



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE
ALIMENTOS – PEG/UEM**

**CALDO DE CANA (*Saccharum officinarum*) PROBIÓTICO
ADICIONADO DE PREBIÓTICOS: ACEITAÇÃO SENSORIAL E
ESTABILIDADE FÍSICO-QUÍMICA E PROBIÓTICA**

Maringá

2018



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE
ALIMENTOS – PEG/UEM**

**CALDO DE CANA (*Saccharum officinarum*) PROBIÓTICO
ADICIONADO DE PREBIÓTICOS: ACEITAÇÃO SENSORIAL E
ESTABILIDADE FÍSICO-QUÍMICA E PROBIÓTICA**

Morgana Andrade dos Santos

Eng^a Agroindustrial Indústrias Alimentícias, FURG, 2015

Orientador: Prof^a. Dr^a. Tatiana Colombo Pimentel

Coorientador: Prof^a. Dr^a. Raquel Guttierres Gomes

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 PROCESSOS
TECNOLÓGICOS
APLICADOS A ALIMENTOS

Maringá – PR – Brasil

Abril de 2018

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

S237c Santos, Morgana Andrade dos
Caldo de cana (*Saccharum officinarum*) probiótico
adicionado de prebióticos: aceitação sensorial e
estabilidade físico-química e probiótica / Morgana
Andrade dos Santos. -- Maringá, PR, 2018.
85 f.: il. color.

Orientador: Prof^a. Dr^a. Tatiana Colombo Pimentel.
Coorientador: Prof^a. Dr^a. Raquel Guttierres
Gomes.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de
Maringá, Centro de Tecnologia, Departamento de
Engenharia de Alimentos, Programa de Pós-Graduação
em Engenharia de Alimentos, 2018.

1. Cana-de-açúcar - Produção. 2. Caldo de cana -
Processamento. 3. Probióticos. 4. Prebióticos. I.
Pimentel, Tatiana Colombo, orient. II. Gomes, Raquel
Guttierres, orient. III. Universidade Estadual de
Maringá. Centro de Tecnologia. Departamento de
Engenharia de Alimentos. Programa de Pós-Graduação
em Engenharia de Alimentos. IV. Título.

CDD 23.ed. 664.8

Márcia Regina Paiva de Brito – CRB-9/1267

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 Morgana Andrade dos Santos perante a Comissão Julgadora do Curso de Mestrado em Engenharia de Alimentos em 23 de março de 2018.

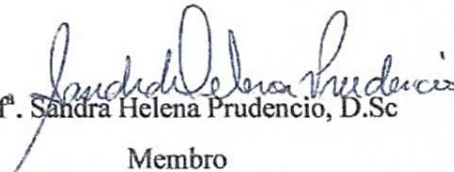
COMISSÃO JULGADORA


Prof.^a Tatiana Colombo Pimentel, D.Sc

Orientadora


Prof.^a Raquel Gutierrez Gomes, D.Sc

Co-Orientadora


Prof.^a Sandra Helena Prudencio, D.Sc

Membro


Prof. Adriano Gomes da Cruz, D.Sc

Membro

AGRADECIMENTOS

À Prof^a. Dr^a. Tatiana Colombo Pimentel pela orientação, apoio e incentivo para realização deste trabalho.

Aos professores Dr^a. Raquel Guttierres Gomes (UEM), Dr^a. Suellen Jensen Klososki (IFPR), Dr. Carlos Eduardo Barão (IFPR) e professores do programa de pós-graduação em Engenharia de Alimentos que se dispuseram a transmitir seus conhecimentos ao longo do curso.

Aos meus pais Luiz Francisco e Tânia Maria pelo incentivo, compreensão e apoio dedicados ao longo destes anos. E todo o carinho dedicado.

A Radilson Marcos de Oliveira, proprietário da Guaraparia e Lanchonete Ágape pelo incentivo à pesquisa e doação de toda a matéria-prima necessária para realização deste trabalho.

À SweetMix pela doação da oligofrutose.

À Tovani Benzaquem Ingredientes pela doação da polidextrose.

À Universidade Estadual de Maringá pela oportunidade de estudo.

Ao IFPR, Campus Paranavaí, pela estrutura para o desenvolvimento deste trabalho.

Aos alunos do IFPR, Campus Paranavaí, pela colaboração nos experimentos realizados.

À toda a equipe de laboratório pela disposição em ajudar.

**CALDO DE CANA (*Saccharum officinarum*) PROBIÓTICO ADICIONADO DE
PREBIÓTICOS: ACEITAÇÃO SENSORIAL E ESTABILIDADE FÍSICO-
QUÍMICA E PROBIÓTICA**

AUTOR: MORGANA ANDRADE DOS SANTOS

ORIENTADOR: PROF^a. DR^a. TATIANA COLOMBO PIMENTEL

COORIENTADOR: PROF^a. DR^a. RAQUEL GUTTIERRES GOMES

Dissertação de Mestrado; Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos; Universidade Estadual de Maringá; Av. Colombo, 5790, BL 13 – 07; CEP: 87020-900 – Maringá – PR, Brasil.

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da adição direta da cultura probiótica liofilizada (*Lactobacillus casei*, 2 g/L) e de prebióticos (oligofrutose ou polidextrose, 20 g/L) nas características físico-químicas, sobrevivência probiótica e na aceitação de caldo de cana pasteurizado durante armazenamento refrigerado (7°C/28 dias). Seis formulações de caldo de cana foram preparadas: (PURO) puro, (PRO) adicionado de probiótico, (OLIG) adicionado de oligofrutose, (POLI) adicionado de polidextrose, (SIMB-O) adicionado de probiótico e oligofrutose e (SIMB-P) adicionado de probiótico e polidextrose. Os produtos foram avaliados quanto às características físico-químicas (pH, acidez titulável, teor de sólidos solúveis, turbidez, parâmetros de cor L*, a* e b* e teor de compostos fenólicos totais), textura (firmeza, consistência, coesividade e índice de viscosidade), sobrevivência da cultura probiótica e aceitação (94 avaliadores não treinados). A incorporação de oligofrutose ou polidextrose resultou em produtos com características físico-químicas, textura, aceitação e estabilidade ao armazenamento semelhantes ao produto puro. O *L. casei* permaneceu viável no produto ($> 10^9$ UFC/mL), mas sua adição aumentou a acidez, turbidez e luminosidade e diminuiu a aceitação durante o período de armazenamento. Este estudo mostrou que é possível adicionar diretamente a cultura probiótica liofilizada (*L. casei*) ao caldo de cana, substituindo os métodos tradicionais de ativação e propagação da cultura em caldo *Man Rogosa Sharp* (MRS) ou em sucos de fruta, resultando em um processo de fabricação mais fácil e rápido e em produtos com altas contagens probióticas ($> 10^9$ UFC/mL). No entanto, a quantidade de probiótico adicionada deve ser otimizada para minimizar as alterações físico-químicas e sensoriais.

Palavras chave: *Saccharum officinarum*; oligofrutose; polidextrose; cultura probiótica.

**PROBIOTIC SUGAR CANE JUICE (*Saccharum officinarum*) ADDED WITH
PREBIOTICS: SENSORY ACCEPTANCE AND PHYSICOCHEMICAL AND
PROBIOTIC STABILITY**

AUTHOR: MORGANA ANDRADE DOS SANTOS

SUPERVISOR: PROF. DR. TATIANA COLOMBO PIMENTEL

COSUPERVISOR: PROF^a. DR^a. RAQUEL GUTTIERRES GOMES

Master Thesis; Food Engineering Graduate Program; State University of Maringá; Av. Colombo, 5790, BL 13 – 07; CEP: 87020-900 – Maringá – PR, Brazil.

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the effect of the direct addition of the freeze dried probiotic culture (*Lactobacillus casei*, 2 g/L) and of prebiotics (oligofructose or polydextrose, 20 g/L) on the physicochemical characteristics, probiotic survival and on the acceptance of pasteurized sugarcane juice during refrigerated storage (7 °C/28 days). Six formulations of sugarcane juice were prepared: (PURO) pure, (PRO) added probiotic, (OLIG) added oligofructose, (POLI) added polydextrose, (SIMB-O) added probiotic and oligofructose and (SIMB-P) added probiotic and polydextrose. The products were evaluated for physicochemical characteristics (pH, titratable acidity, soluble solids content, turbidity, L*, a* and b* color parameters and total phenolic compounds content), texture (firmness, consistency, cohesiveness and index of viscosity), probiotic culture survival and acceptance (94 untrained testers). The incorporation of oligofructose or polydextrose resulted in products with physicochemical characteristics, texture, acceptance and storage stability similar to the pure product. The *L. casei* remained viable in the product ($> 10^9$ cfu/mL), but its addition increased the acidity, turbidity and luminosity, and decreased the acceptance during the storage period. This study showed that it is possible to directly add the freeze dried probiotic culture (*L. casei*) to the sugarcane juice, replacing the traditional methods of activation and propagation of the culture in Man Rogosa Sharp (MRS) broth or juice, resulting in easier and faster manufacturing process and products with high probiotic counts ($> 10^9$ cfu/mL). However, the probiotic inoculum should be optimized in order to minimize the physicochemical and sensory alterations.

Palavras chave: *Saccharum officinarum*; oligofructose; polidextrose; cultura probiótica.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Estrutura da cana-de-açúcar	6
Figura 2 – Processamento de caldo de cana	8
Figura 3 – Atuação das culturas probióticas.....	14
Figura 4 – Estrutura geral da oligofrutose	22
Figura 5 – Estrutura geral da Polidextrose	24
Figura 6 – Etapas de processamento dos caldos de cana.....	27
Figura 7 – Cultura <i>L. casei</i>	35
Figura 8 – Componentes prebióticos	36
Figura 9 – Formulações de caldo de cana após um dia de armazenamento.	36
Figura 10 – Contagens médias (log UFC/mL) de <i>Lactobacillus casei</i> dos caldos de cana durante o período de armazenamento a 7°C*.....	45

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Produção e projeções de produção de cana-de-açúcar – 2014/15 a 2024/25.	4
Tabela 2 – Composição do caldo de cana*.....	7
Tabela 3 – Padrões microbiológicos sanitários para sucos e refrescos não alcoólicos.	11
Tabela 4 - Critérios de seleção para culturas probióticas	15
Tabela 5 – Microrganismos utilizados como probióticos.....	16
Tabela 6 – Benefícios à saúde de <i>L. casei</i> 01	17
Tabela 7 – Principais parâmetros que afetam a viabilidade das culturas probióticas em sucos vegetais.	19
Tabela 8 – Delineamento experimental	28
Tabela 9 – Composição do caldo de cana (g/100mL)*	34
Tabela 10 – Parâmetros de cor (L^* , a^* e b^*) e turbidez dos caldos de cana armazenado a 7°C*.....	39
Tabela 11 – Valores médios de pH, acidez titulável, compostos fenólicos e SST dos caldos de cana armazenados a 7°C*.	40
Tabela 12 – Valores médios de firmeza, consistência, coesividade e viscosidade dos caldos de cana armazenados a 7°C*.	44
Tabela 13 – <i>Salmonella spp.</i> e coliformes termotolerantes (45°C) em caldo de cana armazenado (28 dias a 7°C)*.....	48
Tabela 14 – Valores médios de aceitação (aparência, aroma, sabor, textura e impressão geral) e Intenção de compra dos caldos de cana armazenados a 7°C*.....	51

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 – INTRODUÇÃO.....	1
CAPÍTULO 2 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	4
2.1 – Cana-de-açúcar.....	4
2.1.1 – Produção.....	4
2.1.2 – Características da cana-de-açúcar	5
2.1.3 – Caldo de cana	6
2.1.4 – Processamento do caldo de cana	7
2.2 – Alimentos funcionais	11
2.2.1 – Mercado de alimentos funcionais	12
2.3 – Probióticos	13
2.3.1 – <i>Lactobacillus casei</i> (<i>L. casei</i> 01).....	16
2.4 – Sucos de frutas probióticos	19
2.5 – Prebióticos.....	21
2.6 – Simbióticos.....	25
2.7 – Análise Sensorial aplicada a produtos alimentícios	25
CAPÍTULO 3 – MATERIAIS E MÉTODOS	27
3.1 – Material	27
3.2 – Processamento do caldo de cana	27
3.3 – Composição química.....	29
3.4 – Avaliação físico-química	29
3.4.1 – pH e acidez titulável	29
3.4.2 – Sólidos Solúveis Totais (SST).....	29
3.4.3 – Cor	29
3.4.4 – Textura.....	30
3.4.5 – Turbidez.....	30
3.4.6 – Determinação do teor de compostos fenólicos totais.....	30
3.5 – Análises microbiológicas	31
3.6 – Análise sensorial	31
3.7 – Delineamento experimental e análise estatística.....	32
CAPÍTULO 4 – RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
4.1 – Composição Centesimal.....	33
4.2 – Cor e turbidez.....	35
4.3 – pH, acidez, SST e conteúdo de compostos fenólicos.....	37

4.4 – Textura	42
4.5 – Contagem de <i>L. casei</i>	45
CAPÍTULO 5 – CONCLUSÕES	52
CAPÍTULO 6 – SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	53
CAPÍTULO 7 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	54
ANEXO I – Curva de calibração do ácido gálico	66
ANEXO II – Parecer emitido pelo Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos	67
ANEXO III – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)	80
ANEXO IV – Questionário para recrutamento de avaliadores	85

CAPÍTULO 1 – INTRODUÇÃO

O caldo de cana é uma bebida rica em sacarose obtida pelo esmagamento dos caules da cana-de-açúcar e extração do suco (CHAUHAN *et al.*, 2017). É uma bebida não alcoólica, caracterizada como um líquido viscoso e opaco, com cor variando de cinza claro a verde escuro (MANIKANTAN *et al.*, 2017). Apresenta valores significativos de carboidratos, minerais (potássio, cálcio, fósforo, magnésio e ferro) e vitaminas (complexo B e C), sendo um produto energético (80-100 kcal/100 mL) e com pH variando de 4 a 5 (SUGANTHI *et al.*, 2018). A presença de açúcares, compostos fenólicos e ácidos orgânicos e a alta atividade da enzima polifenoloxidase provocam fermentação rápida e aparência acastanhada escura ao produto, resultando em um produto não comercializável apenas algumas horas após a extração (MATTOS *et al.*, 2017; NISHAD *et al.*, 2017). Além disso, a degradação da qualidade devido à deterioração microbiana também é um fator de preocupação (SREEDEVI *et al.*, 2017). A pasteurização em condições adequadas poderia superar esses problemas, mas, apesar do grande potencial para a indústria de bebidas, a comercialização de caldo de cana é praticamente restrita ao consumo imediato logo após a extração (MATTOS *et al.*, 2017; NISHAD *et al.*, 2017).

Nos últimos anos, tem havido uma maior demanda de produtos probióticos não lácteos devido ao aumento de intolerantes à lactose, alérgicos a proteínas do leite, indivíduos estritamente vegetarianos, e pessoas que não apreciam o sabor do leite (ALVES FILHO *et al.*, 2017). As bebidas de frutas e vegetais podem ser boas carreadoras de culturas probióticas, pois são ricas em nutrientes essenciais (minerais, vitaminas, fibras e antioxidantes), são consumidas por pessoas de todas as faixas etárias e regularmente, não contêm outros microrganismos que possam competir com as culturas probióticas e não apresentam componentes alergênicos (PANGHAL *et al.*, 2017).

As culturas probióticas são adicionadas às bebidas de frutas e vegetais em uma forma ativada e após a propagação do probiótico em caldo *Man Rogosa Sharp* (MRS) (SHEEHAN *et al.*, 2007; DING; SHAH, 2008; PIMENTEL *et al.*, 2015; VALERO-CASES; FRUTOS, 2017) ou em sucos (COSTA *et al.*, 2017). No entanto, esta metodologia implica em uma grande quantidade de tempo para obter a cultura ativada (24-54 h), precisa de uma centrífuga refrigerada para a separação da biomassa e aumenta o risco de contaminação por causa das várias etapas necessárias. Esses fatores limitam o interesse industrial e impedem a produção de sucos probióticos por pequenas e médias indústrias (COSTA *et al.*, 2017). A adição direta da cultura probiótica liofilizada reduziria

o tempo de processo, não precisaria de equipamentos específicos e diminuiria a preocupação com a segurança microbiológica. No entanto, as características sensoriais podem ser prejudicadas, bem como a viabilidade da cultura probiótica, porque o microrganismo não estaria em uma forma ativa. Apenas um estudo aplicou diretamente culturas probióticas a sucos de frutas (PORTO *et al.*, 2018), mas o efeito do probiótico não foi avaliado, pois não havia um suco controle (sem adição do probiótico).

Os prebióticos são componentes alimentares não viáveis que conferem benefícios à saúde do hospedeiro associados à modulação de sua microbiota (GIBSON *et al.*, 2017). Em produtos alimentícios, os prebióticos poderiam ajudar a aumentar a sobrevivência das culturas probióticas durante o armazenamento (COSTA *et al.*, 2017). A oligofructose já foi usada como prebiótico em suco de maçã (PIMENTEL *et al.*, 2015) e suco de laranja (COSTA *et al.*, 2017) e seu efeito protetor sobre as culturas probióticas foi dependente da matriz alimentar. Até onde se conhece, não existem estudos que apliquem polidextrose como prebiótico em bebidas de frutas e vegetais.

Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da adição direta da cultura probiótica liofilizada (*Lactobacillus casei*) e de prebióticos (oligofructose ou polidextrose) nas características físico-químicas, na sobrevivência probiótica e na aceitação de caldo de cana pasteurizado durante armazenamento refrigerado (7°C / 28 dias).

1.1 – Objetivos

1.1.1 – Objetivo geral

Avaliar o efeito da adição direta da cultura probiótica liofilizada (*Lactobacillus casei*) e de prebióticos (oligofructose ou polidextrose) nas características físico-químicas, sobrevivência probiótica e aceitação de caldo de cana pasteurizado durante armazenamento refrigerado (7°C / 28 dias).

1.1.2 – Objetivos específicos

- ✓ Elaborar uma bebida funcional a base de caldo de cana adicionada de probiótico (*L. casei*) e/ou prebióticos (oligofructose e polidextrose);
- ✓ Avaliar o efeito da adição da cultura probiótica (*L. casei*) e/ou de prebióticos (oligofructose ou polidextrose) nas características físico-químicas e microbiológicas e na aceitação de caldo de cana;

- ✓ Avaliar a estabilidade físico-química e microbiológica dos produtos durante 28 dias de armazenamento refrigerado (7°C);
- ✓ Determinar a sobrevivência da cultura probiótica;
- ✓ Medir por teste afetivo a aceitação e a intenção de compra das formulações no 1º e 28º dias de armazenamento refrigerado.

CAPÍTULO 2 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 – Cana-de-açúcar

2.1.1 – Produção

A cultura da cana-de-açúcar encontra-se difundida em vários países. Brasil, Índia, China, Tailândia e Paquistão detêm o título de maiores produtores desta cultura (KIST, 2016). O Brasil encontra-se, atualmente, na primeira colocação mundial em nível de produção. Segundo dados da CONAB (2016), a produção brasileira de cana-de-açúcar para safra 2016/17 foi de 694,54 milhões de toneladas, 4,4% a mais que a safra anterior. As maiores áreas plantadas estão distribuídas nos estados de São Paulo com 52,4% (400,57 milhões de toneladas), seguido por Goiás com 10,5% (68,65 milhões de toneladas), Minas Gerais com 9,4% (64,63 milhões de toneladas), Mato Grosso do Sul com 7% (44,29 milhões de toneladas), Paraná com 6,8% (43,03 milhões de toneladas) e Alagoas com 3,6% (17,77 milhões de toneladas). Nos demais estados produtores as produções são menores (CONAB, 2016).

De acordo com o MAPA (2015), estimativas para as próximas safras seguem uma tendência crescente de produção. Na Tabela 1 é apresentada a produção dos anos 2014/15, estimativa para a safra de 2024/25, seguidas da correspondente variação para alguns estados selecionados.

Tabela 1 – Produção e projeções de produção de cana-de-açúcar – 2014/15 a 2024/25.

Estados	Produção (mil toneladas)		Var. %
	2014/15	2024/25	
Goiás	61.092	83.005	35,9
Minas Gerais	70.575	92.752	31,4
Mato Grosso	20.332	26.592	30,8
Paraná	50.769	67.351	32,7
São Paulo	343.345	423.937	23,5
Brasil	617.520	839.014 à 1.062.468	35,9 a 72,1

Fonte: MAPA (2015)

A cana-de-açúcar é destinada para produção de diversos produtos, tanto no ramo alimentício quanto para a geração de energia e alimentação animal. Dentre os derivados de maior visibilidade estão o açúcar e o etanol (KIM, 2012; CONAB, 2016).

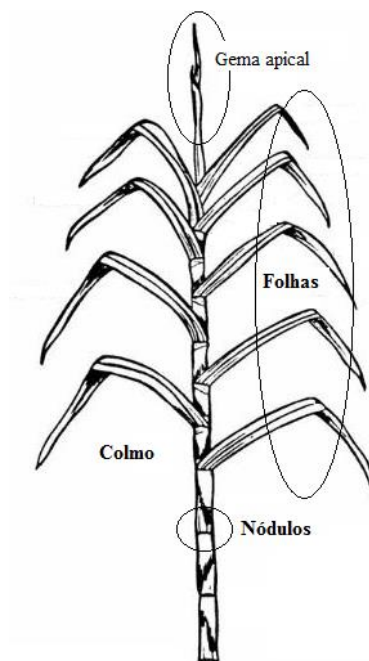
2.1.2 – Características da cana-de-açúcar

A cana-de-açúcar é uma planta pertencente à família das gramíneas (*Gramineae*) do gênero *Saccharum* (DELGADO; CESAR, 1975), cuja principal espécie é *Saccharum officinarum*. Originária da Malásia adaptou-se muito bem a países tropicais e subtropicais de todo o mundo.

A temperatura, umidade e luminosidade são os principais fatores climáticos que controlam o desenvolvimento da cana. A cana-de-açúcar é uma planta tropical que cresce melhor em lugares quentes e ensolarados. A temperatura mínima para crescimento está na faixa de 14 a 16°C, já a temperatura ótima deve estar em torno de 30°C (SÃO PAULO, 2017).

De forma geral, a planta é constituída de um sistema radicular, dos colmos, onde a sacarose é predominantemente estocada, das folhas dispostas ao redor da cana, dos nódulos inter-colmos e também da parte superior da planta onde se localiza a gema apical (palmito) (Figura 1) (MANTELATTO, 2005).

A parte morfológica da cana-de-açúcar de interesse comercial é o colmo, que compreende uma parte chamada de fibra sólida e uma parte líquida, suco, contendo água e sacarose. A composição química dos colmos é extremamente variável em função de diversos fatores como: variedade, condições climáticas, condições do solo e adubação, tipo de cultivo, estágio de desenvolvimento, entre outros (CRUZ *et al.*, 2014; SÃO PAULO, 2017; SILVA *et al.*, 2012).



Fonte: Adaptado de Agricultura em foco (s/d)

Figura 1 – Estrutura da cana-de-açúcar

2.1.3 – Caldo de cana

O caldo de cana, também conhecido como garapa em algumas regiões brasileiras, é o sumo, rico em sacarose, extraído por moagem das hastes da cana-de-açúcar. É uma bebida energética não alcoólica, caracterizada como um líquido viscoso, opaco, de coloração que varia de cinza claro ao verde escuro (MANIKANTAN *et al.*, 2017), apresentando valores significativos de carboidratos, minerais (potássio, cálcio, fósforo, magnésio e ferro) e vitaminas (complexo B e C) (IBGE, 1999; TACO, 2011).

Segundo a legislação brasileira, o caldo de cana está na categoria de bebida preparada com vegetais, classificado como substância ou mistura de substâncias obtidas da polpa ou de outras partes de vegetais, acrescida ou não de outros ingredientes, destinada ao consumo (BRASIL, 2005). Fatores intrínsecos relacionados à composição da cana-de-açúcar, como teor de sacarose, açúcares redutores, fibras, compostos fenólicos e minerais sofrem variação, sendo afetados pela variedade da cana, condições climáticas, solo e tratos culturais (FIGUEIREDO *et al.*, 2008; GARCIA, 2013).

A composição química do caldo de cana está apresentada na Tabela 2.

Tabela 2 – Composição do caldo de cana*

Referência	IBGE (1999 e 2011)	REZZADORI (2010)	TACO (2011)
Calorias (kcal)	73,58*	80,82	65,0
Umidade (g)	78,8	79,47	81,7
Carboidratos (g)	19,97*	19,95	18,2
Proteínas (g)	0,3	0,26	-
Lipídios (g)	0,05*	<0,1	-
Fibra (g)	0,4	-	0,1
Cinzas (g)	0,3	0,33	0,1
Magnésio (mg)	1,0*		12,0
Cálcio (mg)	5,60*	-	9,0
Fósforo (mg)	12,0	-	-
Ferro (mg)	0,7	-	-

* composição em 100 mL de amostra

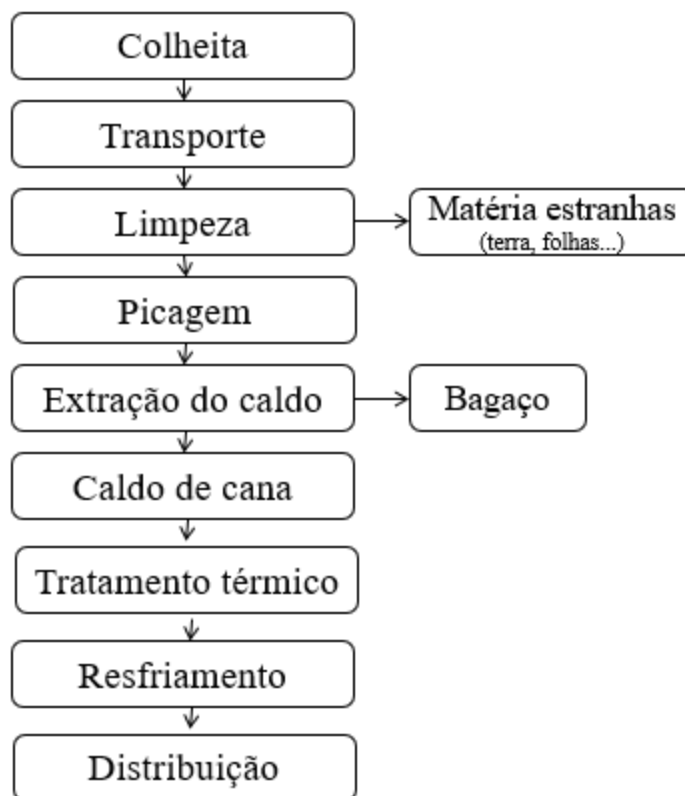
Fonte: Autor (2018)

O caldo de cana é um produto altamente energético, fonte de sacarose, além de apresentar alta atividade de água, e pH variando entre 4 e 5 (SUGANTHI, 2018). É considerado um ótimo meio nutriente para desenvolvimento de microrganismos, apresentando assim, vida útil curta. Estudos indicam que o caldo de cana *in natura* sofre deterioração de sabor e aparência em até 24 horas após a sua extração, mesmo sendo acondicionado sob refrigeração (KUNITAKE, 2012). Desta forma, tem-se a necessidade de aplicação de métodos de conservação adequados para garantia da qualidade, segurança e durabilidade dos produtos.

Industrialmente, até a obtenção do caldo de cana, a matéria-prima passa por diversas etapas, iniciando na colheita, transporte, limpeza, picagem e extração do caldo, e tratamento térmico, resfriamento e distribuição do caldo de cana.

2.1.4 – Processamento do caldo de cana

O processamento de obtenção de caldo de cana industrial pode ser realizado de forma semelhante ao processamento do açúcar e do etanol e está apresentado na Figura 2.



