



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

NAIARA RAMOS RICARDO

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE LEITE
FERMENTADO COM *Villi* ADICIONADO DE *Curcuma longa***

Londrina
2014

NAIARA RAMOS RICARDO

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE LEITE
FERMENTADO COM *Villi* ADICIONADO DE *Curcuma longa***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação, em Ciência de Alimentos da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência de Alimentos.

Orientadora: Profa. Dra. Sandra Garcia.

Londrina
2014

**Catálogo elaborado pela Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central da
Universidade Estadual de Londrina**

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

R488d Ricardo, Naiara Ramos.
Desenvolvimento e caracterização de leite fermentado com *Villi*, adicionado de *Curcuma Longa* / Naiara Ramos Ricardo. – Londrina, 2014.
70 f. : il.

Orientador: Sandra Garcia.
Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, 2014.
Inclui bibliografia.

1. Leite fermentado – Teses. 2. Alimentos funcionais – Teses. 3. Cúrcuma – Teses. 4. Probióticos – Teses. 5. Lactobacilo – Teses. 6. Antioxidantes – Teses.
I. Garcia, Sandra. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos. III. Título.

CDU 664:637.1

NAIARA RAMOS RICARDO

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE LEITE
FERMENTADO COM *Vii*li ADICIONADO DE *Curcuma longa***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação, em Ciência de Alimentos da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência de Alimentos.

BANCA EXAMINADORA

Orientadora: Profa. Dra. Sandra Garcia
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Profa. Dra. Luciana Furlaneto-Maia
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
- UTFPR

Profa. Dra. Sandra Helena Prudencio
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Londrina, 16 de setembro de 2014.

Aos meus pais que sempre me apoiaram e me incentivaram aos estudos. À minha mãe Vera Lúcia que me incentivou e esteve ao meu lado, ao meu pai Olair pelo seu exemplo de força e determinação para o trabalho e estudo.

Aos meus irmãos Naiade e Júnior, que sempre estiveram ao meu lado e me ajudaram.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus pela vida, por me abençoar e iluminar em todos os momentos.

À professora Sandra Garcia pela oportunidade de ser por ela orientada e pelos diversos ensinamentos.

Aos mais que colegas de pesquisa, pessoas que foram além do seu dever comum, pessoas especiais a quem tenho a honra de chamar de amigos. Amigos que me ajudaram dentro e fora do laboratório, com questões de pesquisa e pessoais. Muito obrigada Karla Bigetti Guergoletto, Marli Busanello, Marsilvio de Moraes Lima Filho e Suzana Tiemi Matsubara.

Quero também agradecer aos amigos da minha turma de mestrado Bruna Yoshida, Fernanda Carla Henrique, Fernando Sanches, Leniza Ludwig, Marcela Colombo, Melina Cardoso, Natália Niguma, Rodolfo Campos Zanin e Thanise Piteli, pela companhia e por sempre se mostrarem dispostos a me ajudar.

Aos colegas de laboratórios pelo constante apoio e força.

Aos professores e funcionários do Departamento de Ciência de Alimentos da UEL, pelos serviços prestados e pelo conhecimento transmitido, especialmente aos Professores Wilma Spinosa e Newton Arakawa.

“O que for a profundidade do teu ser, assim será o teu desejo.
O que for o teu desejo, assim será tua vontade.
O que for a tua vontade, assim serão teus atos.
O que forem teus atos, assim será teu destino.”

(Brihadaranyaka Upanishad)

RICARDO, N. R. **Desenvolvimento e caracterização de leite fermentado com Viili, adicionado de *Curcuma Longa***. 2014. 70f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2014.

RESUMO

A promoção da saúde através de uma alimentação adequada é uma preocupação cada vez maior no cotidiano de muitas pessoas, sendo assim a procura por alimentos saudáveis e funcionais é crescente. Os produtos lácteos estão na linha de frente no desenvolvimento de alimentos funcionais. O trabalho teve como objetivo desenvolver um leite fermentado pela cultura mista de viili, produtora de exopolissacarídeos (EPS), com a adição do corante natural *Curcuma longa*. A cultura mista utilizada contém entre outros microrganismos o *Lactococcus lactis*, considerado probiótico pela legislação brasileira. A *Curcuma longa* foi adicionada como corante e também por agregar propriedades funcionais e antioxidantes. Foram elaboradas 6 formulações de leite fermentado: Ns (leite fermentado puro); Nc (leite fermentado adicionado de cúrcuma – 0,6% m/v); As (leite fermentado adicionado de açúcar - 10% (m/v); Ac (leite fermentado adicionado de açúcar 10% (m/v) e cúrcuma 0,6% (m/v)); Ss (leite fermentado adicionado de sal 1,3% (m/v)); Sc (leite fermentado adicionado de sal 1,3% (m/v) e cúrcuma). As amostras foram armazenadas por 30 dias e submetidas a análises no 1º, 15º e 30º dia de estocagem. Todas as formulações apresentaram ao longo dos 30 dias de armazenamento contagem para *Lactococcus lactis* entre 10⁸ e 10⁹ UFC/mL, portanto, pode-se alegar tratarem-se de produtos probióticos. A composição centesimal apresentou-se estável durante o armazenamento à 4°C, a umidade das formulações variou entre 85,00 e 90,16 %, os valores de cinzas foram de 0,68 a 2,32 %, o teor proteico de 3,06 a 3,9 %. As amostras sem a adição de cúrcuma na formulação apresentaram em média para o parâmetro L* valores de 79,10, 80,92 e 81,50 respectivamente para as amostras Ns, As e Ss, sendo estas as mais claras comparadas às amostras Nc, Ac e Sc que tiveram adição de cúrcuma em sua formulação tendo em média para L* valores de 75,52, 77,57 e 77,90. Durante o armazenamento, o pH das amostras apresentou redução significativa. Os produtos apresentaram uma variação na acidez que foi de 0,90 a 1,4 % de ácido láctico. Nas formulações adicionadas de cúrcuma foi verificado que os pigmentos curcuminóides mantiveram-se presentes nas amostras até o final da estocagem. Para os Compostos Fenólicos Totais as amostras sem a adição da cúrcuma, Ns, As, Ss apresentaram variação de 66,15 a 92,39 mg equivalentes de ácido gálico/100g. As amostras com adição da cúrcuma em pó variaram entre 91,65 a 130,88 mg equivalentes de ácido gálico/100g. As quantidades de EPS nas amostras sem adição de açúcar variaram entre 74,48 e 93,19mg/L. A máxima viscosidade das amostras sem adição de açúcar foi de 896,76 cP. A aceitação sensorial para o produto adicionado de sacarose variou entre 4,5 e 5,3, para o produto adicionado de cloreto de sódio a aceitação foi de 7,2, sendo que utilizou-se para a avaliação uma escala hedônica de nove pontos estruturados variando de “Desgostei Extremamente (1)” a “Gostei Extremamente (9)”.

Palavras-chave: *Lactococcus lactis*. Probiótico. Cúrcuma. Antioxidante.

RICARDO , N. R. **Development and Characterization of fermented milk by a mixed culture Viili and added of Turmeric.** 2014. 70p. Dissertation (Master's degree in Food Science) – Universidade de Londrina, Londrina , 2014.

ABSTRACT

The promotion of health through proper nutrition is a growing concern in daily lives of many people, so the demand for functional foods is increasing . Dairy products are the mainly reserch group of functional foods. This study aimed to develop a fermented milk cultured by a mixed culture EPS producer and the product had the natural dye *Turmeric* added. The mixed culture used is called viili, its contains several microorganisms, one of them is the *Lactococcus lactis*, considered as a probiotic by Brazilian law. The *Turmeric* was added as a dye and also for its functional and antioxidant properties. Six fermented milk formulations were prepared: Ns (pure fermented milk), Nc (fermented milk added turmeric - 0.6% w/v); As (fermented milk sugar added 10% w/v); Ac (fermented milk added turmeric - 0.6% w/v and sugar added 10% w/v); Ss (fermented milk added salt 1.3% w/v); Sc (fermented milk added salt 3% w/v and turmeric). The samples were stored for 30 days and subjected to analysis in the 1st, 15th and 30th day of storage. All formulations had *Lactococcus lactis* counts between 10^8 and 10^9 CFU / mL, so they can considered probiotic. The proximate composition was stable during storage at 4 ° C, the moisture of the formulations ranged between 85.00 and 90.16%, ash values were 0.68 to 2.32 %, and the protein content of 3.06 to 3.9 %. Samples without the addition of turmeric in the formulation had on average L * parameter of 79.10; 80.92 and 81.50 respectively for the samples Ns, As and Ss, and these samples were lighter than samples Nc, Ac and Sc that have added turmeric to the formulation with average L * 75.52; 77.57 and 77.90. During storage, the pH of the samples showed a significant reduction. The product showed a variation in acidity of 0.90 to 1.4% expressed in lactic acid. Formulations added turmeric presented curcuminoids unchanged in all samples until the end of storage. Total Phenolic Compounds for the samples without turmeric addition, Ns, As, Ss, showed variation from 66.15 to 92.39 mg of gallic acid equivalents/100g. Samples with addition of turmeric powders ranged from 91.65 to 130.88 mg of gallic acid equivalents/100g. EPS quantities in samples without sugar addition, were between 74,48 and 93,19 mg/L. The viscosity of the sugar free samples reached a maximum value of 896.76 cp. The overall sensorial acceptance of the product added to sucrose ranged from 4.5 to 5.3, the acceptance of the product added to sodium chloride was 7.2, the nine point hedonic scale was used for the evaluation this, with points ranging from "extremely disliked (1)" to "Extremely Liked (9)."

Keywords : *Lactococcus lactis*. Probiotic. *Turmeric*. Antioxidant.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	– Imagens da cúrcuma em forma de rizoma e em pó.....	21
Figura 2	– Estruturas químicas dos curcuminóides.....	23
Figura 3	– Produção de Leite Fermentado por cultura mista	26
Figura 4	– Curcuminóides presentes na cúrcuma em pó e nas amostras ao longo do armazenamento	34
Figura 5	– Curcuminóides presentes na cúrcuma amarela (A) e na cúrcuma branca (B).....	35

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	– Contagem de Bactérias lácticas e <i>Lactococcus lactis</i> , durante os dias 1, 15 e 30 de armazenamento.....	37
Tabela 2	– Composição química dos leites fermentados viili (base úmida) das seis formulações, ao longo de 30 dias de armazenamento	39
Tabela 3	– Parâmetros de cor para as seis formulações, ao longo de 30 dias de armazenamento	41
Tabela 4	– pH e acidez das seis formulações, ao longo de 30 dias de armazenamento	42
Tabela 5	– Resultados para compostos fenólicos totais e capacidade de sequestrar radicais antioxidantes, das seis formulações, ao longo de 30 dias de armazenamento, expressos em base seca	44
Tabela	– Resultados da análise de glicose realizada pelo método Fenol-Sulfúrico, das seis formulações, ao longo de 30 dias de armazenamento, expressos em base seca.....	45
Tabela 7	– Valores das frações dos açúcares dos exopolissacarídeos de viili e EPS total, média dos 30 dias de armazenamento	46
Tabela 8	– Valores médios de viscosidade das seis formulações, ao longo de 30 dias de armazenamento, expressos em centipoise	47
Tabela 9	– Aceitação de atributos sensoriais dos leites fermentados com cultura de viili	48
Tabela 10	– Aceitação de atributos sensoriais dos molhos para salada com cultura de viili	49
Tabela 11	– Aceitação sensorial dos leites fermentados viili	49
Tabela 12	– Escala com a intenção de compra dos provadores para o leite fermentado e o molho para salada.....	51

LISTA DE QUADROS

Quadro I – Valores de L^* a^* b^* para cada um dos pigmentos curcuminóides	41
---	----

SUMÁRIO

1	Introdução.....	11
2	Revisão Bibliográfica.....	13
2.1	ALIMENTOS FUNCIONAIS.....	13
2.2	PROBIÓTICOS.....	14
2.3	LEITE FERMENTADO.....	16
2.3.1	<i>VILLI</i>	17
2.4	EXOPOLISSACARÍDEOS.....	19
2.5	<i>CURCUMA LONGA</i>	20
2.5.1	Compostos presentes na <i>Curcuma longa</i>	22
3	Material e Métodos.....	24
3.1	CULTURA.....	24
3.2	<i>CURCUMA LONGA</i>	24
3.3	PRODUÇÃO DE LEITE FERMENTADO.....	24
3.4	CONTAGEM DE BACTÉRIAS LÁTICAS TOTAIS.....	26
3.5	CONTAGEM DE <i>LACTOCOCCUS LACTIS</i>	27
3.6	CONTAGEM DE FUNGOS.....	27
3.7	DETERMINAÇÃO DA COR.....	27
3.8	VISCOSIDADE.....	27
3.9	ANÁLISE DE CURCUMINÓIDES.....	28
3.9.1	Cromatografia De Camada Delgada (CCD).....	28
3.10	DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS.....	28
3.11	DETERMINAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE: CAPACIDADE DE SEQUESTRAR RADICAIS DPPH [•]	29
3.12	DETERMINAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE: CAPACIDADE DE SEQUESTRAR RADICAIS ABTS ^{•+}	29
3.11	COMPOSIÇÃO CENTESIMAL.....	30
3.12	DETERMINAÇÃO DO PH.....	30
3.13	DETERMINAÇÃO DA ACIDEZ.....	30
3.14	DETERMINAÇÃO DE EXOPOLISSACARÍDEOS (EPS).....	30
3.15	CONDIÇÕES HIGIÊNICO-SANITÁRIAS DAS AMOSTRAS.....	31

3.16	ANÁLISE SENSORIAL.....	31
3.17	ANÁLISES ESTATÍSTICAS	32
4	Resultados e Discussão	33
4.1	TEOR DE CURCUMINÓIDES	33
4.2	CONTAGEM DE BACTÉRIAS LÁTICAS TOTAIS E <i>LACTOCOCCUS LACTIS</i>.....	35
4.3	COMPOSIÇÃO CENTESIMAL	38
4.4	COR DAS FORMULAÇÕES	40
4.5	PH E ACIDEZ DAS FORMULAÇÕES	42
4.6	COMPOSTOS FENÓLICOS E CAPACIDADE ANTIOXIDANTE	43
4.7	EXOPOLISSACARÍDEOS (EPS)	44
4.8	VISCOSIDADE	47
4.9	ANÁLISE SENSORIAL.....	48
5	Conclusão	52
	REFERÊNCIAS.....	53
	ANEXOS	62
	ANEXO 1 – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido na Forma de Convite para os Provedores do Produto de leite fermentado (tipo Viili) no Teste de Aceitação	63
	ANEXO 2 – Coleta de dados do Provedor	65
	ANEXO 3 – Ficha para Avaliação Sensorial: Teste de Aceitação e Intenção de Compra.....	66
	ANEXO 4 – Coleta de dados do Provedor	67
	ANEXO 5 – Ficha para Avaliação Sensorial: Teste de Aceitação e Intenção de Compra.....	68
	ANEXO 6 – Parecer Consubstanciados do CEP	69

1 Introdução

O conceito de alimentos funcionais surgiu no Japão, por volta da década de 80, sendo que esses produtos seriam capazes de proporcionar benefícios fisiológicos e reduzir problemas de saúde, quando consumidos como parte de uma dieta normal.

O mercado para produtos saudáveis tem aumentado significativamente, o que estimula a pesquisa e o desenvolvimento de novos ingredientes e produtos com apelo de reduzir o risco de doenças e proporcionar uma vida mais saudável. O interesse das pessoas por uma alimentação saudável e pela prática de exercícios físicos aumentou nas últimas décadas, com a conscientização em relação a saúde e qualidade de vida. Este comportamento dos consumidores é um dos fatores para o desenvolvimento de novos alimentos funcionais.

Os alimentos funcionais são aqueles que consumidos como parte de uma dieta convencional, têm a capacidade de regular funções corporais de forma a auxiliar na proteção contra doenças como hipertensão, diabetes, câncer, osteoporose e coronariopatias. Apresentam propriedades benéficas além das nutricionais básicas, sendo apresentados na forma de alimentos comuns. São todos os alimentos ou bebidas que, consumidos na alimentação cotidiana, podem trazer benefícios fisiológicos específicos, além de prevenir o risco de ocorrência de determinadas doenças.

Os probióticos estão dentro da classe dos compostos considerados funcionais, são eles microrganismos vivos que podem ser agregados como suplementos na dieta, afetando de forma benéfica o desenvolvimento da flora microbiana no intestino, são utilizados para prevenir as infecções entéricas e gastrointestinais. A definição internacional atualmente aceita é de que os probióticos são microrganismos vivos, administrados em quantidades adequadas, que conferem benefícios à saúde do hospedeiro.

Os produtos lácteos estão na linha de frente no desenvolvimento de alimentos funcionais, leites fermentados e iogurtes contendo probióticos, com o apelo de benefícios à saúde são cada vez mais comuns no mercado.

O viili é um leite fermentado que contém *Lactococcus lactis*, microrganismo considerado como probiótico pela legislação brasileira. Trata-se de um produto lácteo bastante viscoso, tradicional dos países nórdicos, mais encontrado na Finlândia. É fermentado por uma cultura mista, composta principalmente por *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, que produz exopolissacarídeos (EPS), conferindo assim a intensa viscosidade característica. Vários benefícios funcionais têm sido atribuídos ao viili, incluindo atividade antioxidante, antiinflamatória, anticancerígena e promoção da imunidade natural.

A cúrcuma é rica em compostos fenólicos, que possuem uma série de propriedades consideradas funcionais, é utilizada como corante em alimentos e bebidas, como condimento, como saborizante e como medicamento. É bastante interessante como corante por ser um produto natural e possuir características de cor semelhantes às da tartrazina, um corante sintético utilizado na indústria alimentícia, que pode provocar reações adversas ao homem. Na medicina indiana é amplamente empregada, sendo utilizada no tratamento de doenças de pele, distúrbios estomacais, doenças do fígado e em caso de comprometimento das vias nasais. A cúrcuma tem ainda várias outras aplicações levando-se em conta suas propriedades como diurético, excitante antioxidantes, antimicrobiana, antiinflamatória e anticancerígena.

