

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE ALIMENTOS

**APLICAÇÃO DOS MODELOS MISTOS NA ANÁLISE SENSORIAL DE
SUCO DE MANGA ACRESCIDO DE MICRORGANISMOS
PROBIÓTICOS**

Andreza Candido Mendes

Eng.^a de Alimentos, IFMT, 2017

Orientador: Diogo Francisco Rossoni

Coorientadora: Andresa Carla Feihrmann

Dissertação de Mestrado submetida à Universidade Estadual de Maringá, como parte dos requisitos necessários à obtenção do Grau de Mestre em Engenharia de Alimentos, área de Engenharia de processos e produtos na indústria de alimentos

Maringá – PR - Brasil

Fevereiro de 2020

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE ALIMENTOS

Esta é a versão final da dissertação de Mestrado apresentada por Andreza
Candido Mendes a Comissão Julgadora do Curso de Mestrado em Engenharia
de Alimentos em 14 de fevereiro de 2020.

COMISSÃO JULGADORA



Prof. Dr Diogo Francisco Rossoni
Orientador



Prof.ª Dr.ª Andresa Carla Feihmann
Coorientadora



Prof.ª Dr.ª Isabel de Souza Amorim
Membro



Prof.ª Dr.ª Raquel Gutierrez Gomes
Membro

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
(Biblioteca Central - UEM, Maringá - PR, Brasil)

M538a Mendes, Andreza Candido
Aplicação dos modelos mistos na análise sensorial de suco de manga acrescido de microrganismos probióticos / Andreza Candido Mendes. -- Maringá, PR, 2020. 40 f. figs., tabs.

Orientador: Prof. Dr. Diogo Franscisco Rossoni.
Coorientadora: Profa. Dra. Andresa Carla Feihmann.
Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual de Maringá, Centro de Tecnologia, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, 2020.

1. Suco de manga - Modelo misto - Análise sensorial. 2. Bifidobacterium animalis - Indústria de alimentos. 3. Suco de manga - Microorganismos probióticos. 4. Probióticos encapsulado - Microorganismo . I. Rossoni, Diogo Franscisco, orient. II. Feihmann, Andresa Carla, coorient. III. Universidade Estadual de Maringá. Centro de Tecnologia. Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos. IV. Título.

CDD 23.ed. 663.63

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus pela oportunidade de estar no mestrado e pela força que me dá em todos os momentos que necessito.

À Universidade Estadual de Maringá pela oportunidade de estudo e estrutura para realização do projeto.

Aos meus pais, Anderson Mendes e Elizabeth Mendes, por todo o apoio e compreensão ao longo desses anos.

Ao meu noivo Rodrigo Moreno, por ter paciência e compreensão em todos os momentos difíceis, e também por me apoiar em tudo.

Ao meu orientador Prof. Dr. Diogo Rossoni por toda orientação neste trabalho e por sempre ser compreensivo.

A minha coorientadora Prof.^a Dr.^a Andresa Feihrmann pela orientação e por me ajudar no projeto.

A professora Raquel Gutierrez por me ajudar com o projeto, sempre me auxiliando nas análises.

A professora Isabel Amorim por me ajudar e disponibilizar grande parte das referências para este trabalho.

As minhas amigas Jiuliane Martins, Pamela Dutra, Brenda e Catarina por me ajudarem e por me animarem sempre.

RESUMO

Os consumidores ao longo dos anos estão se tornando cada vez mais exigentes por produtos seguros e saudáveis sem perder o gosto e o sabor agradável. Sabe-se do grande interesse em aplicar probióticos em sucos de fruta, para que o consumidor tenha mais variedade de produtos com os benefícios dos probióticos e para assegurar que irão gostar e comprar o produto, é fundamental envolvê-los nos testes sensoriais. É cada vez mais importante no desenvolvimento de novos produtos e bebidas, a utilização de pessoas como instrumento de medida, e para analisar essas medidas a utilização dos modelos linear mistos é mais adequado, pois estes modelos permitem colocar o provador como efeito aleatório. Com isso, o presente trabalho teve o objetivo de aplicar os modelos mistos nos resultados da análise sensorial do suco de manga acrescido de microrganismos probiótico encapsulados. Os probióticos foram encapsulados no equipamento *spray dryer*, e utilizou como encapsulantes alginato de sódio e goma xantana, logo foi adicionado no suco de manga. Foram realizadas as análises físico-químicas e para verificar a viabilidade dos probióticos foi feita a análise microbiológica. Na análise sensorial utilizou-se o método afetivo e o teste de aceitação, onde foram analisados os atributos em sucos de manga com e sem probiótico. Os resultados das análises físico-químicas apresentaram aumento no pH, e redução nos sólidos totais, acidez titulável e no parâmetro L* da cor no suco com probiótico. A viabilidade dos probióticos encapsulados foi de 10^{13} UFC/mL e no suco foi de 10^8 , 10^{10} e 10^{12} UFC/mL. Nos resultados do efeito aleatório da análise sensorial obtivemos uma grande variabilidade de provadores para o atributo aroma, destacando-se como melhor atributo tanto para o suco de manga com probiótico quanto para o suco sem probióticos, com notas de 6,12 e 7,48 respectivamente. No teste de aceitação os provadores demonstraram maior preferência no suco de manga sem probiótico, porém em relação ao suco de manga com probiótico os provadores gostaram do aroma e demonstraram dúvidas quanto ao sabor e intenção de compra. Com isso, concluiu-se que com a utilização dos modelos mistos consegue-se estimar a variabilidade entre os provadores e suas notas, e os resultados das análises físico-química e microbiológica do suco com probiótico foram satisfatórias.

Palavras-chave: análise sensorial, modelos mistos, suco de manga, *Bifidobacterium animalis* subsp. *Lactis*.

ABSTRACT

Consumers over the years are becoming increasingly demanding for safe and healthy products without losing the taste and pleasant taste. It is known that there is a great interest in applying probiotics in fruit juices so that the consumer has more variety of products with the benefits of probiotics and to ensure that they will like and buy the product, it is essential to involve them in sensory tests. It is increasingly important in the development of new products and beverages, the use of people as a measuring instrument, and to analyze these measures the use of mixed linear models is more appropriate, as these models allow placing the taster as a random effect. With this, the present work had the objective of applying the mixed models in the results of the sensorial analysis of the mango juice plus encapsulated probiotic microorganisms. The probiotics were encapsulated in the spray dryer equipment and used sodium alginate and xanthan gum as encapsulants soon added to the mango juice. Physical-chemical analyzes were performed and microbiological analysis was carried out to verify the viability of the probiotics. In the sensory analysis, the effective method and the acceptance test were used, where the attributes in mango juices with and without probiotic were analyzed. The results of the physical-chemical analyzes showed an increase in pH, and a reduction in total solids, titratable acidity and in the parameter L* of the colour in the juice with probiotic. The viability of the encapsulated probiotics was 10¹³ CFU / mL and in the juice, it was 10⁸, 10¹⁰ and 10¹² CFU / mL. In the results of the random effect of the sensorial analysis, we obtained a great variability of tasters for the aroma attribute, standing out as the best attribute both for mango juice with probiotic and for juice without probiotics, with scores of 6.12 and 7.48 respectively. In the acceptance test, the tasters showed a greater preference in mango juice without probiotics, however, in relation to mango juice with probiotics, the tasters liked the aroma and showed doubts about the taste and purchase intention. With that, it was concluded that with the use of mixed models it is possible to estimate a variability between the providers and their scores, and the results of the physical-chemical and microbiological analyzes of the juice with probiotic and satisfactory.

Keywords: sensory analysis, mixed models, mango juice, *Bifidobacterium animalis* subsp. *Lactis*.

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Características químicas do suco de manga, destinado ao consumo como bebida, definidas pela legislação brasileira.....	15
TABELA 2 - Resultados da ANOVA Tipo III pelo método de Satterthwaite, relacionados ao pH, acidez e cor (L^* , a^* e b^*).....	27
TABELA 3 - Resultados das análises físico-químicas e das coordenadas da cor realizadas nos sucos de manga com probiótico e sem probiótico.....	28
TABELA 4 - Resultados da ANOVA Tipo III pelo método de Satterthwaite, relacionados aos atributos aparência, aroma, sabor e impressão global.....	29
TABELA 5 - Valores médios das notas obtidas na análise sensorial para cada atributo das diferentes amostras.....	30
TABELA 6 - Estimativa das partes fixa e aleatória dos atributos sensoriais com efeito aleatório no intercepto. (variável resposta atributos).....	32

SUMÁRIO

1. Introdução	09
2. Referencial teórico	11
2.1. Modelos mistos na análise sensorial	11
2.2. Suco de manga	14
2.3. Probióticos	16
2.3.1. Gênero <i>Bifidobacterium</i>	18
2.3.2. Probióticos em alimentos	18
2.4. Microencapsulação	19
3. Objetivo	21
3.1. Objetivo geral	21
3.2. Objetivo específico	21
4. Materiais e métodos	22
4.1. Materiais	22
4.2. Microencapsulação dos probióticos	22
4.3. Adição dos probióticos microencapsulados no suco de manga	22
4.4. Análise microbiológica	23
4.5. Análise físico-química	23
4.6. Análise sensorial	24
4.7. Análise estatística	26
5. Resultados e discussões	26
6. Conclusão	34
7. Referências	35

1. INTRODUÇÃO

Ao longo dos anos, os consumidores estão se tornando cada vez mais exigentes quanto ao consumo de produtos mais saudáveis e seguros, sem perder a característica do produto, como o flavor. Com o avanço da tecnologia, as empresas estão se empenhando cada vez mais para atingir as exigências dos consumidores. Visando os produtos saudáveis, podemos notar um crescimento na utilização de probióticos em alimentos, o que leva a um crescente interesse por alimentos funcionais.

