UNIDADE DE ENSINO SUPERIOR DE FEIRA DE SANTANA

ALEXANDRE OLIVEIRA DOS SANTOS
ARIANY PEREIRA MOREIRA
LUCAS MACHADO SOARES

PRODUÇÃO DE BEBIDA PROBIÓTICA A PARTIR DA POLPA DO MARACUJÁ DO MATO FERMENTADO COM *Lactobacillus casei*

FEIRA DE SANTANA
2021

ALEXANDRE OLIVEIRA DOS SANTOS
ARIANY PEREIRA MOREIRA
LUCAS MACHADO SOARES

PRODUÇÃO DE BEBIDA PROBIÓTICA A PARTIR DA POLPA DO MARACUJÁ DO MATO FERMENTADO COM *Lactobacillus casei*

Monografia apresentada à Unidade de Ensino Superior de Feira de Santana como requisito para obtenção do grau de Engenheiro Químico.

Orientadora: Prof(a) Dr.ª Carla Santos Ribeiro Pinheiro.

FEIRA DE SANTANA

2021

ALEXANDRE OLIVEIRA DOS SANTOS
ARIANY PEREIRA MOREIRA
LUCAS MACHADO SOARES

PRODUÇÃO DE BEBIDA PROBIÓTICA A PARTIR DA POLPA DO MARACUJÁ DO MATO FERMENTADO COM *Lactobacillus casei*

Feira de Santana, 24/02/2022
Banca Examinadora:

_____
Prof(a) Dr.ª Carla Santos Ribeiro Pinheiro
Unidade de Ensino Superior de Feira de Santana (UNEF)
Orientador (a)

_____
Prof(a) Fernanda Mansani Silva Gomes
Unidade de Ensino Superior de Feira de Santana (UNEF)
Examinador (a)

_____
Prof(a) Priscila Magalhães
Unidade de Ensino Superior de Feira de Santana (UNEF)
Examinador (a)

Agradecimentos

Gostaríamos de agradecer primeiramente a Deus pelos dons que nos foi concedido e serviram para nossa realização. Aos nossos pais que sempre nos incentivaram e acreditaram que seriamos capazes de superar qualquer obstáculo. A nossa orientadora Carla Santos Ribeiro Pinheiro por estar sempre presente para nos indicar uma direção correta para o trabalho. A todos os docentes que passaram por nossa jornada. Também agradecemos aos nossos amigos e companheiros que sempre estiveram presentes e nos ajudou desde o início.

“Não ganhe o mundo e perca sua alma; sabedoria é melhor que prata e ouro”
- Bob Marley

Resumo

O mercado atual de bebidas probióticas ainda é voltado na sua grande maioria para produtos derivados do leite. Os probióticos são alimentos funcionais que são utilizados em função, além das suas características nutricionais comuns, também por conta dos seus benefícios biológicos e redução do risco de doenças crônicas. O objetivo do trabalho foi desenvolver um suco probiótico a partir do fruto maracujá do mato (*Passiflora cincinnata Mast*) fermentada com *Lactobacillus casei*. O suco foi preparado a partir da polpa do maracujá do mato a fim de comparar duas diferentes formulações (suco diluído e pasteurizado). A fermentação foi feita em estufa à 30 ºC por 20h e após fermentado o suco passou por análises físico-químicas (acidez, pH, vitamina C e ºBrix) e mais 72h em estufa para o crescimento e viabilidade do L. casei. Obteve-se resultados satisfatórios das análises físico-químicas. O pH do suco pasteurizado foi finalizado em 4,78 e o suco diluído com 4,81. A acidez após as 20 horas de fermentação foi de 0,41g/100 mL para o suco pasteurizado e 0,44g/100 mL para o suco diluído. O teor de sólidos solúveis do suco diluído ficou em 3,2 e o do suco pasteurizado em 3,6. Prontamente, a bebida apresentou características tanto físicas quanto químicas nos resultados esperados, tais como as análises de pH, acidez, ácido ascórbico, ºBrix e análise sensorial. Com todos os resultados obtidos, foi demonstrado que o objetivo proposto foi alcançado, porém, será necessário a realização de mais estudos para validar o fermentado como bebida probiótica e avaliar seus benefícios a curto e longo prazo para a manutenção da microbiota e funcionamento intestinal, juntamente com a melhora da qualidade sensorial do suco fermentado para uma melhor aceitação do consumidor.

Palavras-chave: Alimentos funcionais. Probióticos. Bebida probiótica. Maracujá do mato.

Abstract

The current market for probiotic drinks is still mostly focused on dairy products. Probiotics are functional foods that are used for function, in addition to their common nutritional characteristics, also because of their biological benefits and reduced risk of chronic diseases. The objective of this work was to develop a probiotic juice from passion fruit (Passiflora cincinnata Mast) fermented with Lactobacillus casei. The juice was prepared from passion fruit pulp in order to compare two different formulations (diluted and pasteurized juice). Fermentation was carried out in an oven at 30ºC for 20h and after fermenting the juice underwent physical-chemical analysis (acidity, pH, vitamin C and ºBrix) and another 72h in an oven for the growth and viability of L. casei. Satisfactory results were obtained from the physical-chemical analyses. The pH of the pasteurized juice was finalized at 4.78 and the diluted juice at 4.81. The acidity after 20 hours of fermentation was 0.41g/100 mL for the pasteurized juice and 0.44g/100 mL for the diluted juice. The soluble solids content of the diluted juice was 3.2 and that of the pasteurized juice was 3.6. Immediately, the drink presented both physical and chemical characteristics in the expected results, such as pH, acidity, ascorbic acid, ºBrix and sensory analysis. With all the results obtained, it was demonstrated that the proposed objective was achieved, however, it will be necessary to carry out more studies to validate the fermented as a probiotic drink and evaluate its short and long-term benefits for the maintenance of the microbiota and intestinal functioning, together with the improvement of the sensorial quality of the fermented juice for a better acceptance of the consumer.

Keywords: Functional foods. Probiotics. Probiotic drink. Wild passion fruit.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Maracujá do mato (*Passiflora cincinnata Mast*.). 15
Figura 2: Esquema geral da fermentação da glicose pelas bactérias láticas. 16
Figura 3: Produtos probióticos comercializados no Brasil 19
Figura 4: Preparo do inóculo 21
Figura 5: pH e acidez lática do suco diluído 23
Figura 6: pH e acidez lática do suco pasteurizado 24
Figura 7: Gráfico de aceitação do suco não adoçada 25
Figura 8: Gráfico de aceitação do suco adoçado com stévia 26
Figura 9: Gráfico de aceitação do suco adoçado com sacarose 27

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Resultados de pH obtidos. 22

Tabela 2: Resultados das análises de acidez para as diferentes formulações do suco 23

Tabela 3: Teor de sólidos solúveis após 20horas de fermentação 24

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

pH - Potencial hidrogeniôco

rRNA - Ácido Ribonucleico Ribossômico

DNA – Ácido Ribossômico

MRS - Man, Rogosa e Sharper

CO_2 – Dióxido de carbono

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO 13
2. REFERÊNCIAL TEÓRICO 14
2.1. Alimentos funcionais 14
2.2. Maracujá do mato (*Passiflora cincinnata Mast*) 14
2.3. Fermentação 15
2.4. Gênero *Lactobacillus* 17
2.5. *Lactobacillus casei* 17
2.6. Bebida probiótica 18
2.7. Consumo de probióticos no Brasil 19
3. METODOLOGIA 20
3.1. Maracujá do mato 20
3.2. Micro-organismo 20
3.3. Preparo do suco do maracujá do mato 20
3.4. Preparo do inóculo 20
3.5. Fermentação da bebida do maracujá da Caatinga 21
3.6. Análise do pH 21
3.7. Análise de ºBrix 21
3.8. Análise de acidez 21
3.9. Análise de Vitamina C 21
3.10. Análise sensorial 22
4. RESULTADOS 22
4.1. Análises fisico-químicas 22
4.2. Análise sensorial 25
5. CONCLUSÃO 27
REFERÊNCIAS 29

PRODUÇÃO DE BEBIDA PROBIÓTICA A PARTIR DA POLPA DO MARACUJÁ DO MATO FERMENTADO COM *Lactobacillus casei*

SANTOS, Alexandre Oliveira [1], MOREIRA, Ariany Pereira [2], SOARES, Lucas Machado [3], PINHEIRO, Carla Santos Ribeiro [4].