Fonte: Autor (2018)

Figura 2 – Processamento de caldo de cana

O processo de caldo de cana inicia-se na lavoura, onde canas-de-açúcar maduras são cortadas manualmente ou mecanicamente por colheitadeiras. Nesta fase, separa-se a palha dos colmos de cana, sendo estes direcionados a veículos que realizam o transporte até a unidade de processamento (SILVA *et al.*, 2011).

Na unidade processadora, os colmos são inicialmente higienizados em água, para remoção de impurezas advindas da lavoura. Por esteiras rolantes, as hastes de cana-de-açúcar são direcionadas a equipamentos cilíndricos, rotativos, equipados com facas. As facas cortam os bastões em pequenos pedaços, para facilitar o processo de extração do caldo. Em seguida, a matéria-prima passa através da moenda, que é composta de três cilindros metálicos com ranhuras, dispostos triangularmente. Além dos três cilindros, uma moenda pode possuir mais dois rolos, um de alimentação e outro de pressão, sendo esse conjunto chamado de terno de moenda. Durante a passagem da cana-de-açúcar por entre o equipamento, por efeito mecânico, ocorre a separação da fase sólida (bagaço) da líquida (caldo) que escoam entre as ranhuras dos cilindros (ADEWOLE *et al.*, 2015; PIACENTE *et al.*, 2016).

No tratamento térmico, a pasteurização é um dos processos mais aplicados na conservação de polpas e sucos de frutas, pois a combinação apropriada da temperatura e do tempo permite destruir microrganismos e inativar enzimas, devido às mudanças reversíveis ou irreversíveis em suas estruturas, com isto, aumentando a vida útil do produto. Geralmente, os sucos de baixa acidez ($\text{pH} > 4,6$) são aquecidos a uma temperatura mais alta que 100°C (esterilização); enquanto que os sucos ácidos ($\text{pH} < 4,6$) requerem o tratamento térmico abaixo de 100°C (pasteurização) (FELLOWS, 2006; (AGHAJANZADEH; ZIAIIFAR, 2018).

A pasteurização térmica convencional refere-se ao aquecimento do produto até a temperatura desejada e mantendo-o por um tempo específico, com base na resistência térmica do microrganismo alvo ou enzima. O processo mais simples, realizado em batelada, é conhecido como banho-maria, que dispensa a aquisição de equipamentos de alto custo (AGHAJANZADEH; ZIAIIFAR, 2018).

O tratamento UHT (do inglês Ultra High Temperature), que emprega alta temperatura por um período muito reduzido de tempo, é um processo contínuo destinado a produzir um produto "comercialmente estéril", isto é, um produto no qual os microrganismos não crescerão nas condições normais de armazenamento quando embalado assepticamente. Envolve o aquecimento a temperaturas superiores a 130°C (geralmente $138\text{-}145^{\circ}\text{C}$) para um tempo de espera de 1-10 s (geralmente 3-5 s) (DEETH; DATTA, 2011).

Os métodos mais comuns de aquecimento usam vapor ou água superaquecida, de forma direta ou indireta. Os métodos diretos, nos quais o vapor é misturado diretamente ao produto, o aquecimento se dá com muita rapidez e consegue atingir as altas temperaturas exigidas com uma mudança química mínima. Em contrapartida, em métodos indiretos, que envolvem trocadores de calor tubulares ou de placas, o aquecimento ocorre mais lentamente e, portanto, causa maiores mudanças químicas para o mesmo efeito bactericida que os métodos diretos (DEETH e DATTA, 2011; DEÁK, 2014). Outra forma é a pasteurização, chamada de HTST (do inglês High Temperature Short Time), que se baseia em aplicação de alta temperatura por períodos muito curtos, a uma temperatura de 75°C durante 10 segundos (WILBEY, 2014).

A escolha do tipo de tratamento térmico depende da sensibilidade ao calor do produto. Geralmente, o binômio tempo-temperatura inapropriado pode desencadear reações químicas que comprometem a qualidade nutricional, como degradação de

compostos bioativos, e reações de coloração, como reação de *Maillard*, afetando características sensoriais (AZEVEDO *et al.*, 2014; CHITGAR *et al.*, 2017).

Diversos estudos verificaram a eficiência do tratamento térmico na conservação de produtos. A saber, cita-se os estudos realizados por Chauhan *et al.* (2002) que avaliaram caldo de cana pasteurizado e tratado com ácido cítrico, ácido ascórbico e metabisulfito de potássio. Os autores verificaram que após o processo de pasteurização houve ausência de coliformes. Karmakar, Ghosh e Gangopadhyay (2011) observaram que a pasteurização (90°C/ 4 min) foi eficiente para garantir segurança microbiológica ao caldo de cana durante 25 dias de armazenamento refrigerado (4°C). Colantuono *et al.*, (2018) verificaram estabilidade microbiológica em suco de romã pasteurizado (80°C/30s), evitando deterioração do produto ao longo do armazenamento refrigerado (28 dias/5°C). A preservação da qualidade nutricional e sensorial ao longo do processamento e armazenamento é um desafio tecnológico da indústria (COLANTUONO *et al.*, 2018).

Finalizado o tratamento térmico o produto é submetido a arrefecimento, onde se atingem temperaturas de refrigeração convencional (7°C). A associação de diferentes métodos de conservação garantem a inibição ou inativação de microrganismos deteriorantes (MUKHOPADHYAY; GORRIS, 2014). Por fim tem-se as etapas de armazenamento e distribuição entregando ao consumidor final um produto de maior durabilidade.

Na industrialização do caldo de cana, cuidados devem ser tomados a partir da escolha da matéria-prima até a obtenção de um produto de qualidade. Empresas têm atribuído grande importância aos fatores intrínsecos e extrínsecos que afetam a qualidade da cana-de-açúcar. Os fatores intrínsecos são aqueles relacionados à composição da cana (teor de sacarose, teor de fibras, entre outros) e os fatores extrínsecos são, por exemplo, matérias estranhas e fatores climáticos, os quais podem causar alterações na composição da cana (FIGUEIREDO *et al.*, 2008)

A legislação brasileira estabelece os padrões microbiológicos para o caldo de cana, bem como os procedimentos higiênico-sanitários para preparo, acondicionamento, armazenamento, transporte, distribuição e comercialização de bebidas preparadas com vegetais, com a finalidade de prevenir doenças de origem alimentar (BRASIL, 2001; BRASIL, 2005). Valores acima dos estabelecidos pela legislação revelam condições higiênico-sanitárias deficientes durante o processamento. Na Tabela 3 são apresentados os padrões microbiológicos sanitários para caldo de cana pasteurizado e refrigerado.

Tabela 3 – Padrões microbiológicos sanitários para sucos e refrescos não alcoólicos.

Amostra	Microrganismos	Contagens*
Caldo de cana pasteurizado e refrigerado	Coliformes a 45°C <i>Salmonella spp.</i>	10 NMP/mL Ausência/25 mL

* Tolerância para amostra indicativa
Fonte: RDC nº 12, janeiro de 2001.

2.2 – Alimentos funcionais

O conceito de alimentos funcionais foi introduzido inicialmente no Japão em meados dos anos 1980. Denominados de “Alimentos para Uso Específico de Saúde”, do inglês *Foods for Specified Health Use* (FOSHU), referem-se a alimentos que contêm ingredientes oficialmente aprovados que apresentem efeitos fisiológicos no corpo humano. O consumo desses alimentos destina-se à manutenção/promoção da saúde ou para usos especiais, como controle da pressão arterial e dos níveis de colesterol (MINISTRY OF HEALTH, LABOUR AND WELFARE, 2017). O objetivo da procura pela melhoria na saúde da população japonesa, por meio dos alimentos funcionais, residia no fato da mesma concentrar-se numa faixa etária cada vez mais avançada e na busca por maneiras de reduzir a incidência de doenças e o custo representado por elas para o governo (KAUR; SINGH, 2017).

Ao longo dos anos os países adotaram diferentes definições, escopos e aspectos regulatórios, não havendo uma definição universalmente aceita para alimentos funcionais (KAUR; SINGH, 2017). No entanto, de forma geral, são considerados alimentos funcionais aqueles de aparência semelhante a um alimento convencional, consumidos como parte de uma dieta normal, e que demonstrem ter benefícios fisiológicos e/ou reduzir o risco de doença crônica, além das funções nutricionais essenciais (REIS *et al.*, 2017a).

No Brasil, o termo “Alimento Funcional” não é descrito em legislação, porém, em 1999 foram regulamentadas as Alegações de Propriedade Funcional e Propriedade de Saúde, sendo as primeiras relativas ao papel metabólico ou fisiológico que o nutriente ou não nutriente tem no crescimento, desenvolvimento, manutenção e outras funções normais do organismo humano, e as Alegações de Propriedade de Saúde aquelas que afirmam, sugerem ou implicam a existência de relação entre o alimento ou ingrediente com determinada doença ou condição relacionada à saúde (BRASIL, 1999a,b).

As resoluções estabelecem que o alimento ou ingrediente que alegar propriedades funcionais ou de saúde, deve, 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. Não são permitidas alegações de saúde que façam referência à cura ou prevenção de doenças, pois as doenças crônicas degenerativas são multifatoriais e o controle de apenas um componente como a dieta não é suficiente para a prevenção (BRASIL, 1999a,b).

Dentre os componentes funcionais adicionados ou naturalmente presentes no alimento estão: ácidos graxos ômega 3, carotenoides (licopeno, luteína, zeaxantina), fibras alimentares, prebióticos (fruto-oligossacarídeos, inulina, polidextrose), probióticos, dentre outros. A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) orienta que o consumo de qualquer componente funcional deve estar associado a uma alimentação equilibrada e hábitos de vida saudáveis (ANVISA, 2016).

2.2.1 – Mercado de alimentos funcionais

O mercado de produtos funcionais está ganhando popularidade em vários países, como China, Japão, Hong Kong, Emirados Árabes, Américas, entre outros (CANADÁ, 2016; 2017). A nível global, o mercado de alimentos funcionais com efeito comprovado por avaliação científica tem crescimento estimado em 8% de 2017-2021 e o mercado de probióticos em 7% durante o período de 2015-2019 (TECHNAVIO, 2016a). Os habitantes das Américas foram os consumidores da maior cota de alimentos e bebidas funcionais em 2016 e estima-se que nos próximos anos (2017-2021) continuarão a dominar o mercado (TECHNAVIO, 2016b).

No Brasil, os alimentos e bebidas tradicionais tiveram um crescimento de 68%, enquanto os naturais, orgânicos e funcionais aumentaram 98% em 2014. Os produtos funcionais, inclusive, apresentam uma estimativa de crescimento de 14,8% até 2018. A expectativa para 2018 é que eles movimentem quase US\$ 30 milhões (JORNAL DO BRASIL, 2017).

No Japão, os principais segmentos para o setor de bebidas funcionais em 2015 foram bebidas esportivas, energéticas e carbonatadas. Uma previsão de vendas para o setor de bebidas funcionais, como um todo, para o período de 2016 a 2020 é um aumento de 7%, atingindo US \$ 7,6 milhões até o ano 2020 (CANADÁ, 2016).

Os alimentos e bebidas fortificados/funcionais (FF) estão ganhando popularidade no mercado chinês. O segmento de suco de frutas/vegetais FF cresceu 27,5% entre 2011 e 2015, com uma taxa de crescimento anual composta de 6,3% e espera-se um aumento de 6,1% de 2016 para 2020 (CANADÁ, 2016).

Em Hong Kong estima-se que o mercado de alimentos funcionais cresça 12% até 2020. Já no mercado indiano, apesar de menor (US \$ 4 milhões), espera-se que ocorra um crescimento de 11% até 2020 (FROST; SULLIVAN, 2015).

O crescimento do setor de alimentos funcionais, nos últimos anos, tem ocorrido devido às mudanças no estilo de vida, onde consumidores cada vez mais ocupados e em busca de hábitos alimentares mais saudáveis, estão concentrados na introdução de nutrientes à dieta (CANADÁ, 2016; 2017).

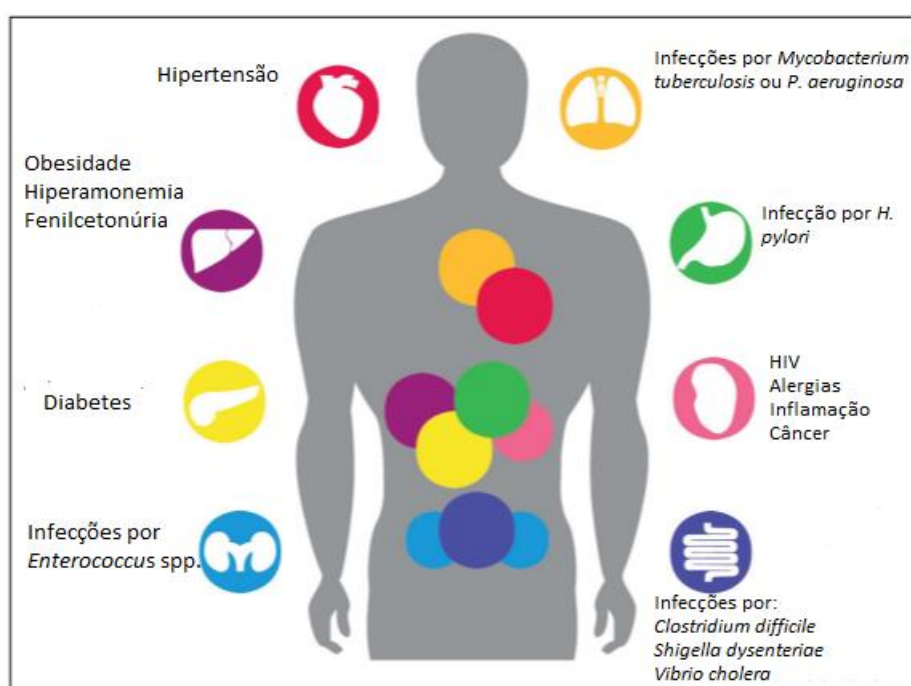
2.3 – Probióticos

Probióticos são microrganismos vivos que conferem efeito benéfico ao indivíduo quando administrados em quantidades adequadas (FAO/WHO, 2002). Desta forma, um produto probiótico deve conter quantidade dos microrganismos viáveis que garanta a ação alegada dentro do prazo de validade (BRASIL, 2002). A maioria das legislações e pesquisas publicadas consideram que a cultura probiótica deve estar viva e em número maior do que 10^6 - 10^7 unidades formadoras de colônia (UFC) por mililitro ou grama do produto (DONKOR *et al.*, 2007; BURITI *et al.*, 2010).

No Brasil, até 2016, para o produto ser considerado probiótico deveria conter quantidade mínima viável na faixa de 10^8 a 10^9 UFC na porção diária do produto pronto para consumo (BRASIL, 2008). Uma atualização da legislação retirou o valor mínimo específico de microrganismos viáveis, exigindo comprovação pela empresa da eficácia do probiótico baseada em evidências científicas que demonstrem a relação entre o consumo do produto e o efeito funcional alegado. Cada produto deve ter 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 (ANVISA, 2016).

A composição da microbiota intestinal é muito importante na manutenção das funções gastrointestinais e imunológicas e para a digestão de nutrientes. O uso de bactérias probióticas é conhecido como uma ferramenta auxiliar na manutenção do equilíbrio de microrganismos da microbiota intestinal (PETROVA; PETROV, 2017).

Na Figura 3 estão apresentados sítios de atuação das culturas probióticas. As culturas probióticas estão associadas a diversos benefícios à saúde do consumidor, tais como: alívio da constipação (MARTÍNEZ-MARTÍNEZ *et al.*, 2017), melhoria de distúrbios gastrointestinais (diarreias, diarreias associadas ao uso de antibióticos, diminuição da incidência de infecções ocasionadas por *Helicobacter pylori*) (DOMINGO, 2017; WANG *et al.*, 2017a), redução do risco de câncer de cólon (REIS *et al.*, 2017b), melhoria de alergias e sintomas relacionados a doenças autoimunes (CHUA *et al.*, 2017), manutenção dos índices glicêmicos no sangue (SAMAH *et al.*, 2016), redução do colesterol sanguíneo (MIREMADI *et al.*, 2016), entre outros.



Fonte: Chua *et al.* (2017)

Figura 3 – Atuação das culturas probióticas

Na Tabela 4 são apresentados os principais critérios de seleção para culturas probióticas. A cepa probiótica deve ser, preferencialmente, de origem humana e, neste caso, isolada do trato gastrointestinal de pessoas saudáveis. Considerando os critérios de segurança, deve ser segura, não patogênica, atóxica, não desencadear alergias, não produzir compostos mutagênicos ou carcinogênicos, e ser sensível a antibióticos. Para produção em escala industrial, deve ter bom rendimento em biomassa e ser capaz de sobreviver aos processos tecnológicos usuais (secagem e congelamento). A aplicação em alimentos deve ser fácil e é necessário que haja sobrevivência nas condições de processamento e

armazenamento dos mesmos. Além disso, não deve ocasionar alterações acentuadas nas características sensoriais dos produtos. Por fim, para que os benefícios à saúde possam ser observados, precisa ser caracterizada microbiologicamente e submetida a ensaios clínicos, sendo capaz de sobreviver às condições gastrointestinais (baixo pH e presença de ácidos orgânicos e sais biliares) (KOMATSU *et al.*, 2008).

Tabela 4 - Critérios de seleção para culturas probióticas

Critério	Características
Segurança	Segura, não patogênica, atóxica, sensível a antibióticos, incapaz de transmitir genes de resistência.
Biológico	Resistente às condições do produto e gastrointestinais.
Tecnológico	Bom rendimento de biomassa, sobrevivência aos processos industriais, baixo custo, estabilidade nas condições de armazenamento dos produtos, facilidade de aplicação em alimentos, e não alteração das características sensoriais.

Fonte: Saarela *et al.* (2000); Toscano *et al.* (2017)

Na Tabela 5 são apresentadas algumas das espécies de microrganismos consideradas probióticas.

Tabela 5 – Microrganismos utilizados como probióticos

<i>L. acidophilus</i>	<i>L. fermentum</i>	<i>B. andolecentis</i>
<i>L. amylovorus</i>	<i>L. gallinarum</i>	<i>B. animalis</i>
<i>L. brevis</i>	<i>L. gasseri</i>	<i>B. bifidum</i>
<i>L. casei</i>	<i>L. helveticus</i>	<i>B. breve</i>
<i>L. cellobiosum</i>	<i>L. jensenilii</i>	<i>B. essensis</i>
<i>L. crispatus</i>	<i>L. johnsonii</i>	<i>B. infantis</i>
<i>L. curvado</i>	<i>L. kefir</i>	<i>B. lactis</i>
<i>L. delbrueckii</i>	<i>L. paracasei</i>	<i>B. laterosporus</i>
<i>L. fermentum</i>	<i>L. plantarum</i>	<i>B. longum</i>
<i>L. gallinarum</i>	<i>L. reuteri</i>	<i>B. thermophilum</i>
<i>L. gasseri</i>	<i>L. rhamnosus</i>	<i>B. animalis</i>
<i>L. helveticus</i>	<i>L. salivarius</i>	<i>B. bifidum</i>
<i>L. acidophilus</i>	<i>L. jensenilii</i>	<i>B. breve</i>
<i>L. amylovorus</i>	<i>L. johnsonii</i>	<i>B. infantis</i>
<i>L. brevis</i>	<i>L. paracasei</i>	<i>B. lactis</i>
<i>L. bulgarius</i>	<i>L. plantarum</i>	<i>B. longum</i>
<i>L. casei</i>	<i>L. reuteri</i>	<i>B. magnum</i>
<i>L. crispatus</i>	<i>L. rhamnosus</i>	<i>Saccharomyces boulardii</i>
<i>L. delbrueckii</i>	<i>L. salivarius</i>	<i>Streptococcus Salivarius</i>
		<i>Streptococcus thermophilus</i>

Fonte: Perricone *et al.* (2015); Petrova; Petrov (2017); Saarela *et al.* (2000); Tripathi; Giri, (2014).

2.3.1 – *Lactobacillus casei* (*L. casei* 01)

Os efeitos benéficos à saúde proporcionados por culturas probióticas são específicos de cada cepa, sendo demonstrado que nenhuma cepa será capaz de prover todos os benefícios relatados, nem mesmo cepas da mesma espécie serão efetivas contra condições de saúde específicas (SHAH, 2007). Na Tabela 6 são apresentados estudos referentes à cepa *L. casei* 01.

Tabela 6 – Benefícios à saúde de *L. casei* 01

Objetivo	Resultados	Referência
Avaliar a atividade antioxidante <i>in vitro</i> .	Alta inibição da peroxidação lipídica (68,17%); atividade sequestrante de radicais hidroxila (71,3%); e atividade quelante de íons ferro (72,06%).	Kim <i>et al.</i> (2005)
Avaliar a estimulação do sistema imunológico.	Pela avaliação de células (B e IgA) do sistema digestivo, foi verificado que a cultura <i>L.casei</i> estimulou a resposta imune da mucosa intestinal, levando a proteção contra agentes patogênicos e diminuição da penetração de antígenos estranhos.	Galdeano; Perdígón (2006)
Avaliar a eficácia de dietas simbióticas (contendo <i>Lactobacillus casei</i> ASCC 292, fruto-oligossacáridos e maltodextrina) para reduzir o colesterol no soro em ratos.	Todas as dietas levaram a alterações benéficas do nível de colesterol; decréscimo na população de <i>Estafilococos</i> , <i>Bacteroides</i> , <i>Escherichia coli</i> , e de coliformes totais na maioria das regiões do intestino.	Liong; Shah (2006)
Avaliar o efeito da administração oral durante 45 dias de diferentes doses de leites fermentados com <i>L. casei</i> 01 nos parâmetros hematológicos, proteína sérica e albumina de ratos albinos. Os ratos receberam, além da dieta normal, leite (controle) ou 32, 64 e 96 mL de leites fermentados com 10^7 UFC /mL do	Os ratos que ingeriram o leite fermentado probiótico eram mais saudáveis. Nas menores doses, houve aumento na proteína total e albumina; e no número de células brancas; enquanto nas maiores doses o número de hematócitos, células vermelhas, hemoglobina, granulócitos e leucócitos foi aumentado (ratos não anêmicos e mais resistentes a infecções). A cultura probiótica é segura para consumo e apresentava efeito imunoestimulante.	Mirzaei <i>et al.</i> (2008)

produto por dia.

Avaliar o efeito de frações EPS exibiu a maior atividade anti- Liu *et al.* (2011)
celulares (células tratadas proliferativa de células cancerígenas,
pelo calor, paredes celulares enquanto a viabilidade das células
brutas, extratos epiteliais intestinais não foi afetada a uma
intracelulares e concentração de 5-50 µg/ mL de EPS.
exopolissacarídeos- EPS) Todas as frações celulares e EPS
de *L. casei* 01 na reduziram a citotoxicidade de 4-
proliferação de células nitroquinolina-1-óxido (4-NQO) contra
epiteliais intestinais as células intestinais
humanas e de células de EPS pode exercer efeitos de bloqueio e
câncer de cólon. bioanticitotoxicidade. As diferentes
frações celulares poderiam ter efeito
anticarcinogênico.

Avaliar a atividade do Aumento de *Lactobacillus* e Worametrachanon
microorganismo no *bifidobactérias* no cólon; e diminuição de *et al.* (2014)
intestino por simulação do bactérias indesejáveis (*clostrídios* e
ecossistema microbiano coliformes).
intestinal humano.

Avaliar a capacidade do A utilização de probióticos juntamente a Auclair *et al.*
probiótico de reduzir a tratamentos com antibióticos pode (2015)
incidência de diarreia reduzir os efeitos secundários de tais
associada a antibióticos medicamentos, tais como, a diarreia,
e infecções por *Clostridium* flatulência e cólicas; e causar inibição do
difficile crescimento de *C. difficile*.

Fonte: Autor (2018)

Portanto, a ingestão de *L. casei* 01 como cultura probiótica estaria relacionada a efeitos benéficos de melhoria da composição da microbiota intestinal, redução da ocorrência de diarreia associada ao uso de antibióticos, redução dos níveis de colesterol no sangue, estimulação do sistema imune, e atividades antioxidante e anticarcinogênica.

2.4 – Sucos de frutas probióticos

Os produtos probióticos disponíveis no mercado são tradicionalmente de origem láctea, incluindo os leites fermentados, iogurtes, gelados comestíveis, queijos, entre outros. No entanto, a área de produtos não lácteos probióticos vem crescendo, principalmente devido aos consumidores intolerantes à lactose ou alérgicos à proteína do leite, além do público que não aprecia o sabor do leite e os veganos (FLESCH *et al.*, 2014; PAKBIN *et al.*, 2014; PIMENTEL *et al.*, 2015; PRADO *et al.*, 2008; WRÓBLEWSKA; KALISZEWSKA, 2012).

Os sucos de frutas podem ser bons veículos carreadores de culturas probióticas, pois: (1) são ricos em nutrientes essenciais (minerais, vitamina e fibras) e antioxidantes, (2) são consumidos por pessoas de todas as faixas etárias e de forma regular, (3) não contém outros microrganismos que causem competição com as culturas probióticas, e (4) não possuem alergênicos em potencial (COSTA *et al.*, 2017; PIMENTEL *et al.*, 2015; SHEEHAN *et al.*, 2007).

No entanto, existem fatores que podem limitar a sobrevivência do probiótico em sucos vegetais, os quais estão apresentados na Tabela 7.

Tabela 7 – Principais parâmetros que afetam a viabilidade das culturas probióticas em sucos vegetais.

Etapa/Ingrediente	Parâmetros
Matéria-prima (Suco)	Composição química, pH, acidez titulável, oxigênio dissolvido, presença de ingredientes (açúcar, adoçantes, aromatizantes artificiais, corantes, conservantes)
Processamento	Tipo de embalagem, temperatura e tempo de armazenamento
Cultura probiótica	Espécie do probiótico, proporção do inóculo e método de adição

Fonte: Tripathi; Giri (2014)

As bebidas de frutas, com valores baixos de pH possuem um desafio significativo para probióticos. Os *Lactobacillus* são capazes de crescer e sobreviver em produtos com valores de pH entre 3,7 e 4,3 porém, as espécies de *Bifidobactérias* são menos tolerantes à acidez, e pHs inferiores a 4,6 são prejudiciais à sua sobrevivência (TRIPATHI; GIRI,

2014). Outro fator relevante é o oxigênio, onde as culturas probióticas são reconhecidas como anaeróbias óxido-tolerantes (IANNIELLO *et al.*, 2016), sendo que a exposição ao oxigênio, advindo do meio externo e/ou dissolvido no alimento, leva à formação de metabólicos tóxicos como, peróxido de hidrogênio (H_2O_2), que se acumulam na célula e induzem a morte celular por danos oxidativos (IANNIELLO *et al.*, 2016; TALWALKAR; KAILASAPATHY, 2004). Este efeito letal do oxigênio é denominado de toxicidade do oxigênio (TALWALKAR; KAILASAPATHY, 2004).

As culturas probióticas podem influenciar negativamente as características de sabor, aroma e textura dos produtos (ELLENDERSEN *et al.*, 2012), fatores indesejáveis do ponto de vista tecnológico, pois se deseja desenvolver um produto funcional similar ao tradicional.

As culturas probióticas são adicionadas a sucos de frutas e vegetais após o processamento térmico e resfriamento, pois são sensíveis às altas temperaturas. Na maioria dos estudos as culturas probióticas são adicionadas a bebidas a base de frutas e vegetais em sua forma ativada. Desta forma, uma porção da cultura probiótica liofilizada é sequencialmente repicada (1 a 3 repicagens, 24-54 horas) em condições ótimas de temperatura ($37^{\circ}C$), sendo a biomassa separada em centrífuga refrigerada, dissolvida em solução salina e, parte desta (2%) adicionada à bebida probiótica (SHEEHAN *et al.*, 2007; DING; SHAH, 2008; PIMENTEL *et al.*, 2015; VALERO-CASES; FRUTOS, 2017). Costa *et al.* (2017) propôs a utilização do suco de laranja como meio para a propagação da cultura probiótica, pois o MRS é um meio de cultura de maior custo (US\$ 191,00/500g) do que o suco de laranja (US\$ 0,15/500g). Os autores conseguiram contagens satisfatórias do probiótico com o método desenvolvido.