A utilização de pessoas como instrumentos de medida sejam elas, simples consumidores a participar de um estudo de mercado ou provadores treinados ou não treinados, integrando um painel de provadores é cada vez mais importante no desenvolvimento de produtos alimentícios e bebidas (ESTEVES, 2016).

A incorporação de culturas probióticas pertencentes aos gêneros *Bifidobacterium* e *Lactobacillus* em produtos lácteos é uma prática bastante difundida no âmbito da indústria de alimentos. Entretanto, matrizes vegetais, como os sucos de fruta, vêm sendo estudadas como potenciais carreadores para estes microrganismos (ALMEIDA *et al.*, 2016). O desenvolvimento de novos produtos adicionados dessas culturas para ampliação desse mercado e aceitação pelos consumidores tem aumentado, pois não são todas as pessoas que podem consumir ou que apreciam produtos lácteos (SOUZA, 2014). Com isso, as indústrias de alimentos têm buscado aumentar a versatilidade no consumo de diferentes formas de alimentos sem perder as propriedades básicas de fornecer nutrição e garantir a saúde (ANEKELLA, ORSAT, 2012).

Os probióticos são organismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde do hospedeiro. Eles podem agir sobre o equilíbrio bacteriano intestinal, controle do colesterol e de diarreias, e redução do risco de câncer. Entre os diversos gêneros que integram as culturas probióticas, destacam-se o *Bifidobacterium* e o *Lactobacillus* (BRASIL, 2018; SANTOS, BARBOSA, BARBOSA, 2011).

Porém, um dos grandes desafios tecnológicos na utilização dos microrganismos probióticos é manter a viabilidade da bactéria durante o processamento e armazenamento, uma vez que muitas bactérias probióticas são sensíveis à exposição a oxigênio, calor e ácidos (SAAD, 2011). Uma alternativa para conseguir manter a viabilidade dos microrganismos, tem sido a utilização da microencapsulação.

A literatura aponta estudos de sucos acrescidos de microrganismos probióticos microencapsulados, porém a maioria é voltado para viabilidade, caracterização e tempo de armazenagem. Em relação às áreas de análises sensoriais e análise do consumidor, tem-se muito o que explorar analisando sensorialmente um novo produto com probióticos, com a utilização de outros modelos estatísticos, como por exemplo os modelos mistos que são mais adequados para analisar os dados sensoriais e do consumidor.

Modelos de efeitos mistos lineares são ferramentas para modelar dados hierárquicos/multiníveis correlacionados contínuos. Nas últimas décadas, esses modelos tornaram-se cada vez mais proeminentes em diversos campos. Vários pacotes de software, tanto comerciais quanto de código aberto, são capazes de oferecer esses tipos de modelos (KUZNETSOVA; BROCKHOFF; CHRISTENSEN, 2017).

Em estudos sensoriais, as técnicas de análise de variância (ANOVA) são geralmente aplicadas a fim de extrair importantes informações do produto baseadas em seus atributos. O modelo misto utiliza tanto os efeitos aleatórios quanto os efeitos fixos em seu método. Eles fazem uma parte integrante da análise estatística de dados sensoriais e de consumo (KUZNETSOVA, AMORIM, BROCKHOFF, 2015). Muitos pesquisadores preferem considerar o efeito provador como efeito aleatório, isso significa que os provadores são considerados representantes aleatórios de uma população (NAES; BROCKHOFF; TOMIC, 2010).

Neste contexto, o presente trabalho buscou estudar a aplicação do modelo misto aos resultados da análise sensorial de suco de manga acrescido de microrganismos probióticos encapsulados.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. Modelo misto na análise sensorial

Na maioria das situações de compra, hoje, o consumidor leva em consideração várias características do produto. Em primeiro lugar vem as propriedades sensoriais do produto, porém o consumidor moderno tem mostrado interesses também em outros aspectos como benefícios à saúde, facilidade de uso do produto, aspectos relacionados ao meio ambiente, a matéria-prima, ingredientes utilizados, processamentos e embalagens (KUZNETSOVA, BROCKHOFF, 2015).

A utilização de pessoas como instrumentos de medida, sejam simples consumidores a participar de um estudo de mercado ou provadores treinados ou não treinados integrando um painel de provadores, é cada vez mais importante no desenvolvimento de produtos alimentícios e bebidas, e na inovação (ESTEVES, 2016).

A análise sensorial é utilizada para otimizar e melhorar a qualidade de produtos, reformular produtos já estabelecidos no mercado, determinar diferenças e semelhanças entre produtos concorrentes e identificar as preferências dos consumidores por um determinado produto. Os métodos de análise sensorial dividem-se em métodos afetivos, discriminativos e descritivos (AMORIM, 2015). As análises estatísticas dos dados da sensorial geralmente são realizadas com um modelo linear padrão, análise de variância (ANOVA) e teste de comparação de médias.

Tradicionalmente, testes analíticos (discriminativos e descritivos), são realizados por avaliadores selecionados (familiarizados com a análise sensorial), orientados para o método em específico e algumas vezes treinados, enquanto testes afetivos são executados com consumidores (ROCHA, 2018).

Os testes afetivos têm por objetivo conhecer a opinião de um determinado grupo de pessoas que consomem o produto de interesse, ou seja, da população alvo do produto. Essa opinião pode ser dada com relação ao produto de uma forma global ou a características específicas, tais como aparência, aroma, sabor e textura (PIMENTEL, 2014).

O uso de metodologias estatísticas é essencial para avaliar os dados da análise sensorial e garantir a confiabilidade da análise. A sensometria é definida como a área da ciência que aplica métodos matemáticos e estatísticos para analisar dados sensoriais (AMORIM, 2015).

Em 1918, Ronald Fisher introduziu os modelos de efeitos aleatórios em seu artigo Fisher (1918). Posteriormente, a modelagem mista, onde os efeitos aleatórios e fixos são modelados, tornou-se uma grande área de pesquisa estatística. Modelos de efeitos mistos são proeminentemente usados em pesquisas envolvendo seres humanos e sujeitos em áreas como biologia, ecologia, marketing e em outras áreas, e também têm sido utilizados em estatísticas industriais, e agora em análises sensoriais de alimentos (KUZNETSOVA, BROCKHOFF, 2015).

Tradicionalmente a maioria dos modelos utilizados na análise sensorial, são considerados como efeitos fixos, isso significa que o foco está nos produtos e provadores em questão. Portanto, muitos pesquisadores preferem considerar o efeito provador como efeito aleatório. Isso significa que os provadores são considerados representantes aleatórios de uma população (NAES; BROCKHOFF; TOMIC, 2010). Como os efeitos do produto são sempre considerados efeitos fixos, o modelo resultante é chamado de modelo misto (NAES; LANGSRUD, 1996).

De acordo com Naes, Brockhoff e Tomic (2010) um modelo linear misto pode ser especificado da forma:

$$y_{ijr} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \alpha\beta_{ij} + \varepsilon_{ijr}$$

$$\alpha_i \sim N(0, \sigma_{Ass}^2), \quad \alpha\beta_{ij} \sim N(0, \sigma_{AssxProd}^2), \quad \varepsilon_{ijr} \sim N(0, \sigma_{Error}^2)$$

onde μ é a média geral, α e β são chamados de efeitos principais dos fatores A e B, $\alpha\beta_{ij}$ é o termo para uma possível interação entre os fatores e ε_{ijr} é o erro. Lembrando que α_i é o efeito aleatório do modelo.

Para esse modelo, a hipótese refere-se as diferenças médias entre os produtos para toda a população de provadores em potencial, e não para os poucos provadores selecionados (NAES; LANGSRUD, 1996), onde pode-se adotar a seguinte hipótese para o modelo:

$$H_0 : b_1 = b_2 = b_3 = \dots = b_j = 0$$

H_A : pelo menos dois b são diferentes

Ao modelar ambos os efeitos, fixos e aleatórios, os modelos mistos fornecem a flexibilidade de não modelar apenas a média, como em um modelo linear padrão, mas também as variâncias e covariâncias. Outro motivo para utilizar o modelo misto é a possibilidade de se fazer a predição de efeitos aleatórios, na presença de efeitos fixos (CAMARINHA FILHO, 2003).