Devido à crescente expansão de produtos lácteos no segmento de alimentos funcionais, o objetivo deste trabalho foi desenvolver diferentes formulações de um leite fermentado, denominado viili, com exopolissacarídeos (EPS) e contendo *Lactococcus lactis* probióticos, adicionado de um corante natural, ingrediente que apresenta propriedade funcional e antioxidante. Caracterizar e analisar a viabilidade dos microrganismos e compostos constituintes das formulações, ao longo de 30 dias de armazenamento a 4°C, a fim de possibilitar alegações de benefícios à saúde com a ingestão dos produtos. Realizar também uma análise sensorial para verificar a aceitação dos leites fermentados por consumidores em potencial.

2 Revisão Bibliográfica

2.1 ALIMENTOS FUNCIONAIS

O conceito de alimentos funcionais surgiu no Japão, por volta da década de 80, sendo eles capazes de proporcionar benefícios fisiológicos e reduzir o risco de doenças, quando consumidos como parte de uma dieta normal. O consumo regular de alimentos funcionais pode reduzir as chances de ocorrência de certos tipos de câncer, doenças do coração, osteoporose, problemas intestinais e muitos outros problemas de saúde. Os produtos lácteos estão na linha de frente no desenvolvimento de alimentos funcionais. Os leites fermentados têm sido tradicionalmente considerados benéficos para a saúde. Produtos lácteos funcionais, contendo probióticos estão cada vez mais disponíveis no mercado (BRANDÃO, 2002; LAJOLO, 2005; FUFOSSE, 2011).

A demanda por alimentos saudáveis teve aumento significativo nas últimas décadas, e o interesse das pessoas por uma alimentação saudável, tem impulsionado o desenvolvimento de alimentos funcionais, com um ou mais ingredientes que contribuem de forma benéfica para a saúde humana. Estes produtos contêm o apelo de reduzir os riscos de problemas relacionados à saúde e proporcionar uma vida mais saudável (PINHEIRO, et al., 2005, MOIRA, 2003).

Os alimentos e ingredientes funcionais podem ser classificados quanto à sua fonte: podem ser de origem vegetal ou animal, ou quanto aos benefícios que oferecem, atuando em seis áreas do organismo: no sistema gastrointestinal; no sistema cardiovascular; no metabolismo de substratos; no crescimento, no desenvolvimento e diferenciação celular; no comportamento das funções fisiológicas e como antioxidantes (SOUZA, et al., 2003).

De acordo com o Functional Food Science in Europe (FUFOSSE) um alimento pode ser considerado como "funcional" desde que seu benefício a uma ou mais funções no organismo sejam satisfatoriamente demonstrados, além de promover efeitos nutricionais adequados, sendo relevante para um estado melhor de saúde e bem-estar e/ou redução do risco de doenças. Os alimentos funcionais não incluem comprimidos ou cápsulas, devem demonstrar

seus efeitos em quantidades normalmente consumidas na dieta. Assim um alimento funcional pode ser um alimento natural em que um dos componentes foi melhorado, um alimento ao qual um componente foi adicionado para fornecer benefícios, ou um alimento a partir do qual um componente foi removido para minimizar os efeitos adversos à saúde (FUFOSE 2011).

No Brasil, o Ministério da Saúde, através da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), regulamentou os Alimentos Funcionais através das seguintes resoluções: ANVISA/MS 16/99; ANVISA/MS 17/99, Resolução ANVISA/MS 18/99 e ANVISA/MS 19/99. De acordo com a Anvisa, as alegações de propriedades funcionais podem fazer referências à manutenção geral da saúde, ao papel fisiológico e à redução de risco de doenças. Não são permitidas alegações que façam referência à cura ou prevenção de doenças. O alimento ou ingrediente que alegar propriedades funcionais ou de saúde pode, além de funções nutricionais básicas, quando se tratar de nutriente, produzir efeitos metabólicos e ou fisiológicos e ou efeitos benéficos à saúde, devendo ser seguro para consumo sem supervisão médica. O registro de um alimento funcional só pode ser realizado após ser cientificamente comprovada a alegação de propriedades funcionais ou de saúde com base no consumo previsto ou recomendado pelo fabricante (BRASIL, 1999a; BRASIL, 1999b BRASIL, 1999c; BRASIL, 1999d).

2.2 PROBIÓTICOS

A história dos probióticos começou no início de 1900, graças a Metchnikoff, a partir de seus estudos no Instituto Pasteur, partindo da observação de que pastores Caucasianos viviam mais que os habitantes de Paris e que os norte-americanos, ele sugeriu que a longevidade dos pastores era devido ao grande consumo de leite fermentado, que era considerado uma fonte de microrganismos "bons" e "anti-putrefantes" (CARAMIA e SILVI, 2011). Desde então muitos efeitos benéficos à saúde têm sido atribuídos aos probióticos, como proteção contra problemas gastrointestinais, estimulação do

sistema imune, atividade antimutagênica e anticancerígena, modulação da microbiota intestinal, além de supressão de bactérias patogênicas (SHAH, 2007).

Diversas definições de probióticos foram publicadas ao longo dos anos sendo, internacionalmente aceita, a definição de que são microrganismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, afetam positivamente a saúde do hospedeiro (FAO/WHO, 2001; SANDERS, 2003). No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) define probióticos como microrganismos vivos capazes de melhorar o equilíbrio microbiano intestinal, produzindo efeitos benéficos à saúde do indivíduo (BRASIL, 2002).

Vários benefícios são possíveis a partir de tais microrganismos, incluindo o controle de infecções intestinais, o controle de níveis de colesterol, influências positivas sobre o sistema imunológico, a melhoria de utilização da lactose em pessoas que não a digerem bem, além de ação anticarcinogênica. A regulação da composição da microbiota intestinal, por exemplo, pela administração de prebióticos e probióticos, oferece a possibilidade de influenciar o desenvolvimento da mucosa e da imunidade sistêmica (GILLILAND, 2001).

As bactérias ácido lácticas (LAB), de alguns gêneros considerados probióticos, podem garantir a homeostase intestinal, além de interagir com células epiteliais, bem como com as células imunológicas associadas com o intestino para induzir a ativação do sistema imune (GALDEANO, et al., 2010).

A Anvisa lista alguns microrganismos considerados probióticos pela legislação brasileira, são eles: *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei shirota*, *Lactobacillus casei variedade rhamnosus*, *Lactobacillus casei variedade defensis*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactococcus lactis*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium animalis* (incluindo a subespécie *B. lactis*), *Bifidobacterium longum*, *Enterococcus faecium*. A alegação que pode estar relacionada à esses microrganismos é de que “O (indicar a espécie do microrganismo) (probiótico) contribui para o equilíbrio da flora intestinal. Seu consumo deve estar associado a uma alimentação equilibrada e hábitos de vida saudáveis” (BRASIL 2008).

Os probióticos também têm sido relatados como benéficos para suprimir a diarreia, aliviar a intolerância à lactose e complicações pós-operatórias, reduzir os sintomas do intestino irritável, prevenir a doença inflamatória do intestino (IBD), além de exibirem atividades antimicrobiana e

anticancerígena por meio de vários mecanismos propostos. Para obtenção desses efeitos benéficos, os probióticos devem ser capazes de sobreviver dentro do trato gastrointestinal e serem mantidos em níveis suficientemente elevados no intestino (FUNG, et al., 2011; BRASIL, 2007).

A maioria das células probióticas administradas exercem benefícios à saúde através da adesão às células intestinais. No entanto, têm sido recomendado que a administração oral de probióticos seja continuada em bases diárias, uma vez que as células são constantemente eliminadas do aparelho digestivo através das fezes e de mudanças fisiológicas do hospedeiro e/ou administração de agentes anti-microbianos, tais como antibióticos (FUNG, et al., 2011).

A dose de probióticos para efeitos benéficos ocorre pela administração oral de uma determinada quantidade de microorganismos. A legislação brasileira (BRASIL 2007) preconiza ser necessário entre 10^8 e 10^9 UFC na porção diária, para que o produto com probióticos possa conter alegação de que contribui para o equilíbrio da flora intestinal. No entanto alguns autores como Lourens e Viljoen, (2001), sugerem que 10^6 e de 10^7 - 10^8 UFC/mL, já seriam suficientes.

2.3 LEITE FERMENTADO

O uso do leite fermentado e iogurte são parte da história do homem, estão presentes em lendas desde os primeiros tempos da antiguidade. Na época dos antigos gregos e romanos, o consumo de leite fermentado foi recomendado como um tônico, especialmente para crianças e convalescentes (CARAMIA E SILVI, 2011).

Os leites fermentados podem ou não serem adicionados de outras substâncias alimentícias, são produtos obtidos por coagulação e diminuição do pH do leite, ou leite reconstituído, adicionados ou não de outros produtos lácteos, por fermentação láctica mediante ação de cultivos de microorganismos específicos, os quais devem ser viáveis, ativos e abundantes no produto final

durante o prazo de validade. De acordo com o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados, os cultivos ou microrganismos empregados na fermentação definem a denominação do produto que pode ser iogurte, leite fermentado, leite acidófilo, kefir, kumys e coalhada (BRASIL-MAPA, 2007).

A fermentação do leite melhora a preservação, características sensoriais e o valor nutritivo de seus produtos. A fermentação da lactose durante o crescimento bacteriano provoca a acidificação do leite e inibe o desenvolvimento de microrganismos patogênicos. Outro efeito da acidificação é a neutralização das cargas negativas nas proteínas do leite, resultando em coagulação. O ácido láctico confere aos produtos fermentados, seu agradável sabor ácido e fresco. Além disso, as bactérias ácido lácticas convertem açúcares, ácidos orgânicos, proteínas e gorduras nos componentes típicos de aroma e sabor (RUAS-MADIEDO et al., 2002).

O leite fermentado mais conhecido e consumido no Brasil é o iogurte, cuja fermentação deve ser realizada com cultivos de *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, aos quais podem ser acrescentadas outras bactérias ácido-láticas (BRASIL-MAPA, 2007).

2.3.1 Viili

O viili é um leite fermentado bastante viscoso, tradicional dos países nórdicos, mais encontrado na Finlândia. O produto lácteo era comumente produzido em fazendas para conservar o leite durante o verão em que a produção de leite era mais alta. A produção industrial de viili começou na década de 1950, com tempo de fermentação de aproximadamente 20 horas a 20°C, sendo o pH final por volta de 4,3 e acidez de 0,9 %. Tradicionalmente, é feito a partir de leite não homogeneizado, o que resulta na formação de uma camada de creme na superfície do leite (LEPORANTA, 2003)

A fermentação é realizada por uma cultura *starter* mesofílica, que contém *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Lac. lactis* subsp. *lactis* biovar.

diacetylactis e *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris*, juntamente com um fungo (*Geotrichum candidum*), que cobrem a superfície do produto (TAMIME E MARSHALL, 1997; VASILJEVIC E SHAH, 2008).

A cultura mista é composta principalmente por *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, que produz exopolissacarídeos (EPS), conferindo assim a intensa viscosidade característica. O EPS do viili é um pentassacarídeo composto de galactose, glucose, ramnose e em semelhante proporção (2:2:1), e tem uma natureza aniônica, devido à presença de um grupo fosfato. Apresenta massa molecular médio de cerca de 2000 kDa. Estudos tem sugerido que este biopolímero poderia reduzir o nível de colesterol no sangue de ratos mediada pela estimulação mitogênica da atividade de linfócitos B. Vários benefícios funcionais têm sido atribuídos ao viili, incluindo atividade antioxidante, antiinflamatória, anticancerígena e promoção da imunidade natural (LIU, et al., 2010, VASILJEVIC E SHAH, 2008).

A cultura de viili contém *Lactococcus lactis*, que consta como probiótico na legislação brasileira de acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) na lista de “Alimentos com alegações de propriedades funcionais e ou de saúde, novos alimentos/ingredientes, substâncias bioativas e probióticos” (BRASIL, 2007).

Bactérias ácido lácticas produtoras EPS são comumente usadas como culturas starters na fabricação de kefir, iogurte, e alguns leites fermentados escandinavos, como "langfil" na Suécia, ou "Viili" na Finlândia (DUBOC e MOLLET, 2001).

Este leite fermentado possui um sabor único devido à ação de bactérias ácido lácticas da cultura mista, com um gosto amargo resultante do crescimento do fungo *Geotrichum candidum*, que forma uma superfície aveludada, há também uma variação sem o fungo (LEPORANTA, 2003). Uma gama de produtos do tipo viili estão disponíveis na Finlândia incluindo baixo teor de gordura e baixa quantidade de lactose. Ele é consumido principalmente no café da manhã e como lanche (TAMIME, et al., 2005). Além disso, o viili também contém leveduras *Kluyveromyces marxianus* e *Pichia fermentans*, todos microrganismos formam um sistema de simbiose única (LIU, et al., 2010).

2.4 EXOPOLISSACARÍDEOS

Os exopolissacarídeos (EPS) são polissacarídeos de cadeia longa, consistindo de unidades repetitivas de açúcares ou derivados de açúcar. Eles estão presentes na superfície de muitas bactérias, incluindo algumas bactérias ácido lácticas (LAB) e podem estar ligados à superfície bacteriana formando uma cápsula, fracamente ligados, ou podem ser totalmente secretados no meio ambiente (RAMCHANDRAN & SHAH, 2010).

Em geral, as bactérias produtoras de EPS apresentam boas propriedades de aderência que podem ser de interesse para a colonização transitória do intestino. Os EPS podem interagir com as células hospedeiras, e dessa forma são de interesse biológico, biotecnológico ou médico (MORAN et al., 2009; LOPEZ, 2011). Além disso os EPS podem apresentar uma vantagem seletiva para as bactérias probióticas, a fim de sobreviver às condições adversas do trato gastrointestinal após a ingestão de alimentos (SALAZAR et al., 2011; PILHA et al., 2010).

As LAB produtoras de EPS ganharam atenção considerável na indústria, elas têm sido tradicionalmente utilizadas para a fabricação de produtos lácteos fermentados, devido à sua capacidade de conferir atributos sensoriais desejáveis, como aumento da viscosidade, da consistência e melhora da estabilidade e textura. Os EPS produzidos pelas bactérias ácido lácticas são uma alternativa natural em substituição a aditivos comerciais de origem vegetal ou animal, sendo que o uso de EPS pode resultar em um produto final seguro, natural e saudável, com textura e estabilidade melhoradas, que pode ter um importante impacto sobre o desenvolvimento de novos produtos (RUAS-MADIEDO, SALAZAR, REYES- GAVILÁN, 2009).

Em estudo realizado por Denou et al. (2008) observaram que após a administração oral de cepas de bifidobactérias produtoras de EPS em suspensões de leite, a população total de bifidobactérias no conteúdo intestinal de ratos aumentou significativamente, sendo capaz de modificar a população bacteriana e a atividade metabólica da microbiota intestinal. Um efeito semelhante foi encontrado com os polímeros purificados de microrganismos extraídos de fezes humanas (SALAZAR, RUAS- MADIEDO, et al., 2009). Alguns

estudos com EPS, isolado de bactérias ácido lácticas, mostraram que eles foram capazes de neutralizar o efeito de toxinas bacterianas e enteropatógenos, conferindo assim um benefício potencial para o hospedeiro (MEDRANO, et al., 2009; RUAS - MADIEDO et al., 2010). Outros benefícios atribuídos aos EPS são a atividade antitumoral e imunestimulante e efeito prebiótico (NISHIMURA - UEMURA et al., 2003; KORAKLI, GÄNZLE, & VOGEL, 2002; SALAZAR, GUEIMONDE, HERNANDEZ, RUAS-MADIEDO, & DE LOS REYES-GAVILAN, 2008).

De acordo com Marshall, Cowie e Moreton (1995) o EPS produzido pelo *Lactococcus lactis subsp. cremoris*, é composto de galactose, glicose e ramnose, possui uma massa molecular entre 1,7 e 40 kDa. Uma pesquisa de Looijesteijn et al. (2001) mostrou que os EPS produzidos por *Lactococcus lactis subsp. cremoris* NZ4010 protegem as bactérias contra vários fatores antimicrobianos, tais como os bacteriófagos, íons metálicos, nisina e lisosima. Além destas funções biológicas, os EPS de LAB tem importância tecnológica na produção de diversos produtos lácteos fermentados.

2.5 CURCUMA LONGA

A cúrcuma também é conhecida por açafrão ou gengibre dourado, é uma planta de nome científico *Curcuma longa* L., da família Zingiberaceae, nativa do sul e sudoeste asiático e extensivamente cultivada na Índia, China, Taiwan, Japão, Burma, Indonésia, e no continente Africano (SCARTEZZINI e SPERONI, 2000). A cultura foi introduzida no Brasil nos anos 1980, a planta é de cultivo fácil e apresenta a vantagem de não exigir tratamentos culturais especiais, desenvolvendo-se bem em diversas condições tropicais (SCARTEZZINI e SPERONI, 2000). A Figura 1 mostra as imagens do rizoma e do pó da cúrcuma.

É utilizada como corante em alimentos e bebidas, como condimento, como saborizante e como medicamento (MARTINS e RUSIG, 1992; MESA et al., 2000). Quanto às características sensoriais, a cúrcuma tem odor fracamente aromático, lembrando o do gengibre, sabor picante e levemente amargo (ANVISA, 2010). O interesse pela cúrcuma tem aumentado

significativamente nos últimos anos. Isto se deve ao fato de ser um produto natural e possuir características de cor semelhantes às da tartrazina, corante amarelo sintético muito utilizado na indústria alimentícia e farmacêutica, que pode provocar reações adversas ao homem (SOMASUNDARAM et al., 2002).