Neste trabalho se propõe a adição direta da cultura liofilizada ao caldo de cana. A adição direta tem a vantagem de diminuir o tempo de processo, pois não há necessidade da propagação da cultura probiótica, não requer um equipamento específico, como a centrífuga refrigerada e diminui as chances de contaminação do produto, devido à diminuição do número de etapas. No entanto, é necessário se estudar a sobrevivência da cultura probiótica nos produtos, pois a mesma não se encontra em sua forma ativada. Além disso, pode haver alterações nas características sensoriais, com consequente diminuição na aceitação dos produtos pelos consumidores.

2.5 – Prebióticos

Prebióticos são componentes alimentares não viáveis que conferem benefícios à saúde do hospedeiro associados à modulação de sua microbiota (FAO/AGNS, 2007). Vários tipos de oligossacarídeos e polissacarídeos possuem essas propriedades, tais como inulina, fruto-oligossacarídeos, galato-oligossacarídeos, isomalto-oligossacarídeos, xilo-oligossacarídeos, entre outros (PETROVA; PETROV, 2017).

Algumas das plantas que apresentam naturalmente prebióticos em sua composição são: alho, cebola, dente de leão, alcachofra de Jerusalém, yacon, trigo, banana, raiz de chicória, dentre outras. No entanto, as concentrações encontradas são muito baixas, necessitando o consumo de grandes quantidades para que o efeito benéfico à saúde possa ser observado. Para aumentar a ingestão diária podem ser incluídos na dieta alimentos adicionados de prebióticos. Os prebióticos são por vezes adicionados a iogurtes, cereais, pães, biscoitos, sobremesas ou bebidas (GIBSON *et al.*, 2017; SAUERESSIG *et al.*, 2016).

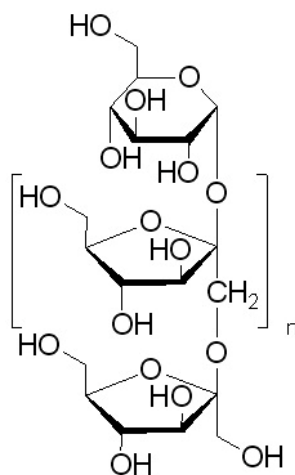
Para ser considerado prebiótico um componente deve atender a alguns critérios: (1) não ser tóxico, alergênico, carcinogênico ou mutagênico, (2) ser capaz de resistir ao processo de digestão (o que envolve a ação de ácidos gástricos, bilda em escova intestinal e enzimas pancreáticas) e à absorção gastrointestinal, (3) ser fermentado seletivamente por gêneros específicos de microrganismos do cólon, e (4) induzir efeitos benéficos à saúde do consumidor (CHARALAMPOPOULOS; RASTALL, 2012). Além disso, deve ser estável aos processos industriais convencionais e às condições de estocagem dos produtos nos quais serão inseridos, não requerer refrigeração e ser facilmente incorporado em alimentos processados (PIMENTEL *et al.*, 2017). Por fim, não devem alterar significativamente as características sensoriais dos produtos.

Os efeitos benéficos atribuídos aos prebióticos incluem benefícios ao trato gastrointestinal por inibição de agentes patogênicos (*Escherichia coli*, *Streptococcus faecales*, *Proteus spp.*), aumento do bolo fecal; aumento da absorção de minerais, tais como, cálcio, magnésio e ferro; melhoria de quadros inflamatórios intestinais; diminuição do risco de câncer de cólon, entre outros (GIBSON *et al.*, 2017). No entanto, uma dose demasiadamente elevada (20-30 g) pode induzir efeitos indesejáveis ou adversos tais como a formação excessiva de gás (GIBSON *et al.*, 2017; SOUSA *et al.*, 2011).

2.5.1 – Oligofrutose

Os frutanos do tipo inulina dividem-se em dois grupos gerais: a inulina e os compostos a ela relacionados – a oligofrutose e os fruto-oligossacarídeos (FOS) (SAAD, 2006). Ocorrem naturalmente em plantas consumidas como alimentos, principalmente vegetais, cereais e frutos secos. Comercialmente são obtidos a partir da chicória (inulina), da hidrólise parcial da inulina (oligofrutose) ou por síntese enzimática a partir de sacarose (FOS) (AL-SHERAJI *et al.*, 2013; BUTTRISS; STOKES, 2008; CHARALAMPOPOULOS; RASTALL, 2012). Quimicamente, apresentam cadeias lineares de carboidratos, sendo a molécula constituída de ligações glicosídicas β -(2 $\rightarrow$ 1)-frutosil-frutose, podendo conter uma molécula inicial de α -D-glicose (Figura 4). Os frutanos tipo inulina são os polissacarídeos não-estruturais mais abundantes na natureza, após o amido (SAAD, 2006).

A oligofrutose tem um grau de polimerização entre 2 a 10, enquanto na inulina geralmente varia de 2 a 60, dependendo da fonte de origem (TOMASIK, 2014). As oligofrutoses e FOS apresentam cerca de 5-6% de açúcares livres (frutose, glucose e sacarose) (ANDRADE, 2017; SOUZA *et al.*, 2017).



Fonte: Adaptação Meyer (2015)

Figura 4 – Estrutura geral da oligofrutose

As oligofrutoses e os FOS apresentam propriedades semelhantes ao açúcar, porém 30 a 35% do poder adoçante da sacarose. Por possuir poder adoçante moderado são utilizados em combinação com edulcorantes de alto poder adoçante (LEWIS, 2017). Já a

inulina, devido a sua massa molecular elevada, possui capacidade de aumento de viscosidade, melhorando o corpo, estabilidade e sabor de produtos lácteos (PIMENTEL *et al.*, 2012). Em produtos de panificação contribui no sabor, textura, crocância e aumenta a vida útil de pães e bolos (LEWIS, 2017).

Os frutanos tipo inulina, por suas propriedades tecnológicas, vêm sendo aplicados como substitutos de gordura e açúcares, reduzindo o valor energético total dos produtos por apresentarem 2 kcal/g, valor consideravelmente menor em comparação aos ingredientes que substitui (4 kcal/g para açúcares e 9 kcal/g para gorduras) (BUTTRISS; STOKES, 2008). Porém, como são fibras alimentares, também oferecem características que podem afetar negativamente as propriedades dos produtos, influenciando na aceitabilidade (LEWIS, 2017).

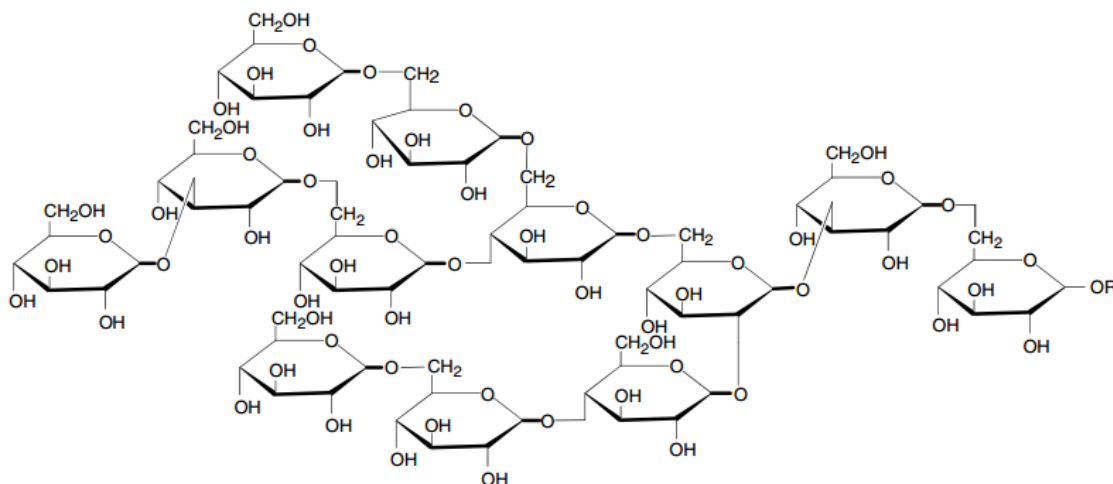
Pelas normas da ANVISA, os produtos suplementados com FOS/oligofrutose devem fornecer no mínimo 2,5 g por porção, sendo recomendado que o consumo diário seja de no mínimo 5 g para efeito benéfico à saúde (ANVISA, 2016).

As oligofrutoses são resistentes à digestão e absorção no intestino delgado humano, com fermentação completa ou parcial no intestino grosso, alterando o equilíbrio da microbiota e desempenhando papel imunomodulador (melhorias relatadas em função da barreira intestinal contra a infecção), e aumentando a absorção de cálcio proveniente da dieta (BUTTRISS; STOKES, 2008).

Quando adicionadas a produtos alimentícios, as oligofrutoses podem aumentar a viabilidade das culturas probióticas, sendo o efeito protetor relacionado com a matriz alimentar. Pimentel *et al.* (2015) observaram aumento significativo na sobrevivência de *L. casei* em sucos de maçã suplementados com oligofrutose. No entanto, Costa *et al.* (2017) não observaram efeito protetor da oligofrutose sobre *L. casei* em sucos de laranja. Os autores relatam que o efeito protetor da oligofrutose parece estar relacionado com a composição química dos sucos e que, como o suco de laranja apresentava teor proteico, glicose e vitamina C em quantidades adequadas, o probiótico não encontrou condições adversas, sobrevivendo e não necessitando do efeito protetor da oligofrutose.

2.5.2 – Polidextrose

A polidextrose é um polímero de moléculas de glicose unidas por ligações α -1,6, contendo como grupo terminal o sorbitol e/ou ligações monoésteres de ácido cítrico (Figura 5) (TOMASIK, 2014).



Fonte: Tomasik (2014)

Figura 5 – Estrutura geral da Polidextrose

Possui alta higroscopicidade, apresenta-se na forma de pó com coloração creme e não confere odor aos alimentos (GOMES *et al.*, 2007).

Com características tecnológicas de conferir corpo e textura semelhantes à sacarose, adicionalmente às propriedades funcionais (GOMES *et al.*, 2007), a polidextrose é aplicada em alimentos como substituto parcial de gordura, açúcares e amido (BUTTRISS, STOKES, 2008). Por apresentar baixo valor energético (1 kcal/g), auxilia na redução calórica das formulações em que é utilizada em substituição a algum dos ingredientes da formulação original (TOMASIK, 2014). Este baixo aporte calórico é devido à molécula ser grande, complexa e ramificada, não sendo possível a sua quebra por enzimas digestivas (GOMES *et al.*, 2007). Cerca de 90% da quantidade ingerida de polidextrose passa através do trato gastrointestinal sem ser digerida. No cólon, a polidextrose pode ser fermentada pela microbiota intestinal residente, característica associada aos seus benefícios à saúde (BUTTRISS, STOKES, 2008).

A polidextrose deve estar na quantidade mínima de 2,5 g por porção do produto pronto para consumo, sendo recomendado que o consumo diário seja de no mínimo 5 g para efeito benéfico à saúde (ANVISA, 2016). Não foram encontrados estudos que avaliassem a aplicação de polidextrose como prebiótico em bebidas à base de frutas e vegetais.

2.6 – Simbióticos

A combinação de probióticos e prebióticos em uma mesma formulação atuando de forma cooperativa é denominada de produto simbiótico (SAAD, 2006). Os simbióticos promovem o crescimento de microrganismos benéficos já existentes no cólon, assim como aumentam a sobrevivência, a implantação e o crescimento dos microrganismos adicionados com o produto, visto que o substrato específico para o probiótico está disponível para a fermentação (AL-SHERAJI *et al.*, 2013).

Os alimentos simbióticos, portanto, são mais do que apenas uma mistura de probióticos e prebióticos, sendo necessário que haja sinergia entre os dois componentes. O desenvolvimento desses alimentos requer um longo processo de avaliação, no qual prebióticos selecionados e cepas probióticas são testados, tanto *in vitro* como *in vivo*, com a finalidade de encontrar os pares com maior atividade e sinergia (SAAD, 2006).

2.7 – Análise Sensorial aplicada a produtos alimentícios

A análise sensorial é definida pela Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT, 1993) como a disciplina científica usada para evocar, medir, analisar e interpretar reações das características dos alimentos e materiais quando são percebidos pelos sentidos da visão, olfato, gosto, tato e audição. É uma ferramenta que estuda as percepções, sensações e reações do consumidor sobre as características do produto, incluindo sua aceitação ou rejeição (MINIM, 2013).

Dentre a aplicabilidade da análise sensorial, pode-se destacar (MONTEIRO, 2005):

- Controle de qualidade de alimentos e bebidas;
- Desenvolvimento de novos produtos;
- Identificação das expectativas e das preferências de consumidores;
- Acompanhamento da durabilidade do produto;
- Controle de qualidade de matérias-primas e insumos em geral.

As análises sensoriais dos produtos têm sido tradicionalmente incluídas em testes de consumo, antes dos projetos em larga escala, para alinhar as características do produto com a preferência do consumidor. Os resultados de aceitação sensorial não garantem sucesso no mercado, no entanto, fornecem uma boa indicação do potencial do produto (ARES *et al.*, 2017; BRUZZONE, 2015).

Em néctar de pêssago potencialmente simbiótico, Pimentel *et al.* (2011) verificaram que alguns dos avaliadores perceberam diferenças no sabor dos néctares adicionados de componentes funcionais, descrevendo a percepção de gosto residual na garganta ou sabor alterado quando foi adicionada inulina e um residual ácido ou sabor alterado quando o probiótico (*L. casei*) foi adicionado. Contudo, em relação à aceitabilidade e intenção de compra da bebida, a adição de inulina e/ou cultura probiótica não apresentou influência ($p > 0,05$).

Valero-Cases e Frutos (2017) estudaram a aceitação de sucos e néctares fermentados por *L. acidophilus* e suplementados com prebiótico tipo inulina. Os avaliadores descreveram a bebida funcional como sendo mais doce e menos ácida, comparada com a amostra controle, sem inulina. Os resultados mostraram a maior aceitação dos néctares fermentados adicionados de inulina.

Moreira *et al.* (2017) no estudo de desenvolvimento de bebida mista de juçara e manga Ubá com adição de *L. rhamnosus* GG processado por alta pressão, constataram que a adição do probiótico ao produto não afetou sua aceitação, comparando com o padrão, sem probiótico. Os resultados indicaram a viabilidade da utilização da cultura probiótica em produtos à base de plantas.

Em produtos como sucos de frutas e/ou vegetais funcionais, a incorporação de ingredientes funcionais, como os probióticos e prebióticos, pode levar à alteração de textura e sabor em comparação com a bebida padrão, podendo variar em função da matriz a ser aplicada e cultura probiótica utilizada. Para investigação, é de extrema importância a realização de testes sensoriais quando novas matrizes e/ou culturas são avaliadas, assim, pode-se comprovar a semelhança ou diferença com o produto tradicional e preferência e/ou aceitabilidade do mesmo.

CAPÍTULO 3 – MATERIAIS E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados nos Laboratórios de Processamento de Alimentos, Química e Microbiologia do Instituto Federal do Paraná – Campus Paranavaí.

3.1 – Material

Caldo de cana (*Saccharum officinarum*), Oligofrutose (P95, Orafti®), polidextrose (Tate & Lyle®), cultura probiótica *L. casei* (*L. casei*-01, Christian Hansen®) e garrafas de vidro (Farma®) com capacidade para 50 mL foram utilizados neste estudo. O caldo de cana foi gentilmente cedido por Radilson Marcos de Oliveira, proprietário da Garapeira e lanchonete Ágape, da cidade de Paranavaí – PR. A polidextrose foi gentilmente cedida pela empresa Tovani Benzaquem Ingredientes e a oligofrutose pela empresa SweetMix.

3.2 – Processamento do caldo de cana

O processamento dos caldos de cana adicionados de prebióticos (oligofrutose ou polidextrose) e probiótico (*L. casei*) seguiu o fluxograma apresentado na Figura 6.

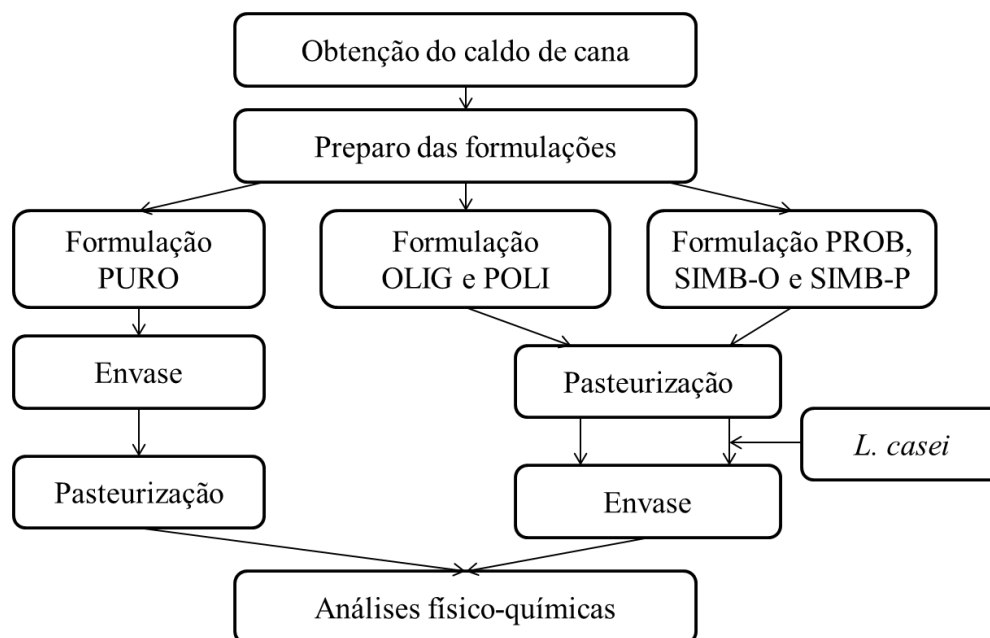


Figura 6 – Etapas de processamento dos caldos de cana

O caldo de cana foi extraído por moagem da cana-de-açúcar (*Saccharum Officinarum*) (previamente higienizada e descascada) em equipamento padrão e pertencente a um comerciante local de Paranavaí, Paraná. Imediatamente após a moagem, o caldo de cana sob refrigeração (12°C) foi transportado até a unidade de processamento.

Seis formulações de caldo de cana foram preparadas: (1) PURO (padrão), (2) PRO (com probiótico), (3) OLIG (com oligofrutose), (4) POLI (com polidextrose), (5) SIMB-O (com oligofrutose + probiótico) e (6) SIMB-P (com polidextrose + probiótico), conforme descrito na Tabela 8.

Tabela 8 – Delineamento experimental

Formulação	<i>L.casei</i>	Oligofrutose	Polidextrose
PURO	-	-	-
PRO	2 g/L	-	-
OLIG	-	20 g/L	-
POLI	-	-	20 g/L
SIMB-O	2 g/L	20 g/L	-
SIMB-P	2 g/L	-	20 g/L

O caldo de cana foi adicionado de oligofrutose ou polidextrose na concentração de 20 g/L. A concentração de oligofrutose e polidextrose adicionada se baseou na regulamentação brasileira a fim de utilizar sua alegação de propriedade funcional (mínimo de 2,5 g por porção) (ANVISA, 2016); e na ingestão mínima diária sugerida para prebióticos a fim de obter efeitos benéficos à saúde (5g) (ANVISA, 2016).

As formulações foram acondicionadas em frascos de vidro com capacidade para 50 mL, pasteurizadas a 80°C por 20 minutos em banho termostático e resfriadas em banho de gelo até 37°C. As formulações com culturas probióticas foram adicionadas de 2 g/L (m/v) da cultura probiótica liofilizada. Os caldos de cana foram, então, armazenados a 7°C por 28 dias. Foram preparados dois lotes idênticos, em momentos distintos, para realização deste experimento.

A temperatura de armazenamento (7°C) foi selecionada a fim de se aproximar à temperatura de comercialização dos produtos. Estudos anteriores avaliaram a estabilidade de sucos de frutas a 4°C (DING; SHAH, 2008; PIMENTEL *et al.*, 2015; COSTA *et al.*, 2017).

3.3 – Composição química

Umidade, cinzas, lipídeos e proteínas foram determinados pelos seguintes procedimentos: umidade em estufa a 105°C até peso constante, cinzas por incineração a 550°C em forno mufla, lipídeos por Bligh Dyer e proteínas pelo Método de *Kjeldahl*, conforme metodologias propostas pela AOAC (2004). O teor de carboidratos foi obtido por diferença. A composição química dos produtos foi realizada em triplicata no 1º dia de armazenamento.

3.4 – Avaliação físico-química

Os produtos foram analisados quanto ao pH, acidez titulável, teor de sólidos solúveis, parâmetros de cor, turbidez e parâmetros de textura nos dias 1, 7, 14, 21 e 28 durante o armazenamento refrigerado. As análises foram realizadas em triplicata.

3.4.1 – pH e acidez titulável

Determinou-se o pH do caldo de cana usando um potenciômetro digital (MS Tecnopon Instrumentação, mPA210) previamente calibrado com tampões fosfato pH 4,0 e 7,0. A acidez titulável foi determinada segundo a AOAC (2004) e expressa em porcentagem (%) de ácido cítrico.

3.4.2 – Sólidos Solúveis Totais (SST)

O teor de sólidos solúveis totais foi determinado em refratômetro digital (InstruTerm®, São Paulo, Brasil) a 20°C com água destilada como parâmetro de branco. Os resultados foram expressos em °Brix.

3.4.3 – Cor

Para avaliação instrumental da cor utilizou-se colorímetro Konica Minolta, CR-400. O equipamento forneceu diretamente os parâmetros L* (luminosidade), a* (componente vermelho-verde) e b* (componente amarelo-azul).

3.4.4 – Textura

Para a análise de textura as formulações (40 mL), em recipientes cilíndricos de plástico (55 mm de diâmetro e 60 mm de altura), foram submetidas ao texturômetro TA-TX Express Enhanced, Stable Micro Systems utilizando-se probe de aço inox de 36 mm de diâmetro (P 36R), profundidade de compressão de 10 mm; velocidade de teste de 1 mm/s, velocidade pré-teste de 1 mm/s, velocidade pós-teste de 10 mm/s e força de 1g (COSTA *et al.*, 2017). Foram obtidos os valores de firmeza (g), consistência (g seg), coesividade e viscosidade (g seg).

3.4.5 – Turbidez

A turbidez foi analisada em espectrofotômetro (T80, UV/VIS Spectrometer, PG Instruments Ltd.) no comprimento de onda de 600 nm e utilizando água destilada como parâmetro de branco (SHAH *et al.*, 2010).

3.4.6 – Determinação do teor de compostos fenólicos totais

O conteúdo de fenólicos totais de cada amostra foi determinado usando o método de Folin-Ciocalteu com modificações (SLINKARD; SINGLETON, 1977). Ácido gálico (AG) foi utilizado como padrão. As amostras foram, inicialmente, diluídas na relação de 1:80, em seguida, 0,125 mL de amostra foi adicionado à 0,5 mL de água destilada e 0,125 mL do reagente de Folin-Ciocalteu em tubos de ensaio, agitadas e deixadas em repouso durante seis minutos. Em seguida, foram adicionados 1,25 mL de carbonato de sódio 7% (v/v) e 1 mL de água destilada e realizada nova agitação. Posteriormente, a mistura foi mantida em repouso por 90 min na ausência de luz. A absorbância foi medida a 760 nm em espectrofotômetro UV/VIS.

Os resultados foram expressos como mg equivalentes de ácido gálico/mL de caldo de cana seguindo a equação da curva de calibração do ácido gálico (Equação 1), Todas as determinações foram realizadas em triplicata.

$$C = (216,1 * Abs - 1,461) * 80 \quad \text{(Equação 1)}$$

Onde: C é a concentração do ácido gálico, Abs é a absorbância a 760 nm e 80 é referente a diluição inicial das amostras.

3.5 – Análises microbiológicas

Para avaliar a adequação dos caldos de cana à legislação foram realizadas as análises de coliformes a 45°C pela técnica de tubos múltiplos com resultados expressos em NMP/mL e de *Salmonella* spp, no 1º e 28º dias de armazenamento. Para isso, as amostras foram diluídas em água peptonada a 0,1% e repicadas em tubos de ensaio com tubos invertidos (*Durhan*) no interior contendo 9 mL de caldo verde brilhante, sendo incubadas a 35°C por 24 horas. Para confirmação, em caso de verificação de formação de gás, uma alçada do meio foi transferida para tubos de ensaio com tubos invertidos (*Durhan*) no interior contendo caldo *E. coli*, sendo incubadas a 45°C por 24 horas. Para o resultado final utilizou-se a tabela de NMP com diluições de 0,1, 0,01 e 0,001 (SILVA *et al.*, 2007).

Para a análise de *Salmonella* realizou-se a diluição das amostras em água peptonada a 0,1%. Após, 1 mL foi transferido para tubos de ensaio contendo 9 mL de caldo Rappaport Vassiliadis Soja (37°C/ 24 h), seguido do plaqueamento seletivo em ágar MacConkey e ágar *Salmonella Shigella* (35°C/24 h) (SILVA *et al.*, 2007). As determinações microbiológicas realizadas nas seis formulações do estudo em duplicata.

Para contagem do probiótico, um mililitro de cada formulação de caldo de cana foi diluído em 9 mL de solução salina 0,85% (p/v) esterilizada e agitado uniformemente em agitador vortex. As diluições decimais foram realizadas e o número de microrganismos viáveis da cultura probiótica enumerados usando a técnica de *pour plate*. A contagem de *L. casei* foi feita em ágar MRS (Himedia, Mumbai, Índia) e incubação anaeróbica (Anaerobac, Probac®) a 37°C por 72 horas (THARMARAJ; SHAH, 2003). A contagem do probiótico foi realizada nos dias 1, 7, 14, 21 e 28 durante o armazenamento refrigerado.

3.6 – Análise sensorial

O teste de aceitação foi conduzido após aprovação do projeto no Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos (CAAE: 73267717.3.0000.5547; nº do parecer: 2.426.335). Para avaliação utilizou-se luz branca e 30 mL das formulações foram servidos em copos de plástico (50 mL), codificados com números de três dígitos aleatórios, aproximadamente à temperatura de 7°C. Água potável à temperatura ambiente e biscoitos de arroz, sem glúten, foram disponibilizados para a limpeza da boca antes e entre as avaliações das formulações.

Os avaliadores caldo de cana foram recrutados por contato pessoal a partir de sua disponibilidade de participar do teste e por serem consumidores potenciais do produto alvo. O teste de aceitação de atributos (aparência, aroma, sabor, textura e impressão geral), utilizando escala hedônica de 9 pontos (1 = desgostei muitíssimo; 9 = gostei muitíssimo); e o teste de intenção de compra, utilizando escala de 5 pontos (1 = certamente não compraria; 5 = certamente compraria) foram conduzidos. O teste foi realizado em dois encontros, no 1º e 28º dias de armazenamento dos produtos por uma equipe de 94 avaliadores não treinados (51 homens, 41 mulheres e 2 não especificados). Os avaliadores provaram e julgaram as seis formulações de forma monádica e em ordem aleatorizada.

3.7 – Delineamento experimental e análise estatística

O experimento de caracterização físico-química e microbiológica foi repetido duas vezes seguindo delineamento inteiramente casualizado. Utilizou-se o esquema de tratamentos em parcelas subdivididas, onde o tratamento principal foi a formulação e o secundário o tempo de armazenamento. As análises foram conduzidas em triplicata em cada dia de armazenamento (1, 7, 14, 21 e 28), onde as médias foram determinadas com desvios padrão (média $\pm$ desvio padrão). A composição centesimal foi avaliada no 1º dia primeiro de armazenamento. Para a aceitabilidade e intenção de compra o delineamento foram blocos completamente casualizados, onde os tratamentos foram as formulações e o tempo e os blocos os avaliadores. Os resultados foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA) e a determinação de diferenças significativas entre as médias dos tratamentos foi feita por teste de Tukey ($\alpha=5\%$). As análises estatísticas foram realizadas utilizando o software ASSISTAT 7.7 e Statistical Analysis System (SAS).