Resumo

O mercado atual de bebidas probióticas ainda é voltado na sua grande maioria para produtos derivados do leite. Os probióticos são alimentos funcionais que são utilizados em função, além das suas características nutricionais comuns, também por conta dos seus benefícios biológicos e redução do risco de doenças crônicas. O objetivo do trabalho foi desenvolver um suco probiótico a partir do fruto maracujá do mato (*Passiflora cincinnata Mast*) fermentada com *Lactobacillus casei*. O suco foi preparado a partir da polpa do maracujá do mato a fim de comparar duas diferentes formulações (suco diluído e pasteurizado). A fermentação foi feita em estufa à 30 ºC por 20h e após fermentado o suco passou por análises físico-químicas (acidez, pH, vitamina C e ºBrix) e mais 72h em estufa para o crescimento e viabilidade do L. casei. Obteve-se resultados satisfatórios das análises físico-químicas. O pH do suco pasteurizado foi finalizado em 4,78 e o suco diluído com 4,81. A acidez após as 20 horas de fermentação foi de 0,41g/100 mL para o suco pasteurizado e 0,44g/100 mL para o suco diluído. O teor de sólidos solúveis do suco diluído ficou em 3,2 e o do suco pasteurizado em 3,6. Prontamente, a bebida apresentou características tanto físicas quanto químicas nos resultados esperados tais como as análises de pH, acidez, ácido ascórbico, ºBrix e análise sensorial.Com todos os resultados obtidos, foi demonstrado que o objetivo proposto foi alcançado, porém, será necessário a realização de mais estudos para validar o fermentado como bebida probiótica e avaliar seus benefícios a curto e longo prazo para a manutenção da microbiota e funcionamento intestinal, juntamente com a melhora da qualidade sensorial do suco fermentado para uma melhor aceitação do consumidor.

Palavras-chave: Alimentos funcionais. Probióticos. Bebida probiótica. Maracujá do mato.

Abstract

The current market for probiotic drinks is still mostly focused on dairy products. Probiotics are functional foods that are used for function, in addition to their common

nutritional characteristics, also because of their biological benefits and reduced risk of chronic diseases. The objective of this work was to develop a probiotic juice from passion fruit (Passiflora cincinnata Mast) fermented with Lactobacillus casei. The juice was prepared from passion fruit pulp in order to compare two different formulations (diluted and pasteurized juice). Fermentation was carried out in an oven at 30ºC for 20h and after fermenting the juice underwent physical-chemical analysis (acidity, pH, vitamin C and ºBrix) and another 72h in an oven for the growth and viability of L. casei. Satisfactory results were obtained from the physical-chemical analyses. The pH of the pasteurized juice was finalized at 4.78 and the diluted juice at 4.81. The acidity after 20 hours of fermentation was 0.41g/100 mL for the pasteurized juice and 0.44g/100 mL for the diluted juice. The soluble solids content of the diluted juice was 3.2 and that of the pasteurized juice was 3.6. Immediately, the drink presented both physical and chemical characteristics in the expected results, such as pH, acidity, ascorbic acid, ºBrix and sensory analysis. With all the results obtained, it was demonstrated that the proposed objective was achieved, however, it will be necessary to carry out more studies to validate the fermented as a probiotic drink and evaluate its short and long-term benefits for the maintenance of the microbiota and intestinal functioning, together with the improvement of the sensorial quality of the fermented juice for a better acceptance of the consumer.

Keywords: Functional foods. Probiotics. Probiotic drink. Wild passion fruit.

---

[1] Graduando em Engenharia Química
[2] Graduando em Engenharia Química
[3] Graduando em Engenharia Química
[4] Doutorado em Biotecnologia

1. INTRODUÇÃO

A utilização de micro-organismos probióticos como adjuntos dietéticos em diferentes produtos tem reforçado suas propriedades funcionais e o resultado desses bons desempenhos vem aumentando o consumo dos mesmos em toda parte do mundo (KRISTO; BILIADERIS; TZANETAKIS, 2003).

Uma quantidade enorme de micro-organismos é usada como probióticos, entre eles temos algumas bactérias ácido lácticas, bactérias não lácticas e também algumas leveduras. De acordo com Havenaar et al. (1992), os probióticos possuem algumas características e propriedades próprias deles, assim como alguns benefícios para com o corpo humano.

De acordo com Marhamatizadeh et al. (2012), os benefícios de saúde relatados pelo consumo de micro-organismos probióticos incluem: reforço do sistema imunológico, inibição do crescimento de organismos patogênicos, prevenção da diarreia por várias causas, prevenção do câncer, redução dos movimentos intestinais inflamatórios, melhoria da digestão de proteínas e gorduras, síntese de vitaminas e desintoxicação e proteção contra toxinas. Sendo os probióticos dos gêneros *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* e *Streptococcus* os mais comuns usados.

Segundo Camargo (2006), a maioria dos produtos probióticos que se faz o uso são encontrados a partir de algumas preparações farmacêuticas, mas geralmente são vendidos como produtos lácteos fermentados. Levando em conta esse consumo de produtos lácteos, encontra-se um problema no Brasil, pelo fato da grande quantidade de pessoas poderem apresentar problemas de intolerância à lactose, 70% dos adultos brasileiros têm algum desconforto após consumir leite de vaca ou derivados.

A produção e consumo de bebidas probióticas ou sucos probióticos a partir de frutas estão consideravelmente em alta por conta dos seus efeitos naturais saudáveis (proteínas e vitaminas minerais) e, com o *Passiflora cincinnata Mast* (maracujá do mato), não é diferente (MARHAMATIZADEH et al., 2012). Araújo et al. (2002) traz que o maracujá do mato está no mercado, mesmo que em pequena quantidade, apenas para produção de doce, sorvete e suco e, portanto, por ser uma fruta nativa da caatinga e do semiárido brasileiro seria de suma importância apresentar outra utilização da mesma.

O maracujá do mato é encontrado em 65% do território nordestino, é uma espécie resistente a seca característica da região, que se desenvolve melhor em lugares de absoluta estiagem e, além de ser muito utilizada para consumo próprio de diversas pessoas, é uma excelente opção de renda para pequenos agricultores do Nordeste (RYBKA et al., 2016).

O objetivo desse trabalho foi desenvolver uma bebida probiótica a partir do fruto maracujá do mato (*Passiflora cincinnata mast*) fermentado com *Lactobacillus casei,* identificando suas características físico-químicas após a fermentação e, assim como, análise sensorial do mesmo.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. Alimentos funcionais

Alimentos funcionais são alimentos usados como parte de uma dieta normal que apresentam diversos benefícios biológicos e reduzem o risco de algumas doenças crônicas, além das suas características nutricionais comuns. Em diversos países, já identificam e definem gêneros alimentícios que contém ingredientes naturais que

melhoram as vias metabólicas (COSTA; ROSA, 2016).

