



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE TECNOLOGIA E RECURSOS NATURAIS
UNIDADE ACADÊMICA DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS

SHÊNIA SANTOS MONTEIRO

**RELATÓRIO DE ESTÁGIO SUPERVISIONADO: LABORATÓRIO DE
ENGENHARIA DE ALIMENTOS - LEA**

CAMPINA GRANDE – PB

2018

SHÊNIA SANTOS MONTEIRO

**RELATÓRIO DE ESTÁGIO SUPERVISIONADO: LABORATÓRIO DE
ENGENHARIA DE ALIMENTOS - LEA**

Relatório apresentado como conclusão do Estágio
Supervisionado obrigatório do curso de
Engenharia de Alimentos da Universidade Federal
de Campina Grande – PB.

Orientador: Prof^o Dr^o Matheus Augusto de
Bittencourt Pasquali

Supervisor: Prof^o Dr^o Hugo Miguel Lisboa
Oliveira

CAMPINA GRANDE – PB

2018



Biblioteca Setorial do CDSA. Maio de 2021.

Sumé - PB

SHÊNIA SANTOS MONTEIRO

**RELATÓRIO DE ESTÁGIO SUPERVISIONADO: LABORATÓRIO DE
ENGENHARIA DE ALIMENTOS - LEA**

Relatório de Estágio Supervisionado obrigatório apresentado ao curso de Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Campina Grande, defendido e aprovado em ____ de _____ de _____, pela banca examinadora constituída pelos professores:

Prof. Dr Matheus Augusto de Bittencourt Pasquali

Orientador

Prof. Dra Maria Elita Martins Duarte

Examinador

Prof. Dra Mércia Melo de Almeida Mota

Examinador

AGRADECIMENTOS

Antes de concluir algo, contamos com o apoio de várias pessoas, das quais expresso meus agradecimentos.

A minha irmã, pelo apoio e incentivo de todos os dias.

Aos colegas de curso e colaboradores, pelo carinho e companheirismo para comigo.

A Leila e Rebeca, pela confiança e conhecimentos compartilhados.

A Professora Deyzi Gouveia, pelo carinho com que me recebeu no Laboratório de Microbiologia, e pelos ensinamentos compartilhados durante todo o curso.

RESUMO

As frutas são um dos alimentos que apresentam maior desperdício *in natura*, uma vez que possuem alto teor de água, fazendo-se necessário o estudo de métodos de processamento eficientes no aumento do tempo de vida útil do produto, como também, na preservação dos componentes nutricionais e características funcionais. Desse modo, as atividades desenvolvidas no estágio supervisionado, teve como objetivo padronizar o processo para obtenção da polpa de maracujá probiótica. As atividades foram desenvolvidas no Laboratório de Engenharia de Alimentos, da Universidade Federal de Campina Grande – PB. A matéria-prima utilizada no processamento foi adquirida no comércio local da cidade de Campina Grande, levadas para o Laboratório de Engenharia Bioquímica, onde ocorreu o processamento do fruto, de acordo com as Boas Práticas de Fabricação. O estudo do crescimento do *Lactobacillus reuteri* na polpa de maracujá ocorreu nas temperaturas de 30 °C, 20 °C e 10 °C, nas polpas com pH 3,18, pH 5,5 e pH 6,5. As características da polpa *in natura* e durante o processo fermentativo se deu através da contagem de células/mL (cinética) e análises dos parâmetros: pH, acidez total titulável, sólidos solúveis totais, carboidratos redutores e compostos fenólicos. Com base nos dados obtidos, foi possível observar a importância da padronização de processos, visando aumentar a eficiência e reduzir perdas. Dos dados coletados, observou-se que a polpa *in natura* (pH 3,18), foi a que apresentou os melhores resultados, mostrando ser um bom veículo para o *Lactobacillus reuteri*. Verificou-se que as condições ótimas para desenvolvimento do *Lactobacillus reuteri* na polpa de maracujá foi na temperatura de 30 °C com pH 3,18. Essas condições também apresentaram bons resultados na conservação das características da polpa do maracujá.

Palavras-chaves: Cinética, probiótico, maracujá.

ABSTRACT

The fruits are one of the foods that present greater in natura waste, since they have high water content, being necessary the study of efficient processing methods in the increase of the life time of the product, as well as in the preservation of the components nutritional and functional characteristics. Thus, the activities developed in the supervised stage, had as objective to standardize the process to obtain the pulp of probiotic passion fruit. The activities were developed in the Laboratory of Food Engineering, Federal University of Campina Grande - PB. The raw material used in the processing was acquired in the local commerce of the city of Campina Grande, taken to the Laboratory of Biochemical Engineering, where the processing of the fruit occurred, according to Good Manufacturing Practices. The study of the growth of *Lactobacillus reuteri* in passion fruit pulp occurred at temperatures of 30 ° C, 20 ° C and 10 ° C, in pulps with pH 3.18, pH 5.5 and pH 6.5. The characteristics of the pulp in natura and during the fermentation process were determined by cell counts/mL (kinetics) and analysis of the parameters: pH, titratable total acidity, total soluble solids, reducing carbohydrates and phenolic compounds. Based on the data obtained, it was possible to observe the importance of process standardization, aiming to increase efficiency and reduce losses. From the data collected, it was observed that the pulp *in natura* (pH 3.18) was the one that presented the best results, showing to be a good vehicle for *Lactobacillus reuteri*. It was found that the optimal conditions for development of *Lactobacillus reuteri* in passion fruit pulp was at 30 ° C with pH 3.18. These conditions also presented good results in the conservation of the characteristics of passion fruit pulp.

Key words: Kinetics, probiotic, passion fruit

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Fluxograma do processo de obtenção da polpa de maracujá probiótica.20
- Figura 2.** Curva de crescimento do *Lactobacillus reuteri* na polpa de maracujá nas temperaturas de 30 °C (A), 20 °C (B) e 10 °C (C), para diferentes níveis de pH (pH 3,18, pH 5,5 e pH 6,5).
.....26
- Figura 3.** Curva do pH nas temperaturas de 30 °C (A), 20 °C (B) e 10°C (C), com diferentes níveis de pH inicial da polpa (pH 3,18, pH 5,5 e pH 6,5).29
- Figura 4.** Curva de acidez total titulável nas temperaturas de 30 °C (A), 20 °C (B) e 10 °C (C), com diferentes níveis de pH inicial da polpa (pH 3,18, pH 5,5, pH 6,5).30
- Figura 5.** Curva de sólidos solúveis totais nas temperaturas de 30 °C (A), 20 °C (B) e 10 °C (C), com diferentes níveis de pH inicial da polpa (pH 3,18, pH 5,5 e pH 6,5).31
- Figura 6.** Curva de carboidratos redutores nas temperaturas de 30 °C (A), 20 °C (B) e 10 °C (C), com diferentes níveis de pH inicial da polpa (pH 3,18, pH 5,5, pH 6,5).32
- Figura 7.** Curva de compostos fenólicos nas temperaturas de 30 °C (A), 20 °C (B) e 10 °C (C), com diferentes níveis de pH inicial da polpa (pH 3,18, pH 5,5, pH 6,5).33

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Média e desvio padrão das análises físico-químicas e bioquímicas da polpa do maracujá azedo *in natura*.23
- Tabela 2.** Velocidade específica de crescimento máximo do *Lactobacillus reuteri* na polpa de maracujá, nas temperaturas de 30 °C, 20 °C E 10 °C, para diferentes níveis de pH (pH 3,18, pH 5,5 e pH 6,5).27
- Tabela 3.** Tempo de geração do *Lactobacillus reuteri* na polpa de maracujá, nas temperaturas de 30 °C, 20 °C e 10 °C, para diferentes níveis de pH (pH 3,18, pH 5,5 e pH 6,5).....27

LISTA DE EQUAÇÕES

Equação 1. Modelo matemático dos dados do pH 3,18 na temperatura de 30 °C	24
Equação 2. Modelo matemático dos dados do pH 5,5 na temperatura de 30 °C	24
Equação 3. Modelo matemático dos dados do pH 6,5 na temperatura de 30 °C	24
Equação 4. Modelo matemático dos dados do pH 3,18 na temperatura de 20 °C	25
Equação 5. Modelo matemático dos dados do pH 5,5 na temperatura de 20 °C	25
Equação 6. Modelo matemático dos dados do pH 6,5 na temperatura de 20 °C	25
Equação 7. Modelo matemático dos dados do pH 3,18 na temperatura de 10 °C	25
Equação 8. Modelo matemático dos dados do pH 5,5 na temperatura de 10 °C	25
Equação 9. Modelo matemático dos dados do pH 6,5 na temperatura de 10 °C	25

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	10
2. OBJETIVOS.....	11
2.1 Objetivo geral.....	11
2.2 Objetivos específicos.....	11
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	12
3.1 Instituição.....	12
3.1.1 Laboratório de Engenharia de Alimentos.....	12
3.2 Características do maracujazeiro.....	13
3.3 Mercado do maracujá e derivados.....	14
3.4 Alimentos funcionais.....	15
3.4.1 Probióticos.....	16
3.4.2. <i>Lactobacillus reuteri</i>	17
3.5 Alimentos probióticos não lácteo.....	17
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	19
4.1 Atividades desenvolvidas.....	19
4.1.1 Processamento da polpa de maracujá probiótica.....	19
4.1.2 Cinética de crescimento com parâmetros controlados.....	21
4.1.3. Métodos analíticos.....	21
4.1.3.1. Análises físico-químicas.....	21
4.1.3.2. Análises Bioquímicas.....	21
4.1.4 Modelagem dos dados.....	22
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	22
5.1 Caracterização físico-química e bioquímica da polpa de maracujá.....	22
6. CONCLUSÃO.....	34
7. REFERÊNCIAS.....	35

1. INTRODUÇÃO

Com o desenvolvimento da sociedade de consumo (e do desperdício) e com o avanço da globalização, a indústria alimentar moderna foi modificando a forma e o modo como consumimos alimentos (JESUS e PIRES, 2018).

Segundo a Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO), a produção de alimentos terá que crescer de 60% a 70%, tendo em vista o crescimento exponencial da população, que deve atingir 9,8 bilhões de pessoas até 2050. No entanto, cerca de um terço de todo alimento destinado ao consumo humano perde-se ou é desperdiçado durante toda cadeia de produção e consumo. Com relação ao desenvolvimento econômico, países desenvolvidos, o maior desperdício acontece na fase de consumo, sendo desperdiçado mesmo estando adequado para o consumo. Já em países de baixa renda, as perdas ocorrem principalmente nas fases iniciais da produção e distribuição (FAO, 2013).

Diante da alta perecibilidade das frutas e de produtos hortícolas de forma geral, vários métodos de conservação vêm sendo empregados para permitir o consumo em maior intervalo de tempo. A exemplo, o processamento de frutas para produção de néctares e sucos prontos para consumo (SIQUEIRA et al., 2018).

Dentre os frutos com alta perecibilidade, o maracujá-azedo ou amarelo (*P. edulis* fo. *flavicarpa*) é o mais cultivado e comercializado no país devido à qualidade de seus frutos. Em 2016, o Brasil produziu cerca de 703.489 toneladas de maracujá, sendo a região Nordeste responsável por 70% da quantidade do fruto produzida, seguido do Sudeste (14%), Norte (8%), Sul (6%) e Centro-Oeste (2%) (IBGE, 2017).

Com relação ao mercado *in natura*, o critério mais utilizado para avaliar sua qualidade de frutos, é a aparência externa. No caso do maracujá, um dos problemas identificados pela cadeia produtiva para a sua comercialização é a perda de massa e o conseqüente a consistência, o que confere aspecto enrugado ao fruto. Além da consistência, também apresentam grande susceptibilidade ao amadurecimento e à fermentação da polpa, o que resulta em curta vida útil (DURIGAN, 1998; TAVARES et al., 2003).

Após a colheita, de maneira geral, os frutos de maracujá de diferentes espécies apresentam vida útil reduzida de apenas três a sete dias, em condições de temperatura ambiente (RINALDI et al., 2017). Diante disso, o beneficiamento do maracujá é de suma importância, assim como, a padronização do processo, tendo em vista o aumento da vida útil e agregação de valor ao fruto e garantia de qualidade do produto.

O desenvolvimento da polpa de maracujá adicionado de uma cultura probiótica, além de agregar valor ao fruto, aumenta a variedade de produtos como este, atendendo a todo tipo de consumidor, principalmente os que buscam por alimentos saudáveis e que tragam benefícios a saúde.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Elaboração de um sistema de processamento da polpa de maracujá probiótica, estudo cinético e validação dos dados obtidos.