CAPÍTULO 4 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 – Composição Centesimal

Na Tabela 9 está apresentada a composição centesimal das formulações de caldo de cana (PURO), caldo de cana suplementado com cultura probiótica *L. casei* (PRO, SIMB-O e SIMP-P) ou prebióticos (OLIGO e POLI).

A composição centesimal (g/100 mL) das formulações esteve na seguinte faixa de variação: umidade (76,25 a 79,47), carboidratos (19,68 a 22,88), proteínas (0,34 a 0,44), lipídios (0,13 a 0,17) e cinzas (0,21 a 0,25), corroborando o relatado por outros autores (PRATI; CAMARGO, 2008; IBGE, 1999; IBGE, 2011; TACO, 2011; RAMACHANDRAN *et al.*, 2017).

A adição de *L. casei* (PRO) não influenciou a composição do caldo de cana ($p > 0,05$), enquanto que a adição de oligofrutose (OLIGO e SIMB-O) ou polidextrose (POLI, e SIMB-P) causou um decréscimo no conteúdo de umidade e aumento nos carboidratos ($p \leq 0,05$). A oligofrutose e a polidextrose são oligossacarídeos solúveis, caracterizados como carboidratos de baixo peso molecular (MUSSATTO; MANCILHA, 2007) que provocam um aumento no teor total de sólidos e carboidratos, quando adicionado em alimentos, e consequente diminuição da umidade (COSTA *et al.*, 2017).

Tabela 9 – Composição do caldo de cana (g/100mL)*

	PURO	PRO	OLIG	POLI	SIMB-O	SIMB-P
Umidade	79.23 ± 0.14 ^A	79.47 ± 0.70 ^A	76.75 ± 0.63 ^{BC}	77.47 ± 0.20 ^B	76.25 ± 0.35 ^C	77.82 ± 0.16 ^B
Proteína	0.34 ± 0.06 ^A	0.44 ± 0.11 ^A	0.40 ± 0.11 ^A	0.36 ± 0.06 ^A	0.39 ± 0.06 ^A	0.44 ± 0.08 ^A
Lipídios	0.15 ± 0.08 ^A	0.14 ± 0.06 ^A	0.13 ± 0.05 ^A	0.17 ± 0.04 ^A	0.13 ± 0.12 ^A	0.15 ± 0.07 ^A
Cinzas	0.23 ± 0.04 ^A	0.22 ± 0.11 ^A	0.25 ± 0.09 ^A	0.22 ± 0.02 ^A	0.21 ± 0.04 ^A	0.24 ± 0.04 ^A
Carboidratos	20.04 ± 0.07 ^C	19.68 ± 0.73 ^C	22.32 ± 0.66 ^{AB}	21.74 ± 0.20 ^{AB}	22.88 ± 0.42 ^A	21.30 ± 0.17 ^B

*Média ± desvio padrão na mesma linha seguida de letras maiúsculas distintas indicam diferenças estatisticamente significativas em $p \leq 0,05$ entre as formulações de caldo de cana-de-açúcar (n = 6).

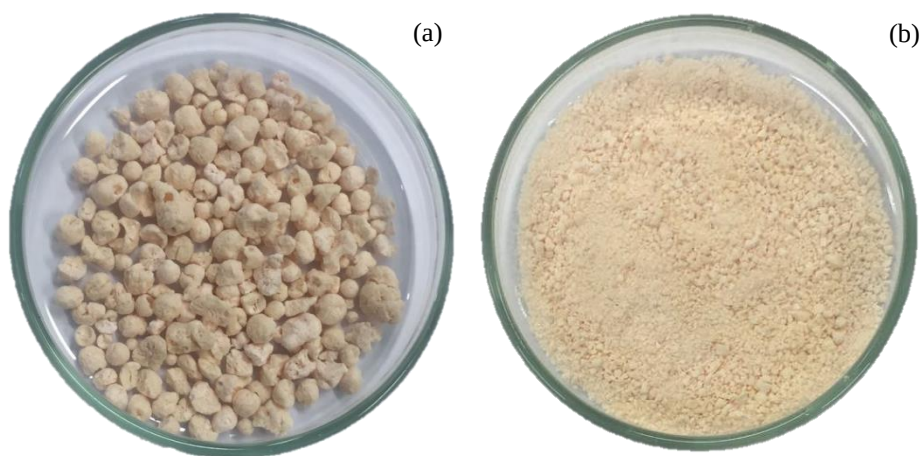
**Formulações: (PURO) puro (padrão), (PRO) probiótico, (OLIGO) oligofrutose, (POLI) polidextrose, (SIMB-O) oligofrutose + probiótico e (SIMB-P) polidextrose + probiótico.

4.2 – Cor e turbidez

Os parâmetros de cor (L^* , a^* e b^*) e a turbidez dos caldos de cana estão apresentados na Tabela 10. A análise instrumental de cor gera informações correlacionadas à percepção do olho humano expressas de forma numérica (KONICA MINOLTA, 1998) e foi realizada para avaliar se a adição da cultura probiótica e dos componentes prebióticos afetariam este parâmetro.

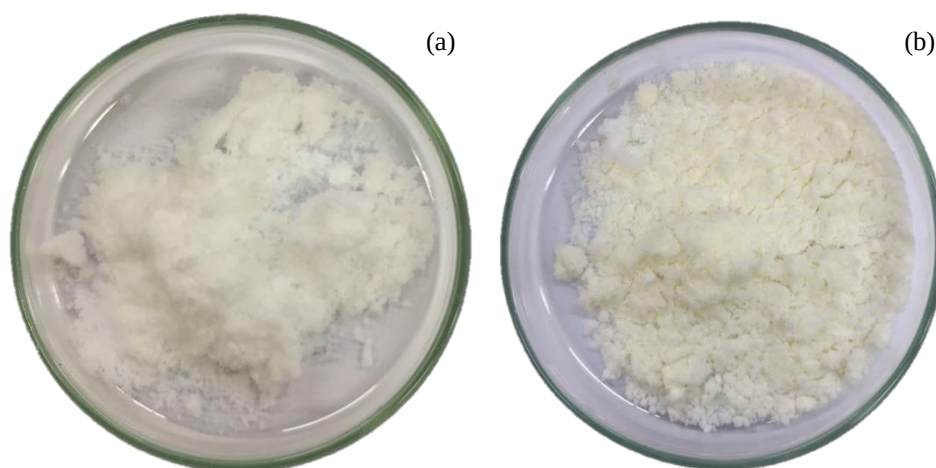
As formulações de caldo de cana apresentaram coloração amarela esverdeada escura, conforme esperado, com valores de L^* variando entre 25,20 - 31,61, a^* de -0,89 a 1,08 e b^* de 4,01 a 6,68. A adição da cultura probiótica (PRO) ocasionou aumento nos parâmetros de cor L^* (luminosidade) a partir do 14º dia de armazenamento e na turbidez ($p \leq 0,05$), indicando que a adição de *L. casei* resultou em produtos com coloração mais clara e mais turvos. A adição de polidextrose (POLI) resultou em produtos mais avermelhados (maiores valores de a^*) ($p \leq 0,05$), enquanto a adição de oligofrutose (OLIGO) não alterou os parâmetros de cor (L^* , a^* e b^*) e a turbidez ($p > 0,05$). As mudanças de cor e turbidez estão relacionadas à adição da cultura probiótica e dos prebióticos na forma liofilizada e/ou em pó com pequenos grânulos brancos ou amarelados (Figuras 7 e 8).

Durante o processamento, a incorporação da cultura probiótica foi um ponto crítico do estudo, em função da difícil homogeneização do componente. A cultura probiótica provavelmente permaneceu suspensa na solução no formato de partículas de tamanho reduzido, sendo muito pequenas para precipitar, porém, suficiente para refratar a luz (PIMENTEL *et al.* 2015).



(a) forma liofilizada, (b) forma liofilizada e macerada

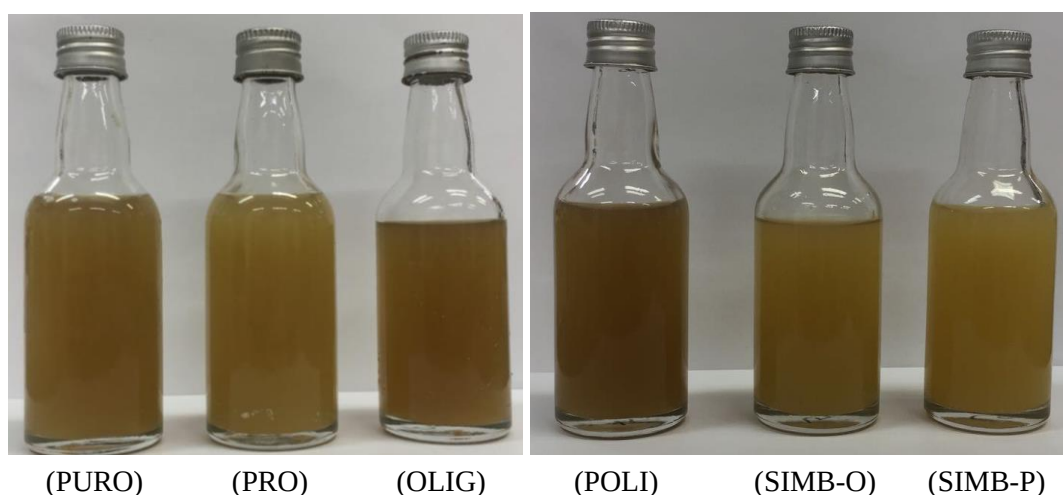
Figura 7 – Cultura *L. casei*



(a) oligofrutose, (b) polidextrose

Figura 8 – Componentes prebióticos

Os resultados de cor e turbidez das amostras PRO, SIMB-O e SIMB-P mostraram que os produtos adicionados de cultura probiótica apresentaram diferenças visuais em relação ao produto padrão (PURO) (Figura 9), podendo influenciar a aceitação dos consumidores, visto que a impressão visual é o primeiro contato do consumidor com o produto e uma das características de qualidade mais determinantes sobre a aceitação (RENUKA *et al.*, 2009; PIMENTEL *et al.*, 2015; TEIXEIRA, 2009).



*Formulações: (PURO) puro (padrão), (PRO) probiótico, (OLIGO) oligofrutose, (POLI) polidextrose, (SIMB-O) oligofrutose + probiótico e (SIMB-P) polidextrose + probiótico

Figura 9 – Formulações de caldo de cana após um dia de armazenamento.

Durante o período de armazenamento, as formulações se comportaram de maneira semelhante, sendo observada manutenção dos parâmetros de cor (L^* , a^* e b^*) e da turbidez quando comparados os produtos no 1º e 28º dias de armazenamento. Apenas ligeira oscilação foi observada na formulação POLI para o parâmetro b^* e na formulação SIMB-O no parâmetro L^* . Manutenção dos parâmetros de cor durante armazenamento de sucos de frutas probióticos e/ou prebióticos também foi observada em outros estudos (ANTUNES *et al.*, 2013; COSTA *et al.*, 2017).

A manutenção dos parâmetros de cor e turbidez durante o armazenamento dos caldos de cana é um indicativo de que não houve morte acentuada das culturas probióticas, pois, de acordo com Costa *et al.* (2017) e Shah *et al.* (2010), células probióticas comprometidas (lisadas ou mortas) acarretam em mudança de cor e aumento da turbidez de sucos.

Os resultados de cor e turbidez indicam que a cultura probiótica altera a coloração e turbidez do caldo de cana, tornando-o mais claro e turvo. A polidextrose tornou os produtos mais avermelhados. Todas as formulações em estudo apresentaram estabilidade ao armazenamento refrigerado a 7°C, característica importante do ponto de vista tecnológico e comercial, mostrando que durante a vida útil do produto a cor e a turbidez permanecem semelhantes ao dia do processamento.

4.3 – pH, acidez, SST e conteúdo de compostos fenólicos

O pH, acidez titulável, SST e conteúdo de compostos fenólicos das formulações de caldo de cana estão apresentados na Tabela 11. O pH e a acidez titulável foram os parâmetros com maior variação dentre os estudados, sendo observados pHs de 3,3 a 5,4 e acidez titulável de 0,007 a 0,038% de ácido cítrico. Os SST e teor de compostos fenólicos variaram de 18,9 - 21 °Brix e 364,30 - 891,59 mGAE/ L, respectivamente.

Os caldos de cana adicionados de probióticos (PRO, SIMB-O e SIMB-P) eram mais ácidos do que os produtos puros (PURO), devido aos menores valores de pH e maiores valores de acidez titulável ($p \leq 0,05$) observados nestas formulações. Durante o armazenamento, a acidez dos produtos probióticos aumentou ($p \leq 0,05$), enquanto que os SST se mantiveram constantes ($p > 0,05$) até o 28º dia de armazenamento refrigerado. Rafiq *et al.* (2016) também verificaram diminuição do pH e aumento da acidez de suco de cenoura probiótico (*L. acidophilus*, *L. plantarium*, *L. casei* e *Longum bifidum*), variando de

6,08 a 4,39 para o pH, e de 0,192 a 0,536 para a acidez titulável durante o prazo de 24 horas, resultado da produção de ácido láctico.

A acidificação dos produtos com probióticos deve estar relacionada à utilização dos açúcares presentes no meio pelas culturas probióticas, com produção de ácido láctico e consequente aumento na acidez (menores pHs e maiores valores de acidez titulável) (PIMENTEL *et al.*, 2015). A maior acidez dos produtos probióticos pode ser vantajosa do ponto de vista microbiológico, podendo ocasionar aumento no tempo de vida útil dos caldos de cana. Isso porque, em ambientes mais ácidos, os microrganismos deteriorantes têm maior dificuldade de desenvolvimento (FAVARO-TRINDADE *et al.*, 2006, COSTA *et al.*, 2017). No entanto, pode resultar em diminuição da viabilidade da cultura probiótica e da aceitação dos produtos pelos consumidores. De fato, Pimentel *et al.* (2015), ao avaliarem a aceitabilidade de suco clarificado de maçã probiótico, constataram que as amostras de gosto mais ácido obtiveram menor aceitação.

A adição de prebióticos (formulações OLIGO e POLI) não exerceu influência sobre a acidez (pH e acidez titulável) em comparação ao caldo de cana PURO ($p > 0,05$). Durante o período de armazenamento as formulações prebióticas (OLIGO e POLI) se mantiveram estáveis, de forma semelhante ao produto puro.

Tabela 10 – Parâmetros de cor (L*, a* e b*) e turbidez dos caldos de cana armazenado a 7°C*.

Parâmetro	Tempo de estocagem (dias)	Formulações**					
		PURO	PRO	OLIGO	POLI	SIMB-O	SIMB-P
L*	1	27,30 ± 0,71 ^{aA}	27,93 ± 0,70 ^{aA}	26,34 ± 1,00 ^{aA}	26,90 ± 1,20 ^{aA}	27,81 ± 0,62 ^{cA}	28,01 ± 0,73 ^{aA}
	7	27,12 ± 1,10 ^{aBC}	29,02 ± 0,46 ^{aAB}	26,32 ± 1,22 ^{aC}	26,94 ± 1,51 ^{aBC}	29,88 ± 3,01 ^{abcA}	28,85 ± 0,25 ^{aAB}
	14	26,28 ± 0,54 ^{aB}	29,89 ± 0,91 ^{aA}	26,15 ± 1,12 ^{aB}	26,12 ± 0,54 ^{aB}	30,79 ± 4,08 ^{abA}	29,38 ± 0,66 ^{aA}
	21	26,04 ± 0,21 ^{aB}	29,86 ± 0,60 ^{aA}	26,32 ± 0,32 ^{aB}	25,55 ± 0,57 ^{aB}	29,06 ± 1,17 ^{bcA}	29,13 ± 1,22 ^{aA}
	28	25,63 ± 0,37 ^{aC}	29,95 ± 1,02 ^{aAB}	25,20 ± 0,25 ^{aC}	25,26 ± 0,48 ^{aC}	31,61 ± 3,97 ^{aA}	29,25 ± 1,00 ^{aB}
a*	1	0,47 ± 0,68 ^{aB}	-0,08 ± 0,67 ^{aC}	0,53 ± 1,04 ^{aB}	1,03 ± 0,80 ^{aA}	-0,5 ± 0,54 ^{aC}	-0,05 ± 0,47 ^{aC}
	7	0,81 ± 0,89 ^{aB}	-0,34 ± 0,86 ^{aC}	0,94 ± 1,06 ^{aB}	1,08 ± 0,75 ^{aA}	0,01 ± 0,96 ^{aC}	0,14 ± 0,76 ^{aC}
	14	0,70 ± 0,52 ^{aB}	-0,46 ± 1,09 ^{aC}	0,62 ± 0,93 ^{aB}	0,95 ± 0,56 ^{aA}	-0,54 ± 0,94 ^{aC}	-0,36 ± 1,14 ^{aC}
	21	0,55 ± 0,25 ^{aB}	-0,83 ± 0,60 ^{aC}	0,43 ± 0,65 ^{aB}	0,84 ± 0,45 ^{aA}	-0,90 ± 0,72 ^{aC}	-0,66 ± 0,69 ^{aC}
	28	0,34 ± 0,42 ^{aB}	-0,89 ± 0,61 ^{aC}	0,28 ± 0,52 ^{aB}	0,61 ± 0,24 ^{aA}	-0,83 ± 0,72 ^{aC}	-0,72 ± 0,85 ^{aC}
b*	1	5,34 ± 1,19 ^{aAB}	5,01 ± 0,95 ^{aB}	5,28 ± 1,75 ^{aAB}	6,68 ± 2,20 ^{aA}	4,59 ± 0,34 ^{bB}	5,19 ± 0,34 ^{aB}
	7	6,18 ± 1,77 ^{aA}	5,72 ± 1,10 ^{aA}	6,01 ± 2,21 ^{aA}	5,96 ± 1,35 ^{abA}	6,94 ± 3,66 ^{aA}	6,01 ± 1,51 ^{aA}
	14	5,44 ± 0,63 ^{aA}	6,23 ± 1,26 ^{aA}	5,27 ± 1,76 ^{aA}	5,53 ± 1,15 ^{abA}	6,21 ± 0,74 ^{abA}	6,52 ± 1,04 ^{aA}
	21	4,63 ± 0,39 ^{aA}	5,59 ± 0,18 ^{aA}	4,31 ± 0,54 ^{aA}	4,90 ± 0,54 ^{abA}	5,58 ± 0,19 ^{abA}	5,59 ± 0,36 ^{aA}
	28	4,52 ± 0,28 ^{aBCD}	5,77 ± 0,30 ^{aAB}	4,01 ± 0,56 ^{aD}	4,34 ± 0,18 ^{bCD}	6,03 ± 0,52 ^{abA}	5,65 ± 0,25 ^{aABC}
Turbidez a 600nm	1	1,79 ± 0,02 ^{aB}	2,05 ± 0,02 ^{aA}	1,79 ± 0,10 ^{aB}	1,69 ± 0,03 ^{abB}	2,04 ± 0,09 ^{aA}	2,00 ± 0,04 ^{aA}
	7	1,56 ± 0,02 ^{bB}	1,95 ± 0,01 ^{aA}	1,56 ± 0,01 ^{bB}	1,48 ± 0,01 ^{bB}	1,97 ± 0,01 ^{aA}	1,91 ± 0,18 ^{aA}
	14	1,85 ± 0,10 ^{aB}	2,13 ± 0,06 ^{aA}	1,86 ± 0,04 ^{aB}	1,74 ± 0,07 ^{aB}	2,18 ± 0,02 ^{aA}	2,09 ± 0,03 ^{aA}
	21	1,78 ± 0,06 ^{aB}	2,11 ± 0,07 ^{aA}	1,82 ± 0,09 ^{aB}	1,86 ± 0,25 ^{aB}	2,02 ± 0,22 ^{aA}	2,08 ± 0,03 ^{aA}
	28	1,85 ± 0,05 ^{aB}	2,09 ± 0,09 ^{aA}	1,84 ± 0,11 ^{aB}	1,73 ± 0,03 ^{aB}	2,15 ± 0,07 ^{aA}	2,07 ± 0,09 ^{aA}

*Médias ± desvio padrão na mesma linha acompanhadas de letras maiúsculas distintas indicam diferenças a $p \leq 0,05$ entre as formulações de caldo de cana para o mesmo dia de estocagem. Médias ± desvio padrão na mesma coluna acompanhadas de letras minúsculas distintas indicam diferenças a $p \leq 0,05$ para cada formulação afetada pelo tempo de armazenamento (n=5).

**Formulações: (PURO) puro (padrão), (PRO) probiótico, (OLIGO) oligofrutose, (POLI) polidextrose, (SIMB-O) oligofrutose + probiótico e (SIMB-P) polidextrose + probiótico.

Tabela 11 – Valores médios de pH, acidez titulável, compostos fenólicos e SST dos caldos de cana armazenados a 7°C*.

Parâmetro	Tempo de estocagem (dias)	Formulações**					
		PURO	PRO	OLIGO	POLI	SIMB-O	SIMB-P
pH	1	5,24 ± 0,42 ^{aA}	4,15 ± 0,30 ^{aB}	5,14 ± 0,18 ^{aA}	5,21 ± 0,11 ^{aA}	4,10 ± 0,24 ^{aB}	3,99 ± 0,34 ^{aB}
	7	5,34 ± 0,19 ^{aA}	3,87 ± 0,07 ^{abB}	5,21 ± 0,16 ^{aA}	5,23 ± 0,14 ^{aA}	3,90 ± 0,11 ^{abB}	3,66 ± 0,11 ^{abB}
	14	5,27 ± 0,05 ^{aA}	3,77 ± 0,25 ^{bB}	5,31 ± 0,42 ^{aA}	5,19 ± 0,15 ^{aA}	3,72 ± 0,22 ^{bcB}	3,53 ± 0,25 ^{bcB}
	21	5,12 ± 0,03 ^{aA}	3,77 ± 0,61 ^{bB}	5,09 ± 0,08 ^{aA}	5,17 ± 0,01 ^{aA}	3,46 ± 0,12 ^{cC}	3,30 ± 0,15 ^{cC}
	28	5,14 ± 0,15 ^{aA}	3,56 ± 0,09 ^{bB}	5,09 ± 0,17 ^{aA}	5,10 ± 0,14 ^{aA}	3,46 ± 0,06 ^{cB}	3,31 ± 0,05 ^{cB}
Acidez titulável (% de ácido cítrico)	1	0,08 ± 0,01 ^{aB}	0,17 ± 0,01 ^{cA}	0,09 ± 0,02 ^{aB}	0,08 ± 0,00 ^{aB}	0,17 ± 0,01 ^{dA}	0,18 ± 0,01 ^{eA}
	7	0,07 ± 0,00 ^{aC}	0,20 ± 0,03 ^{cB}	0,09 ± 0,02 ^{aC}	0,08 ± 0,02 ^{aC}	0,20 ± 0,01 ^{cAB}	0,23 ± 0,03 ^{dA}
	14	0,08 ± 0,01 ^{aC}	0,23 ± 0,02 ^{bB}	0,09 ± 0,02 ^{aC}	0,07 ± 0,01 ^{aC}	0,24 ± 0,00 ^{bB}	0,28 ± 0,03 ^{cA}
	21	0,07 ± 0,02 ^{aC}	0,27 ± 0,00 ^{aB}	0,01 ± 0,01 ^{aC}	0,08 ± 0,02 ^{aC}	0,26 ± 0,02 ^{bB}	0,31 ± 0,03 ^{bA}
	28	0,07 ± 0,02 ^{aC}	0,26 ± 0,01 ^{aB}	0,09 ± 0,03 ^{aC}	0,07 ± 0,01 ^{aC}	0,29 ± 0,01 ^{aB}	0,35 ± 0,04 ^{aA}
SST (°Brix)	1	19,57 ± 0,92 ^{aC}	19,57 ± 1,34 ^{aC}	21,03 ± 0,63 ^{aB}	20,87 ± 0,88 ^{aB}	21,63 ± 0,54 ^{aA}	21,13 ± 0,85 ^{aB}
	7	19,58 ± 1,59 ^{aC}	19,15 ± 2,01 ^{aC}	21,12 ± 1,45 ^{aB}	21,20 ± 1,46 ^{aB}	21,62 ± 1,02 ^{aA}	20,98 ± 1,23 ^{aB}
	14	19,73 ± 1,21 ^{aC}	19,32 ± 1,85 ^{aC}	20,82 ± 0,82 ^{aB}	20,87 ± 1,61 ^{aB}	21,15 ± 1,19 ^{aA}	20,53 ± 1,59 ^{aB}
	21	19,20 ± 1,29 ^{aC}	18,90 ± 1,72 ^{aC}	20,73 ± 1,00 ^{aB}	20,30 ± 0,65 ^{aB}	20,92 ± 0,66 ^{aA}	20,42 ± 1,16 ^{aB}
	28	19,92 ± 1,01 ^{aC}	19,98 ± 2,07 ^{aC}	21,47 ± 0,97 ^{aB}	21,65 ± 1,28 ^{aB}	21,88 ± 0,31 ^{aA}	21,45 ± 1,09 ^{aB}
Compostos fenólicos (mg equivalente de ác. Gálico/L de amostra)	1	387,35 ± 84,28 ^{aC}	710,06 ± 200,84 ^{aAB}	537,18 ± 125,82 ^{aBC}	436,34 ± 1889,73 ^{aC}	833,96 ± 142,14 ^{aA}	891,59 ± 265,73 ^{aA}
	7	488,20 ± 287,21 ^{aAB}	571,76 ± 159,73 ^{aA}	364,30 ± 154,02 ^{aB}	401,76 ± 137,00 ^{aAB}	496,84 ± 244,18 ^{bAB}	571,76 ± 123,42 ^{bA}
	14	421,93 ± 212,42 ^{aA}	534,30 ± 118,10 ^{aA}	378,71 ± 234,93 ^{aA}	381,59 ± 121,96 ^{aA}	496,84 ± 150,22 ^{bA}	571,01 ± 109,16 ^{bA}
	21	381,59 ± 107,92 ^{aB}	502,61 ± 72,87 ^{aAB}	442,10 ± 78,59 ^{aAB}	430,57 ± 89,94 ^{aAB}	623,62 ± 164,89 ^{abA}	589,05 ± 159,36 ^{bA}
	28	499,73 ± 89,27 ^{aBC}	675,49 ± 87,07 ^{aAB}	459,39 ± 47,24 ^{aC}	522,78 ± 92,78 ^{aABC}	715,83 ± 113,85 ^{abA}	643,79 ± 94,06 ^{bABC}

*Médias ± desvio padrão na mesma linha acompanhadas de letras maiúsculas distintas indicam diferenças a $p \leq 0,05$ entre as formulações de caldo de cana para o mesmo dia de estocagem. Médias ± desvio padrão na mesma coluna acompanhadas de letras minúsculas distintas indicam diferenças a $p \leq 0,05$ para cada formulação afetada pelo tempo de armazenamento (n=5).

**Formulações: (PURO) puro (padrão), (PRO) probiótico, (OLIGO) oligofrutose, (POLI) polidextrose, (SIMB-O) oligofrutose + probiótico e (SIMB-P) polidextrose + probiótico.

O caldo de cana adicionado de prebióticos (OLIG, POLI, SIMB-O e SIMB-P) apresentou maior teor de SST ($p \leq 0,05$) do que o produto puro e com probiótico (PURO e PRO). O maior teor de sólidos solúveis do produto adicionado de prebiótico pode estar relacionado à composição química da oligofrutose e polidextrose, pois são oligossacarídeos solúveis (ABREU *et al.*, 2011) que podem ser identificados em análise refratométrica.