Rizomas de Curcuma longa



Curcuma em pó

Figura 1: Imagens da cúrcuma em forma de rizoma e em pó (HIMESH et al., 2011).

Além de ser conhecida por suas propriedades corantes e saborizantes, é bastante conhecida e explorada pela medicina asiática tradicional e tem sido utilizada há 6.000 anos pela medicina Ayurveda, na Índia, a qual emprega substâncias naturais. É usualmente utilizada no tratamento de doenças da pele, como pomada na cicatrização de feridas; distúrbios estomacais, como tônico no tratamento de úlceras; doenças do fígado; e em caso de comprometimento das vias nasais como tosses e resfriados (AMMON & WAHL, 1991). Ainda na medicina indiana, a cúrcuma tem sido utilizada como antiinflamatório, antiartrítico, regulador das funções biliares e redutor do nível de colesterol, carminativo, anti-espasmódico, antioxidante, anti-diarréico, diurético e excitante (GOVINDARAJAN, 1980; AMMON & WAHL, 1991; RAMIREZ-BOSCÁ et al., 1995; DUKE, 1997; CECÍLIO FILHO et al., 2000; GUL et al., 2004).

Através de estudos desenvolvidos utilizando extratos do rizoma da cúrcuma foram identificadas atividades antioxidante, antimicrobiana, antiinflamatória e anticancerígena (GOVINDARAJAN, 1980; RAMIREZ-TORTOSA et al., 1998; LEE et al., 2003). San Lin (1994) avaliou e constatou a eficiência de extratos de cúrcuma no tratamento de certos distúrbios

circulatórios, como angina e coágulos sangüíneos originários de traumas, de cólicas menstruais e dores relacionadas à insuficiência circulatória.

A cúrcuma também pode ser considerada como nutraceutica, principalmente pela presença de componentes fenólicos em sua composição, que exercem efeito antioxidante. O termo nutraceutico define uma ampla variedade de alimentos e componentes alimentícios com apelo médico ou de saúde. Sua ação varia do suprimento de minerais e vitaminas essenciais até a proteção contra várias doenças infecciosas (HUNGENHOLTZ e SMID, 2002). Os nutraceuticos são diferentes dos alimentos funcionais, pois enquanto que a prevenção e o tratamento de doenças (apelo médico) são relevantes aos nutraceuticos, apenas a redução do risco da doença, e não a prevenção e tratamento da doença estão envolvidos com os alimentos funcionais. Os nutraceuticos incluem suplementos dietéticos e outros tipos de alimentos, os alimentos funcionais devem estar na forma de um alimento comum (KWAK & JUKES, 2001).

Além dos efeitos antioxidantes, vários benefícios têm sido atribuídos à curcuma, incluindo atividade anticarcinogênica. Um trabalho feito por Suhasin et al. (2011), mostrou que a adição do extrato etanólico da cúrcuma nas concentrações de 0,5 a 1%, na dieta de ratos, inibiu significativamente multiplicidade de tumores, a carga tumoral e incidência de tumores, quando administrada em fase inicial dos tumores.

A curcumina, um polifenol dietético encontrado na cúrcuma, demonstrou de acordo com estudos, uma função anti-adipogênica. A curcumina inibe a síntese dos ácidos graxos, reprimindo o acúmulo de lípidos. Através da sua interação com as vias de transdução de sinais diversos, a curcumina pode inverter a resistência à insulina, hiperglicemia e outros sintomas inflamatórios associados com a obesidade e doenças metabólicas (BOAZ, 2011).

2.5.1 Compostos presentes na *Curcuma longa*

A composição dos rizomas de cúrcuma é influenciada por fatores como planta matriz, tipo de solo, clima, adubação, disponibilidade hídrica, época

de colheita (primeiro ou segundo ciclo), tempo de armazenamento, dentre outros. O amido é o componente presente em maior proporção (25 a 50%), seguido de proteína (4 a 10%), lipídeos (4 a 8), fibras e cinzas (2 a 7%) e em menor quantidade pigmentos curcuminóides e óleos essenciais (ALMEIDA, 2006; SCARTEZZINI & SPERONI, 2000; OLIVEIRA et al., 1992).

Os compostos fenólicos presentes na curcuma são denominados curcuminóides, são eles curcumina e outros dois análogos, demetoxicurcumina e bisdemetoxicurcumina (Figura 2) (ASHWINI, et al., 2011) que geralmente estão presentes nas seguintes concentrações 60%, 22% e 18%, respectivamente (GOVINDARAJAN, 1980). Os compostos presentes na cúrcuma podem ser tóxicos se ingeridos em quantidades excessivas. Sendo assim, a ingestão máxima diária aceitável para a curcumina é de 0,1mg/kg peso corporal (FAO, 2000). A Figura 2 mostra as estruturas químicas dos análogos curcuminóides.

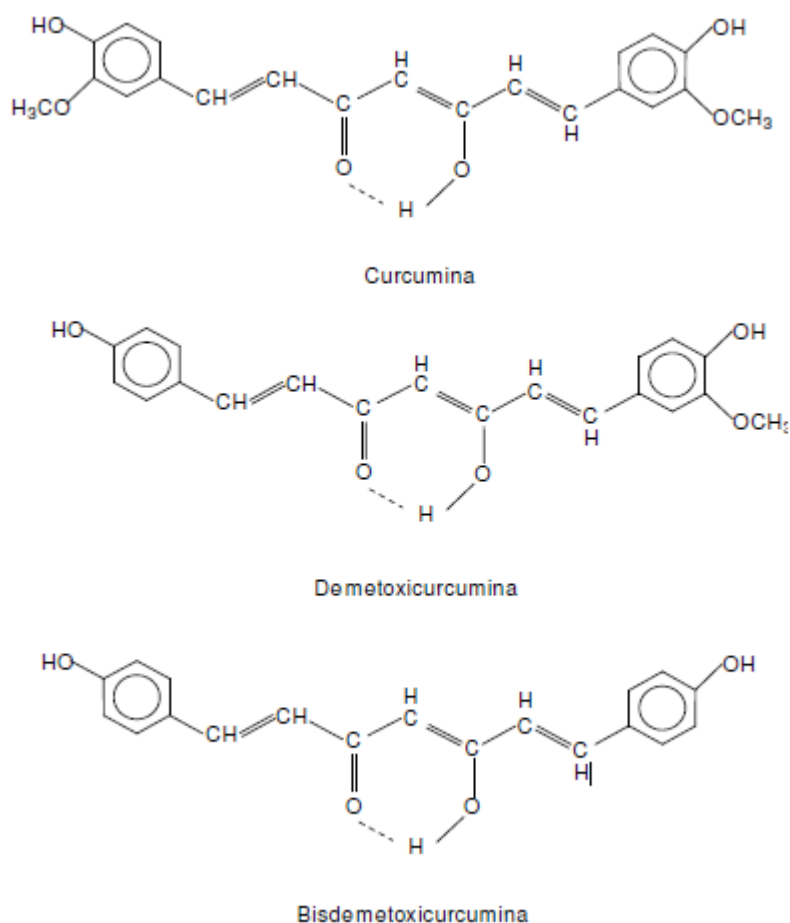


Figura 2: Estruturas químicas dos curcuminóides

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 CULTURA

Para promover a fermentação do leite foi utilizada uma cultura de viili em pó mesofílica, que segundo Dominic - Austrália continha *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* subsp. *biovar diacetylactis*, *Leuconostoc citrovorum*, *Kluyveromyces marxianus* e *Geotrichum candidum*. A cultura foi reativada por três repicagens sucessivas em leite desnatado (Molico, Néstle) reconstituído a 13% (p/v) e congelada com glicerol na proporção de 20% v/v em porções de 5mL, para inóculo nos experimentos.

3.2 CURCUMA LONGA

A cúrcuma utilizada na elaboração das formulações adicionadas de corante foi adquirida em supermercado. Na forma de pó, da mesma marca (Kirin) e mesmo lote.

Foram também realizados alguns testes com a cúrcuma branca, que foi gentilmente cedida na forma de rizoma pela Prof. Wilma A. Spinosa, proveniente do Nordeste do Brasil. Após secagem, foi moída e utilizada na forma de pó.

3.3 PRODUÇÃO DE LEITE FERMENTADO

Para a produção do leite fermentado foi utilizado leite em pó desnatado, reconstituído a 13% (p/v) em água destilada. O leite foi aquecido a uma temperatura de 95°C, em banho-maria com termoestato, durante 5 minutos, resfriado a 20°C, e inoculado com 4%(v/v) da cultura *starter* mesofílica

congelada de viili reativada em leite (FONDÉN, LEPORANTA e SVENSSON, 2006).

A fermentação do leite ocorreu em frascos de vidro de 1L a 20°C durante 24h. Foram então obtidos 6 formulações diferentes para o produto, sendo elas Ns – leite fermentado natural sem nenhuma adição, Nc – leite fermentado com adição de cúrcuma, As – leite fermentado com adição de sacarose, Ac – leite fermentado com adição de sacarose e cúrcuma, Ss – leite fermentado com adição de cloreto de sódio, Sc – leite fermentado com adição cloreto de sódio e cúrcuma.

Após a adição dos ingredientes, cúrcuma, açúcar e sal, os frascos foram resfriados até 4°C e homogeneizados por 10 min em velocidade constante.

Nas formulações com a cúrcuma, Nc, Ac e Sc a quantidade inserida ao final do processo fermentativo foi de 0,6% (m/v). Essa quantidade foi determinada de acordo com a concentração máxima de cúrcuma, como corante, permitida pela legislação brasileira em leites fermentados (BRASIL, 2000).

Para as formulações As e Ac, adicionou-se 10% (m/v) de açúcar refinado (sacarose) e para Ss e Sc, 1,3% (m/v) de sal (cloreto de sódio). O fluxograma de produção pode ser visto na Figura 3.

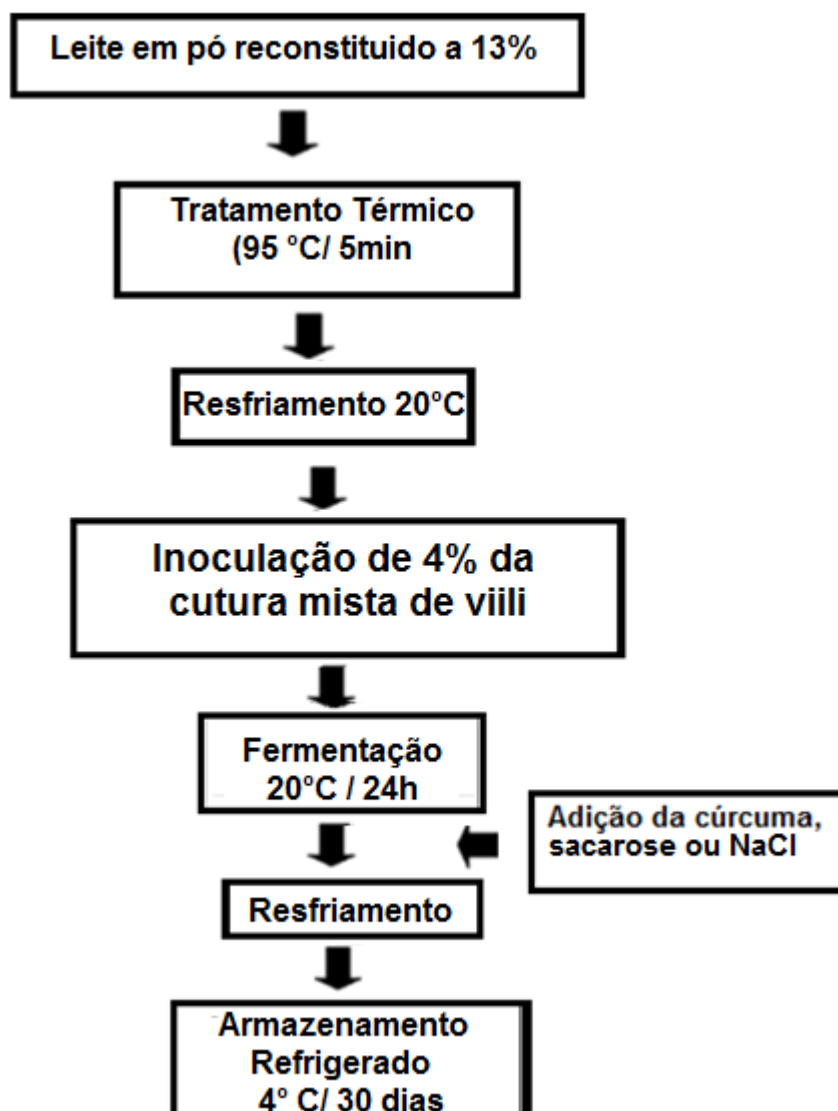


Figura 3. Produção de Leite Fermentado villi por cultura mista.

3.4 CONTAGEM DE BACTÉRIAS LÁTICAS TOTAIS

A quantificação de bactérias lácticas totais foi realizada em profundidade em ágar MRS (Man Rogosa e Sharp, pH 6,5 ± 0,2), com adição de cicloheximida (200 mg.L⁻¹), para inibição de fungos. As placas foram incubadas a 30°C por 72h, em anaerobiose. A contagem foi em UFC.mL⁻¹ do leite fermentado (IRIGOYEN, et al, 2005).

3.5 CONTAGEM DE *Lactococcus lactis*

A contagem de *Lactococcus lactis* foi realizada utilizando o meio M17 adicionado de cicloheximida ($200\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) para inibição de fungos, (pH $7,2 \pm 0,2$) com incubação a 30°C em condições anaeróbias por 48 horas, a metodologia foi realizada de acordo com Irigoyen (2005).

3.6 CONTAGEM DE FUNGOS

A contagem de fungos foi realizada meio BDA adicionado de ácido tartárico 10%, (pH $3,5 \pm 0,2$), com temperatura de incubação de 25°C , em condições aeróbicas, por 120 horas. O resultado foi expresso em $\text{UFC} \cdot \text{mL}^{-1}$ do leite fermentado (BRASIL, 2003).

3.7 DETERMINAÇÃO DA COR

A determinação da cor foi efetuada com o colorímetro digital Minolta® CR-400 (Konica Minolta Sensing, Inc.), com iluminante D65, ângulo de iluminação = 45° , ângulo de observação = 0° , observação padrão CIE 10° . Utilizando o sistema CIELAB que descreve a cor por um diagrama tridimensional, utilizando as coordenadas L^* , a^* , b^* .

3.8 VISCOSIDADE

A viscosidade das amostras foi determinada utilizando Viscosímetro digital *Brookfield*, com spindle 4, velocidade de 12rpm, em 600mL de amostra acondicionada em béquer e mantida sob refrigeração, BAÚ (2012).

3.9 ANÁLISE DE CURCUMINÓIDES

3.9.1 Cromatografia De Camada Delgada (CCD)

Os curcuminóides presentes na cúrcuma em pó e nas amostras adicionadas de cúrcuma foram determinados qualitativamente pela análise de Cromatografia de Camada Delgada. Como suporte para a fase estacionária, foi utilizada uma placa de sílica para aplicação e corrida das amostras. A fase móvel consistiu em clorofórmio, álcool etílico e ácido acético glacial, misturados na proporção de 95:5:0,5. O cromatograma obtido foi examinado sob luz ultravioleta no comprimento de onda de 365nm (ANVISA, 2010).

3.10 DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS

Para a análise dos compostos fenólicos e capacidade antioxidante a extração foi feita preparando-se uma solução com 1 grama da amostra liofilizada e adição de etanol 80% na proporção 1:10, com agitação por 20 min. A mistura foi centrifugada a 3500 rpm x 2000g. Para concentrar o extrato, foi utilizado um rotaevaporador a 70°C. Após a obtenção do concentrado, o volume foi completado com etanol 80% até 10 mL, a solução foi então armazenada a -22°C até ser utilizada. A análise seguiu metodologia descrita por Adom e Liu (2002).

A determinação dos compostos fenólicos foi realizada utilizando 2,5mL do reagente Folin-Ciocalteu 10%, 2,0mL de carbonato de sódio 7,5% e 0,5mL dos extratos das amostras. Os compostos fenólicos, foram determinados com leitura em espectrofotometro a 760 nm. A quantificação foi feita pela curva padrão de ácido gálico, os resultados foram expressos em mg equivalentes de ácido gálico/100g em base seca (SWAIN E HILLS, 1959).

3.11 DETERMINAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE: CAPACIDADE DE SEQUESTRAR RADICAIS DPPH[•].

A capacidade antioxidante foi medida pela capacidade de sequestrar radicais DPPH[•] (2,2-difenil-1-picrihidrazil; SIGMA Aldrich Chemie, Steinheim, Alemanha) seguiu a metodologia utilizada por Brand-Williams, et al., (1995). Foram adicionados 50 µL da amostra extraída em 1mL de tampão acetato (pH 5,5), 1 mL de etanol absoluto, 0,5 mL de solução de DPPH[•] 250 µmol.L⁻¹, armazenados durante 30 min na ausência de luz. Logo após foi realizada leitura em espectrofotômetro a 517nm, utilizando como branco solução de 1,0 mL de tampão acetato 100mM pH 5,5 com 1,5 mL de etanol absoluto, além de controle positivo contendo todas as soluções, exceto a amostra. A quantificação dos extratos foi feita por meio de curva padrão de Trolox (0,5 a 20 µmol/L), sendo os resultados expressos em µmol de Trolox/g da amostra.

3.12 DETERMINAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE: CAPACIDADE DE SEQUESTRAR RADICAIS ABTS^{•+}.

A análise foi realizada pelo sequestro do cátion radical ABTS^{•+} (2,2', azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico; SIGMA Aldrich Chemie, Steinheim, Alemanha) conforme método descrito por Sanches-Gonzales, et al. (2005). Uma reação entre a solução de ABTS 7mM com persulfato de potássio 2,45mM foi preparada 16h antes da análise, sendo mantido em ambiente escuro. A solução de ABTS^{•+} obtida foi diluída com fosfato de sódio até apresentar absorvância de 0,7 a 730 nm. Para a análise, 10µL do extrato da amostra foram misturados com 4,0mL da solução diluída de ABTS^{•+}. Após 6 min de reação, as leituras foram realizadas em espectrofotômetro a 730nm.