2.2 Objetivos específicos

- Construção do fluxograma de processamento da polpa de maracujá probiótica;
- Caracterização da polpa e produto final;
- Estudo da cinética de crescimento de *Lactobacillus reuteri* na polpa de maracujá.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Instituição

A Universidade Federal de Campina Grande – UFCG é uma instituição de ensino superior pública, com objetivo de ministrar ensino superior, desenvolver a pesquisa nas diversas áreas do conhecimento e promover a extensão universitária. Foi criada pela Lei N° 10.419, de 09 de abril de 2002, a partir do desmembramento da Universidade Federal da Paraíba – UFPB (Brasil, 2002).

O Campus sede está localizado na cidade de Campina Grande – Paraíba, com coordenadas geográficas 7°12'57.67"S35°54'35.71"W. Segundo dados do RUF (2017), a universidade conta com 15.807 alunos, divididos em 81 cursos, os quais estão distribuídos nos seis campi, situados nas cidades de Pombal, Patos, Souza, Cajazeiras, Cuité e Sumé.

3.1.1 Laboratório de Engenharia de Alimentos

O curso de Engenharia de Alimentos foi criado no ano de 2008, pela Resolução N° 17/2008, a qual aprova a criação do Curso de Engenharia de Alimentos, na Unidade Acadêmica de Engenharia Agrícola do Centro de Tecnologia e Recursos Naturais do Campus de Campina Grande, da Universidade Federal de Campina Grande, (Brasil, 2008). Porém, somente em 2014, foi criado a Unidade Acadêmica de Engenharia de Alimentos – UAEAL, pela Resolução N° 06/2014, no Centro de Tecnologia e Recursos Naturais, por desmembramento da Unidade Acadêmica de Engenharia de Alimentos – UAEA (Brasil, 2014).

Atualmente o curso conta com o Laboratório de Engenharia de Alimentos - LEA, inaugurado no ano de 2015, o qual consiste em um complexo de laboratórios compostos pelos: Laboratório de Medidas Físicas; Laboratório de Leite e Derivados; Laboratório de Carnes e Derivados; Laboratório de Análises Químicas; Laboratório de Análise Sensorial; Laboratório de Engenharia Bioquímica; Laboratório de Microbiologia, Laboratório de Estufas/Liofilização; Laboratório de Panificação e Laboratório de Computação. No ano de 2016, a Unidade Acadêmica de Engenharia de Alimentos inaugurou mais dois Laboratórios, o Laboratório de Desenvolvimento de Produtos Agroindustriais Multiusuário e o Laboratório de Tecnologia de Frio.

O Laboratório de Engenharia de Alimentos – LEA, dispõe de infraestrutura adequada, dando suporte para aulas práticas e realização de pesquisas na área de Ciências e Tecnologias de Alimentos e áreas afins. Atualmente conta com um corpo docente composto por 13 (treze) professores.

3.2 Características do maracujazeiro

Originário da América Tropical, o maracujá azedo (*Passiflora edulis*) é uma fruta exótica, atraente, rica em vitamina C, cálcio e fósforo, cujo aroma e sabor são muito apreciados pelo consumidor brasileiro. Devido a alta produção, sazonalidade e as perdas ocasionadas por condições climáticas, colheita, distância e perecibilidade dos frutos estimulou a produção industrial de polpas e néctares (MONTEIRO-HARA et al., 2011).

O maracujá azedo ou amarelo (*P. edulis* fo. *flavicarpa*) é o mais cultivado e comercializado no país devido à qualidade de seus frutos. A planta do maracujazeiro se desenvolve bem nas regiões tropicais e subtropicais, sendo encontradas nos diferentes Biomas do Brasil principalmente no Cerrado, Amazônia, Mata Atlântica e Caatinga. A planta não resiste a geadas, e a maioria das espécies não frutifica sob temperaturas baixas. Muitas espécies, principalmente as espécies comerciais são auto incompatíveis, ou seja, a frutificação dependente da polinização cruzada, que pode ser feita naturalmente pelos polinizadores ou artificialmente pelo produtor (FALEIRO et al., 2017).

Os frutos são usualmente bagas indeiscentes, com sementes normalmente envolvidas por um arilo de onde se extrai a polpa, que pode ser ácida ou doce e de aroma intenso. De acordo com o estágio de maturação, observa-se a mudança na textura e da tonalidade da casca, variando do verde para o amarelo ou amarelo-alaranjado, contendo múltiplas sementes (característica comum das espécies de *Passiflora*). Estima-se que o gênero *Passiflora* é composto por mais de 500 espécies, das quais mais de 150 são nativas do Brasil, considerado um dos maiores centros de diversidade. As espécies mais populares de maracujá comestíveis são o maracujá roxo (*Passiflora edulis* Sims), a granadilla (*Passiflora ligularis* Juss.), a gulupa (*Passiflora edulis* Sims. Fo *edulis*), o maracujá-doce (*Passiflora alata*. Curtis), maracujá-da-banana (*Passiflora mollissima* (Kunth) Spreng.) e maracujá amarelo (*Passiflora edulis* var. *flavicarpa* Degenerer) (CORRÊA et al., 2016; FALEIRO e JUNQUEIRA, 2016)

O maracujazeiro é conhecido pelas propriedades benéficas dos frutos e folhas, que são utilizadas para as mais diversas finalidades fitoterápicas, principalmente para problemas relacionados ao sistema nervoso. A multiplicidade de usos se reflete na riqueza de bioativos encontrados nas folhas, frutos e diferentes partes da planta. Em termos alimentares, os bioativos associados às alegações de saúde atribuídas ao gênero *Passiflora* pertencem à categoria dos compostos com potencial antioxidante, fibras e ácidos graxos (FALEIRO et al., 2017).

3.3 Mercado do maracujá e derivados

O cultivo das *Passifloras* tem grande importância econômica e social na geração de empregos no campo, no setor de venda de insumos, na agroindústria e nas cidades, além de ser importante opção de geração de renda para micros, pequenos, médios e grandes produtores. Diferentes espécies de maracujá são opções para os fruticultores, por gerar renda semanal ao longo de todo o ano, com diferentes opções de mercado e de agregação de valor ao produto. No Brasil, a espécie com maior expressão comercial é a *Passiflora edulis* Sims, conhecida como maracujazeiro azedo, a qual ocupa mais de 90% dos pomares brasileiros de maracujá, com produção anual que já chegou a quase um milhão de toneladas (OLIVEIRA, FALEIRO E JUNQUEIRA, 2017).

A importância socioeconômica do maracujá na Colômbia também é muito grande, tendo em vista que neste país há cadeias produtivas bem estabelecidas para seis diferentes espécies de *Passifloras*, incluindo um importante mercado de exportação de frutas frescas, principalmente da granadilla (*P. ligularis* A. Juss.). Além da Colômbia, outros países também produzem maracujá comercialmente como Equador, Peru, África do Sul, Costa Rica, México, Venezuela, Bolívia, Austrália, entre outros. Atualmente, o Equador é o maior exportador de suco concentrado (50° Brix) do maracujazeiro azedo. A África do Sul e Austrália produzem principalmente, o maracujá roxo (*P. edulis* f. *edulis*) que é consumido *in natura* (FALEIRO et al., 2017).

No Brasil, consome-se praticamente toda produção de maracujá, sendo que uma pequena parte é exportada na forma de suco concentrado. Apesar da grande produção, há relatos de importação de frutos produzidos em países vizinhos para abastecimento de indústrias de suco. O maracujá é produzido em todas as regiões brasileiras, havendo uma complementaridade da oferta dos frutos em todos os meses do ano. Ocorre uma flutuação do preço do maracujá pago ao produtor em função da maior e menor oferta. De um modo geral, o preço do maracujá é menor nas épocas mais frias do ano, devido a uma menor demanda dos consumidores. A cultura do maracujá tem um mercado promissor, e com o consumo de frutos *in natura* cada vez mais crescente, em decorrência principalmente, da maior demanda por alimentos com maior qualidade funcional e nutracêutica (OLIVEIRA, FALEIRO E JUNQUEIRA, 2017).

O fruto do maracujazeiro possui uso múltiplo, possibilitando a obtenção de diferentes ingredientes para a aplicação na indústria de alimentos, fitoterápica e cosmética. As folhas das espécies *P. incarnata*; *P. alata* e *P. edulis* são utilizadas na elaboração de extratos diversos, servindo de matérias prima na fabricação de cosméticos e medicamentos. A polpa, destina-se

principalmente a fabricação de produtos como sucos, iogurtes, mousses, doces e sorvetes. Enquanto que a casca, além de ser utilizada como adubo e na alimentação animal, tem sido utilizada por produtores artesanais na produção de geleias, além da produção de farinhas da casca de maracujá, que vem ganhando espaço devido as propriedades benéficas da fibra do maracujá na prevenção do Diabetes tipo II. As sementes do maracujá são utilizadas na fabricação de óleos para uso alimentar e cosméticos, além de serem comercializadas inteiras para a decoração de alimentos (FALEIRO et al., 2017).

3.4 Alimentos funcionais

Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), a qual dispõe de um regulamento que define alegações de propriedades funcionais e alegações de propriedades a saúde, o alimento ou ingrediente que alega tais propriedades pode, além de nutrir, produzir efeitos relativos ao papel metabólico ou fisiológico que o nutriente ou não nutriente tem no crescimento, desenvolvimento, manutenção e outras funções do organismo humano, além da existência da relação entre o alimento ou ingrediente com doença ou condição relacionada à saúde (BRASIL, 1999).

Certos fatores críticos foram identificados como as principais razões para a tendência crescente para a absorção de alimentos funcionais, dos quais, incluem a deterioração da saúde, devido a novos estilos de vida que optam por escolhas inadequadas de alimentos convenientes e exercícios físicos insuficientes; aumento do nível de informação das autoridades de saúde e mídia sobre nutrição e a ligação entre dieta e saúde; aumento da incidência de automedicação (PATEL, 2017).

A expressão “alimentos funcionais” foi originada primeiramente no Japão em meados dos anos 80, também denominados alimentos para uso específico de saúde (FOSHU, do inglês Foods for Specified Health Use). Foi resultado de um programa financiado pelas autoridades japonesas com o objetivo de reduzir os recursos financeiros dispensados com a saúde pública, contendo os avanços das doenças crônicas (STRINGUETA et al., 2012; SILVA et al., 2016).

Os alimentos funcionais têm ganhado cada vez mais espaço no mercado alimentício, uma vez que, há um interesse desenfreado por dietas saudáveis, valorizando demasiadamente um componente do alimento em detrimento a valorização do alimento como um todo. Além disso, com o reconhecimento pelas agências reguladoras dos benefícios dos alimentos funcionais para a saúde, a possibilidade de redução de custos no combate das DCNTs por parte do estado, assim como, para as indústrias que investem em pesquisas e novas tecnologias, os

alimentos funcionais representam um nicho de mercado extremamente rentável, pois são produtos com alto valor agregado (SILVA et al., 2016).

3.4.1 Probióticos

Na área dos alimentos funcionais, os probióticos destacam-se dentre as frutas e vegetais contendo compostos bioativos. Consoante a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), probióticos são microrganismos vivos que, quando administrado em quantidades adequadas, confere um benefício à saúde do indivíduo (BRASIL, 2018).

Os produtos probióticos são desenvolvidos para uma grande variedade de alegações de saúde, podendo ser administrados em indivíduos saudáveis e doentes. Os efeitos esperados podem ser de natureza preventiva ou curativa, podendo combater a causa da doença/alterações metabólicas ou amenizar os sintomas associados à progressão de uma doença/alteração metabólica (VANDENPLAS et al., 2015).

Os benefícios à saúde de produtos probióticos são diversos e continuamente expandido com novas ideias e estudos científicos. Dentre eles, são relatados que os microrganismos probióticos melhoram o trânsito gastrointestinal, como também, reduz o inchaço ou produção de gases, melhoria de absorção de íons pelas células epiteliais do intestino (HAMILTON-MILLER, 2004; BORTHAKUR et al., 2008; VANDENPLAS et al., 2015). Assim como, o fortalecimento da imunidade, redução nos sintomas de alergias alimentares, controle do intestino irritado, aumento na tolerância à lactose e redução nos fatores de riscos para alguns tipos de câncer (PARVEZ et al., 2006).

