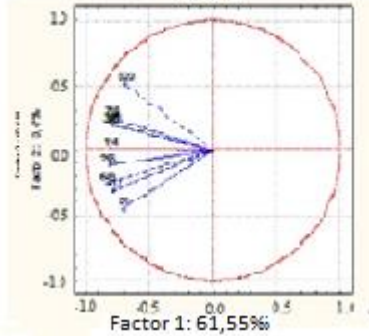


Figura 15- Análise do Atributo Aroma.



As Figuras 14 e 15 apresentaram uma correlação positiva. A Figura 14 apresentou uma variabilidade de 70,88% entre as formulações, explicados pelo primeiro componente principal e deve-se ao atributo de cor, que apresentou uma correlação de 0,80; 0,82; 0,85; 0,90; 0,86; 0,85; 0,82; 0,80 e 0,83 respectivamente nas nove bebidas formuladas. A Figura 15 apresentou uma variabilidade de 61,55% entre as formulações, explicado pelo primeiro componente principal e deve-se ao atributo de aroma, com uma correlação de 0,71; 0,83; 0,78; 0,83; 0,79; 0,69; 0,80; e 0,81, respectivamente para as bebidas formuladas A35, A36, A37, A38, A39, A40, A41, A42 e A43.

Figura 16- Análise do atributo Sabor

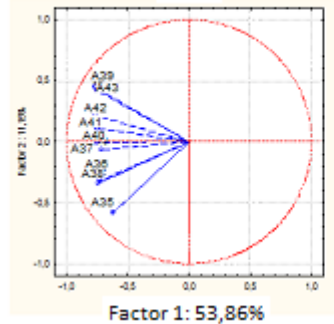
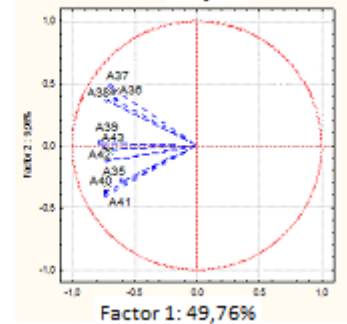


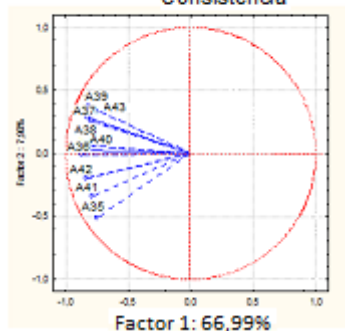
Figura 17- Análise do atributo Doçura



As Figuras 16 e 17 apresentaram uma correlação positiva. A Figura 16 apresentou uma variabilidade de 53,86% entre as amostras, explicado pelo primeiro componente principal e deve-se ao atributo de sabor, com uma correlação de 0,62, 0,73; 0,71; 0,74; 0,77; 0,75; 0,75; 0,77 e 0,75 respectivamente para as nove formulações, A35, A36, A37, A38, A39, A40, A41, A42, e A43. A Figura 17 apresentou uma variabilidade de 49,76% entre as formulações, explicado pelo primeiro componente principal e deve-se ao atributo de doçura, com uma correlação

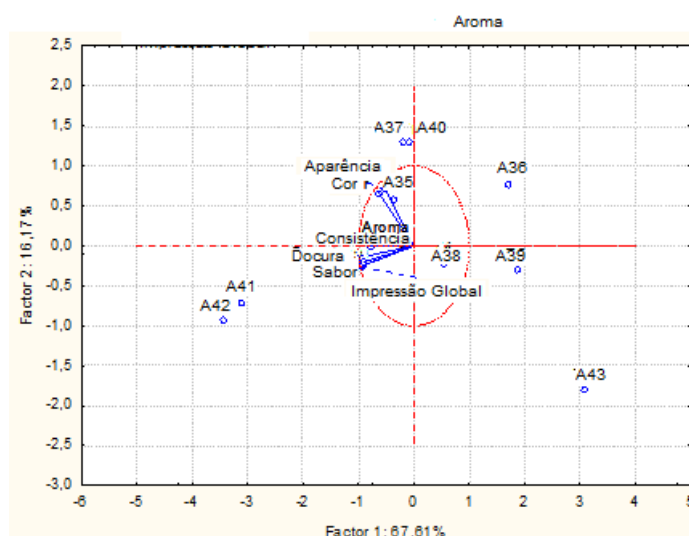
de 0,62; 0,64; 0,69; 0,71; 0,78; 0,73; 0,72; 0,72 e 0,73 respectivamente para as nove bebidas formuladas.

Figura 18- Análise do atributo Consistência



Observou-se uma correlação positiva entre as amostras na Figura 18, apresentando uma variabilidade de 66,99% entre as formulações, explicado pelo primeiro componente principal e deve-se ao atributo de consistência, com uma correlação de 0,74; 0,87; 0,79; 0,85; 0,82; 0,84; 0,79; 0,83 e 0,82 respectivamente para as nove formulações.

Figura 19- Correlação entre formulações e atributos



Observa-se na Figura 19 que 84% da variabilidade dos dados é explicada pelos dois primeiros componentes principais. Os atributos impressão global, doçura,

sabor e consistência são os atributos mais representativos, pois estão fortemente correlacionados ao primeiro componente (0,96; 0,94; 0,93; 0,90 respectivamente). Os atributos aroma, cor e aparência apresentam uma correlação de 0,77; 0,63 e 0,51 respectivamente para o primeiro componente. As formulações A41 e A42 foram as que mais contribuíram para representar os atributos impressão global, doçura, sabor e consistência. Todavia, as formulações A35, A37 e A40 contribuíram para os atributos aparência e cor. Observa-se que as amostras A43, A39, A38 e A36 não tiveram contribuição para os atributos sensoriais.

5.5.1 Análise do Planejamento de Misturas

Para otimizar a formulação da bebida fermentada a base de extrato de arroz adicionada de adoçante, um planejamento de misturas simplex foi aplicado, sendo os experimentos realizados conforme descrito na Tabela 14. Foram avaliados como resposta a soma das notas de 120 provadores, obtidas através da aplicação do teste da escala hedônica estruturada de 9 pontos (*INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION, 1987; MININ, 2006; FARIA e YOTSUYANAGI, 2002; MEILGAARD, CIVILLE, CARR, 2007; DUTCOSKY 2013*), atribuídas pelos avaliadores não treinados aos atributos: impressão global, cor, aparência, aroma, sabor, doçura e consistência, efetuada na primeira análise sensorial, conforme a Tabela 13. Observando-se os dados da Tabela 14, verifica-se que as maiores notas em todos os atributos avaliados foram dadas aos experimentos A41 e A42, que correspondem ao ponto central do planejamento de misturas, indicando maior aceitação dessa formulação pelos provadores. Em outras palavras, a formulação de maior aceitação foi a que fez a adição de uma mistura ternária dos adoçantes sacarina, sucralose e stévia (0,33;0,33;0,33) a bebida fermentada a base de extrato de arroz.

Tabela 14- Descrição das 8 formulações de bebida fermentada a base de extrato de arroz do planejamento de misturas simplex

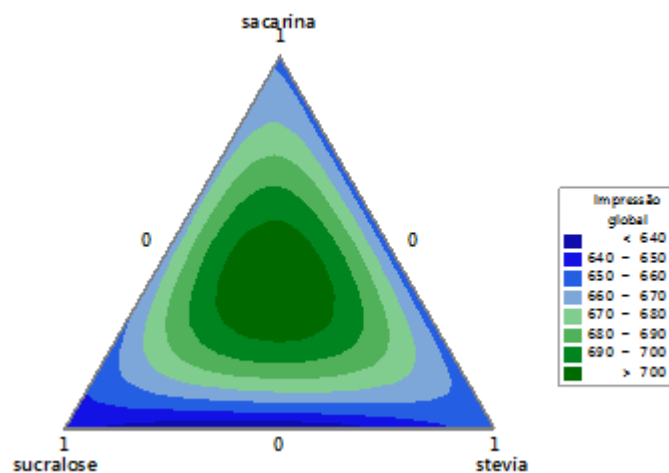
Ensaio	Sacarina	Sucralos e	Stevia	Atributos [±]						
				IG	Cor	AP	AR	SB	DC	CS
1	1	0	0	659	730	731	654	608	662	681
2	0	1	0	644	729	711	686	544	588	650
3	0	0	1	658	743	720	714	598	600	667
4	0,5	0,5	0	664	740	728	683	612	608	659
5	0,5	0	0,5	654	725	710	655	610	622	678
6	0	0,5	0,5	632	731	684	719	592	585	650
7	0,33	0,33	0,33	706	742	706	728	672	682	705
8	0,33	0,33	0,33	712	733	717	740	675	681	717

Fonte: Autoria Própria

* soma das notas da escala hedônica atribuídas por 120 provadores não treinados para cada atributo; IG = Impressão Global; AP = aparência; SB = sabor; DC= doçura; CS= consistência

Para verificar se todos os atributos são importantes na otimização da formulação de bebida fermentada a base de extrato de arroz adicionada de adoçantes foram avaliados diferentes modelos de regressão, linear, quadrático e especial cúbico para todos os atributos analisados (impressão global, cor, aparência, aroma, sabor, doçura e consistência) e os resultados são apresentados na Tabela 15. Foram obtidas regressões significativas no nível de 95% de confiança somente para os atributos impressão global, sabor e doçura. Estes resultados indicam que adoçantes isolados ou de misturas binárias ou ternárias destes poderiam ser adicionados a bebida fermentada a base de extrato de arroz sem influenciar significativamente nos atributos de cor, aparência, aroma e consistência desta bebida. A análise dos gráficos de contorno também demonstra que uma maior aceitação das formulações a base de extrato de arroz fermentado, podem ser alcançadas quando se adicionam as bebidas misturas ternárias dos adoçantes sacarina, sucralose e stévia. Na Figura 20 pode ser visualizado o gráfico de contorno gerado pelo ajuste do modelo cúbico especial ao atributo de impressão global.

Figura 20- Gráfico de contorno gerado pelo ajuste do modelo cúbico especial aos resultados do atributo de impressão global

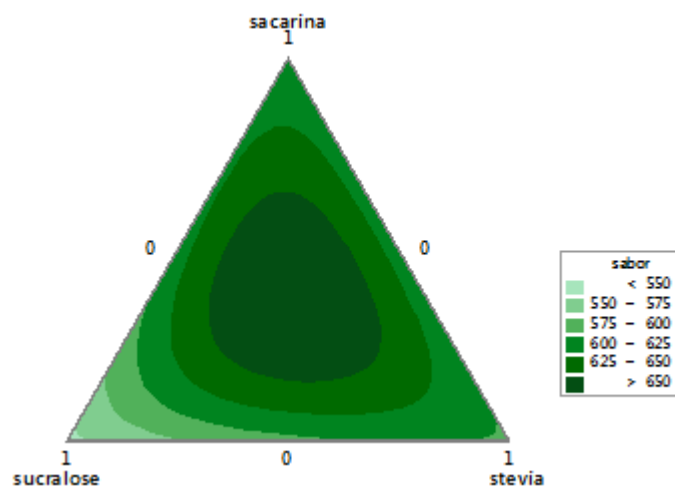


Fonte: Autoria Própria

Na Figura 20, observa-se que para o uso de um único tipo de adoçante na bebida, considerando-se a impressão global, a sacarina apresentou maior valor médio. Entretanto, notou-se que a mistura binária (composta por dois adoçantes diferentes), com a presença da sacarina, apresentou maior valor médio. A mistura ternária (composta por três adoçantes diferentes), apresentou maior valor médio, enfatizando-se que contribui para uma maior aceitação do atributo sensorial de impressão global.

Na Figura 21 pode ser visualizado o gráfico de contorno gerado pelo ajuste do modelo cúbico especial ao atributo sabor.

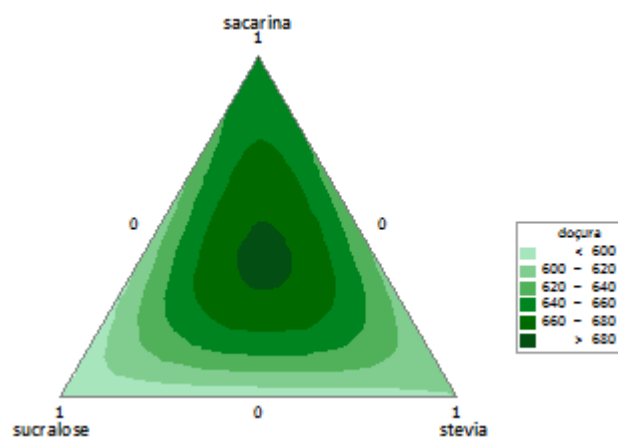
Figura 21- Gráfico de contorno gerado pelo ajuste do modelo cúbico especial aos resultados do atributo sabor



Fonte: Autoria Própria

Na Figura 21 observa-se que para o uso de um único tipo de adoçante na bebida relevando-se o atributo sabor, a sacarina apresentou maior valor médio. Entretanto, para uma análise ponderando-se sob o uso de uma mistura binária (composta pelo uso de dois adoçantes diferentes), observou-se que a mistura binária composta por estévia e sacarina apresentou maior valor médio. Já para uma mistura ternária (composta pela mistura de três tipos de adoçantes diferentes), observa-se que esta apresentou maior valor médio, acentuando que esta combinação contribui para uma maior aceitação para o atributo sabor por parte dos provadores. Na Figura 22 pode ser visualizado o gráfico de contorno gerado pelo ajuste do modelo cúbico especial ao atributo de doçura.

Figura 22- Gráfico de contorno gerados pelo ajuste do modelo cúbico especial aos resultados do atributo doçura



Fonte: Autoria Própria

Na Figura 22 observou-se que para o uso de um único tipo de adoçante na bebida relevando-se o atributo doçura, a sacarina apresentou maior valor médio. Entretanto, para uma análise ponderando-se sob o uso de uma mistura binária (composta pelo uso de dois adoçantes diferentes), observou-se que a mistura binária composta por estévia e sacarina apresentou maior valor médio. Já para uma mistura ternária (composta pela mistura de três tipos de adoçantes diferentes), observa-se que esta apresentou maior valor médio, acentuando que esta combinação contribui para uma maior aceitação para o fator da doçura por parte dos provadores.

De acordo com Geraldo (2014), a sacarina foi o primeiro edulcorante a ser sintetizado quimicamente, sendo também de baixo custo. O seu poder edulcorante é muito superior perante a sacarose (300 vezes) (MONTEBELLO et al., 2007), o que muitas vezes justifica o seu uso em produtos alimentícios. O adoçante estévia, possui o poder de doçura em torno de 150 a 300 vezes superior comparado a sacarose, Dutra e Bolini (2013). Entretanto, a estévia apresenta um forte gosto residual (*aftertaste*), de acordo com Dutra e Bolini (2013), assim como a sacarina possui gosto amargo residual segundo Cardello; Da Silva; Damásio (2000). Segundo Serbai et al. (2014), a sinergia de edulcorantes pode contribuir para “mascarar” o sabor metálico e amargo que algum adoçante pode apresentar. Katrin e Manczyk (2003) acentuam que o uso de sucralose associado a outros edulcorantes possibilita

melhor estabilidade e aceitação. Neste sentido, segundo os autores Serbai et al. (2014), tanto quanto Katrin e Manczyk (2003), a combinação de misturas dos edulcorantes pode contribuir para melhorar a aceitação do produto, fato este observado nas Figuras 20,21 e 22.

Através dos valores de p obtidos para a regressão (Tabela 15) verifica-se que o modelo cúbico especial ajustado aos atributos de impressão global, sabor e doçura é significativo já que valores de $p < 0,05$ foram observados. Os valores do coeficiente de determinação ajustado (R^2) demonstram que há uma boa correlação entre a resposta obtida experimentalmente e a resposta calculada pelo modelo cúbico especial pois para os atributos citados acima foram obtidos valores de R^2 superiores a 99%.