Os efeitos dos fatores podem ser classificados como fixos ou aleatórios, em função do interesse do pesquisador. Se um determinado fator é considerado de efeito fixo, naturalmente, o interesse do pesquisador será estimar e testar hipóteses sobre combinações lineares dos níveis do mesmo. Por outro lado, caso o efeito desse fator seja considerado aleatório, o interesse residirá na estimação dos componentes de variância e covariância associada a esse fator, uma vez que seus níveis são considerados como sendo uma amostra aleatória de certa população, a qual deseja avaliar (CAMARINHA FILHO, 2003).

Os modelos de efeito misto constituem uma parte integrante da análise estatística de dados sensoriais e de consumo. Em estudos sensoriais, as técnicas de análise de variância (ANOVA) são geralmente aplicadas a fim de extrair importantes informações do produto baseadas em seus atributos (KUZNETSOVA, AMORIM, BROCKHOFF, 2015).

Modelos de efeitos mistos lineares são ferramentas para modelar dados hierárquicos/multiníveis correlacionados contínuos. Nas últimas décadas, esses modelos tornaram-se cada vez mais proeminentes em diversos campos. Vários pacotes de software, tanto comerciais quanto de código aberto, são capazes de oferecer esses tipos de modelos (KUZNETSOVA; BROCKHOFF; CHRISTENSEN, 2017).

Cayuela (2010) destaca alguns dos pacotes disponíveis no software R (R CORE TEAM, 2019) que permitem ajustar os modelos mistos, dentre eles temos os pacotes nlme (PINHEIRO, BATES, 2019) e lme4 (BATES *et al.*, 2015). O pacote nlme ajusta e compara modelos de efeito misto normais lineares e não-lineares, além de oferecer flexibilidade para compor estruturas de variância complexa.

Enquanto o pacote lme4 ajusta modelos lineares mistos e modelos lineares mistos generalizados (ZERBETO, 2015; CAYUELA, 2010).

O pacote lme4 (BATES *et al.*, 2015) é um pacote do R bem conhecido e amplamente utilizado, tendo como ponto forte a interface amigável, a capacidade de lidar com dados desbalanceados, vários efeitos cruzados e muito rápido, mesmo para grandes conjuntos de dados. E o pacote lmerTest (KUZNETSOVA, BROCKHOFF, CHRISTENSEN, 2017) fornece a função ANOVA com um quadro de dados semelhante ao do pacote lme4, mas com valores de p calculados a partir das estatísticas F das hipóteses do tipo 3/ tipo 1. E ainda oferece duas opções para os graus de liberdade do denominador F: “Satterthwaite” e “Kenward-Roger”, e os testes de efeitos aleatórios são realizados usando testes de razão de verossimilhança (KUZNETSOVA, BROCKHOFF, CHRISTENSEN, 2017).

Kuznetsova, Brockhoff, Christensen (2018) desenvolveram o pacote SensMixed, para facilitar a análise de dados sensoriais utilizando modelos mistos. O pacote oferece ANOVA de modelo misto preparado especificamente para dados sensoriais de múltiplos atributos adotando os aspectos do lmerTest (KUZNETSOVA, AMORIM, BROCKHOFF, 2015). O SensMixed permite:

- a) Analisar dados sensoriais utilizando modelos mistos;
- b) Identificar o modelo linear misto mais adequado, selecionando automaticamente os efeitos;
- c) Utilizar nova metodologia para correção do efeito do uso da escala na interação entre provador e produto – MAM (BROCKHOFF *et al.*, 2015);
- d) Realizar testes post-hoc para análise de variância.

2.2. Suco de manga

A manga (*Mangifera indica L.*) é uma fruta nativa da Ásia e é uma das frutas tropicais mais importantes. Os responsáveis pela introdução da manga no Brasil foram os portugueses. Pelo mundo, existe mais de 500 variedades de manga, sendo que no Brasil são cultivadas cerca de 30 variedades, como a Tommy Atkins, Palmer, Bourbon, Espada, entre outras (SUGAI, 2007; NOGUEIRA, 2015; RAMOS, 2004).

É uma fruta climatérica bastante apreciada em sua forma in natura devido ao seu sabor e aroma característicos, é carnosa, com apenas uma semente, apresentando tamanho, peso, forma e cor bastante variáveis. Também é uma rica fonte de carotenóides, minerais e carboidratos (SILVA, *et al.*, 2017; SLIVA, *et al.*, 2005).

Vários produtos são obtidos através da manga, sendo os principais produtos a polpa, sucos, néctares, doces e geleias. A casca e sementes são subprodutos relevantes e muito utilizados em compostagem (SILVA *et al.*, 2017).

Os sucos de manga encontrados nos mercados são classificados como integral, néctares, suco tropical e mistos. Na Legislação Brasileira, o suco de manga é definido como uma bebida não fermentada, não concentrada e não diluída, destinada ao consumo, obtida da fruta madura e são por processamento tecnológico adequado, submetida a tratamento que assegura a sua apresentação e conservação até o momento do consumo (BRASIL, 2018).

E para os néctares e sucos tropicais, define-se como uma bebida não fermentada, obtida da diluição em água potável da parte comestível da fruta ou do seu extrato, adicionado de açúcares, destinada para consumo direto, sendo que para o néctar de manga a quantidade mínima estabelecida é de 40% da polpa de manga (BRASIL, 2009).

A Tabela 1 mostra os parâmetros do Regulamento Técnico para Fixação dos Padrões de Identidade e Qualidade para o suco de manga (BRASIL, 2018).

TABELA 1 – Características químicas do suco de manga, destinado ao consumo como bebida, definidas pela legislação brasileira.

Parâmetros	Mínimo	Máximo
pH	3,5	-
Sólidos solúveis (°Brix), a 20 °C	11	-
Acidez total expressa em ácido cítrico (g/100g)	0,3	-
Açúcares totais (g/100g)	-	16
Ácido ascórbico (mg/100g)	6,1	-

2.3. Probióticos

O termo “probiótico” é de origem grega, que significa “para a vida”. O primeiro conceito sobre o probiótico foi desenvolvida por Eli Metchnikoff, que trabalhava no Instituto Pasteur no início do século XX, onde acreditava que os bacilos fermentadores ingeridos poderiam influenciar positivamente a microbiota do intestino. Portanto, propôs que as bactérias benéficas vivas precisavam ser ingeridas de forma regular através do consumo de leites fermentados para manter a microbiota intestinal balanceada (FAO/WHO, 2001; LISERRE, 2005).

Oliveira *et al.* (2002) citando Holzapfel *et al.* (1998), descrevem a definição de probióticos proposta por Havenaar em 1992, a qual define probióticos como culturas puras ou mistas de microrganismos vivos que quando aplicadas aos animais ou ao homem, tem efeitos benéficos ao hospedeiro promovendo o balanço de sua microbiota intestinal.

Atualmente a Legislação Brasileira define probióticos como microrganismos vivo que, quando administrados em quantidades adequadas, confere um benefício à saúde do indivíduo (BRASIL, 2018).

Existem diversos gêneros que integram as culturas probióticas, sendo que os gêneros *Bifidobacterium* e *Lactobacillus* são os que se destacam, pela atuação e aplicação em alimentos, podendo citar *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. brevis*, *L. cellobiosus*, *L. plantarum*, *B. bifidum*, *B. adolescentis*, *B. animalis*, *B. infantis*, *B. lactis*, e *B. longum*, entre outros (SANTOS, BARBOSA, BARBOSA, 2011; LISERRE, 2005). A seleção de bactérias probióticas tem como base os seguintes critérios: o gênero ao qual pertence a bactéria deve ter origem humana, apresentar estabilidade frente ao ácido gástrico e à bile, capacidade de aderir e colonizar o trato gastrointestinal humano, capacidade de produzir compostos antimicrobianos, não ser patogênico e ter capacidade de sobrevivência no processamento e armazenamento (SARAO; ARORA, 2017; PIANO *et al.*, 2006; OLIVEIRA *et al.*, 2002, BRASIL, 2018).

Três possíveis mecanismos de atuação são atribuídos aos probióticos, sendo que o primeiro é a supressão do número de células viáveis através da população de compostos com atividade antimicrobiana, competição por nutriente e a

competição por sítios de adesão. O segundo mecanismo seria a alteração do metabolismo microbiano, através do aumento ou da diminuição da atividade enzimática. O terceiro seria o estímulo da imunidade do hospedeiro, através do aumento dos níveis de anticorpos e o aumento da atividade dos macrófagos. O espectro de atividades dos probióticos pode ser dividido em efeitos nutricionais, fisiológicos e antimicrobianos (SAAD, 2006; FULLER, 1989).