As cepas probióticas mais comumente aplicadas, relatadas na literatura, pertencem à gêneros de *Bidobacterium* e *Lactobacillus*. Para fornecer benefícios para a saúde do hospedeiro, é necessário manter a viabilidade dos probióticos acima do mínimo terapêutico ($> 10^6$ cfu/g), que é influenciada pela composição da matriz alimentar e pelas condições de processo (HUSSAIN et al., 2016).

Os *Lactobacillus* spp. são um dos probióticos mais amplamente utilizados e podem ser encontrados em uma grande variedade de produtos alimentícios em todo o mundo. O gênero *Lactobacillus* compreende um grande grupo heterogêneo de bactérias anaeróbias facultativas Gram-positivas, não esporuladas, que incluem *L. acidophilus*, *L. rhamnosus*, *L. bulgaricus*, *L. casei* e *L. reuteri*. Este gênero desempenha um papel muito importante na fermentação de alimentos e também pode ser encontrado no sistema gastrointestinal de humanos e animais em quantidades variáveis, dependendo da espécie, idade do hospedeiro ou localização dentro do intestino (DUAR et al., 2017; MU et al., 2018).

3.4.2. *Lactobacillus reuteri*

O *L. reuteri* é uma bactéria do ácido láctico, comensal, heterofermentativa, que habita o trato gastrointestinal de animais e seres humanos. Segundo Hou *et al.* (2015), o *L. reuteri* produz uma variedade de substâncias antimicrobianas, como ácido láctico, peróxido de hidrogênio, reuterina e reuter ciclina, que tem efeitos benéficos para o organismo hospedeiro. Além de demonstrar inibir o crescimento *in vitro* de muitos patógenos entéricos, incluído *Escherichia coli*, *Salmonella Typhimurium*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Helicobacter pylori*, e rotavírus.

As linhagens de *L. reuteri* são fastidiosas e dependem da disponibilidade de açúcares facilmente fermentáveis, aminoácidos, vitaminas e nucleotídeos. Se esses fatores são fornecidos, os organismos crescem muito rápido, com tempos de duplicação inferiores a uma hora, o *L. reuteri* pode usar vários receptores de elétrons externos (frutose, glicerol, nitrato, piruvato, citrato e oxigênio) para ganhar energia adicional e aumentar taxas de crescimento (GEREZ *et al.*, 2008; SINKIEWICZ, 2010).

3.5 Alimentos probióticos não lácteo

As cepas probióticas geralmente exigem uma matriz específica para garantir a sobrevivência ideal das cepas em todo trato gastrointestinal. Recentemente, tem sido observado o surgimento de formulações de alimentos probióticos em matriz de chocolate, mostrando uma maior sobrevivência das cepas probióticas, em comparação com métodos de formulações convencionais, como o em leite, cereais, queijos e produtos cárneos (POSSEMIERS *et al.*, 2010; VANDENPLAS *et al.*, 2015).

Tradicionalmente, os probióticos foram adicionados em alimentos à base de leite, como é o caso de iogurtes e leites fermentados. No entanto, o aumento no número de indivíduos que evita o consumo de produtos lácteos por apresentar alergia a proteína do leite, intolerância a lactose, altas taxas de colesterol e/ou são adeptos do vegetarianismo e veganismo, trouxe a necessidade da elaboração de alimentos probióticos de origem vegetal, como é o caso de produtos de frutas, cereais, vegetais e carnes (SHORI, 2015; ANDRADE, 2017).

Os alimentos não lácteos como sucos de frutas, podem representar, também, uma forma de veículo desses microrganismos, tais bebidas são consideradas saudáveis e são consumidas em larga escala pela população global (SAARELA *et al.*, 2006; SOARES, 2016).

A viabilidade de diferentes cepas probióticas tem sido estudada em sucos de frutas, como: pêssego, lichia, romã e laranja (NUALKAEKUL *et al.*, 2012; RODRIGUES *et al.*, 2012;

GARCÍA-CEJA et al., 2015; KINGWATEE et al., 2015). No entanto, para que uma fonte vegetal seja considerada um bom veículo alimentar para os probióticos, sua composição deve promover o crescimento, viabilidade, sobrevivência e tolerância a ácidos e bile. Os sucos mostram grande potencial para se tornarem produtos probióticos, devido a características como, teor de vitaminas, minerais e antioxidantes (RANADHEERA et al., 2010; MARHAMATIZADEH et al., 2012).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Atividades desenvolvidas

As atividades referentes ao estágio supervisionado foram desenvolvidas no Laboratório de Engenharia de Alimentos, especificamente nos Laboratório de Engenharia Bioquímica, Laboratório de Microbiologia e Laboratório de Análises Químicas, pertencente a Unidade Acadêmica de Engenharia de Alimentos, da Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande-PB.

As atividades se deram desde a recepção da matéria-prima, processamento da polpa, avaliação das características físico-químicas e bioquímicas da polpa *in natura*, elaboração da polpa probiótica e estudo da cinética de crescimento da cepa probiótica, assim como, a avaliação das características físico-químicas e bioquímicas do produto obtido, validação e modelagem dos dados.

4.1.1 Processamento da polpa de maracujá probiótica

Foram adquiridos no mercado da cidade de Campina Grande, 30 kg de maracujá, os quais foram levados para o Laboratório de Engenharia Bioquímica. Os frutos foram pré-selecionados no momento da compra, levando em consideração a textura da casca, cor, tamanho e possíveis danos mecânicos.

A pré-seleção dos frutos foi realizada com objetivo de obter um lote de frutos homogêneos, com características atrativas para o consumidor, tendo em vista a rápida perda de água dos frutos, principal fator causador do desperdício desse fruto no mercado *in natura*. Além disso, a escolha da matéria prima homogênea resulta em um produto como maior qualidade.

Após a recepção dos frutos, os mesmos foram lavados em água corrente para remoção das sujidades oriundas do comércio. Posteriormente, os frutos foram imersos em solução de hipoclorito de sódio 200 ppm durante 30 minutos. Após sanitizados, os frutos foram enxaguados em água corrente para remoção do residual de hipoclorito de sódio.

O despulpamento foi realizado manualmente com o auxílio de uma faca de aço inoxidável. Logo após a polpa foi peneirada em peneira de mesh 10, para desmembramento das sementes. A casca e sementes do fruto foram descartadas, e a polpa envasada em garrafas PET e armazenada na temperatura de -20 °C.

Para a elaboração da polpa de maracujá probiótica, a polpa *in natura* foi descongelada e feito o ajuste do pH para 5,5 e 6,6, com solução de NaOH 3M. A cepa probiótica liofilizada foi ativada em 433 mL de polpa de maracujá *in natura* (pH 3,18), pH 5,5 e pH 6,5, para obtenção

de uma concentração superior a 10^6 UFC/mL. Seguidamente, as amostras foram agitadas durante 10 minutos, para obter uma mistura homogênea. Posteriormente, incubadas por 24-48 horas, em temperatura controlada (30, 20 e 10) °C.

Na Figura 1, encontra-se o fluxograma para obtenção da polpa de maracujá probiótica.

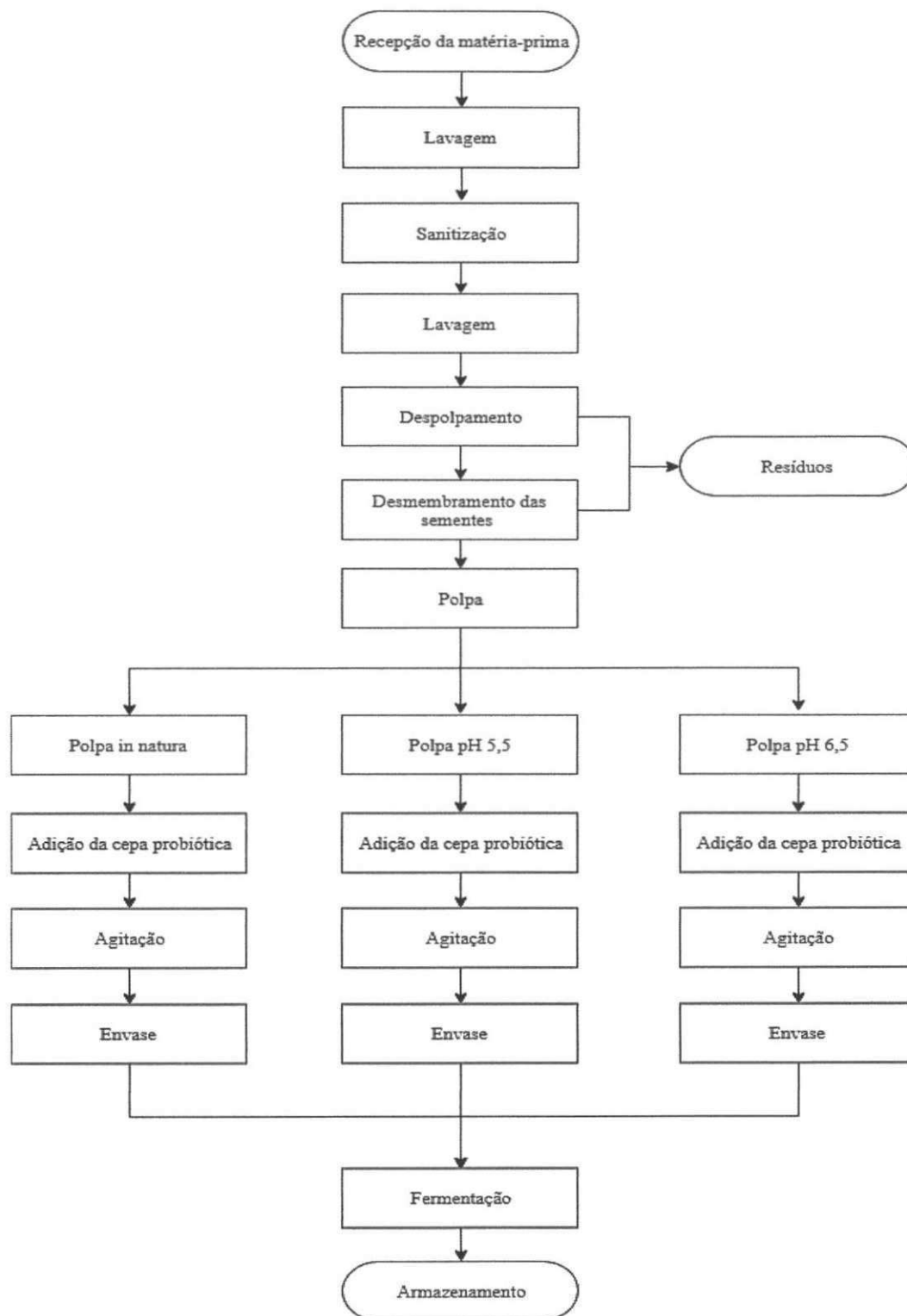


Figura 1. Fluxograma do processo de obtenção da polpa de maracujá probiótica.

Para o processo fermentativo foram utilizados tubos de Falcon estéreo. O meio para fermentação foi separado nos tubos, de acordo com os pontos estipulados para estudo cinético. Posteriormente os tubos foram fechados com suas respectivas tampas de forma a permitir a entrada controlada de oxigênio. Ao fim da fermentação, os tubos de Falcon foram armazenados a - 20 C, até realização das análises.

4.1.2 Cinética de crescimento com parâmetros controlados

A partir do crescimento da cepa probiótica na polpa de maracujá, em condições controladas de pH e temperatura, alíquotas de 30 mL da polpa probiótica foram recolhidas em intervalos de 2 horas, durante 24 horas, e após 48 horas. Das amostras referentes a cada intervalo de 2 horas, foram determinados a concentração de células (Log UFC/mL), pH, acidez total titulável (%), sólidos solúveis totais (°Brix), carboidratos redutores (%), compostos fenólicos (mg TAE/100mL) e carboidratos redutores (%) conforme Item 4.1.3.

4.1.3. Métodos analíticos

4.1.3.1. Análises físico-químicas

A polpa de maracujá *in natura*, assim como o produto obtido, foram avaliados quanto aos parâmetros físico-químicos: pH, acidez total titulável e sólidos solúveis totais, conforme metodologia proposta pelo Instituto Adolfo Lutz (2008).

