

Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”

Faculdade de Ciências Farmacêuticas

Desenvolvimento de gelado comestível à base de extrato aquoso de soja, kefir e jaboticaba

Giovana Maria Navarro de Mendonça

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-graduação em
Alimentos e Nutrição para obtenção
de título de Mestre em Alimentos e
Nutrição.

Área de Concentração: Ciência dos
Alimentos.

Orientadora: Prof. Dra. Daniela
Cardoso Umbelino Cavallini

Araraquara

2020

Desenvolvimento de gelado comestível à base de extrato aquoso de soja, kefir e jaboticaba

GIOVANA MARIA NAVARRO DE MENDONÇA

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-graduação em
Alimentos e Nutrição para obtenção
de título de Mestre em Alimentos e
Nutrição.

Área de Concentração: Ciência dos
Alimentos.

Orientadora: Prof. Dra. Daniela
Cardoso Umbelino Cavallini.

Araraquara

2020

M539d Mendonça, Giovana Maria Navarro de.
Desenvolvimento de gelado comestível à base de extrato aquoso de soja, kefir e jaboticaba / Giovana Maria Navarro de Mendonça. – Araraquara: [S.n.], 2020.
89 f. : il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista. “Júlio de Mesquita Filho”. Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós Graduação em Alimentos e Nutrição. Área de Concentração em Ciência dos Alimentos.

Orientadora: Daniela Cardoso Umbelino Cavallini.

1. Probióticos. 2. Sorvete. 3. Casca de jaboticaba. 4. Extrato aquoso vegetal. I. Cavallini, Daniela Cardoso Umbelino, orient. II. Título.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: Desenvolvimento de gelado comestível à base de extrato aquoso de soja, kefir e jaboticaba

AUTORA: GIOVANA MARIA NAVARRO DE MENDONÇA

ORIENTADORA: DANIELA CARDOSO UMBELINO CAVALLINI

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em ALIMENTOS E NUTRIÇÃO, área: Ciência dos Alimentos pela Comissão Examinadora:

Profa. Dra. DANIELA CARDOSO UMBELINO CAVALLINI
Departamento de Análises Clínicas / Faculdade de Ciências Farmacêuticas - UNESP- Araraquara

Professora Doutora CAROLINE MARIA CALLIARI
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Profa. Dra. RENATA TIEKO NASSU
Embrapa Pecuária Sudeste / EMBRAPA São Carlos, SP

Araraquara, 01 de julho de 2020

Dedicatória

Dedico esta dissertação a minha família, meu núcleo de amor, carinho,
brigas e incentivo constante.

Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001;

A Faculdade de Ciências Farmacêuticas – UNESP;

A minha orientadora Prof^a. Dra. Daniela Cardoso Umbelino Cavallini, pela paciência, pela oportunidade e ensinamentos ao longo desta jornada;

A sessão técnica de Pós-graduação;

Ao professor da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Dr. Alessandro de Oliveira Rios e ao pós-doutorando Dr. Carlos Henrique Pagno, por me receberem e por todo auxílio prestado;

As alunas Eliane Vale da Silva, Mariela Zucolo, Maria Jara Montibeller e Estela Mesquita Diegues de Oliveira por toda ajuda prestada.

Agradecimentos pessoais

Á Deus, pois sem ele nada disso seria possível;

Aos amigos de longa data, aos que fiz ao longo desta caminhada, obrigada pelos momentos de descontração, pelos abraços e pela paciência e todo carinho;

Ao pessoal do laboratório LPP que me acolheu com todo amor e carinho, aos técnicos pela paciência e pelas risadas, as meninas do laboratório pela partilha de momentos como aniversários, alegrias e tristezas;

Epígrafe

**“Tem uma força mais poderosa que o vapor, a eletricidade e a atômica:
À vontade”.**

Albert Einstein.