A quantificação da atividade antioxidante foi feita com base na curva padrão de Trolox, e os resultados foram expressos em µmol de Trolox/g de amostra em base seca.

3.11 COMPOSIÇÃO CENTESIMAL

A composição centesimal das amostras de leite fermentado foi determinada através de análises de lipídios, cinzas, umidade, proteína e carboidratos por diferença (AOAC, 2006).

3.12 DETERMINAÇÃO DO PH

O pH foi determinado através de potenciômetro previamente calibrado com soluções tampões comerciais pH 4,00 e 7,00, e a medida efetuada pela inserção do equipamento diretamente na amostra de leite fermentado homogeneizada.

3.13 DETERMINAÇÃO DA ACIDEZ

A acidez titulável foi determinada de acordo com a AOAC (2006). Após diluição de dez gramas de amostra em água, a solução foi completada até volume de 100mL e titulada com NaOH 0,1 N até pH 8,3. Os resultados foram expressos em percentagem de ácido láctico.

3.14 DETERMINAÇÃO DE EXOPOLISSACARÍDEOS (EPS)

Determinação de Açúcares Totais pelo Método do Fenol Sulfúrico

A quantificação de EPS foi realizada seguindo Schiavão-Souza et al. (2007), com modificações. O procedimento consistiu na pesagem de 10g das amostras em tubos de centrifuga de 50mL, adicionadas de 0,25 mL de ácido tricloroacético 80%, as amostras foram agitadas e armazenadas a 4°C por 30 minutos. Após, foram centrifugadas a 3000 rpm, por 10 minutos a 4°C. Os

sobrenadantes obtidos foram separados e os EPS foram precipitados pela adição de etanol a frio. Os EPS foram separados por meio de uma nova centrifugação, com as mesmas condições anteriores.

Os carboidratos totais foram determinados com o precipitado obtido diluído em 2mL de água destilada, 1mL do precipitado diluído foi adicionado a 1mL de fenol 5% mais 5 mL de ácido sulfúrico concentrado. Os tubos foram deixados em repouso por 10 minutos e em seguida levados para aquecimento em banho-maria a 30°C por 20 minutos. Após este procedimento foi realizada leitura em espectrofotômetro a 490nm. Os carboidratos totais foram determinados a partir da curva de calibração da glicose em concentrações de 10 a 100 µg/mL.

3.15 CONDIÇÕES HIGIÊNICO-SANITÁRIAS DAS AMOSTRAS

As análises microbiológicas dos leites fermentados com cultura de *villi* foram realizadas em triplicata, como critério higiênico-sanitário previo para a análise sensorial. Foram considerados os padrões exigidos na legislação para leites fermentados RDC n°12, de 2 de janeiro de 2001, com análise referente a Contagem de Coliformes a 45°C (BRASIL, 2001).

3.16 ANÁLISE SENSORIAL

O projeto foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos (Processo n° 117. 625 de 08/12/2012) da Universidade Estadual de Londrina.

As formulações de leite fermentado foram previamente avaliadas microbiologicamente para assegurar que os níveis de patógenos estivessem abaixo do padrão estabelecido pela legislação vigente (BRASIL, 2001).

Dois produtos foram submetidos ao teste, os com adição de 10% de açúcar em suas formulações (As e Ac) foram apresentados na forma de leite fermentado, servidos em copos plásticos contendo 30ml das amostras e consumidos com colher plástica. As formulações com 1,3% de sal (Ss e Sc) foram servidas aos provadores na forma de molho para salada, em pratos plásticos com 10g de alface e 20ml do produto.

Um teste sensorial foi realizado para cada produto, o adicionado de sacarose, leite fermentado, contou com a participação de 99 julgadores (consumidores potenciais) e o adicionado de cloreto de sódio, molho para salada contou com 74 para avaliar atributos do produto. Os julgadores foram instruídos a apontarem o quanto gostaram ou desgostaram dos produtos em relação aos atributos de cor, aroma, textura, sabor e aceitação global, por meio de uma escala hedônica de nove pontos estruturados variando de “Desgostei Extremamente (1)” a “Gostei Extremamente (9)” (STONE e SIDEL, 2004). Também foi solicitado aos julgadores que indicassem a intenção de compra do produto, por meio de uma escala de sete pontos variando de “Certamente não Compraria (1)” a “Certamente Compraria (7)” (STONE e SIDEL, 2004).

As avaliações sensoriais das formulações de leite fermentado foram realizadas, em cabines individuais, com luz branca, refrigeradas a $10 \pm 2^{\circ}\text{C}$ e codificadas com números aleatórios de três dígitos.

As fichas referentes à coleta de dados do provador e o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido encontram-se, respectivamente, nos Anexo 1 e 2. As fichas utilizadas para o Teste de Aceitação e Intenção de Compra encontram-se no Anexo 3.

3.17 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

As análises físicas, químicas e microbiológicas, seguiram o delineamento inteiramente casualizado. As análises foram realizadas em triplicata genuína, os resultados foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA) e teste de Tukey, para para comparação de médias no nível de 5% de significância. Para a análise sensorial o delineamento foi blocos completos

casualizados, onde os tratamentos foram as formulações e os blocos os provadores. Os resultados foram submetidos à ANOVA e Teste de Tukey.

4 Resultados e Discussão

4.1 TEOR DE CURCUMINÓIDES

A análise qualitativa durante 1°, 15° e 30° dia foi realizada em amostras de leite fermentado adicionadas de 0,6% (m/v) de cúrcuma e mantidas sob refrigeração a 4°C.

Os 3 principais curcuminóides presentes na cúrcuma amarela e que contribuem para suas propriedades funcionais são: a curcumina, demetoxi curcumina e bisdemetoxicurcumina (ASHWINI, et al., 2011).

A Cúrcuma branca também foi utilizada porém em testes preliminares o produto viili apresentou um sabor amargo descartando-se a possibilidade de emprega-lá. Para comparações, os curcuminóides presentes na curcuma branca foram também analisados qualitativamente por CCD.

A partir de um cromatograma em camada delgada em placa de sílica e com leitura sob luz ultravioleta no comprimento de onda de 365nm, foi possível observar e comparar as bandas dos componentes na cúrcuma amarela em pó e aquelas presentes nas amostras.

Na Figura 4 pode-se verificar para a cúrcuma em pó em três bandas bem distintas.

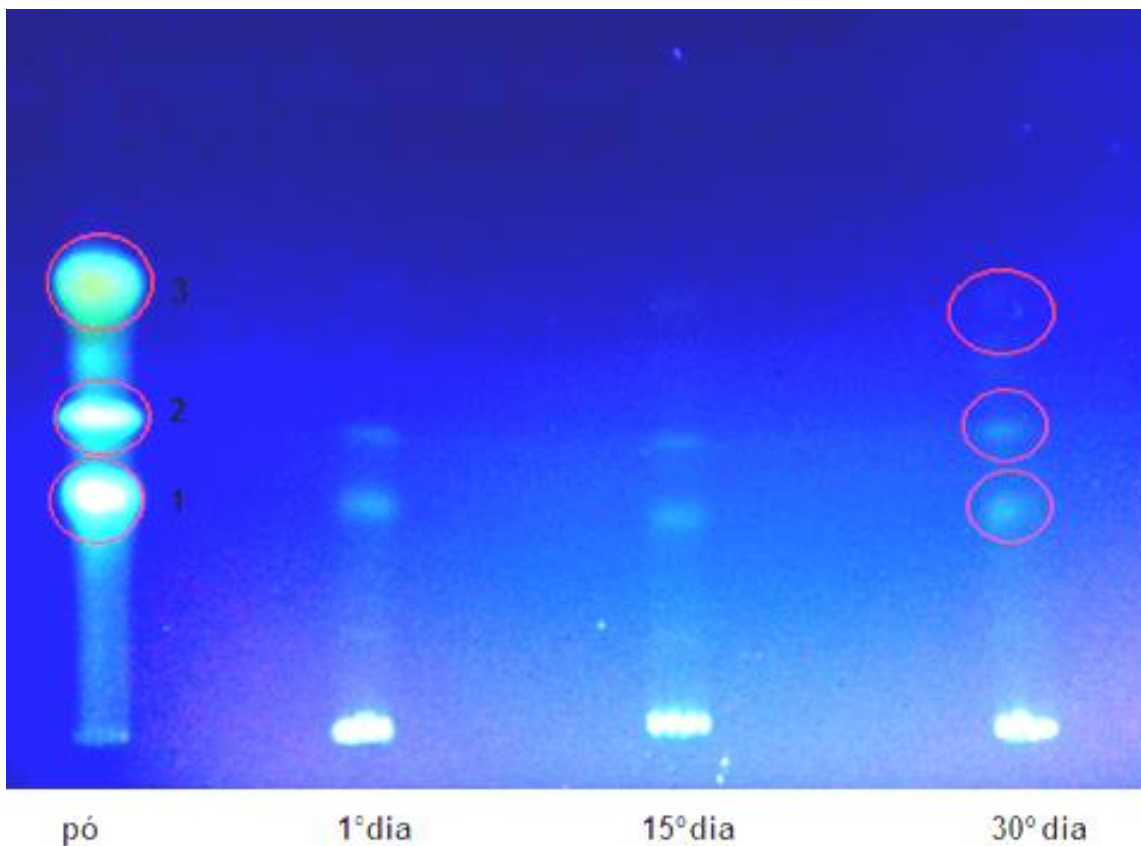


Figura 4: Curcuminóides presentes na cúrcuma amarela em pó e nas amostras de leite fermentado adicionado de cúrcuma ao longo dos 30 dias de armazenamento. Bisdemetoxicurcumina, ponto 1; demetoxicurcumina, ponto 2; curcumina, ponto 3.

Quando examinado sob luz ultravioleta (365 nm), a cúrcuma em pó apresentou na parte mediana da placa de sílica, uma mancha verde fluorescente, que correspondente à demetoxicurcumina, correspondente na figura ao ponto 2. No terço superior observou-se a mancha referente à curcumina, ponto 3, também de coloração verde fluorescente e no terço inferior, a mancha com a mesma coloração das anteriores referente à bisdemetoxicurcumina, ponto 1. As bandas fluorescentes que aparecem na figura antes do ponto 1, são os locais de aplicação das amostras (ANVISA, 2010).

Após leitura da placa sob luz UV, os cálculos do Fator de Retenção (Rf) foram realizados em cada um dos pontos para certificar se cada um dos picos pertencia de fato aos compostos acima citados. A partir das descrições de identificação e do cálculo de Rf para curcuminóides fornecidos pela Farmacopéia Brasileira (ANVISA, 2010), verificou-se a presença dos 3 principais

curcuminóides na cúrcuma amarela utilizada para as formulações de leite fermentado. A análise permitiu também observar que os 3 compostos não se degradaram ou sofreram alterações ao longo dos 30 dias de estocagem.

Na Figura 5 pode-se observar diferenças nas bandas entre a cúrcuma branca e a amarela.

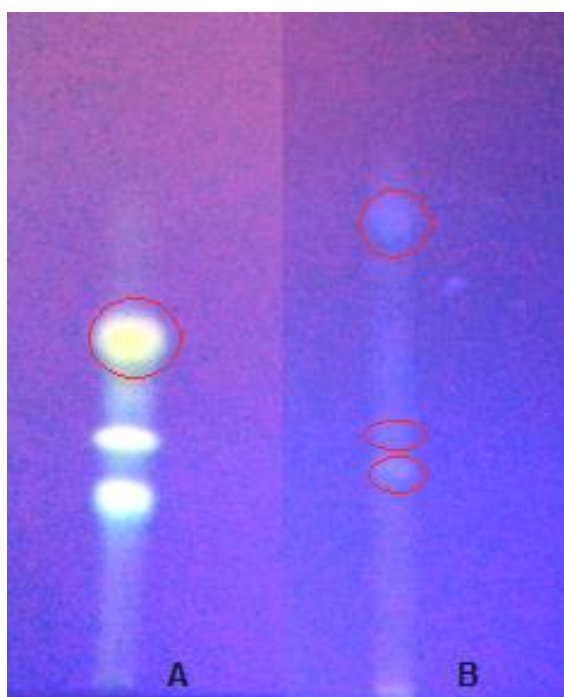


Figura 5: Curcuminóides presentes na cúrcuma amarela (A) e na cúrcuma branca (B)

4.2 CONTAGEM DE BACTÉRIAS LÁTICAS TOTAIS E *LACTOCOCCUS LACTIS*

Na Tabela 1 estão apresentados os resultados durante o 1º, 15º e 30º dia de armazenamento para contagem de bactérias lácticas totais e *Lactococcus lactis* nas 6 formulações testadas. De acordo com a legislação brasileira (BRASIL 2007), uma contagem entre 10^8 e 10^9 UFC na porção diária, que corresponde a um valor mínimo de 6 a 7 log UFC.mL⁻¹, deve ser encontrada nos produtos com alegação probiótica. Todas as formulações apresentaram resultados acima do estipulado pela Anvisa, durante os 30 dias de

armazenamento e, portanto, pode ser feita a alegação de que contém probióticos.

A análise para fungos também foi realizada neste trabalho, embora o *Geotrichum candidum* estivesse descrito na embalagem da cultura, como um dos microrganismos constituintes, em nenhum dos tratamentos identificou-se a presença do fungo, que em vili tradicional cresce na superfície do produto e forma uma cobertura aveludada, há porém também um tipo de vili sem o fungo (LEPORANTA, 2003). A ausência desse microrganismo provavelmente foi devida à forma de fermentação, pois o leite pasteurizado e inoculado com a cultura mista de vili foi fermentado em frascos fechados de 1L, o que resultou em uma reduzida superfície de contato e limitação de oxigênio, essencial para o desenvolvimento dos fungos.

Para obter o crescimento do *Geotrichum candidum* a fermentação do leite deveria ter sido conduzida em recipientes com ampla superfície de contato com o oxigênio, cobertos apenas por uma tela, ou tecido, para permitir a oxigenação, porém com risco de contaminação por outros microrganismos.

Como o produto apresenta características bastante peculiares e às quais o consumidor brasileiro não está familiarizado, como elevada acidez e alta viscosidade, a ausência da camada superficial com fungos, foi benéfica para uma melhor aceitação do leite fermentado, já que, segundo a literatura, a presença do *Geotrichum candidum* resultaria em um gosto amargo no produto (LIU, et al., 2010).

Tabela 1 – Contagem de Bactérias lácticas e *Lactococcus lactis*, das seis formulações, ao longo de 30 dias de armazenamento. *

Formulações**	Tempo (dias)	Bactérias lácticas (log UFC. mL ⁻¹)	<i>Lactococcus lactis</i> (log UFC. mL ⁻¹)
Ns	1	9,18±0,100 ^a	9,32±0,019 ^a
	15	9,08±0,030 ^a	9,00±0,116 ^{abc}
	30	9,04±0,013 ^{ab}	9,11±0,023 ^{abcd}
Nc	1	9,30±0,140 ^a	9,30±0,179 ^a
	15	8,70±0,013 ^b	9,18±0,014 ^{abc}
	30	8,30±0,020 ^c	8,72±0,012 ^e
As	1	9,08±0,012 ^a	9,23±0,020 ^a
	15	8,80±0,230 ^{bc}	9,20±0,013 ^{ab}
	30	8,30±0,114 ^c	8,96±0,049 ^{de}
Ac	1	9,28±0,079 ^a	9,30±0,133 ^a
	15	9,00±0,013 ^{ab}	9,00±0,026 ^{bcd}
	30	9,00±0,020 ^{ab}	9,30±0,016 ^a
Ss	1	9,15±0,051 ^a	9,11±0,014 ^a
	15	8,70±0,042 ^b	9,18±0,013 ^{abc}
	30	8,41±0,020 ^{bc}	8,87 ±0,166 ^e
Sc	1	9,15±0,023 ^a	9,30±0,024 ^a
	15	9,60±0,002 ^a	9,00±0,003 ^{abc}
	30	8,48±0,001 ^{bc}	8,85±0,079 ^d

* Médias na mesma coluna acompanhadas de letras minúsculas iguais não diferem entre si a nível de $p \leq 0,05$. Contagens de *Lactococcus lactis* em M17 pH 7,2 ± 0,2 a 30°C por 48 horas, as bactérias lácticas totais em MRS pH 6,5 ± 0,2 a 30°C por 72h, ambos adicionados de cicloheximida (200mg L⁻¹) com contagens sob condições anaeróbias.

** Formulações Ns (leite fermentado puro), Nc (leite fermentado adicionado de 0,6 %cúrcuma), As (leite fermentado adicionado de 10%açúcar), Ac (leite fermentado adicionado de 10% açúcar e cúrcuma), Ss(leite fermentado adicionado de 1,3% sal), Sc (leite fermentado adicionado de sal e cúrcuma).

Após fermentação, no primeiro dia de armazenamento todas as amostras apresentaram contagens de bactérias lácticas totais e *Lactococcus lactis* próximas a 10⁹ UFC.mL⁻¹, no entanto ao longo dos 30 dias de armazenamento esse valor foi reduzido nas amostras Nc, As, Ss e Sc.

As formulações Ns e Ac, mantiveram as contagens em 9 log UFC.mL⁻¹, até o último dia de armazenamento. A manutenção do número inicial de microrganismos, nas amostras de viili puro, adicionado somente de cúrcuma e adicionado de açúcar e cúrcuma, provavelmente ocorreu pois estas formulações apresentaram condições mais favoráveis para a manutenção das bactérias. De acordo com Donkor, et al. (2006) a presença de inibidores, como cloreto de sódio, sacarose, peróxido de hidrogênio, metabólitos, nutrientes e tamponantes, são fatores que afetam a sobrevivência do microrganismo ao longo do armazenamento.