No Brasil, para definição de alimentos funcionais são estabelecidas diretrizes e condições de registros para justamente alimentos de propriedade funcional e de 7 saúde. Eles passam por várias avaliações feitas pela ANVISA com parceria com outras instituições e a partir daí são definidas as características e ações de cada alimento (COSTA; ROSA, 2016).

2.2. **Maracujá do mato** (*Passiflora cincinnata Mast*)

A espécie *Passiflora cincinnata Mast* é caracterizada como uma planta silvestre popularmente conhecida como Maracujá do Mato, Maracujá Mochila, Maracujá Tubarão ou Maracujá da Caatinga (BERNACCI; VITTA; BAKKER, 2003). De acordo com Araújo (2002), o *Passiflora cincinnata Mast* (maracujá do mato) é uma espécie perene, e por ser uma trepadeira de gavinhas axilares, necessita de suporte, ramando sobre arbusto. O risco de extinção ou diminuição populacional desta espécie ocorre indiretamente devido a associação com outras plantas ameaçadas como o umbuzeiro *(Spondias tuberosa Arr.)* e a umburana de cheiro *(Amburana cearensis).* Sua produção é extrativa e a cornercialização é feita nas feiras livres nas onde ocorre de forma espontânea.

Os frutos maduros apresentam coloração verde. A polpa é muito ácida, apresentando coloração amarelo-clara a esbranquiçada (ARAÚJO et al., 2016).

Figura 1- Maracujá do mato (*Passiflora cincinnata Mast.)*

Fonte: Os autores.

O Maracujá do mato pode ser utilizado para produção de sucos, sorvetes, doces, entre outras aplicações. Amorim et al. (2013) traz que existe uma aplicação do maracujá do mato para produção de licores caseiros e que é uma alternativa muito interessante para renda familiar, pois além de ser um diferencial, é utilizado uma

tecnologia simples e pouco gasto. Além dessas aplicações, na região do Araripe, o maracujá do mato é utilizado na produção de iogurtes (SOUZA et al., 2013), demonstrando assim uma possibilidade de diversas maneiras de comercialização e um grande potencial de mercado.

No Brasil, apresenta ocorrência espontânea na região do semiárido nordestino (ARAÚJO et al., 2008), havendo registro de sua distribuição em vários estados (LIMA; CUNHA, 2004).

No Nordeste, o maracujá do mato é comercializado na entressafra do maracujá-amarelo. Como a fruta é nativa da região e adaptada as condições locais de cultivo, pequenos agricultores usam dessa excelente opção de renda para um faturamento extra (OLIVEIRA JUNIOR et al., 2010).

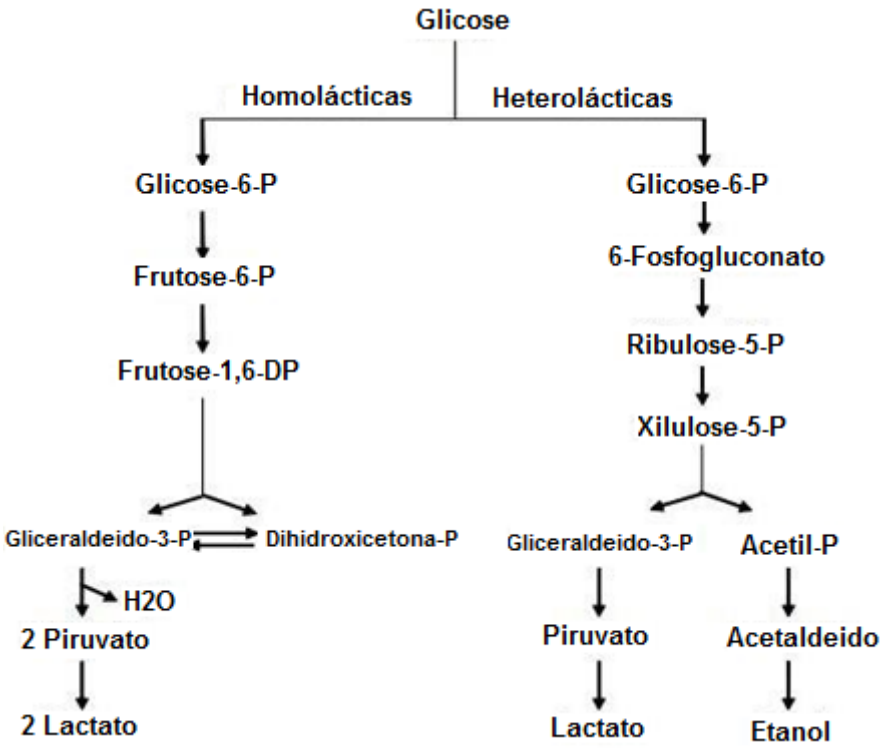
2.3. Fermentação

A fermentação é um processo feito desde os primórdios, mesmo antes do discernimento de como ele ocorria, sendo feito por um processo anaeróbio e utilizado vastamente na elaboração de alimentos e medicamentos. Essa fermentação é executada por algumas espécies de bactérias, fungos e protistas (ALM et al., 1991).

As bactérias lácteas são células vivas, procariontes e heterotróficas (DELLAGLIO et al., 1994). É a ação enzimática de bactérias lácteas com açúcar transformando-os em ácido láctico. As bactérias lácteas são essenciais para alimentos fermentados, elas contribuem para a preservação do alimento, estabelecendo propriedades singulares no fermentado, além de aumentar seu valor nutritivo (CAPLICE; FITZGERALD, 199.) São Gram positivas do gênero *Lactococcus, Enterococcus, Streptococcus, Pediococcus, Aerococcus, Tetragenococcus, Leuconostoc, Lactobacillus e Carnobacterium* (CODON, 1987; DELLAGLIO et al., 1994; MEILE et al., 1997).

A bactéria láctica fermenta o açúcar dominantemente em ácido lático. As homolacticas, incluindo *Lactococcus, Pediococcus, Enterococcus, Streptococcus* e alguns *Lactobacillus,* usam a glicotina para converterum molde glicose em dois mols de lactato, que produzem CO2 e etanol como é mostrado na Figura 2 (CAPLICE; FITZGERALD, 1999; ROSS, MORGAN; HILL, 2002).

Figura 2 - Esquema geral da fermentação da glicose pelas bactérias láticas.



Fonte: Adaptado de Caplice e Fitzgerald (1999).

2.4. Gênero *Lactobacillus*

Hoje em dia existe um grande número de espécies probióticas das quais tem serventia exclusivamente ao sistema gastrointestinal, no meio de tantas espécies disponíveis, as manipuladas ininterruptamente são referentes aos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* (SANDERS; VELD, 1999; BLANDINO et al., 2003; VINDEROLA; REINHEIMER, 2003; SAAD, 2006).

As cepas de *Lactobacillus* formam a maior parte da microbiota bacteriana. O gênero *Lactobacillus* se denomina como bacilos ou cocobacilos e detém diversas aplicações. Eles se formam em longas cadeias, são aeróbias, possuem pH entre 5,5 e 6,2 e crescem a temperatura de 2 a 53ºC, são vistas em animais, humanos, plantas

e materiais de origem animal, convertem o açúcar em acido lático e em outros compostos (DELLAGLIO et al., 1994).

Os lactobacilos homofermentativos obrigatórios (*Lactobacillus delbruecki*) e os lactobacilos heterofermentativos facultativos (*Lactobacillus casei - Pediococcus*) são fermentados unicamente em acido lático pela glicolítica pentoses (DELLAGLIO et al., 1994). Os lactobacilos heterofermentativos obrigatórios hexoses (*Leuconostoc*) são fermentados pelas pentoses (HAMMES; VOGEL, 1995).