4.1.3.2. Análises Bioquímicas

Para quantificação dos carboidratos redutores das amostras *in natura* e durante o estudo cinético, foi utilizado o método proposto por Miller (1959). Para qual, foi utilizado 100 µl da amostra e diluída em 1400 µl de água destilada. A esta solução foi adicionada 1000 µl do Reativo DNS e 7,5 mL de água destilada. A mistura foi homogeneizada e aquecida a 90 °C durante 15 minutos. Passado o tempo de aquecimento, as amostras foram arrefecidas a temperatura ambiente e foi realizada a leitura das absorbâncias em espectrofotômetro à 575 nm. Os resultados foram expressos em porcentagem de glicose.

O conteúdo de fenólicos foi determinado segundo modelo de Singleton et al. (1999) com adaptações de Marinova, Ribarova e Atanassova (2005), para qual, foi realizada a diluição de 100µl da amostra em 1400µl de água destilada. Posteriormente, 100µl da amostra diluída foi adicionada a mistura contendo 1500µl de água destilada, 100µl do Reagente de Folin Ciocalteu 1N e 200µl de Carbonato de sódio 35%. A mistura foi agitada e permaneceu em repouso durante 15 minutos. A leitura das absorbâncias foi realizada em espectrofotômetro à 725 nm. A concentração de compostos fenólicos foi expressa em mg TAE/100mL.

A quantificação de proteínas foi realizada pelo método de Bradford (1976). Para análise, foi realizada a diluição de 100µl da amostra em 1400µl de água destilada. Posteriormente, uma alíquota de 100µl da amostra diluída foram adicionados a tubos de eppendorfs, e adicionado 1000µl de Coomassie Brilliant Blue. A mistura foi agitada e permaneceu em repouso durante 30 minutos. As leituras da absorbância foram realizadas em espectrofotômetro à 525nm, e os resultados expressos em mg BSA/mL da amostra. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

4.1.4 Modelagem dos dados

O modelo polinomial de grau 5, foi ajustado aos dados utilizando ferramentas do software Excel. As curvas resultantes do processo fermentativo foram obtidas utilizando o software Statistica versão 7.0.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Caracterização físico-química e bioquímica da polpa de maracujá

Os valores médios e desvio padrão dos parâmetros físico-químicos e bioquímicos da polpa do maracujá azedo *in natura* estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Média e desvio padrão das análises físico-químicas e bioquímicas da polpa do maracujá azedo *in natura*.

Análises	Polpa <i>in natura</i>
pH	3,18 ± 0,014
Acidez Total Titulável (%)	4,55 ± 0,055
Sólidos Solúveis Totais (°Brix)	12,33 ± 0,12
Carboidratos Redutores (%)	4,86 ± 0,59
Compostos Fenólicos (mg TAE.100mL ⁻¹)	36,56 ± 7,89
Proteínas (mg BSA.mL ⁻¹)	0,62 ± 0,15

A polpa do fruto apresentou pH ácido, próximo ao encontrado por Moraes et al. (2015), o qual verificou pH de 3,07 para a polpa do maracujá pasteurizada e congelada. Godoy et al. (2015), ao analisar as características físico-químicas de 10 genótipos do maracujá amarelo de BAG da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, observou uma variação do pH entre os genótipos de 2,93 a 3,07. De acordo como a Portaria N° 58, de agosto de 2016, que trata do regulamento técnico para fixação dos padrões de identidade e qualidade para polpa de maracujá, a polpa deve apresentar pH mínimo de 2,70 (BRASIL, 2016). Valor superior a este foi encontrado nesse trabalho, possivelmente essa diferença pode ser explicada pelo genótipo do maracujá, assim como o estágio de maturação dos frutos.

A acidez total titulável da polpa do maracujá amarelo apresentou valor semelhante aos encontrado por Hurtado-Salazar et al (2015), ao analisar a espécie *P. edulis* (não enxertado), cujo acidez total titulável foi de 4,82%. Valores semelhantes também foram observados por Grego, Peixoto e Ferreira (2014), ao analisar 32 genótipos de maracujazeiro amarelo, cujos valores variaram entre 3,83 a 5,40%.

Quanto ao teor de sólidos solúveis totais, teores menores foram encontrados por Moraes et al. (2015), para a polpa de maracujá pasteurizada e congelada, e Pereira et al. (2018), cujos valores foram 11,40 e 10,6 (°Brix), respectivamente. Segundo Chitarra e Chitarra (2005), com a maturação o teor de sólidos solúveis tende a aumentar, seja por biossíntese, pela degradação excessiva de polissacarídeos ou ainda pela excessiva perda de água do fruto.

O teor de carboidratos redutores encontrado na polpa *in natura* do maracujá amarelo foi similar ao encontrado por Godoy et al. (2015), o qual verificou teor médio de 3,9%, quando estudado diferentes genótipos do fruto. No entanto, valores superiores foram observados por Moura et al. (2016), quando avaliou frutos do maracujá amarelo tratados com derivados de capim limão, o qual encontrou valores de 5,30 a 9,50%. A variação do teor de carboidratos redutores no maracujá pode se dá pela variação das condições de cultivo e estágio de maturação, uma vez que o teor de carboidratos redutores variam conforme maturação do fruto, atingindo teores maior no fim da maturação (CHITARRA e CHITARRA, 2005).

O conteúdo de fenólicos verificado na polpa do maracujá *in natura* foi semelhante ao encontrado por Couto et al. (2011), cujos valores foram de 35,00 e 23,28 mg GAE/100g na análise do suco de maracujá orgânico e convencional, respectivamente. Valor similar também foi apresentado por Konta et al. (2014), na quantificação de compostos bioativos da polpa de maracujá amarelo, e Oliveira et al. (2017), os quais apresentaram teores de compostos fenólicos de 32,40 mg GAE/100g e 27,10 a 36,47 mg GAE/100g, respectivamente.

A polpa *in natura* do maracujá apresentou teor médio de proteína de 0,62 mg BSA/mL de polpa. Valores similares foram encontrados por Araújo et al. (2004), encontrando um teor de proteínas para o maracujá de 0,8 mg/mL de polpa. Valores superiores foram encontrados por Zeraik et al. (2010), o qual relatou teores de proteína de 3,0 g/100 g de polpa do maracujá azedo. Enquanto que, Lima et al. (2014) encontrou valores próximos a 0,1 µg/µl de extrato da polpa de maracujá. A variação no teor de proteína da polpa de maracujá pode ser devido a precisão do método analítico, assim como o genótipo e estágio de maturação dos frutos.

5.2. Cinética de crescimento do *Lactobacillus reuteri*

O estudo cinético de um processo fermentativo consiste inicialmente na análise da evolução dos valores de concentrações de um ou mais componentes do sistema de cultivo, em função do tempo de fermentação. Do qual, entende-se como componentes, o microrganismo, os produtos do metabolismo e os nutrientes ou substratos que compõem o meio de cultura (HISS, 2001).

Um modelo polinomial de grau 5 foi ajustado aos dados do crescimento do *Lactobacillus reuteri* na polpa do maracujá, o qual mostrou um ajuste de $R^2 = 93,46\%$ para o pH 3,18, $R^2 = 68,04\%$ para o pH 5,5 e $R^2 = 70,40\%$ no pH 6,5, quando avaliado a temperatura de 30 °C. Nas Equações 1,2 e 3, encontra-se os o modelo polinomial e coeficientes de regressão das curvas de crescimento do microrganismo na temperatura de 30 °C.

$$\text{Células/mL} = -209167t^5 + 2E+07t^4 - 8E+08t^3 + 1E+10t^2 - 2E+09t + 2E+10 \quad (1)$$

$$\text{Células/mL} = -800691t^5 + 7E+07t^4 - 2E+09t^3 + 2E+10t^2 - 6E+10t + 4E+10 \quad (2)$$

$$\text{Células/mL} = 515449t^5 - 4E+07t^4 + 1E+09t^3 - 1E+10t^2 + 3E+10t + 3E+10 \quad (3)$$

Em que,

Células/mL = concentração de células (células/mL);

t = tempo de fermentação.

Na temperatura de 20 °C, foram obtidos os modelos apresentados nas Equações 4, 5 e 6, dos quais verificou-se ajustes de $R^2 = 83,34\%$ no pH 3,18, $R^2 = 77,9\%$ no pH 5,5 e $R^2 = 92,33\%$ no pH 6,5.

$$\text{Células/mL} = 18708t^5 - 1E+06t^4 + 3E+07t^3 - 3E+08t^2 + 2E+09t + 3E+10 \quad (4)$$

$$\text{Células/mL} = -44302t^5 + 4E+06t^4 - 1E+08t^3 + 1E+09t^2 - 2E+09t + 3E+10 \quad (5)$$

$$\text{Células/mL} = 10019t^5 - 975492t^4 + 3E+07t^3 - 6E+08t^2 + 5E+09t + 3E+10 \quad (6)$$

Na temperatura de 10 °C, foram obtidos os modelos apresentados nas Equações 7, 8 e 9, dos quais verificou-se ajustes de $R^2 = 59,94\%$ no pH 3,18, $R^2 = 90,97\%$ no pH 5,5 e $66,56\%$ no pH 6,5.

$$\text{Células/mL} = -2296,8t^5 + 269102t^4 - 1E+07t^3 + 2E+08t^2 - 8E+08t + 2E+10 \quad (7)$$

$$\text{Células/mL} = 2876,1t^5 - 254931t^4 + 6E+06t^3 - 3E+07t^2 + 6E+08t + 3E+10 \quad (8)$$

$$\text{Células/mL} = -53042t^5 + 5E+06t^4 - 2E+08t^3 + 2E+09t^2 - 8E+09t + 3E+10 \quad (9)$$

Nota-se que os melhores ajustes foram obtidos nos dados referente ao pH 3,18 na temperatura de 30 °C, seguida do pH 6,5 na temperatura de 20 °C e o pH 5,5 na temperatura de 10 °C, sendo estes superiores a 90%.

Na Figura 2, apresenta-se o crescimento do *Lactobacillus reuteri* na polpa de maracujá, quando submetidos a diferentes níveis de pH (pH 3,18, pH 5,5 e pH 6,5) e temperatura de fermentação (30 °C, 20 °C e 10 °C).

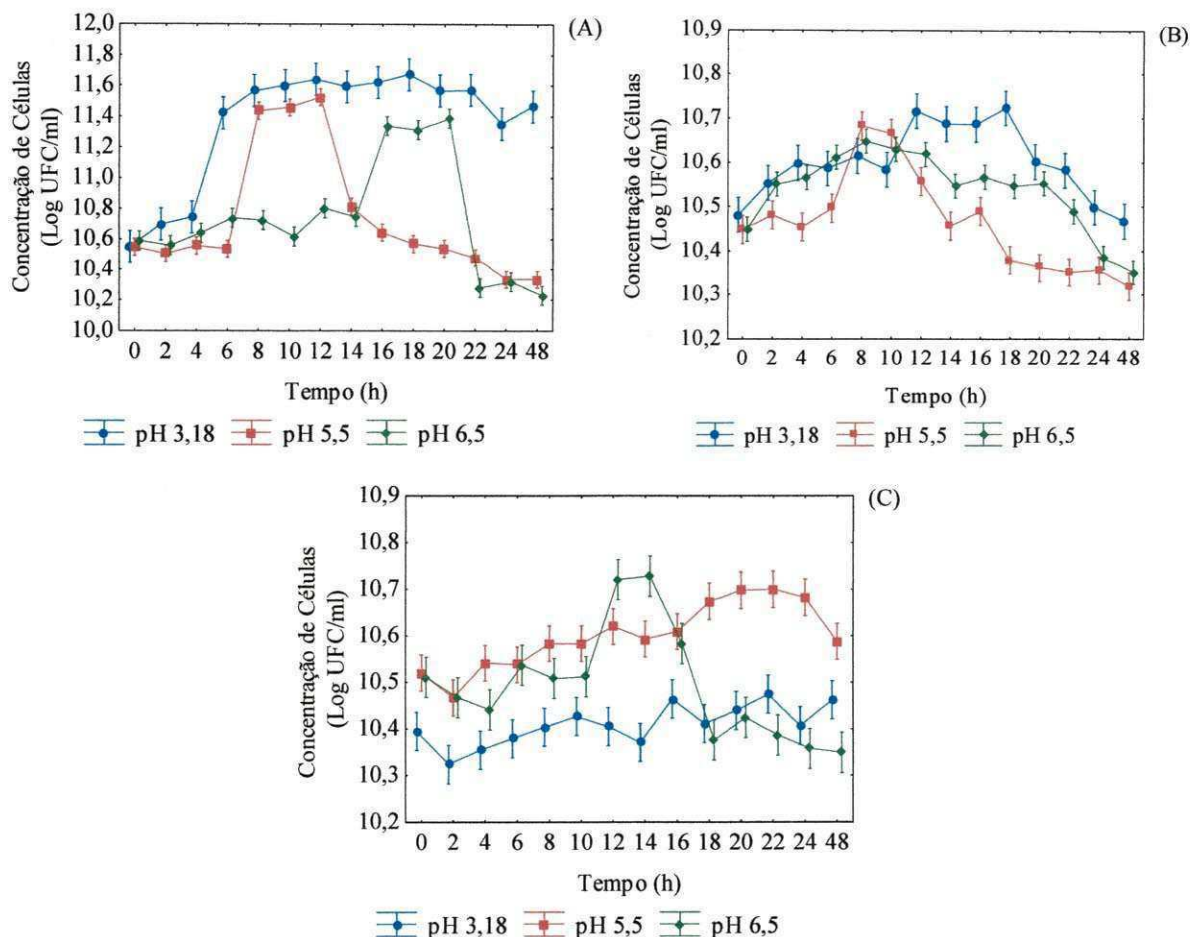


Figura 2. Curva de crescimento do *Lactobacillus reuteri* na polpa de maracujá nas temperaturas de 30 °C (A), 20 °C (B) e 10 °C (C), para diferentes níveis de pH (pH 3,18, pH 5,5 e pH 6,5).