Tabela 15- Análise da variância (ANOVA) dos modelos linear, quadrático e cúbico especial para os atributos de impressão global, sabor e doçura obtidos da análise sensorial de aceitação do leite fermentado a base de extrato de arroz

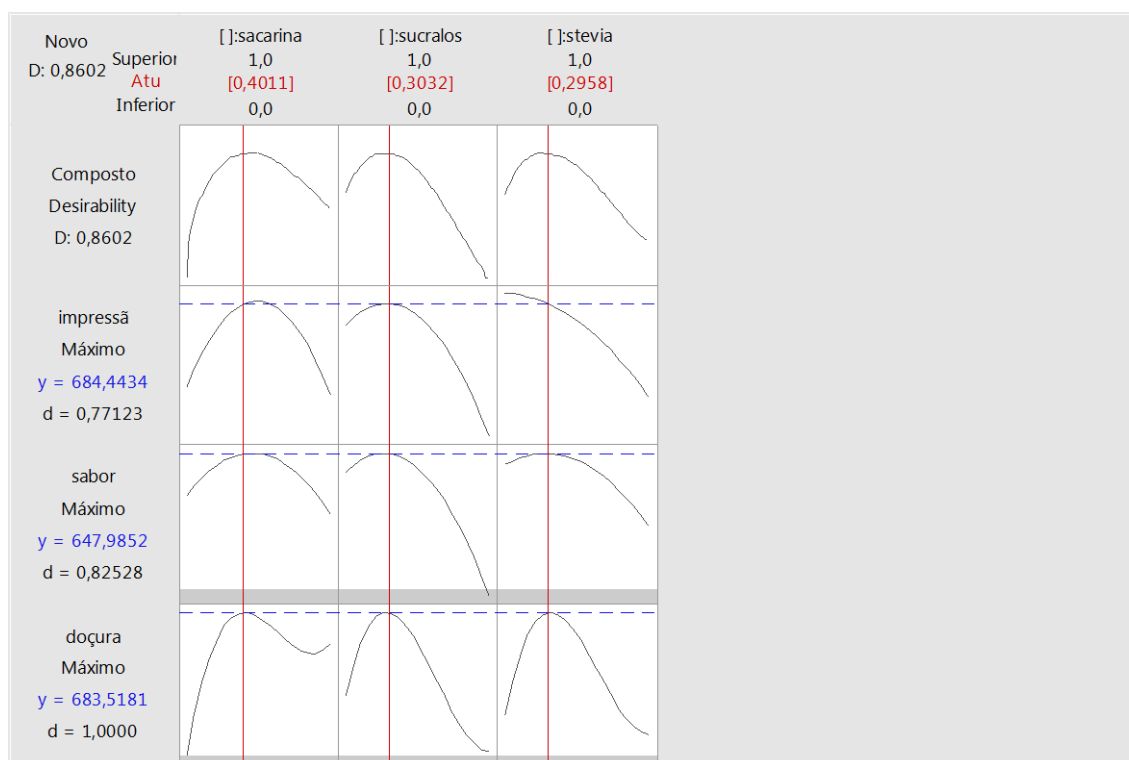
Atributo	Modelo	R ²	valor F	Valor p
Impressão Global	Cúbico Especial	97,76	178,36	0,048
	Quadrático	42,52	0,44	0,752
	Linear	4,97	73,89	0,087
Sabor	Cúbico Especial	99,75	749,44	0,023
	Quadrático	7,52	1,41	0,441
	Linear	17,81	0,54	0,612
Doçura	Cúbico Especial	99,97	11441,58	0,006
	Quadrático	50,46	0,23	0,868
	Linear	33,07	1,24	33,07
Cor	Cúbico Especial	9,39	0,83	0,529
	Quadrático	17,04	1,86	0,369
	Linear	10,10	0,28	0,766
Aparência	Cúbico Especial	72,06	1,08	0,487
	Quadrático	70,88	4,28	0,195
	Linear	96,01	1,66	0,481
Aroma	Cúbico Especial	93,29	28,33	0,118
	Quadrático	1,61	0,83	0,587
	Linear	36,83	1,46	0,317
Consistência	Cúbico Especial	88,20	30,60	0,114
	Quadrático	46,75	0,35	0,801
	Linear	19,16	0,59	0,588

Fonte: Autoria Própria

O objetivo da aplicação do planejamento de misturas foi otimizar a formulação de bebida fermentada a base de extrato de arroz adicionado de adoçantes. A partir do ajuste do modelo cúbico especial e da aplicação da função de desejabilidade, foram definidos valores ótimos dos adoçantes estudados para se alcançar valores máximos para os atributos de impressão global, sabor e doçura. Na Figura 23

podem ser observados os resultados da otimização; os valores de d variam de 0 a 1, e referem-se a quão aceitável é a resposta otimizada obtida, podendo ser verificado que nesse trabalho foram alcançados valores de d , entre 0,77 e 1,00 com uma desejabilidade composta (D) de 0,86 o que demonstra uma excelente aceitação das respostas otimizadas.

Figura 23- Representação gráfica do perfil de desejabilidade obtido na otimização da formulação de leite fermentado a base de extrato de arroz adicionado de adoçantes



Fonte: Autoria Própria

A composição de adoçantes que resultou em uma resposta máxima para os atributos de impressão global, sabor e doçura foi obtida para a mistura ternária de sacarina (0,4), sucralose (0,3) e stévia (0,3). Para tanto, a composição ótima de adoçantes foi adicionada a uma nova formulação da bebida fermentada a base de extrato de arroz que foi inserida na próxima análise sensorial, conforme estudos apontados no item 5.6.

5.6 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E ANÁLISE SENSORIAL DAS BEBIDAS FORMULADAS A BASE DE EXTRATO DE ARROZ EM COMPARATIVO À DUAS MARCAS DE LEITES FERMENTADOS COMERCIAIS

Em prosseguimento a pesquisa, com intuito de observar qual das formulações elaboradas teria maior aceitação pelos consumidores, prepararam três formulações a base de extrato de arroz, em que uma delas apresentava o mel como substrato, e as outras duas formulações perfizeram uso de adoçantes.

Para que a mistura base apresente as características de uma bebida probiótica, primordialmente deve-se analisar o comportamento lácteo da cultura probiótica em meio da base da bebida proponente. Outro fator a ser analisado é o tempo de desenvolvimento do inóculo que deve atingir a contagem mínima de microrganismos para caracterizar uma bebida como probiótica.

Na Tabela 16 são apresentadas as características físico-químicas em particular quanto ao desenvolvimento das culturas lácticas em meio de extrato de arroz presente nas formulações, sendo diferenciadas pelo substrato utilizado (mel e adoçantes). Os atributos analisados foram a contagem de bactérias acidoláticas, a acidez, o pH e o tempo do processo de fermentação das culturas lácticas envolvidas.

Tabela 16- Características físico-químicas expressas como médias \pm desvios padrão das bebidas formuladas em relação a fermentação láctica.

Formulações	Contagem de Bactérias Acidoláticas	Acidez (°D)	pH	Tempo de fermentação (minutos)
A45	11,87 \pm 0,35 ^a	59 \pm 0,08 ^a	4,72 \pm 0,00 ^a	270 \pm 0,00 ^a
A46	10,23 \pm 0,62 ^b	62 \pm 0,02 ^a	4,68 \pm 0,00 ^a	495 \pm 0,00 ^b
A47	9,64 \pm 0,47 ^b	58 \pm 2,07 ^a	4,75 \pm 0,00 ^a	510 \pm 0,00 ^b
Valor de p	<0,05	>0,05	>0,05	<0,05

A45 (14% (m/v) extrato de arroz, 12% (m/m) mel); A46 (14% (m/v) extrato de arroz (0,20% (v/v) sacarina + 0,12% (v/v) estévia + 0,11% (v/v) sucralose); A47 (0,165% (v/v) sacarina + 0,165% (v/v) estévia + 0,165% (v/v) sucralose).

Fonte: Autoria Própria

Para a contagem de bactérias acidoláticas, as três formulações A45, A46 e A47 apresentaram contagens entre 9,64 a 11,87, não apresentando diferença significativa no nível de 95% de confiança ($p > 0,05$) entre as formulações que

perfizaram uso de adoçantes. Entretanto, a formulação que utilizou o mel como substrato apresentou diferença das demais formulações. Inicialmente, sobre os resultados obtidos para a contagem de bactérias acidoláticas, observou-se que todos os valores quando confrontados com a legislação de leites fermentados segundo Brasil (2007), (preconiza-se uma contagem de cultura probiótica acima de 10^6 UFC/mL), apresentaram-se condizentes, acentuando-se a característica de ser probiótico.

Para os valores de pH e acidez, as formulações não apresentaram diferença significativas no nível de 95% de confiança ($p > 0,05$), sendo que os valores obtidos se encontravam próximos do valor de referência do pH controle.

Com relação ao tempo de fermentação necessário para a elaboração das formulações, observou-se que entre as formulações que fizeram o uso de adoçantes diferentes como substrato (8 h e 25 min e 8h e 30 min), não apresentaram diferença significativas no nível de 95% de confiança ($p > 0,05$). Mas em comparação à formulação em que se utilizou o mel como substrato, observou-se que esta formulação apresentou um tempo muito reduzido de fermentação (em torno de 4h e 30min) em comparativo às formulações que fizeram o uso de adoçantes. Inicialmente, as três formulações não diferem nos tipos de carboidratos oriundos do extrato de arroz, ao qual Carvalho e Bassinello (2006) acentuam que o arroz contém aproximadamente 90% de amido. Demirc et al. (2017), em estudos mais recentes, destacam dentre algumas propriedades do arroz, a de ser fonte de fibra alimentar e de alguns carboidratos como hemicelulose, arabinogalactana, arabinoxilano, xiloglucano, proteoglicano, arabinofuranosídeo e rafinose. Segundo Wani *et al.* (2012), os carboidratos compõem-se como o principal constituinte do arroz, sendo que destes, o amido representa cerca de 80 % do peso seco do grão, e os outros 20 % são correspondentes a açúcares livres e fibras. Em diferenciação as demais formulações, a A45 também tem em sua composição o substrato de mel, sendo este também uma fonte de açúcares que neste caso se somam com os carboidratos do arroz, tendo assim maior disponibilidade de substrato para o desenvolvimento dos inóculos lácticos. De acordo com Somme et al. (2015), o mel é composto em grande parte por carboidratos, como: glicose, frutose, sacarose, maltose e trealose.

Em prosseguimento aos estudos, a tabela 17 apresenta os valores obtidos para a caracterização físico-química realizada nas formulações A45 a A47.

Tabela 17- Caracterização físico-química das bebidas formuladas A45 a A47

Formulações	Cinzas (%)	°Brix (%)	Umidade (%)	Carboidratos (%)	Proteínas (%)	Lipídeos (%)
A45	0,07±0,06 ^a	13,0±0,00 ^a	89,6±0,03 ^a	12,9 ±0,03 ^a	0,79 ±0,09 ^a	0,03 ±0,00 ^a
A46	0,04 ±0,03 ^b	6,2 ±0,00 ^b	93,9 ±0,08 ^a	7,5 ±0,05 ^b	0,65 ±0,07 ^b	0,03 ±0,00 ^a
A47	0,03±0,02 ^b	6,2 ±0,00 ^b	92,2 ±0,04 ^a	7,2 ±0,02 ^b	0,62 ±0,05 ^b	0,03 ±0,00 ^a
Valor de p	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	>0,05

Fonte: Autoria Própria

Como pode-se observar a formulação que fez uso do mel como substrato (A45) apresentou maior percentual de minerais em comparativo as formulações que utilizaram em substituição ao mel os adoçantes dietéticos específicos. Essa diferença pode ser justificada devido ao mel apresentar em sua composição alguns minerais. Conforme Osterkamp (2009) o mel pode variar entre 0,2 a 0,6% de minerais, destacando-se, Potássio (K), Sódio (Na), Cálcio (Ca) e Magnésio (Mg), (Biluca, 2016). Em comparação entre as formulações que utilizaram o adoçante como substrato, (A46 e A47) não houve diferenças significativas entre elas, mas em contrapartida, ambas as bebidas se diferenciaram da bebida que fez uso do mel. Os adoçantes utilizados como substrato nas bebidas (A46 e A47) apresentam em sua composição química unicamente os carboidratos específicos (sacarina, estévia, sucralose) os quais desempenham a função de auxiliar e melhorar a palatabilidade das bebidas, substituindo os açúcares de cadeia curta (de alto índice glicêmico) e podendo ser uma opção de consumo às pessoas que possuem restrição a consumo de açúcares.

Para o atributo de °Brix, observou-se que a formulação que utilizou o mel apresentou valor superior (13%) comparado às formulações que adotaram o adoçante como substrato substitutivo para auxiliar na doçura das bebidas (6,2%). O mel em sua composição majoritariamente é composto por 85% a 95% dos carboidratos, onde 80% são monossacarídeos (frutose 39,3% e glicose 32,9%) (WHITE JÚNIOR, 1979). Entretanto os adoçantes (sacarina e sucralose) são edulcorantes artificiais os quais não apresentam calorias em quantidade significativa, onde segundo a American Heart Association (GARDNER et al., 2012), a American Diabetes Association (GARDNER et al., 2012) e a Academia de Nutrição

e Dietética (FITCH; KEIM, 2012) por serem adoçantes não calóricos, são amplamente usados por pessoas com diabetes ou com o objetivo de reduzir calorias ou ingestão de carboidratos. A stévia diferencia-se por ser um adoçante de origem natural, proveniente de uma erva pertencente a família Asteraceae, sendo nativa da América do Sul, mas é semelhante no quesito de ser um adoçante que possui um poder de doçura superior comparado a sacarose, e não apresenta calorias em quantidade significativa. Neste sentido, os três adoçantes utilizados contribuem para a redução dos valores obtidos em °Brix nas formulações A46 e A47.

Em relação a análise de umidade, observa-se que não houve diferenças significativas entre as bebidas analisadas, apresentando valores próximos com o intervalo de confiança de 95%.

Já para a análise de carboidratos, observa-se que a formulação que fez uso do mel como substrato (A45) apresentou valor superior (12,9%) em comparativo as formulações (A46 e A47) que utilizaram os adoçantes (7,5% e 7,2% de carboidratos) como substrato. Esta diferença justifica-se pois o mel segundo Gašić et al. (2015), Biluca et al. (2016), Se et al. (2018) e De-Melo et al. (2018) tanto quanto, Almeida (2002), Almeida-Anacleto (2007), Arruda (2003) e Sodre *et al* (2005), Ajlouni e Sujirapinyokul (2010) e Mendes *et al* (2009) apresenta em sua composição carboidratos como glicose, sacarose, frutose e maltose na proporção total de até 95% em massa. Em contrapartida, os adoçantes possuem um maior poder de doçura, mas uma relação muito pequena de peso em massa comparado aos açúcares comuns (sacarose, glicose, frutose, maltose e dentre outros), precisando de uma quantidade pequena em massa desses adoçantes com poder de doçura superior podendo chegar até algumas centenas de vezes em comparativo aos açúcares comuns citados anteriormente.

Quanto ao teor de proteína, observou-se que a formulação A45 diferenciou-se em comparativo as formulações A46 e A47, apresentando diferenças significativas no nível de 95% de confiança ($p < 0,05$).

A formulação A45 teve a adição do mel em sua composição, sendo este uma fonte de proteína para o produto, ao qual segundo da Silva et al. (2016), como Bath e Singh (1999) e Silva, Aquino e Rodrigues (2009), o teor de proteína pode variar em função de sua origem floral, podendo chegar a valores de até 2,76%.

Entretanto, nas formulações A46 e A47 não se utilizou o mel e sim os adoçantes, sendo assim, a única fonte de proteína seria do extrato de arroz.

Com relação ao teor de lipídeos, pode-se observar que as três bebidas não apresentaram diferenças significativas no nível de 95% de confiança ($p > 0,05$), onde o valor apresentado foi de 0,03% para as três formulações. Este valor justifica-se ao fato de as bebidas apresentarem como extrato base de composição, o arroz integral. Como já citado em outro momento neste trabalho, segundo a Normativa nº 14, de 22 de abril de 2013, o leite para ser considerado desnatado deve apresentar valor não superior a 0,5% de lipídeos para que tenha essa classificação, (BRASIL, 2013). Entretanto a bebida desenvolvida nesta pesquisa apresentou valor inferior a esta referência, e de acordo com a Resolução RDC nº54 de 12 de novembro de 2012, um alimento pode apresentar como informação nutricional complementar, o atributo “não contém”, se for composto de no máximo 0,5 g de gorduras totais (ANVISA, 2012). Sendo assim, as formulações elaboradas neste estudo, podem apresentar este atributo no rótulo.

Realizou-se um estudo comparativo da composição nutricional das bebidas fermentadas à base de extrato de arroz, com duas marcas A e B, comercializadas no mercado (sendo uma regional e outra nacional), na porção de consumo do produto (80g), conforme Tabela 18.

Tabela18 - Análise Comparativa da composição Nutricional das bebidas Fermentadas

Composição Nutricional/ Bebidas	Kcal	Proteína (g)	Carboidratos (g)	Gorduras totais (g)
A45	43,89	0,63	10,32	0,01
A46	24,73	0,52	6,04	0,01
A47	24,73	0,52	6,04	0,01
Marca A	56	2,0	13	0
Marca B	51	1,6	12	0

Fonte: Aatoria Própria

Observou-se que as bebidas desenvolvidas neste estudo apresentaram resultados menores para o valor energético, proteína, carboidratos e gorduras totais,

podendo se enquadrar como produtos de baixo valor energético e com relação à gorduras totais, pode-se utilizar o atributo “não contém” de acordo com a Resolução RDC nº 54 de 12 de novembro de 2012 (Brasil, 2012), o que pode atender à expectativa dos consumidores quanto à alternativas alimentares mais saudáveis.

5.6.1 Análise de minerais das bebidas fermentadas de extrato de arroz

Devido ao arroz ser um grão em que há a presença de minerais, torna-se interessante quantificar a sua presença, a fim de avaliá-lo como fonte para suprir as necessidades diárias. A Tabela 19 contém os dados referentes às análises físico-químicas das formulações A45 a A47.

Tabela 19- Determinação de minerais das bebidas fermentadas de extrato de arroz elaboradas

Tratamentos	MINERAIS (mg/100g)				
	Fósforo	Potássio	Cálcio	Ferro	Magnésio
A45	20,73±0,35 ^a	49,42±0,21 ^a	11,46±1,25 ^a	0,39±0,22 ^a	10,80±1,38 ^a
A46	18,34±0,79 ^b	18,22±0,33 ^b	5,22±0,67 ^b	0,23±0,85 ^b	7,68±0,42 ^b
A47	17,87±0,18 ^b	18,39±0,47 ^b	5,09±1,18 ^b	0,22±0,32 ^b	7,52±1,13 ^b
	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05

Fonte: Autoria Própria

Para os valores de minerais obtidos (fósforo, potássio, cálcio, ferro e magnésio) observou-se que há diferença significativa no nível de 95% de confiança ($p < 0,05$) entre as formulações. De forma geral, a formulação que se diferenciou das demais, perfazendo uso do mel como substrato, apresentou valores superiores para todos os minerais analisados em comparação às formulações que utilizaram os adoçantes como substrato. Entretanto, entre as formulações que utilizaram

adoçantes (A46 e A47), não se constatou diferença para os resultados obtidos em todos os minerais analisados.