Entre os efeitos benéficos gerados pelos probióticos podemos citar o melhoramento na digestibilidade, quebra da lactose, controle de infecções intestinais, controle do nível do colesterol, ação anticarcinogênica, ação contra agentes patogênicos, melhora no sistema imune, equilíbrio da flora intestinal e aumento do valor nutritivo, aumentando a absorção de minerais e vitaminas do complexo B (OLIVEIRA et al., 2002; LISERRE, 2005; COELHO, 2009).

Liserre (2005) destacou que as bactérias probióticas como *L. acidophilus* e *B. bifidum* podem sobreviver e multiplicar no trato intestinal produzindo β -galactosidase mesmo na presença de bile. Por produzirem β -galactosidase, as bactérias probióticas são benéficas para pessoas com intolerância à lactose.

Para garantir um efeito contínuo no organismo humano, os probióticos devem ser ingeridos regularmente. Alguns trabalhos citam recomendações para porção diária de microrganismos viáveis que devem ser ingeridos, sendo o mínimo de 10^8 a 10^9 UFC, o que corresponde ao consumo de 100 g de produto contendo 10^6 a 10^7 UFC/g (COELHO, 2009; SANTOS, BARBOSA, BARBOSA, 2011; KOMATSU, BURITI, SAAD, 2008).

No ano de 2018, houve uma atualização na Legislação Brasileira, a RDC nº241 de 16 de julho de 2018, que retirou o valor mínimo específico de microrganismos viáveis, exigindo que as empresas comprovem a segurança dos probióticos e dos benefícios à saúde baseada por meio da apresentação de documentos técnicos ou evidências científicas. Cada produto deve conter um laudo que comprove a quantidade mínima viável do microrganismo para exercer a propriedade funcional no final do prazo de validade do produto e nas condições de uso, armazenamento e distribuição (BRASIL, 2018)

2.3.1. Gênero *Bifidobacterium*

As bifidobacterias foram isoladas pela primeira vez no final do século XIX pelo francês Henry Tissier e são caracterizadas por serem microrganismos gram-positivos, não formadores de esporos, desprovidos de flagelos, catalase-negativo e anaeróbios. Atualmente, o gênero inclui 30 espécies, destacando a *B. bifidum*, *B. breve*, *B. infantis*, *B. lactis*, *B. animalis*, *B. longum* e *B. thermophilum* (SAAD, 2006).

Esse tipo de microrganismo são heterofermentativos, produzindo ácido acético e láctico, sendo que todas as bifidobacterias são de origem humana e capazes de utilizar tanto a glicose quanto a galactose, a lactose e a frutose como fontes de carbono. A temperatura de crescimento ótimo oscila entre 37°C e 41°C e no pH de 6 e 7 (SANTOS, BARBOSA, BARBOSA, 2011).

2.3.2. Probióticos nos alimentos

Sabendo do desempenho importante dos probióticos em promover a saúde do hospedeiro, empresas e pesquisadores têm mostrado o interesse em incorporá-los nos produtos alimentícios e farmacêuticos. Com isso, ao longo dos anos vem-se estudando e desenvolvendo novos produtos diversificados com esses microrganismos tais como, pasta de abacate, suco de frutas, maionese, carnes, alimentos infantis, sobremesas, patês, extratos de sementes vegetais, produtos com peixe e kimchi, além dos produtos lácteos com grande variedade de produtos (LISERRE, 2005; KOMATSU, BURITI, SAAD, 2008; RAMOS, 2018; SOUZA, 2014; SILVA, 2017).

A viabilidade da bactéria probiótica durante o processamento e armazenamento representa um desafio tecnológico significativo, uma vez que as bactérias probióticas são sensíveis à exposição ao oxigênio, calor e ácidos (SAAD, CRUZ, FARIA, 2011). O desempenho das culturas também é um fator importante e pode ser avaliado de acordo com a multiplicação, estabilidade, mudanças nas propriedades sensoriais e a viabilidade durante o armazenamento (SOUZA, 2014).

Sucos de frutas podem representar um meio ideal de veículo de culturas probióticas aos consumidores, pois são considerados saudáveis e além da

vantagem de não apresentarem alérgenos, como em alguns produtos lácteos (SOUZA, 2014). Existe um interesse genuíno no desenvolvimento de bebidas funcionais à base de suco de frutas com probióticos, porque apresentam perfil de sabor considerado agradável para todas as faixas etárias, refrescantes e são consumidos regularmente (ESPINOZA, NAVARRO, 2008; PIMENTEL, 2014). Coelho (2009) afirmou que as bebidas probióticas a base de suco de frutas pode se tornar uma importante categoria de alimentos probióticos nos próximos anos.

A adição de probióticos em sucos de fruta mostra-se complexa quando comparada à formulação de produtos lácteos, principalmente em razão de características intrínsecas destes produtos, como a alta concentração de ácidos orgânicos e o pH, fatores esses que se mostram desfavoráveis à manutenção da viabilidade dos microrganismos (DIAS *et al.*, 2016).

De acordo com o estudo do impacto sensorial de Luckow e Delahunty (2004), os consumidores preferem as características sensoriais do suco de laranja convencional à do suco com probióticos, pois o sabor é o principal fator que motiva ao consumo e em seguida vem as considerações em relação a saúde. Sensorialmente, sucos com adição de culturas probióticas têm apresentado perfis de sabor diferenciados, sendo menos aceitos pelos consumidores do que os produtos convencionais (PIMENTEL, 2014).

Sabendo que os sucos adicionados de probióticos têm sabores diferentes dos sucos convencionais, existe interesse na produção de bebidas funcionais acrescidos de probióticos (COELHO, 2009).

O uso dos probióticos na elaboração de novos produtos deve considerar a manutenção da viabilidade do microrganismo, sem criar sabor, textura ou qualquer outro efeito indesejável, para que assim o produto não seja rejeitado pelos consumidores (SOUZA, 2014).

2.4. Microencapsulação por spray drying

A microencapsulação é um processo de empacotamento de um ingrediente ativo em cápsulas comestíveis, a fim de ser protegido contra fatores externos. O material encapsulado é denominado de recheio ou núcleo, e o material que forma

a cápsula, encapsulante, cobertura ou parede. As cápsulas podem ser classificadas por tamanhos em 3 categorias como macro-(>5000 µm), micro-(0,2-5000 µm) e nanocápsulas (<0,2 µm) (AZEREDO, 2005; ROCHA, 2017).

Dentre os objetivos da microencapsulação destaca em reduzir as interações do núcleo com fatores ambientais, retardar alterações que podem resultar em perda de aroma, cor ou valor nutricional, separar componentes reativos ou incompatíveis, reduzir a taxa de migração do material do núcleo para o ambiente externo, evitar reações prematuras de um substrato, mascarar compostos de sabor indesejável, promover melhor solubilidade do núcleo e melhor incorporação em sistemas secos e também permitir a liberação controlada do núcleo (AZEREDO, 2005).

A microencapsulação quando aplicada aos probióticos agem na proteção das bactérias, podendo aumentar a porcentagem de células íntegras após determinado tempo de vida útil e proteger a célula bacteriana da ação de sucos gástrico e entérico (LISERRE, 2005).

Segundo Azeredo (2005) e Rocha (2017), a escolha do método de encapsulação para uma aplicação específica depende de uma série de fatores, como o tamanho da partícula, propriedades físicas e químicas do núcleo e da parede, aplicação no produto final, mecanismos desejados de liberação, escala de produção e custo. Os métodos que se destacam para encapsulação são:

- a) Métodos físicos: secagem por atomização, aspersão e ventilação / refrigeração / congelamento, leite fluidizado, fluidos supercríticos e revestimentos por pulverização, gelificação iônica externa, extrusão com centrífuga;
- b) Métodos químicos: polimerização e inclusão molecular;
- c) Métodos físico-químicos: gelificação iônica interna, coacervação complexa, lipossoma, micelas, emulsões, processos com matrizes lipídicas nanoestruturados, e a evaporação do solvente.

Dentre os diversos métodos de microencapsulação está o processo de secagem por atomização, também conhecida como *spray drying*, consiste na transformação de um produto líquido em sólido, normalmente em forma de pó, por meio de uma corrente de ar aquecida. As partículas produzidas pelo processo

variam de 10µm até 3mm. O procedimento inclui as seguintes etapas; a atomização, o contato do líquido com ar quente; a vaporização das gotículas de água e a separação do produto seco do ar úmido (SOUZA *et al.*, 2015).

O método por *spray drying* é bastante utilizado, especialmente para secagens de produtos termossensíveis, como alimentos e materiais de origem biológica. Dentre os produtos sensíveis ao calor preservados pela atomização, destacam-se: vitaminas, minerais, antioxidantes, proteínas, microrganismos, corantes, ácidos, aromatizantes, edulcorantes, lipídeos, dentre outros (SOUZA *et al.*,2015).