Na Figura 2, pode-se observar o efeito significativo da variação de temperatura sobre a população de células e no comportamento do microrganismo durante o tempo de fermentação. Onde observa-se um crescimento ótimo na temperatura de 30 °C (Figura 2 A). Nas temperaturas de 20 °C (Figura 2 B) e 10 °C (Figura 2 C), verificou-se um crescimento similar quanto à população de células, nas duas temperaturas de todas as amostras. Porém, na temperatura de 10°C, a amostra *in natura* (pH 3,18), se mostrou estável durante o período de fermentação, apresentando um pequeno aumento no número de células, enquanto que as amostras com pH 5,5 e 6,5 apresentaram um maior crescimento.

Nota-se na Figura 2 (A), que houve uma ótima multiplicação do *Lactobacillus reuteri* quando cultivado no pH de 3,18, seguida das amostras com pH 5,5 e 6,5. No entanto, verifica-se que a fase lag, fase de adaptação do microrganismo ao meio, foi crescendo à medida que aumentou o pH da polpa para 5,5 e 6,5. O aumento da fase de adaptação do microrganismo ao meio pode ter sido causado pela adição do NaOH, uma vez que foi adicionado a polpa de maracujá antes da inoculação da cultura probiótica para ajuste do pH, o qual pode ter alterado

a estrutura das moléculas, resultando no aumento do tempo de adaptação do *Lactobacillus reuteri* na polpa do maracujá com pH ajustado.

O efeito da temperatura de fermentação e do pH das amostras pode ser observado também, quanto aos valores para velocidade máxima de crescimento e o tempo de geração do *Lactobacillus reuteri* na polpa do maracujá.

Na fase exponencial de crescimento do microrganismos, a velocidade específica de crescimento (μ_m) é máxima e constante, permitindo nestas condições, relacionar a velocidade específica de crescimento com a concentração de células (HISS, 2001). Na Tabela 2, encontra-se as velocidades específicas de crescimento máximo para as amostras com pH 3,18, pH 5,5 e pH 6,5, nas respectivas temperaturas de 30 °C, 20 °C e 10 °C.

Tabela 2. Velocidade específica de crescimento máximo do *Lactobacillus reuteri* na polpa de maracujá, nas temperaturas de 30 °C, 20 °C e 10 °C, para diferentes níveis de pH (pH 3,18, pH 5,5 e pH 6,5).

Temperatura (°C)	Velocidade máxima (h ⁻¹)		
	pH 3,18	pH 5,5	pH 6,5
30	0,26	0,052	0,029
20	0,026	0,097	0,015
10	0,009	0,015	0,055

Quando analisado a concentração de células nas amostras submetidas a fermentação nas temperaturas de 30 °C, 20 °C e 10 °C, observou-se que a amostra *in natura* apresentou uma maior concentração de células quando submetidas a fermentação nas temperaturas de 30 °C e 20 °C, atingindo o máximo de 11,67 Log UFC/mL e 10,72 Log UFC/mL, com velocidades máxima de crescimento de 0,26 h⁻¹ e 0,026 h⁻¹, respectivamente. Enquanto que, as amostras com pH 5,5 e pH 6,5 apresentaram uma concentração de células superior a amostra *in natura* apenas quando submetidas a fermentação na temperatura de 10 °C, atingindo o máximo de 10,70 Log UFC/mL e 10,73 Log UFC/mL, e velocidade máxima de 0,015 h⁻¹ e 0,055 h⁻¹, respectivamente.

Ao lado da velocidade específica de crescimento, a fase exponencial também é caracterizada pelo tempo de geração (t_g), que é o intervalo de tempo necessário para dobrar o valor da concentração de células no meio (HISS, 2001). Na Tabela 3, encontra-se o tempo de geração das amostras *in natura* (pH 3,18) e com pH ajustado para 5,5 e 6,5, conforme as temperaturas de fermentação.

Tabela 3. Tempo de geração do *Lactobacillus reuteri* na polpa de maracujá, nas temperaturas de 30 °C, 20 °C e 10 °C, para diferentes níveis de pH (pH 3,18, pH 5,5 e pH 6,5).

Temperatura (°C)	Tempo de Geração (h)		
	pH 3,18	pH 5,5	pH 6,5
30	2,68	13,40	23,93
20	27,99	7,16	45,69
10	76,74	45,61	12,59

Observou-se que a amostra com pH 3,18 quando fermentada a 30 °C apresentou o menor tempo de geração, seguida das amostras com pH ajustado para 5,5 a 20 °C e do pH 6,5 a 10 °C. Apesar do *Lactobacillus reuteri* ter apresentado um excelente crescimento na amostra com pH 3,18 nas temperaturas de 30 °C e 20 °C, o tempo de geração (t_g) foi superior a 2 horas. Em condições ideais, as bactérias são os microrganismos com maior velocidade de crescimento, podendo apresentar um tempo de geração (t_g) inferior a 1 (uma) hora. Porém, fatores intrínsecos e extrínsecos influenciam na multiplicação do microrganismo, dentre eles a temperatura de fermentação é um dos fatores que mais afetam a viabilidade e multiplicação microbiana, interferindo na duração do período ou fase de latência, velocidade de multiplicação, exigências nutricionais e a composição química e enzimática das células (HOFFMANN, 2001; SINKIEWICZ, 2010).

Diante dos dados obtidos, observou-se que nas condições de pH 3,18 da polpa de maracujá e temperatura de 30 °C, foi obtido a maior concentração de células. Liu et al. (2014), ao estudar o impacto das condições de fermentação (pH e temperatura), na sobrevivência do *Lactobacillus reuteri* após liofilização, relatou as condições ótimas de fermentação de pH e temperatura de 5,7 e 37 °C. No entanto, o crescimento do *Lactobacillus reuteri* na polpa de maracujá com pH de aproximadamente 3, pode ser resultado do aumento da resistência da cultura a condições adversas.

5.3. Características físico-química e bioquímicas da polpa probiótica de maracujá

Segundo Patel (2017) e Tripathi e Gire (2014), o pH é um dos principais fatores significantes que afetam a viabilidade dos probióticos. Sucos de frutas naturalmente têm um baixo pH e alto nível de ácidos orgânicos, o que aumenta a concentração da forma indissociável. Desta forma, presume-se que a ação combinada do ambiente ácido e a atividade antimicrobiana intrínseca dos ácidos orgânicos acumulados afetam as bactérias probióticas. Entre os vários

probióticos, os *Lactobacillus* geralmente resistem e sobrevivem em sucos de frutas com pH variando de 4,3 a 3,7.

Na Figura 2, encontra-se a curva do parâmetro pH durante a cinética de crescimento, para as amostras pH 3,18, pH 5,5 e pH 6,5, nas respectivas temperaturas de 30 °C, 20 °C e 10 °C. Na qual percebe-se que, o pH das amostras manteve-se estável durante o processo fermentativo em todas as temperaturas, exceto na temperatura de 30 °C (Figura 2 A), onde foi visto uma pequena queda do pH com o decorrer do tempo de fermentação, em razão do aumento expressivo do número de células e formação de produto.

Ao analisar as amostras após 48 horas de fermentação, observou-se uma diminuição no pH de todas as amostras, esta diminuição pode ter ocorrido em virtude do declínio da população de células viáveis. Uma vez que, as células não estando ativas, a membrana célula pode vim a romper, liberando no meio enzimas que poderão continuar atuando. Ao continuar atuando no meio, as enzimas podem ter contato com macromoléculas que antes não teriam, assim como, continuar metabolizando componente presente no meio, podendo resultar no aumento da acidez e consequente declínio do pH.

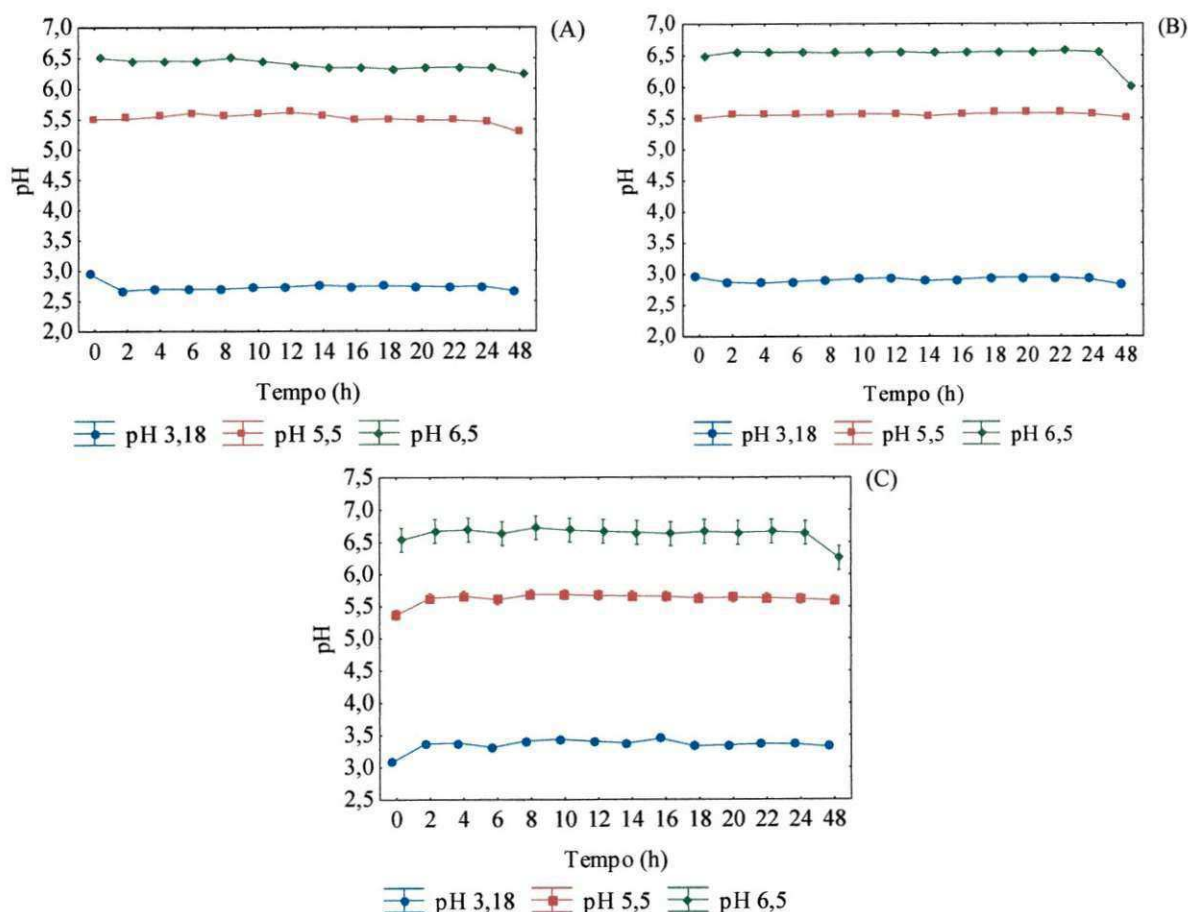


Figura 3. Curva do pH nas temperaturas de 30 °C (A), 20 °C (B) e 10°C (C), com diferentes níveis de pH inicial da polpa (pH 3,18, pH 5,5 e pH 6,5).