2.5. Lactobacillus casei

As peculiaridades eletrostáticas e hidrofílicas da superfície celular de oito cepas de *Lactobacillus* foi descrita pela técnica de método de adesão microbiana a solventes e microeletroforese. Foram observadas para as três espécies do grupo casei e Mori et al. (1997) relataram assinaturas de sequência do rRNA 16S que permitiram a diferenciação dessas espécies (YOUNG et al., 1991).

O grupo taxonômico *Lactobacillus casei* é composto por *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus zeae* e *Lactobacillus rhamnosus*, possuem propriedades fisiológicas similares (FELIS et al., 2001). Suas espécies apresentam problemas, a cepa ATCC 393T foi determinada como cepa-referência de *Lactobacillus casei subsp. casei* por Hansen e Lessel em 1971 (DELLAGLIO et al., 1994).

Outros literatos mencionaram os estudos de DNA concluído por Collins et al. 1989 resultaram na reclassificação como *Lactobacillus paracasei* (pela relação entre o DNA, mas não referente a cepa ATCC 393T) de cepas-referencias de *Lactobacillus casei subsp. casei, Lactobacillus casei subsp. alactosus e Lactobacillus casei subsp. Pseudoplantarum* (FELIS et al., 2001; STILES; HOLZAPFEL, 1997; DELLAGLIO et al., 2001).

2.6. Bebida probiótica

A procura por alimentos saudáveis e nutritivos só aumenta, o microbiologista russo Eli Metchnikoff sugeriu que a vida poderia ser prolongada ao se consumir leites fermentados pela população dos Bálcãs, e assim começou a procura e produção por alimentos probióticos (GONZÁLEZ, 1997).

Adams e Moss (1997) traz que ele propôs que as bactérias ácido-láticas obstruíam as bactérias intestinais da mesma forma que impossibilita a decomposição dos alimentos.

Segundo Gomes e Malcata (1999) com o aumento nutritivo dos alimentos, os probióticos vêm ganhando influência positiva e ajudando no equilíbrio microbiano intestinal. Além das vantagens em relação aos nutrientes dos alimentos, os suplementos microbianos também contribuem para a melhora do sabor dos mesmos. Os probióticos são organismos vivos que trazem benefícios a saúde se consumido em quantidades adequadas, a ingestão diária dessa bebida traz vantagem a curto e longo prazo, com ação direta na microbiota intestinal e fortalecendo o sistema imunológico, além de melhorar a disposição e no controle de diabetes. Já o vinagre de maçã é uma bebida probiótica bastante conhecida por cuidar dos cabelos e está diretamente ligada a perda de peso. Os carboidratos têm dificuldades de absorção, pois a maçã possui ácidos polifenólicos em sua composição, consequentemente ajuda no controle da diabetes com o controle dos picos de glicemia (AQUARONE et al., 2001).

De acordo com vários estudos, os probióticos possuem diversos benefícios, porém cientificamente preservam a integridade intestinal e atenuam efeitos de algumas doenças intestinais, como a diarreia infantil, redução da gravidade da hepatopatia alcoólica experimental e até mesmo câncer gástrico. Além disso há algumas evidências que que os mesmos estimulam a resposta imunológica, a melhoria da saúde urogenital de mulheres e reduzam riscos de cânceres (RAIZEL et al., 2011).

2.7. Consumo de probióticos no Brasil

O consumo e a utilização de probióticos vêm aumentando consideravelmente nos últimos anos no mundo e, no Brasil, não é diferente. Segundo Júlio (2003), gigantes do mercado industrial do Brasil como a Danone chegou a faturar mais de 1 bilhão aqui no Brasil apenas com venda de produtos lácteos probióticos. A figura 3 mostra alguns probióticos comercializados no Brasil.

Figura 3: Produtos probióticos comercializados no Brasil

Produto	Fabricante	Probióticos	Funções atribuídas
Leite fermentado Yakult	Yakult	*L. casei* Shirota	Normalizar o equilíbrio da microbiota intestinal humana
Leite fermentado Chamyto	Nestlé	*L. johnsonii* *L. helveticus*	-
Leite fermentado Parmalat	Parmalat	*L. casei* *L. acidophilus* *B. lactis*	-
Leite fermentado Vigor Club	Vigor	*L. casei* *L. acidophilus*	-
Leite fermentado Batavito	Batavo	*L. casei*	-
Leite fermentado LC1 Active	Nestlé	*S. thermophilus* *L. bulgaricus* *L. acidophilus* NCC 208	Prevenir a instalação de bactérias nocivas na parede do intestino; estimular as células do sistema imunológico, aumentado os anticorpos
Iogurte Biofibras	Batavo	*B. lactis* *L. acidophilus*	-
Iogurte Dietalat	Parmalat	*B. lactis* *L. acidophilus*	-
Iogurte Activia	Danone	*B. animallis* DN-173 010	Regular o funcionamento do intestino
Suplemento alimentar Biotura	Chr. Hansen	*L. acidophilus* *B. lactis*	Manter a flora intestinal em equilíbrio
Suspensão oral Leiba	União Química-Farmacêutica Nacional	*L. acidophilus*	Normalizar o equilíbrio da microbiota intestinal
Suspensão oral Biovicerin	Geyer	*Bacillus cereus*	Coadjuvante no tratamento da diarréia
Comprimidos Floratil	Merck	*Saccharomyces boulardii*	Agente antidiarréico profilático e restaurador da flora intestinal fisiológica

Fonte: Oliveira et al., (2002).

Um exemplo claro sobre o consumo de alguns probióticos é sobre as bebidas lácteas probióticas. As mesmas por terem relação com iogurtes, por conta de algumas características próximas, no Brasil tem apresentado uma aceitabilidade cada vez maior e como resultado disso tem crescido o número de procura por esses produtos e também de consumo desses alimentos (ACHANTA; ARYANA; BOENEKE, 2007).

3. METODOLOGIA

3.1. **Maracujá do mato** (MACHADO; RIZZATO, 2019).

Os frutos do Maracujá da mato (*Passiflora cincinatra Mast*.) utilizados no presente trabalho foi adquirido no comércio local de Feira de Santana – BA. Os frutos foram lavados e higienizados com água corrente e sabão líquido e, em seguida, foi realizada a obtenção da polpa.

A polpa do Maracujá do mato foi obtida utilizando-se uma faca de aço inoxidável, para cortar ao meio, e peneira, para remoção das sementes. Após obtenção da polpa, o suco foi feito em duas condições: diluído e pasteurizado 35 minutos em banho-maria à 60 ºC com resfriamento em gelo posteriormente.

3.2. Micro-organismo

O micro-organismo utilizado foi a cultura comercial liofilizada de *L. casei,* adquiridas através de farmácia de manipulação.

3.3. **Preparo do suco do maracujá do mato** (MACHADO; RIZZATO, 2019).

Foi utilizada polpa de maracujá sem adição de conservantes e de açúcar, diluído 1:3 em água mineral, nas seguintes condições:

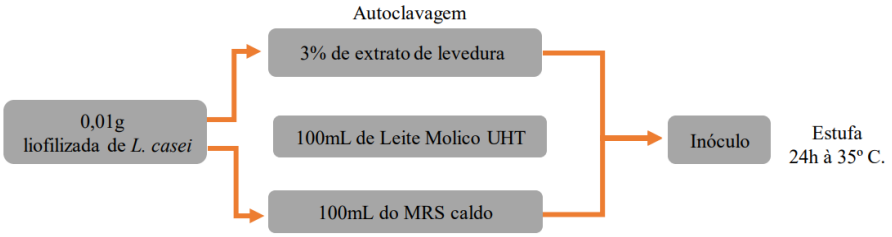
- S_1 – Suco diluído
- S_2 – Suco pasteurizado (em banho-maria durante 35 minutos a 60 ± 2 °C, com posterior resfriamento em banho com gelo).