Segundo Carvalho e Bassinello (2006), dentre outros nutrientes o arroz é um cereal que pode ser fonte de minerais tais como fósforo, cálcio, ferro e vitaminas do complexo B. Para a formulação que per fez uso do mel como substrato, ressalta-se que, a adição de mel, pode justificar uma pequena elevação no teor de cinzas devido à presença de minerais, pois segundo Brasil (2000) e Osterkamp (2009), o teor de cinzas do mel pode variar de 0,2 a 0,6 %. Em complementação, Bosi e Battaglini (1978), Alvarez-Suarez et al. (2010), acentuam que na composição do mel há a presença ferro (Fe), manganês (Mn), cromo (Cr) e selênio (Se), zinco (Zn), cobre (Cu), cálcio (Ca), magnésio (Mg), fósforo (P), além de sódio (Na), potássio (K) e cálcio (Ca). Desta forma, a variação dos resultados obtidos para a formulação A45 pode ser justificada, tendo o mel como fonte dos minerais analisados.

5.6.2 Contagem de bactérias acidoláticas

Para poder conferir a característica de ser probiótico, as bebidas fermentadas a base de extrato de arroz foram submetidas a análises de contagem de bactérias acidoláticas durante o intervalo de 0,7,14,21 e 28 dias de armazenamento. Desta forma, os resultados obtidos encontram-se na Tabela 20.

Tabela 20- Contagem de bactérias acidoláticas durante o período de 0, 7, 14, 21 e 28 dias

Formulações	CONCENTRAÇÃO (LOG/ mL)				
	Tempo				
	0	7	14	21	28
	Média	Média	Média	Média	Média
A45	11,87 ± 0,35 ^a	12,15 ± 0,57 ^a	12,41 ± 0,21 ^a	11,37 ± 0,43 ^a	10,73 ± 0,74 ^a
A46	10,23 ± 0,62 ^b	10,83 ± 0,43 ^b	11,33 ± 0,22 ^b	10,68 ± 0,38 ^b	9,63 ± 0,46 ^b
A47	9,64 ± 0,47 ^b	10,24 ± 0,71 ^b	9,48 ± 0,32 ^c	8,76 ± 0,78 ^c	8,22 ± 0,52 ^c
ANOVA (p-valor)	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05

Fonte: Autoria Própria

No decorrer do armazenamento das bebidas, observou-se que a contagem de células viáveis no tempo 0 a 14 dias aumentou para as formulações A45 e A46 e em seguida iniciou a diminuição de sua contagem até o tempo de 28 dias. A formulação A47 teve um aumento de sua contagem no intervalo de 7 dias e na sequência teve seu decaimento até 28^o dia de armazenamento. No entanto, entre as formulações, destacou-se a formulação A45 por apresentar maior contagem de bactérias ácido lácticas no início de seu armazenamento até o período final. A formulação A45 diferencia-se das demais formulações (A46 e A47) por apresentar como substrato a adição de mel na bebida, sendo o mel uma grande fonte de carboidratos como já citado em outros momentos nesse estudo.

Entretanto, as formulações A46 e A47, não apresentaram diferença significativa para a contagem de bactérias acidoláticas durante a estocagem no período de 0 a 7 dias, mas a partir de 14 dias, elas se diferenciaram. Ambas as bebidas (A46 e A47) apresentam em suas composições os adoçantes (sacarina, estévia e sucralose) mas diferenciam-se na proporção destes utilizados em cada bebida.

Durante os primeiros dias de armazenamento (14 dias) os micro-organismos ainda estavam em atividade, mas em um menor ritmo se comparado ao tempo de fermentação na fermenteira. Ao término do armazenamento (28 dias), constatou-se que as formulações variaram no número de células viáveis entre 10⁸ e 10¹⁰, demonstrando uma alta viabilidade por ser probiótico.

5.6.3 Análise microbiológica

Em prosseguimento ao estudo, para a realização da análise sensorial das bebidas probióticas fermentadas a base de extrato de arroz, no intuito de garantir a inocuidade dos alimentos aos provadores, fez-se necessário a realização da avaliação microbiológica das bebidas, e os resultados das três amostras encontram-se na Tabela 21.

Tabela 21- Resultados de qualidade microbiológica das amostras de bebidas fermentadas

**Sample	Salmonella/25mL	Coliformes 35 MPN/mL	Coliformes 45 MPN/mL	Yeasts and Molds MPN/mL
		10	10	
A45	Ausente	<3,0	<3,0	0
A46	Ausente	<3,0	<3,0	0
A47	Ausente	<3,0	<3,0	0
*Acceptance criteria	Ausente	10²	10	10² MPN/mL

Fonte: Autoria Própria

* De acordo com a Legislação Brasileira, Resolução nº 60 de 23 de dezembro de 2019

Em todas as formulações observou-se que o NMP de coliformes 35^o e 45^o (NMP/mL) apresentou valores inferiores a 3 NMP/mL para bolores, leveduras e para salmonella, não foi detectado presença de crescimento. Para tanto, de acordo com a legislação vigente (Brasil, 2019) as bebidas elaboradas também apresentaram valores em conformidade com a legislação para o consumo, garantindo a inocuidade aos avaliadores e consumidores.

5.7 ANÁLISE SENSORIAL COMPARATIVA DAS BEBIDAS FERMENTADAS FORMULADAS A BASE DE EXTRATO DE ARROZ E DUAS MARCAS COMERCIAIS DE LEITES FERMENTADOS

Nesta etapa realizou-se a análise sensorial utilizando-se a escala hedônica, para avaliar e comparar as três formulações a base de extrato de arroz, juntamente com duas marcas de leites fermentados adquiridas comercialmente. A Tabela 22, descreve a formulações envolvidas nesta etapa.

Tabela22- Formulações das bebidas envolvidas na Análise Sensorial

Formulações	Descrição
A45	Extrato de arroz 14% (m/v) e mel 12% (m/v)
A46	Extrato de arroz e adoçante (0,20% (v/v) sacarina + 0,12% (v/v) stévia + 0,11% (v/v) sucralose
A47	Extrato de arroz e adoçante (0,165% (v/v) sacarina + 0,165% (v/v) stévia + 0,13% (v/v) sucralose
A48	Leite fermentado comercializado localmente
A49	Leite fermentado comercializado nacionalmente

Fonte: Autoria Própria

A Tabela 23 apresenta os resultados da avaliação sensorial mediante o uso da Escala Hedônica de nove pontos.

Tabela 23- Dados da avaliação sensorial das amostras de bebida fermentada de arroz e de amostras de marcas regional e nacional de bebida fermentada

Atributos/ Amostras	*Média e desvio padrão				
	(A45)	(A46)	(A47)	(A48)	(A49)
Impressão global	6,68±0,71 ^c	5,40±0,60 ^a	5,92±0,71 ^b	5,53±0,84 ^a	7,41±0,73 ^d
Cor	6,09±0,57 ^b	5,63±0,48 ^a	5,91±0,54 ^b	5,72±0,54 ^a	6,43±0,56 ^c
Aparência	6,66±0,77 ^a	5,09±0,70 ^b	5,68±0,72 ^c	5,33±0,49 ^d	7,23±0,69 ^e
Aroma	6,45±0,75 ^c	5,68±0,50 ^a	5,63±0,85 ^a	5,18±0,82 ^b	6,76±0,59 ^d
Sabor	6,66±0,59 ^c	5,38±0,86 ^a	5,95±0,89 ^b	5,59±0,61 ^a	7,63±0,69 ^d
Doçura	6,95±0,61 ^c	5,46±0,77 ^b	6,35±0,64 ^a	6,58±0,68 ^a	7,49±0,81 ^d
Consistênc ia	5,72±0,76 ^b	6,14±0,71 ^a	6,38±0,77 ^a	6,16±0,81 ^a	6,71±1,15 ^c

*a,b,c médias na mesma linha, seguidas por letras diferentes, apresentaram diferença significativa entre si; A45 (fermentado de arroz+ mel); A46 (fermentado de arroz + 0,20% sacarina + 0,12% stévia + 0,11% sucralose); A47 (fermentado de arroz + 0,165% sacarina + 0,165% stévia + 0,13% sucralose); A48- (marca regional); A49 (marca nacional). Escala Hedônica: (9) Gostei extremamente; (8) Gostei muito ;(7) Gostei moderadamente; (6) Gostei ligeiramente; (5) Indiferente; (4) Desgostei ligeiramente; (3) Desgostei moderadamente; (2) Desgostei muito; (1) Desgostei extremamente

Fonte: Autoria Própria

Notou-se através da avaliação sensorial das três formulações (A45 a A47) e das duas marcas comerciais (A48 e A49), que no atributo de Impressão Global, todas as amostras diferiram entre si (p -valor $< 0,05$). A formulação de bebida fermentada de arroz adoçada com mel (A45) aproximou-se da categoria “gostei moderadamente”, a formulação de bebida fermentada de arroz adoçada com sacarina, estévia e sucralose (A46) situou-se na categoria “indiferente”, a formulação de bebida fermentada de arroz adoçada com a mesma proporção dos três adoçantes com (A47) aproximou-se da categoria “gostei ligeiramente”, e a marca regional (A48) apresentou-se na categoria “indiferente”, a marca nacional (A49) situou-se na categoria “gostei moderadamente”. Observou-se que a bebida fermentada de arroz adoçada com mel (A45), desenvolvida nesta pesquisa, apresentou um comportamento similar ao produto fermentado de marca nacional existente no mercado.

No atributo Cor, observou-se que não houve diferença significativa entre as formulações (A45) e (A47), (A46) e o produto de marca regional (A48), no nível de 5% de probabilidade (p -valor $> 0,05$), e a bebida fermentada de marca nacional (A49) diferiu das demais (p -valor $< 0,05$). As formulações (A45) e (A47), (A46) e a bebida fermentada de marca regional (A48), situaram-se na categoria “gostei ligeiramente”. A bebida fermentada de marca nacional (A49) aproximou-se da categoria “gostei moderadamente”.

Para o atributo Aparência, notou-se que todas as amostras diferiram entre si, no nível de 5% de probabilidade (p -valor $< 0,05$). A formulação (A45) situou-se entre a categoria “gostei ligeiramente” e “gostei moderadamente”, a formulação de bebida fermentada de arroz adoçada com 0,20% (v/v) sacarina + 0,12% (v/v) estévia + 0,11% (v/v) sucralose (A46) e a bebida fermentada de marca regional (A48) apresentaram-se na categoria “indiferente”, e a formulação de bebida fermentada de arroz adoçada com 0,165% (v/v) sacarina + 0,165% (v/v) estévia + 0,13% (v/v) sucralose (A47), situou-se na categoria “gostei ligeiramente”, a formulação de bebida fermentada de marca nacional existente no mercado apresentou-se na categoria “gostei moderadamente”.

Observou-se que no atributo Aroma, as formulações de bebida fermentada de arroz adoçada com 0,20% (v/v) sacarina + 0,12% (v/v) estévia + 0,11% (v/v) sucralose (A46) e de fermentado de arroz + 0,165% (v/v) sacarina + 0,165% (v/v)

estévia + 0,13% (v/v) sucralose (A47), não diferiram entre si no nível de 5% de probabilidade (p -valor > 0,05) e apresentaram-se aproximadamente na categoria “gostei ligeiramente”; as amostras (A45) e (A48) e (A49) diferiram entre si e das demais, no nível de 5% de probabilidade (p -valor < 0,05). Notou-se que a formulação de bebida fermentada de arroz e adoçada com mel desenvolvida neste estudo (A45), apresentou-se aproximadamente na categoria “gostei moderadamente” semelhante à amostra de bebida fermentada de marca nacional (A49). A amostra (A48) situou-se na categoria “indiferente” para o atributo de Aroma.

Para o atributo Sabor, notou-se que todas as amostras diferiram entre si, no nível de 5% de probabilidade (p -valor < 0,05). Notou-se que a formulação de bebida fermentada de arroz adoçada com mel (A45) e a amostra de bebida fermentada de marca nacional (A49) situaram-se na categoria “gostei moderadamente”, denotando um comportamento muito satisfatório da formulação (A45), desenvolvida neste estudo. A formulação A47 (fermentado de arroz + 0,165% (v/v) sacarina + 0,165% (v/v) estévia + 0,13% (v/v) sucralose) apresentou-se na categoria “gostei ligeiramente” e a formulação A46 (fermentado de arroz + 0,20% (v/v) sacarina + 0,12% (v/v) estévia + 0,11% (v/v) sucralose) situou-se na categoria “indiferente”, comportamento que pode ser atribuído ao gosto amargo residual (*aftertaste*) da sacarina (utilizada em maior quantidade) segundo Cardello; Da Silva; Damásio (2000).

Notou-se que para o atributo Doçura as formulações A47 (fermentado de arroz + 0,165% (v/v) sacarina + 0,165% (v/v) estévia + 0,13% (v/v) sucralose); A48 (marca regional), não diferiram entre si no nível de 5% de probabilidade (p -valor > 0,05) e situaram-se na categoria “gostei ligeiramente”. Observou-se que a formulação de bebida fermentada de arroz adoçada com mel elaborada neste estudo (A45) situou-se na categoria “gostei moderadamente” de modo similar à amostra de bebida fermentada de marca nacional (A49) que se apresentou na categoria “gostei moderadamente”.

Considerando-se o atributo Consistência, observou-se que as formulações A46 (fermentado de arroz + 0,20% (v/v) sacarina + 0,12% (v/v) estévia + 0,11% (v/v) sucralose); A47 (fermentado de arroz + 0,165% (v/v) sacarina + 0,165% (v/v) estévia + 0,13% (v/v) sucralose); e a amostra de marca regional (A48), não diferiram entre si no nível de 5% de probabilidade (p -valor > 0,05), ressaltando-se que as três

amostras se situaram na categoria “Gostei Ligeiramente”. A formulação de bebida fermentada de arroz adoçada com mel (A45) situou-se na categoria “gostei ligeiramente”.

Denota-se que a formulação de bebida fermentada de arroz adoçada com mel, apresentou um comportamento sensorial satisfatório quando comparada às formulações de bebida fermentada de arroz adoçadas com adoçante como sacarina, estévia e sucralose, e em relação às bebidas fermentadas (marca regional e marca nacional), mostrou uma avaliação melhor do que a marca regional. Este resultado indica que a bebida fermentada de arroz adoçada com mel, pode ser bem aceita no mercado consumidor, através de estudos posteriores para implementar os atributos sensoriais.

Nota-se que a busca dos consumidores por produtos naturais implementa a demanda por produtos apícolas e conseqüentemente a motivação para o uso do mel na alimentação humana, e este adoçante natural tem sido considerado não apenas por suas propriedades terapêuticas, mas também como suplemento alimentar sem a adição de outras substâncias durante a sua elaboração, justificado pela análise físico-química do mel, que demonstra a riqueza nutritiva de sua composição, que inclui micronutrientes como vitaminas, minerais (AZEREDO; AZEREDO; DUTRA, 2003). Denota-se que este produto possui propriedades terapêuticas que tem contribuído para que seja utilizado como agente de terapia natural por suas ações antibacteriana, antibiótica, anticárie, anti-inflamatória, antimicrobiana, bioestimulante, depurativa, emoliente, energética, imunoestimulante e cicatrizante (MATSUNO, 1997; MOTHERSHAW; JAFFER, 2004; HORIE et al., 2004; BEKERS et al., 2004; WAILI-AL, 2004; LIVIU et al., 2009). Denota-se que o mel é ainda considerado um produto de baixo risco toxicológico, sendo raro que apresente algum efeito tóxico (ABADIO FINCO; MOURA; SILVA, 2010).

CONCLUSÃO

O extrato de arroz mostrou-se uma base adequada para o desenvolvimento da cultura probiótica em bebidas fermentadas. Em comparação a outras bebidas probióticas a base de extrato vegetal (soja e grão de bico) e base animal (leite de vaca), a bebida formulada com extrato de arroz mostrou maior viabilidade do processo fermentativo por apresentar menor tempo de fermentação láctica. As formulações desenvolvidas apresentaram contagem de bactérias acidoláticas superiores ao encontrado na literatura, assegurando a sua característica probiótica. Dentre aos tipos de culturas probióticas utilizadas, a cultura SAB foi a mais adequada por ter proporcionado menor tempo de fermentação.

Quanto aos tipos de substratos utilizados para o desenvolvimento dos inoculos nas bebidas, o mel apresentou maior vantagem por necessitar de um tempo menor de fermentação, contribuindo para a saborização, agregando um valor nutricional na bebida. A proporção mais adequada para a composição da mistura base, foi de 14% (m/v) de arroz e 12% (m/v) de mel.

Para o processo de pasteurização e para o método de retenção do amido, o aquecimento indireto e o método de filtração com algodão mostraram-se mais eficazes, por contribuírem para uma melhor viscosidade da bebida fermentada, bem como na composição de sólidos totais.

Com relação ao uso de adoçantes no processo fermentativo, notou-se que não houve interferência no desenvolvimento das bactérias acidoláticas, apresentando contagens superiores ao mínimo preconizado pela legislação brasileira para ser considerado probiótico. De acordo com a Análise sensorial das formulações contendo adoçantes, a combinação da mistura de sacarina, sucralose e estévia obteve maiores medias para os atributos analisados. Na comparação das formulações com adoçantes (sacarina, sucralose e estévia) e mel, com duas bebidas fermentadas disponíveis no mercado regional e nacional, observou-se que as duas bebidas elaboradas nesse estudo apresentaram desempenho sensorial muito satisfatório, com avaliação melhor do que a marca regional.

Neste trabalho foi possível desenvolver formulações para consumidores intolerantes as proteínas de origem animal ou vegetal (soja) e também formulações

para consumidores diabéticos ou com restrição ao consumo de carboidratos, as quais podem ser facilmente adotadas em nível industrial.