Na indústria de alimentos diversos polissacarídeos, proteínas e lipídeos são utilizados no desenvolvimento de microcápsulas. O uso de hidrocolóides para formação de géis tem apresentado crescente interesse por diversas áreas de aplicação, tais como alimentícia, farmacêutica e cosmética (ETCHEPARE *et al.*, 2015).

De acordo com Heidebach et al. (2009) citado por Etchepare et al. (2015), para a aplicação em alimentos, o diâmetro médio das micropartículas, é uma das características mais importantes, sendo que estas devem ser suficientemente pequenas, para evitar um impacto sensorial negativo, sendo o tamanho desejável de aproximadamente 100 µm.

3. OBJETIVO

3.1. Objetivo geral

Desenvolver e avaliar sensorialmente suco de manga com probiótico microencapsulado, verificando a sua aceitação pelos consumidores, utilizando o método dos modelos mistos para análise dos dados sensoriais.

3.2. Objetivos específicos

- Realizar análise microbiológica para viabilidade do probiótico
- Realizar análise físico-química
- Realizar a análise sensorial
- Aplicar modelos mistos nos resultados da análise sensorial.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Materiais

Para o desenvolvimento do projeto foram utilizadas cepas de *Bifidobacterium animalis* subsp. *Lactis* (BB-12®), cedidas pela empresa Chr. Hansen. O suco de manga utilizado foi da marca Purity da Cocamar, adquirido no comércio local de Maringá-PR.

4.2. Encapsulação dos probióticos por spray dryer

Primeiramente foi feita a solução encapsulante, pesando 1g de ágar peptona que foi diluído em 1L de água destilada, depois foi retirado 938,8 mL da água peptonada e adicionado 30g de alginato de sódio e 5g de goma xantana, neste momento foi dividido em três frascos de 1L, o volume e os demais substâncias antes de diluir. Após a diluição os frascos foram levados para a autoclave por 15 minutos, junto com o material que foi utilizado para o manuseio do probiótico e armazenamento do pó, e assim que foi retirado da autoclave deixou esfriando por alguns minutos. Com a solução encapsulante bem morna foi adicionado e misturado 7g de probióticos, tudo realizado dentro da capela e próximo ao bico de Bunsen.

O processo de microencapsulação foi realizado em um spray dryer LM MSD 1,0 (Labmaq do Brasil), com ar constante, temperatura de entrada de 130°C e a temperatura de saída 93°C. O equipamento foi alimentado com a solução encapsulante por meio de uma bomba peristáltica, com fluxo de alimentação de 0,40 L h⁻¹, a pressão do ar de secagem de 3 Bar e a vazão de ar de secagem a 30 L min⁻¹. O pó foi coletado na base do ciclone com um frasco de vidro previamente autoclavada.

4.3. Adição das microcápsulas no suco de manga

O suco de manga utilizado foi da marca comercial Purity Néctare da Cocamar, em sua formulação continha água, 40% de polpa de manga, açúcar, aroma, ácido cítrico, ácido ascórbico e goma guar. Foram adicionadas 12 g de probiótico encapsulado, contendo o BB-12®, em 1,5L de suco de manga, depois o suco foi homogeneizado em um béquer com bastão de vidro, previamente esterilizados, dentro da capela e próximo ao bico de Bunsen.

4.4. Análise microbiológica

4.4.1. Viabilidade dos microrganismos probióticos

A avaliação da viabilidade dos micro-organismos potencialmente probióticos presentes nas amostras foi realizada a partir de diluições decimais seriadas, em triplicata, que consistem na transferência de 10g da amostra de forma asséptica para um frasco de Erlenmeyer estéril contendo 90 mL de água peptonada 0,1%. Esta solução foi agitada vigorosamente e, em seguida, realizada as diluições subsequentes utilizando-se o mesmo diluente, para a amostra do pó foram feitas diluições 10^{-11} , 10^{-13} e 10^{-15} e para o suco 10^{-7} , 10^{-9} e 10^{-11} . As inoculações foram feitas por profundidade em meio seletivo ágar MRS para a contagem dos microrganismos. As placas foram colocadas em estufa a 37°C por 72h, em jarras de anaerobiose, e as colônias enumeradas com o auxílio de um contador de colônias mecânico (Modelo CP602 da Phonix Luferco™), e o resultado foi expresso em unidades formadoras de colônias por grama (UFC/g).

4.5. Análises físico-químicas

4.5.1. pH

A determinação do pH nas amostras de suco com e sem probiótico foram realizadas em um pHmetro digital FT-P21 da HANNA Instruments, conforme descrito por Adolfo Lutz (2005), calibrado com as soluções de pH 4,0 e 7,0. A análise foi feita em triplicata, e medido no 1º, 6º e 19º dia, para o acompanhamento da qualidade do produto.

4.5.2. Acidez

A acidez foi determinada conforme a metodologia do Adolfo Lutz (2005), pipetando 10 ml das amostras de suco com e sem probiótico, transferindo para um Erlenmeyer e diluindo com 50 ml de água destilada. Adicionou-se 3 gotas da solução de fenolftaleína e titulou com solução de hidróxido de sódio 0,1M, até a coloração rósea. A análise foi feita em triplicata, e medido no 1º, 6º e 19º dia, para o acompanhamento da qualidade do produto.

4.5.3. °Brix

A determinação dos sólidos solúveis totais foi feita por um refratômetro digital HI96801 da HANNA Instruments.

4.5.4. Sólidos totais

Para a determinação dos sólidos totais, pesou-se a placa de petri vazia previamente tarada, mais 5ml do suco e 1 colher de areia, cada peso foi anotado, e com o auxílio de um palito misturou-se o suco e a areia. Após a pesagem foram para a estufa a 105 °C por 10 horas, passado tempo as placas foram retiradas para esfriar no dessecador e depois de frias foram pesadas novamente. O processo de aquecimento por 30 minutos e resfriamento foi repetido até o peso constante, e foi feito em triplicata.

4.5.5. Cor

A cor foi determinada por meio de leitura direta de reflectância dos parâmetros L^* (luminosidade), a^* (componente vermelho-verde) e b^* (componente amarelo-azul) em colorímetro (Konica Minolta, CR-400, Japão). As amostras de suco foram transferidas para uma placa de petri para que fossem efetuadas as leituras. A análise foi feita em triplicata, e medido no 1º e 19º dia, para o acompanhamento da qualidade do produto.

4.6. Análise sensorial

Esse projeto foi aprovado pelo comitê de ética da Universidade Estadual de Maringá sob o número 22362719.0.0000.0104. Foram realizados testes sensoriais de aceitação e intenção de compra com um grupo de 92 provadores não treinados, que foram selecionados aleatoriamente na Universidade Estadual de Maringá. Os atributos selecionados para análise foram aparência, aroma, sabor e impressão global, por teste afetivo em escala hedônica não estruturada de nove pontos. Para avaliação utilizou-se luz branca e 20 ml das amostras foram servidas em copos descartáveis e codificadas com três números aleatórios.

Os provadores receberam junto com as amostras uma ficha de avaliação, apresentada na Figura 1, com uma escala hedônica não estruturada,

correspondendo o lado direito 9, gostei muitíssimo e o lado esquerdo 1, desgostei muitíssimo, juntamente com 5 categorias para intenção de compra, correspondendo respectivamente: 5, eu certamente compraria; 4, eu provavelmente compraria; 3, tenho dúvidas se compraria ou não; 2, eu provavelmente não compraria ; e 1, eu certamente não compraria.

FIGURA 1: Ficha para o teste de aceitabilidade e intenção de compra.

FICHA PARA O TESTE DE ACEITABILIDADE E INTENÇÃO DE COMPRA

Nome: _____ Idade: _____ Data: _____

Avalie as amostras de suco de manga funcional e marque na escala abaixo sua opinião em relação a aparência, aroma, sabor e global.

Aparência 527 |-----|
 734 |-----|
 Desgostei muitíssimo Gostei muitíssimo

Aroma 527 |-----|
 734 |-----|
 Desgostei muitíssimo Gostei muitíssimo

Sabor 527 |-----|
 734 |-----|
 Desgostei muitíssimo Gostei muitíssimo

Global 527 |-----|
 734 |-----|
 Desgostei muitíssimo Gostei muitíssimo

Em relação à intenção de compra destas amostras, qual seria a sua atitude?