  Foi utilizado o NaOH 5M para ajustar o pH de ambos os sucos para 6,0.

3.4. **Preparo do inóculo** (MACHADO; RIZZATO, 2019).

O preparo do inóculo foi feito a partir da utilização de 0,01g da cultura comercial liofilizada de *L. casei,* inoculada em 100 mL de MRS caldo, que é um meio não seletivo para o crescimento do micro-organismo, em um erlenmeyer, onde inicialmente 20mL do mesmo foi adicionado junto a 3% de extrato de levedura, no qual passaram pelo processo de autoclavagem. Após esse processo, foram adicionados 100mL do leite Molico UHT (leite processado em temperatura ultra-alta), inoculado e mantido em estufa por 24h à 35º C.

Figura 4: Preparo do inóculo.



Fonte: Os autores.

3.5. **Fermentação da bebida do maracujá do mato** (MACHADO;RIZZATO, 2019).

Foi inoculada uma alíquota de 0,1mL do MRS caldo com o *L. casei* nos 4 Erlenmeyer contendo os sucos diluídos e pasteurizados. A fermentação foi feita por 20 horas a 30ºC em estufa.

3.6. **Análise do pH** (MACHADO; RIZZATO, 2019).

A análise do pH foi feita através do pHmetro microprocessado de bancada - Q400MT da marca Quimis calibrado em cada situação com as soluções tampão de pH 4,0, 6,32 e 9,01. Um suco controle foi ultilizado para comparação de resultados sendo os testes feitos antes e após a fermentação.

3.7. **Análise de ºBrix** (MACHADO; RIZZATO, 2019).

A análise do ºBrix foi feita com a utilização de refratômetro antecipadamente calibrado de modelo 2WAJ da marca Biobrix.

3.8. **Análise de acidez** (MACHADO; RIZZATO, 2019).

A acidez foi analisada através de titulação com solução de hidróxido de sódio 0,1mol L-1 e solução alcoólica de fenolftaleína a 1% de acordo com as normas do MAPA (2019).

3.9. **Análise de Vitamina C** (MACHADO; RIZZATO, 2019).

A análise de vitamina C foi feita a partir de filtração e titulação utilizando ácido sulfúrico 20%, amido 2%, iodeto de potássio 10% e iodato de potássio 0,2 mol/L de acordo com as normas da Farmacopeia Brasileira (1977).

3.10. **Análise sensorial** (INSTITUTO ADOLF LUTZ, 2008)

A análise sensorial seguiu as normas de Adolf Lutz (2008). A mesma foi realizada com 30 provadores distintos de idade e gênero, nenhum possuindo intolerância à lactose. Todas as duas amostras do suco, diluída e pasteurizada apresentaram aroma forte e característico da fruta. Devido a nenhuma das duas amostras apresentarem diferença de sabor entre o pasteurizado e o diluído, não tiveram distinções nas amostras. A análise procedeu em três amostras distintas sendo elas: não adoçada, adoçada com stévia e adoçada com sacarose. Cada provador reagiu a cada amostra com “Gostei muito”, “Gostei”, “Indiferente”, “Desgostei” e “Desgostei muito”.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1. Análises físico-químicas

Os valores obtidos de pH estão expressos na tabela 1. Após os sucos serem ajustados para pH (6,0 ± 0,1), foi possível observar uma queda em ambos os sucos. O pasteurizado iniciando o processo fermentativo com pH 6,08 e finalizando com pH 4,78 e o suco diluído iniciando com pH 6,02 e finalizando as 20 horas com pH 4,81. Isso pode ser explicado pela produção de ácidos pelo *L. casei*, tendo como consequência essa diminuição de pH. Já o suco controle, por possuir pH mais baixo no início do processo, apresentou uma leve queda em seu pH indo de 3,38 para 2,93. Com o pH apresentado o suco é determinado de caráter ácido, como a maioria dos sucos, o que dificultou o crescimento de bactérias ácido láticas por crescerem em ambientes próximos à neutralidade com pH variando entre 5,5 e 7,5 (MACHADO; RIZZATO, 2019).

Tabela 1 - Resultados de pH obtidos.

Suco	pH inicial	pH ajustado	pH final
Suco diluído	3,38	6,02	4,81
Suco pasteurizado	2,61	6,08	4,78
Suco controle	3,38	-	2,93

Fonte: Os autores.

Os resultados obtidos através da realização da análise de acidez podem ser observados na tabela 2. De acordo Macedo (2001), a acidez total titulável e a medida do pH em determinados alimentos são parâmetros que fornece uma indicação do seu grau de degradação, devido a sua acidez ou basicidade desenvolvida. Foi observado a produção de gás no produto, o que leva a entender que houve um aumento da acidez ao longo das 20 horas que o produto foi fermentado. Houve uma leve diferença entre a acidez lática do suco pasteurizado e do diluído, respectivamente 4,1g/L e 4,4g/L. Evidenciando que esse aumento ocorre proporcionalmente com a diminuição do pH como está indicado nas figuras 5 e 6.

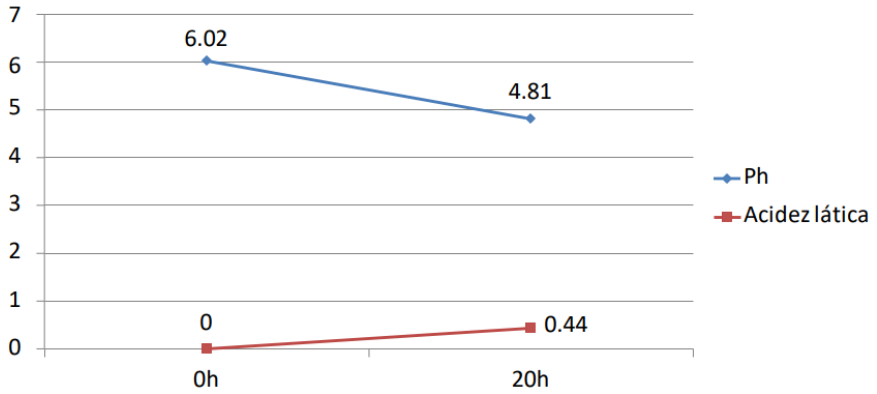
Tabela 2 - Resultados das análises de acidez para as diferentes formulações do suco.

Suco	Tempo de fermentação (h)	Acidez lática

Suco diluído	20h	0,44g/100 mL
Suco pasteurizado	20h	0,41g/100 mL

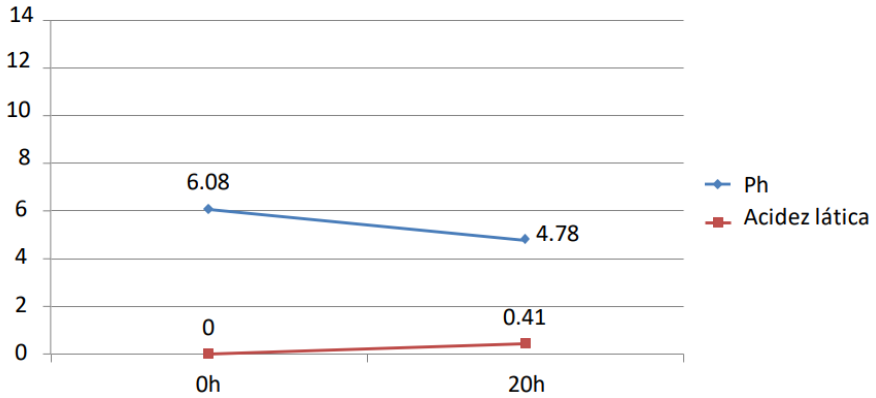
Fonte: Os autores.