Estas bebidas à base de extrato de arroz fermentado podem atender à demanda de consumidores alérgicos e / ou intolerantes ao leite e alérgicos à soja, uma vez que atualmente não existe no mercado nenhuma bebida à base de extrato arroz fermentado, sugerindo inovação tecnológica com caráter funcional.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA-ANVISA. Resolução RDC nº 2, de 7 de janeiro de 2002. Aprova o Regulamento Técnico de Substâncias Bioativas e Probióticos Isolados com Alegação de Propriedades Funcionais e ou de Saúde. Diário Oficial da República Federativa do Brasil. Brasília, 17 julho. Seção 1, nº 136, p.78, 2002. Disponível em: <<https://pesquisa.in.gov.br/imprensa/jsp/visualiza/index.jsp?data=17/07/2002&jornal=1&pagina=78&totalArquivos=104>> Acesso em 10/12/2020.

ABADIO FINCO, F.D.B.; MOURA, L. L.; SILVA, I.G. Propriedades físicas e químicas do mel de *Apis mellifera* L. **Ciência Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.30, n.3, p.706-712, jul.-set. 2010.

ABOU-ARAB, E.A.; ABU-SALEM, F.M. Evaluation of bioactive compounds of *Stevia rebaudiana* leaves and callus. *African Journal of Food Science*. v. 4, n. 10, p. 627-634, 17 Mai. 2010.

ABREU, C. R. A.; PINHEIRO, A.M.; MAIA, G.A.; CARVALHO, J.M.; SOUSA, P.H.M. Avaliação química e físico-química de bebidas de soja com frutas tropicais. *Alimentos e Nutrição Araraquara*: v.18, n.3, p. 291-296, 2007.

ABUDULA, R.; JEPPESEN, P.B.; ROLFSEN, S.E.D.; XIAO, J.; HERMANSEN, K. Rebaudioside A potently stimulates secretion from isolated mouse islets: studies on the dose, glucose and calcium-dependency. *Metabolism*. v. 53, n. 10, p. 1378-1381, Out. 2004.

AGUIRRE VALADEZ, J.M.; RIVERA-ESPINOSA, L.; MENDEZ-GUERRERO, O.; CHAVEZ-PACHECO, J.L.; GARCIA JUAREZ, I.; TORRE, A. **Intestinal permeability in a patient with liver cirrhosis** *Ther. Clin. Risk Manag.* v.12, pp. 1729-1748, 2016.

AJLOUNI, S.; SUJIRAPINYOKUL, P. Hydroxymethylfurfuraldehyde and amylase contents in Australian honey. **Food Chemistry**, London, v. 119, n. 3, p.1000-1005, 2010.

ALBERT, K.; RANI, A.; & SELA, D. A. The comparative genomics of *Bifidobacterium callitrichos* reflects dietary carbohydrate utilization within the common marmoset gut. *Microbial genomics*. v.4, p.1-14, 2018.

ALI, A.; RAHUT, D.B. Healthy Foods as Proxy for Functional Foods: Consumers' Awareness, Perception, and Demand for Natural Functional Foods in Pakistan. Consumers. **International Journal of Food Science** , v. 2019 , p.1-12 , 2019 .

ALMEIDA-ANACLETO, D. **Recursos alimentares, desenvolvimento das colônias e características físico químicas, microbiológicas e polínicas de mel e cargas de pólen de meliponíneos, do município de Piracicaba, Estado de São Paulo.** 2007.134 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.

ALMEIDA, D. **Espécies de abelhas (Hymenoptera, Apoidea) e tipificação dos méis por elas produzidos em área de cerrado, do município de Pirassununga, Estado de São Paulo.** 2002. 116 f. Dissertação (Mestre em Ciências) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2002.

ALKHATIB,A.; TSANG, C.; TISS , A.; BAHORUN, T.; AREFANIAN, H.; BARAKE, R.; TUOMILEHT, J. **Functional foods and lifestyle approaches for diabetes prevention and management.** Nutrition. v.9, n.12, p. 1310, 2017.

ALVAREZ-SUAREZ, J. M.; TULIPANI, S.; ROMANDINI, S.; BERTOLI, E.; BATTINO, M. Contribution of honey in nutrition and human health: a review. **Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism.** v.3, p.15, 2010.

ALVÍDREZ-MORALES, A.; GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, B.E.; JIMÉNEZ-SALAS, Z. Tendencias en la producción de alimentos: alimentos funcionales. **RESPYN, Revista Salud Pública y Nutrición**, v.3, n.3,p.1-7, 2002.

AMBALAM, P.; RAMAN, M.; PURAMA, R.K.; & DOBLE, M. Probiotics, prebiotics and colorectal câncer prevention. *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* v.1, n.30, p.119-131, 2016.

AMERINE, M.A.; PANGBORN, R.M.; ROESSLER,E.B. **Principles os sensory evaluation of food.** New York: Academic Press, 1965.

AMESHIMA, T.; MAGOME. C.; TAKESHITA. K.; ARIHARA. K.; ITOH. M.; KONDO. Y. Effect of intestinal *Lactobacillus* starter cultures on the behavior of *Staphylococcus aureus* in fermented sausage. **International Journal of Food Microbiology**, v. 41, n. 1, p. 1-7, 1998.

ANGUS, A.; WESTBROOK, G. **Saúde e Bem-Estar 2020.** Londres: EUROMONITOR INTERNATIONAL, 2020. 80p. Disponível em: https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/5576096/mod_resource/content/1/wpGCT2020PG-v0.3.pdf. Acesso em: 02-12-2020.

ANJO, D. L. C. Alimentos funcionais em angiologia e cirurgia vascular. **Jornal Vascular Brasileiro**. v. 3, n. 2, p. 145- 154, 2004.

AOAC. Association of Official Agricultural Chemists. **Official methods of analysis of the Association of Official Agriculture Chemists**. 18 ed. Washington, 2005. 1141p.

ARRUDA, C. M. F. **Características físico-químicas e polínicas de amostras de méis de *Apis mellifera* L.; 1758 (Hymenoptera, Apidae) da região da Chapada do Araripe, município de Santana do Cariri, Estado do Ceará**. 2003. 96 f. Dissertação (Mestre em Ciências) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2003.

ASCHERI, J. L. R.; SPEHAR, C. R.; NASCIMENTO, R. E. C. Caracterization comparativa de harinas instantâneas por extrusion de quinoa, maiz y arroz. **Revista Alimentaria**, Madrid, v. 39, n. 331, p. 9-82, 2002.

ASHRAF, R.; SHAH, N.P. **Selective and differential enumerations of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* and *Bifidobacterium* spp. in yoghurt – A review**. International Journal of Food Microbiology. v.149, p. 194-208, 2011.

AXELSSON, L. Lactic acid bacteria: classification and physiology. In: SALMINEN, S.; WRIGHT, A.; OUWEHAND, A.; (editors). **Lactic acid bacteria: microbiological and functional aspects**. 3. ed. New York: Marcel Dekker; 2004. p. 1-66.

AZEREDO, L. C.; AZEREDO, M. A. A.; DUTRA, V. M. L. Protein contents and physicochemical properties in honey samples of *Apis mellifera* of different floral origins. Food Chemistry, n. 80, p. 249-254, 2003.

AWASTI, N.; TOMAR, S. K.; POPHALY, S. D.; LULE, V. K.; SINGH, T. P.; & ANAND, S. Probiotic and functional characterization of bifidobacteria of Indian human origin. J. Appl. Microbiol. v.120, n.4, p.1021-1032, 2016.

BADARÓ, A. C. L.; GUTTIERRES, A. P. M.; REZENDE, A. C. V.; STRINGHETA, P. C. Alimentos probióticos: aplicações como promotores da saúde humana – Parte 1. **NUTRIR GERAIS – Revista Digital de Nutrição**, Ipatinga-MG, v. 2, n. 3, p. 1-20, ago./dez. 2008.

BAMPI, G.; BACKES, G. T.; CANSIAN, R. L.; MATOS, F. E.; ANSOLIN, I. M. A.; POLETO, B. C.; COREZZOLLA, L. R.; FAVARO-TRINDADE, C. S. Spray Chilling

microencapsulation of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* and its use in the preparation of savory probiotic cereal bars. **Food and Bioprocess Technology**, v. 9, n. 8, p. 1422-1428, 2016.

BARBA, FJ; GRIMI, N; VOROBIEV, E. New approaches for the use of nonconventional cell disruption technologies to extract potential food additives and nutraceuticals from microalgae. **Food Engineering Reviews**. v.7, n.1, p.45-62, 2015.

BARBETTA, P. A. **Estatística Aplicada às Ciências Sociais**. 5th edition. Florianópolis Editora UFSC, 2002. 315p.

BARBOSA, L, S.; MACEDO, J, L.; SILVA, M, R, F.; MACHADO, A, V. Estudo Bioquímico de Qualidade do Mel de Abelha Comercializado no Município de Caraúbas – RN. **Revista Verde (Mossoró – RN - Brasil)**, v 9, n. 2, p. 45 - 51, 2014.

BARRANTES, X.; RAILEY, D.; ARIAS, M. L.; CHAVES, C. Evaluación del efecto de cultivos probióticos adicionados a yogurt comercial, sobre poblaciones conocidas de *Listeria monocytogenes* y *Escherichia coli* O157:H7. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, Caracas, v. 54, n. 3, p. 293-297, 2004.

BARROS NETO, B.; SCARMÍNIO, I. S.; BRUNS, R. E. *Como Fazer Experimentos: Pesquisa e Desenvolvimento na Ciência e na Indústria*, Ed. da Unicamp: Campinas, 2001.

BARROSO, M.; BARROS, L.; RODRIGUES, M.A.; RODRIGUES, A.; SOUSA, M. J.; BUELGA, C.S.; FERREIRA, I.C.F.R. Stevia Rebaudiana Bertoni cultivated in Portugal: A prospective study of its antioxidant potential in different conservation conditions. **Industrial Crops and Products**. v.90, p.49-55. 2016.

BARTH, M. O.; MAIORINO, C.; BENATTI, A. P.T.; & BASTOS, D.H. M. Determinação de parâmetros físico-químicos e da origem botânica de méis indicados monoflorais do sudeste do Brasil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.25 n.2, p.229-233, 2005.

BASSINELLO, P.Z.; CASTRO, E.M. **Arroz como alimento**. Informe Agropecuário, Belo Horizonte, v.25, n.222, p.101-108, 2004.

BATH, P. K.; SINGH, N. A comparison between *Helianthus annuus* and *Eucalyptus lanceolatus* honeys. **Bee World**, v. 80, n. 2, p. 61-69, 1999.

BATTISTINI, C.; GULLON, B.; ICHIMURA, E.S.; GOMES, A.M.P.; RIBEIRO, E.P.; KUNIGK, L.; MOREIRA, J.U.V.; JURKIEWICZ, C. Development and characterization of an innovative synbiotic fermented beverage based on vegetable soybean. *Revista Brasileira de Microbiologia*. v.49, p.303- 309, 2018.

BEMILLER, J. N. Pasting, paste, and gel properties of starch–hydrocolloid combinations. **Carbohydrate Polymers**. v. 86, p. 386–423, 2011.

BERTONCELJ, J.; DOBERSEK, U.; JAMNIK, M.; GOLOB, T. Evaluation of the phenolic content, antioxidant activity and colour of Slovenian honey. **Food Chem.**, v.105, pp. 822-828, 2007.

BEKERS, M.; MARAUSKA, M.; GRUBE, M.; KARKLINA, D.; DUMA, M. New prebiotics for functional food. *Acta Alimentaria*. v. 33, n. 1, p. 31-37, 2004.

BILUCA, F. C.; BRAGHINI, F.; GONZAGA, L. V.; COSTA, A. C. O.; FETT, R. Physicochemical profiles, minerals and bioactive compounds of stingless bee honey (*Meliponinae*) **J. Food Compos. Anal.** v.50, pp. 61-69, July. 2016.

BIZZARIA, D. K.; FILGUEIRAS, C. T. Análise microbiológica de mel de abelha, consumido no município de Campo Grande-MS. *Hig. Alim.*, v. 17, p. 104-105, 2003.

BLANCHETTE, L.; ROY, Q.; BELANGER, G.; GAUTHIER, S. Production of cottage cheese using dressing fermented by bifidobacteria. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 79, p. 8-15, 1996.

BOSI, G.; BATTAGLINI, M. Gas Chromatographic Analysis of Free and Protein Amino Acids in Some Unifloral Honeys. *Journal of Apicultural Research*. v.17, p.152, 1978.

BOŽANIĆ, R.; BRLETIĆ, S.; LOVKOVIĆ, S. Influence of temperature and sugar addition on soymilk fermentation by probiotic bacteria. **Mljekarstvo**, Zagreb, v. 58, p. 61-68, 2008.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Defesa Animal. Legislações. Legislação por Assunto. Legislação de Produtos Apícolas e Derivados. Instrução Normativa n. 11 de 20 de outubro de 2000. **Regulamento técnico de identidade e qualidade do mel**. Disponível em: http://www.agricultura.gov.br/sda/dipoa/in_11_2000.htm. Acesso em: 09/Set. 2018.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretária de Vigilância Sanitária. Portaria nº 27, de 13 de janeiro de 1998. A Secretária de Vigilância Sanitária do MS aprova o Regulamento Técnico referente à Informação Nutricional complementar. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 16 jan. 1998. Seção 1, p. 1-3.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução no 386, de 05 de agosto de 1999.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº16, de 23 de agosto de 2005. Regulamento técnico de identidade e qualidade de bebida láctea. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 24 agosto 2005, sec. 1, p. 7.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regulamento Técnico De Identidade E Qualidade De Leites Fermentados. Instrução Normativa Nº 46, de 23 de outubro de 2007.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regulamento Técnico De Identidade e Qualidade do Leite. Instrução Normativa Nº 14, de 22 de abril de 2013.

Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária.(2019 fevereiro 21). Guia nº21/2019. Versão 1. Guia para instrução processual de petição de avaliação de probióticos para uso em alimentos. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília. Obtido em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/5280930/21.pdf/1c99eeb1-7143-469a-93ff-7b2b0f9187c0>.

BRANDÃO, W. A. P. L. N. T. M. **ELABORAÇÃO DE BEBIDA FERMENTADA SIMBIÓTICA DE SORO LÁCTEO**. 2007. 120 F. DISSERTAÇÃO (MESTRADO EM CIÊNCIAS DOS ALIMENTOS) - UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA. FLORIANÓPOLIS, 2007.

BRITO, R.C.V., PERES, C.L., SILVEIRA, K.A.F., ARRUDA, E.L., ALMEIDA JÚNIOR, M.P. (2020). Doenças inflamatórias intestinais no Brasil: perfil das internações, entre os anos de 2009 a 2019. **Revista Educação em Saúde**, Anápolis, v.8, n.1, p.127-135, 2020. <https://core.ac.uk/download/pdf/327145312>

BRUYÈRE, O.; AHMED, S.H.; ATLAN, C.; BELEGAUD ,J.; BORTOLOTTI, M.; CANIVENCLAVIER,M.C.;CHARRIÈRE,S.;GIRARDET,J.P.;HOUDART,S.;KALONJI,E .;NADAUD, P.;RAJAS,F.;SLAMA, G.; MARGARITIS, I. Review of the nutritional benefits and risks related to intense sweeteners. Arch Public Health. v.73, p.41, 2015.

BUNESOVA, V.; DOMIG, K. J.; KILLER, J.; VLKOVA, E.; KOPECNY, J.; MRAZEK, J.; ROČKOVÁ,S.; RADA,V. Characterization of bifidobacteria suitable for probiotic use in calves. Anaerobe, v.18, n.1, p.166- 168, 2012.

CALDEIRA,L.A.;RIBEIRO,.M.F.;JUNIOR,V.R.R.;ANTUNES,A.B.;REIS,A.F.;GOMES, J.C.;CARVALHO,M.H.R.; ALVES,E.E.; MARTINEZ,R.I.E. Viability of probiotic

bacteria in bioyogurt with the addition of honey from Jataí and Africanized bees. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v.53, n.2, p.206-211, Feb. 2018.

CALEFFI, E.R.; KRAUSOVÁ, G.; HYRŠLOVÁ, I.; PAREDES, L.L.R.; DOS SANTOS, M.M.; SASSAKI, G.L.; GONÇALVES, R.A.C.; DE OLIVEIRA, A.J.B. **Isolation and prebiotic activity of inulin-type fructan extracted from *Pfaffia glomerata* (Spreng) Pedersen roots** International Journal of Biological Macromolecules. v.80, p. 392-399, 2015.

CARVALHO, P.T.; PIRES, C.V.; SILVA, A.M.; SILVA, L.S. Análises de bactérias ácidos lácticas, de pH e acidez em amostras de leites fermentados comercializados no município de Sete Lagoas-MG. **Brazilian Journal of Food Research**, Campo Mourão, v. 8 n. 3, p. 12-21, jul./set. 2017.

CARVALHO, J.L.V.; BASSINELLO, P.Z. Aproveitamento industrial. In: SANTOS, A. B.; STONE, L. F.; VIEIRA, N. R. A. A cultura do arroz no Brasil. 2. ed. Santo Antônio da Goiás: **Embrapa Arroz e Feijão**, cap. 24. p. 1007-1042, 2006.

CAVALCANTI, LEITE; DE OLIVEIRA, A. F., PAIVA, K. S.; DIAS, P. V. R.; DA COSTA, M. P.; FERNANDO S, K. F. V. Determinação dos Sólidos Solúveis Totais (OBrix) e pH em Bebidas Lácteas e Sucos de Frutas Industrializados. Pesquisa Brasileira em Odontopediatria e Clínica Integrada. 2006, v.6 (janeiro-abril Disponível em: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=63760110>) ISSN 1519-0501 . Acesso em: 07 outubro .2018

CHAN, P.; TOMLINSON, B.; CHEN, Y.J.; LIU, J.C.; HSIEH, M.H.; CHENG, J.T. A double-blind placebo-controlled study of the effectiveness and tolerability of oral stevioside in human hypertension. **British Journal of Clinical Pharmacology**. v. 50, n. 3, p. 215-220, Set. 2000.