Durante o armazenamento refrigerado houve manutenção do SST em todas as formulações ($p > 0,05$). A manutenção dos SST nos produtos probióticos pode estar relacionada à hidrólise da sacarose, originando frutose e glicose. A glicose pode ter sido posteriormente utilizada pela cultura probiótica, mas, com manutenção do teor de SST em maior valor do que o produto puro. De fato, a sacarose é o principal oligossacarídeo presente no caldo de cana, e pode ser hidrolisada por enzimas dos *Lactobacillus*, levando à formação de frutose e glicose (GÄNZLE; FOLLADOR, 2012). Wang *et al.* (2003), em estudos com *L. acidophilus* e *S. thermophilus* em extrato hidrossolúvel de soja, verificaram que as culturas ocasionaram diminuição no conteúdo de sacarose, em contrapartida, as amostras apresentaram aumento no teor de frutose e glicose. Nualkaekul e Charalampopoulos (2011) também constataram aumento na concentração de total de açúcares (de 5-50 g/L) após armazenamento de sucos probióticos fermentados formulados com sacarose, glucose e frutose (50, 25 e 25 g/L, respectivamente). Além disso, a preferência de algumas culturas probióticas por glicose como fonte de carbono tem sido relatada (MOUSAVI *et al.*, 2011; WANG *et al.*, 2003).

Quanto aos compostos fenólicos, as formulações adicionadas de probióticos (PRO, SIMB-O e SIMB-P) apresentaram maiores concentrações em relação às demais amostras, (PURO, OLIGO e POLI) ($p \leq 0,05$) em alguns períodos de armazenamento avaliados, enquanto em outros, não houve diferença significativa ($p > 0,05$). Esses resultados podem estar relacionados ao fato dos compostos fenólicos serem mais estáveis em meio ácido (SOUZA *et al.*, 2017), e os produtos probióticos eram mais ácidos (Tabela 10).

Não foram observadas alterações no teor de compostos fenólicos pela adição de oligofrutose (OLIGO) ou polidextrose (POLI) ($p > 0,05$). Durante o período de armazenamento, todas as formulações mantiveram os níveis iniciais ($p > 0,05$) até o 28º dia de armazenamento refrigerado a 7°C. Os resultados indicam boas condições de processamento e armazenamento, pois produtos contendo compostos fenólicos, quando expostos a condições impróprias de processamento e período prolongado de

armazenamento tendem a apresentar reduções destes componentes devido à oxidação enzimática e/ou química (ABREU *et al.*, 2011). Os compostos fenólicos atuam como agentes antioxidantes (ANGELO; JORGE, 2007) e podem contribuir para a redução do risco de doenças crônicas não transmissíveis (DEL RÉ; JORGE, 2012). Nos alimentos, eles são responsáveis pela cor, adstringência, aroma e estabilidade oxidativa (LESSCHAEVE; NOBLE, 2005; BALASUNDRAM *et al.*, 2006; ANGELO; JORGE, 2007). Desta forma, são constituintes importantes para a saúde e aceitação dos produtos pelos consumidores, e estabilidade durante o armazenamento. Kadam *et al.* (2008) verificaram uma relação diretamente proporcional do conteúdo de compostos fenólicos e flavonoides presente em caldo de cana, aos efeitos antioxidantes, e estes compostos podem contribuir para a redução do risco de doenças crônicas não transmissíveis (DEL RÉ; JORGE, 2012).

O teor de compostos fenólicos em caldos de cana (364,30 a 891,59 mGAE/L) foi menor que o observado para sucos de uva vermelha (1728 mGAE/L), mas semelhantes aos de outros sucos, como maçã (339 mGAE/L), toranja (535 mGAE/L), laranja (755 mGAE/L), abacaxi (358 mGAE/L) e ameixa (441 mGAE/L) (BALASUNDRAM *et al.*, 2006). O teor de compostos fenólicos nos caldos de cana-de-açúcar (364,30 a 891,59 mgGAE/L) foi menor que o observado Kadam *et al.*, (2008) que avaliaram o conteúdo de compostos fenólicos em três cultivares de cana de açúcar, sendo observado os valores $631,5 \pm 4,4$, $664,5 \pm 3,9$ e $402,3 \pm 7,9$ mgGAE/mL de suco. Os autores verificaram influência da variedade da planta sobre o teor de compostos fenólicos. Caderby *et al.* (2013) também relataram a influência da variedade, maturidade, e época de colheita dos colmos de cana-de-açúcar sobre o teor de compostos fenólicos da cana-de-açúcar.

4.4 – Textura

Os valores médios de firmeza, consistência, coesividade e viscosidade dos caldos de cana armazenados a 7°C estão apresentados na Tabela 12.

Os parâmetros de textura (firmeza, consistência, coesividade e viscosidade) foram semelhantes em todas as formulações, independentemente do componente adicionado (probiótico, oligofrutose ou polidextrose) ($p > 0,05$). Além disso, todos os atributos de textura mantiveram-se semelhantes aos observados no produto puro ($p > 0,05$) durante o armazenamento refrigerado. Manutenção dos parâmetros de textura

também foi observado por Costa *et al.* (2017) em suas formulações de suco de laranja (probiótico, prebiótico e adicionado de ácido ascórbico), onde não foram identificadas diferenças nos parâmetros de textura (firmeza, consistência, coesividade e viscosidade) durante os 28 dias de armazenamento ($p > 0,05$). A manutenção da textura durante o armazenamento refrigerado é importante, indicando que a adição dos componentes probióticos e prebióticos não modificam o produto e que estes são semelhantes a bebida recém-fabricada, mesmo após 28 dias de armazenamento.

Tabela 12 – Valores médios de firmeza, consistência, coesividade e viscosidade dos caldos de cana armazenados a 7°C*.

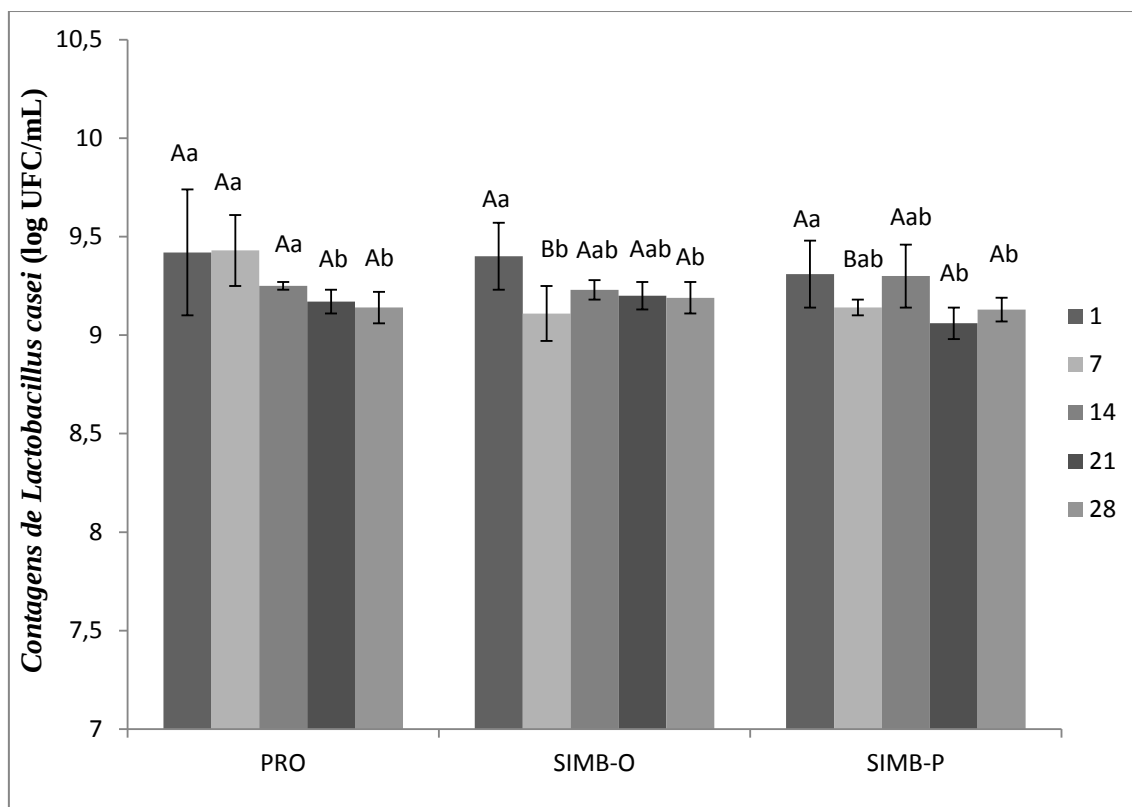
Parâmetro	Tempo de estocagem (dias)	Formulações**					
		PURO	PRO	OLIGO	POLI	SIMB-O	SIMB-P
Firmeza (g)	1	27,59 ± 0,58 ^{aABC}	27,26 ± 0,34 ^{aBC}	27,57 ± 0,47 ^{aAB}	27,79 ± 0,55 ^{aA}	27,10 ± 0,63 ^{aABC}	27,17 ± 1,07 ^{aC}
	7	27,61 ± 0,47 ^{aABC}	27,32 ± 0,72 ^{aBC}	27,92 ± 0,91 ^{aAB}	27,61 ± 1,21 ^{aA}	27,32 ± 1,06 ^{aABC}	27,22 ± 0,65 ^{aC}
	14	30,85 ± 4,36 ^{aABC}	31,18 ± 4,19 ^{aBC}	31,18 ± 4,44 ^{aAB}	31,45 ± 3,99 ^{aA}	31,34 ± 3,72 ^{aABC}	30,96 ± 3,74 ^{aC}
	21	31,42 ± 4,69 ^{aABC}	30,96 ± 4,41 ^{aBC}	31,84 ± 4,34 ^{aAB}	31,69 ± 4,71 ^{aA}	31,20 ± 5,14 ^{aABC}	30,94 ± 5,00 ^{aC}
	28	31,91 ± 3,58 ^{aABC}	31,32 ± 3,93 ^{aBC}	31,53 ± 3,95 ^{aAB}	32,10 ± 4,12 ^{aA}	31,69 ± 3,74 ^{aABC}	31,17 ± 3,30 ^{aC}
Consistência (g.seg)	1	159,01 ± 3,97 ^{aA}	156,22 ± 1,91 ^{aA}	158,26 ± 2,30 ^{aA}	158,50 ± 3,20 ^{aA}	171,89 ± 43,08 ^{aA}	155,18 ± 7,36 ^{aA}
	7	159,45 ± 3,84 ^{aA}	157,58 ± 4,62 ^{aA}	161,22 ± 6,00 ^{aA}	159,31 ± 8,01 ^{aA}	157,58 ± 6,33 ^{aA}	157,57 ± 3,73 ^{aA}
	14	200,65 ± 52,97 ^{aA}	202,10 ± 51,35 ^{aA}	203,06 ± 54,06 ^{aA}	205,12 ± 49,06 ^{aA}	203,09 ± 48,02 ^{aA}	199,99 ± 48,16 ^{aA}
	21	204,89 ± 53,79 ^{aA}	200,85 ± 51,31 ^{aA}	206,69 ± 51,61 ^{aA}	206,59 ± 53,62 ^{aA}	202,27 ± 56,23 ^{aA}	245,87 ± 143,52 ^{aA}
	28	206,04 ± 48,24 ^{aA}	203,67 ± 47,47 ^{aA}	204,19 ± 49,41 ^{aA}	206,71 ± 50,03 ^{aA}	204,37 ± 45,15 ^{aA}	201,22 ± 45,37 ^{aA}
Coesividade (g)	1	5,88 ± 0,19 ^{aA}	6,07 ± 0,14 ^{aA}	6,16 ± 0,16 ^{aA}	6,12 ± 0,21 ^{aA}	5,92 ± 0,21 ^{aA}	6,10 ± 0,24 ^{aA}
	7	5,96 ± 0,22 ^{aA}	6,12 ± 0,25 ^{aA}	5,96 ± 0,18 ^{aA}	6,18 ± 0,16 ^{aA}	6,14 ± 0,34 ^{aA}	5,90 ± 0,19 ^{aA}
	14	5,94 ± 0,41 ^{aA}	5,94 ± 0,18 ^{aA}	6,08 ± 0,21 ^{aA}	6,18 ± 0,23 ^{aA}	6,12 ± 0,09 ^{aA}	5,94 ± 0,13 ^{aA}
	21	5,99 ± 0,19 ^{aA}	6,14 ± 0,18 ^{aA}	6,08 ± 0,15 ^{aA}	6,16 ± 0,24 ^{aA}	6,20 ± 0,39 ^{aA}	6,07 ± 0,32 ^{aA}
	28	6,08 ± 0,15 ^{aA}	6,14 ± 0,23 ^{aA}	6,12 ± 0,24 ^{aA}	6,05 ± 0,15 ^{aA}	6,10 ± 0,29 ^{aA}	6,20 ± 0,38 ^{aA}
Índice de viscosidade (g.seg)	1	0,75 ± 0,10 ^{aA}	0,78 ± 0,08 ^{aA}	0,82 ± 0,06 ^{aA}	0,83 ± 0,11 ^{aA}	0,78 ± 0,07 ^{aA}	0,80 ± 0,12 ^{aA}
	7	0,78 ± 0,14 ^{aA}	0,82 ± 0,13 ^{aA}	0,72 ± 0,11 ^{aA}	0,83 ± 0,08 ^{aA}	0,84 ± 0,14 ^{aA}	0,73 ± 0,09 ^{aA}
	14	0,85 ± 0,06 ^{aA}	0,89 ± 0,11 ^{aA}	0,89 ± 0,07 ^{aA}	0,87 ± 0,13 ^{aA}	0,74 ± 0,04 ^{aA}	0,83 ± 0,14 ^{aA}
	21	0,80 ± 0,14 ^{aA}	0,87 ± 0,08 ^{aA}	0,76 ± 0,08 ^{aA}	0,88 ± 0,09 ^{aA}	0,79 ± 0,09 ^{aA}	0,80 ± 0,11 ^{aA}
	28	0,79 ± 0,04 ^{aA}	0,77 ± 0,10 ^{aA}	0,76 ± 0,10 ^{aA}	0,78 ± 0,10 ^{aA}	0,79 ± 0,12 ^{aA}	0,75 ± 0,15 ^{aA}

*Médias ± desvio padrão na mesma linha acompanhadas de letras maiúsculas distintas indicam diferenças a $p \leq 0,05$ entre as formulações de caldo de cana para o mesmo dia de estocagem. Médias ± desvio padrão na mesma coluna acompanhadas de letras minúsculas distintas indicam diferenças a $p \leq 0,05$ para cada formulação afetada pelo tempo de armazenamento (n=5).

**Formulações: (PURO) puro (padrão), (PRO) probiótico, (OLIGO) oligofrutose, (POLI) polidextrose, (SIMB-O) oligofrutose + probiótico e (SIMB-P) polidextrose + probiótico.

4.5 – Contagem de *L. casei*

As contagens médias de *L. casei* dos caldos de cana durante o período de armazenamento foram convertidas à escala logarítmica antes que os dados fossem analisados estatisticamente e estão apresentadas na Figura 10.



* Letras maiúsculas distintas indicam diferenças a $p \leq 0,05$ entre as formulações de caldo de cana para o mesmo dia de estocagem. Letras minúsculas distintas indicam diferenças a $p \leq 0,05$ para cada formulação afetada pelo tempo de armazenamento ($n=6$).

**Formulações: (PRO) probiótico, (SIMB-O) oligofrutose + probiótico e (SIMB-P) polidextrose + probiótico.

Figura 10 – Contagens médias (log UFC/mL) de *Lactobacillus casei* dos caldos de cana durante o período de armazenamento a 7°C*.

No primeiro dia de armazenamento as formulações de caldo de cana apresentaram contagens semelhantes de *L. casei* ($p > 0,05$), indicando que o microrganismo foi adicionado na mesma concentração. Durante o período de armazenamento, a contagem de probióticos diminuiu em todas as formulações ($p \leq 0,05$).

Aditivos, tais como, sais, açúcares, edulcorantes, corantes, aromatizantes, frutas e conservantes, podem mostrar diferentes comportamentos (nenhum efeito, atraso do crescimento ou inibição total do crescimento) sobre bactérias probióticas (VINDEROLA *et al.*, 2002). Por vezes, faz-se o uso de aditivos químicos em alimentos, entretanto, deve se levar em consideração a tolerância dos microrganismos ao ingrediente selecionado (VINDEROLA *et al.*, 2002). A seleção dos componentes bem como a concentração devem ser avaliadas conjuntamente com bactérias probióticas a fim de atingir a melhor combinação para crescimento e a viabilidade celular durante o processo industrial e o armazenamento do produto (VINDEROLA *et al.*, 2002). No caso dos caldos de cana, a diminuição da viabilidade está relacionada ao menor pH das formulações adicionadas de probióticos e à presença de oxigênio dissolvido.

Apesar das condições ácidas dos produtos probióticos (pH 3,46 - 4,15) e a elevada concentração de carboidratos (19,68 - 22,88 g/100 mL), o microrganismo *L. casei* manteve contagens satisfatórias ($>10^9$ UFC/mL) durante os 28 dias de armazenamento, perfazendo o quantitativo recomendado na literatura (10^6 UFC/mL) (DONKOR *et al.*, 2007). Costa *et al.* (2017) acompanharam durante 28 dias a viabilidade de *L. casei* em suco de laranja suplementado com oligofrutose e também verificaram contagens elevadas (10^7 UFC/mL) durante todo intervalo de estudo, sugerindo que o suco de laranja é um substrato apropriado para propagação de *L. casei*.

Doses insuficientes do probiótico no momento do consumo do produto não irão fornecer os benefícios pretendidos de saúde (ANVISA, 2016). Portanto, verifica-se que a contagem de células vivas presentes nos caldos de cana indica que a matriz alimentar em estudo é uma possível alternativa para a introdução de componentes funcionais como probióticos e prebióticos.

A viabilidade das bactérias probióticas em sucos é negativamente relacionada com a temperatura de armazenamento, sendo que a refrigeração pode assegurar uma sobrevivência mais longa, e temperaturas demasiadamente baixas podem causar um efeito prejudicial (PERRICONE *et al.*, 2015). Testando as condições convencionais de comercialização de produtos refrigerados, a temperatura de 7°C foi aplicada para o armazenamento neste estudo. Estudos anteriores avaliaram a sobrevivência da cultura probiótica a 4°C, a qual não é a temperatura dos refrigeradores domésticos (COSTA *et al.*, 2017; PIMENTEL *et al.*, 2015).

Os trabalhos que utilizam culturas probióticas convencionalmente fazem a ativação da cultura probiótica em caldo MRS e posterior aplicação da biomassa na

forma de solução salina aos sucos (KIM *et al.*, 2012; PAKBIN *et al.*, 2014; PEREIRA *et al.*, 2011; PIMENTEL *et al.*, 2015). Essas metodologias são onerosas, demoradas e com risco de contaminação em vista das várias etapas necessárias.

Na busca de novas alternativas de processamento de produtos probióticos, Costa *et al.* (2017) estudaram a propagação da cultura probiótica *L. casei* no próprio produto (suco de laranja) como meio de cultivo na etapa de ativação. Os mesmos verificaram que o caldo MRS pode ser substituído pelo suco de laranja, sem comprometimento da sobrevivência, o que diminui os custos de produção (economia de US\$ 2.615/L). Entretanto, continua demandando tempo de processamento relativamente longo.

Os resultados do presente trabalho indicam que a cultura probiótica *L. casei* é resistente, o caldo de cana é um meio adequado para a suplementação de probiótico, e os produtos podem ser armazenados durante 28 dias a 7°C, que é a condição convencional de comercialização de sucos refrigerados. Além disso, prova que é possível adicionar a cultura probiótica diretamente na forma liofilizada, resultando em produtos com contagens suficientes, sem necessidade de propagar o probiótico em caldo MRS ou suco e separar a biomassa em centrífuga refrigerada. Este resultado é extremamente importante para a indústria de bebidas, uma vez que facilita a produção, requer menos tempo e reduz as chances de contaminação.

A adição de componentes prebióticos (SINB-O e SINB-P) não teve influência na viabilidade da cultura probiótica ($p > 0,05$) (PRO). O efeito protetor de prebióticos em culturas probióticas parece estar relacionado às características físico-químicas das bebidas de frutas e vegetais. O caldo de cana não tem um pH extremamente baixo (3.3-5.4), apresenta compostos nitrogenados em quantidades suficientes (teor de proteína $> 0,3\%$, Nualkaekul *et al.* (2012), açúcares totais elevados (18 g/100mL, MANIKANTAN *et al.*, 2017) e conteúdo adequado de vitamina C (2,98 mg/100mL), RAMACHANDRAN *et al.*, 2017), o que ajudou a manter a viabilidade do probiótico *L. casei*.

4.6 – Análises microbiológicas: *Salmonella spp.* e coliformes a 45°C

Os resultados da análise de *Salmonella spp.* e coliformes termotolerantes dos caldos de cana armazenados por 28 dias a 7°C são apresentados na Tabela 13.

Tabela 13 – *Salmonella spp.* e coliformes termotolerantes (45°C) em caldo de cana armazenado (28 dias a 7°C)*.

Formulações*	<i>Salmonella spp.</i>	Coliformes termotolerantes (NMP/mL)
PURO	Ausência	< 3 NMP
PRO	Ausência	< 3 NMP
OLIGO	Ausência	< 3 NMP
POLI	Ausência	< 3 NMP
SIMB-O	Ausência	< 3 NMP
SIMB-P	Ausência	< 3 NMP

*Formulações: (PURO) puro, (PRO) probiótico, (OLIGO) oligofrutose, (POLI) polidextrose, (SIMB-O) oligofrutose + probiótico e (SIMB-P) polidextrose + probiótico

Todas as amostras apresentaram ausência de *Salmonella spp.* e ausência da formação de gás na análise de coliformes. Desta forma, verificou-se contagens menores que 3 NMP/mL de coliformes termotolerantes, estando de acordo com Resolução nº 12 (BRASIL, 2001) que estabelece para sucos pasteurizados e refrigerados, incluindo caldo de cana isolado ou em mistura, ausência de *Salmonella spp.* e limite máximo de coliformes termotolerantes de 10 NMP/mL. As contagens microbiológicas deste estudo se encontram abaixo dos limites estabelecidos pela legislação brasileira, alusivo de condições sanitárias satisfatórias.

A associação de matéria-prima de qualidade, aplicação correta das boas práticas de fabricação e tratamento térmico aplicado se mostram eficiente quanto a inibição de microrganismos, assegurando a qualidade e estabilidade do produto. Khan *et al.*, (2017) em seus estudos mostram que aplicação de tecnologias de barreira, processos mais brandos de conservação, e associação destes, exercem efeitos sinérgicos para a inibição ou inativação dos microrganismos alvo. O conceito de tecnologia de obstáculos se encaixa bem com a atual tendência do consumidor por alimentos minimamente processados (MUKHOPADHYAY; GORRIS, 2014).

Andrade *et al.* (2008) analisaram caldo de cana extraído de toletes de cana-de-açúcar minimamente processados, armazenado sob diferentes temperaturas e constataram a diminuição de até 3,3 ciclos logarítmicos nas contagens de microrganismos após sanitização com 200 mg/L de cloro livre. Condição diferentes foram encontradas por Carvalho *et al.*, (2016) em avaliação de caldo de cana comercializado por ambulantes na cidade de Natal – RN. Das 25 amostras avaliadas, de cinco locais, 40% apresentaram coliformes a 45°C acima do limite estabelecido pela

legislação vigente, estando impróprias para consumo. Para análise de *Salmonella spp.* todos os locais apresentaram ausência do contaminante. Os autores citam a má manipulação do alimento no momento da preparação e a falta de higiene com os utensílios e equipamentos utilizados na preparação do alimento como fatores responsáveis pela contaminação dos produtos.

4.7 – Análise Sensorial

Na Tabela 14 estão apresentados os valores médios de aceitação (aparência, aroma, sabor, textura e impressão geral) das formulações de caldo de cana.

Os produtos apresentaram pontuações de 4,93 a 7,12 em uma escala de 9 pontos, indicando que os consumidores eram indiferentes a algumas formulações e gostavam moderadamente das demais. As baixas pontuações de aceitação nos produtos puros (5.93-6.78) estão relacionadas ao uso de um banho maria na pasteurização dos produtos e ao fato dos consumidores estarem acostumados ao consumo imediato do caldo de cana logo após a extração, ou seja, sem haver processamento térmico. Costa *et al.* (2017) relataram que esses problemas tecnológicos poderiam ser resolvidos facilmente em escala industrial, já que as indústrias possuem trocadores de calor para o tratamento térmico, os quais utilizam temperaturas mais altas e menor tempo de retenção (segundos) do que o método por batelada (banho maria), mantendo as propriedades sensoriais dos sucos.

A adição de oligofructose (OLIG) ou polidextrose (POLI) não alterou a aceitação do caldo de cana em nenhum dos atributos avaliados (aparência, aroma, sabor, textura, impressão geral e intenção de compra) ($p > 0,05$). Além disso, as mudanças de cor fornecidas pela polidextrose aumentaram a aceitação na aparência (dia 28) ($p \leq 0,05$). Os resultados indicam que a oligofructose e a polidextrose podem ser usadas como componentes prebióticos sem impacto negativo na aceitação sensorial dos produtos.

A adição da cultura probiótica resultou em diminuição da aceitação na maioria dos atributos, e o impacto negativo foi acentuado durante o armazenamento ($p \leq 0,05$). Estes resultados podem estar relacionados ao aumento da acidez, turbidez e luminosidade dos produtos probióticos quando comparados aos produtos puros. Estudos anteriores, que utilizaram a propagação das culturas probióticas antes da adição aos sucos de frutas (Pimentel *et al.*, 2015, Costa *et al.*, 2017) não observaram um impacto negativo das culturas na aceitação dos produtos. Portanto, a adição da cultura liofilizada

resultou em uma maior atividade metabólica das culturas probióticas e, conseqüentemente, em maiores mudanças nas características físico-químicas e reduzida aceitação.

Tabela 14 – Valores médios de aceitação (aparência, aroma, sabor, textura e impressão geral) e Intenção de compra dos caldos de cana armazenados a 7°C*.