Em um estudo realizado por Mortazavi, et al.(2012), o crescimento médio de *Lactococcus lactis* em leites fermentados com cultura de Viili foi de 8,39 log UFC.mL⁻¹, 5 dias após a fermentação. De acordo com o relatado, a

contagem destes microrganismos diminuiu significativamente até o 15º dia de estocagem o que não aconteceu no presente estudo.

4.3 COMPOSIÇÃO CENTESIMAL

A composição centesimal dos leites fermentados está apresentada na Tabela 2 e de acordo com os resultados, apresentou-se estável durante o armazenamento à 4°C para uma mesma formulação, não apresentando diferença significativa a um nível de 5% de significância ao longo dos 30 dias.

A percentagem de umidade entre as diferentes formulações apresentou diferença significativa variando entre 85,00 e 90,16%, sendo que o produto sem nenhum aditivo apresentou a maior umidade, e aquele adicionado de cúrcuma e açúcar a menor. Com os valores apresentados verifica-se que à medida em que se adiciona outros componentes ao leite fermentado sua umidade diminui, devido à maior quantidade de sólidos totais que estes apresentam.

Os valores de umidade encontrados nas amostras Ns, Nc, As e Ac, estão de acordo com a literatura. Janiaski (2011) encontrou para marcas comerciais de iogurte desnatado valores entre 80,00 e 92,17%.

Tabela 2 – Composição química dos leites fermentados viili (base úmida)* das seis formulações, ao longo de 30 dias de armazenamento.

Formulações**	Tempo (dias)	Umidade (g.100g ⁻¹)	Cinzas (g.100g ⁻¹)	Proteína (g.100g ⁻¹)	Lipídeos (g.100g ⁻¹)	Carboidratos (g.100g ⁻¹)
Ns	1	90,16±0,00 ^a	0,83±0,05 ^d	3,10±0,04 ^d	0,05±0,04 ^a	05,86
	15	90,10±0,01 ^{ab}	0,80±0,01 ^{de}	3,12±0,05 ^d	0,05±0,02 ^a	05,93
	30	89,98±0,05 ^{ab}	0,81±0,04 ^{de}	3,20±0,05 ^{cd}	0,03±0,00 ^a	05,98
Nc	1	89,92±0,04 ^c	0,86±0,01 ^d	3,72±0,03 ^a	0,08±0,01 ^a	05,42
	15	89,88±0,05 ^c	0,85±0,05 ^d	3,73±0,07 ^a	0,03±0,04 ^a	05,51
	30	89,90±0,01 ^c	0,86±0,03 ^d	3,70±0,04 ^a	0,02±0,03 ^a	05,52
As	1	85,40±0,01 ^e	0,70±0,05 ^f	3,06±0,01 ^d	0,04±0,03 ^a	10,80
	15	86,00±0,04 ^e	0,68±0,03 ^f	3,10±0,05 ^d	0,02±0,01 ^a	10,20
	30	85,39±0,03 ^e	0,72±0,04 ^f	3,90±0,07 ^a	0,02±0,01 ^a	10,83
Ac	1	85,51±0,01 ^e	0,79±0,01 ^{de}	3,71±0,04 ^a	0,03±0,02 ^a	12,66
	15	85,50±0,03 ^e	0,80±0,00 ^{de}	3,80±0,09 ^a	0,05±0,02 ^a	12,65
	30	85,00±0,02 ^e	0,82±0,05 ^{de}	3,50±0,02 ^a	0,05±0,03 ^a	12,63
Ss	1	87,10±0,03 ^d	1,96±0,01 ^{bc}	3,40±0,03 ^b	0,01±0,00 ^a	07,55
	15	86,92±0,02 ^d	1,90±0,03 ^c	3,33±0,03 ^{bc}	0,03±0,01 ^a	07,82
	30	87,30±0,02 ^d	1,95±0,04 ^{bc}	3,20±0,05 ^{bc}	0,01±0,00 ^a	07,54
Sc	1	85,28±0,04 ^f	2,32±0,05 ^a	3,76±0,05 ^a	0,04±0,02 ^a	09,10
	15	85,30±0,03 ^f	2,05±0,05 ^{ab}	3,90±0,02 ^a	0,04±0,03 ^a	09,41
	30	85,19±0,04 ^f	2,10±0,05 ^a	3,74±0,01 ^a	0,03±0,01 ^a	09,44

* Médias na mesma coluna acompanhadas de letras minúsculas iguais não diferem entre si a um $p \leq 0,05$.

** Formulações Ns (leite fermentado puro), Nc (leite fermentado adicionado de 0,6 %cúrcuma), As (leite fermentado adicionado de 10%açúcar), Ac (leite fermentado adicionado de 10% açúcar e cúrcuma), Ss(leite fermentado adicionado de 1,3% sal), Sc (leite fermentado adicionado de sal e cúrcuma).

Como esperado, as amostras adicionadas de cúrcuma apresentaram o maior valor de proteínas e as com adição de sacarose, o maior teor de carboidratos.

Os valores de cinzas variaram de 0,68 a 2,32%, para as amostras com adição de açúcar e com sal e cúrcuma respectivamente. Para a amostra do produto puro, o teor de cinzas foi de 0,83%, valor este próximo a 0,88%, encontrado por Guven et. al. (2005) e diferente do encontrado por Pimentel (2009), que obteve 1,3% de cinzas, ambos para iogurtes elaborados com leite em pó desnatado.

A variação encontrada no teor proteico de 3,06 e 3,9%, está dentro dos valores encontrados na literatura. Para Thamer e Penna (2006) o teor de proteínas em bebidas lácteas fermentadas por probióticos variou entre 1,93% e 2,46%. De acordo com Cunha et al. 2008, o valor encontrado para proteína foi de 2,8 % em leite fermentado adicionado de probióticos.

4.4 COR DAS FORMULAÇÕES

Na Tabela 3 encontram-se os resultados das diferentes formulações do leite fermentado com e sem adição de cúrcuma para os parâmetros de cor no sistema CIELAB (L^* , a^* e b^*). As amostras sem a adição de cúrcuma na formulação apresentaram em média para o parâmetro L^* valores de 79,10; 80,92 e 81,50 respectivamente para as amostras Ns (leite fermentado puro), As (leite fermentado adicionado de açúcar) e Ss (leite fermentado adicionado de sal), sendo estas amostras mais claras quando comparadas às amostras Nc (leite fermentado com adição de cúrcuma), Ac (leite fermentado com açúcar e cúrcuma) e Sc (leite fermentado com sal e cúrcuma) que tiveram adição de cúrcuma em sua formulação tendo em média para L^* valores de 75,52; 77,57 e 77,90, respectivamente. De acordo com Rein e Heinonen (2004), o aumento de pigmentos ocasiona uma diminuição na luminosidade, fato que pode ser observado quando compara-se os valores de L^* para as formulações que tiveram adição de curcuma, existindo uma redução nos valores para o parâmetro L^* , sendo assim mais escuras.

Em relação aos parâmetros a^* (vermelho (+) e (-) verde) e b^* (amarelo (+) e (-) azul), observa-se que todas formulações apresentaram valores negativos para o parâmetro a^* e positivos para b^* , ou seja, todas as formulações possuem coloração verde-amarelada, existindo diferenças em suas intensidades. Para as amostras sem adição de cúrcuma (Ns, As e Ss) os valores de a^* e b^* são inferiores àqueles das formulações com adição de cúrcuma (Nc, Ac e Sc), tendo em média apresentado valores respectivamente para a^* e b^* de -3,21 e 6,36 na formulações sem curcuma e -8,85 e 39,81 para as formulações contendo cúrcuma. Essas diferenças são resultados da presença da cúrcuma, que possui curcumina (CC) e outros dois compostos metoxilados (DMC e BDMC), sendo estes os compostos que conferem coloração amarela característica da cúrcuma e por isso são muito utilizados como agente de cor e condimento em alimentos. Segundo Volp, Renhe e Stringheta (2009), a curcumina apresenta coloração amarelo-limão em condições ácidas, o que é possível observar nas amostras contendo cúrcuma, que apresentaram valores mais baixos para a^* e mais elevados para b^* .

Tabela 3 – Parâmetros de cor para as seis formulações, ao longo de 30 dias de armazenamento.

Formulações***	Tempo (dias)	Parâmetros**		
		L*	a*	b*
Ns	1	80,76± 0,005 ^b	-3,16± 0,000 ^{bc}	6,40±0,049 ^l
	15	78,40± 0,255 ^d	-3,20± 0,041 ^{bc}	7,35±0,020 ^{lj}
	30	78,14± 0,240 ^d	-3,59± 0,010 ^d	7,08±0,534 ^{jk}
Nc	1	76,22± 0,060 ^e	-7,32± 0,000 ^{ef}	34,3 ±0,429 ^g
	15	74,80± 0,540 ^g	-8,27± 0,055 ^{ef}	45,87±2,321 ^a
	30	75,55± 0,518 ^g	-10,09± 0,213 ^e	39,73±0,040 ^e
As	1	79,43± 0,439 ^c	-3,08± 0,005 ^b	6,20±0,020 ^l
	15	81,62± 0,395 ^b	-3,28± 0,005 ^c	5,13±0,035 ^m
	30	81,72± 0,185 ^b	-2,91± 0,041 ^a	6,05±0,212 ^l
Ac	1	76,71± 0,298 ^e	-8,82 ± 0,055 ^h	38,17± 0,043 ^f
	15	77,78± 0,087 ^d	-9,51 ± 0,030 ^j	41,09± 0,06 ^c
	30	78,23± 0,113 ^d	-9,38± 0,0115 ^j	40,52± 0,041 ^d
Ss	1	81,64± 0,353 ^b	-3,21± 0,005 ^{bc}	7,59± 0,081 ⁱ
	15	79,66± 0,199 ^c	-3,26± 0,015 ^{bc}	4,72± 0,045 ^m
	30	83,22± 0,191 ^a	-3,27 ± 0,028 ^{bc}	6,80± 0,313 ^k
Sc	1	78,77± 0,456 ^d	-8,45 ± 0,056 ^{fg}	37,31± 0,073 ^g
	15	76,59± 0,274 ^e	-9,20± 0,028 ^g	39,69± 0,171 ^e
	30	78,34± 0,456 ^d	-8,62 ± 0,066 ⁱ	41,68± 0,015 ^b

* Médias na mesma coluna acompanhadas de letras minúsculas iguais não diferem entre si a um $p \leq 0,05$.

** Parâmetros L* preto (0) – branco (100), a* vermelho (+) – verde (-), b* amarelo (+) azul (-).

*** Formulações Ns (leite fermentado puro), Nc (leite fermentado adicionado de 0,6 %cúrcuma), As (leite fermentado adicionado de 10%açúcar), Ac (leite fermentado adicionado de 10% açúcar e cúrcuma), Ss(leite fermentado adicionado de 1,3% sal), Sc (leite fermentado adicionado de sal e cúrcuma).

Almeida (2006) avaliou em seu trabalho os parâmetros dos três diferentes curcuminóides nos parâmetros de cor (Quadro I). Neste trabalho é possível verificar que cada curcuminóide contribui de forma específica nos parâmetros L*, a* e b*, ou seja, apesar de não ser possível a diferenciação no presente trabalho das frações de curcuminóides, é possível concluir que a cor apresentada pelas formulações contendo cúrcuma não se deve exclusivamente à sua adição, mas também à concentração de cada fração de curcuminóides, existindo assim, diferença ao longo do armazenamento por possíveis variações destas frações.

Parâmetros**	Curcuminóides		
	C	DMC	BDMC
L*	72,84 ^b	72,15 ^b	81,54 ^a
a*	16,84 ^a	1,96 ^b	- 4,72 ^c
b*	110,06 ^a	82,73 ^b	49,44 ^c

Quadro I: Valores de L* a* b* para cada um dos pigmentos curcuminóides.** Parâmetros L* preto (0) – branco (100), a* vermelho (+) – verde (-), b* amarelo (+) azul (-). C = curcuma; DMC = demetoxicurcumina; BDMC = bisdemetoxicurcumina (Almeida, 2006).

4.5 pH E ACIDEZ DAS FORMULAÇÕES

Após a fermentação o viili possui como características o pH de 4,43 e um teor de acidez de 0,9% (VASILJEVIC E SHAH, 2008; LEPORANTA, 2003). Os valores encontrados para o pH das amostras no primeiro dia de armazenamento variaram de 4,41 para a amostra de viili puro, sem nenhuma adição, a 4,58 para a amostra com adição de sal (Tabela 4). Devido ao acúmulo de ácido láctico ao longo do armazenamento, após 30 dias, os valores obtidos para o pH das amostras apresentaram redução significativa.

No trabalho de Thamer e Penna (2006), o pH de bebidas lácteas probióticas, fermentadas com leite em pó desnatado, variou entre 4,72 e 4,83. Gallina et al. (2011), encontrou valores entre 4,38 e 4,13 ao analisar leite fermentado com cultura probiótica ao longo de 28 dias de armazenamento.

Tabela 4 – pH e acidez das seis formulações, ao longo de 30 dias de armazenamento*.

Formulações**	Tempo (dias)	pH	Acidez (g de ácido láctico.100.mL ⁻¹)
Ns	1	4,43±0,008 cde	0,93±0,011 g
	15	4,00±0,060 f	1,26±0,005 ab
	30	3,94±0,005 f	1,24±0,031 abc
Nc	1	4,41±0,004 e	1,00±0,006 efg
	15	4,00±0,016 f	1,24±0,040 abc
	30	3,99±0,033 f	1,30±0,001 a
As	1	4,52±0,014 abcd	0,94±0,004 g
	15	4,42±0,008 de	0,96±0,001 fg
	30	4,50±0,007 abcd	1,10±0,050 de
Ac	1	4,50±0,005 abc	1,00±0,013 def
	15	4,49±0,016 bcd	1,16±0,001 bcd
	30	4,51±0,001 abcd	1,14±0,014 cd
Ss	1	4,58±0,004 ab	0,98±0,008 fg
	15	4,40±0,001 de	0,90±0,011 g
	30	4,61±0,002 a	1,23±0,002 ab
Sc	1	4,50±0,003 ab	1,01±0,061 efg
	15	4,44±0,002 cde	1,12±0,003 de
	30	4,58±0,014 ab	1,40±0,012 a

* Médias na mesma coluna acompanhadas de letras minúsculas iguais não diferem entre si a um $p \leq 0,05$.

** Formulações Ns (leite fermentado puro), Nc (leite fermentado adicionado de 0,6 %cúrcuma), As (leite fermentado adicionado de 10%açúcar), Ac (leite fermentado adicionado de 10% açúcar e cúrcuma), Ss(leite fermentado adicionado de 1,3% sal), Sc (leite fermentado adicionado de sal e cúrcuma).

Os produtos apresentaram uma variação de acidez entre 0,90 e 1,4% de ácido láctico durante o armazenamento. Os valores encontrados estão dentro daqueles estabelecidos pela legislação vigente, que determina valor mínimo de 0,6 e máximo de 1,5 g de ácido láctico/100mL de leite fermentado (BRASIL, 2000).

O aumento da acidez e decréscimo no valor do pH pode ser justificado pelo acúmulo de ácido láctico, pois mesmo após a fermentação, sob armazenamento refrigerado as bactérias fermentadoras hidrolisam a lactose (IRIGOYEN, 2005).

Nas amostras com cúrcuma, mesmo que adicionada em uma pequena quantidade, 0,6%, ocorreu um ligeiro aumento na acidez.

A acidez encontrada por Ramírez-Sucre, et. al. (2013) em iogurtes com características probióticas variou de 0,45 até 0,63 g.100mL⁻¹. Celik et al. (2006) encontrou em iogurtes valores que variaram entre 0,80 e 0,93 g.100mL⁻¹, enquanto Soukolis et al. (2007) ao analisar iogurtes de marcas comerciais obtiveram valores de acidez de 0,90 a 0,95 g de ácido láctico em 100 mL.

4.6 COMPOSTOS FENÓLICOS E CAPACIDADE ANTIOXIDANTE

A grande quantidade de compostos fenólicos presentes na cúrcuma pode ser observada na Tabela 5. Pelo aumento significativo dos fenólicos totais nas amostras com a adição do pó, mesmo que em pequena quantidade (0,6%). Para os compostos fenólicos totais as amostras sem a adição da cúrcuma: Ns, As, Ss, apresentaram variação de 66,15 a 92,39 mg equivalentes de ácido gálico 100g⁻¹. As amostras com adição da cúrcuma em pó variaram entre 90,79 a 130,88 mg equivalentes de ácido gálico 100g⁻¹.

As propriedades benéficas da *Curcuma longa* têm sido atribuídas aos curcuminóides, que são um grupo de compostos fenólicos composto principalmente de curcumina (59%), demetoxicurcumina(29%) e bisdemetoxicurcumina(12%). De acordo com a literatura, a *Curcuma longa* apresenta um alto teor de compostos fenólicos totais, o rizoma da cúrcuma pode conter de 4 a 8 mg.100g⁻¹ de pigmentos curcuminóides. Em alguns casos a concentração de pigmentos curcuminóides pode chegar até 11,80 mg.100g⁻¹. As variações podem ser devidas a vários fatores como, diferentes variedades ou cultivares, período do desenvolvimento do bulbo e às práticas culturais (MATHAI, 1976; ALMEIDA, 2006; HIMESH, 2011).

Tabela 5 – Resultados para compostos fenólicos totais e capacidade de sequestrar radicais antioxidantes, das seis formulações, ao longo de 30 dias de armazenamento, expressos em base seca*.