CHATTOPADHYAY, S.; RAYCHAUDHURI, U.; CHAKRABORTY, R. Artificial sweeteners – a review. **J Food Sci Technol**. v.51, n.4, p.611-621, Apr 2014.

COEURET, V.; GUEGUEN, M.; VERNOUX, J. P. In vitro screening of potential probiotic activities of selected lactobacilli isolated from unpasteurized milk products for incorporation into soft cheese. **Journal of Dairy Research**, v. 71, n. 4, p. 451-460, 2004.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Central de informações agropecuárias. Arroz 2017. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/conteudos.php?a=1253&t=>. Acesso em: 08 agosto. 2018.

COPPOLA, M. M.; GIL-TURNES, C. Probióticos e resposta imune. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 4, p. 1297-1303, 2004.

CRANE, E. **O livro do mel**. 2ª edição. São Paulo: Nobel, 1985, 226 p.

CRISPÍN-ISIDRO, G.; LOBATO-CALLEROS, C.; ESPINOSA-ANDREWS, H.; ALVAREZ-RAMIREZ, J.; VERNON-CARTER, E.J. Effect of inulin and agave fructans addition on the rheological, microstructural and sensory properties of reduced-fat stirred yogurt LWT – **Food Science and Technology**. v.62, n.1, p. 438-444, 2015.

CRUZ, A. G.; CADENA, R. S.; WALTER, E. H. M.; MORTAZAVIAN, A. M.; GRANATO, D.; FARIA, J. A. F.; BOLINI, H. M. A. Sensory analysis: relevance for prebiotic, probiotic, and symbiotic product development. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 9, p. 358-373, 2010.

CRUZ, A. G.; MORTAZAVIAN, A.M.; KARINI, R. Viability of probiotic microorganisms in cheese during production and storage: a review. **Dairy Science & Technology**, v. 91, p. 283-308, 2011.

DAVÍDEK, J.; VELÍSEK, J.; POKORNÝ, J. Vitamins. In: _____. **Chemical changes during food processing: developments in food science 21**. Praga: Elsevier Science Publ., p.230-294, 1990.

DA SILVA, P.M.; GAUCHE, C.; GONZAGA, L.V.; OLIVEIRA-COSTA, A.C.; FETT, R. Honey: chemical composition, stability and authenticity. **Food Chem.**, v.196, pp. 309-323, 2016.

DAVOODI, H.; ESMAEILI, S.; MORTAZAVIAN, A.M. Effects of milk and milk products consumption on cancer: A review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v.12, p. 249-264, 2013.

DE-MELO, A.A.M.; DEALMEIDA-MURADIAN, L.B.; SANCHO, M.T.; PASCUAL-MATÉ, A. Composition and properties of *Apis mellifera* honey: a review. **J. Apic. Res.** v.57, pp. 5-37, jan. 2018.

DEMIRCI, T.; AKTAS, K.; SÖZERI, D.; ÖZTÜRK, H.I.; AKIN, N. Rice bran improve probiotic viability in yoghurt and provide added antioxidative benefits. **Journal of Functional Foods**, 36 (2017), pp. 396-403.

DIAS, J. S.; CAMARGO, A. C.; BARINC, C.S.; ELLEN SOHN, R.M. Caracterização Físico-Química de Amostras de Mel. **UNOPAR Cient. Exatas Technol.**, Londrina, v. 8, n. 1, p. 19-22, Nov. 2009.

DONNET-HUGHES, A. Modulation of nonspecific mechanisms of defense by lactic acid bacteria: effective dose. **Journal of Dairy Science**, v. 82, n. 5, p. 863-869, 1999.

DUTCOSKY, S.D. **Análise sensorial de alimentos**. 4. ed. Curitiba: Champagnat, 2013. 531p.

DUTRA, M. B. L.; BOLINI, H.M.A. Sensory and physicochemical evaluation of acerola nectar sweetened with sucrose and different sweeteners. **Food Science and Technology**, v. 33, n.4, p.612-618, 2013.

DUBOIS, G.E.; PRAKASH, I. Non-Caloric Sweeteners, Sweetness Modulators, and Sweetener Enhancers. Annu. Rev. **Food Sci. Technol.** v.3, p.353-380, 2012.

DWIVEDI.M.; KUMAR,P.; LADDHA, N.C.; KEMP , E.H. Induction of regulatory T cells: A role for probiotics and prebiotics to suppress autoimmunity Autoimmunity Reviews. v.15, p. 179-392, 2015.

ECFA, Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, 1991b. Trichlorogalactosucrose (TGS) [sucralose]. In: Toxicological Evaluation of Certain Food Additives and Contaminants. Thirty-seventh Meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA), June 5-14, 1990, Geneva [Internet]. World Health Organization (WHO)/International Programme on Chemical Safety (IPCS), Geneva [cited 2017 Jan 20]. (WHO Food Additives Series, no 28). Available from: <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v28je14.htm>.

FARIA, E. V.; YOTSUYANAGI, K. **Técnicas de análise sensorial**. Campinas: ITAL/LAFISE, 2002.

FELIS, G. E.; DELLAGLIO, F.; MIZZI, L.; TORRIANI S. Comparative sequence analysis of a *recA* gene fragment brings new evidence for a gange in the taxonomy of the *Lactobacillus casei* group. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 51, n. 6, p. 2113-2117, 2001.

FERREIRA, V. L. P.; ALMEIDA, T. C. A.; PETTINELLI, M. L. C. V.; SILVA, M. A. A. P.; CHAVES, J. B. P.; BARBOSA, E. M. M. **Análise sensorial: testes discriminativos e afetivos**. São Paulo: SBCTA, 2000. 127 p.

FERREIRA.I.; AIRES, E.; BARREIRA, J.; ESTEVINHO, L. Antioxidant activity of Portuguese honey samples: different contributions of the entire honey and phenolic extract. **Food Chem**, v.114 n.4, p. 1438-1443, 2009.

FERREIRA, C. L. de Lucas Fortes. **Produtos Lácteos e Fermentados (aspectos bioquímicos e tecnológicos)**. Viçosa: UFV, 2001. 112 p.

FERREIRA, C. M.; DEL VILLAR, P. M. Aspectos da produção e do mercado de arroz. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 25, n. 222, p. 11-18, 2004.

FIDELIS, J.C.F.; SCAPIM, M.R.S.; TONOM, L.A.C.; POZZA, M.S.S.; PIERETTI, G.G.; ANTIGO, J.L.; MADRONA, G.S. Iogurte Natural Desnatado Adicionado De Inulina. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 08, n. 02 ,p.1478-1487, 2014

FINOLA, M. S.; LASAGNO, M.C.; MARIOLI, J.M. Microbiological and chemical characterization of honeys from central Argentina. **Food Chemistry**, n. 100, p. 1649–1653, 2007.

FITCH, C.; KEIM, K.S. Position of the Academy of Nutrition and Dietetics: use of nutritive and nonnutritive sweeteners. **J. Acad. Nutr. Diet.** v.112, p.739-758, 2012.

FOX, R.W.; MCDONALD, A.T.; PRITCHARD, P.J. **Introdução à Mecânica dos Fluidos**. Editora LTC, 6ª Edição, 2006

FRANCES, J. Sensory analysis. In Eds.: Inge Russell and Graham Stewart. Whisky: Technology, Production and Marketing. Chapter 13, p. 229-241, 2014.

FREI, M.; SIDDHURAJU, P.; BECKER, K.; Studies on in vitro starch digestibility and the glycemic index of six different indigenous rice cultivars from the Philippines. **Food Chemistry**, v.83, p.395-402, 2003.

GAGNON, C.; POYSA, V.; COBER, E.R.; GLEDDIE, S. Allergens disfigured affecting North American patients identified by 2D gels and mass spectrometry. **Food Analytical Method**, v.3, pp. 363 – 374. 2010.

GARCÍA-PÉREZ, F.J.; LARIO, Y.; FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J.; SAYAS, E.; PÉREZ-ALVAREZ, J.A.; SENDRA, E. Effect of orange fiber addition on yogurt color during fermentation and cold storage. **Industrial Applications**, v.30, n.6, p.457-463, 2005.

GARDANA, C.; SIMONETTI, P.; CANZI, E.; ZANCHI, R.; PIETTA, P. Metabolism of Stevioside and rebaudioside A from Stevia rebaudiana extracts by human microflora. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.51, n. 22, p. 6618–6622, 22 Out. 2003.

GARDNER, C.; WYLIE-ROSETT, J.; GIDDING, S.S.; STEFFEN, L.M.; JOHNSON, R.K.; READER, D.; LICHTENSTEIN, A.H. Nonnutritive sweeteners: current use and health perspectives: a scientific statement from the American Heart association and the American diabetes association [American Heart association nutrition committee of the Council on nutrition, physical activity and metabolism, Council on arteriosclerosis, thrombosis and vascular biology, Council on cardiovascular disease in the young, and the American diabetes association]. *Circulation* v.126, p.509-519, 2012.

GAŠIĆ, U.M.; NATIĆ, M.M.; MIŠIĆ, D.M.; LUŠIĆ, D.V.; MILOJKOVIĆOPSENICA, D.M.; TEŠIĆ, Ž.LJ.; LUŠIĆ, D.. Chemical markers for the authentication of unifloral *Salvia officinalis* L. honey. **J. Food Compos. Anal.**, 44 pp. 128-138, December.2015.

GAUDREAU, H.; CHAMPAGNE, C. P.; JELEN, P. The use of crude cellular extracts of *Lactobacillus delb ueckii* ssp. *bulgar icus* 11842 to stimulate growth of a probiotic *Lactobacillus rhamnosus* culture in milk. **Enzyme and Microbial Technology**, n. 36, p. 83-90, 2005.

GERALDO, A. P. G. **Adoçantes Dietéticos e Excesso de Peso Corporal em Adultos e Idosos do Estado de São Paulo**. Tese (Doutorado em Nutrição em Saúde Pública). Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014.

GOLDENBERG, J.Z.; LYTVYN, L.; STEURICH, J.; PARKIN, P.; MAHANT, S.; JOHNSTON, B.C. Probiotics for the prevention of pediatric antibiotic-associated diarrhea. **Cochrane database Syst Rev**. v.12, p. CD004827, 2015.

GOMES, A. M. P.; MALCATA, F. X. Bifidobacterium spp. and lactobacillus acidophilus: biological, biochemical, technological and therapeutical properties relevant for use as probiotics. **Trends on Food Science and Technology**, v. 10, p. 139-157, 1999.

GROTZ, V.L., MUNRO, I.C. **An overview of the safety of sucralose**. Regul. Toxicol.Pharmacol. v. 55, p.1-5, 2009.

HASSAN, A.; AMJAD, I. Nutritional Evaluation of yoghurt prepared by different starter cultures and their physiochemical analysis during storage. **African Journal of Biotechnology**. v.9, p. 2913-2917, 2010.

HAULY, M.C. O.; FUCHS, R.H.B.; PRUDÊNCIO FERREIRA, S.H. Suplementação de iogurte de soja com frutooligossacarídeos: características probióticas e aceitabilidade. **Revista de Nutrição. Campinas**, v. 18, n. 5, p. 613-622, 2005.

Health Canada, 2016. List of Permitted Sweeteners [Internet]. Health Canada, Ottawa (ON) [cited 2017 Jan 20]. (Lists of Permitted Food Additives, No. 9).

Available from: <http://www.hc-sc.gc.ca/fn-an/securit/addit/list/9-sweeteneredulcorant-eng.php> [Date Modified: 2016-11-25].

HEKMAT, S.; MCMAHON, D. Survival of lactobacillus acidophilus and bifidobacterium bifidum in ice cream for use as a probiotic food. **Journal of Dairy Science**, v. 75, p. 1415-1422, 1992.

HIDALGO-CANTABRANA, C.; DELGADO, S.; RUIZ, L.; RUAS-MADIEDO, P.; SANCHEZ, B.; & MARGOLLES, A. Bifidobacteria and their health-promoting effects. **Microbiol. Spectr.** v.5, n.3, p.1-19, 2017.

HILL, C.; GUARNER, F.; REID, G.; GIBSON, G. R.; MERENSTEIN, D. J. POT, B.; MORELLI, L.; CANANI, R. B.; FLINT, H. J.; SALMINEN, S.; CALDER, P. C.; SANDERS, M. E. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. **Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology**, v. 11, p. 506–514, 2014.

HOLZAPFEL, W. H.; HABERER, P.; GEISEN, R.; BJÖRKROTH, J.; SCHILLINGER, U. Taxonomy and important features of probiotic microorganisms in food and nutrition. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 73, n. 2, p. 365S-373S, 2001.

HOUGH, G.; WAKELING, I.; MUCCI, A.; CHAMBERS IV, E.; GALLARDO, I.M. e ALVES, L.R. Number of consumers necessary for sensory acceptability tests. **Food Quality and Preference**, Oxford, v.17, n.6, p.522-526, 2006.

HOLZAPFEL, W. H.; SCHILLINGER, U. Introduction to pre- and probiotics. **Food Research International**, v. 35, p. 109-116, 2002

HORIE, M.; SAITO, H.; NATORI, T.; NAGATA, J.; NAKAZAWA, H. Determination of streptomycin and dihydrostreptomycin in honey by liquid chromatography-electrospray mass spectrometry. **Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies**, v. 27, n. 5, p. 863-874, 2004.

INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION (IDF). Yogurt: enumeration of characteristic microorganisms count technique at 37 °C. **Bulletin of the International Dairy Federation**, n. 117, p. 1-4, 1983.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION (ISO). **Sensory analysis: methodology evaluation of food products by method using scales.** International Standard - ISO 4121. Geneva: ISO, 1987, 7 p.

IDF. INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. **Detection and enumeration of Lactobacillus acidophilus.** Bull. Int. Dairy Fed., Brussels, n. 306, p. 23-33, 1999.

IMPERATRIZ, F. V. L.; GIOVANNINI, A.; GUIBI, L.S.; AZOUBEL, M.L.; AMARAL, A.D. Preliminary study of Brazilian honeys. In: XXX **INTERNATIONAL APICULTURAL CONGRESS**, Nagoya, p.312, 1987.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. Odair Zenebon, Neus Sadocco Pascuet e Paulo Tiglea (coordenadores) São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, p.1020, 2008.

JAEKEL, L. Z.; RODRIGUES, R.; SILVA, A. P. da. Avaliação físico-química e sensorial de bebidas com diferentes proporções de extratos de soja e de arroz. **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**, Campinas, v. 30, n. 2, jun. 2010.

JARMA, A.J.; COMBATT, E.M.; CLEVES, J.A. Aspectos nutricionales y metabolismo de Steviarebaudiana (Bertoni). Unarevisión. **Agronomía Colombiana**, Bogotá, v. 28, n. 2, p. 199-208, 2010.

JENNER, M.R.; SMITHSON, A. Physicochemical properties of the sweetener sucralose. **J. Food Sci.** v.54, p.1646-1649, 1989.

JEPPESEN, P.B.; GREGERSEN, S.; ALSTRUPP, K.K.; HERMANSENN, K. Stevioside induce anti-hyperglycaemic, insulinotropic and glucagonostatic effects in vivo: studies in the diabetic Goto- Kakizaki (GK) rats. **Phytomedicine: internacional journal of phytotherapy and phytopharmacology**. v. 9, n. 1, p. 9-14, Jan. 2002.

JOSHI, D.; ROY, S.; BANERJEE, S. Prebiotics: a functional food in health and disease Subhash C. Mandal, Vivekananda Mandal, Tetsuya Konish (Eds.), Natural products and drug discovery, **Elsevier** (2018), pp. 507-523

JOVANOVIC-MALINOVSKA,R.; KUZMANOVA, S.; WINKELHAUSEN, E. Oligosaccharide profile in fruits and vegetables as sources of prebiotics and functional foods.**Int J Food Prop**, 17 (2014), pp. 949-965

JULIANO, B.O. **Rice in human nutrition**. Rome: FAO, 1993. Disponível em: <http://www.fao.org>. Acessado em: 20/06/2017.

JFCRF, Japan Food Chemical Research Foundation, 1999. A Report on Sucralose from the Food Sanitation Council [Internet]. Ministry of Health, Labour and Welfare, Japan (MHLW) and Japan Food Chemical Research Foundation (JFCRF), Tokyo (Japan) [cited 2017 Jan 20]. Available from: <http://www.ffcr.or.jp/zaidan/ffcrhome.nsf/pages/e-kousei-sucra> [January 6, 1999].

KABOOSI, H. Antibacterial effects of probiotics isolated from yoghurts against some common bacterial pathogens. **African Journal of Microbiology Research**, v. 5, n. 25, p. 4363-4367, 2011.

KARABAGIAS,I.K.; DIMITRIOU1, E.; KONTAKOS, S.; KONTOMINAS, M.G. Phenolic profile, colour intensity, and radical scavenging activity of Greek unifloral honeys.**Eur. Food Res. Technol.**, v.242 , pp. 1201-1210, 2016.

KARIMI,R.; AZIZI, M.H.; GHASEMLOU, M.; VAZIRI , M. . Application of inulin in cheese as prebiotic, fat replacer and texturizer: A review. **Carbohydrate Polymers**. v.119, p. 85-100, 2015.

KATAOKA,K.; OGASA,S.; KUWAHARA,T.; BANDO, Y.; HAGIWARA, M.; ARIMUCHI, H.; NAKANISHI, S.; LWASAKI, T.; OHNISHI, Y. Inhibitory effects of fermented brown rice on induction of acute colitis by dextran sulfate sodium in rats. **Digestive Diseases and Sciences**, v.53, p. 1601-1608, 2008.

KATZ .Y.; GUTIERREZCASTRELLON , P.; GONZÁLEZ, M.G; RIVAS , R.; LEE, B.W.; ALARCON, P. Uma revisão abrangente de sensibilização e alergia a produtos à base de soja. **Análises Clínicas em Alergia e Imunologia** , ed 46 v3, pp. 272 – 281.2014.