- 5 - Eu certamente compraria
- 4 - Eu provavelmente compraria
- 3 - Tenho dúvidas se compraria ou não
- 2 - Eu provavelmente não compraria
- 1 - Eu certamente não compraria

Código da amostra	Intenção de compra

4.7. Análise estatística

Os dados obtidos para pH, acidez e cor foram analisados por meio de modelos lineares de efeito mistos, onde o efeito aleatório foram os dias e o efeito fixo foram as amostras, as comparações post-hoc foram feitas por meio do método de Satterthwaite com nível de significância de 5%. °Brix e sólidos totais foram por teste t-student, com nível de significância de 5%, realizados no programa RStudio versão 3.6.1 (R CORE TEAM, 2019).

Os dados adquiridos na análise sensorial foram analisados por meio de modelos lineares de efeito mistos aplicando o pacote LmerTest (KUZNETSOVA, BROCKHOFF, CHRISTENSEN, 2017), onde o atributo é a variável resposta, a amostra o efeito fixo e o provador o efeito aleatório, as comparações post-hoc foram feitas por meio do método de Satterthwaite com nível de significância de 5%, realizados no programa RStudio versão 3.6.1 (R CORE TEAM, 2019).

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

A Tabela 2 apresenta a ANOVA do modelo para os parâmetros pH, acidez e cor.

TABELA 2 – Resultados da ANOVA Tipo III pelo método de Satterthwaite, relacionados ao pH, acidez e cor (L*, a* e b*).

		NumDF	DenDF	F	Valor p
pH	Tratamento	1	20	1792,2	2,2e-16
Acidez	Tratamento	1	18,234	561,65	3,749e-15
L*	Tratamento	1	9	53,115	4,624e-05
a*	Tratamento	1	9	2e-04	0,9903
b*	Tratamento	1	9	4,6853	0,05863

NumDF = graus de liberdade do numerador; DenDF = graus de liberdade do denominador

Os resultados dos valores p mostraram que existe diferença significativa a nível de 5% apenas para pH, acidez e parâmetro L* (luminosidade). E os valores de F indicam que a variabilidade das médias dos grupos é grande, exceto para o parâmetro a* que obteve um valor F baixo, mostrando que a variabilidade desse grupo é pequena.

As médias dos resultados das análises físico-químicas e da análise de cor estão apresentadas na Tabela 3. A adição da cultura probiótica microencapsulada ocasionou aumento no pH e redução da acidez, ° Brix e no sólidos totais.

TABELA 3 – Resultados das análises físico-químicas e das coordenadas da cor realizadas nos sucos de manga com probiótico e sem probiótico.

Tratamentos	Aspectos físico-químicos						
	pH	°Brix	ST (g/100g)	Acidez (% de ácido cítrico)	Cor		
					L	a*	b*
Suco sem probiótico	3,86 ^b	11,62 ^b	0,53 ^b	0,55 ^b	30,00 ^b	-3,34 ^a	22,71 ^a
Suco com probiótico	4,34 ^a	11,05 ^a	0,46 ^a	0,41 ^a	38,58 ^a	-3,33 ^a	25,87 ^a

ST = Sólidos totais. L* variando de 0 (preto) a 100 (branco); a* variando do vermelho (+a*) ao verde (-a*) e b* variando do amarelo (+b*) ao azul (-b*). Valores seguidos de letras iguais na mesma coluna significa que não existe diferença significativa entre os tratamentos a nível de 5% pelo método de Satterthwaite.

Os valores de pH apresentaram diferença significativa entre as amostras sendo que o suco com adição dos microrganismos probióticos foi maior devido ao material encapsulante e de revestimento, uma vez que o pH final das esferas ficam em torno de 5,8-6,0 (ANTUNES, 2018).

De acordo com alguns estudos, ao adicionar probióticos em sucos a tendência é a redução do pH (SANTOS, 2018; SOUZA, 2014; MACHADO, RIZZATTO, 2019). Quando o pH se encontra abaixo de 4,5, pode ocorrer inibição dos microrganismos patogênicos e deteriorantes, prolongando a vida útil dos alimentos (SANTOS FILHO, 2018). Porém, Neves (2005) em seu estudo com fermentado probiótico de suco de maçã, utilizou as culturas *Lactobacillus acidophilus* e *Lactobacillus casei* em sucos de maçã das variedades Fuji e Gala, e após 20 horas de fermentação o suco da variedade Fuji contendo o *Lactobacillus casei* apresentou um aumento significativo, com pH inicial de 4,01 e o final 4,30.

Em relação aos sólidos solúveis, sólidos totais e acidez titulável foi observado diferença significativa entre os sucos. A redução destes pode estar relacionada com os microrganismos probióticos, que quando consumirem os açúcares presente no suco pode produzir pequenas quantidades de ácidos orgânicos (PIMENTEL, PRUDENCIO, RODRIGUES, 2011). Com a diminuição da acidez titulável, o meio ficou mais favorável para os probióticos e resultando em um produto menos ácido.

Quanto aos parâmetros de cor apresentados, apenas a luminosidade (L) entre os sucos teve diferença significativa, já os parâmetros a* e b* foram iguais entre os sucos, tendendo para verde (a*) e amarelo (b*).

Tanto a cultura quanto o suco apresentaram resultados viáveis dentro da legislação sendo acima de 10^{13} UFC/mL para cultura e 10^{12} UFC/mL para o suco de manga. De acordo com Pimentel, Prudencio e Rodrigues (2011), a baixa viabilidade de culturas probióticas em sucos de frutas é encontrada em diversos estudos e diferentes alternativas vêm sendo utilizadas para superar os problemas de sobrevivência desses microrganismos, incluindo: seleção de culturas resistentes à acidez, microencapsulação dos probióticos, adição de prebióticos, suplementação com substratos, ajuste de pH do meio e emprego de embalagens assépticas. No presente trabalho a microencapsulação atuou como boa barreira protetora para a cultura probiótica.

Na Tabela 4 podemos observar a ANOVA para cada atributo avaliado na análise sensorial.

TABELA 4 – Resultados da ANOVA Tipo III pelo método de Satterthwaite, relacionados aos atributos aparência, aroma, sabor e impressão global

		NumDF	DenDF	F	Valor p
Aparência	Amostra	1	90	126,89	2,2e-16
Aroma	Amostra	1	90	21,554	1,166e-05
Sabor	Amostra	1	90	35,941	4,152e-08
Impressão global	Amostra	1	90	93,543	1,375e-15

NumDF = graus de liberdade do numerador; DenDF = graus de liberdade do denominador

A aparência e a impressão global apresentam um valor F alto, indicando grande variabilidade das médias dos grupos. Já o aroma e o sabor o valor de F foi baixo, apresentando uma pequena variabilidade das médias dos grupos.

Os resultados da análise sensorial de aceitação dos sucos estão apresentados na Tabela 5. Os produtos apresentaram notas de 4,36 a 7,48 em escala hedônica de 9 pontos não estruturada, indicando que os provadores ligeiramente desgostaram ou foram indiferentes ao produto com probiótico, e gostaram moderadamente do outro produto que não contém probiótico.

TABELA 5: Valores médios das notas obtidas na análise sensorial para cada atributo das diferentes amostras.

Tratamentos	Parâmetros				
	Aparência	Aroma	Sabor	Impressão global	Intenção de compra
Suco sem probiótico	7,32 ^b	7,48 ^b	7,06 ^b	7,30 ^b	4,86 ^b
Suco com probiótico	4,36 ^a	6,12 ^a	5,40 ^a	4,86 ^a	3,35 ^a

Valores seguidos de letras iguais na mesma coluna significa que não existe diferença significativa entre os tratamentos a nível de 5% significância pelo método do Satterthwaite.

Em relação ao suco sem probiótico, os valores obtidos foram maiores para todos os atributos, sendo que os provadores gostaram moderadamente. E na intenção de compra o provador indicou que certamente compararia o produto.

No suco com probiótico observa-se que, a aparência e impressão global as notas foram baixas indicando que o provador desgostou ligeiramente. Já em relação ao aroma o provador gostou ligeiramente, e o sabor nem gostou/nem desgostou. Na intenção de compra o provador mostrou-se em dúvida se compraria ou não o produto.

A adição da cultura probiótica microencapsulada resultou na diminuição da aceitação na maioria dos atributos. Estes resultados podem estar relacionados com a redução da acidez, e com o aumento da luminosidade, pH e textura do suco probiótico quando comparado com o suco sem probiótico.

Sobre a textura, ao adicionar os probióticos encapsulados observou-se uma mudança na textura, devido a ação do alginato e goma xantana presente no material encapsulado.

Santos (2018) em seu trabalho com caldo de cana probiótico adicionado de prebióticos, mostrou que a formulação que continha apenas o probiótico (*Lactobacillus casei*) apresentou em sua análise sensorial notas de 4,93 a 6,31, a adição da cultura resultou em um produto mais ácido, turvo, de coloração mais clara e menos aceito pelos consumidores.

Em Pimentel (2014), as formulações de suco clarificado de maçã com probiótico em embalagens de vidro e de plástico apresentaram notas entre 6,7 a 7,0, indicando que os consumidores gostaram moderadamente e ligeiramente, e ficando em dúvida quanto a intenção de compra.