Resumo

Objetivo: Desenvolver um gelado comestível potencialmente funcional, a partir do extrato hidrossolúvel de soja (EHS), kefir e casca de jaboticaba desidratada. **Métodos:** Foram produzidos cinco gelados, com variação na concentração de kefir de soja (K) e extrato aquoso de soja (S): 1) GS–100% S; 2) GK1–75% S / 25% K; 3) GK2–50% S / 50% K; 4) GK3–25% S / 75% K e 5) GK–100% K. Os produtos foram avaliados durante o período de 90 dias de armazenamento (-22 ± 2 °C), por análises físico-químicas (composição centesimal, pH, acidez titulável, compostos fenólicos, atividade antioxidante e antocianinas), microbiológicas (segurança microbiológica e viabilidade de microrganismos dos gêneros *Lactobacillus* spp., *Streptococcus* spp., *Bifidobacterium* spp. e leveduras) e sensoriais (aceitação, intenção e compra e *Check All That Apply* – CATA). **Resultados:** A formulação GS (100% EHS) apresentou as maiores médias de pH e as menores de acidez e a adição de kefir resultou em aumento na acidez dos produtos. Os teores de proteína e lipídios foram semelhantes entre as formulações e o gelado GK e GS apresentaram o maior e menor valor calórico - 139,52 e 98,02 Kcal/ 100g, respectivamente, em função dos teores de carboidratos presentes nas amostras. As concentrações de compostos fenólicos totais nas formulações com adição de kefir foram, em média, dez vezes superiores a da formulação GS, sem relação com capacidade antioxidante dos produtos no final do período de armazenamento. Todos os produtos apresentaram concentrações de coliformes termotolerantes <3 NMP/g e ausência para *Salmonella* spp., sendo considerados seguros para o consumo humano. A viabilidade dos gêneros potencialmente probióticos - *Lactobacillus* spp., *Streptococcus* spp., *Bifidobacterium* spp. – manteve-se superior a 10 log UFC/g durante todo o período de armazenamento. As formulações GS e GK1 exibiram as menores médias de aceitação e de intenção de compra para todos os atributos avaliados e a GK foi a mais bem aceita pelos consumidores. No teste CATA as formulações apresentaram perfis sensoriais distintos e o gelado com 100% de kefir (GK) foi associado a atributos desejáveis - aroma de fruta, sabor refrescante, sabor de jaboticaba natural, cor atraente, sabor de iogurte. **Conclusão:** Os gelados comestíveis apresentaram características microbiológicas adequadas e propriedades sensoriais que atendem às expectativas do público alvo do produto, além de potencial funcional conferido pela presença de compostos fenólicos e cepas dos grânulos de kefir. A formulação GK (100% de kefir) exibiu o melhor perfil sensorial durante o período de armazenamento avaliado.

Palavras-chave: Probióticos; Sorvete, Casca de jaboticaba; Extrato aquoso vegetal.

Abstract

Objective: To develop a potentially functional ice cream, using aqueous soy extract, kefir and dehydrated jaboticaba peel. **Methods:** Five ice creams were produced, with variation in the concentration of soy kefir (K) and aqueous soy extract (S): 1) GS – 100% S; 2) GK1–75% S / 25% K; 3) GK2–50% S / 50% K; 4) GK3–25% S / 75% K and 5) GK – 100% K. The products were evaluated during the 90-day storage period ($-22 \pm 2^{\circ}\text{C}$), by physical-chemical (chemical composition, pH, titratable acidity, phenolic compounds, antioxidant activity and anthocyanins), microbiological (microbiological safety and viability of *Lactobacillus* spp., *Streptococcus* spp., *Bifidobacterium* spp. and yeasts) and sensory (acceptance, purchase intention and Check All That Apply - CATA) analysis. **Results:** The GS formulation showed the highest pH averages and the lowest acidity, and the addition of kefir resulted in an increase in the acidity of the products. The levels of protein and lipids were similar between the formulations and the ice cream GK and GS had the highest and lowest caloric value - 139.52 and 98.02 Kcal / 100g, respectively, depending on the content of carbohydrates levels. The concentrations of total phenolic compounds in formulations with the addition of kefir were, on average, ten times higher than that of the GS formulation, with no relation to the antioxidant capacity of the products at the end of the storage period. All products showed concentrations of thermotolerant coliforms <3 NMP / g and absence for *Salmonella* spp., being considered safe for human consumption. The viability of potentially probiotic genera - *Lactobacillus* spp., *Streptococcus* spp., *Bifidobacterium* spp. - remained above $10 \log$ UFC / g throughout the storage period. The GS and GK1 formulations exhibited the lowest acceptance and purchase intention averages for all evaluated attributes and GK was the most accepted by consumers. In the CATA test, the formulations presented different sensory profiles and ice cream with 100% kefir (GK) was associated with desirable attributes - fruit aroma, refreshing flavor, natural jaboticaba flavor, attractive color, yogurt flavor. **Conclusion:** The ice creams had adequate microbiological characteristics and sensory properties that meet the expectations of the product's target consumers, besides functional potential conferred by phenolic compounds and strains of kefir granules. The GK formulation (100% kefir) exhibited the best sensory profile during the storage period evaluated.