O comportamento obtido em relação ao pH e acidez total titulável das amostras durante o processo fermentativo foi o esperado, tendo em vista que bactérias do ácido láctico consome os açúcares disponíveis no meio e produzem ácido láctico, promovendo o aumento da acidez e consequente redução do pH das amostras.

Na Figura 4, encontra-se a curva do parâmetro acidez total titulável, expressas em porcentagem a ácido cítrico, durante a cinética de crescimento do *Lactobacillus reuteri* na polpa de maracujá, para as amostras com diferentes níveis de pH (pH 3,18, pH 5,5 e pH 6,5) nas respectivas temperaturas de 30 °C, 20 °C e 10 °C.

A acidez das amostras se manteve estável durante o processo fermentativo, revelando que apesar do *Lactobacillus reuteri* ter apresentado um bom crescimento na temperatura de 30 °C, observa-se na Figura 4 (A) que o aumento da população de células no meio e produção de ácido láctico, não alterou as características iniciais da polpa.

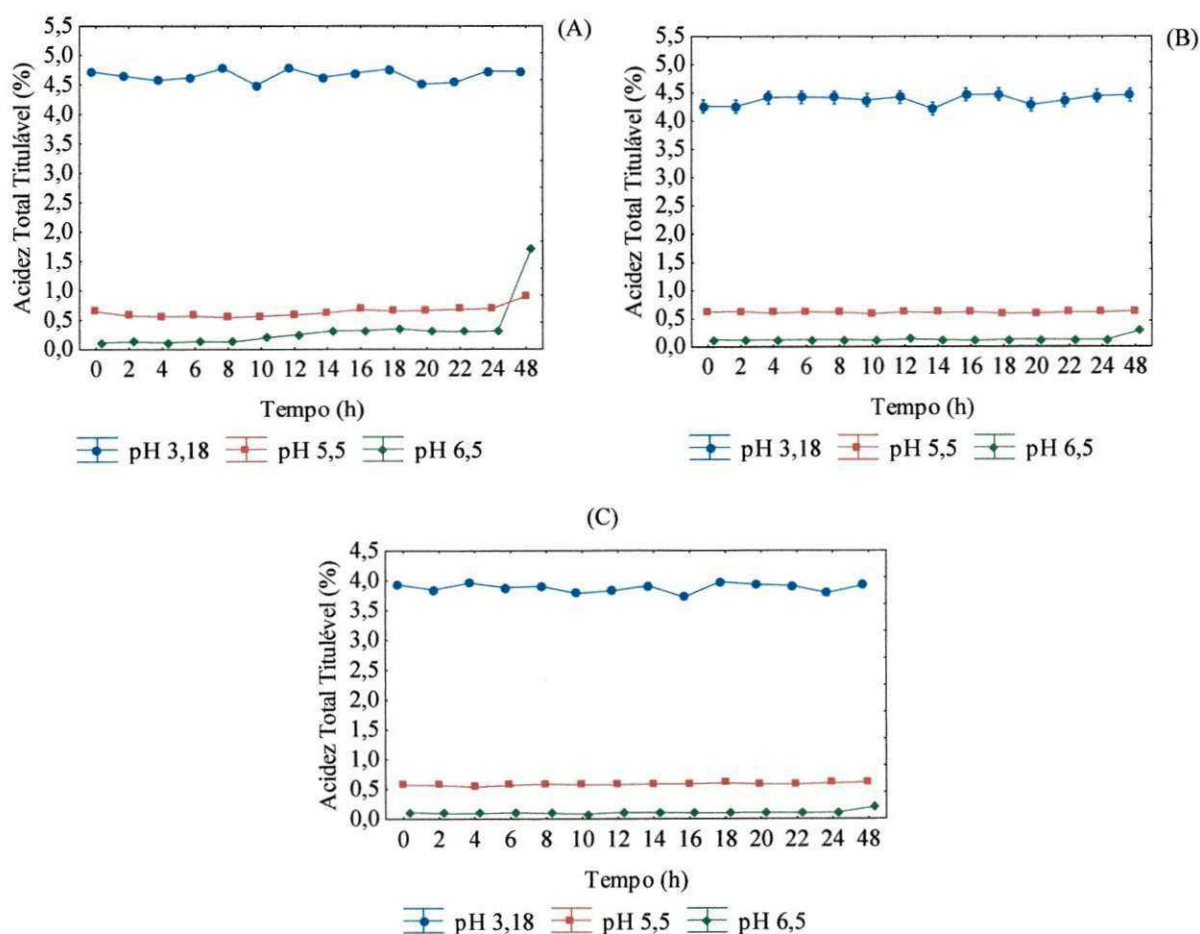


Figura 4. Curva de acidez total titulável nas temperaturas de 30 °C (A), 20 °C (B) e 10 °C (C), com diferentes níveis de pH inicial da polpa (pH 3,18, pH 5,5, pH 6,5).

Com relação ao teor de sólidos solúveis totais, na Figura 5 (A), verifica-se que houve uma diminuição na concentração decorrente o tempo de fermentação, evidenciando o consumo

de açúcares e ácidos orgânicos pelo microrganismo durante a fase de crescimento, uma vez que esses componentes são os principais constituintes dos sólidos solúveis totais. Entretanto, foi observado nas temperaturas de 20 ° (Figura 5 B) e 10 °C (Figura 5 C) que não houve variação significativa do teor de sólidos solúveis totais durante a fermentação, havendo uma pequena instabilidade no período de tempo da qual foi observada um aumento no número de células.

Na Figura 5, encontra-se a curva de sólidos solúveis totais durante a cinética de crescimento do *Lactobacillus reuteri* na polpa de maracujá, com diferentes níveis de pH, (pH 3,18, pH 5,5 e pH 6,5) nas respectivas temperaturas de 30 °C, 20 °C e 10 °C.

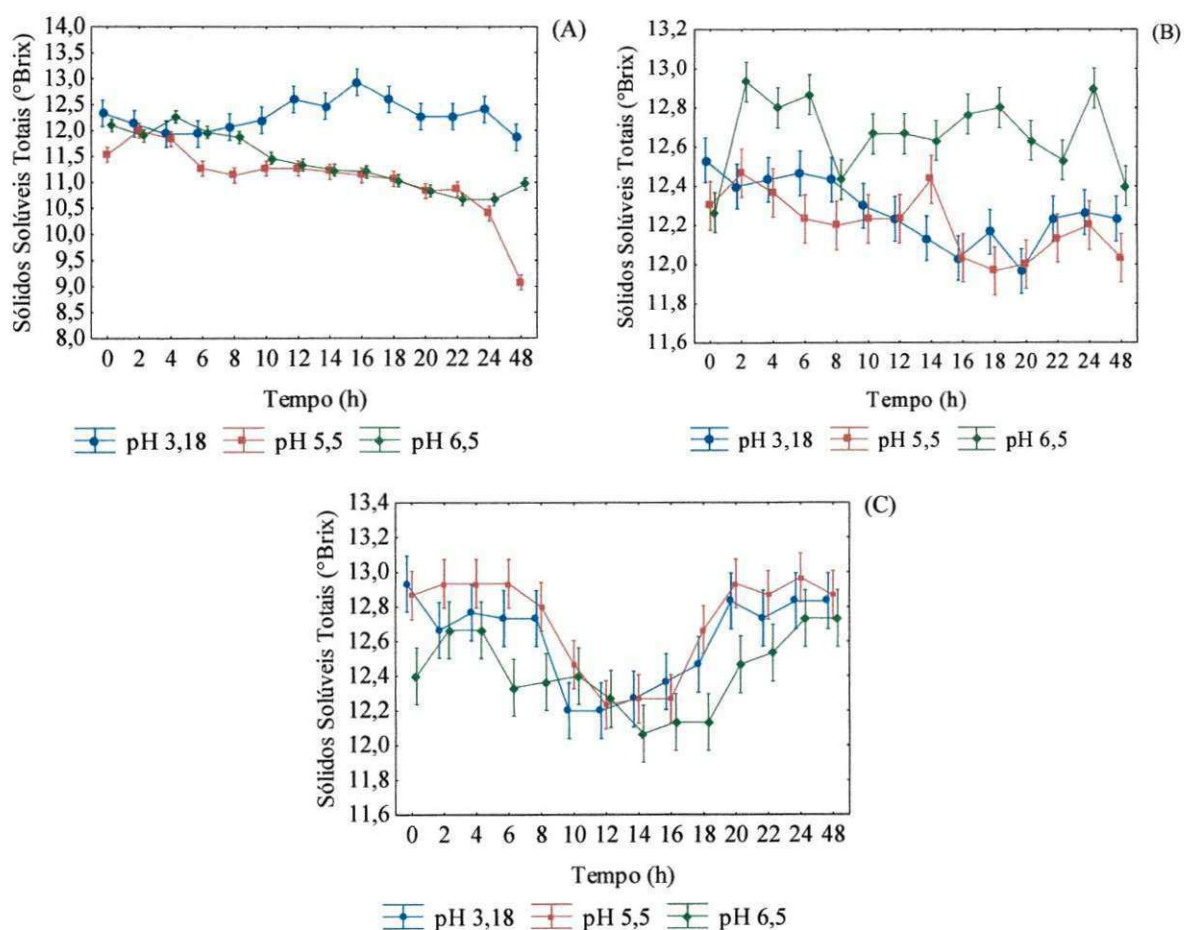


Figura 5. Curva de sólidos solúveis totais nas temperaturas de 30 °C (A), 20 °C (B) e 10 °C (C), com diferentes níveis de pH inicial da polpa (pH 3,18, pH 5,5 e pH 6,5).

O teor de carboidratos redutores mostrou uma queda decorrente o tempo de fermentação para as amostras *in natura* (pH 3,18) nas temperaturas de 30 °C (Figura 6 A) e 20 °C (Figura 6 B). A diminuição do teor de carboidratos redutores era esperada, visto que nestas condições foram observadas as maiores concentrações de células, sendo os carboidratos, substrato para desenvolvimento de bactérias lácticas. Resultado semelhante também foi observado para as amostras com pH 5,5 e 6,5 na temperatura de 30 °C. Já com relação as temperaturas de 20 °C

(Figura 6 B) e 10 °C (Figura 6 C), nota-se uma pequena oscilação dos teores de carboidratos redutores durante o processo fermentativos, resultado do baixo crescimento do *Lactobacillus reuteri* nessas condições, mantendo estável até o final do processo.

Na Figura 6, encontra-se a curva do teor de carboidratos redutores durante a cinética de crescimento do *Lactobacillus reuteri* na polpa de maracujá, com diferentes níveis de pH, (pH 3,18, pH 5,5 e pH 6,5) nas respectivas temperaturas de 30 °C, 20 °C e 10 °C.