Figura 5 - pH e acidez lática do suco diluído



Fonte: Os autores.

Figura 6 - pH e acidez lática do suco pasteurizado



Fonte: Os autores.

Os sucos foram analisados obtendo-se resultados de sólidos solúveis em escala ºBrix, conforme mostrado na Tabela 3. Segundo Santos (2002), alguns fatores podem alterar o ºBrix bem como: veemência de chuva, solo e outros fatores climáticos distribuídos no plantio de cada produtor e de cada espécie.

Tabela 3 - Teor de sólidos solúveis após 20 horas de fermentação

Suco	Tempo de fermentação (h)	Brix °	Vitamina C
Suco diluído	20h	3,2	38,74%
Suco pasteurizado	20h	3,6	40,05%

Fonte: Os autores.

.

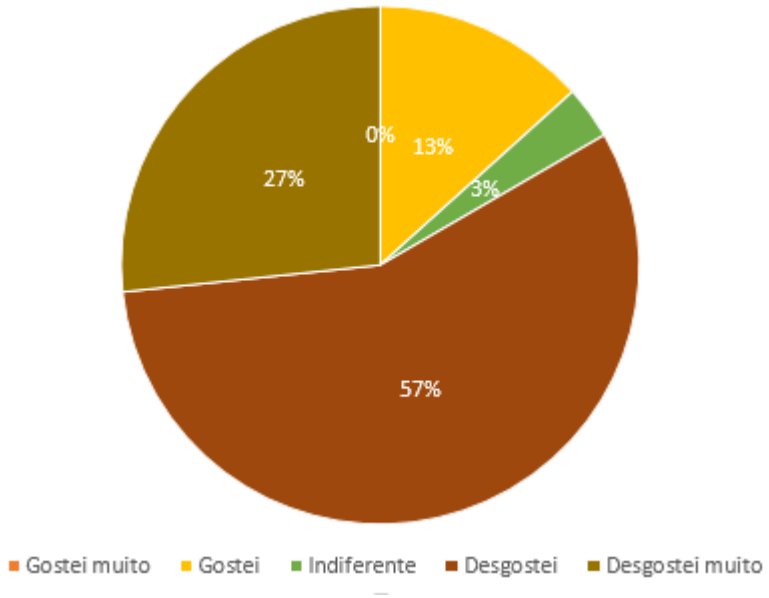
O valor de sólidos solúveis apresentado pelo suco pasteurizado foi levemente superior ao do suco diluído. Apesar da pasteurização, ser uma técnica de redução de carga microbiana e eliminação de micro-organismos patogênicos em líquidos sensíveis ao calor (MADIGAN et al., 2010), e implicar na mudança de outras análises, como a de pH, no caso do ºBrix a diferença nos valores com relação ao suco diluído não é significativa, e essa pequena diferença deve estar relacionada a evaporação da amostra no decorrer do procedimento e da utilização da mesma polpa tanto no suco diluído quanto no suco pasteurizado.

Observando as análises de ácido ascórbico (vitamina C), a diferença entre os valores obtidos das formulações do suco diluído e pasteurizado também foi mínima. Quando feitos os cálculos, no suco pasteurizado encontrando-se 40,05% de vitamina C, já no caso do suco diluído encontrou-se o valor de 38,74 % como está mostrado na tabela 3, sendo assim se encaixando dentro dos padrões para o consumo, estando assim na faixa de consumo apropriada acordada pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA).

4.2. Análise sensorial

As análises sensoriais, para as diferentes amostras dos sucos, procederam da seguinte forma: o suco não adoçado teve um nível de rejeição muito superior aos demais, levando em consideração que o suco foi elaborado a partir de uma polpa de maracujá do mato sem adição de açúcares e que durante o processo de fermentação, os açúcares naturalmente existentes no suco foram consumidos. Logo, o sabor não adocicado do produto foi o que pode ter contribuído com o percentual de 82,6% de rejeição, obtendo apenas 13,3% de aceitação como mostra na Figura 7.

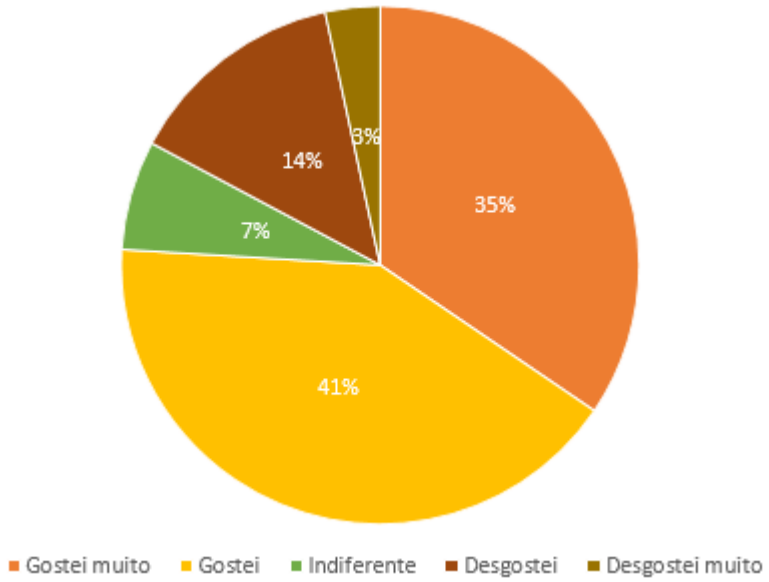
Figura 7 - Gráfico de aceitação do suco não adoçada.



Fonte: Os autores.

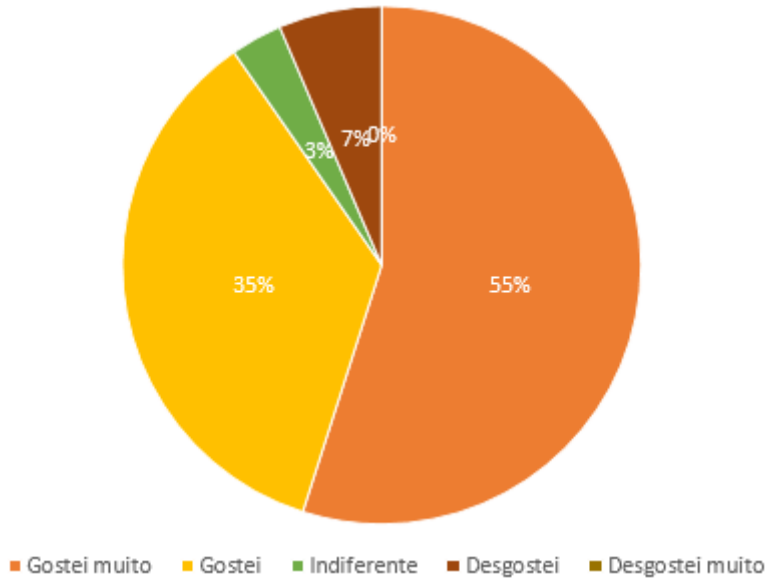
Segundo Faria et al. (2006), a adição de açúcares ao leite fermentado não interfere na viabilidade do *L. casei.* Com isso, nas demais amostras onde ocorreu a adição de açúcares, foi com a finalidade de agregar características sensoriais aos sucos, que obtiveram o valor de aceitação maior que de rejeição. O suco adoçado com sacarose obteve 89,9% de aceitação e 6,6% de rejeição. O adoçado com stévia obteve 73,3% de aceitação e 16,6% de rejeição como mostra respectivamente nas figuras 8 e 9.