KATRIN, S.; MANCZYK, C. Reformulando as regras: novas opções em sistemas edulcorantes. *Food Ingredients* , v. 24, n.1, p. 50-52, 2003.

KHURANA, H. K.; KANAWJIA, S. K. Recent trends in development of fermented milks. **Current Nutrition & Food Science**, v. 3, p. 91-108, 2007.

KNIGHT, I. The development and applications of sucralose, a new highintensity sweetener. **Can. J. Physiol. Pharmacol.** V.72, p.435-439, 1994.

KOLLING, A.; LEHN, D.; SOUZA, C. F. V. Elaboração, caracterização e aceitabilidade de “iogurte” de soja com adição de prebiótico. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, Ponta Grossa-PR, v. 8, n. 2, p. 1545-1556, 2014.

KOMATSU, T. R.; BURITI, F. C. A.; SAAD, S. M. I. Inovação, persistência e criatividade superando barreiras no desenvolvimento de alimentos probióticos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. São Paulo, v. 44, n. 3, jul./set. 2008.

KURMAN, J. A.; RASIC, J. L. The health potential of products containing bifidobacteria. In: Robinson R. K. (ed.). **Therapeutic properties of functional milks**. London: Elsevier, 1991. p. 117-158.

LEMUS-MONDACA,R.; VEGA-GÁLVEZ, A.; ZURA-BRAVO, L.; AH-HEN, K. *Stevia rebaudiana* Bertoni, source of a high-potency natural sweetener: A comprehensive

review on the biochemical, nutritional and functional aspects. **Food Chemistry**, v.132, n.3, p. 1121-1132, 2012.

LIMA FILHO, O. F. de.; VALOIS, A. C. C.; LUCAS, Z. M. **Sistemas de Produção 5 – Estévia**, 1ed, Minas Gerais: Embrapa, 2004. 59p.

LIN, L.; CAI, C.; GILBERT, R. G.; LI, E.; WANG, J.; WEI, C. Relationships between amylopectin molecular structures and functional properties of different-sized fractions of normal and high-amylose maize starches. **Food Hydrocolloids**, v. 52, p. 359-368, 2016.

LIVIU, A.M.; DEZMIREAN ,D.; ADELA,M.; OTILIA,B.; LAURA ,L.; STEFAN, B.. Physico-chemical and bioactive properties of different floral origin honeys from Romania. **Food Chemistry**, v. 112, p. 863-867, 2009.

LOBO,A.R.; COCATO, M.L.; BORELLI, P.; GAIEVSKI, E.H.S.; CRISMA, A.R.; NAKAJIMA, K.; NAKANO, E.Y.; COLLI, C.Iron bioavailability from ferric pyrophosphate in rats fed with fructan-containing yacon (*Smallanthus sonchifolius*) flour. **Food Chemistry**. v.126, n.3, p. 885-891, 2011.

LOPES, R. P., MOTA, M. J., PINTO, C. A., SOUSA, S., DASILVA, J. A. L., GOMES, A. M., DELGADILLO, I & SAIVA, J. A. (2019). Physicochemical and microbial changes in yogurts produced under different pressure and temperature conditions. **LWT- Food Science and Technology**. v.99, n.423, 2019.

LOPES,S.M.S.; KRAUSOV ,G.; RADA, V.; GONÇALVES, J.E.; GONÇALVES , R.A.C.; OLIVEIRA, A.J.B. Isolation and characterization of inulin with a high degree of polymerization from roots of *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni. **Carbohydrate Research**. v.411, p. 15-21, 2015.

LOURENS-HATTINGH, A.; VILJOEN, B. C. Yogurt as probiotic carrier food. **International Dairy Journal**, v. 11, p. 1-17, 2001.

LUIZ, L. M. P.; Castro, R.D.; Sandes, S.H.C.; Silva, J.G.; Oliveira,L.G.; Sales, G.A.; Nunes, A.C.; Souza, M.R. Isolation and indentification of lactic acid bactéria from Brazilian Minas artesanal cheese. **Cyta- Journal of Food**, v. 15, n. 1, p. 125-128, 2017.

MAHMOODI-KHALEDI, E.; LOZANO-SÁNCHEZ, J.; BAKHOUCHE, A.; HABIBI-REZAEI, M.; SADEGHIAN, I.; SEGURA-CARRETERO, A. Physicochemical properties and biological activities of honeys from different geographical and botanical origins in Iran. **European Food Research and Technology**, v.243, p.1019, 2017.

MAHMOUDI, R.; PAKBIN, B. An Overview of the Hazards and Management Strategies for Antibiotic Residue in Honey. **International Journal of Food Nutrition and Safety**.v. 6, p.165, 2015.

DE MAGALHÃES, A. U.; TORRE, A. C. G. D. Composição Química E Análise Sensorial Do Iogurte Grego Comercializado No Sul Do Estado De Minas Gerais. **Rev. Inst. Laticínios Cândido Tostes, Juiz de Fora**, v. 73, n. 1, p. 10-18, jan/mar, 2018.

MARIN,M.;MADRUGA,N.A.; RODRIGUES,R.S.;MACHADO,R.G.M.; **Caracterização físico-química e sensorial de bebida probiótica de soja**. Boletim Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos. Curitiba, v. 32, n. 1, jan./jun. 2014

MCFARLAND, L.V. **From yalks to yogurt: The history, development and current use of probiotics**. Clinical Infectious Diseases. v.60, p. S85-S90, 2015.

MARCELLINI, PS; CHAINHO, TF; BOLINI, HMA. Doçura ideal e análise de aceitação de suco de abacaxi concentrado reconstituído adoçado com diferentes edulcorantes e sacarose. **Alimentos e Nutrição**, 16 (2), 177-182, 2005.

MARTINS, G. H.; KWIATKOWSI, A.; BRACH, L.; SRUTKOSKE, C. L. Q.; HAMINIUK, C. W. I. Perfil físicoquímico, sensorial e reológico de iogurte elaborado com extrato hidrossolúvel de soja e suplementado com inulina. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**. v. 15, n. 1, p. 93-102, 2013.

MARTINEZ-GONZALEZ,M.A.; SAYON-OREA,C.; RUIZ-CANELA,M.; DE LA FUENTE ,C.; GEA , A.; BES-RASTROLLO, M. Yogurt consumption, weight change and risk of overweight/obesity: The SUN cohort study. **Nutrition, Metabolism, Cardiovascular Diseases**, 11 (2014), pp. 1189-1196

MASCARAQUE, M. **An extract of the report: The World Market for Health and Wellness Packaged Food**. Londres: EUROMONITOR INTERNATIONAL, 2019. 17p. Disponível em: https://go.euromonitor.com/rs/805-KOK719/images/wpTop5TrendsHW.pdf?mkt_tok=eyJpIjoiTldJelltVXdOamRqWIRZMSlsluQiOiJQXXJHS3RrREpnM1FaQTlMS0dMM3VReW1Bbj. Acesso em: 04/12/2020.

MOTHERSHAW, A. S.; JAFFER, T. Antimicrobial activity of foods with different physico-chemical characteristics. **International Journal of Food Properties**, v. 7, n. 3, p. 629-638, 2004.

MATHUR, S.; SINGH, M. Antibiotic resistance in food lactic acid bacteria - a review. **International Journal of Food Microbiology**, n. 105, p. 281-295, 2005.

MATSUO, T.; Kumazawa, K.; Ishii, R.; Ishihara, K.; Hirata, H. Science of the rice plant. V. II - Physiology. Tokyo: **Food and Agriculture Policy Research Center**, 1995. 1245p.

MATSUNO, T. **O efeito terapêutico da própolis**. 1ª ed., São Paulo: Nair Tazue Itice, 1997.

MEDA.A.; LAMIEN, C.; ROMITO, M.; MILLOGO, J.; NACOULMA, O. Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity. **Food Chem.**, v.91, n.3., pp. 571-577, 2005.

MENDES, C. G.; SILVA, J. B. A.; MESQUITA, L. X.; MARACAJÁ, P. B. As análises de mel: revisão. **Rev Caatinga**, Mossoró, v. 22, n. 2, p. 7-14, 2009.

MEILGAARD, M., CIVILLE, G.V. AND CARR, T. **Sensory Evaluation Techniques**, Boca Raton: CRC PRESS, 2007. 464 p.

MEYER,D.; BAYARRI, S.; TÁRREGA, A.; COSTELL, E. Inulin as texture modifier in dairy products **Food Hydrocolloids**. v.25, p. 1881-1890, 2011.

MICHELINI, S.; MODESTO, M.; FILIPPINI, G.; SPIEZIO, C.; SANDRI, C.; BIAVATI, B.; PISI, A.; MATTARELLI, P. Corrigendum to " Bifidobacterium aerophilum sp. nov., Bifidobacterium avesanii sp. nov. and Bifidobacterium ramosum sp. nov.: Three novel taxa from the faeces of cotton-top tamarin (Saguinus oedipus L.)"[**Syst. Appl. Microbiol.** 39 (2016) 229-236]. *Syst. Appl. Microbiol.* v.41, p.528, 2018.

MILANI, C.; TURRONI, F.; DURANTI, S.; LUGLI, G. A.; MANCABELLI, L.; FERRARIO, C.; SINDEREN, D.; VENTURA, M. Genomics of the genus Bifidobacterium reveals species-specific adaptation to the glycan-rich gut environment. **Appl. Environ. Microbiol.** v.82, n.4, p.980-991, 2016.

MINIM, V. P. R. **Análise sensorial**. Estudos com consumidores. Viçosa: UFV, 2006.

MITAL, B. K.; GARG, S. K. Acidophilus milk products: manufacture and therapeutics. **Food Reviews International**, v. 8, p. 347-389, 1992.

MIURA,K.; OHNISHI, H. Role of gut microbiota and Toll-like receptors in nonalcoholic fatty liver disease. **World J. Gastroenterol.** v.20, n.23, p. 7381-7391, 2014.

MODESTO, M.; PUGLISI, E.; BONETTI, A.; MICHELINI, S.; SPIEZIO, C.; SANDRI, C.; SGORBATI, B.; MORELLI, L.; MATTARELLI, P. Bifidobacterium primatium sp. nov., Bifidobacterium scaligerum sp. nov., Bifidobacterium felsineum sp. nov. and

Bifidobacterium simiarum sp. nov.: Four novel taxa isolated from the faeces of the cotton top tamarin (*Saguinus oedipus*) and the emperor tamarin (*Saguinus imperator*). **Syst. Appl. Microbiol.** v.41, n.6,p.593-603, 2018.

MONDACA-LEMUS R, VEGA-GÁLVEZ A, ZURA-BRAVO L, AH-HEN K. Stevia rebaudiana Bertoni, source of a high-potency natural sweetener: a comprehensive review on the biochemical, nutritional and functional aspects. **Food Chemistry**, v.132, n.3, p.1121-1132, 2012.

MONTEBELLO, N.P.; ARAÚJO, W.M.C.; BOTELHO, R.B. A alquimia dos Alimentos. 1ª ed. São Paulo: SENAC; 2007. P.453-471.

MONTORO, P.; MOLFETTA, I.; MALDINI, M.; CECCARINI, L.; PIACENTE, S.; PIZZA, C.; MACCHIA, M. "Determination of six steviol glycosides of Stevia rebaudiana (Bertoni) from different geographical origin by LC-ESI-MS/MS." **Food Chemistry** v.141, n.2, p.745-753, 2013.

MOTA, M.J.; LOPES, R.L.; DELGADILLO, I.; SARAIVA, J.A. Probiotic yogurt production under high pressure and the possible use of pressure as an on/off switch to stop/start fermentation. **Process Biochemistry**, v.50, p.906-911. 2015.

MOTHERSHAW, A. S.; JAFFER, T. Antimicrobial activity of foods with different physico-chemical characteristics. **International Journal of Food Properties**, v. 7, n. 3, p. 629-638, 2004.

MORAES, R.M.; DONEGA, M.A.; CANTRELL, C.L.; MELLO, S.C.; MCCHESENEY, J.D. Effect of harvest timing on leaf production and yield of diterpene glycosides in *Stevia rebaudiana* Bert: A specialty perennial crop for Mississippi. **Industrial Crops & Products**. v.51, p. 385-389, 2013.

MORENO-VILET, L.; GARCIA-HERNANDEZ, M.H.; DELGADO-PORTALES, R.E.; CORRAL-FERNANDEZ, N.E.; CORTEZ-ESPINOSA, N.; RUIZ-CABRERA, M.A.; PORTALES-PEREZ, D.P. In vitro assessment of agave fructans (*Agave salmiana*) as prebiotics and immune system activators. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.63, p. 181-187, 2014.

MORRIS, C.; MORRIS, G.A. The effect of inulin and fructo-oligosaccharide supplementation on the textural, rheological and sensory properties of bread and their role in weight management: A review. **Food Chemistry**, v.44, p. 237-248, 2012.

MUSTAPHA, A.; JIANG, T.; SAVAIANO, D. A. Improvement of lactose digestion by humans following ingestion of unfermented acidophilus milk: influence of bile sensitivity, lactose transport, and acid tolerance of *Lactobacillus acidophilus*. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 80, n. 8, p. 1537-1545, 1997.

NAGPAL, R. YADAV, H.; PUNIYA, A. K.; SINGH, K.; JAIN, S.; MAROTTA, F. Potential of probiotics and prebiotics for symbiotic functional dairy foods. **International Journal of Probiotics and Prebiotics**, v. 2, p. 75-84, 2007.

NAGPAL, R.; KUMAR, A.; ARORA, S. In-vitro probiotic potential of lactobacilli from indigenous milk products. **International Journal of Probiotics and Prebiotics**, v. 5, n. 2, p. 103-110, 2010.

NEACȘU, N. A.; MADAR, A. Artificial Sweeteners Versus Natural Sweeteners. Bulletin of The Transilvania University of Brașov. Series V: **Economic Sciences**. 2014. v. 7, issue 56, No. 1. Disponível em: <file:///C:/Users/gglla/Downloads/TCC%20ALIMENTOS/Artigos/08_NEACSU-MADAR%20A.%20ARTIFICIAL%20VERSUS%20NATURAL%20SWEETENERS.pdf >. Acesso em: 17 maio 2018.

NEVES, N. C. R. **Percepção do consumidor sobre os alimentos funcionais**. 2020, nº de folhas 88 f. Dissertação. (Mestrado em Agronegócio) – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Brasília, 2020.

NGONGANG, E.F.T.; TIENCHEU, B.; ACHIDI, A.U.; FOSSI, B.T.; SHIVNVUV, D.M.; WOMENI, H.M. Effects of probiotic bacteria from yogurt on enzyme and serum cholesterol levels of experimentally induced hyperlipidemic wistar albino rats. **American Journal of Biology and Life Sciences**, v.4, p. 48-55, 2016.

NISHIMURA, M.; OHKAWARA, T.; KANAYAMA, T.; KITAGAWA, K.; NISHIMURA, H.; NISHIHARA, J. Effects of the extract from roasted chicory (*Cichorium intybus* L.) root containing inulin-type fructans on blood glucose, lipid metabolism, and fecal properties. **Journal of Traditional and Complementary Medicine**, v.5, n.3, p. 161-167, 2015.

OLIVEIRA, M. N.; SODINI, I.; REMEUF, F.; CORRIEU, G. Effect of milk supplementation and culture composition on acidification, textural properties and microbiological stability of fermented milks containing probiotic bacteria. **International Dairy Journal**, v. 11, p. 935–942, 2001.

OLIVEIRA, A.J.B.; GONÇALVES, R.A.C.; CHIERRITO, T.P.C.; DOS SANTOS, M.M.; DE SOUZA, L.M.; GORIN, P.A.J.; SASSAKI, G.L.; IACOMINI, M. Structure and degree of polymerisation of fructooligosaccharides present in roots and leaves of *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni. **Food Chemistry**, v.129, n.2, p. 305-311, 2011.

ONG, P.K.C.; LIU, S.Q. **Flavor and Sensory Characteristics of Vegetables**. In: SINHA, N.K.; HUI, Y.H.; EVRANUZ, E.O.; SIDDIQ, M.; AHMED, J. Eds. Handbook

of Vegetables and Vegetable Processing. Iowa: Blackwell Publishing Ltd., 2011.772p.

ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD (OMS). Necesidades de energía y de proteínas. Ginebra: OMS, 1985. (Informes técnicos, 724).

OSTLIE, H. M.; HELLAND, M. H.; NARVHUS, J. A. Growth and metabolism of selected strains of probiotic bacteria in milk. **International Journal of Food Microbiology**, n. 87, p. 17-27, 2003.

OSTERKAMP, I.C. **Características polínicas e físico-químicas de amostras de méis de Apis mellifera L., 1758 (Hymenoptera, Apidea) e de Tetragonisca angustula Latreille, 1811 (Hymenoptera, Trigonini) da região do Vale do Taquari, Estado do Rio Grande do Sul.** 2009.60.f.Dissertação de Mestrado Desenvolvimento e Meio Ambiente, Centro Universitário Univates, Lajeado, Brasil, 2009.

OZCAN, T.; YILMAZ-ERSAN, L.; AKPINAR-BAYIZIT, A.; DELIKANLIKIYAK, B. Using of stevia as non-caloric sugar substitutes on viability of probiotic bacteria Lactobacillus casei. **International Journal of Advances in Science Engineering and Technology**, v.05 , n.3, p. 43-48, 2017.

PAMPLONA, B. C. **Exame dos elementos químicos inorgânicos encontrados em méis brasileiros de Apis mellifera e suas relações físico-biológicas.** São Paulo. 1989.131 f. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Biologia, Universidade de São Paulo (USP). São Paulo, 1989.

PANGHAL, A., JANGHU, S., VIRKAR, K., GAT, Y., KUMAR, V., & CHHIKARA, N. (2018). Potential non-dairy probiotic products - A healthy approach. **Food Bioscience**, 21, 80-89.