Machado e Rizzato (2018) observaram que no teste de aceitação, com 52 provadores, do suco de maracujá fermentado não adoçado 42,3% apresentaram frequência na zona de aceitação, 5,8% na zona de indiferença e 51,9% na zona de rejeição. Os provadores comentaram que essa amostra apresentou ser muito ácida e com sabor bem acentuado do maracujá. O suco de maracujá fermentado adoçados com estévia e sacarose obteve maior aceitação do que o não adoçado.

Neste trabalho foi utilizada a escala hedônica não estruturada para a avaliação dos sucos, pois ela permite liberdade aos consumidores de expressarem suas percepções sensoriais, reduzir os efeitos contextuais e apresentar os dados com menor desvio da normalidade (PIMENTEL, 2014).

Na Tabela 6, estão apresentadas as estimativas dos efeitos aleatórios e fixos do modelo ajustado, em que a variável resposta é cada atributo (aparência, aroma, sabor e impressão global), efeito fixo é as amostras e o efeito aleatório é o provador.

TABELA 6: Estimativa das partes fixa e aleatória dos atributos sensoriais com efeito aleatório no intercepto. (variável resposta atributos)

	Aparência		Aroma		Sabor		Impressão global	
Parte aleatória	variância	d.p	variância	d.p	variância	d.p	variância	d.p
Provador(Intercpt.)	0,80	0,89	0,46	0,68	1,67	1,29	1,46	1,21
Resíduo	3,14	1,77	3,93	1,98	3,50	1,87	2,89	1,70
Parte fixa	estimativa	e.p.	estimativa	e.p.	estimativa	e.p.	estimativa	e.p.
(Intercept)	7,32	0,20	7,48	0,21	7,06	0,23	7,29	0,21
Suco com probiótico	-2,96	0,26	-1,36	0,29	-1,66	0,27	-2,43	0,25

d.p. = desvio padrão e e.p. = erro padrão

Na análise sensorial o atributo aparência alcançou a nota 4,36 para o suco com probiótico e 7,32 para o suco sem probiótico, no efeito aleatório a aparência apresentou uma variabilidade dos provadores de 0,8062 e um desvio padrão de 0,8979, concentrando-se próximo da média. Podemos considerar que os provadores são homogêneos e que a aparência não foi um atributo bem aceito pelos provadores.

O aroma obteve notas de 6,12 e 7,48, maior nota entre os atributos para os sucos, no efeito aleatório o aroma foi o que apresentou menor variabilidade dos provadores e o menor desvio padrão, podendo dizer que essa variabilidade se concentra próximo da média. Sendo assim, temos que os provadores são homogêneos. E o aroma foi o atributo com melhor aceitabilidade para ambos os sucos.

O resíduo do atributo aroma apresentou maior variabilidade e desvio padrão entre os atributos, pode-se considerar então que os outros atributos/fatores influenciaram nas notas dos sucos. Em relação ao desvio padrão, temos que os valores amostrais estão bem distribuídos em torno da média, mas não é homogênea.

Os atributos sabor e impressão global apresentaram alta variabilidade dos provadores, tendo como valores da variância estimada em 1,678 e 1,463 respectivamente. Nos resíduos, o sabor apresentou uma variabilidade maior do que a impressão global com um valor de 3,500, enquanto o valor da impressão global foi de 2,890. A maior parte da variação foi devido aos provadores, e a outra parte devido a outro fator.

Levando em consideração o atributo sabor que teve maior variabilidade dos provadores e um desvio padrão alto, pode-se dizer que os dados estão espalhados em torno da média, sendo a maior parte da variação devido ao provador. Observamos também pelas notas atribuídas aos sucos, 5,40 para o suco com probiótico e 7,06 para o suco sem probiótico, que foram diferentes, nota-se que o sabor do suco com probiótico deixou os provadores em dúvida, pois nem gostaram/nem desgostaram.

Na parte fixa pode-se observar as estimativas das notas de cada amostra, na aparência estima-se que para cada teste a nota atribuída para o suco sem probiótico será em média 7,3209, e para o suco com probiótico a nota diminuirá em média 2,9615.

Observa-se que para cada teste o aroma terá uma estimativa média de 7,4868 para o suco sem probiótico, e para o suco com probiótico a nota diminuirá em média 1,3648. Para o sabor terá uma estimativa de 7,0626 para o suco sem probiótico e no suco com a cultura diminuirá 1,6626. E por último a impressão global que terá uma estimativa de 7,2978 para o suco sem probiótico e para o suco com a cultura diminuirá 2,4374.

Compreende-se que as notas da aparência e impressão global para o suco com probiótico tendem a ser baixas, em comparação com o suco sem probióticos.

A análise acima mostrou que os provadores preferiram o suco sem probiótico, porém nota-se que os provadores gostaram ligeiramente do aroma do suco com probiótico, e tiveram dúvidas quanto ao sabor.

6. CONCLUSÃO

Os parâmetros físico-químicos dos sucos de manga, com probiótico e sem probiótico, avaliados apresentou-se de acordo com a Legislação Brasileira em vigor. Observou-se uma variação significativa nos parâmetros como o aumento do pH e do parâmetro L*, da análise de cor, e a redução dos sólidos totais, °Brix e acidez titulável. E a análise microbiológica apresentou uma boa viabilidade, tanto no probiótico microencapsulado, quanto no suco adicionado da cultura microencapsulada.

A utilização dos modelos mistos para a análise de dados do teste de aceitação, ofereceu resultados importante sobre a variabilidade dos provadores em relação a cada atributo, através do efeito aleatório consegue-se identificar qual foi o atributo mais aceito pelo provadores, além disso fornece as diferenças estatisticamente significativas à nível de 5% na parte do efeito fixo. O pacote utilizado lmerTest é de fácil implementação e interpretação.

Com os resultados fornecidos pelo modelo misto observou-se que os provadores preferiram o suco sem probiótico e certamente comparariam o produto, porém em relação ao suco com probiótico eles gostaram do aroma, e apresentaram dúvidas quanto ao sabor e a compra do produto.

Para uma análise sensorial mais completa deve ser feitos painéis sensoriais para destacar características específicas do suco de manga com probióticos, que não foram estudadas neste trabalho.

7. REFERÊNCIAS

AMORIM, I. S.; KUZNETSOVA, A.; LIMA, R. R.; BROCKHOFF, P. B. **Modelos lineares mistos na análise de dados sensoriais e em estudos com consumidores utilizando o pacote SensMixed do R.** RBRAS/SEAGRO, 2015.

ANEKELLA, K.; ORSAT, V. Optimization of microencapsulation of probiotics in raspberry juice by spray drying. **LWT – Food Science and Technology**, v. 50, p. 17-24, 2013.

ANTUNES, L. L. **Viabilidade de *Lactobacillus acidophilus* livre e microencapsulado em sucos funcionais.** 81 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Engenharia de Alimentos) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira - PR, 2018.

AZEREDO, H. M. C. **Encapsulação: Aplicação à tecnologia de alimentos.** Alim. Nutr., v. 16, n. 1, p. 89-97, Araraquara, 2005.

BATES, D.; MAECHLER, M.; BOLKER, B.; WALKER, S. Fitting Linear Mixed-Effects Models Using lme4. **Journal of Statistical Software**, v. 67, n. 1, p. 1-48, 2015.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Instrução normativa nº37, de 1º de outubro de 2018. **Parâmetros analíticos e quesitos complementares aos padrões de identidade e qualidade de suco de fruta**, 2018. Disponível em: http://www.in.gov.br/materia/-/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/44304943/do1-2018-10-08-instrucao-normativa-n-37-de-1-de-outubro-de-2018-44304612. Acesso em: 02/08/2019

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Decreto nº 6871, de 4 de junho de 2009. Padronização, classificação, registro, inspeção, produção e fiscalização de bebidas, 2009. Disponível em:

http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/ Ato2007-2010/2009/Decreto/D6871.htm.

Acesso em: 02/08/2019

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução nº 241, de 26 de julho de 2018. **Requisitos para comprovação da segurança e dos benefícios à saúde dos probióticos para o uso em alimentos.** Disponível em: http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/3898888/RDC_241_2018_.pdf/941cda52-0657-46dd-af4b-47b4ee4335b7. Acesso em: 10/08/2019

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução nº 243, de 26 de julho de 2018. **Requisitos para composição, qualidade, segurança e rotulagem dos suplementos alimentares e para atualização das listas de nutrientes, substâncias bioativas, enzimas e probióticos, de limites de uso, de alegações e de rotulagem complementar destes produtos.** Disponível em: <http://www.in.gov.br/web/dou/-/resolucao-da-diretoria-colegiada-rdc-n-243-de-26-de-julho-de-2018-34379917?inheritRedirect=true>. Acesso em: 29/12/2019

CANOSSA, A. T.; REINEHR, J.; BEM, B. P.; ALLENBANDT, R.; WURZ, D. A.; KRETZCHMAR, A. A. **Composição química e análise sensorial de suco de uva elaborado com três variedades cultivadas em Lages – Santa Catarina.** Revista da Jornada da Pós-Graduação e pesquisa – Congrega, 2017.