Formulações**	Tempo (dias)	Fenólicos Totais (mg EAG.100g ⁻¹)	ABTS+ (µmol de Trolox.g ⁻¹)	DPPH (µmol de Trolox.g ⁻¹)
Ns	1	68,61 ±0,100 ^{hi}	2,23±0,019 ^e	0,55±0,071 ^{def}
	15	85,28 ±0,030 ^h	1,90±0,116 ^e	1,18±0,020 ^{def}
	30	77,74 ±0,013 ^{gh}	2,57±0,023 ^{cde}	1,57±0,000 ^{cdef}
Nc	1	105,42±0,140 ^{cd}	4,04±0,179 ^{ab}	3,31±0,061 ^{abcdef}
	15	114,18±0,013 ^{bc}	3,73±0,014 ^{ab}	3,45±0,001 ^{abcd}
	30	116,56±0,020 ^{bc}	3,62±0,012 ^{bcd}	3,04±0,001 ^{ab}
As	1	66,56±0,012 ⁱ	1,94±0,020 ^e	0,11±0,007 ^a
	15	66,15±0,230 ⁱ	1,75±0,013 ^e	1,29±0,001 ^{abc}
	30	75,37±0,114 ^{hi}	2,41±0,049 ^{ed}	1,19±0,045 ^{abc}
Ac	1	91,65±0,079 ^{ef}	3,51±0,133 ^{bd}	2,28±0,031 ^f
	15	91,79±0,013 ^{ef}	3,85±0,026 ^b	2,12±0,003 ^{def}
	30	98,08±0,020 ^{ed}	3,92±0,016 ^b	0,25±0,031 ^{bcdef}
Ss	1	68,96±0,051 ^{hi}	2,59±0,014 ^{cde}	1,00±0,033 ^{acdef}
	15	83,35±0,042 ^{fg}	3,48±0,013 ^{bcd}	1,10±0,006 ^{abcdef}
	30	92,39±0,020 ^{fe}	3,85±0,166 ^b	1,37±0,009 ^{abcde}
Sc	1	114,51±0,023 ^b	4,28±0,024 ^{ab}	2,82±0,001 ^{abcdef}
	15	130,88±0,002 ^a	5,25±0,003 ^a	2,61±0,050 ^{cdef}
	30	129,62±0,001 ^a	4,14±0,079 ^{ab}	2,61±0,008 ^{ef}

* Médias na mesma coluna acompanhadas de letras minúsculas iguais não diferem entre si a um $p \leq 0,05$.

** Formulações: Ns (leite fermentado puro), Nc (leite fermentado adicionado de cúrcuma – 0,6%(m/v), As (leite fermentado adicionado de açúcar- 10% (m/v), Ac (leite fermentado adicionado de açúcar10% (m/v) e cúrcuma0,6%(m/v), Ss (leite fermentado adicionado de sal(1,3%(m/v), Sc (leite fermentado adicionado de sal1,3%(m/v) e cúrcuma).

Os compostos fenólicos também estão presentes nas formulações de viili sem a adição da cúrcuma. A ocorrência de compostos fenólicos em leite e produtos lácteos pode ser uma consequência de vários fatores, como por exemplo, o consumo de determinadas culturas forrageiras pelo gado, o catabolismo de proteínas por bactérias, a contaminação com agentes saneantes, incorporação induzida por processo ou a sua adição deliberada (O'CONNELL & FOX, 2001).

4.7 EXOPOLISSACARÍDEOS (EPS)

As Tabelas 6 e 7 contêm os resultados obtidos para glicose e uma estimativa das frações dos açúcares dos exopolissacarídeos do viili e EPS total nas amostras avaliadas durante 30 dias de armazenamento.

Neste estudo foram encontrados para as 6 formulações de viili analisadas, diferentes valores referentes à quantidade de EPS produzidos. Entre as amostras sem adição de açúcar as menores quantidades de EPS foram encontrados em Ns e Nc, com 75,71 e 74,48 mg/ L e as maiores para Ss e Sc com 90,46 e 93,19mg/L respectivamente. Para Ramos et al. (2001) e Dabour et al. (2005), para algumas cepas de Bactérias Ácido Lácticas produtoras de EPS, como as de *Lactococcus*, através de variações nas condições fisiológicas pode-se aumentar a biossíntese do EPS.

Tabela 6– Resultados da análise de glicose realizada pelo método Fenol-Sulfúrico, das seis formulações, ao longo de 30 dias de armazenamento, expressos em base seca*.

Formulações**	Tempo (dias)	Fenol-Sulfúrico glicose (mg/ L)
Ns	1	32,27±0,037 ^{def}
	15	28,29±0,007 ^f
	30	30,28±0,033 ^{def}
Nc	1	30,25±0,017 ^{def}
	15	30,99±0,004 ^{def}
	30	28,14±0,004 ^f
As	1	61,00±0,002 ^g
	15	63,46±0,006 ^g
	30	78,59±0,014 ^{ab}
Ac	1	65,63±0,004 ^{bc}
	15	81,17±0,107 ^a
	30	78,77±0,008 ^{ab}
Ss	1	41,44±0,077 ^{def}
	15	29,08±0,018 ^{def}
	30	38,03±0,022 ^{def}
Sc	1	43,56±0,083 ^{de}
	15	37,28±0,021 ^{def}
	30	44,40±0,045 ^d

* Médias na mesma coluna acompanhadas de letras minúsculas iguais não diferem entre si a um $p \leq 0,05$.

** Formulações: Ns (leite fermentado puro), Nc (leite fermentado adicionado de cúrcuma – 0,6%(m/v), As (leite fermentado adicionado de açúcar- 10% (m/v), Ac (leite fermentado adicionado de açúcar10% (m/v) e cúrcuma0,6%(m/v), Ss(leite fermentado adicionado de sal(1,3%(m/v), Sc (leite fermentado adicionado de sal 1,3%(m/v e cúrcuma).

O viili é característico por possuir uma textura pegajosa e de alta viscosidade devida aos exopolissacarídeos (EPS) produzidos por *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* (YANG et al., 1999). O rendimento de EPS produzidos por diferentes LAB geralmente pode variar entre 50-2700mg/L (MACEDO, LACROIX, GARDNER, e CHAMPAGNE, 2002). O EPS deste leite fermentado é descrito como sendo um pentassacárido composto de galactose, glucose,

ramnose e em semelhante proporção 02:02:01 (DUBOC e MOLLET, 2001). Através dessa proporção pode-se estimar a quantidade de EPS presente no viili por meio de análises de carboidratos totais, utilizando a glicose como padrão.

Estudos indicam que a glicose foi mais eficiente que a frutose, lactose ou galactose, como fonte de carbono para o crescimento e biossíntese de EPS em *Lactobacillus fermentum* F6 (ZHANG et. al, 2011). Outros trabalhos também encontraram resultados semelhantes utilizando a glicose como fonte de carbono para a produção de EPS por muitas bactérias (Ra et al. 1994; Oeste, 2003). Grobben et al., (1996) concluiu que o *Lactococcus delbrueckii subsp. bulgaricus* NCFB 2772, produziu três vezes mais EPS com a glicose como fonte de açúcar. Looijesteijn e Hugenholtz (1999) verificaram que o *Lactococcus lactis subsp. cremoris* NIZO B40, produziu cerca de nove vezes mais EPS com glicose como fonte de açúcar sob condições acidificantes.

Yang (1999), encontrou uma variação entre 164 e 263 mg/ L de EPS produzido por cepas de *Lactococcus lactis ssp. cremoris* cultivadas em leite desnatado.

Tabela 7 – Estimativa dos valores das frações dos açúcares dos exopolissacarídeos de viili e EPS total, média dos 30 dias de armazenamento.

Formulações*	Fenol-Sulfúrico (mg/ L)	Frações dos açúcares componentes do EPS			EPS total (mg/ L)
		Glicose (2)	Galactose(2)	Ramnose(1)	
Ns	30,28	30,28	30,28	15,14	75,71
Nc	29,79	29,79	29,79	14,90	74,48
As	67,68	67,68	67,68	33,84	169,21
Ac	75,29	75,29	75,29	37,65	188,24
Ss	36,18	36,18	36,18	18,09	90,46
Sc	37,27	37,28	37,28	18,64	93,19

* Formulações: Ns (leite fermentado puro), Nc (leite fermentado adicionado de cúrcuma – 0,6%(m/v), As (leite fermentado adicionado de açúcar- 10% (m/v), Ac (leite fermentado adicionado de açúcar10% (m/v) e cúrcuma0,6%(m/v), Ss(leite fermentado adicionado de sal(1,3%(m/v), Sc (leite fermentado adicionado de sal1,3%(m/v) e cúrcuma).

4.8 VISCOSIDADE

Os valores obtidos para a análise de viscosidade, realizada com viscosímetro de Brookfield, estiveram entre 810,70 e 923,76 centipoise (Tabela 9), para as 6 formulações do produto ao longo dos 30 dias de armazenamento.

A viscosidade dos leites fermentados é devida em grande parte pela presença dos EPS. Segundo Damodaran, Parkin, Fennema (2010), polímeros solúveis como as proteínas também promovem aumento da viscosidade, sendo maior quanto maior a concentração de proteínas.

O EPS é produzido pelas Bactérias Ácido Láticas gradualmente durante a acidificação e durante a mudança das condições ambientais, as interações entre os polissacarídeos e as proteínas irão continuar (GIRARD e SCHAFFER-LEQUART, 2008). O aumento da viscosidade durante o tempo de armazenamento por ser atribuído às interações que ocorrem entre os EPS e a proteína ao longo do tempo, como pode ser observado na Tabela 8.

Tabela 8 – Valores médios de viscosidade das seis formulações, ao longo de 30 dias de armazenamento, expressos em centipoise*.

Formulações*	Viscosidade (cP)		
	Armazenamento (dias)		
	1	15	30
Ns	808,04±10,50 ^f	865,83±14,89 ^{bcd}	896,76±11,47 ^{abc}
Nc	866,91±20,71 ^{bcd}	887,56±9,91 ^{bcd}	893,07±17,28 ^{abc}
As	889,96±17,29 ^{abc}	906,66±11,55 ^{ab}	920,53±7,33 ^a
Ac	891,44±17,96 ^{abc}	915,29±15,68 ^a	923,76±6,43 ^a
Ss	810,70±2,04 ^f	827,16±19,01 ^{ef}	856,17±16,81 ^{cde}
Sc	812,03±8,68 ^f	814,56±9,15 ^{def}	845,11±20,78 ^{def}

* Médias acompanhadas de letras minúsculas iguais não diferem entre si a um $p \leq 0,05$.

** Formulações: Ns (leite fermentado puro), Nc (leite fermentado adicionado de cúrcuma – 0,6%(m/v), As (leite fermentado adicionado de açúcar- 10% (m/v), Ac (leite fermentado adicionado de açúcar10% (m/v) e cúrcuma0,6%(m/v), Ss(leite fermentado adicionado de sal(1,3%(m/v), Sc (leite fermentado adicionado de sal1,3%(m/v) e cúrcuma).

As formulações de viili que apresentaram maior viscosidade foram As e Ac. A viscosidade das amostras sem adição de açúcar variou de 845,11 para Sc a 896,76 cP para Ns.

4.9 ANÁLISE SENSORIAL

A análise sensorial dos leites fermentados foi realizada avaliando-se a aceitação das amostras por meio da escala hedônica de 9 pontos. Para o produto adicionado de sacarose, apresentado na forma de leite fermentado, o teste contou com a participação de 99 voluntários onde 53,5% eram mulheres com idade de 17 a 50 e 46,5% homens de 17 a 35 anos. Do total de provadores 96% eram alunos (69,7% alunos da graduação e 30,3% da pós-graduação), 4% eram funcionários. O teste com o produto adicionado de cloreto de sódio, apresentado na forma de molho para salada teve a participação de 74 voluntários, sendo 63,5% mulheres com idade de 17 a 50 e 36,5% homens de 17 a 35 anos. No total 86,5% dos provadores eram alunos (62% alunos da graduação e 29% da pós-graduação) e 13,5% funcionários.

Do total dos participantes 76% afirmaram que gostavam e consumiam leite fermentado, 54% relataram o mesmo em relação ao molho para salada e 89% assinalaram gostar e consumir produtos probióticos.

No teste de aceitação foram avaliados os atributos aparência, aroma, sabor, textura e aceitação global de quatro formulações do leite fermentado (As, Ac, Ss, Sc). As tabelas 9 e 10 contém os resultados obtidos.

Tabela 9 : Aceitação de atributos sensoriais dos leites fermentados com cultura de *villi**

Formulação**	Aparência	Aroma	Sabor	Textura	Aceitação Global
As	6,8±1,8 ^a	5,3±1,9 ^a	5,5±2,2 ^a	5,2±2,3 ^a	5,3±2,1 ^a
Ac	5,6±2,3 ^b	4,7±2,1 ^b	5,4±2,2 ^a	4,1±2,4 ^b	4,5±2,2 ^b

* Médias na mesma coluna acompanhadas de letras minúsculas iguais não diferem entre si a um $p \leq 0,05$.

** Formulações As (leite fermentado adicionado de açúcar- 10% (m/v)), Ac (leite fermentado adicionado de açúcar 10% (m/v) e cúrcuma 0,6% (m/v)).

Valores referentes a escala hedônica de 9 pontos, sendo 1- desgostei extremamente a 9 – gostei extremamente.

Para os produtos com adição de sacarose, apresentados na forma de leite fermentado, houve maior aceitação dos atributos para a formulação As, sem a cúrcuma. Os produtos apresentados na forma de molho para salada, com adição de cloreto de sódio, tiveram uma aceitação maior que aqueles com

adição de sacarose, no entanto entre as duas formulações salgadas, Ss e Sc, não houve diferença significativa.

Tabela 10 : Aceitação de atributos sensoriais dos molhos para salada com cultura de vili *

Formulação**	Aparência	Aroma	Sabor	Textura	Aceitação Global
Ss	7,6±1,6 ^a	7,2±1,5 ^a	7,0±1,6 ^a	7,2±1,8 ^a	7,2±1,7 ^a
Sc	7,7±1,1 ^a	7,2±1,3 ^a	7,0±1,6 ^a	7,2±1,8 ^a	7,2±1,4 ^a

* Médias na mesma coluna acompanhadas de letras minúsculas iguais não diferem entre si a um $p \leq 0,05$.

** Formulações Ss (leite fermentado adicionado de sal(1,3%(m/v)), Sc (leite fermentado adicionado de sal1,3%(m/v) e cúrcuma).

Valores referentes a escala hedônica de 9 pontos, sendo 1- desgostei extremamente a 9 – gostei extremamente.

Os resultados obtidos para aceitabilidade, aprovação, indiferença e rejeição referentes a cada uma das 4 formulações encontram-se na Tabela 11.

Tabela 11 : Porcentagem de aprovação, indiferença e rejeição dos produtos*

Formulação**	Aprovação%	Indiferença%	Rejeição%
As	52,0	11,0	37,0
Ac	31,0	15,0	54,0
Ss	86,6	6,7	06,7
Sc	74,7	8,0	17,3

* Médias na mesma coluna acompanhadas de letras minúsculas iguais não diferem entre si a um $p \leq 0,05$.

** Formulações As (leite fermentado adicionado de açúcar- 10% (m/v)), Ac (leite fermentado adicionado de açúcar10% (m/v) e cúrcuma0,6%(m/v)), Ss(leite fermentado adicionado de sal(1,3%(m/v)), Sc (leite fermentado adicionado de sal1,3%(m/v) e cúrcuma).

%Aprovação, porcentagem de notas de 6 a 9

%Indiferença, porcentagem de notas 5

%Rejeição, porcentagem de notas de 1 a 4

A aceitabilidade entre as formulações variou de 4,47 a 7,13, sendo que as formulações com açúcar (As 5,32 e Ac 4,47) apresentaram menor aceitabilidade significativa em relação às com sal (Ss e Sc). Houve diferença significativa para a aceitabilidade entre as amostras adicionadas de sacarose,

com e sem adição da cúrcuma, sendo que a amostra As, com adição de sacarose e sem a cúrcuma foi a mais aceita. Entre as amostras com sal, que tiveram valores de aceitabilidade média bem próximos, não houve diferença significativa. O desvio padrão entre os valores de aceitabilidade foi bastante alto, principalmente para as duas primeiras formulações (As e Ac), isso mostra a divergência nos valores fornecidos por cada provador. Em análise sensorial, o desvio padrão pode ser bem alto, uma vez que o instrumento de medida é o homem.

As porcentagens de aprovação, indiferença e rejeição permitem observar a percepção dos voluntários em relação a cada formulação. A amostra com adição somente de açúcar foi aprovada por 52% dos provadores que conferiram notas entre 6 (gostei ligeiramente) e 9 (gostei extremamente), 11% se mostraram indiferentes à ela com a nota 5 (não gostei, nem desgostei) e 37% dos julgadores apresentaram rejeição a formulação As, com a atribuição das notas de 1 (desgostei extremamente) a 4 (desgostei ligeiramente).

Para a formulação com adição de açúcar (Ac) e cúrcuma a aprovação foi de 31%, a indiferença de 15% e a rejeição de 54%.

O produto com adição de cloreto de sódio, servido na forma de molho para salada foi o que apresentou maior aceitabilidade 7,13 e também o maior índice de aprovação 86,6%. A formulação com sal e cúrcuma teve alta aprovação pelos julgadores 74,7% e baixos níveis de indiferença e rejeição, 8% e 17,3%, respectivamente.

Para a aceitabilidade de iogurte desnatado probiótico, Pimentel (2009) obteve valores entre 4,4 e 7,6. Em trabalho semelhante, Montanuci (2010), encontrou valores para a aceitabilidade de leite desnatado fermentado por cultura mista entre 6,18 e 6,65.

Os leites fermentados viscosos típicos dos países nórdicos são muito difundidos e apreciados no norte europeu. Finlândia e Dinamarca apresentam o mais elevado consumo do grupo nórdico com uma média 41 kg por pessoa ao ano, sendo um consumo médio de 100 g por dia/pessoa (FONDÉN, LEPORANTA e SVENSSON, 2006; TAMIME e MARSHALL, 1997). Entretanto no Brasil, o viili não é conhecido, e suas características sensoriais, como alta

viscosidade e acidez, são uma novidade para o paladar de seus potenciais consumidores.