<https://doi.org/10.1016/j.fbio.2017.12.003>

PACHEKREPAPOL,U.;LUCHEY, J.A.;GONG, Y.;NARAN, R.;AZADI, P. **Characterization of the chemical structures and physical properties of exopolysaccharides produced by various *Streptococcus thermophilus* strains** J. Dairy Sci. v.100, pp. 3424-3435, 2017.

PATEL, R.M.; DENNING, P.W. Therapeutic use of prebiotics, probiotics, and postbiotics to prevent necrotizing enterocolitis: what is the current evidence? **Clin. Perinatol.** v.40, n.1, p.11–25, 2013.

PENNA, C. *Lactobacillus acidophilus* e a indústria de laticínios. **Revista Leite & Derivados**, n. 66, p. 17-23, set./out. 2002.

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

PESHEV, D.; VAN DEN END, W. **Fructans: Prebiotics and immunomodulators** *Journal of Functional Foods*. v.8, n.1, p. 348-357, 2014.

PIMENTEL, T. C.; GARCIA, S.; PRUDENCIO, S. H. Aspectos funcionais, de saúde e tecnológicos de frutanos tipo inulina. **B.CEPPA**, v. 30, n. 1, p.103-118. 2012.

POKUSAEVA, K.; FITZGERALD, G. F.; & VAN SINDEREN, D. Carbohydrate metabolism in *Bifidobacteria*. **Genes Nutr**. v.6, n.3, p.285-306, 2011.

PRIYA, K.; GUPTA, V. R. M.; SRIKANTH, K. Natural sweeteners: A complete review. **Journal of Pharmacy Research**. v.4, p.2034, 2011.

PRASANNA, P.H.P.; GRANDISON, A.S.; CHARALAMPOPOULOS, D. *Bifidobacteria* in milk products: An overview of physiological and biochemical properties, exopolysaccharide production, selection criteria of milk products and health benefits. **Food Research International**. v.55, pp. 247-262, 2014.

RAFE, A.; SADEGHIAN, A.; HOSEINI-YAZDI, S.Z. Physicochemical, functional, and nutritional characteristics of stabilized rice bran from tarom cultivar **Food Sciences and Nutrition**. v.5, n.3, pp. 407-414, 2017.

RAFE, A.; SADEGHIAN, A. Stabilization of Tarom and Domesiah cultivars rice bran: Physicochemical, functional and nutritional properties. **Journal of Cereal Science**, v.74, pp. 64-71, 2017.

RANI, B.; KHETARPAUL, N. Probiotic fermented food mixtures: possible applications in clinical anti-diarrhoea usage. **Nutrition Health**, v. 12, n. 2, p. 97-105, 1998.

RIBEIRO, E. P.; SIMÕES, L. G.; JURKIEWICZ, C. H. Desenvolvimento de queijo minas frescal adicionado de *Lactobacillus acidophilus* produzido a partir de retentados de ultrafiltração. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 2, n. 1, p. 19-23, 2009.

RICHTER, M.; LANNES, S.C.S. Ingredientes usados na indústria de chocolates. **Revista Brasileira Ciências Farmacêuticas**. v.43, n.3, p.357-369, 2007.

ROBERFROID, M.; GIBSON, G.R.; HOYLES, L.; MCCARTNEY, A.L.; RASTALL, R.; ROWLAND, I.; WOLVERS, D.; WATZL, B.; SZAJEWSKA, H.; STAHL, B.; GUARNER, F.; RESPONDEK, F.; WHELAN, K.; COXAM, V.; DAVICCO, M.J.; LE'OTOING, L.; WITTRANT, Y.; DELZENNE, N.M.; CANI, P.D.; NEYRINCK, A. M.; MEHEUST, A. Prebiotic effects: Metabolic and health benefits. **British Journal of Nutrition**, v.104, p. S1-S63, 2010.

ROBINSON, R. K. **Therapeutic properties of fermented milks**. New York: Elsevier, 1991. 185 p.

ROBINSON, R.K. ed. **Dairy microbiology handbook**. 3ed. New York: Wiley Interscience, 2002. 765 p.

ROBERTS, A. **The safety and regulatory process for low calorie sweeteners in the United States**. *Physiol. Behav.* v.164, p.439-444, 2016.

RULIS, A.M.; LEVITT, J.A. FDA'S food ingredient approval process: safety assurance based on scientific assessment. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* v.53, n.20, p.31, 2009.

RYBKA, S.; KAILASAPATHY, K. The survival of culture bacteria in fresh and freeze-dried A B yoghurts. **The Australian Journal of Dairy Technology**, v. 5, n. 2, p. 51-57, 1995.

SABA, Z. H.; SUZANA, M.; MY, Y. A. **Honey: food or medicine**. *Medicine & Health*, v.8, n.3, 2013.

SAKHARE, P. Z.; NARASIMHA, R. D. Microbial profiles during lactic fermentation of meat by combined starter cultures at high temperatures. **Food Control**, v. 14, n. 1, p. 1-5, 2003.

SALGADO, J. **Alimentos Funcionais** (256 p). São Paulo: Oficina de Textos, 2017.

SAMONA, A.; ROBINSON, R. K. Enumeration of bifidobacteria in dairy products. **Journal of the Society of Dairy Technology**, v. 44, n. 3, p. 64-66, 1991.

SANDERS, M.E.; MERENSTEIN, D.J.; OUWEHAND, A.C.; REID, G.; SALMINEN, S.; CABANA, M.D.; PARASKEVAKOS, G.; LEYER, G., 20 Probiotic use in at-risk populations. **Journal of American Pharmacists Association**, v. 56, n.6, p.680-686, 2016..

SANDERS, M.E.; BENSON, A.; LEBEER, S.; MERENSTEIN, D.J.; KLAENHAMMER, T. R. Shared mechanisms among probiotic taxa: Implications for general probiotic claims. **Current Opinion in Biotechnology**, v.49, pp. 207-216, 2019.

SAXELIN, M. Lactobacillus GG—a human probiotic strain with thorough clinical documentation. **Food Reviews International**, v. 13, p. 293–313, 1997.

SE, K.W.R.K.R.; IBRAHIM, R.A.; WAHAB, S.K. Ghoshal Accurate evaluation of sugar contents in stingless bee (*Heterotrigona itama*) honey using a swift scheme. **J. Food Compos. Anal.** v. 66, pp. 46-54, march. 2018.

SERBAI, D; OTTO, S. M; NOVELLO, D. Diferentes tipos de edulcorantes na aceitabilidade sensorial de café (coffea arábica L.). **Revista UNIABEU Belford Roxo**. v.7 Número 17 setembro- dezembro de 2014.

SHARMA, N.; KAUSHAL, N.; CHAWLA, A.; MOHAN, M.; SETHI, A.; SHARMA, Y.; Stéviarebaudiana - A review. **Agrobios Newsletter**, v. 5, p. 46-48, 2006.

SHIBAO, J.; SANTOS, G. F.A.; GONÇALVES, N.F.; GOLLUCKE, A.P.B. **Edulcorantes em alimentos: aspectos químicos, tecnológicos e toxicológicos**. 1ª ed. São Paulo: Phorte; 2009.

SHIKHA, J.; SHARMA, K.; KHADKE, M. “Consumer behavior towards functional foods in India- a study of market drivers & challenges,” **IOSR Journal of Business and Management (IOSRJBM)**, v.1, n.1, p. 33–40, 2014.

SHOKRYAZDAN, M.F.; JAHROMI, B. NAVIDSHAD, J.B. LIANG. Effects of prebiotics on immune system and cytokine expression, **Med. Microbiol. Immunol.** 206 (2017)1–9, <https://doi.org/10.1007/s00430-016-0481-y>

SIEUWERTS, S.; MOLENAAR, D.; VAN HIJUM, S.A.F.T.; BEERTHUYZEN, M.; STEVENS, M.J.A.; JANSSEN, P.W.M.; INGHAM, C.J.; BOK, F.A.M.; VOS, W.M.; VLIEG, J.E.T.V.H. Mixed-culture transcriptome analysis reveals the molecular basis of mixed-culture growth in *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus*. **Appl. Environm. Microbiol.**, v.76, n.23, p.7775-7784, 2010.

SIERRA, S.; LARA-VILLOSLADA, F.; OLIVARES, M.; JIMENEZ, J.; OZA, J.; XAUS, J. Increased immune response in mice consuming rice bran oil. **European Journal of Nutrition**. v.44, pp. 509-516, 2005.

SILVA, R. A.; AQUINO, I. S.; RODRIGUES, A. G. Análise físico-química de amostras de mel de abelhas Zamboque (*Frieseomelitta varia*) da região do Seridó do Rio Grande do Norte. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável** , Mossoró, v. 4, n. 3, p. 70-76, 2009.

SIRANGELO, T.M. Sensory Descriptive Evaluation of Food Products: A Review. **Journal of Food Science and Nutrition Research** , v.2 , n.4, p.354-363, 2019.

SOARES, L.A.S.; FURLONG, E.B.; FEDDERN, V. **Bioquímica Experimental: uma introdução**. Editora e Gráfica Universitária/UFPEL, Pelotas, 2010.

SOARES JUNIOR, M.S.S. , BASSINELLO P.Z., CALIARI, M.; VELASCO, P.; REIS, R.C.; CARVALHO, W.T. Bebidas saborizadas obtidas de extratos de quirera de arroz integral e de soja. **Ciência e agrotecnologia, Lavras**, v. 34, n. 2, p. 407-413, mar./abr., 2010

SOŁOWIEJ, B.; GLIBOWSKI, P.; MUSZYŃSKI, S.; WYDRYCH, J.; GAWRON, A.; JELIŃSKI, T. The effect of fat replacement by inulin on the physicochemical properties and microstructure of acid casein processed cheese analogues with added whey protein polymers. **Food Hydrocolloids**, v.44, pp. 1-11, 2015.

SOMME, L.; VANDERPLANCK, M.; MICHEZ, D.; LOMBAERDE, I.; MOERMAN, R.; WATHELET, B.; WATTIEZ, R.; LOGNAY, G.; JACQUEMART, A.-L. Pollen and nectar quality drive the major and minor floral choices of bumble bees. **Apidologie**, v.46, p.92, 2015.

SOUZA, C.C. **Caracterização físico-química, química e análise de sabor de méis poliflorais.2003**. 135 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2003.

STATSOFT Inc. **STATISTICA (data analysis software system)**, version 7.0 (Software estatístico). 2006

STONYFIELD, F. I. **Petition to the National Organic Standards Board to add the substance Rice Starch**, non-modified, p.34,2007.

STONE, H. Example food: What are its sensory properties and why is that important? **Science of Food**, v.11, n.2, p.1-3, 2018.

SYAHARIZA, Z. A.; SAR, S.; HASJIM, J.; TIZZOTTI, M. J.; GILBERT, R. G. The importance of amylose and amylopectin fine structures for starch digestibility in cooked rice grains. **Food Chemistry**, v. 136, p. 742–749, 2013.

SCF, Scientific Committee on Food, 2000a. Opinion of the Scientific Committee on Food on Sucralose (Opinion Expressed by the SCF on 7 September 2000) [Internet].

European Commission, Health & Consumer Protection Directorate-General, Scientific Committee on Food (SCF), Brussels (Belgium) [cited 2017 Jan 20]. (SCF/CS/ADD/EDUL/190 Final). Available from: https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/safety/docs/sci-com_scf_out68_en.pdf.

Tabela brasileira de composição de alimentos / NEPA – UNICAMP.- 4. ed. rev. e ampl.. -- Campinas: NEPA- UNICAMP, 2011. 161 p. http://www.nepa.unicamp.br/taco/contar/taco_4_edicao_ampliada_e_revisada.pdf

TIHOLE, F. Possible treatment of AIDS patients with live lactobacteria. **Medical Hypothesis**, v. 26, n. 1, p. 85-88, 1988.

TORLONI, M.R. O uso de adoçantes na gravidez: uma análise dos produtos disponíveis no Brasil. **Rev Bras Ginecol Obstet**.v.29, n.5, p.267-273, 2007.

TRAN, T.U.; SUZUKI, K.; OKADOME, H.; HOMMA, S.; OHTSUBO, K. Analysis of the tastes of brown rice and milled rice with different milling yields using a taste sensing system. **Food Chemistry**, v.88, n.4, p.557-566, 2004.

TRINDADE, C. S.; TERZI, S. C.; TRUGO, L. C.; DELLA MODESTA, R. C. Development and sensory evaluation of soy milk based yoghurt. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v. 51, n.1, 2001.

TOUSSAINT-SAMAT, M. A. **history of food**, 2a. ed., John Wiley & Sons: United Kingdom, 2009.

USAMI, M. M; MIYOSHI, H; YAMASHITA. Gut microbiota and host metabolism in liver cirrhosis. **World J. Gastroenterol**. V.21 n.41, pp. 11597-11608, 2015.

VÁSQUEZ, A.; MOLIN, G.; PETTERSSON, B.; ANTONSSON, M.; AHRNE, S. DNA-based classification and sequence heterogeneities in the 16S rRNA genes of *Lactobacillus casei/paracasei* and related species. **Systematic and Applied Microbiology**, n. 28, v. 5, p. 430-441, 2005.

US FDA, U.S. Food and Drug Administration, 1998. Food additives permitted for direct addition to food for human consumption: sucralose; final rule [21CFR Part 172; Docket No. 87F-0086]. Fed. Regist. (US) 63, 16417e16433.

US FDA, U.S. Food and Drug Administration, 1999. Food additives permitted for direct addition to food for human consumption: sucralose; final rule [21CFR Part 172; Docket No. 99F-0001]. Fed. Regist. (US) 64, 43908e43909.

US FDA, U.S. Food and Drug Administration, 2015. Additional Information about High-intensity Sweeteners Permitted for Use in Food in the United States [Internet] U.S. Food and Drug Administration (US FDA). Center for Food Safety & Applied Nutrition (CFSAN) [cited 2017 Jan 20]. Available from: <http://www.fda.gov/Food/IngredientsPackagingLabeling/FoodAdditivesIngredients/ucm397725.htm> [Page Last Updated: 05/26/2015].

VALENTIN, J.L **Ecologia numérica: uma introdução à análise multivariada de dados ecológicos**. Rio de Janeiro: Interciência, 2012. 168p.

VAN HUNG,P; HT, CHAU, E; NTL, PHI. Digestibilidade *in vitro* e *in vivo* resposta glicose em amidos de arroz nativos e modificados fisicamente, variando o teor de amilose. **Food Chem.** v.191 , p. 74 – 80, 2016.

VÁSQUEZ, A.; MOLIN, G.; PETTERSSON, B.; ANTONSSON, M.; AHRNE, S. DNA-based classification and sequence heterogeneities in the 16S rRNA genes of *Lactobacillus casei/paracasei* and related species. **Systematic and Applied Microbiology**, n.28, v.5, p.430-441, 2005.

VERRUMA, M. R.; OLIVEIRA, A. J.; SALGADO, J. M., Avaliação Química e nutricional do queijo mozzarella e iogurte de leite de búfala. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 50, n. 3, p. 438 – 443, 1993.

VERSPREET,J; DORNEZ, E; VAN DEN ENDE, W; DELCOUR, J.A; COURTIN, C.M. Cereal grain fructans: Structure, variability and potential health effects. **Trends in Food Science & Technology**, v.43, n.1, p. 32-42, 2015.

VILLEGAS, B; TÁRREGA, A; CARBONELL, I; COSTELL, E. Optimising acceptability of new prebiotic low-fat milk beverages. **Food Quality and Preference**, 21 (2) (2010), pp. 234-242

VINDEROLA, C. G.; PROSELLO, W.; GIBERTO, D.; REINHEIMER, J. A. Viability of probiotic (*Bifidobacterium*, *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei*) and nonprobiotic microflora in Argentinian cheese. **Journal of Dairy Science**, v. 83, p. 1905-1911, 2000.

VOGEL, R. F.; POHLE, B. S.; TICHACZEK, P. S.; HAMMES, W. P. The competitive advantage of *Lactobacillus curvatus* LTH1174 in sausage fermentations is caused by

formation of curvacina A. **Systematic and Applied Microbiology**, v. 16, p. 457-462, 1993.

WANG, IK.; WU YY.; YANG YF.; TING IW.; LIN CC.; YEN TH. et al. The effect of probiotics on serum levels of cytokine and endotoxin in peritoneal dialysis patients: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. **Benef Microbes**, v.6, p.423-430, 2018.

WANI.A. , P. SINGH, M.A. SHAH, U. SCHWEIGGERT-WEISZ, K. GUL, I.A. Rice starch diversity: effects on structural, morphological, thermal, and physicochemical properties da review. **Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.**,v 11 , p. 417-436, 2012.

WAILI-AL, N. S. Natural honey lowers plasma glucose, C-reactive protein, homocysteine, and blood lipids in health, diabetic, and hypelipidemic subjects: comparison with dextrose and sucrose. **Journal of Medicinal Food**, v.7, n.1, p. 100-107, 2004.

WHITE JÚNIOR, J. W. Methods for determinung carbohydrates, hydroxymetilhyfurfural and proline in honey; Collaborative study. **J of the.Assoc.of Off. Anal. Chem.**, Arlington, v. 62, n. 3, p.515-526, 1979.

WIET, S.G., BEYTS, P.K. Sensory characteristics of sucralose and other high intensity sweeteners. **Journal of Food Science**, v.57, n.4, p. 1014-1019, 1992 .

YANG, Q. Gain weight by `` going diet``? Artificial sweeteners and the neurobiology of sugar cravings. **Yale J Biol Med.**; v.83, n.2, p.101-108, Jun 2010.