CAYUELA, L. **Modelos lineales mixtos em R.** EcoLab, Universidad de Granada – Junta de Andalucía, p. 107-153, 2010.

COELHO, J. C. **Elaboração de bebida probiótica a partir do suco de laranja fermentado com *Lactobacillus casei*.** 91 f. Dissertação (Mestrado em Ciências e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza -CE, 2009.

CULPI, T. A.; PASQUALIM, P.; FIN, M. T.; SASSO, D. G. B.; KAMINSKI, G. A. T.; FUJIWARA, G.M.; NUNES, P. M. P.; RODRIGUES, B. H.; DIAS, J. F. G.; ZANIN, S. M.W. **Importância de parâmetros de controle na elaboração de micropartículas de cálcio(ca+2) - alginato.** Visão Acadêmica, v.11, p. 38-44, 2010.

DIAS, C. O; ALMEIDA, J. S. O.; VERRUCK, S.; PEREIRA, L. C.; PRUDÊNCIO, E. S.; AMBONI, R. D. M. C. **Propriedades físicas de microcápsulas de suco de maracujá (*Passiflora edulis flavicarpa*) e polissacarídeos contendo *Bifidobacterium* BB-**

12. XXV Congresso Brasileiro de Ciências e Tecnologia de Alimentos – Gramados – RS, 2016.

ETCHEPARE, M. A.; MENEZES, M. F. S. C.; BARRETO, A. R.; CAVALHEIRO, C. P.; MENEZES, C. R. Microencapsulação de probióticos pelo método de extrusão associado a interações eletrostáticas. **Ciência e Natura**, v. 37, n. 5, p. 75-86, 2015.

ESPINOZA, Y. R.; NAVARRO, Y. G. Non-dairy probiotic products. **Food Microbiology**, v. 27, p. 1-11, 2010.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS/ WORLD HEALTH ORGANIZATION (FAO/WHO), **Probiotics in food – Health and nutritional properties and guidelines for evaluation**, 2001.

FULLER, R. **Probiotics in man and animals**. Journal of Applied Bacteriology, 66, p. 365-378, 1989.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4 a. ed. 1a edição digital. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008.

KOMATSU, T. R.; BURITI, F. C. A.; SAAD, S. M. I. Inovação, persistência e criatividade superando barreiras no desenvolvimento de alimentos probióticos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 44, n. 3, p. 329-347, 2008.

KUZNETSOVA A.; AMORIM I.; BROCKHOFF P. B.; LIMA R. R. **Analysing sensory data in a mixed effects model framework using the R package Sens- Mixed**. Food Quality and Preference Journal, 2015

KUZNETSOVA, A.; BROCKHOFF, P. B. (2015). **Linear mixed models in sensometrics**. Kgs. Lyngby: Technical University of Denmark. (DTU Compute PHD-2015; No. 374).

LISERRE, A. M. **Microencapsulamento de *Bifidobacterium lactis* para aplicação em leites fermentados**. 93f. Tese (Doutorado em Ciências dos Alimentos) – Universidade de São Paulo, São Paulo – SP, 2005.

LOVELEEN KAUR SARAO; M. ARORA **Probiotics, prebiotics, and microencapsulation: A review**, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57:2, 344-371, 2017.

LUCKOW, T.; DELAHUNTY, C. Which juice is healthier? A consumer study of probiotic non-dairy juice drinks. **Food Quality and Preference**. 15, 751–759, 2004.

MACHADO, L. F.; RIZZATTO, M. L. **Produção e análise físico-químicas de bebida probiótica de suco de maracujá**. *Cogitare*, v. 2, n. 1, p. 50-69, 2019.

MARZAROTTO, V. Suco de uva. In: Venturini, W. G. F. (Org.) **Tecnologia de Bebidas: matéria-prima, processamento, BPF/APPCC, legislação e mercado**: São Paulo: Edgard Blücher, p. 311–346, 2005.

NEVES, L. S. **Fermentado probiótico de suco de maçã**. 106f. Tese (Doutorado em Processos Biotecnológicos Agroindustriais) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba – PR, 2005.

OLIVEIRA, M. N.; SEVIERI, K.; ALEGRO, J. H. A.; SAAD, S. M. I. Aspectos tecnológicos de alimentos funcionais contendo probióticos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 38, n. 1, 2002.

PIANO, M. DEL; MORELLI, L.; STROZZI, G. P. Probiotics: from research to consumer. **Digestive and Liver Disease**, v. 38, n. 2, p. 248-255, 2006.

PINHEIRO, J.; BATES, D.; DEBROY, S.; SARKAR, D; R core Team. **nlme: Linear and Nonlinear Mixed Effects Models**. R package version 3.1-140, 2019. URL: <https://CRAN.R-project.org/package=nlme>

PIMENTEL, T. C. **Suco clarificado de maçã com *Lactobacillus paracasei* ssp. *Paracasei* e oligofrutose ou sucralose: aspectos sensoriais e estabilidade físico-química, pre e probiótica em armazenamento refrigerado**. 177 f. Tese (Doutorado em Ciências dos Alimentos) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina – PR, 2014.

PIMENTEL, T. C.; PRUDENCIO, S. H.; RODRIGUES, R. S. **Néctar de pêssego potencialmente simbiótico**. *Alim. Nutr. Araraquara*, v. 22, n. 3, p. 455-464, 2011.

RAMOS, J. A. **Desenvolvimento e aceitação de pasta de abacate com potencial probiótico**. 108f. (Doutorado em Agronomia) – Universidade Estadual Paulista Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu – SP, 2018.

ROCHA, L. C. R. **Desenvolvimento de micropartículas contendo suco de tomate via gelificação iônica**. 87f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Biomateriais) – Universidade Federal de Lavras, Lavras – MG, 2017

SAAD, S. M. I. Probióticos e Prebióticos: O estado da arte. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. São Paulo, v. 42, nº 1, p. 2- 12, 2006.

SAAD, S. M.; CRUZ, A. G.; FARIA, J. A. F. **Probióticos e prebióticos em alimentos**. Editora Varela, Ed. 1ª, 2011.

SANTOS, M. A. **Caldo de cana (*Saccharum officinarum*) probiótico adicionado de prebióticos: aceitação sensorial e estabilidade físico-química e probiótica**. 97f. Dissertação de Mestrado (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Estadual de Maringá, 2018.

SANTOS, R. B.; BARBOSA, L. P. J. L.; BARBOSA, F. H. F. **Probióticos: microrganismos funcionais**. Ciência Equatorial, v. 1, n. 2, 2º semestre, 2011.

SANTOS FILHO, A. L. **Efeito das condições de fermentação e da estocagem na qualidade de suco de probiótico de cacau**. 59f. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Engenharia de Alimentos) – Universidade Federal do Maranhão, Imperatriz – MA, 2018.

SILVA, J. P. L.; FURTADO, A. A. L.; GOMES, I. A.; PONTES, S. M.; GOMES, F. S.; RIBEIRO, A. P. O. **Processo de obtenção de bebida não láctea com probiótico preservada por pasteurização e enchimento a quente**. Comunicado Técnico – EMBRAPA, Rio de Janeiro – RJ, 2017.

SILVA, R. A.; OLIVEIRA, A. B.; FELIPE, E. M. F.; NERES, F. P. T. J.; MAIA, G. A.; COSTA, J. M. C. **Avaliação físico-química e sensorial de néctares de manga de diferentes marcas comercializadas em Fortaleza / CE**. UEPG – Ci. Exatas Terra, Ci. Agr. Eng., Ponta Grossa, 2005.

SOUZA, A. L. R.; RODRIGUES, F. M.; SILVA, G. V.; SANTOS, R. R. **Microencapsulação de sucos e polpas de frutas por *spray drying*: uma revisão.** Rev. Brasileira de Produtos Agroindustriais, v. 17, n.3, p. 327-338, Campina grande – PB, 2015.

SOUZA, R. S. **Elaboração de bebida probiótica sabor manga e uva com *Lactobacillus acidophilus*.** 24f. Projeto de Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Tecnologia em Alimentos) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina – PR, 2014.

ZERBETO, A. P. **Introdução aos modelos mistos em R.** Meetup São Paulo R User Group, São Paulo – SP, 2015.

ZIEMER, C.J., GIBSON, G.R. An overview of probiotics, prebiotics and synbiotics in the functional food concept: perspectives and future strategies. **Institute of Food Research, *Int. Dairy Journal***, v. 8, p.473-479, 1998.