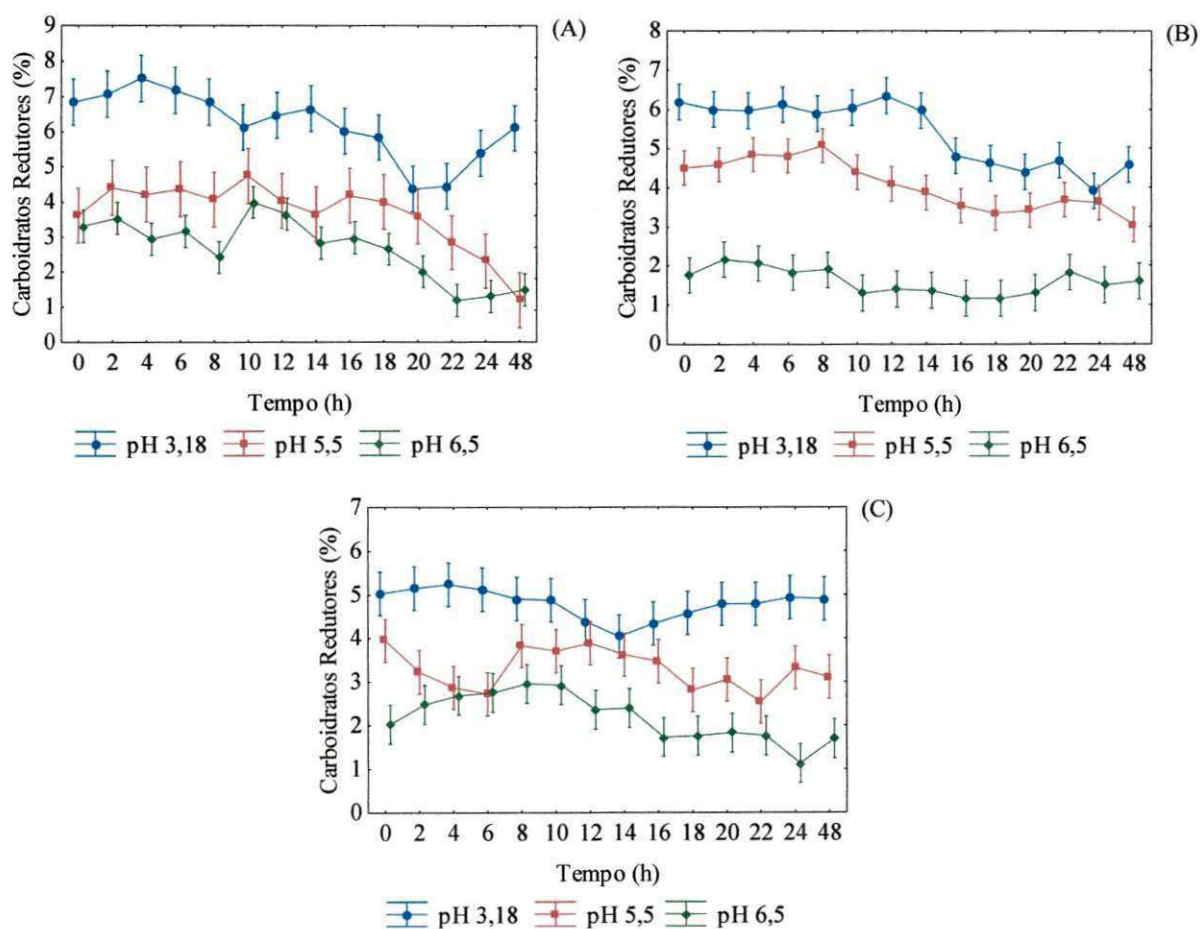


Figura 6. Curva de carboidratos redutores nas temperaturas de 30 °C (A), 20 °C (B) e 10 °C (C), com diferentes níveis de pH inicial da polpa (pH 3,18, pH 5,5, pH 6,5).

Consoante Copello Rotili et al. (2013), os compostos fenólicos são substâncias do metabolismo secundário vegetal, com diferentes funções fisiológicas. A composição fenólica é determinada por fatores genéticos e ambientais, ou devido a estresses pós-colheita envolvendo temperatura, transpiração, oxigênio e patógenos, mas podem ser modificadas através de reações oxidativas.

Na Figura 7, encontra-se a curva do conteúdo de compostos fenólicos durante a cinética de crescimento do *Lactobacillus reuteri* na polpa de maracujá, com diferentes níveis de pH, (pH 3,18, pH 5,5 e pH 6,5) nas respectivas temperaturas de 30 °C, 20 °C e 10 °C. Na qual,

observa-se que as maiores concentrações foram constatadas das amostras com pH 3,18, nas temperaturas de 30 °C (Figura 7 A) e 20 °C (Figura 7 B), resultado esperado, visto que as demais amostras sofrerão alteração devido a adição da solução de NaOH 3M para ajuste do pH. Ainda assim, percebe-se que o processo fermentativo não alterou significativamente a concentração de compostos fenólicos nas amostras, exceto a amostra com pH 6,5 submetida ao processo de fermentação a 10°C (Figura 7 C). A preservação dos compostos fenólicos durante o processo fermentativo é um resultado positivo, visto que os compostos fenólicos possuem propriedades benéficas a saúde do homem.

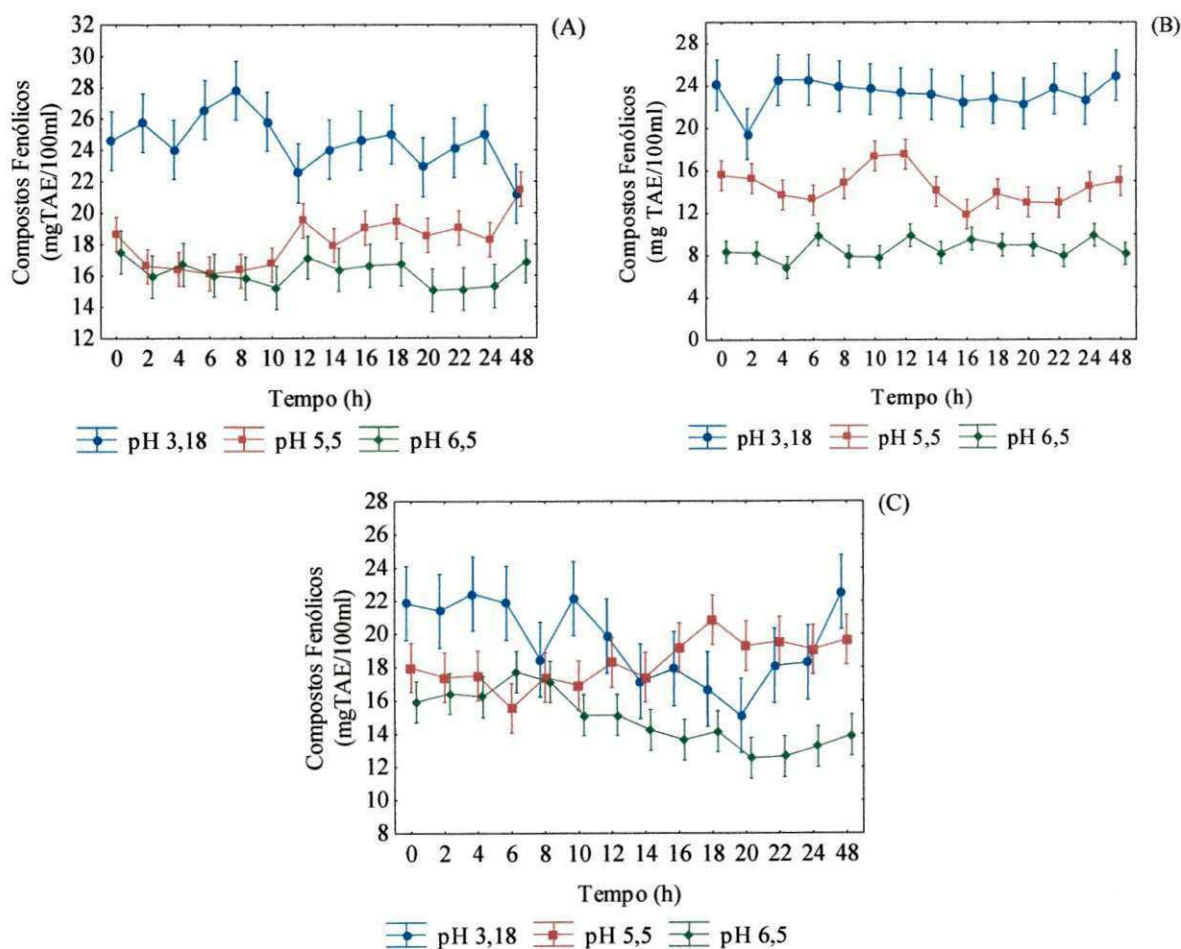


Figura 7. Curva de compostos fenólicos nas temperaturas de 30 °C (A), 20 °C (B) e 10 °C (C), com diferentes níveis de pH inicial da polpa (pH 3,18, pH 5,5, pH 6,5).

6. CONCLUSÃO

O período de estágio no Laboratório de Engenharia de Alimentos, foi essencial para complementação da formação acadêmica, uma vez que foi possível aproximar os conteúdos expostos em sala ao ambiente de pesquisa, adquirindo novos conhecimento e experiência.

Diante as atividades desenvolvidas, percebe-se a importância da padronização de processos, com vista ao desenvolvimento de novos produtos, presando pela qualidade e boas práticas de fabricação. Isto posto, verificou-se mediante análises dos dados coletados, que a polpa de maracujá *in natura* mostrou-se uma boa alternativa como veículo para o *Lactobacillus reuteri*, quando submetida ao processo de fermentação a temperatura de 30 °C.

Com relação aos compostos fenólicos, observou-se que o processo de fermentação não alterou expressivamente sua concentração no meio. Constatando-se que a amostra com pH 3,18, na temperatura de 30 °C, apresentou os melhores resultados, tanto na população de células quando da manutenção das características físico-químicas e bioquímicas da polpa do maracujá, servindo como base para o estudo da viabilidade do *Lactobacillus reuteri* na polpa do maracujá submetida ao processo de secagem por spray-drying.

7. REFERÊNCIAS

ANDRADE, R. H. C. de. **Estabilidade e aceitabilidade de sucos probióticos de goiaba (*Psidium Guajava* L.) contendo *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 7469**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco. 2017.

ARAÚJO, C. L., BEZERRA, I. W., DANTAS, I. C., LIMA, T. V., OLIVEIRA, A. S., MIRANDA, M. R. A., & SALES, M. P. Biological activity of proteins from pulps of tropical fruits. **Food Chemistry**, 85(1), p.107-110. 2004.

BORTHAKUR, A., GILL, RK, TYAGI, S., KOUTSOURIS, A., ALREFAI, WA, HECHT, GA, RAMASWAMY, K. e DUDEJA, PK. The probiotic *Lactobacillus acidophilus* stimulates chloride/hydroxyl exchange activity in human intestinal epithelial cells. **The Journal of nutrition**, v. 138, n. 7, p. 1355-1359, 2008.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical biochemistry**, v. 72, n. 1-2, p. 248-254, 1976.

BRASIL. Resolução N.º 8, de 30 de abril de 1999. Aprova o Regulamento Técnico que estabelece as diretrizes básicas para análise e comprovação de propriedades funcionais e ou de saúde alegadas em rotulagem de alimentos. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Diário Oficial da União**. 1999.

BRASIL. LEI N.º 10.419, DE 9 DE ABRIL. **Presidência da República - Casa Civil**. 2002.

BRASIL. RESOLUÇÃO N.º 17/ 2008. **Diário Oficial da união**, Poder Executivo de 18 de março de 2008.

BRASIL. RESOLUÇÃO N.º 06/ 2014. Colegiado Pleno da Universidade Federal de Campina Grande.

BRASIL. Portaria N.º 94, de 30 de Agosto De 2016 - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento Secretaria de Defesa Agropecuária: **Secretaria de Defesa Agropecuária**, 2016.

BRASIL. RESOLUÇÃO DA DIRETORIA COLEGIADA RDC N.º 241, DE 26 DE JULHO DE 2018. **Diário Oficial da União**. 2018.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Qualidade pós-colheita. Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio.** 2005.

COPELLO ROTILI, M. C., COUTRO, S., CELANT, V. M., ARIANE VORPAGEL, J., BARP, F. K., BUSCH SALIBE, A., & COSTA BRAGA, G. Composição, atividade antioxidante e qualidade do maracujá-amarelo durante armazenamento. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 34, n. 1, (2013).

CORRÊA, RC, PERALTA, RM, HAMINIUK, CW, MACIEL, GM, BRACHT, A. e FERREIRA, IC The past decade findings related with nutritional composition, bioactive molecules and biotechnological applications of *Passiflora spp.* (passion fruit). **Trends in Food Science & Technology**, v. 58, p. 79-95, 2016.

COUTO, A. B. B., AGUIAR, I. B., OLIVEIRA, C. S., GOMES, F. S., FREIRE JUNIOR, M., CABRAL, L. M. C., e LEAL JUNIOR, W. F. Caracterização Físico-Química Maracujá-Amarelo (*Passiflora edulis* fo. *Flavicarpa*) Cultivado em Sistema Orgânico e Convencional. **Embrapa Agroindústria de Alimentos: Article in Annals of Congress (ALICE)**. p. 3, 2011.

DUAR, RM, LIN, XB, ZHENG, J., MARTINO, ME, GRENIER, T., PÉREZ-MUÑOZ, ME, LEULIER, F., GÄNZLE, M., e WALTER, J. Lifestyles in transition: evolution and natural history of the genus *Lactobacillus*. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 41, 2017.

DURIGAN, J. Colheita e conservação pós-colheita. **Simpósio brasileiro sobre a cultura do maracujazeiro**, v. 5, p. 257-278, 1998.

FALEIRO, F. G., e JUNQUEIRA, N. T. V. Maracujá: o produtor pergunta, a Embrapa responde. **Embrapa Cerrados-Livro técnico (INFOTECA-E)**. 2016.