Atributo	Dias de estocagem	Formulação**					
		PURO	PRO	OLIG	POLI	SIMB-O	SIMB-P
Aparência	1	6,78 ± 2,06 ^{Aa}	6,14 ± 2,06 ^{ABa}	7,03 ± 1,85 ^{Aa}	6,64 ± 1,95 ^{Aa}	5,90 ± 2,25 ^{ABa}	5,53 ± 2,39 ^{Ba}
	28	5,29 ± 2,10 ^{Bb}	5,74 ± 2,19 ^{ABa}	5,01 ± 2,17 ^{Bb}	6,41 ± 8,77 ^{Aa}	5,88 ± 2,14 ^{ABa}	5,89 ± 2,02 ^{ABa}
Aroma	1	6,33 ± 2,11 ^{Aa}	6,22 ± 1,82 ^{Aa}	6,67 ± 1,87 ^{Aa}	6,34 ± 2,06 ^{Aa}	6,18 ± 2,11 ^{Aa}	6,00 ± 2,14 ^{Aa}
	28	5,93 ± 1,86 ^{Aa}	5,10 ± 2,23 ^{Bb}	6,04 ± 1,91 ^{Ab}	5,86 ± 2,08 ^{Aa}	5,13 ± 2,31 ^{Bb}	5,47 ± 2,12 ^{ABa}
Sabor	1	6,65 ± 2,28 ^{Aa}	5,90 ± 2,04 ^{Ba}	7,11 ± 1,78 ^{Aa}	7,07 ± 2,03 ^{Aa}	5,72 ± 2,41 ^{Ba}	5,60 ± 2,41 ^{Ba}
	28	6,70 ± 2,02 ^{Aa}	4,93 ± 2,51 ^{Bb}	6,63 ± 1,91 ^{Aa}	6,15 ± 2,39 ^{Ab}	4,56 ± 2,53 ^{Bb}	5,31 ± 2,64 ^{Ba}
Textura	1	6,74 ± 2,13 ^{Aa}	6,31 ± 1,92 ^{ABa}	7,12 ± 1,73 ^{Aa}	7,12 ± 1,96 ^{Aa}	5,84 ± 2,26 ^{Ba}	5,86 ± 2,14 ^{Ba}
	28	6,66 ± 1,69 ^{Aa}	5,72 ± 2,35 ^{BCa}	6,81 ± 1,54 ^{Aa}	6,37 ± 2,09 ^{ABb}	5,32 ± 2,51 ^{Ca}	5,87 ± 2,25 ^{BCa}
Impressão	1	6,73 ± 2,12 ^{Aa}	6,17 ± 1,85 ^{ABa}	7,17 ± 1,60 ^{Aa}	6,99 ± 1,95 ^{Aa}	5,87 ± 2,11 ^{Ba}	5,65 ± 2,23 ^{Ba}
Geral	28	6,32 ± 1,79 ^{Aa}	5,22 ± 2,47 ^{Bb}	6,23 ± 1,77 ^{Ab}	6,18 ± 2,09 ^{Ab}	4,90 ± 2,41 ^{Bb}	5,53 ± 2,42 ^{Ba}
Intenção de compra	1	3,46 ± 1,30 ^{Aa}	2,97 ± 1,26 ^{Ba}	3,80 ± 1,02 ^{Aa}	3,81 ± 1,19 ^{Aa}	2,84 ± 1,33 ^{Ba}	2,87 ± 1,33 ^{Ba}
	28	3,38 ± 1,12 ^{Aa}	2,67 ± 1,21 ^{Ba}	3,28 ± 1,10 ^{Ab}	3,15 ± 1,20 ^{Ab}	2,48 ± 1,22 ^{Bb}	2,82 ± 1,35 ^{Ba}

*Médias ± desvio padrão na mesma linha acompanhadas de letras maiúsculas distintas indicam diferenças a $p \leq 0,05$ entre as formulações de caldo de cana para o mesmo dia de estocagem. Médias ± desvio padrão na mesma coluna acompanhadas de letras minúsculas distintas indicam diferenças a $p \leq 0,05$ para cada formulação afetada pelo tempo de armazenamento (n=5).

**Formulações: (PURO) puro (padrão), (PRO) probiótico, (OLIGO) oligofrutose, (POLI) polidextrose, (SIMB-O) oligofrutose + probiótico e (SIMB-P) polidextrose + probiótico.

Valores hedônicos (cor, aroma, sabor e global): 1 – desgostei muitíssimo; 9- gostei muitíssimo

Intenção de compra: 1 – certamente não compraria; 5- certamente compraria

CAPÍTULO 5 – CONCLUSÕES

Este estudo fornece contribuições importantes para o seguimento de bebidas naturais e aos pesquisadores na área de alimentos funcionais. O caldo de cana pasteurizado apresentou-se como um meio adequado à incorporação de oligofrutose ou polidextrose como prebióticos, resultando em produtos com características físico-químicas, textura, aceitação e estabilidade ao armazenamento semelhantes ao produto puro. A cultura probiótica *L. casei* permaneceu viável no produto, com contagens na ordem de 10^9 UFC/mL, durante 28 dias de armazenamento refrigerado (7°C), mas a adição do probiótico resultou em produtos mais ácidos, turvos, de coloração mais clara e menos aceitos pelos consumidores.

Este estudo mostrou que é possível adicionar diretamente a cultura probiótica (*L. casei*) liofilizada ao caldo de cana, substituindo os métodos tradicionais de ativação e de propagação da cultura em MRS ou suco, resultando em um processo mais fácil e mais rápido.

CAPÍTULO 6 – SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Otimizar a concentração da cultura probiótica adicionada a fim de reduzir o impacto negativo nas características físico-químicas e na aceitação dos produtos pelos consumidores.

CAPÍTULO 7 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, D. A.; SILVA, L. M. R.; LIMA, A. S. *et al.* Desenvolvimento de bebida mistas à base de manga, maracujá e caju adicionados de prebióticos. **Alimentos e Nutrição**, v. 22, n. 2, p. 197–203, 2011.

ADEWOLE, K. A.; ADAMOLEKUN, M. T.; AKINNUSI, R. Development of a sugarcane juice extractor for small scale industries. **Journal of Multidisciplinary Engineering Science and Technology**, v. 2, n. 5, p. 1169–1173, 2015.

AGHAJANZADEH, S.; ZIAIIFAR, A. M. A review of pectin methylesterase inactivation in citrus juice during pasteurization. **Trends in Food Science & Technology**, v. 71, p. 1–12, 2018.

AL-SHERAJI, S. H.; ISMAIL, A.; MANAP, M. Y. *et al.* Prebiotics as functional foods : A review. **Journal of Functional Foods**, v. 5, n. 4, p. 1542–1553, 2013.

ALVES FILHO, E. G.; RODRIGUES, T. H. S.; FERNANDES, F. A. N. *et al.* Chemometric evaluation of the volatile profile of probiotic melon and probiotic cashew juice. **Food Research International**, v. 99, n. 1, p. 461–468, 2017.

ANDRADE, P. F. S. **Análise da conjuntura agropecuária safra 2016/17 - fruticultura**. p. 1–9, 2017. Disponível em: <http://www.agricultura.pr.gov.br/arquivos/File/deral/Prognosticos/2017/Fruticultura_2016_17.pdf>. Acessado em: setembro de 2017.

ANDRADE, S.; PORTO, E.; SPOTO, M. Avaliação da qualidade do caldo extraído de toletes de cana-de-açúcar minimamente processada, armazenados sob diferentes temperaturas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, n. 2435, p. 51–55, 2008.

ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 66, n. 1, p. 1–9, 2007.

ANTUNES, A. E. C.; LISERRE, A. M.; COELHO, A. L. A. *et al.* Acerola nectar with added microencapsulated probiotic. **LWT - Food Science and Technology**, v. 54, n. 1, p. 125–131, 2013.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Alimentos com alegações de propriedades de propriedades funcionais e ou de saúde: lista de alegações de propriedade funcional aprovadas**. Atualizado em dezembro, 2016. 2016.

ARES, G.; ANDRADE, J. C.; ANTÚNEZ, L. *et al.* Hedonic product optimisation : CATA questions as alternatives to JAR scales. **Food Quality and Preference**, v. 55, p. 67–78, 2017.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS – ABNT. **Análise sensorial dos alimentos e bebidas: terminologia**. 1993. 8 p.

Association of Official Analytical Chemistry (AOAC). (2004). **Official methods of analysis**. 15th ed. Washington, DC., USA: Association of Official Analytical Chemists.

AUCLAIR, J.; FRAPPIER, M.; MILLETTE, M. *Lactobacillus acidophilus* CL1285, *Lactobacillus casei* LBC80R, and *Lactobacillus rhamnosus* CLR2 (Bio-K+): Characterization, Manufacture, Mechanisms of Action, and Quality Control of a Specific Probiotic Combination for Primary Prevention of Clostridium di. **Clinical Infectious Diseases**, v. 60, n. 2, p. 135–143, 2015.

AZEVEDO, A. M. F.; LIMA, L. S.; MELO, M. V. C. *et al.* Análise parasitológica do caldo de cana e das condições higiênico-sanitárias do seu comércio no centro da cidade de Fortaleza, Ceará. **Nutrivisa: Revista de Nutrição e Vigilância em Saúde**, v. 1, n. 2, p. 20–25, 2014.

BALASUNDRAM, N.; SUNDRAM, K.; SAMMAN, S. Food Chemistry Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. **Food Chemistry**, v. 99, p. 191–203, 2006.

BRASIL Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução – RDC nº 18, de 30 de abril de 1999. Dispõe sobre o Regulamento Técnico que Estabelece as Diretrizes Básicas para Análise e Comprovação de Propriedades Funcionais e ou de Saúde Alegadas em Rotulagem de Alimentos. **Diário Oficial do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 03 de dezembro de 1999a.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução – RDC nº 19, de 30 de abril de 1999. Dispõe sobre o Regulamento Técnico para Procedimento de Registro de Alimento com Alegações de Propriedades Funcionais e ou de Saúde em Sua Rotulagem. **Diário Oficial do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 10 de dezembro de 1999 b.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução – RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Dispõe sobre o Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 10 de janeiro de 2001.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução – RDC nº 2, de 07 de janeiro de 2002. Dispõe sobre o Regulamento Técnico sobre substâncias bioativas e probióticos isolados com alegação de propriedades funcional e ou de saúde. **Diário Oficial do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 7 de janeiro de 2002.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução – RDC nº 218, de 29 de julho de 2005. Dispõe sobre o regulamento técnico de procedimentos higiênico-sanitários para manipulação de alimentos e bebidas preparados com vegetais. **Diário Oficial do Brasil**, Brasília, DF, 1 de agosto de 2005.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Alimentos com alegações de propriedades funcionais e ou de saúde, novos alimentos/ingredientes, substâncias bioativas e probióticos**: Lista de alegações de propriedade funcional aprovadas. 2008.

BRUZZONE, F.; VIDAL, L.; ANTÚNEZ, L. *et al.* Comparison of intensity scales and CATA questions in new product development: Sensory characterisation and directions for product reformulation of milk desserts. **Food Quality and Preference**, v 44, p. 183 – 193, 2015.

BURITI, F. C. A.; CASTRO, I. A.; SAAD, S. M. I. Viability of *Lactobacillus acidophilus* in synbiotic guava mousses and its survival under in vitro simulated gastrointestinal conditions. **International Journal of Food Microbiology**, v. 137, n. 2–3, p. 121–129, 2010.

BUTTRISS, J. L.; STOKES, C. S. Dietary fibre and health: an overview. **British Nutrition Foundation**, v. 33, p. 186–200, 2008.

CADERBY, E.; BAUMBERGER, P.; HOAREAU, W. *et al.* Sugar Cane Stillage: A Potential Source of Natural Antioxidants. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 61, p. 11494–11501, 2013.

CANADÁ. Market Access Secretariat. **Global Analysis Report**. Health and Wellness Series: Functional Foods and Beverages in Japan. Abril, 2016.

CANADÁ. Market Access Secretariat. **Global Analysis Report**. Health and Wellness Series: Functional Foods and Beverages in China. Janeiro, 2017.

CARVALHO, C. T.; ARAÚJO, L. B. A.; SANTOS, R. L. S. *et al.* Análise microbiológica do caldo de cana comercializado por ambulantes na cidade de Natal-RN. **Catussaba**, v. 5, n. 1, p. 95–104, 2016.

CHARALAMPOPOULOS, D.; RASTALL, R. A. Prebiotics in foods Dimitris Charalampopoulos and Robert A Rastall. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 23, n. 2, p. 187–191, 2012.

CHAUHAN, O. P.; RAVI, N.; ROOPA, N. *et al.* High pressure, temperature and time-dependent effects on enzymatic and microbial properties of fresh sugarcane juice. **Journal of Food Science and Technology**, v. 54, n. 12, p. 4135–4138, 2017.

CHAUHAN, O. P.; SINGH, D.; TYAGL, S.M. *et al.* Studies on preservation of sugarcane juice. **International Journal of Food Properties**, v. 3, n. 1, p. 217–229, 2002.

CHITGAR, M. F.; AALAMI, M.; MAGHSOUDLOU, Y. *et al.* Comparative Study on the Effect of Heat Treatment and Sonication on the Quality of Barberry (*Berberis Vulgaris*) Juice. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 41, n. 3, 2017.

CHUA, J. K.; KNOK, W. C.; AGGARWAL, N. *et al.* Designer probiotics for the prevention and treatment of human diseases. **Current Opinion in Chemical Biology**, v. 40, p. 8–16, 2017.

COLANTUONO, A.; VITAGLIONE, P.; MANZO, N. *et al.* Evaluation of microfiltration and heat treatment on the microbiological characteristics, phenolic

composition and volatile compound profile of pomegranate (*Punica granatum* L.) juice. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 2018.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento de safra brasileira de cana-de-açúcar, terceiro levantamento, dezembro/2016. **Brasília**: Conab, 2016.

COSTA, G. M.; SILVA, J. V. C.; MINGOTTI, J. D. *et al.* Effect of ascorbic acid or oligofructose supplementation on *L. paracasei* viability, physicochemical characteristics and acceptance of probiotic orange juice. **LWT - Food Science and Technology**, v. 75, p. 195–201, 2017.

CRUZ, L. R.; GERASEEV, L. C.; CARMO, T. D. *et al.* Características agronômicas e composição bromatológica de variedades de cana-de-açúcar. **Bioscience Journal**, v. 30, n. 6, p. 1779–1786, 2014.

DEÁK, T. **Pasteurization**. Food Technologies. Elsevier. p. 219–224, 2014.

DEETH, H. C.; DATTA, N. Ultra-high Temperature Treatmet (UHT): Heating Systems. **Encyclopedia of dairy sciences**, p. 2642–2652, 2011.

DELGADO, A. A.; CESAR, M. A. A. Elementos de tecnologia e engenharia do açúcar de cana. **Zanini S/A equipamentos pesados**, v. 1, 1975.

DEL RÉ, P. V; JORGE, N. Especiarias como antioxidantes naturais : aplicações em alimentos e implicação na saúde. **Revista Brasileira**, v. 14, n. 2, p. 389–399, 2012.

DING, W. K.; SHAH, N. P. Survival of free and microencapsulated probiotic bacteria in orange and apple juices. **International Food Research Journal**, v. 15, n. 2, p. 219–232, 2008.

DOMINGO, J. J. S. Review of the role of probiotics in gastrointestinal diseases in adults. **Gastroenterología y Hepatología**, v. 40, n. 6, p. 417–429, 2017.

DONKOR, O.N; NILMINI, S.L.I; STOLIC, P. *et al.* Survival and activity of selected probiotic organisms in set-type yoghurt during cold storage. **International Dairy Journal**, v.17, n.6, p.657-665, 2007.

ELLENDERSEN, L. S.; GRANATO, D.; GUERGOLETTTO, K. B. *et al.* Development and sensory profile of a probiotic beverage from apple fermented with *Lactobacillus casei*. **Engineering in Life Sciences**, n. 4, p. 475–485, 2012.

FAO/ WHO. (2002) **Guidelines for the evaluation of probiotics in food**. Report of a Joint Food and Agriculture Organization of the United Nations, World Health Organization Working Group of Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotic in food, Ontario, Canadá. Disponível em: <ftp://ftp.fao.org/es/esn/food/wgreport2.pdf. 2002>.

FAO/AGNS. **FAO Technical Meeting Report on Prebiotics**. 2007. Disponível em: <http://www.fao.org/ag/agn/agns/files/Prebiotics_Tech_Meeting_Report.pdf>.

FAVARO-TRINDADE, C. S. *et al.* Sensory Acceptability and Stability of Probiotic Microorganisms and Vitamin C in Fermented Acerola (*Malpighia emarginata* DC .) Ice Cream ULIO C ´. **Journal of Food Science**, v. 71, n. 6, p. 492–495, 2006.

FELLOWS, P. J., Tecnologia de alimentos: princípios e prática. Porto Alegre: **Artmed**, 2006. CDU 664. ed. 2. 602 p. ISBN 978-85-363-0652-0.

FIGUEIREDO, I. C.; FERREIRA, B. F.; MARQUES, M. O. A qualidade da cana-de-açúcar como matéria-prima para produção de álcool. **Nucleus**, edição Eepecial, p. 82–92, 2008.

FLESCHE, A. G. T.; POZIOMYCK, A. K.; DAMIN, D. D. C. The therapeutic use of symbiotics. **ABCD – Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva**, v. 27, n. 3, p. 206–209, 2014.

FROST; SULLIVAN. Functional and Luxury Foods Market Analysis. **Market Analysis**, p. 1–142, 2015.

GALDEANO, C. M.; PERDIGÓN, G. The probiotic bacterium *Lactobacillus casei* induces mucosal activation of the intestine immune system through innate immunity. **Clinical and Vaccine Immunology**, v. 2, n. 13, p. 1–11, 2006.

GÄNZLE, M. G.; FOLLADOR, R. Metabolism of oligosaccharides and starch in *lactobacilli*: a review. *Frontiers in Microbiology*, v. 3, p. 1–15, 2012.

GARCIA, J. F. **Manual de Identificação de Pragas de Cana**. Campinas: 2013. Disponível em: <https://www.fmcagricola.com.br/portal/manuais/pragas_cana/index.html#2>. Acessado em: setembro, 2017.

GIBSON, G. R. HUTKINS, R; SANDERS, M. E. *et al.* The International Scientific Association and scope of prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. **Nature Publishing Group**, v. 14, n. 8, p. 491–502, 2017.

GOMES, C. R.; VISSOTTO, F. Z.; FADINI, A. L., *et al.* Influência de diferentes agentes de corpo nas características reológicas e sensoriais de chocolates diet em sacarose e light em calorias. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 3, p. 614–623, 2007.

IANNIELLO, R. G.; ZOTTA, T.; MATERA, A. *et al.* Investigation of Factors Affecting Aerobic and Respiratory Growth in the Oxygen- Tolerant Strain *Lactobacillus casei* N87. **Journal Plos One**, p. 1–19, 2016.

IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Estudo nacional da despesa familiar**: Tabela de composição de alimentos. 5 ed. Rio de Janeiro: ela, 1999. 137 p.

IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Pesquisa de orçamentos familiares 2008-2009**: Tabelas de composição nutricional dos alimentos consumidos no Brasil. Rio de Janeiro: IBGE, 2011. 351 p.

JORNAL DO BRASIL. Consumo de produtos funcionais crescem no Brasil. **JORNAL DO BRASIL**, 2017.

KADAM, U. S.; GHOSH, S. B.; DE, S. *et al.* Antioxidant activity in sugarcane juice and its protective role against radiation induced DNA damage. **Food Chemistry**, v. 106, p. 1154–1160, 2008.

KARMAKAR, R.; GHOSH, A. K.; GANGOPADHYAY, H. Effect of Pretreatments on Physico-Chemical Characteristics of Sugarcane Juice. **Sugar Tech**, v. 13, n. 1, p. 47–50, 2011.

KAUR, N.; SINGH, D. P. Deciphering the consumer behaviour facets of functional foods: A literature review. **Appetite**, v. 112, 2017.

KHAN, I.; TANGO, C. N.; MISKEEN, S. *et al.* Hurdle technology: A novel approach for enhanced food quality and safety – A review. **Food Control**, v. 73, p. 1426–1444, 2017.

KIM, H.S.; CHAE, H.S.; JEONG, S.G. *et al.* Antioxidant activity of some yogurt starter cultures. **Asian-Australian Journal of Animal Sciences**, v.18, n.2, p.255-258, 2005.

KIM, N. J.; JANG, H. L.; YOON, K. Y. Potato Juice Fermented with *Lactobacillus casei* as a Probiotic Functional Beverage. **Food Science and Biotechnology**, v. 21, n. 5, p. 1301–1307, 2012.

KIST, B. B. **Anuário brasileiro da cana-de-açúcar 2016**. Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta Santa Cruz, 2016. 64 p.: il. ISSN 1808-5180.

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.

KONICA MINOLTA. Precise Color Communication: Color control from perception to instrumentation. **Konica Minolta Sensing**, Inc. 3- 91, Daisennishimachi, Sakai. Osaka 590-8551, Japan, 1998.

KUNITAKE, M. T. **Processamento e estabilidade de caldo de cana acidificado**. 2012.

LESSCHAEVE, I.; NOBLE, A. C. Polyphenols: factors influencing their sensory properties and their effects on food and beverage preferences. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 81, p. 330–335, 2005.

LEWIS, H. Bread: Consumption, Cultural Significance and Health Effects. [s.l.] **Nova Science Publishers**, 2017.

LIONG, M. T.; SHAH, N. P. Effects of a *Lactobacillus casei* Synbiotic lineage in serum lipoprotein, Intestinal Microflora, and organic acids in rats. **Journal of Dairy Science**, v. 85, n. 5, 2006.

LIU, C-T.; CHU, F. CHOU, C. *et al.* Antiproliferative and anticytotoxic effects of cell fractions and exopolysaccharides from *Lactobacillus casei* 01. **Mutation research**, v.721, n.2, p.157-162, 2011.

MANIKANTAN, M. R.; ARUMUGANANTHAN, T.; RANI, I. *et al.* Storage Stability of Sugarcane Juice in Polypropylene-Based Nanocomposite Packaging Films. **Sugar Tech**, v. 19, n. November 2016, p. 438–445, 2017.

MANTELATTO, P. E. Estudo do processo de cristalização de soluções impuras de sacarose de cana-de-açúcar por resfriamento. **UFSCar**, p. 235, 2005.

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Projeções do Agronegócio: Brasil 2014/15 a 2024/25 – Projeções de Longo Prazo. Brasília: MAPA, 2015.

MARTÍNEZ-MARTÍNEZ, M. I.; CALABUIG-TOLSÁ, R.; CAULI, O. The effect of probiotics as a treatment for constipation in elderly people: a systematic review. **Archives of Gerontology and Geriatrics**, v. 71, p. 142–149, 2017.

MATTOS, E. C.; MEIRA-STREJEVITCH, C. S.; MARCIANO, M. A. M. *et al.* Molecular detection of *Trypanosoma cruzi* in acai pulp and sugarcane juice. **Acta Tropica**, v. 176, p. 311–315, 2017.

MEYER, T. S. M.; MIGUEL, A. S. M.; FERNÁNDEZ, D. E. R. *et al.* **Biotechnological Production of Oligosaccharides**: Applications in the Food Industry, Food Production and Industry, 2015, DOI: 10.5772/60934.

MINIM, Valéria Paula Rodrigues. Análise sensorial: estudos com consumidores. 3. ed. Viçosa: **UFJ**. Minas Gerais, 2013.

MINISTRY OF HEALTH, LABOUR AND WELFARE. **Food for Specified Health Uses**. Disponível em: <<http://www.mhlw.go.jp/english/topics/foodsafety/fhc/02.html>>, Acessado em: fevereiro de 2017.

MIREMADI, F.; SHERKAT, F.; STOJANOVSKA, L. Hypocholesterolaemic effect and anti-hypertensive properties of probiotics and prebiotics: A review. **Journal of Functional Foods**, v. 25, p. 497–510, 2016.

MIRZAEI, H.; TABRIZI, B. A.; HASANPOUR, A. *et al.* Study on the Effect of Consuming Different Amount of Fermented Milk with *Lactobacillus casei* 01 on Haematological Parameters in Rats. **Research Journal of Biological Sciences**, v. 3, n. 12, 2008.

MONTEIRO, A. R. G. Introdução à análise sensorial de alimentos. Maringá: **Eduem**, 2005. CDD 22. ed. 664.072.

MOREIRA, R. M.; MARTINS, M. L.; LEITE JÚNIOR, B. R. C. *et al.* Development of a juçara and Ubá mango juice mixture with added *Lactobacillus rhamnosus* GG processed by high pressure. **LWT - Food Science and Technology**, v. 77, p. 259–268, 2017.

- MOUSAVI, Z. E.; MOUSAVI, S. M.; RAZAVI, S. H. *et al.* Fermentation of pomegranate juice by probiotic lactic acid bacteria. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 27, p. 123–128, 2011.
- MUKHOPADHYAY, S.; GORRIS, L. G. M. **Encyclopedia of Food Microbiology**. Hurdle Technology. 2th ed. Elsevier, 2014. v. 2
- MUSSATTO, S. I.; MANCILHA, I. M. Non-digestible oligosaccharides: A review. **Carbohydrate Polymers**, v. 68, p. 587–597, 2007.
- NISHAD, J.; SELVAN, C.; MIR, S. A. *et al.* Effect of spray drying on physical properties of sugarcane juice powder (*Saccharum officinarum* L.). **Journal of Food Science and Technology**, 2017.
- NUALKAEKUL, S.; CHARALAMPOPOULOS, D. Survival of *Lactobacillus plantarum* in model solutions and fruit juices. **International Journal of Food Microbiology**, v. 146, n. 2, p. 111–117, 2011.
- NUALKAEKUL, S.; DEEPIKA, G.; CHARALAMPOPOULOS, D. Survival of freeze dried *Lactobacillus plantarum* in instant fruit powders and reconstituted fruit juices. **Food Research International**, v. 48, n. 2, p. 627–633, 2012.
- PAKBIN, B. *et al.* Producing Probiotic Peach Juice. **Biotechnology and Health Sciences**, v. 1, n. 3, p. 1–5, 2014.
- PANGHAL, A. *et al.* Potential Non-dairy Probiotic Products. **Food Bioscience**, v. 21, p. 80–89, 2017.
- PEREIRA, A. L. F.; MACIEL, T. C.; RODRIGUES, S. Probiotic beverage from cashew apple juice fermented with *Lactobacillus casei*. **Food Research International**, v. 44, n. 5, p. 1276–1283, 2011.
- PERRICONE, M.; BEVILACQUA, A.; ALTIERI, C. *et al.* Challenges for the Production of Probiotic Fruit Juices. **Beverages**, v. 1, p. 95–103, 2015.
- PETROVA, P.; PETROV, K. **Handbook of Food Bioengineering**. Bifidobacterium and *Lactobacillus* Genera. Prebiotic–Probiotic Relationship: The Genetic Fundamentals of Polysaccharides Conversion. Academic Press, 2017, p. 237-278, Food Bioconversion. ISBN 9780128114131.
- PIACENTE, F. J.; SILVA, V. D. C.; BIAGGI, D. E. Inovações tecnológicas nos processos de moagem e difusão na extração de sacarose de cana-de-açúcar: um estudo qualitativo. **CIAIQ2016**, v. 4, p. 77–84, 2016.
- PIMENTEL, T. C.; GARCIA, S.; PRUDENCIO, S. H. Iogurte probiótico com frutanos tipo inulina de diferentes graus de polimerização: características físico-químicas e microbiológicas e estabilidade ao armazenamento. **Semina: Ciências Agrárias, Londrina**, v. 33, n. 3, p. 1059–1070, 2012.

PIMENTEL, T. C.; KLOSOSKI, S. J.; ROSSET, M. *et al.* Inulin as a Fat Replacer in Dairy Products. In: DAVIS, C. R. (Ed.). **Inulin: Chemical Properties, Uses and Health Benefits**. New York: Nova Science Publishers, 2017. p. 109–152.

PIMENTEL, T. C.; MADRONA, G. S. GARCIA, S. *et al.* Probiotic viability, hysicochemical characteristics and acceptability during refrigerated storage of clarified apple juice supplemented with *Lactobacillus paracasei ssp. paracasei* and oligofructose in different package type. **LWT - Food Science and Technology**, v. 63, n. 1, p. 415–422, 2015.

PIMENTEL, T. C.; MADRONA, G. S.; PRUDENCIO, S. H. Probiotic clarified apple juice with oligofructose or sucralose as sugar substitutes: Sensory profile and acceptability. **LWT - Food Science and Technology**, v. 62, n. 1, p. 838–846, 2015.

PIMENTEL, T. C.; PRUDENCIO S. H.; RODRIGUES, R. S. Néctar de pêsego potencialmente simbiótico. *Alimentos e Nutrição Araraquara*, Araraquara, v. 22, n. 3, p. 455-464, 2011.

PORTO, M. R. A.; OKINA, V. S. PIMENTEL, T. C. *et al.* Beet and orange mixed juices added with *Lactobacillus acidophilus*. **Nutrition and Food Science**, v. 18, n. 1, p. 76–87, 2018.

PRADO, F. C.; PARADA, J. L.; PANDEY, A. *et al.* Trends in non-dairy probiotic beverages. **Food Research International**, v. 41, p. 111–123, 2008.

PRATI, P.; CAMARGO, G. A. Características do caldo de cana e sua influência na estabilidade da bebida. **Revista Brasileira de Engenharia de Biosistemas**, v. 2, n. 1, p. 37–44, 2008.

RAFIQ, S.; SHARMA, V.; RASHID, A. *et al.* Development of Probiotic Carrot Juice. **Journal of Nutrition & Food Sciences**, v. 6, n. 4, p. 1–5, 2016.

RAMACHANDRAN, C.; RANI, S.; LAVANYA, K. *et al.* Optimization of shelf stability of sugarcane juice with natural preservatives. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 41, n. 1, p. 1–11, 2017.