Figura 8 - Gráfico de aceitação do suco adoçado com stévia.



Fonte: Os autores.

Figura 9 - Gráfico de aceitação do suco adoçado com sacarose.



Fonte: Os autores.

5. CONCLUSÃO

O maracujá do mato é um fruto oriundo do semiárido nordestino. Apesar do mesmo ter força, principalmente na produção do seu suco na região, ainda é pouco utilizado em outras atividades e muito menos no ramo de probióticos.

Para os processos e análises realizadas, obtiveram-se resultados satisfatórios baseando-se em outros trabalhos já produzidos, principalmente em Machado e Rizzato (2019), o qual também apresentava uma produção de bebida probiótica, porém utilizando o maracujá amarelo.

Depois das 20 horas de fermentação, o suco apresentou características físicas (apresentando gás), e com isso concluiu-se que a fase fermentativa da bebida foi efetiva, demonstrando que o fruto pode ser utilizado na produção de bebidas probióticas fermentadas. Diante desses resultados da fermentação, ela também apresentou um desempenho aceitável do micro-organismo utilizado na produção, o *Lactobacillus casei.*

A análise da acidez e vitamina C obtiveram resultados satisfatórios de acordo com as metodologias utilizadas para a realização do trabalho. Durante a titulação para a acidez foi alcançada a cor desejada por 33 segundos para o suco pasteurizado e 29 segundos para o suco diluído, obtendo assim depois do cálculo resultados coerentes. O resultado comparativo da acidez com relação ao pH foi satisfatório apresentando proporcionalidade inversa no que se refere ao aumento da acidez lática. E, na titulação da vitamina C, foi atingida a coloração de azul bebê para ambas as amostras com valores esperados de ácido ascórbico. Com todos os resultados obtidos, foi demonstrado que o objetivo proposto foi alcançado, porém, será necessário a realização de mais estudos para validar o fermentado como bebida probiótica e avaliar

seus benefícios a curto e longo prazo para a manutenção da microbiota e funcionamento intestinal, juntamente com a melhora da qualidade sensorial do suco fermentado para uma melhor aceitação do consumidor.

REFERÊNCIAS

ACHANTA, Kamalesh; ARYANA, Kayanush J.; BOENEKE, Charles A. Fat free plain set yogurts fortified with various minerals. **LWT-Food science and technology**, v. 40, n. 3, p. 424-429, 2007.

ADAMS, M.R.; MOSS, M.O. **Microbiologia de los Alimentos.** Zaragoza:Acribia, 1997. 464p.

ALM, L. et al. The therapeutic effects of various cultures-an overview. **Therapeutic properties of fermented milks**., p. 45-64, 1991.

AMORIM, Frederico Lopes et al. Elaboração e aceitação sensorial de licor maracujá-do-mato com diferentes tipos de calda. **Revista de Desenvolvimento e Inovação**, v. 1, n. 1, 2013.

APEL, Miriam A. et al. Anti-inflammatory activity of essential oil from leaves of Myrciaria tenella and Calycorectes sellowianus. **Pharmaceutical biology**, v. 48, n. 4, p. 433-438, 2010.

AQUARONE, E.; LIMA, U.A.; BORZANI, W.; SCHMIDELL, W. **Biotecnologia na produção de alimentos.** Vol. 4. Editora Blücher, São Paulo, 523 p., 2001.

ARAUJO, Francisco Pinheiro de et al. Caracterização de frutos de maracujá do mato (Passiflora cincinnata Mast.) cultivado em condições de sequeiro. In: CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA, 53., 2002, Recife. **Anais [...] .** Recife: Sbb, 2002. p. 10-10.

ARAÚJO, Francisco Pinheiro de et al. Divergência genética entre acessos de Passiflora cincinnata mast com base em descritores morfoagronômicos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 30, n. 3, p. 723-730, maio 2008.

BADARÓ, ANDRÉA CÁTIA LEAL et al. Alimentos probióticos: aplicações como promotores da saúde humana–parte 1. **Nutrir Gerais**, v. 2, n. 3, p. 1-29, 2008.

BERNACCI, L.C.; VITTA, F.A.; BAKKER, Y.V. Passiflora L.; In: WANDERLEY, M. G. L.; SHEPHERD G.J.; GIULIETTI, A.M.; MELHEM, T.S. **Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo.** RiMa/FAPESP. v.3, p.248 - 274, 2003.

BLANDINO, A. et al. Cereal-based fermented foods and beverages. **Food research international**, v. 36, n. 6, p. 527-543, 2003.

CAMARGO, L. **A última evolução**. Veja, São Paulo: Ed. Abril, ano 39, n. 50, p.112-114, 20 dez. 2006.

CAPLICE, E.; FITZGERALD, G. F. Food fermentations: role of microorganisms in food production and preservation. **International Journal of Food Microbiology**, v. 50, p. 131-149, 1999.

CONDON, S. Responses of lactic acid bacteria to oxygen. **FEMS Microbial Review**s, v. 46, p. 269-280, 1987.

COSTA, Neuza Maria Brunoro; ROSA, Carla de Oliveira Barbosa (ed.). **Alimentos Funcionais**: componentes bioativos e efeitos fisiológicos. Rio de Janeiro: Rubio Ltda., 2016.

CRUZ, E. S. **Caracterização de Genótipos de Jabuticabeira com Base em Descritores Morfoagronômicos e Moleculares.** 2014, 76f. Dissertação (Mestrado em Recursos Genótipos Vegetais) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), Cruz das Almas – BA, 2014. Acesso em: 03 de maio de 2021.

DE ARAUJO, F. P.; DE MELO, N. F.; FALEIRO, F. G. Cultivar de maracujazeiro silvestre (Passiflora cincinnata Mast.) para a Caatinga e para o Cerrado BRS SF. **Embrapa Semiárido-Fôlder/Folheto/Cartilha (INFOTECA-E)**, 2016.

DE ARAUJO, F. P.; KIILL, L. H. P.; DE SIQUEIRA, K. M. M. Maracujá do mato: alternativa agroindustrial para o semi-árido. **Embrapa Semiárido-Fôlder/Folheto/Cartilha (INFOTECA-E)**, 2006.

DELLAGLIO, Franco; FELIS, Giovanna E.; TORRIANI, Sandra. The status of the species Lactobacillus casei (Orla-Jensen 1916) Hansen and Lessel 1971 and Lactobacillus paracasei Collins et al. 1989. Request for an opinion. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 52, n. 1, p. 285-287, 2002.
FARIA, Cláudia Puerari et al. Parâmetros de produção de leite de búfala fermentado por Lactobacillus casei. **Pesqui. Agropecu. Bras.**, [S.L], v. 41, n. 3, p. 511-516, maio 2006.

FELIS, Giovanna E. et al. Comparative sequence analysis of a recA gene fragment brings new evidence for a change in the taxonomy of the Lactobacillus casei group. **International journal of systematic and evolutionary microbiology**, v. 51, n. 6, p. 2113-2117, 2001.

GOMES, Ana MP; MALCATA, F. Xavier. Agentes probióticos em alimentos: aspectos fisiológicos e terapêuticos, e aplicações tecnológicas. **Bol. Biotecnol**. Al, v. 64, p. 12-22, 1999.