A tabela 12 contém as porcentagens obtidas com a aplicação do teste de intenção de compra, os dois produtos desenvolvidos, leite fermentado e o molho para salada, foram avaliados.

Tabela 12: Escala com a intenção de compra dos provadores para o leite fermentado e o molho para salada.

Números da escala	Opnião do provador	Intenção de compra Produto apresentado como: (%)	
		Leite Fermentado*	Molho para salada**
(7)	Certamente compraria	3,2	18,2
(6)	Possivelmente compraria	21,6	38,0
(5)	Talvez comprasse	12,6	11,7
(4)	Talvez comprasse, talvez não	12,6	11,7
(3)	Talvez não comprasse	5,0	11,7
(2)	Possivelmente não compraria	23,2	3,6
(1)	Certamente não compraria	22,2	5,1

*Leite Fermentado – Formulações com adição de açúcar em sua composição, amostras As e Ac.

** Molho para salada - Formulações com adição de sal em sua composição, amostras Ss e Sc.

5 Conclusão

A adição de cúrcuma, sal ou açúcar ao leite fermentado com a cultura mista viili, não ocasionou diminuição na viabilidade microbiana, sendo assim pode-se manter a alegação de produto probiótico até 30 dias de armazenamento sob refrigeração.

A adição de cúrcuma ao produto fermentado viili, contribuiu com o aumento do teor de compostos fenólicos do produto, ocasionando um aumento na atividade antioxidante

O produto viili adicionado de cúrcuma e sal pode ser empregado como molho funcional para salada, pois além de manter os benefícios citados, foi bem aceito pelos consumidores em potencial.

REFERÊNCIAS

ADOM, K.K.; LIU, R.H. Antioxidant activity of grains. **J. Agri. Food Chem.** v 50, p. 6182-6187, 2002.

ALMEIDA, L.P. Caracterização de Pigmentos da *Curcuma Longa* L., Avaliação da Atividade Antimicrobiana, Morfogênese *In Vitro* na Produção de Curcuminóides e Óleos Essenciais. 2006. **Tese** (Doutorado em Ciência de Alimentos) -- Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais, UFMG Belo Horizonte, MG, 2006.

AMMON, H.P.T.; WAHL, M.A. Pharmacology of *Curcuma longa*. **Annals of Biological Research**, v.3, n.6, p. 2771-2775, 1991.

AOAC. **Official Methods of Analysis of AOAC International** - Volume I and II, 18th Edition, Rev. 1, 2006.

ASHWINI, N. B.; SOWBHAGYA, H.B., NAVIN K. R. Osmotic dehydration assisted impregnation of curcuminoids in coconut slices. **Journal of Food Engineering** v.105, p.453–459, 2011.

Available online at <http://www.academicjournals.org/AJB> DOI: 10.5897/AJB10.539 ISSN 1684–5315 © 2011 Academic Journals

BAÚ, T.R. Desenvolvimento, caracterização e estabilidade de produtos de soja fermentado com cultura de kefir e adição de fibras. 2012. 130 p. **Dissertação** (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual de Londrina. Londrina, 2012.

BOAZ, M.; LEIBOVITZ, E.; DAYAN, Y. B.; WAINSTEIN J. Functional foods in the treatment of type 2 diabetes: olive leaf extract, turmeric and fenugreek, a qualitative review. **Functional Foods in health and Disease**. v.11 p. 472-481, 2011.

BRANDAO, S.C.C. Tecnologia da produção de iogurte. **Revista Leite e Derivados**, n. 25, v.5. p.24-38, 2002.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensm-Wiss u-Technol**, v.28, p. 25-30, 1995.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução n. 16, de 30 de abril de 1999. Aprova o Regulamento Técnico de Procedimentos para Registro de Alimentos e ou Novos Ingredientes. Brasília, 1999a.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução n. 17, de 30 de abril de 1999. Aprova o Regulamento Técnico que Estabelece as Diretrizes Básicas para Avaliação de Risco e Segurança dos Alimentos. Brasília, 1999b.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução n. 18, 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. Brasília, 1999c.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução n. 19, de 30 de abril de 1999. Aprova o Regulamento Técnico de Procedimentos para Registro de Alimento com Alegação de Propriedades Funcionais e ou de Saúde em sua Rotulagem. Brasília, 1999d.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento e da Reforma Agrária, Resolução nº5 de 13 de novembro de 2000. Oficializa os- Padrões de Identidade Qualidade de Leites Fermentados. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 2000.

BRASIL, Anvisa - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução- RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001. Aprova o Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**. 2001. Disponível em : http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12_01rdc.html. Acesso em 12 de jun. 2012.

BRASIL. Anvisa – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº02 de 07 de janeiro de 2002. Aprova Regulamento técnico de substâncias bioativas e probióticos isolados com alegação de propriedades funcional ou de saúde. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**. 9 jan. 2002. Disponível em :
< <http://elegis.bvs.br/leisref/public/showAct.php?id=1567&word=>>. Acesso em 29 jul. 2012

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento e da Reforma Agrária, Instrução Normativa nº62 de 26 de agosto de 2003. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Anexo I- Métodos Analíticos Oficiais para análises microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e água. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612006000300017> consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=2851. Acesso em 13 de jul. 2012.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 360, de 23 de dezembro de 2003. Dispõe sobre o Regulamento Técnico sobre Rotulagem Nutricional de Alimentos Embalados. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**. 26 de dez. 2003. Seção 1.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº46, de 23 de novembro de 2007: Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados; 2007.

BRASIL, Anvisa - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Alimentos. Alimentos com alegações de propriedades funcionais e ou de saúde, novos

alimentos/ingredientes, substâncias bioativas e probióticos. **Atualizado em julho de 2008.** IX – Lista das alegações de propriedades funcionais aprovadas. Disponível em:

http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno_lista_alega.htm. Acesso em 13 de jul. 2012.

BRASIL. Anvisa- Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Farmacopeia Brasileira**, volume 2 / Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Anvisa, 5 ed. p.893- 897, v. 2, 2010.

CARAMIA, G.; SILVI, S. Probiotics: From the Ancient Wisdom to the Actual Therapeutical and Nutraceutical Perspective. In: MALAGO, J. J.; KONINKX, J. F.J. G; MARINSEK- LOGAR, R. **Probiotic Bacteria and Enteric Infections**. Springer, p.3-38, 2011.

CECÍLIO FILHO A.B.; SOUZA, R.J.; BRAZ, L.T.; TAVARES, M. Cúrcuma: planta medicinal, condimentar e de outros usos potenciais. *Ciência Rural*, v. 30, n. 1, p. 71- 175, 2000.

CUNHA, T.M.; PICININ, F.C.; BARRETO, P.L.M; BENEDETE, H.D; PRUDÊNCIO, E.S. Avaliação físico-química, microbiológica e reológica de bebida láctea e leite fermentado adicionados de probióticos. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 29, n. 1, p. 103-116, jan./mar. 2008

DAMODARAN, S.; PARKIN, K.L.; FENNEMA, O.R. **Química de Alimentos de Fennema**. Porto Alegre: Artmed, 4 ed, 2010.

DENOU, E.; PRIDMORE, R. D.; BERGER, B.; PANOFF, J. M.; ARIGONI, A., & BRÜSSOW, H. Identification of genes associated with the long-gut-persistence phenotype of the probiotic *Lactobacillus johnsonii* strain NCC533 using a combination of genomics and transcriptome analysis. **Journal of Bacteriology**, v.190, p.3161–3168, 2008.

Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/2002/02_02rdc.htm. Acesso em 08 de mai. 2014.

DONKOR, O.N.; HENRIKSSON, A.; VASILJEVIC, T.; SHAH, N.P. Effect of acidification on the activity of probiotics in yoghurt during cold storage. **International Dairy Journal**, v.16, n.10, p.1181-1189, 2006.

DUBOC, P.; MOLLET, B.. Applications of exopolysaccharides in the dairy industry. **International Dairy Journal**, v. 11, p. 759–768, 2001.

DUKE, J.A. **The green pharmacy**, Emmaus: Rodale, 507 p., 1997.

FAO, 2000. Evaluation of certain food additives and contaminants FAO/WHO Expert committee report on food additives, **Technical Report Series 789**. WHO, Geneva.p. 44, 2000.

FAO/WHO. Evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. **Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation**, Córdoba, 2001. Disponível em: <ftp://ftp.fao.org/es/esn/food/probioreport_en.pdf>. Acesso em 28 jul. 2012.

FONDÉN, R.; LEPORANTA, K.; SVENSSON, U. Nordic/Scandinavian Fermented Milk Products. In: **Fermented Milks**. Adnan Tamime, p.156-171, 2006.

FUFOSE. **Functional Food Science in Europe**, 2011. <http://www.ils.org/Europe/Pages/FUFOSE.aspx>. Acesso em 23 de jul. 2012

FUNG , W.Y.; SHI LYE, H.; LIM; T.J.; KUAN, C.Y.; LIONG , A.T. Roles of Probiotic on Gut health. In: **Probiotics: Biology, Genetics and Health Aspects**. 2011.

GALDEANO, C. M.; LEBLANC, A. M; DOGI , C.; PERDIGÓN, G. Lactic Acid Bacteria as Immunomodulators of the Gut - Associated Immune System. In: Fernanda MOZZI; Raúl R. RAYA; Graciela M. VIGNOLO. **Biotechnology of Lactic Acid Bacteria Novel Applications**. Blackwell Publishing. p.125-140. 2010

GALLINA, D. A.; SILVA E ALVES, A. T.; TRENTOA, F. K. H. S; CARUSI, J. Caracterização de Leites Fermentados Com e Sem Adição de Probióticos e Prebióticos e Avaliação da Viabilidade de Bactérias Lácticas e Probióticas Durante a Vida-de-Prateleira. **UNOPAR Cient Ciênc Biol Saúde**, v.13(4), p.239-44, 2011.

GILLILAND, S. E. Probiotics and Prebiotics. In: MARTH, E. H.; STEELE, J. L. **Applied Dairy Microbiologi**. Marcel Dekker. 2 ed., p. 327-344, 2001.

GOVINDARAJAN, V.S. Turmeric – chemistry, technology and quality. **CRC – Critical Review in Food Science and Nutrition**, v.12, n.3, p. 199 – 301, 1980.

GUL, N.; MUJAHID T.Y.; JEHAN, N.; AHMAD, S. Studies on the antibacterial effect of the different fractions of *Curcuma longa* against tract infections isolated, **Pakistan Journal of Biological Sciences**, n. 7, v. 12, p. 2055-2060, 2004.

HIMESH, S.; PATEL, S. S.; MISHRA, K.; GOVIND, N.; SINGHAI, A. K. Qualitative And Quantitative Profile of Curcumin From Ethanolic Extract of *Curcuma Longa*). **International Journal of Pharmacy Research**, v.4, p.180-184, 2011.

HUNGENHOLTZ, J.; SMID, E. J. Nutraceutical production with food-grade microorganisms. **Current Opinion in Biotechnology**. v. 13, p. 497-507, 2002.

IRIGOYEN, A.; ARANA, I.; CASTIELLA, M.; TORRE, P.; IBÁNÉZ, F. C. Microbiological, physicochemical, and sensory characteristics of kefir during storage. **Spain, Food Chemistry**, v.90, p.613–620, 2005.

JANIASKI, D. R. Características Sensoriais, Químicas e Físicas de Iogurtes e Bebidas Lácteas Sabor Morango de Marcas Comerciais. 2011 p.2011. **Dissertação** (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual de Londrina. Londrina, 2011.

KORAKLI, M., GÄNZLE, M. G., & VOGEL, R. F. Metabolism by bifidobacteria and lactic acid bacteria of polysaccharides from wheat and rye, and exopolysaccharides produced by *Lactobacillus sanfranciscensis*. **Journal of Applied Microbiology**, v.92, p.958-965, 2002.

KWAK, N.; JUKES, D. J. Functional foods. Part 1: the development of a regulatory concept. **Food Control**. v. 12, p. 99-107, 2001.

LAJOLO, F.M. Alimentos funcionais. Uma visão geral. In: **A importância dos alimentos vegetais na proteção da saúde: fisiologia da nutrição protetora e preventiva de enfermidade degenerativa**. 2.ed.São Paulo: Editora Atheneu, 2005. P.175-181.

LEE, H.; CHOI, K.; CHO, K.; AHN, Y. Fungicidal activity of ar-turmerone identified in *Curcuma longa* rhizome against six phytopathogenic fungi. **Agricultural Chemistry Biotechnology**, v. 46(1), p. 23-28, 2003.

LEPORANTA, K. The world of fermented milks – 4: viili and langfi I – exotic fermented products from Scandinavia. **Valio Foods & Functionals**, v.2, p. 3–5, 2003.

LIU, L.; WU, J.; ZHANG, J.; LI, L.; WANG, C.; LÓPEZ, M. P., GUEIMONDE, M., MARGOLLES, A., & SUÁREZ, A. Distinct *Bifidobacterium* strains drive different immune responses in vitro. **International Journal of Food Microbiology**, v.138, p.157–165, 2010.

LÓPEZ, P.; MONTESERÍN, D.C.; GUEIMONDE, M. REYES-GAVILÁN, C.G.; LOPEZ, V., & LINDSAY, R. C. Metabolic conjugates as precursors for characterising flavor compounds in ruminant milks. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.41, p.446–454, 1993.

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

LOOIJESTEIJN, P. J.; TRAPET, L.; DE VRIES, E.; ABEE, T.; & HUGENHOLTZ, J. Physiological function of exopolysaccharides produced by *Lactococcus lactis*. **International Journal of Food Microbiology**, v.64, p.71–80, 2001.

MARSHALL, V. M., COWIE, E. N., & MORETON, R. S. Analysis and production of two exopolysaccharides from *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* LC330. **Journal of Dairy Research**, v.62, p.621-628, 1995.

MARTINS, M.C.; RUSIG, O. Cúrcuma – um corante natural. **Boletim da Sociedade Brasileira de Tecnologia de Alimentos**, v.26, p. 53-65, 1992.

MATHAI, C.K. Variability in turmeric *Curcuma* spices germplasm for essential oil and curcumin. **Qualitas Plantarum Foods Human Nutrition**, v. 28, p. 219 – 225, 1976.

MEDRANO, M., HAMEt, M. F., ABRAHAM, A. G., & PÉREZ, P. F. Kefiran protects Caco- 2 cells from cytopathic effects induced by *Bacillus cereus* infection. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 96, p.505–513, 2009.

MESA, M.D.; RAMIREZ-TORTOSA, M.C.; AGUILERA, C.M.; RAMIREZ-BOSCA, A; GIL, A. Efectos farmacológicos e nutricionales de los extractos de *Curcuma longa* L. y de los curcuminoides. **Ars Pharmaceutica**, v. 41, n.3, p. 307-321, 2000.

MOIRA, H. Future for dairy products in the functional foods market. **Australian Journal Dairy Technology**, v.58, p.98-103, 2003.

MONTANUCI, F.,D. Bebidas de kefir com e sem inulina em versões integral e desnatada: Elaboração e Caracterização química, física, microbiológica e sensorial. 2010. 141 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos)-Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2010.

MORAN, A. P., HOLST, O., BRENNAN, P. J., & von ITZSTEIN, M. Microbial glycobiology. Structures, relevance and applications. London: Academic Press, Elsevier. 2009.

MORTAZAVI, H.,; FADAEI, V.; POURAHMAD, R. Culture Viability in fermented milk containing different ratios of mesophilic starter: mould *Geotrichum candidum*. Scholars Research Library, **Annals of Biological Research**, v.6, p. 2771-2775, 2012.

O'CONNELL, J.E.; FOX P.F. Significance and applications of phenolic compounds in the production and quality of milk and dairy products: a review. **International Dairy Journal**, v.11 p.103–120, 2001.

OLIVEIRA, V.P.; GHIRALDINI, J.E.; SACRAMENTO, C.K. O cultivo de plantas produtoras de corantes. **Revista Brasileira de Corantes Naturais**, v.1, n.1, p. 232- 237, 1992.

PINHEIRO, M. V. S.; OLIVEIRA, M.N. ; PENNA, A.L.B. ; TAMIME, A.Y. The effect of different sweeteners in low-calorie yogurts - a review. **International Journal of Dairy Technology**, v. 58, n. 4, p. 193-199, 2005.

PIMENTEL, T.C. **logurte probiótico com inulina como substituto de gordura**. 2009. 178 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos)-Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2009.

RAMCHANDRAN, L.; & SHAH, N. P. Characterization of functional, biochemical and textural properties of synbiotic low-fat yogurts during refrigerated storage. **LWT-Food Science and Technology**, v.43, p. 819 - 827, 2010.

RAMIREZ-BOSCA, A.; SOLER, A.; GUTIERREZ, M.A.C. Antioxidant curcuma extracts decrease the blood lipid peroxide levels of human subjects. *Age*, v.18, p.167–169, 1995.

RAMIREZ-TORTOSA, M.C.; AGUILERA, C.M.; CARRIÓN-GUTIÉRREZ, M.A.; RAMIREZBOSCA, A.; GIL, A. Curcumin ethanol-aqueous extract inhibits *in vitro* human low density lipoprotein lipoperoxidation. In : SADLER, M.J.; SALTMARSH, T. (Ed) *Functional Foods, the consumer, the products and the evidence*. **The Royal Society of Chemistry**, p.111-115, 1998.

RAMÍREZ-SUCRE, M. O.; VÉLEZ-RUIZ, J. F. Physicochemical, rheological and stability characterization of a caramel flavored yogurt. **Food Science and Technology**, v. 51 p.233-241, 2013.

REIN, M. J.; HEINONEN, M. Stability and enhancement of berry juice color. **J. Agric. Food Chem.**, v. 52, p. 3106-3114, 2004.