REIS, F. S.; MARTINS, A.; VASCONCELOS, M. H. *et al.* Functional foods based on extracts or compounds derived from mushrooms. **Trends in Food Science & Technology**, v. 66, p. 48–62, 2017a.

REIS, S. A. *et al.* Review of the mechanisms of probiotic actions in the prevention of colorectal cancer. **Science Direct**, v. 7, p. 1–19, 2017b.

RENUKA, B.; KULKAMI, S. G.; VIJAYANAND, P. *et al.* Fructooligosaccharide fortification of selected fruit juice beverages : Effect on the quality characteristics. **LWT - Food Science and Technology**, v. 42, n. 5, p. 1031–1033, 2009.

SAAD, S. M. I. Probióticos e prebióticos: o estado da arte. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 42, p. 1–16, 2006.

SAARELA, M.; MOGENSEN, G.; FONDÉN, R. *et al.* Probiotic bacteria : safety, functional and technological properties. **Journal of Biotechnology**, v. 84, p. 197–215, 2000.

SAMAH, S.; RAMASAMY, K.; LIM, S. M. *et al.* Probiotics for the Management of Type 2 Diabetes Mellitus: A Systematic Review and Meta-analysis. **Diabetes Research and Clinical Practice**, v. 118, p. 172–182, 2016.

SÃO PAULO (estado). Secretaria de Agricultura e Abastecimento. Instituto de Economia Agrícola. **Cana-de-açúcar - safra 2013/14 – e Fatores Climáticos: panorama dos impactos na produtividade nos Escritórios de Desenvolvimento Rural (EDRs) no Estado de São Paulo**. Disponível em: <<http://www.iea.sp.gov.br/out/LerTexto.php?codTexto=13614>> . Acessado em: fevereiro, 2017.

SAUERESSIG, A. L. C.; KAMINSKI, T. A.; ESCOBAR, T. D. Inclusão de fibra alimentar em pães isentos de glúten. **Food Tecnology**, v. 19, 2016.

SHAH, N. P.; DING, W. K.; FALLOURD, M. J. *et al.* Improving the Stability of Probiotic Bacteria in Model Fruit Juices Using Vitamins and Antioxidants. **Journal of Food Science**, v. 75, n. 5, p. 278–282, 2010.

SHAH, N.P. Functional cultures and health benefits. **International Dairy Journal**, v. 17, n.11, p.1262–1277, 2007.

SHEEHAN, V. M.; ROSS, P.; FITZGERALD, G. F. Assessing the acid tolerance and the technological robustness of probiotic cultures for fortification in fruit juices. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 8, n. 2, p. 279–284, 2007.

SILVA, S. D.; GOMES, C. B.; UENO, B. *et al.* Recomendação de Variedades de Cana-de-açúcar para o Estado do Rio Grande do Sul. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2012. 22 p. (Embrapa Clima temperado. Comunicado Técnico, 292).

SILVA, J. E. A. R.; ALVES, M. R. P. A.; COSTA, M. A. B. Planejamento de turnos de trabalho: uma abordagem no setor sucroalcooleiro com uso de simulação discreta. **Gestão & Produção**, v. 18, n. 1, p. 73–90, 2011.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A. *et al.* Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos. São Paulo: **Varela**, ed. 3, 2007.

SLINKARD, K.; SINGLETON, V. L., Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods. **American Journal of Enology and Viticulture**. 1977, v. 28, p. 49-55.

SOUSA, V. M. C.; SANTOS, E. F.; SGARBIERI, V. C. The Importance of Prebiotics in Functional Foods and Clinical Practice. **Food and Nutrition Sciences**, v. 2011, p. 133–144, 2011.

SOUZA, R. C.; VALARINI JÚNIOR, O.; PINHEIRO, K. H. *et al.* Technology Prebiotic green tea beverage added inclusion complexes of catechin and b-cyclodextrin:

Physicochemical characteristics during storage. **LWT - Food Science and Technology**, v. 85, p. 212–217, 2017.

SREEDEVI, P.; RAO, P. S.; KAMESWARI, P. L. Effect of high pressure processing on enzyme inactivation and microbial destruction of sugarcane juice. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v. 6, n. 9, p. 2000–2006, 2017.

STONE, H.; SIDEL, JOEL L. Sensory Evaluation Practices. Affective Testing. 3th ed. United States: Academic Press, 2004. p. 247–277. ISBN: 9780080474359.

SUGANTHI, A.; BHUVANESWARI, K.; RAMYA, M. Determination of neonicotinoid insecticide residues in sugarcane juice using LCMSMS. **Food Chemistry**, v. 241, p. 275–280, 2018.

TACO (2011). Tabela Brasileira de Composição dos Alimentos/NEPA – UNICAMP (4th ed.). Campinas: NEPA – UNICAMP, 161 pp. 2011.

TALWALKAR, A.; KAILASAPATHY, K. The Role of Oxygen in the Viability of Probiotic Bacteria with Reference to *L. acidophilus* and Further Reading. **Current Issues in Intestinal Microbiology**, v. 5, p. 1–8, 2004.

TECHNAVIO. 2016a. Market outlook of the probiotics Market. Disponível em: <<http://www.technavio.com/report/probiotics-market>>, Atualizado em janeiro, 2016. 2016.

TECHNAVIO. 2016b. Global Functional Foods and Beverages Market 2017-2021. Disponível em: < <https://www.technavio.com/report/global-non-alcoholic-beverages-global-functional-foods-and-beverages-market-2017-2021>> . Acessado em: 08/03/2017.

TEIXEIRA, L. V. Análise sensorial na indústria de alimentos. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 64, p. 12–21, 2009.

THARMARAJ, N.; SHAH, N. P. (2003). Selective enumeration of *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacteria*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus*, and *Propionibacteria*. **Journal of Dairy Science**, 86, 2288-2296.

TOMASIK, P. **Chemical and Functional Properties of Food Saccharides**. New York: CRC Press. 2015.

TOSCANO, M.; GRANDI, R.; PASTORELLI, L. *et al.* A Consumer's Guide for Probiotics: 10 Golden Rules for a Correct Use. **Digestive and Liver Disease**, 2017.

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

VALERO-CASES, E.; FRUTOS, M. J. Development of prebiotic nectars and juices as potential substrates for *Lactobacillus acidophilus*: Special reference to physicochemical

characterization and consumer acceptability during storage. **LWT - Food Science and Technology**, v. 81, p. 136–143, 2017.

VINDEROLA, C. G.; COSTA, G.A.; REGENHARDT, S. *et al.* Influence of compounds associated with fermented dairy products on the growth of lactic acid starter and probiotic bacteria. **International Dairy Journal**, v. 12, p. 579–589, 2002.

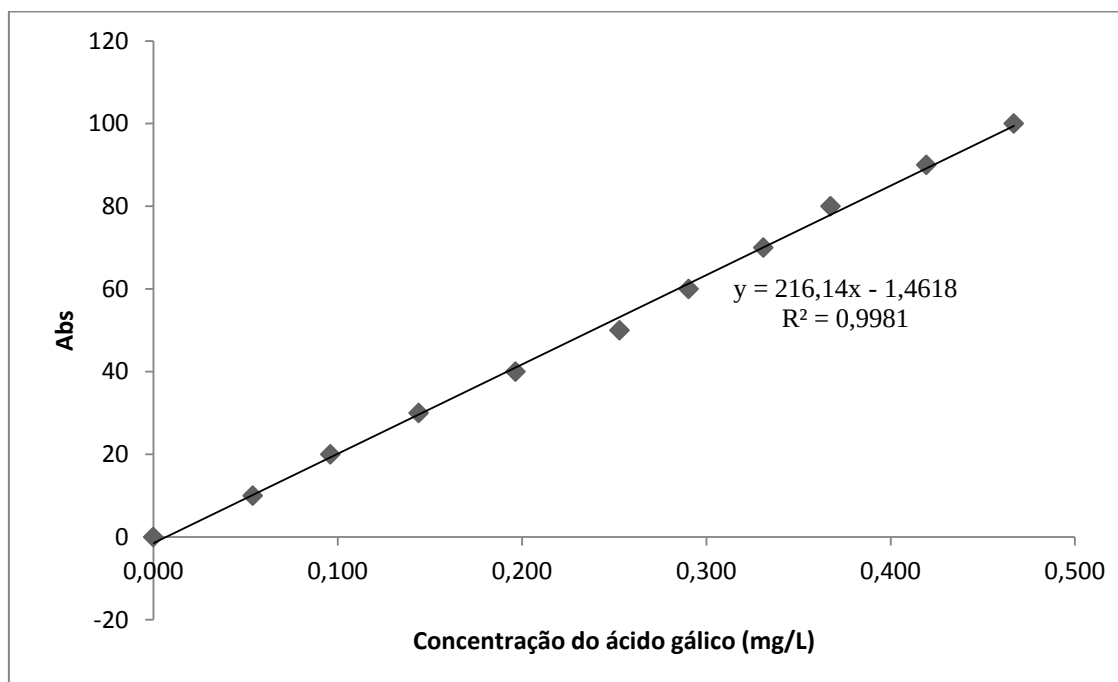
WANG, F. *et al.* Probiotics in Helicobacter pylori eradication therapy : Systematic review and network meta-analysis. *Clinics and Research in Hepatology and Gastroenterology*, 2017.

WANG, Y.; YU, R.; YANG, H. *et al.* Sugar and acid contents in soymilk fermented with lactic acid bacteria alone or simultaneously with bifidobacteria. **Food Microbiology**, v. 20, p. 333–338, 2003.

WILBEY, R. A. **Encyclopedia of Food Microbiology**. Principles of Pasteurization. 2th ed. Elsevier. p. 169–174, 2014.

WORAMETRACHANON, S.; APICHARTSRANGKOON, A.; CHAIKHAM, A. *et al.* Effect of encapsulated *Lactobacillus casei* 01 along with pressurized-purple-rice drinks on colonizing the colon in the digestive model. **Appl Microbiol Biotechnol**, v. 98, p. 5241–5250, 2014.

WRÓBLEWSKA, B.; KALISZEWSKA, A. Cow's Milk Proteins Immunoreactivity and Allergenicity in Processed Food. **Czech Journal of Food Sciences**, v. 30, n. 3, p. 211–219, 2012.

ANEXO I – Curva de calibração do ácido gálico

Curva de calibração do Ácido Gálico utilizada na determinação do teor de compostos fenólicos.

ANEXO II – Parecer emitido pelo Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos

UNIVERSIDADE
TECNOLÓGICA FEDERAL DO



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO DE CALDO DE CANA ADICIONADO DE PRE E PROBIÓTICO

Pesquisador: Suellen Jensen Klososki

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 73267717.3.0000.5547

Instituição Proponente: INSTITUTO FEDERAL DE EDUCACAO, CIENCIA E TECNOLOGIA DO PARANA

Patrocinador Principal: INSTITUTO FEDERAL DE EDUCACAO, CIENCIA E TECNOLOGIA DO PARANA

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.426.335

Apresentação do Projeto:

De acordo com a pesquisadora:

"A cana-de-açúcar é uma planta pertencente à família das gramíneas (Gramineae) do gênero Saccharum (DELGADO and CESAR, 1975), cuja principal espécie é Saccharum Officinarum. Originária da Malásia, adaptou-se muito bem a países tropicais e subtropicais de todo o mundo. O Brasil encontra-se, atualmente, em primeira colocação mundial em nível de produção. Segundo dados da CONAB (2016) a produção brasileira de cana-de-açúcar para safra 2016/17 é estimada em 694,54 milhões de toneladas. Como matéria-prima, a cana de açúcar é destinada para produção de diversos produtos, tanto do ramo alimentício como destinado a geração de energia e alimentação animal. Dentre os derivados de maior visibilidade está a produção de açúcar e etanol. O caldo de cana, também conhecido como garapa em algumas regiões brasileiras, é o sumo, rico em sacarose, extraído por moagem das hastes da cana-de-açúcar, é uma bebida energética não alcoólica, caracterizada como um líquido viscoso, opaco, de coloração que varia de parda ao verde escuro (PONTES et al., 2009), apresenta valores significativos de carboidratos, minerais, como potássio, cálcio, fósforo, magnésio, ferro e vitaminas do complexo B e vitamina C (IBGE, 1999; NEPA, 2011). Com a mudança dos hábitos da população que vêm buscando práticas de saúde alternativas e preventivas para minimizar os gastos com tratamento e medicamentos tem aumentado o mercado de produtos funcionais (TECHNAVIO, 2016) Dentre os componentes funcionais, adicionado ou

Endereço: SETE DE SETEMBRO 3165

Bairro: CENTRO

UF: PR

Município: CURITIBA

Telefone: (41)3310-4494

CEP: 80.230-901

E-mail: coep@utfpr.edu.br

Continuação do Parecer: 2.426.335

naturalmente presentes no alimento, estão: ácidos graxos ômega 3, carotenóides (licopeno, luteína, zeaxantina), fibras alimentares, fruto oligossacarídeos, inulina, polidextrose, probióticos, dentre outros. A ANVISA orienta que o consumo de qualquer componente funcional deve estar associado a uma alimentação equilibrada e hábitos de vida saudáveis (Brasil, 2002). Alimentos adicionados de probióticos são considerados alimentos funcionais. A FAO/WHO (2002) define probiótico como

“micro-organismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, traz benefícios à saúde do hospedeiro”. Tradicionalmente, os produtos probióticos, são produzidos a base de lácteos como leites fermentados, iogurtes, gelados, queijos, entre outros. Contudo, em um passado próximo, a área de estudos de produtos não lácteos probióticos vem crescendo, favorecendo principalmente os consumidores intolerantes à lactose ou alérgicos à proteína do leite, além do público que não apreciam o sabor do leite e veganos (FLESCHE, POZIOMYCK and DAMIN, 2014; PAKBIN et al., 2014; PIMENTEL et al., 2015; PRADO et al., 2008; WRÓBLEWSKA and KALISZEWSKA, 2012). Nesse sentido, o caldo-de-cana pode ser transformado em um alimento adicionado de probiótico. Um dos valores funcionais atribuído aos probióticos é o efeito benéfico sobre distúrbios e infecções intestinais. Alguns estudos também indicam que o consumo de probióticos reduz o risco de desenvolvimento de tumores cancerígenos no intestino por desencadear mudanças favoráveis na composição da flora intestinal (“Probióticos & Prebióticos”, [s.d.]). Os gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterias* são os de uso mais comuns utilizados como agentes probióticos. Outro modo de transformação de um alimento comum em funcional é pela adição de prebiótico. O conceito de prebiótico, atualizado em 2016, pela International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) diz que prebióticos são substratos que é seletivamente utilizado por micro-organismos hospedeiros que conferem benefícios à saúde (GIBSON et al., 2017). Os prebióticos são naturalmente encontrados em algumas plantas, tais como: alho, cebola, dente de leão, alcachofra de Jerusalém, yacon, trigo, bananas, raiz de chicória, mas tipicamente estão presentes em níveis baixos. Para aumentar a ingestão diária, podem ser incluídos na dieta prebióticos ou alimentos adicionados de prebióticos. Os prebióticos, como, galacto-oligossacarídeos (GOS), fruto-oligossacarídeos (FOS), oligofrutose (OF), fibra de chicória ou inulina, são por vezes adicionadas a iogurtes, cereais, pães, biscoitos, sobremesas ou bebidas. No entanto, uma dose demasiadamente elevada pode induzir efeitos indesejáveis ou adversos tais como a formação excessiva de gás (SCOTT, 2016; SAUERESSIG, KAMINSKI and ESCOBAR, 2016). Os efeitos benéficos atribuídos aos prebióticos incluem benefícios ao trato gastrointestinal, por inibição de agentes patogênicos (*Escherichia coli*, *Streptococcus faecales*, *Proteus*), aumento do bolo fecal; aumento de absorção de

Endereço: SETE DE SETEMBRO 3165

Bairro: CENTRO

UF: PR

Município: CURITIBA

Telefone: (41)3310-4494

CEP: 80.230-901

E-mail: coep@utfpr.edu.br

Continuação do Parecer: 2.426.335

minerais, tais como, cálcio, magnésio e ferro; melhora de quadros inflamatórios intestinais; diminuição do risco de câncer de cólon (Binns, 2014). O caldo-de-cana pode ser transformado em alimento funcional pela adição de probióticos e/ou prebióticos passando a apresentar uma característica interessante que poderá conquistar novos consumidores. Assim, o objetivo desse trabalho é produzir caldo-de-cana funcional adicionados de pro e/ prebióticos.

Hipótese:

É possível produzir caldo-de-cana funcional adicionados de pre e probióticos.

Metodologia Proposta:

Foram elaboradas 6 formulações de caldo de cana conforme identificadas na Tabela 1. Tabela 1: Quantidades das cultura probiótica e prebióticas Formulação L.casei oligofrutose polidextrose (1) - - (2) 2g/L - - (3) - 20g/L - (4) - - 20g/L (5) 2g/L 20g/L - (6) 2g/L - 20g/L. A matéria-prima foi fracionada em 6 porções iguais. As formulações (3), (4), (5) e (6) sofreram a adição do seu respectivo prebiótico ou não (amostras 1 e 2) e foram encaminhadas a pasteurização em banho-maria (20 min./80°C). Dessas, foram separadas as formulações que sofreriam a adição do probiótico das demais. As formulações (1), (3) e (4) foram envasadas e levadas ao armazenamento. As formulações (2), (5) e (6) foram resfriadas para posterior adição da cultura probiótica e envasamento. A cultura probiótica de L. casei, na forma liofilizada, foi adicionada diretamente ao caldo de cana. As formulações foram envasadas e armazenadas (7°C/ 28 dias). Semanalmente as mesmas tiveram a sua caracterização físico-química, microbiológica e tecnológica determinadas. Avaliação Físico-Química. A umidade, cinzas, lipídeos e proteínas serão determinadas conforme metodologias propostas pela AOAC (2004) e carboidratos por diferença. A acidez titulável e o pH (AOAC, 2004). Para a determinação da cor, o colorímetro portátil Minolta

CR400 será utilizado empregando o iluminante D65 (luz natural) e sistema de cor CIELAB (L, a*, b*). A textura será determinada por meio de um texturômetro TA-TX- Stable Microsystem, sendo as características de firmeza, coesividade, adesividade e viscosidade determinadas. A turbidez será determinada por espectrofotômetro a 600 nm. Serão realizadas as análises de Coliformes a 45°C pela técnica de tubos múltiplos e pesquisa de

Salmonella conforme metodologia descrita por Silva et al. (2007). Para contagem do probiótico, aplicou-se a metodologia descrita por Tharmaraj e Shah (2003).

Avaliação sensorial. As amostras produzidas a partir de caldo de cana, probiótico (L.casei), oligofrutose e/ou polidextrose (prebióticos) serão submetidas ao teste de aceitação e comparação de médias, bem como a intenção de compra. Serão utilizados 100 provadores, de ambos os sexos, de 14 a 68 anos que gostem desse tipo de bebida e que aceitem participar da pesquisa. Deverão

Endereço: SETE DE SETEMBRO 3165

Bairro: CENTRO

UF: PR **Município:** CURITIBA

Telefone: (41)3310-4494

CEP: 80.230-901

E-mail: coep@utfpr.edu.br

Continuação do Parecer: 2.426.335

atender a critérios de inclusão, não se enquadrando nos critérios de exclusão e entender a importância da sua participação na pesquisa. Informações adicionais serão apresentadas por meio do TCLE e TALE. Para menores de idade será necessária a autorização dos pais para a participação na pesquisa. A avaliação sensorial acontecerá em duas sessões, sendo uma para a degustação de amostras referente ao primeiro dia após a fabricação e outra para a degustação e avaliação das formulações produzidas após 28 dias da fabricação. Ambas as sessões serão previamente agendadas e os participantes da pesquisa deverão comparecer na mesma. Em cada avaliação, os provadores receberão 6 amostras para degustação. A análise seguirá em laboratório, sob luz branca. Serão servidos 30mL, de cada formulação, em copos de plástico (50 mL), codificados com números de três dígitos aleatórios, aproximadamente à temperatura de 7°C. Água potável à temperatura ambiente e biscoitos sem glúten a base de arroz serão disponibilizados para a limpeza da boca antes e entre as avaliações das formulações. Será instruído ao participantes avaliar os atributos (aparência, aroma, sabor, textura e impressão geral), utilizando escala hedônica de 9 pontos (1 = desgostei muitíssimo; 9 = gostei muitíssimo); e o teste de intenção de compra, utilizando escala de 5 pontos (1 = certamente não compraria; 5 = certamente compraria). O mesmo receberá 6 amostras para avaliar, sendo essas previamente submetidas a análises microbiológicas, no 1º (primeira sessão de avaliação) e 28º (segunda sessão de avaliação) dias de armazenamento, de forma monádica e em ordem aleatorizada.

Critério de Inclusão:

Serão incluídos na pesquisa indivíduos de ambos os sexos, de 14 a 68 anos que gostem desse tipo de bebida e que aceitem participar da pesquisa. Também deverão fazer parte da comunidade interna do IFPR Campus Paranaíba. Esses indivíduos, para serem incluídos na pesquisa devem aceitar participar da mesma e não se enquadrar nos critérios de exclusão.

Critério de Exclusão:

Como critério de exclusão, são considerados casos de diabetes ou alergia ao caldo-de-cana ou aos demais componentes das formulações, que são probiótico L. casei, oligofrutose e/ou polidextrose (prebióticos). Também serão excluídos da pesquisa alunos menores de idade que não foram autorizados pelos pais a participarem da pesquisa.

Metodologia de Análise de Dados:

Os resultados serão submetidos à análise variância e teste de média (Tukey) com 95% de significância com o auxílio do software Asistat.

Endereço: SETE DE SETEMBRO 3165

Bairro: CENTRO

UF: PR

Telefone: (41)3310-4494

Município: CURITIBA

CEP: 80.230-901

E-mail: coep@utfpr.edu.br

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO



Continuação do Parecer: 2.426.335

Objetivo da Pesquisa:

Segundo a pesquisadora:

"Objetivo Primário:

Produzir caldos-de-cana funcionais adicionadas de pre e probióticos.

Objetivo Secundário:

Produzir caldos-de-cana adicionados de prebióticos e/ou probióticos; Determinar as características físico-químicas dos caldos de cana produzidos quanto os teores de umidade, cinzas, proteínas, lipídeos e carboidratos; Determinar o pH e a acidez titulável das amostras produzidas; Avaliar a textura (firmeza, consistência, coesividade e viscosidade) das amostras produzidas; Caracterizar as amostras quanto a cor (L, a*, b*) e a turbidez das amostras; Caracterizar microbiologicamente as amostras quanto a presença/ausência de Salmonella e quantificar os Coliformes a 45°C; Quantificar os probióticos presentes nas amostras; Avaliar a aceitação e a intensão de compra das amostras; Determinar a vida útil das amostras produzidas por um período de 28 dias.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Segundo a pesquisadora:

Riscos:

Apesar do produto ser submetido à avaliação microbiológica prévia e só ser oferecido à população em caso de comprovada a segurança alimentar, você pode não gostar (sabor, textura, aroma) do produto e/ou sentir-se constrangido em preencher o questionário e/ou sentir algum desconforto ao provar o produto, o que constitui um risco, mesmo que mínimo. Caso algum desconforto físico, será acionado o SAMU local. Por se tratar de uma

bebida com altas concentrações de açúcares, poderá causar picos de glicemia e causar mal-estar. No entanto, a equipe estará preparada para dar os devidos encaminhamentos, como mencionado anteriormente.

Benefícios:

O consumo de bebida pre e probiótica confere à saúde benefícios como melhora no funcionamento intestinal, redução no risco de câncer de cólon, entre outros relacionados ao consumo de pre e probióticos. Além disso, o desenvolvimento da bebida poderá proporcionar o oferecimento de um produto novo, com propriedades nutricionais de interesse para a saúde, com maior teor de fibras e alegação funcional com finalidade de aumentar a gama de produtos funcionais não lácteo ofertado a consumidores com restrição ao consumo de leite uma nova alternativa de produto benéfico a saúde.

Endereço: SETE DE SETEMBRO 3165

Bairro: CENTRO

UF: PR

Município: CURITIBA

CEP: 80.230-901

Telefone: (41)3310-4494

E-mail: coep@utfpr.edu.br

Continuação do Parecer: 2.426.335

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Segundo a pesquisadora " O Brasil é o país que mais produz cana-de-açúcar, por ter um clima adequado, a cultura apresenta bom desenvolvimento. A cana-de-açúcar é utilizada como matéria-prima principalmente para produção de açúcar e etanol, mas também é usada na elaboração de diversos outros produtos alimentícios. O caldo de cana é um destes derivados, caracterizado por ser uma bebida energética rica em ferro, cálcio, potássio, magnésio, vitaminas B C, consumido preferencialmente nas estações mais quentes do ano. Uma forma de aumentar a funcionalidade do caldo-de-cana é adicionar compostos pré e probióticos. Os probióticos são micro-organismos desejáveis que estão presentes no trato intestinal e que interferem no metabolismo de nutrientes levando a redução do risco de câncer de cólon e reto, diminuição do colesterol e triglicérides, entre outros. Já os

compostos prébióticos estimulam o desenvolvimento da flora intestinal benéfica (probióticos) trazendo todos os benefícios advindos desses microorganismos. O presente trabalho tem como objetivo produzir caldo-decana adicionado de pré e probióticos transformando-o em alimento funcional", desta maneira esta pesquisa ao desenvolver uma bebida funcional com benefícios para a microflora intestinal, apresenta uma relevância,

pois contribuirá para atender as expectativas dos consumidores quanto à saúde e alternativas de alimentos com qualidade.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

A pesquisadora apresentou os termos obrigatórios de acordo com a Resolução 466/2012.

Recomendações:

Vide item Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Segundo o Parecer do CEP/UTFPR, de número 2.255.220 emitido em 01 de Setembro de 2017:

1)Na Plataforma Brasil, aparece o nome de MORGANA ANDRADE DOS SANTOS, no entanto nos demais documentos não consta o nome e função desta pesquisadora, favor esclarecer e incluir nos demais documentos como TCLE, Projeto detalhado e TALE;

OBSERVAÇÃO: ITEM ATENDIDO;

2)Na Metodologia inscrita na Plataforma Brasil, está faltando a finalização do último parágrafo, favor reescrever; OBSERVAÇÃO: ITEM NÃO ATENDIDO, POIS A PESQUISADORA INSERIU A SEGUINTE FRASE: "Devido ao número de caracteres disponíveis, não é possível inserir maiores informações

Endereço: SETE DE SETEMBRO 3165

Bairro: CENTRO

UF: PR

Telefone: (41)3310-4494

Município: CURITIBA

CEP: 80.230-901

E-mail: coep@utfpr.edu.br

Continuação do Parecer: 2.426.335

nesse campo. Favor consultar o projeto detalhado." SOLICITA-SE NOVAMENTE QUE A PESQUISADORA RESUMA AMETODOLOGIA PARA ATENDER AOS CARACTERES NECESSÁRIOS, INSERINDO A PARTE DA ANÁLISE SENSORIAL, QUE INCLUI SERES HUMANOS.

3)Na Plataforma Brasil, consta no item Critérios de Inclusão "Serão incluídos na pesquisa indivíduos de ambos os sexos, de 14 a 68 anos que gostem desse tipo de bebida e que aceitem participar da pesquisa. Também deverão fazer parte da comunidade interna do IFPR Campus Paranavaí, conforme especificação no projeto detalhado e no TCLE." e no TCLE consta o seguinte texto "Serão participantes da pesquisa alunos de ensino médio e superior do IFPR Campus Paranavaí, bem como servidores efetivos e terceirizados. Os indivíduos, para serem incluídos na pesquisa devem aceitar participar da mesma e não se enquadrar nos critérios de exclusão." Salienta-se que os textos deverão ser

uniformizados, inclusive no projeto detalhado;

OBSERVAÇÃO: ITEM ATENDIDO.