YEBRA, M. J.; COLL-MARQUE´S, J. M.; SANFÉLIX-HAYWOOD, N. Role of a-phosphoglucomutase and phosphoglucose isomerase activities at the branching point between sugar catabolism and anabolism in *Lactobacillus casei*. **Journal of Applied Microbiology**, v. 111, p. 433-442, 2011.

YILMAZ, E.; AYDENIZ, B. Sensory evaluation and consumer perception of some commercial green table olives, **British Food Journal**, v. 114, n.8 p. 1085 – 1094, 2012.

YOUNAS ,A; BHATTI, M.S; AHMED, A; RANDHAWA, M.A. Effect of rice bran supplementation on cookie baking quality. **Pakistan Journal of Agricultural Sciences**, v.48, pp. 129-134, 2011.

ZANINI, R.V; ARAÚJO, C.L; MARTÍNEZ-MESA, J. Utilização de adoçantes dietéticos entre adultos em Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil: um estudo de base populacional. **Cad Saúde Pública**; V.27, p.924-934, 2011.

ZAVAREZE, E. R.; STORCK, C. R.; CASTRO, A. S.; SCHIRMER, M. A.; DIAS, A. R. Effect of heat-moisture treatment on rice starch of varying amylose content. **Food Chemistry**, v. 121, p. 358–365, 2010.

ZAVAREZE, E. R.; DIAS, A. R. G. Impact of heat-moisture treatment and annealing in starches: A review. **Carbohydrate Polymers**, v. 83, p. 317–328, 2011.

ZHAO, J.; DU, X.; CHENG, N.; CHEN, L.; XUE, X.; ZHAO, J.; WU, L.; CAO, W. Identification of monofloral honeys using HPLC–ECD and chemometrics. **Food Chemistry**, v. 194, pp. 167–174, 2016.

ZOU, W.; YU, L.; LIU, X.; CHEN, L. ZHANG, X.; QIAO, D.; ZHANG, R. Effects of amylose/amylopectin ratio on starch-based superabsorbent polymers. **Carbohydrate Polymers**, v. 87, p. 1583–1588, 2012.

ZUBAIDAH, E; NURCHOLIS, M; WULAN, S.N; KUSUMA, A. Comparative study on synbiotic effect of fermented rice bran by probiotic lactic acid bacteria *Lactobacillus casei* and newly isolated *Lactobacillus plantarum* B2 in Wistar Rats. **APCBEE Procedia**, 2 (2012), pp. 170–177, 10.1016/j.apcbee.2012.06.03.

APENDICES

APÊNDICE A- PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

UNIVERSIDADE
TECNOLÓGICA FEDERAL DO



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Desenvolvimento de uma bebida simbiótica à base de arroz e mel

Pesquisador: Henry Charles Albert David Naidoo Temoso de Mendonça Brandão

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 10382519.7.0000.5547

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.264.356

Apresentação do Projeto:

De acordo com o pesquisador no mercado há uma grande variedade de produtos fermentados lácteos, mas estes são vedados ao consumo principalmente por pessoas intolerantes a lactose ou alérgicas a proteína do leite. Em aspecto global, a intolerância a lactose é representada por altos percentuais como, por exemplo, na Índia (86 %), China (85 %), Japão (83 %) e Turquia (71 %). No Brasil, os índices de intolerância a lactose de acordo com Pereira Filho e Furlan (2004), atingem 57 % da população. Devido a esta grande parcela de consumidores que possuem restrição quanto ao consumo de derivados lácteos, esta consequência passa a ser um estímulo às indústrias para o desenvolvimento de novos produtos, sendo a soja a opção mais explorada. Em relação à soja, de acordo com a evolução da ciência, descobriram-se aspectos negativos quanto a sua composição nutricional, como o conteúdo proteico. A soja em sua composição apresenta em torno de 19 proteínas que podem ocasionar problemas alérgicos, sendo este o motivo de preocupação dos especialistas, o que pode afetar cerca de 0,5% da população. Entretanto, visando opções que substituam o leite e o extrato de soja, pesquisas têm-se intensificado para o uso de grãos e cereais com o propósito da elaboração de novos extratos ou bebidas que possam ser consumidos sem restrição. Uma das alternativas é o uso do arroz para a elaboração do extrato. O arroz, cientificamente denominado *Oryza sativa* L, é uma das mais importantes fontes de nutrientes difundida mundialmente em mais de 116 países. De acordo com a Conab (2017), a safra brasileira de arroz, referente à 2016/2017 apresentou uma produção de 12.129,9 mil toneladas em casca,

Endereço: SETE DE SETEMBRO 3165

Bairro: CENTRO

CEP: 80.230-901

UF: PR

Município: CURITIBA

Telefone: (41)3310-4404

E-mail: cecp@utfpr.edu.br

Continuação do Projeto: 1.264.366

demonstrando assim uma grande disponibilidade de matéria prima para a elaboração de novos produtos. Vale ressaltar também que o arroz é uma das culturas mais importantes anuais, pois está presente em praticamente todos os estados do país. É interessante salientar que o arroz em geral, apresenta um perfil de aminoácidos essenciais mais adequado, em questão nutricional, quando comparado a outros cereais como o milho e o trigo. De acordo com Jaekel et al (2010) e Silva et al (2015), dentre os extratos vegetais, destaca-se o extrato de arroz devido ao mesmo oferecer um sabor suave e ligeiramente adocicado, resultante da hidrólise do amido em maltose por ação enzimática, assim como as proteínas presentes agregam boa digestibilidade e mínimo potencial alérgico ao consumo. Desta forma, o grão de arroz torna-se viável para o estudo de desenvolvimento de bebidas de caráter probiótico. Dentre as bebidas simbióticas disponíveis no mercado em nível de consumidor, destacam-se somente a base de leite ou ao extrato de soja. Nesta perspectiva, a bebida simbiótica a base de extrato de arroz vem a ser um produto inédito e de grande característica funcional, por não apresentar restrições ao consumo e poder atender um maior número de consumidores.

Esta pesquisa almeja desenvolver na primeira etapa, nove formulações de bebida fermentada à base de arroz e adoçantes, utilizando-se adoçantes como a estévia rebaudiana, sucralose e aspartame e fibra dietética solúvel(inulina). Na segunda etapa será desenvolvida uma formulação de bebida fermentada de arroz e mel e fibra dietética solúvel (inulina). Serão realizados pré-testes para a definição das formulações. Serão realizadas análises físico-químicas e microbiológicas para garantir a inocuidade das amostras aos avaliadores não treinados na análise sensorial, a ser aplicada em duas etapas com a colaboração de 240 consumidores, com idade acima de 18 anos, docentes,técnico-administrativos, funcionários terceirizados e alunos dos cursos superiores da Universidade Tecnológica Federal do Paraná campus Medianeira. Na primeira etapa, com a colaboração de 120 avaliadores não treinados, serão avaliadas nove amostras de bebida fermentada de arroz e adoçantes, mediante o uso do teste de escala Hedônica de nove pontos, variando desde (1) desgostei extremamente até (9) gostei extremamente, e uma pesquisa de mercado para a obtenção de dados como sexo, idade, peso, altura, frequência de consumo de arroz, mel, leite fermentado. Na segunda etapa, mediante a colaboração de 120 avaliadores não treinados, serão avaliadas cinco amostras, sendo uma amostra de bebida fermentada de arroz mel, duas amostras de bebida fermentada de arroz e adoçantes(que apresentaram melhor aceitabilidade na primeira etapa) e duas de leite fermentado de marcas comerciais adquiridas, mediante o uso do teste de escala Hedônica de nove pontos, variando desde (1) desgostei extremamente até (9) gostei extremamente, e uma pesquisa de mercado para

Endereço: SETE DE SETEMBRO 3165

Bairro: CENTRO

CEP: 80.230-901

UF: PR

Município: CURITIBA

Telefone: (41)3333-4494

E-mail: ccep@utfpr.edu.br

Continuação do Projeto: 3.264.366

a obtenção de dados como sexo, idade, peso, altura, frequência de consumo de arroz, mel, leite fermentado. A análise estatística será efetuada através da análise de variância e o teste de médias de Tukey.

Critério de inclusão: na avaliação sensorial em duas etapas, participarão pessoas com idade acima de 18 anos de ambos os sexos, compostos por funcionários públicos (técnicos-administrativos e professores), funcionários terceirizados e alunos dos cursos de Tecnologia de Alimentos, Tecnologia Ambiental, Desenvolvimento de Sistemas, Engenharia de Alimentos, Engenharia de produção, Engenharia Elétrica, PROFOP, Engenharia Ambiental, Licenciatura em Química, Mestrado em Tecnologia de Alimentos, Mestrado em em Tecnologias Computacionais para o Agronegócio, Mestrado em Tecnologias Ambientais, da UTFPR campus Medianeira.

Crítérios de Exclusão : para a avaliação sensorial da primeira etapa, serão excluídas as pessoas que não gostarem de arroz, adoçantes como estévia, sucralose, aspartame, ou que apresentem alguma alergia ou restrição ao consumo de arroz, adoçantes como estévia, sucralose, aspartame, por motivo de doença, como por exemplo gastrite, úlcera, diabetes e fenilcetonúria. No critério de exclusão para a avaliação sensorial da segunda etapa, serão excluídas as pessoas que não gostarem de arroz, mel , leite fermentado ou que apresentem alguma alergia, intolerância ou restrição ao consumo de arroz, mel, leite fermentado, adoçante.

Objetivo da Pesquisa:

Segundo o pesquisador o objetivo principal deste trabalho é desenvolver um produto simbiótico a base de arroz, saborizado, acrescido de fibra de inulina e avaliar o comportamento fermentativo por meio de análises físico-químicas, sensoriais e cromatográficas.

Os objetivos secundários são: desenvolver uma bebida fermentada com características simbióticas realizando-se mudanças na proporção de ingredientes; Avaliar características físico-químicas (resíduo mineral fixo, umidade, sólidos totais, acidez, pH, carboidratos e proteínas) dos produtos formulados; Estudar a cinética da fermentação em diferentes temperaturas do produto elaborado; Avaliar o desenvolvimento do inoculo probiótico de acordo com o tipo de açúcar utilizado (glicose, sacarose, adoçante e mel); Quantificar os teores de fibra dietética total, solúvel e insolúvel dos produtos formulados; Analisar por CLAE o consumo do carboidrato de preferência durante o processo fermentativo; Quantificar as bactérias acidoláticas (*Lactobacillus casei*, *acidophilus*,

Endereço: SETE DE SETEMBRO 3165

Bairro: CENTRO

CEP: 80.230-901

UF: PR

Município: CURITIBA

Telefone: (41)3333-4494

E-mail: coep@utfpr.edu.br

Continuação do Parecer: 3.264.358

Streptococcus thermophilus e Bifidunbacterium) por análises microbiológicas durante o desenvolvimento da bebida fermentada e no produto final; Identificar e quantificar os teores dos minerais (P, Mg, Ca, Fe, Mn e Zn) no produto final por espectrometria de absorção atômica e espectrometria de absorção molecular no visível; Avaliar a aceitabilidade do produto quanto às suas características sensoriais e verificar se há ou não diferença significativa entre as bebidas formuladas por análise estatística; Estudar a vida de prateleira do produto melhor aceito sensorialmente por regressão linear.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

De acordo com o pesquisador, na avaliação sensorial, o risco é dos participantes sentirem algum desconforto, e se for necessário serão encaminhados a um serviço de atendimento médico mais próximo pelos pesquisadores responsáveis por este estudo. Neste caso, os participantes que sentirem algum desconforto, também poderão desistir de sua contribuição neste estudo sem nenhum ônus.

Quanto aos benefícios, segundo os pesquisadores, na avaliação sensorial da primeira etapa, ressalta-se que as amostras de bebida fermentada de arroz e adoçantes como sucralose, esteviosídeo e aspartame, contém micro-organismos probióticos benéficos para a saúde como Lactobacillus casei, acidóphilus, Streptococcus thermophilus e Bifidunbacterium e também fibra dietética solúvel como a inulina, que tem a função de reduzir o colesterol sanguíneo, além de melhorar a absorção de minerais como o cálcio e o ferro. Quanto aos benefícios na avaliação sensorial da segunda etapa, ressalta-se que a bebida fermentada de arroz e mel e adoçantes como sucralose, esteviosídeo e aspartame, contém micro-organismos probióticos benéficos para a saúde como Lactobacillus casei, acidóphilus, Streptococcus thermophilus e Bifidunbacterium e também fibra dietética solúvel como a inulina, que tem a função de reduzir a colesterol sanguíneo, além de melhorar a absorção de minerais como o cálcio e o ferro, e o leite fermentado de marcas comerciais, contém micro-organismos probióticos benéficos para a saúde, como Lactobacillus, que melhoram a flora intestinal. Desta forma, os produtos a serem degustados são saudáveis e apresentarão uma segurança microbiológica para garantir a sua ingestão. A opinião dos avaliadores não treinados (consumidores) será de grande valia para que os pesquisadores possam concluir este estudo quanto à aceitação destes produtos.

Endereço: SETE DE SETEMBRO 3165

Bairro: CENTRO

CEP: 80.230-901

UF: PR

Município: CURITIBA

Telefone: (41) 3310-4494

E-mail: coep@utfpr.edu.br

Continuação do Parecer: 1.264.356

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O trabalho é relevante para a área.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

O projeto atende as recomendações da Resolução 466/12.

Recomendações:

Não há.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Ver recomendações.

Considerações Finais a critério do CEP:

Lembramos aos senhores pesquisadores que, no cumprimento da Resolução CNS nº 466 de 2012 e da Norma Operacional nº 001 de 2013 do CNS, o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) deverá receber relatórios anuais sobre o andamento do estudo, bem como a qualquer tempo e a critério do pesquisador nos casos de relevância, além do envio dos relatos de eventos adversos, para conhecimento deste Comitê. Salientamos ainda, a necessidade de relatório completo ao final do estudo. Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP-UTFPR de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificado e as suas justificativas.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PE_INFORMACOES_BASICAS_DO_PROJETO_1295578.pdf	27/03/2019 03:03:16		Aceito
Outros	Termo_confidencialidade.pdf	27/03/2019 02:35:39	Henry Charles Albert David Naidoo Termoso de Mendonça Brandão	Aceito
Outros	Ficha_sensorial_nove_amstras.pdf	27/03/2019 02:19:49	Henry Charles Albert David Naidoo Termoso de Mendonça Brandão	Aceito
Outros	Ficha_sensorial_cinco_amstras.pdf	27/03/2019 02:19:21	Henry Charles Albert David Naidoo Termoso de Mendonça Brandão	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento /	Termo_consentimento_nove_amstras.pdf	27/03/2019 02:14:55	Henry Charles Albert David	Aceito

Endereço: SETE DE SETEMBRO 3165

Bairro: CENTRO

CEP: 80.230-601

UF: PR

Município: CURITIBA

Telefone: (41)3310-4494

E-mail: ceep@utfpr.edu.br

Continuação do Parecer: 3.264.006

Justificativa de Ausência	Termo_consentimento_nove_amstras.pdf	27/03/2019 02:14:55	Naidoo Terroso de Mendonça Brandão	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Termo_consentimento_cinco_amstras.pdf	27/03/2019 02:13:52	Henry Charles Albert David Naidoo Terroso de Mendonça Brandão	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_doutorado.pdf	27/03/2019 02:13:37	Henry Charles Albert David Naidoo Terroso de Mendonça Brandão	Aceito
Folha de Rosto	Folha_rosto_assinada.pdf	27/03/2019 01:37:54	Henry Charles Albert David Naidoo Terroso de Mendonça Brandão	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

CURITIBA, 14 de Abril de 2019

Assinado por:
Frieda Saicla Barros
(Coordenador(a))

Endereço: SETE DE SETEMBRO 3185

Bairro: CENTRO

CEP: 80.230-001

UF: PR

Município: CURITIBA

Telefone: (41)3310-4404

E-mail: coep@ufpr.edu.br

APÊNDICE B- FICHA DE AVALIAÇÃO SENSORIAL PRIMEIRA FASE

ANÁLISE SENSORIAL DE BEBIDA FERMENTADA DE ARROZ E ADOÇANTES

TESTE DE ESCALA HEDÔNICA

Você está recebendo nove amostras de bebida fermentada de arroz e adoçantes (estévia, sucralose, aspartame).

Avalie as amostras utilizando a escala de valores abaixo:

- (9) Gostei extremamente
- (8) Gostei muito
- (7) Gostei moderadamente
- (6) Gostei ligeiramente
- (5) Indiferente
- (4) Desgostei ligeiramente
- (3) Desgostei moderadamente
- (2) Desgostei muito
- (1) Desgostei extremamente

Descreva o quanto você gostou e/ou desgostou, com relação aos atributos:

Amostra	Impressão Global	Cor	Aparência	Aroma	Sabor	Doçura	Consistência
051							
683							
417							
296							
815							
520							
749							
328							
194							

Comentários:

Muito obrigado pela colaboração!

APÊNDICE C - FICHA DE AVALIAÇÃO SENSORIAL SEGUNDA FASE

ANÁLISE SENSORIAL DE BEBIDA FERMENTADA DE ARROZ E MEL

TESTE DE ESCALA HEDÔNICA

Você está recebendo cinco amostras de bebida fermentada de arroz e mel e adoçantes (estévia| sucralose e aspartame) e de leite fermentado de marcas comerciais. Avalie as amostras utilizando a escala de valores abaixo:

- (9) Gostei extremamente
- (8) Gostei muito
- (7) Gostei moderadamente
- (6) Gostei ligeiramente
- (5) Indiferente
- (4) Desgostei ligeiramente
- (3) Desgostei moderadamente
- (2) Desgostei muito
- (1) Desgostei extremamente

Descreva o quanto você gostou e/ou desgostou, com relação aos atributos:

Amostra	Impressão Global	Cor	Aparência	Aroma	Sabor	Doçura	Consistência
051							
683							
417							
925							
164							

Comentários:

Muito obrigado pela colaboração!