FALEIRO, F. G., JUNQUEIRA, N. T. V., COSTA, A. M., JESUS, O. N. de F., COSTA, A. M., JESUS, O. N. de, MACHADO, C. de F. Maracujá: *Passiflora spp.* **Embrapa Mandioca e Fruticultura (CNPMPF)**. 2017.

FAO. Food Wastage Photoprint: Impacts on natural resources. 2013.

GARCÍA-CEJA, A., MANI-LÓPEZ, E., PALOU, E., e LÓPEZ-MALO, A. Viability during refrigerated storage in selected food products and during simulated gastrointestinal conditions

of individual and combined *Lactobacillus* encapsulated in alginate or alginate-chitosan. **LWT-Food Science and Technology**, v. 63, n. 1, p. 482-489, 2015.

GEREZ, CL, CUEZZO, S., ROLLAN, G., e DE VALDEZ, GF. *Lactobacillus reuteri* CRL 1100 como cultura inicial para a fermentação da massa de trigo. **Microbiologia de Alimentos**, 25 (2), p.253-259. 2008.

GODOY, R. C. B., LEDO, C. A. D. S., DOS SANTOS, A. P., MATOS, E. L. S., LIMA, A. D. A., e WASZCZYNSKYJ, N. Diversidade genética entre acessos de maracujazeiro amarelo avaliada pelas características físico-químicas dos frutos. **Ceres**, v. 54, n. 316, 2015.

GRECO, S. M. L.; PEIXOTO, J. R.; FERREIRA, L. M. Avaliação física, físico-química e estimativas de parâmetros genéticos de 32 genótipos de maracujazeiro-azedo cultivados no Distrito Federal. **Bioscience Journal**, v. 30, n. 3, 2014.

HAMILTON-MILLER, J. Probiotics and prebiotics in the elderly. **Postgraduate Medical Journal**, v. 80, n. 946, p. 447-451, 2004.

HISS, H. Cinética de Processos Fermentativos. In: LTDA., E. E. B. (Ed.). **Biotechnologia Industrial**, v.2, p.93-122. 2001.

HOFFMANN, F. L. Fatores limitantes à proliferação de microorganismos em alimentos. **Brasil alimentos**, v. 9, n. 1, p. 23-30, 2001.

HOU, C., ZENG, X., YANG, F., LIU, H., e QIAO, S. Estudo e uso do probiótico *Lactobacillus reuteri* em suínos: uma revisão. **Revista de ciência animal e biotecnologia**. 6 (1), p. 14. 2015.

HURTADO-SALAZAR, A. L. E. J. A. N. D. R. O., DA SILVA, D. F. P., SEDIYAMA, C. S., & BRUCKNER, C. H. Caracterização física e química de frutos de maracujazeiro-amarelo enxertado em espécies silvestres do gênero *Passiflora* cultivado em ambiente protegido. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 37, n. 3, p. 635-643, 2015.

HUSSAIN, S. A., PATIL, G. R., YADAV, V., SINGH, R. R. B., e SINGH, A. K. Ingredient formulation effects on physico-chemical, sensory, textural properties and probiotic count of Aloe vera probiotic dahi. **Lwt - Food Science And Technology**, v. 65, p. 371-380, 2016.

IAL. **Normas Analíticas: Métodos químicos e físicos para análise de alimentos**. 1020 p. 2008.

IBGE. **Culturas temporárias e permanentes | Estatísticas | IBGE: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. 43 - 62 p. 2017.

JESUS, C.; PIRES, I. "Fechar o ciclo". A contribuição da economia circular para o combate ao desperdício alimentar. **Revista Ecologias Humanas**, v. 4, n. 4, p. 7-20, 2018.

KINGWATEE, N., APICHARTSRANGKON, A., CHAIKHAM, P., WORAMETRACHANON, S., TECHARUNG, J., e PANKASEMSUK, T. Spray drying *Lactobacillus casei* 01 in lychee juice varied carrier materials. **LWT-Food Science and Technology**, v. 62, n. 1, p. 847-853, 2015.

KONTA, E. M., ALMEIDA, M. R., AMARAL, C. L. D., DARIN, J. D. C., DE ROSSO, V. V., MERCADANTE, A. Z., ANTUNES, L. M. G., BIANCHI, M. L. P. Evaluation of the antihypertensive properties of yellow passion fruit pulp (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg.) in spontaneously hypertensive rats. **Phytotherapy research**, v. 28, n. 1, p. 28-32, 2014.

LIMA BEZERRA, Á. D., BARBOSA, C. R. M., DE CARVALHO, F. M. C., SERQUIZ, A. C., & DE ARAÚJO MORAIS, A. H. Atividade antitriptica de proteínas em polpas e sementes de frutas tropicais. **Revista Brasileira de Fruticultura**, 36(2), p. 408-416, 2014.

LIU, X. T., HOU, C. L., ZHANG, J., ZENG, X. F., e QIAO, S. Y. Fermentation conditions influence the fatty acid composition of the membranes of *Lactobacillus reuteri* I 5007 and its survival following freeze-drying. **Letters in applied microbiology**, v. 59, n. 4, p. 398-403, 2014.

MARHAMATIZADEH, M.; REZAZADEH, S.; KAZEMEINI, F. The study of probiotic juice product conditions supplemented by culture of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum*. p. 278-295. 2012.

MARINOVA, D.; RIBAROVA, F.; ATANASSOVA, M. Total phenolics and total flavonoids in Bulgarian fruits and vegetables. **Journal of the university of chemical technology and metallurgy**, v. 40, n. 3, p. 255-260, 2005.

MILLER, G. L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. **Analytical chemistry**, v. 31, n. 3, p. 426-428, 1959.

MONTEIRO-HARA, A. C., JADAO, A. S., MENDES, B. M., REZENDE, J. A., TREVISAN, F., MELLO, A. P. O., VIERA, L. C., MELETTI, L. M. M., e PIEDADE, S. M. de S. Genetic transformation of passionflower and evaluation of r1 and r2 generations for resistance to Cowpea aphid borne mosaic virus. **Plant disease**, v. 95, n. 8, p. 1021-1025, 2011.

MORAIS, A. B. L., XAVIER, A. C. R., SILVA, G. F., SILVA, M. A. A. P., e PAGANI, A. A. C. Bioactivation of Carbonated Mineral Water with Passion Fruit Microcapsules. **International Journal of Nutrition and Food Sciences**, v. 4, n. 3, p. 310-319, 2015.

MOURA, G. S., SCHWAN-ESTRADA, K. R. F., CLEMENTE, E., e FRANZENER, G. Conservação pós-colheita de frutos de maracujá-amarelo por derivados de capim-limão (*Cymbopogon citratus*). **Ambiência**, v. 12, n. 2, p. 667-682, 2016.

MU, Q.; TAVELLA, VINCENT; L., XIN, M. Role of *Lactobacillus reuteri* in Human Health and Diseases. **Frontiers in microbiology**, v. 9, p. 757, 2018.

NUALKAEKUL, S., LENTON, D., COOK, M. T., KHUTORYANSKIY, V. V., e CHARALAMPOPOULOS, D. Chitosan coated alginate beads for the survival of microencapsulated *Lactobacillus plantarum* in pomegranate juice. **Carbohydrate Polymers**, v. 90, n. 3, p. 1281-1287, 2012.

OLIVEIRA, J. D. S.; FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. Importância dos maracujás (*Passiflora* L. spp.) e seu uso comercial. **Embrapa Cerrados-Artigo em periódico indexado (ALICE)**, v. 3, n. 3, p. 72-81, 2017.

PARVEZ, S., MALIK, KA, AH KANG, S., e KIM, HY. Probiotics and their fermented food products are beneficial for health. **Journal of applied microbiology**, v. 100, n. 6, p. 1171-1185, 2006.

PATEL, A. R. Probiotic fruit and vegetable juices - recent advances and future perspective. **International Food Research Journal**, v. 24, n. 5, p. 1850-1857, 2017.

PEREIRA, L. D., DO VALLE, K. D., SOUZA, L. K. F., PAIVA, E. F., CASTRO BOLINA, C., DOS REIS, E. F., SALAZAR, A. H., SILVA, D. F. P. Caracterização de Frutos de Diferentes Espécies de Maracujazeiro. **Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável**, v. 8, 2018.

POSSEMIERS, S., MARZORATI, M., VERSTRAETE, W., e VAN de WIELE, T. Bacteria and chocolate: a successful combination for probiotic delivery. **International journal of food microbiology**, v. 141, n. 1-2, p. 97-103, 2010.

RANADHEERA, R.; BAINES, S.; ADAMS, M. Importance of food in probiotic efficacy. **Food Research International**, v. 43, n. 1, p. 1-7, 2010.

RINALDI, M. M., COSTA, A. M., FALEIRO, F. G., e JUNQUEIRA, N. T. V. Conservação pós-colheita de frutos de *Passiflora setacea* DC. submetidos a diferentes sanitizantes e temperaturas de armazenamento. **Braz. J. Food Technol.**, v. 20, p. 12, 2017.

RODRIGUES, D., SOUSA, S., GOMES, A. M., PINTADO, M. M., SILVA, J. P., COSTA, P., AMARAL, M. H., e FREITAS, A. C. Storage stability of *Lactobacillus paracasei* as free cells or encapsulated in alginate-based microcapsules in low pH fruit juices. **Food and Bioprocess Technology**, v. 5, n. 7, p. 2748-2757, 2012.

RUF. Ranking universitário. 2017. Disponível em: <<http://ruf.folha.uol.com.br/2017/perfil/universidade-federal-de-campina-grande-ufcg-2564.shtml>>. Acesso em: 24 de setembro de 2018.

SAARELA, M., VIRKAJÄRVI, I., NOHYNEK, L., VAARI, A., e MÄTTÖ, J. Fibres as carriers for *Lactobacillus rhamnosus* during freeze-drying and storage in apple juice and chocolate-coated breakfast cereals. **International journal of food microbiology**, v. 112, n. 2, p. 171-178, 2006.

SHORI, A. B. The potential applications of probiotics on dairy and non-dairy foods focusing on viability during storage. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 4, n. 4, p. 423-431, 2015.

SILVA, A. C. C., SILVA, N. A., PEREIRA, M. C. S., e VASSIMON, H. S. Alimentos contendo ingredientes funcionais em sua formulação: revisão de artigos publicados em revistas brasileiras. **Conexão Ciência (Online)**, v. 11, n. 2, p. 133-144, 2016.

SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTÓS, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. In: (Ed.). **Methods in enzymology**: Elsevier, v.299, p.152-178. 1999.

SINKIEWICZ, G. *Lactobacillus reuteri* in Health and Disease. 2010.

SIQUEIRA, A. P. S., CAMPOS, M., BARBOSA, T., SOUZA, E. R., e VERA, R. Ação de hidrocoloides na estabilidade física de suco tropical de cagaita pronto para consumo. *Agrarian*, v. 11, n. 39, p. 73-78, 2018.

SOARES, B. L. D. M. **Desenvolvimento de uma bebida funcional a base de caju (*Anacardium occidentale* L.) com *Lactobacillus casei* DN 114-001 livre e microencapsulado.** 2016. 163 Dissertação Universidade Federal de Pernambuco

STRINGUETA, P. C., DO AMARAL, M. D. P. H., BRUMANO, L. P., PEREIRA, M. C. S., e de OLIVEIRA PINTO, M. A. Public health policies and functional property claims for food in Brazil. In: (Ed.). **Structure and Function of Food Engineering**: InTech, 2012.

TAVARES, J. D. Q., SILVA, C. D., CARVALHO, L. D., SILVA, M. D., Santos, C. M. G., TEIXEIRA, L. D. J., e SANTANA, R. D. S. Aplicação pós-colheita de cloreto de cálcio em maracujá amarelo. *Magistra, Cruz das Almas*, v. 15, n. 1, p. 7-12, 2003.

TRIPATHI, M. K.; GIRI, S. K. Probiotic functional foods: Survival of probiotics during processing and storage - ScienceDirect. *Journal of Function Foods*, v. 9, p. 225-241, 2014.

VANDENPLAS, Y.; HUYS, G.; DAUBE, G. Probiotics: an update. *Jornal de Pediatria (Versão em Português)*, v. 91, n. 1, p. 6-21, 2015.

ZERAIK, M. L., PEREIRA, C. A., ZUIN, V. G., & YARIWAKE, J. H. Passion fruit: a functional food?. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 20(3), p. 459-471, 2010.