4)Uniformizar o título da pesquisa, pois na Plataforma Brasil consta "PRODUÇÃO DE CALDO-DE-CANA FUNCIONAL" e no TCLE, TALE, e Projeto detalhado "DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO DE CALDO DE CANA ADICIONADO DE PRE E PROBIÓTICO"

OBSERVAÇÃO: ITEM ATENDIDO;

5) No TCLE consta o seguinte texto " 3. Participação na pesquisa. A sua participação ou a de seu filho(a) é muito importante e ela se dará da seguinte forma: avaliar ..."Sendo assim, como o TCLE é direcionado aos pais para que autorizem a participação dos filhos na pesquisa, então o texto deve ser de esclarecimento aos pais e não de convite a estes como participantes. Caso os pais sejam participantes na pesquisa, então nos Critérios de Inclusão, mencioná-los também e deverá ser elaborado um TCLE para os participantes com idade acima de 18 anos(alunos, servidores, terceirizados e os pais. Serão um TCLE para os pais, um TCLE para os participantes com idade acima de 18 anos e um TALE(menores de 18 anos);

OBSERVAÇÃO: ITEM PARCIALMENTE ATENDIDO, POIS FALTOU NO TCLE DOS ALUNOS MAIORES DE 18 ANOS E DOS PAIS , O ESCLARECIMENTO NA FORMA DE CONVITE, POR EXEMPLO:

"CONVIDAMOS O SENHOR A CONSENTIR NA PARTICIPAÇÃO DO SEU FILHO NUMA PESQUISA QUE VISA.....

Endereço: SETE DE SETEMBRO 3165

Bairro: CENTRO

CEP: 80.230-901

UF: PR **Município:** CURITIBA

Telefone: (41)3310-4494

E-mail: coep@utfpr.edu.br

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO



Continuação do Parecer: 2.426.335

6) No item Critério de Exclusão consta o seguinte texto:

"Indivíduos diabéticos ou com alguma doença contagiosa ou alguma patologia que afete os sentidos como infecções de vias aéreas superiores. Também serão excluídos pessoas com alergias aos componentes presentes nas formulações. e menores de idade sem autorização dos pais." Esclarecer e mencionar quais os demais componentes presentes nas formulações, para que o participante possa entender. Este texto deverá ser similar nos TCLE's e TALE, e na Plataforma Brasil, bem como no Projeto detalhado;

OBSERVAÇÃO: ITEM ATENDIDO.

7) Retirar o texto ".e menores de idade sem autorização dos pais." dos Critérios de exclusão, uma vez que é um direito destes alunos menores optarem por não participarem.

OBSERVAÇÃO: ITEM PARCIALMENTE ATENDIDO, UMA VEZ QUE AINDA CONSTA NO PROJETO DE PESQUISA DETALHADO.

8) Sugere-se que a pesquisadora utilize o modelo de TCLE da área de Alimentos que consta na página deste CEP, <http://www.utfpr.edu.br/comites/cep-o-comite-de-etica-em-pesquisa-envolvendosereshumanos/roteiros-de-termos>, pois faltam alguns itens importantes, que devem estar presentes segundo a Resolução 466/2012, no item II.23 e Norma Operacional 01 de 2013, no item 3 PROTOCOLO DE PESQUISA, alínea "g", e que constam neste Modelo disponível no endereço eletrônico acima;

OBSERVAÇÃO: ITEM PARCIALMENTE ATENDIDO, POIS NO TALE O TEXTO REFERENTE AO ITEM RESSARCIMENTO E INDENIZAÇÃO ESTÁ INCOMPLETO. RECOMENDA-SE QUE O TEXTO SEJA SIMILAR AO TCLE PARA O ITEM RESSARCIMENTO E INDENIZAÇÃO;

9) A pesquisadora deverá reelaborar o TALE, com base no modelo da página deste CEP, no seguinte endereço eletrônico: <http://www.utfpr.edu.br/comites/cep-o-comite-de-etica-em-pesquisa-envolvendosereshumanos/roteiros-de-termos>, pois faltam esclarecimentos ao participante dos procedimentos da avaliação sensorial;

OBSERVAÇÃO: ITEM ATENDIDO, entretanto recomenda-se a observação citada acima;

10) Observar também nos TCLE's a serem elaborados(pais e demais participantes), para que sejam esclarecidos quanto aos procedimentos para a avaliação sensorial(quantas amostras, quantidade, quantas sessões, temperatura das amostras, a garantia da inocuidade destas mediante as análises microbiológicas);

Endereço: SETE DE SETEMBRO 3165

Bairro: CENTRO

UF: PR

Telefone: (41)3310-4494

Município: CURITIBA

CEP: 80.230-901

E-mail: coep@utfpr.edu.br

Continuação do Parecer: 2.426.335

OBSERVAÇÃO: ITEM ATENDIDO.

11) No projeto detalhado consta o seguinte texto "A sessão de avaliação sensorial acontecerá em duas sessões, sendo uma para a anamnese e seleção dos provadores e outra para a degustação e avaliação das formulações produzidas. Ambas as sessões serão previamente agendadas e os participantes da pesquisa deverão comparecer na mesma." Desta forma, tanto na Metodologia da Plataforma Brasil nos TCLE, TALE, devem constar estas etapas também, esclarecendo ao participante nos TCLE's e TALE, como serão os procedimentos;

OBSERVAÇÃO: ITEM PARCIALMENTE ATENDIDO, POIS SE ESCLARECEU SOBRE A AVALIAÇÃO SENSORIAL, RETIRANDO A ETAPA DA ANMENESE, ENTRETANTO NÃO CONSTA NA PLATAFORMA BRASIL, A ETAPA DA AVALIAÇÃO SENSORIAL NA METODOLOGIA.

12) Em relação as etapas da anamnese e seleção dos avaliadores/consumidores, quais os instrumentos a serem utilizados? Favor anexar na Plataforma Brasil;

OBSERVAÇÃO: A PESQUISADORA RETIROU DO PROJETO ESTA ETAPA. ITEM ATENDIDO.

13) Inserir os itens de Critérios de Inclusão, Critérios de Exclusão, Riscos e Benefícios no Projeto Detalhado; OBSERVAÇÃO: ITEM ATENDIDO.

14) Elaborar um documento de confidencialidade dos dados coletados por parte dos pesquisadores, conforme o Modelo "TERMO DE COMPROMISSO, DE CONFIDENCIALIDADE DE DADOS E ENVIO DO RELATÓRIO FINAL", que consta na página deste CEP, <http://www.utfpr.edu.br/comites/cepocomite-de-etica-em-pesquisa-envolvendo-seres-humanos/roteiros-de-termos> no endereço eletrônico ;

OBSERVAÇÃO: ITEM ATENDIDO.

15) A pesquisadora aponta como Riscos: "A ingestão dos caldo de cana, por apresentar açúcar em sua composição natural poderá ser prejudicial a pessoas diabéticas. A avaliação desfavorável do produto não deve resultar em constrangimento, pois a intenção da pesquisa é avaliar a real aceitação dos produtos." Uma vez que os diabéticos fazem parte dos Critérios de Exclusão, então não devem ser mencionados neste item.

OBSERVAÇÃO : ITEM ATENDIDO.

16) Sugere-se a pesquisadora que utilize o Modelo de TCLE, para a área de Alimentos, onde está a explicação dos possíveis riscos na avaliação sensorial de alimentos. Segundo a Resolução 466/2012, no item IV.3, alínea "b", o Termo de consentimento Livre e Esclarecido-TCLE, deve conter obrigatoriamente as cautelas a serem empregadas para evitar/reduzir ou minimizar

Endereço: SETE DE SETEMBRO 3165

Bairro: CENTRO

CEP: 80.230-901

UF: PR

Município: CURITIBA

Telefone: (41)3310-4494

E-mail: coop@utfpr.edu.br

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO



Continuação do Parecer: 2.426.335

os possíveis Riscos ao participante da pesquisa; Uniformizar e inserir nos TCLE's, TALE, Projeto Detalhado e na Plataforma Brasil;

OBSERVAÇÃO: ITEM ATENDIDO.

17) No item Benefícios, consta "Benefícios:

Os benefícios esperados são: desenvolver uma bebida funcional a base de caldo de cana, podendo estimular o mercado da cana-de-açúcar em um novo segmento e trazer benefícios à saúde dos consumidores por se tratar de um alimento funcional." A Resolução 466/2012 prevê que o pesquisador aponte os Benefícios, conforme item V, e alínea "V.2". Sendo

assim, a pesquisadora deverá mencionar quais os benefícios para o participante, conforme sugestão do Modelo de TCLE, da área de alimentos, página "<http://www.utfpr.edu.br/comites/cep-o-comite-de-eticaempesquisa-envolvendo-seres-humanos/roteiros-de-termos>;

OBSERVAÇÃO: ITEM ATENDIDO.

18) Observar no item da Plataforma Brasil "Grupos em que serão divididos os participantes da pesquisa neste centro", caso os pais também sejam participantes da pesquisa, mencionara também este grupo e a intervenção;

OBSERVAÇÃO: ITEM ATENDIDO.

19) No Cronograma prever a etapa de anamnese e seleção dos avaliadores;

OBSERVAÇÃO: ITEM ATENDIDO, UMA VEZ QUE SE RETIROU A ETAPA DE ANAMNESE.

20) Rever o Cronograma, no reenvio ao CEP;

OBSERVAÇÃO: ITEM ATENDIDO.

21) Uniformizar todas as informações solicitadas em todos os documentos (Plataforma Brasil TCLE's, TALE, Projeto detalhado de pesquisa)

OBSERVAÇÃO: ITEM PARCIALMENTE ATENDIDO, POIS O ITEM RESSARCIMENTO E INDENIZAÇÃO NO TALE NÃO ESTÁ SIMILAR AOS TCLE'S.

Segundo o Relato da Versão 3 em relação às pendências da Versão 2:

2) Na Metodologia inscrita na Plataforma Brasil, está faltando a finalização do último parágrafo, favor reescrever; OBSERVAÇÃO: ITEM NÃO ATENDIDO, POIS A PESQUISADORA INSERIU A SEGUINTE FRASE: "Devido ao número de caracteres disponíveis, não é possível inserir maiores informações nesse campo. Favor consultar o projeto detalhado." SOLICITA-SE NOVAMENTE QUE A PESQUISADORA RESUMA A METODOLOGIA PARA ATENDER AOS CARACTERES NECESSÁRIOS, INSERINDO A PARTE DA ANÁLISE SENSORIAL, QUE INCLUI SERES HUMANOS.

OBSERVAÇÃO: ITEM ATENDIDO NA VERSÃO 3.

Endereço: SETE DE SETEMBRO 3165

Bairro: CENTRO

CEP: 80.230-901

UF: PR **Município:** CURITIBA

Telefone: (41)3310-4494

E-mail: coep@utfpr.edu.br

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO



Continuação do Parecer: 2.426.335

5) No TCLE consta o seguinte texto " 3. Participação na pesquisa. A sua participação ou a de seu filho(a) é muito importante e ela se daria da seguinte forma: avaliar ..."Sendo assim, como o TCLE é direcionado aos pais para que autorizem a participação dos filhos na pesquisa, então o texto deve ser de esclarecimento aos pais e não de convite a estes como participantes. Caso os pais sejam participantes na pesquisa, então nos Critérios de Inclusão, mencioná-los também e deverá ser elaborado um TCLE para os participantes com idade acima de 18 anos(alunos, servidores, terceirizados e os pais. Serão um TCLE para os pais, um TCLE para os participantes com idade acima de 18 anos e um TALE(menores de 18 anos);

OBSERVAÇÃO: ITEM PARCIALMENTE ATENDIDO, POIS FALTOU NO TCLE DOS ALUNOS MAIORES DE 18 ANOS E DOS PAIS , O ESCLARECIMENTO NA FORMA DE CONVITE, POR EXEMPLO:

"CONVIDAMOS O SENHOR A CONSENTIR NA PARTICIPAÇÃO DO SEU FILHO NUMA PESQUISA QUE VISA.....

OBSERVAÇÃO: ITEM ATENDIDO NA VERSÃO 3.

7) Retirar o texto ".e menores de idade sem autorização dos pais."dos Critérios de exclusão, uma vez que é um direito destes alunos menores optarem por não participarem.

OBSERVAÇÃO: ITEM PARCIALMENTE ATENDIDO, UMA VEZ QUE AINDA CONSTA NO PROJETO DE PESQUISA DETALHADO.

OBSERVAÇÃO: ITEM ATENDIDO NA VERSÃO 3.

8) Sugere-se que a pesquisadora utilize o modelo de TCLE da área de Alimentos que consta na página deste CEP, <http://www.utfpr.edu.br/comites/cep-o-comite-de-etica-em-pesquisa-envolvendosereshumanos/roteiros-de-terminos>,

pois faltam alguns itens importantes, que devem estar presentes segundo

a Resolução 466/2012, no item II.23 e Norma Operacional 01 de 2013, no item 3 PROTOCOLO DE PESQUISA, alínea "g", e que constam neste Modelo disponível no endereço eletrônico acima;

OBSERVAÇÃO: ITEM PARCIALMENTE ATENDIDO, POIS NO TALE O TEXTO REFERENTE AO ITEM RESSARCIMENTO E INDENIZAÇÃO ESTÁ INCOMPLETO. RECOMENDA-SE QUE O TEXTO SEJA SIMILAR AO TCLE PARA O ITEM RESSARCIMENTO E INDENIZAÇÃO;

OBSERVAÇÃO:ITEM ATENDIDO NA VERSÃO 3.

11) No projeto detalhado consta o seguinte texto "A sessão de avaliação sensorial acontecerá em duas sessões, sendo uma para a anamnese e seleção dos provadores e outra para a degustação e avaliação das formulações produzidas. Ambas as sessões serão previamente agendadas e os participantes da pesquisa deverão comparecer na mesma." Desta forma, tanto na Metodologia da Plataforma Brasil nos TCLE, TALE, devem constar estas etapas também, esclarecendo ao

Endereço: SETE DE SETEMBRO 3165

Bairro: CENTRO

UF: PR

Telefone: (41)3310-4494

Município: CURITIBA

CEP: 80.230-901

E-mail: coep@utfpr.edu.br

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO



Continuação do Parecer: 2.426.335

participante nos TCLE's e TALE, como serão os procedimentos;

OBSERVAÇÃO: ITEM PARCIALMENTE ATENDIDO, POIS SE ESCLARECEU SOBRE A AVALIAÇÃO SENSORIAL, RETIRANDO A ETAPA DA ANMENESE, ENTRETANTO NÃO CONSTA NA PLATAFORMA BRASIL, A ETAPA DA AVALIAÇÃO SENSORIAL NA METODOLOGIA.

OBSERVAÇÃO: ITEM ATENDIDO NA VERSÃO 3.

21) Uniformizar todas as informações solicitadas em todos os documentos (Plataforma Brasil TCLE's, TALE, Projeto detalhado de pesquisa) OBSERVAÇÃO: ITEM PARCIALMENTE ATENDIDO, POIS O ITEM RESSARCIMENTO E INDENIZAÇÃO NO TALE NÃO ESTÁ SIMILAR AOS TCLE'S.

OBSERVAÇÃO: ITEM ATENDIDO NA VERSÃO 3.

SOLICITA-SE QUE A PESQUISADORA RETIRE A SEGUINTE FRASE DO TALE:

"Informamos que você não pagará nem será remunerado por sua participação. Garantimos, no entanto, que todas as despesas decorrentes da pesquisa serão ressarcidas, quando devidas e decorrentes especificamente de sua participação na pesquisa.". Uma vez que atendeu ao item Ressarcimento e Indenização de forma similar aos TCLE'S, não há necessidade deste texto no TALE. ENVIAR SOMENTE O TALE REFEITO COM ESTA ALTERAÇÃO, COMO NOTIFICAÇÃO A ESTE CEP.

Considerações Finais a critério do CEP:

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

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_975781.pdf	09/11/2017 15:36:14		Aceito

Endereço: SETE DE SETEMBRO 3165

Bairro: CENTRO

CEP: 80.230-901

UF: PR

Município: CURITIBA

Telefone: (41)3310-4494

E-mail: coep@utfpr.edu.br

**UNIVERSIDADE
TECNOLÓGICA FEDERAL DO**



Continuação do Parecer: 2.426.335

Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projetodetalhado3.doc	09/11/2017 15:35:30	MORGANA ANDRADE DOS SANTOS	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TALE3.docx	06/11/2017 16:43:11	MORGANA ANDRADE DOS SANTOS	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE3.docx	06/11/2017 16:42:33	MORGANA ANDRADE DOS SANTOS	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_PAIS3.docx	06/11/2017 16:41:55	MORGANA ANDRADE DOS SANTOS	Aceito
Outros	termodecompromisso.pdf	19/09/2017 14:35:52	Suellen Jensen Klososki	Aceito
Folha de Rosto	paginaderosto.pdf	19/09/2017 14:33:59	Suellen Jensen Klososki	Aceito
Outros	Formularioaceitacao.docx	09/08/2017 11:16:23	MORGANA ANDRADE DOS SANTOS	Aceito
Declaração do Patrocinador	declaracaodirecao.pdf	09/08/2017 11:09:20	MORGANA ANDRADE DOS SANTOS	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

CURITIBA, 10 de Dezembro de 2017

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

Endereço: SETE DE SETEMBRO 3165

Bairro: CENTRO

CEP: 80.230-901

UF: PR **Município:** CURITIBA

Telefone: (41)3310-4494

E-mail: coep@utfpr.edu.br

ANEXO III – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)

Título da pesquisa: DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO DE CALDO DE CANA ADICIONADO DE PRE E PROBIÓTICO

Pesquisador(es), com endereços e telefones: Suellen Jensen Klososki, Tatiana Colombo Pimentel e Morgana Andrade dos Santos. Avenida José Felipe Tequinha, 1400. CEP 87703-536. Paranavaí - PR. Telefones: 44 9926-9270 e 44 9101-9000.

Engenheiro ou médico ou orientador ou outro profissional responsável: Tatiana Colombo Pimentel

Local de realização da pesquisa: Instituto Federal do Paraná Câmpus Paranavaí.

Endereço, telefone do local: Avenida José Felipe Tequinha, 1400. CEP 87703-536. Paranavaí - PR. Telefones: 44 3482-0110

A) INFORMAÇÕES AO PARTICIPANTE

1. Apresentação da pesquisa.

Convidamos você a participar de uma pesquisa que visa desenvolver formulações de caldo de cana adicionados de cultura probiótica de *Lactobacillus casei* e prebióticos (oligofrutose e polidextrose) com intenção de produzir uma bebida com propriedades funcionais, que trazem benefícios à saúde. Além disso, a obtenção de uma formulação não láctea de qualidade e alegação funcional se torna interessante por ser um produto oriundo de vegetais que é de fácil produção e aquisição em nosso país, estimulando a produção e economia local. A bebida pode vir a fazer parte da dieta de pessoas não habituadas a consumir este tipo de produto.

2. Objetivos da pesquisa.

O estudo objetiva expandir o mercado de produtos funcionais, especialmente o de bebidas não lácteas, avaliando a viabilidade da produção de caldo de cana utilizando cultura probiótica (*L. casei*) e prebióticos (oligofrutose e polidextrose) como agentes funcionais. Os produtos funcionais são alimentos que além de sua função nutricional básica também devem produzir efeitos metabólicos e/ou fisiológicos e/ou benéficos à saúde. Com a proposta de um novo produto não lácteo com propriedades funcionais, o caldo de cana, vem para suprir necessidades de consumidores intolerantes à lactose ou

alérgicos à proteína do leite, além do público que não apreciam o sabor do leite, veganos e do público em geral.

3. Participação na pesquisa.

A sua participação é muito importante e ela se daria da seguinte forma:

Serão desenvolvidos diferentes formulações de caldo de cana adicionados de probiótico (*L. casei*) e/ou prebiótico (oligofrutose e/ou polidextrose) e você poderá ser avaliador desses produtos desenvolvidos. A incorporação de prebióticos e probióticos será estudada para avaliar a formulação mais adequada e que melhor atende as necessidades dos consumidores.

Os responsáveis pela pesquisa entrarão em contato agendando duas sessões de avaliação. No horário pré-determinado, você deverá comparecer ao Laboratório e receberá amostras de Caldos-de-cana com prebiótico e/ou probiótico.

A análise seguirá em laboratório, sob luz branca. Serão servidos 30 mL, de cada formulação, num total de 6, em copos de plástico (50mL), codificados com números de três dígitos aleatórios, aproximadamente à temperatura de 7°C. Água potável à temperatura ambiente e biscoitos sem glúten a base de arroz serão disponibilizados para a limpeza da boca antes e entre as avaliações das formulações.

Você irá avaliar os atributos (aparência, aroma, sabor, textura e impressão geral), utilizando escala hedônica de 9 pontos (variando de 1 - desgostei muitíssimo; 9 - gostei muitíssimo); e o teste de intenção de compra, utilizando escala de 5 pontos (variando de 1 - certamente não compraria; certamente compraria). As amostras, na primeira e na segunda sessão, serão previamente submetidas a análises microbiológicas, sendo referentes ao 1º e 28º dias de armazenamento, de forma monádica e em ordem aleatorizada.

4. Confidencialidade.

Informamos 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.

5. Desconfortos, Riscos e Benefícios.

5a) Desconfortos e ou Riscos: Apesar do produto ser submetido à avaliação microbiológica prévia e só ser oferecido à população em caso de comprovada a

segurança alimentar, você pode não gostar (sabor, textura, aroma) do produto e/ou sentir-se constrangido em preencher o questionário e/ou sentir algum desconforto ao provar o produto, o que constitui um risco, mesmo que mínimo. Caso algum desconforto físico, será acionado o SAMU local. Por se tratar de uma bebida com altas concentrações de açúcares, poderá causar picos de glicemia e causar mal-estar. No entanto, a equipe estará preparada para dar os devidos encaminhamentos, como mencionado anteriormente.

5b) Benefícios: O consumo de bebida prebiótica e probiótica confere à saúde benefícios como melhora no funcionamento intestinal, redução no risco de câncer de cólon, entre outros relacionados ao consumo de prebiótico e probióticos. Além disso, o desenvolvimento da bebida poderá proporcionar o oferecimento de um produto novo, com propriedades nutricionais de interesse para a saúde, com maior teor de fibras e alegação funcional com finalidade de aumentar a gama de produtos funcionais não lácteo ofertado a consumidores com restrição ao consumo de leite uma nova alternativa de produto benéfico a saúde.

6. Critérios de inclusão e exclusão.

6a) Inclusão: Serão incluídos na pesquisa indivíduos de ambos os sexos, de 14 a 68 anos que gostem desse tipo de bebida e que aceitem participar da pesquisa. Também deverão fazer parte da comunidade interna do IFPR Campus Paranavaí. Esses indivíduos, para serem incluídos na pesquisa devem aceitar participar da mesma e não se enquadrar nos critérios de exclusão.

6b) Exclusão: Como critério de exclusão, são considerados casos de diabetes ou alergia ao caldo-de-cana ou aos demais componentes das formulações, que são probiótico *L. casei*, oligofrutose e/ou polidextrose (prebióticos).

7. Direito de sair da pesquisa e a esclarecimentos durante o processo.

Gostaríamos de esclarecer que a sua participação é totalmente voluntária, podendo recusar-se a participar, ou mesmo desistir a qualquer momento sem que isto acarrete qualquer ônus ou prejuízo a sua pessoa. A qualquer momento a equipe estará disponível para esclarecimento de dúvidas, se estas surgirem.

Para todas as questões relativas ao estudo ou para se retirar do mesmo, poderão se comunicar com Tatiana / Suellen / Morgana, via e-mail: tatiana.pimentel@ifpr.edu.br / suellen.jensen@ifpr.edu.br ou telefone: (44) 9101-9000 / 9926-9270 / 3482-0110.

Você pode assinalar o campo a seguir, para receber o resultado desta pesquisa, caso seja de seu interesse:

() quero receber os resultados da pesquisa

(email para envio:_____)

() não quero receber os resultados da pesquisa

8. Ressarcimento ou indenização.

Informamos que a sua participação na pesquisa é isenta de qualquer custo, por isso não existe ressarcimento a ser feito para o participante. A Resolução 466/12 prevê indenização por eventuais danos ocorridos durante a participação na pesquisa.

ESCLARECIMENTOS SOBRE O COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA:

O Comitê de Ética em Pesquisa envolvendo Seres Humanos (CEP) é constituído por uma equipe de profissionais com formação multidisciplinar que está trabalhando para assegurar o respeito aos direitos do seu filho como participante de pesquisas. Ele tem por objetivo avaliar se a pesquisa foi planejada e se será executada de forma ética. Se você considerar que a pesquisa não está sendo realizada da forma como você foi informado ou que você está sendo prejudicado de alguma forma, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa envolvendo Seres Humanos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (CEP/UTFPR). Av. Sete de Setembro, 3165, Bloco N, Térreo, Bairro Rebouças, CEP 80230-901, Curitiba-PR, telefone: (41) 3310-4494, e-mail: coep@utfpr.edu.br.

B) CONSENTIMENTO

Eu declaro ter conhecimento das informações contidas neste documento e ter recebido respostas claras às minhas questões a propósito da minha participação na pesquisa e, adicionalmente, declaro ter compreendido o objetivo, a natureza, os riscos e benefícios deste estudo.

Após reflexão e um tempo razoável, eu decidi, livre e voluntariamente, participar deste estudo. Estou consciente que a participação na pesquisa pode ser interrompida a qualquer momento, sem nenhum prejuízo para minha pessoa.

Nome completo:_____

RG: _____ Data de Nascimento: ____/____/____ Telefone: _____
Endereço: _____
CEP: _____ Cidade: _____ Estado: _____
Assinatura: _____ Data: ____/____/____

Eu declaro ter apresentado o estudo, explicado seus objetivos, natureza, riscos e benefícios e ter respondido da melhor forma possível às questões formuladas.

Assinatura _____ pesquisador: Data: ____/____/____

(ou seu representante)

Nome completo: Tatiana Colombo Pimentel

Para todas as questões relativas ao estudo ou para se retirar do mesmo, poderão se comunicar com Tatiana / Suellen / Morgana, via e-mail: tatiana.pimentel@ifpr.edu.br / suellen.jensen@ifpr.edu.br ou telefone: (44) 9101-9000 / 9926-9270 / 3482-0110.

Endereço do Comitê de Ética em Pesquisa para recurso ou reclamações do sujeito pesquisado

Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (CEP/UTFPR)

REITORIA: Av. Sete de Setembro, 3165, Rebouças, CEP 80230-901, Curitiba-PR, telefone: 3310-4943, e-mail: coep@utfpr.edu.br

ANEXO IV – Questionário para recrutamento de avaliadores

Desejamos formar uma equipe de avaliadores para avaliar a aceitação de Caldo de cana. As amostras serão produzidas a partir de caldo de cana e adicionadas de probiótico (L.casei) e/ou prebióticos (oligofrutose e polodextrose). Ser um avaliador não tomará muito seu tempo e não envolverá nenhuma tarefa difícil. O teste será realizado no Laboratório de Processamento de Alimentos do Instituto Federal do Paraná – Campus Paranavaí, leva em torno de 15 minutos e você poderá fazê-la no horário em que tiver maior disponibilidade.

Se você deseja participar do teste, por favor, preencha este formulário.

Se você tiver alguma dúvida, ou necessidade de informações adicionais, não hesite em entrar em contato com Tatiana (tel: 44 99101-9000, e-mail: tatiana.pimentel@ifpr.edu.br).

Dados Pessoais:

Nome:

E-mail:

Faixa etária:

- () 15-25
() 26-35
() 36-50
() acima de 50

Sexo:

- () feminino
() masculino

Ocupação

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

Escolaridade:

- () 1º grau completo
() 2º grau completo
() Graduação
() Mestrado
() Doutorado

1. Indique o quanto você aprecia cada um destes produtos:

	Gosto	Nem gosto/ Nem desgosto	Não gosto	Nunca provei
Caldo de cana				
Suco de fruta natural				
Suco de fruta comercial				