RUAS-MADIEDO, P., MEDRANO, M., SALAZAR, N., de los REYES-GAVILÁN, C. G., Pérez, P., & Abraham, A. G. Exopolysaccharides produced by *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains abrogate *in vitro* de cytotoxic effect of bacterial toxins on eukaryotic cells. **Journal of Applied Microbiology**, v.109, p. 2079–2086, 2010.

RUAS-MADIEDO, P., SALAZAR, N., & de los REYES-GAVILÁN, C. G. Exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria in food and probiotic applications. In: MORAN, A. P.; HOLST; O.; BRENNAN; P. J., ITZSTEIN M. (Ed), *Microbial glycobiology. Structures, relevance and applications*, p. 887–902, 2009.

RUAS-MADIEDO, P.; HUGENHOLTZ, J, ZOON, P. An overview of the functionality of exopolysaccharides produced by lactic *acidbacteria*. **International Dairy Journal** v.12, p. 163–171,2002

SALAZAR, N., BINETTI, A., GUEIMONDE, M., ALONSO, A., GARRIDO, P., GONZÁLEZ DE REY, C., GONZÁLEZ, C., RUAS-MADIEDO, P., & DE LOS REYES-GAVILÁN, C. G. Safety and intestinalmicrobiota modulation by the exopolysaccharide-producing strains *Bifidobacterium animalis* IPLA R1 and *Bifidobacterium longum* IPLA E44 orally administered to Wistar rats. **International Journal of Food Microbiology**, v.144, p.342–351, 2011.

SALAZAR, N., RUAS-MADIEDO, P., KOLIDA, S., COLLINS, M., RASTALL, R., GIBSON, G., & DE LOS REYES-GAVILÁN, C. G. Exopolysaccharides produced by *Bifidobacterium longum* IPLA E44 and *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* IPLA R1 modify the composition and metabolic activity of human faecal microbiota in pH-controlled batch cultures. **International Journal of Food Microbiology**, v.135, p.260–267, 2009.

SALAZAR, N., GUEIMONDE, M., HERNANDEZ, B. A. M., RUAS-MADIEDO, P., & DE LOS REYES- GAVILAN, C. G. Exopolysaccharides produced by intestinal *Bifidobacterium* strains act as fermentable substrates for human intestinal bacteria. **Applied and Environmental Microbiology**, v.74, p.4737-4745, 2008.

SAN LIN, R.I. Phytochemicals and antioxidants. In: GOLDBERG, I. (ed.). **Functional foods, designer foods, pharmafoods, nutraceuticals**. New York: Chapman & Hall, 1994. p. 409.

SANCHES-GONZALES, I; JIMÉNEZ-ESCRIG,A; SAURA-CALIXTO, F. *In vitro* antioxidant activity of coffee brewed using different procedures (Intalian, Espresso and Filter). **Food Chemistry**, v.90, p.133-139, 2005.

SANDERS, M.E. Probiotics: considerations for human health. **Nutrition Reviews**, v.61, n.3, p.91-99, 2003.

SCARTEZZINI, P.; SPERONI, E. Review on some plants of indian traditional medicinal medicine with antioxidant. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 17,p. 23-43, 2000.

SCHIAVÃO-SOUZA, T.D.; YUHARA, T. T.; CASTRO-GÓMEZ, R. J. H.; GARCIA, S. Produção de Exopolissacarídeos por Bactérias Probióticas: Otimização do Meio de Cultura. **Braz. J. Food Technol.**, Campinas, v. 10, n. 1, p. 27-34, jan./mar. 2007

SHAH, N. P.Functional cultures and heath benefits. **International Dairy Journal**, v.17, p.1262-1277. 2007.

SILVA, P. B. Produção de fruto-oligossacarídeos por levanasacarase de *Bacillus subtilis* natto. **Dissertação** (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina- PR/ Brasil. 2012.

SOMASUNDARAM, S.; EDMUND, N.A.; MOORE D.T.; SMALLG. W.; SHI, Y.Y.; ORLOWISKI, R.Z. Dietary curcumin inhibits chemotherapy – induced apoptosis in models human breast cancer. **Cancer Research**, v.62, p.3868-3875, 2002.

SOUKOLIS, C.; PANAGIOTIDIS, P.; KOURELI, R.; TZIA, C. Industrial yogurt manufacture: monitoring of fermentation process and improvement of final product quality. **Journal of Dairy Science**. v.6 p.2641-2654, 2007.

SOUZA, P. H. M.; SOUZA NETO, M. H.; MAIA, G. A. Componentes funcionais nos alimentos. **Boletim da SBCTA**. v. 37, n. 2, p. 127-135, 2003.

STONE, H.; SIDEL, J.L. **Sensory Evaluation Practices**. 3º ed. Academic Press, New York, NY. 408p, 2004.

SUHASIN, A.; AKONDI, R. B., PRAKASH, J.; REDDY, S. "Anti-cancer activity of *Curcuma longa* linn.(Turmeric)", Annapurna, **Journal of Pharmacy Research**, 2011.

SWAIN, T.; HILLS, W.G. The phenolic constituents of *Prunus domestica*. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v.10 , p.63-69, 1959.

TAMIME, A. Y.; SAARELA, M.; SONDERGAARD, A. K.; MISTRY, V. V.; SHAH, N. P. Production and Maintenance of Viability of Probiotic Micro-organisms in Dairy Products. In: TAMIME, A. **Probiotic Dairy Products**. p. 39-74, 2005.

TAMIME, A.Y.; MARSHALL, V.M.E. Microbiology and technology of fermented milks. In: __. **Microbiology and Biochemistry of Cheese and Fermented Milk** (ed. B.A. Law), 2 ed., p. 57–152, 1997.

THAMER, K. G.; PENNA, A.L.B. Caracterização de bebidas lácteas funcionais fermentadas por probióticos e acrescidas de prebiótico. **Ciênc. Tecnol. Aliment.** v.26 . 2006.

VASILJEVIC, T.; SHAH, N. P. Cultured Milk and Yogurt. In: CHANDAN, R. C.; KILARA, A.; SHAH, N. P. **Dairy Processing & Quality Assurance**. Wiley-Blackwell. p.219- 252, 2008.

VOLP, A. C. P. ; RENHE, I. R. T. ; STRINGHETA, P. C.. Pigmentos Naturais Bioativos. **Alimentos e Nutrição** (UNESP), v. 20, p. 129-138, 2009.
WWW.URL.<http://lef.org/shop/dec-report97.html>. Dezembro/1997.

YANG, Z.; HUTTUNEN, E.; STAAF, M.; WIDMALM, G.; TENHU, H. Separation, purification and characterization of extracellular polysaccharides produced by slime-forming *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* strains. **International Dairy Journal** p. 631-638. 1999.

ZHANG, Y.; LI, S; ZHANG, C.; LUO, Y.; ZHANG, H.; YANG , Z. Growth and exopolysaccharide production by *Lactobacillus fermentum* F6 in skim milk. **African Journal of Biotechnology**, v. 10, p. 2080-2091, 14 Março. 2011.

ANEXOS

ANEXO 1

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido na Forma de Convite para os Provedores do Produto de leite fermentado (tipo Viili) no Teste de Aceitação

Prezado(a) Senhor(a):

Gostaríamos da sua participação no projeto de “LEITE FERMENTADO COM CULTURA MISTA PRODUTORA DE EPS ADICIONADO DE CORANTE NATURAL (*Curcuma longa*)” realizado no Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos da UEL, Londrina-PR. O objetivo do projeto é desenvolver um leite fermentado, utilizando uma cultura fermentadora para produção de Viili, e a Curcuma como corante. O viili é um produto lácteo fermentado semelhante a um iogurte, a curcuma é um corante natural extraído de um raiz. A sua participação nessa pesquisa é muito importante, e terá a duração aproximada de 10 minutos. Será solicitada a sua opinião sobre o quanto gostou do produto apresentado, avaliando os atributos cor, aroma, textura, sabor e aceitação global, e também a sua intenção de compra. Será realizada uma sessão e você poderá fazê-la no horário que tiver maior disponibilidade. Gostaríamos de esclarecer que sua participação é totalmente voluntária, podendo você: recusar-se a participar, ou mesmo desistir a qualquer momento sem que isto acarrete qualquer ônus ou prejuízo à sua pessoa. Informamos ainda que as informações serão utilizadas somente para os fins desta pesquisa e serão tratadas com o mais absoluto sigilo e confidencialidade, de modo a preservar a sua identidade. O produto apresentado não traz riscos à saúde, porém pode, em algumas pessoas, diminuir o tempo de trânsito intestinal. Informamos que você não pagará nem será remunerado por sua participação. Caso você tenha dúvidas ou necessite de maiores esclarecimentos pode nos contatar (Prof.^a Sandra Garcia, DCTA/UEL, sgarcia@uel.br, (43) 3371- 5966), ou procurar o Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da Universidade Estadual de Londrina, na Avenida Robert Kock, nº 60, ou no telefone 3371 – 2490. Este termo deverá ser preenchido em duas vias de igual teor, sendo uma delas, devidamente preenchida e assinada e entregue a você.

Londrina, ____ de _____ de 2013.

Pesquisadora Responsável

Sandra Garcia

Prof.^a Orientadora

Naiara Ramos Ricardo

Aluna de mestrado

Eu, _____, tendo sido devidamente esclarecido (a) sobre os procedimentos da pesquisa, concordo em participar **voluntariamente** da pesquisa descrita acima.

Assinatura: _____

Data: _____

ANEXO 2

Coleta de dados do Provador

Deseja-se realizar uma análise sensorial para avaliar a aceitação de um produto fermentado por uma cultura mista, denominado Viili. Ser um julgador não tomará muito seu tempo e não envolverá nenhuma tarefa difícil. A prova será realizada no Laboratório de Análise Sensorial do DCTA, tem duração aproximada de 10 minutos. Se você deseja participar do teste, por favor, preencha este formulário.

Dados Pessoais:

Nome _____

Telefone para contato: _____

E-mail: _____

1. Faixa etária:

- () 15-25
 () 25-35
 () 35-50
 () acima de 50 anos

2. Sexo

- () masculino
 () feminino

3. Ocupação:

- () aluno _____
 () funcionário
 () professor
 () outro _____

4. Escolaridade

- () 1° grau
 () 2° grau
 () 3° grau
 () Pós-graduação _____

5. Gosta/consome leite fermentado? () Sim () Não

6. Gosta/consome produtos probióticos? () Sim () Não

7. Frequência de consumo de leite fermentado:

- () Nunca
 () Ocasionalmente - _____ vezes por ano
 () Moderadamente - _____ vezes por mês
 () Frequentemente - _____ vezes por semana

8. Frequência de consumo de produtos fermentados contendo probióticos:

- () Nunca
 () Ocasionalmente - _____ vezes por ano
 () Moderadamente - _____ vezes por mês
 () Frequentemente - _____ vezes por semana

9. Frequência de consumo de alimentos funcionais:

- () Nunca
 () Ocasionalmente - _____ vezes por ano
 () Moderadamente - _____ vezes por mês
 () Frequentemente - _____ vezes por semana

10. Produtos que costuma consumir (7, 8 e 9).

ANEXO 3

Ficha para Avaliação Sensorial: Teste de Aceitação e Intenção de Compra

TESTE DE ACEITAÇÃO E INTENÇÃO DE COMPRA

Nome: _____ Data: _____

Você está recebendo uma amostra de leite fermentado. Por favor, avalie a amostra com relação aos atributos cor, aroma, textura, sabor e aceitação global, segundo o grau de gostar ou desgostar, utilizando a escala abaixo:

- (9) gostei extremamente
- (8) gostei moderadamente
- (7) goste regularmente
- (6) gostei ligeiramente
- (5) não gostei, nem desgostei
- (4) desgostei ligeiramente
- (3) desgostei regularmente
- (2) desgostei moderadamente
- (1) desgostei extremamente

AMOSTRA	APARÊNCIA	AROMA	TEXTURA	SABOR	ACEITAÇÃO GLOBAL

Por favor, indique na escala abaixo a sua intenção de compra.

- (7) certamente compraria
- (6) possivelmente compraria
- (5) talvez comprasse
- (4) talvez comprasse, talvez não
- (3) talvez não comprasse
- (2) possivelmente não compraria
- (1) certamente não compraria

Comentários:

ANEXO 4

Coleta de dados do Provador

Deseja-se realizar uma análise sensorial para avaliar a aceitação de um produto fermentado por uma cultura mista, denominado Viili. Ser um julgador não tomará muito seu tempo e não envolverá nenhuma tarefa difícil. A prova será realizada no Laboratório de Análise Sensorial do DCTA, tem duração aproximada de 10 minutos. Se você deseja participar do teste, por favor, preencha este formulário.

Dados Pessoais:

Nome _____

Telefone para contato: _____

E-mail: _____

1. Faixa etária:

- 15-25
 25-35
 35-50
 acima de 50 anos

2. Sexo

- masculino
 feminino

3. Ocupação:

- aluno _____
 funcionário
 professor
 outro _____

4. Escolaridade

- 1° grau
 2° grau
 3° grau
 Pós-graduação _____

5. Gosta/consome molho para salada Sim Não

6. Gosta/consome produtos probióticos? Sim Não

7. Frequência de consumo de molho para salada:

- Nunca
 Ocasionalmente - _____ vezes por ano
 Moderadamente - _____ vezes por mês
 Frequentemente - _____ vezes por semana

8. Frequência de consumo de produtos contendo probióticos:

- Nunca
 Ocasionalmente - _____ vezes por ano
 Moderadamente - _____ vezes por mês
 Frequentemente - _____ vezes por semana

9. Frequência de consumo de alimentos funcionais:

- Nunca
 Ocasionalmente - _____ vezes por ano
 Moderadamente - _____ vezes por mês
 Frequentemente - _____ vezes por semana

10. Produtos que costuma consumir (7, 8 e 9).

ANEXO 5

Ficha para Avaliação Sensorial: Teste de Aceitação e Intenção de Compra

TESTE DE ACEITAÇÃO E INTENÇÃO DE COMPRA

Nome: _____ Data: _____

Você está recebendo uma amostra de molho para salada. Por favor, avalie a amostra com relação aos atributos cor, aroma, textura, sabor e aceitação global, segundo o grau de gostar ou desgostar, utilizando a escala abaixo:

- (9) gostei extremamente
- (8) gostei moderadamente
- (3) desgostei regularmente
- (2) desgostei moderadamente
- (1) desgostei extremamente

AMOSTRA	APARÊNCIA	AROMA	TEXTURA	SABOR	ACEITAÇÃO GLOBAL

Por favor, indique na escala abaixo a sua intenção de compra.

- (7) certamente compraria
- (6) possivelmente compraria
- (5) talvez comprasse
- (4) talvez comprasse, talvez não
- (3) talvez não comprasse
- (2) possivelmente não compraria
- (1) certamente não compraria

Comentários:

ANEXO 6

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE
LONDRINA - UEL/ HOSPITAL
REGIONAL DO NORTE DO



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: LEITE FERMENTADO FUNCIONAL COM CULTURA MISTA PRODUTORA DE EPS ADICIONADO DE CORANTE NATURAL (Curcuma longa)

Pesquisador: Sandra Garcia

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 08024112.7.0000.5231

Instituição Proponente: Programa de Pós-graduação em Ciência de Alimentos

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 117.625

Data da Relatoria: 08/10/2012

Apresentação do Projeto:

O presente projeto destaca a importância da promoção da saúde através de uma alimentação adequada, esse tema está cada vez mais presente no cotidiano de muitas pessoas, sendo assim a procura por alimentos funcionais é crescente. Os produtos lácteos estão na linha da frente no desenvolvimento de

alimentos funcionais. O projeto tem por objetivo desenvolver um leite fermentado funcional com uma cultura mista produtora de EPS e adicionado de corante natural (Curcuma longa). A cultura mista contém entre outros micro-organismos o *Lactococcus lactis*, que será o foco principal do trabalho, devido as suas características próbióticas reconhecidas inclusive pela legislação brasileira. A Curcuma longa será adicionada como corante e também por suas propriedades funcionais amplamente citadas na literatura.

Objetivo da Pesquisa:

Com o estudo pretende-se investigar as propriedades próbióticas e funcionais relacionadas ao leite fermentado bem como avaliar as propriedades antioxidantes da Curcuma longa, analisando a interação da cultura mista e do corante na formulação, composição e estabilidade do produto

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

O pesquisador relata que o leite fermentado proposto pode, em algumas pessoas, acelerar a velocidade do trânsito intestinal. O produto lácteo funcional com vários benefícios a saúde como, prevenção de doenças, redução do nível de colesterol sanguíneo, atividade anti-inflamatória, anti-

Endereço: AVENIDA ROBERT KOCH, 60

Bairro: VILA OPERÁRIA

CEP: 86.038-440

UF: PR **Município:** LONDRINA

Telefone: (43)3371-2490

E-mail: cep268@uel.br

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE
LONDRINA - UEL/ HOSPITAL
REGIONAL DO NORTE DO



oxidante, antimicrobiana e ação anticarcinogênica, além do controle de infecções intestinais e constipação, influências benéficas sobre o sistema imunológico e a melhoria de utilização da lactose.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de uma pesquisa importante na área de alimentos com uma proposta de desenvolvimento de um novo produto com propriedade funcionais que poderá beneficiar a saúde do homem.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

O projeto apresenta todos os termos obrigatórios atendendo a Resolução 196/96.

Recomendações:

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Projeto aprovado

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Parecer referendado.

LONDRINA, 08 de Outubro de 2012

Assinador por:
Paula Mariza Zedu Alliprandini
(Coordenador)

Endereço: AVENIDA ROBERT KOCH, 60

Bairro: VILA OPERÁRIA

CEP: 86.038-440

UF: PR

Município: LONDRINA

Telefone: (43)3371-2490

E-mail: oep268@uel.br