GONZÁLEZ, S. Alimentos lácticos probióticos. In: LERAYER, A.L.S., SALVA, T.J.G., coords. **Leites fermentados e bebidas lácteas**. Campinas: ITAL, 1997.p. 10.1-10.6.
HAMMES, Walter P.; VOGEL, Rudi F. The genus lactobacillus. In: **The genera of lactic acid bacteria**. Springer, Boston, MA, 1995. p. 19-54. Disponível em: https://doi.org/10.1007/978-1-4615-5817-0_3. Acesso em: 06 abril 2021.

HAVENAAR, Robert et al. Probiotics: a general view. In: **The Lactic Acid Bacteria** Volume 1. Springer, Boston, MA, 1992. p. 151-170.

JÚLIO, C. A. **Os quatro Ps da Danone**. HSN Management, ano 7, n. 39, 2003.

KRISTO, E.; BILIADERIS, C. G.; TZANETAKIS, N. Modelling of rheological, microbiological and acidification properties of a fermented milk product containing a probiotic strain of Lactobacillus paracasei. **International Dairy Journal**, v. 13, n. 7, p. 517-528, 2003.

LIMA, A.A.; CUNHA, M.A.P. **Maracujá:** produção e qualidade na passicultura. EMBRAPA MANDIOCA E FRUTICULTURA, Cruz das Almas, p. 396, 2004.

LUTZ, Instituto Adolfo. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. 1020 p.

MACEDO, Jorge Antonio Barros de. **Metodos Laboratoriais De Analises Fisico-quimicas E Microbiologicas**. Juiz de Fora: Jorge Macedo, 2001. 1055 p.

MADIGAN, Michael T. et al. **Microbiologia de Brock**. 12. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010. 1128 p.

MARHAMATIZADEH, M.H..; REZAZADEH, S.; KAZEMEINI, F.; KAZEMI, M.R. The

MEILE, Leo et al. Bifidobacterium lactis sp. nov., a moderately oxygen tolerant species isolated from fermented milk. **Systematic and Applied Microbiology**, v. 20, n. 1, p. 57-64, 1997.

MORI, Katsumi et al. Comparative sequence analyses of the genes coding for 16S rRNA of Lactobacillus casei-related taxa. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 47, n. 1, p. 54-57, 1997.

MUNIZ, A. V. C. S. **Cambuí**: uma delícia nativa. Aracajú: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2 p., 2009.

MUNIZ, AVC da S. et al. Caracterização físico-química de frutos de três variedades de cambuí (Myciaria tenella O. Berg). In: Embrapa Tabuleiros Costeiros-Artigo em anais de congresso (ALICE). In: **ENCONTRO DA REDE DE RECRUROS GENÉTICOS VEGETAIS DO ESTADO DA BAHIA**, 3.; SIMPÓSIO DE RECURSOS GENÉTICOS DE PLANTAS CULTIVADAS NO NORDESTE, 2., 2009, Salvador. Resumos... Salvador: RGV; UESB, 2009. Disponível em: https://oasisbr.ibict.br/vufind/Record/EMBR_a5cc036e1609e9c74c36dc143db12e6a. Acesso em: 03 de maio de 2021.

OLIVEIRA JÚNIOR, Manoel Xavier de et al. Superação de dormência de maracujá-do-mato (Passiflora cincinnata Mast.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 32, p. 584-590, 2010.

OLIVEIRA, Maricê Nogueira de et al. Aspectos tecnológicos de alimentos funcionais contendo probióticos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 38, p. 1-21, 2002.

RAIZEL, Raquel et al. Efeitos do consumo de probióticos, prebióticos e simbióticos para o organismo humano. **Ciência & Saúde**, v. 4, n. 2, p. 66-74, 2011.

REZENDE, Lucas; ALMEIDA, C. S.; DA SILVA, Ana VC. Diversidade genética de uma população natural de cambuizeiro e avaliação pós-colheita de seus frutos. **Scientia Plena**, v. 7, n. 6, 2011.

ROUTRAY, Winny; MISHRA, Hari N.. Scientific and Technical Aspects of Yogurt

Aroma and Taste: a review. **Comprehensive Reviews In Food Science And Food Safety**, [S.L], v. 10, n. 4, p. 208-220, jul. 2011. Disponível em: https://ift.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1541-4337.2011.00151.x. Acesso em: 03 maio 2021.

RYBKA, ACP et al. Elaboração de geleia de maracujá-da-caatinga (Passiflora cincinnata Mast.) BRS Sertão Forte. In: **Embrapa Semiárido-Artigo em anais de congresso** (ALICE). In: CONGRESSO INTERNACIONAL DE GASTRONOMIA E CIÊNCIA DE ALIMENTOS, 2., 2016, Fortaleza. Gastronomia: da tradição à inovação-anais. Fortaleza: UFC, 2016., 2016.

SAAD, Susana Marta Isay. Probióticos e prebióticos: o estado da arte. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 42, p. 1-16, 2006.

SANDERS, Mary Ellen et al. Bringing a probiotic-containing functional food to the market: microbiological, product, regulatory and labeling issues. **Lactic Acid Bacteria: Genetics, Metabolism and Applications**, p. 293-315, 1999.

SOUSA, A. A. et al. Elaboração, aceitabilidade e intenção de compra de iogurte saborizado com polpa de maracujá do mato. In: **Embrapa Semiárido-Artigo em anais de congresso (ALICE)**. In: CONGRESSO NORTE E NORDESTE DE PESQUISA E INOVAÇÃO TECNOLÓGICA, 8., 2013, Salvador. Pesquisa e inovação para o desenvolvimento do Brasil. Salvador: Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Baiano: SETEC, 2013., 2013.

STANTON, Catherine et al. Fermented functional foods based on probiotics and their biogenic metabolites. **Current opinion in biotechnology**, v. 16, n. 2, p. 198-203, 2005.

STILES, Michael E.; HOLZAPFEL, Wilhelm H. Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. **International journal of food microbiology**, v. 36, n. 1, p. 1-29, 1997.

Study of Probiotic Juice Product Conditions Supplemented by Culture of Lactobacillus acidophilus and Bifidobacterium bifidum**. Middle-East Journal of Scientific Research**, vol.11.

VINDEROLA, Celso Gabriel; REINHEIMER, Jorge Alberto. Lactic acid starter and probiotic bacteria: a comparative “in vitro” study of probiotic characteristics and biological barrier resistance. **Food Research International**, v. 36, n. 9-10, p. 895-904, 2003.

VRIESMANN, Lúcia Cristina et al. POLISSACARÍDEOS DE FRUTOS DO CAMBUÍ (MYRCIARIA TENELLA, BERG). **Publicatio UEPG: Ciências Exatas e da Terra, Agrárias e Engenharias**, v. 10, n. 03, 2004.

YOUNG, J. P.; DOWNER, H. L.; EARDLY, B. D. Phylogeny of the phototrophic Rhizobium strain BTAi1 by polymerase chain reaction-based sequencing of a 16S rRNA gene segment. **Journal of Bacteriology**, v. 173, n. 7, p. 2271-2277, 1991.

ZAPPAROLI, G.; REGUANT, C.; BORDONS, A.; TORRIANI, S.; DELLAGLIO, F. Genomic DNA fingerprinting of Oenococcus oeni strains by pulsed-field gel electrophoresis and randomly amplified polymorphic DNA-PCR**. Current Microbiology**, v. 40, p. 315-355, 2000.

ZAPPAROLI, Giacomo et al. Genomic DNA fingerprinting of Oenococcus oeni strains by pulsed-field gel electrophoresis and randomly amplified polymorphic DNA-PCR. **Current Microbiology**, v. 40, n. 6, p. 351-355, 2000.