Key-words: Probiotics; Ice cream, Jaboticaba peel; Aqueous vegetable extract.

Listas de Tabelas e Quadros

Tabela 1. Formulações com variação na concentração de EHS e kefir de soja.	29
Tabela 2. Avaliação da qualidade microbiológica do gelado.....	40
Tabela 3. Viabilidade em leveduras, <i>Bifidobacterium</i> spp., <i>Lactobacillus</i> spp. e <i>Streptococcus</i> spp. das formulações ao longo do tempo de armazenamento à -22°C ± 2.	44
Tabela 4. Análises físico-químicas e valor calórico das cinco formulações de gelado.	48
Tabela 5. Compostos fenólicos totais e capacidade antioxidante dos gelados no tempo 0 e 90 dias de armazenamento à -22°C ± 2.....	52
Tabela 6. Quantificação das antocianinas cianidina 3 - glicosídeo e delphinidina 3 – glicosídeo nos gelados no tempo 0 e 90 dias de armazenamento.	55
Tabela 7. Parâmetros instrumentais de cor (L*, a*, b*, C* e H°) dos gelados nos tempos 0 e 90 dias de armazenamento.	58
Tabela 8. Aceitação dos gelados no tempo inicial e após noventa dias de armazenamento.	60
Tabela 9. Frequência dos atributos sensoriais e teste Q de Cochran associados a cada amostra dos gelados no tempo inicial (T0).....	64
Tabela 10. Frequência dos atributos sensoriais e teste Q de Cochran associados a cada amostra dos gelados do tempo final (T90).	66

Lista de Figuras

Figura 1. Jaboticaba in natura (A), cascas secas (B) e trituradas (C).	28
Figura 2. Fluxograma da produção dos gelados.	30
Figura 3. Frequência relativa de intenção de compra dos gelados processados no tempo inicial e final. GS (100% EHS), GK1 (75% EHS, 25% kefir), GK2 (50% EHS, 50% kefir), GK3 (25% EHS, 75% kefir) e GK (100% kefir).	61
Figura 4. Análise de correspondência dos descritores sensoriais na análise CATA para o tempo inicial (T0).	65
Figura 5. Análise de correspondência dos descritores sensoriais na análise CATA para o tempo final (T90).	67

Lista de Apêndices e Anexos

APÊNDICE 1. FICHA DE TESTE DE ACEITABILIDADE	85
APÊNDICE 2. FICHA DO TESTE CHECK ALL THAT APPLY (CATA).....	86
APÊNDICE 3. TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO .	87

SUMÁRIO

Resumo.....	7
Abstract.....	8
Listas de Tabelas e Quadros	9
Lista de Figuras.....	10
Lista de Apêndices e Anexos	11
1 INTRODUÇÃO	14
2 OBJETIVOS	17
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
3.1 KEFIR	18
3.2 SOJA.....	20
3.3 EXTRATO HIDROSSOLÚVEL DE SOJA	21
3.4 GELADOS COMESTÍVEIS OU SORVETE.....	22
3.5 JABOTICABA.....	24
4 MATERIAL E MÉTODOS	27
4.1 Material	27
4.1.1 Obtenção do EHS.....	27
4.1.2 Obtenção do Kefir de soja	27
4.1.3 Obtenção da farinha de casca de jaboticaba desidratada.....	27
4.1.4 Obtenção do gelado comestível de jaboticaba à base de EHS e kefir	28
4.2 Métodos	30
4.2.1 Análises microbiológicas	31
4.2.2 Análises físico-químicas	32
4.2.3 Análise sensorial	36
4.2.4 Análise estatística dos dados	38

5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	38
5.1	Análises microbiológicas	38
5.2	Análises físico-químicas	46
5.3	Compostos fenólicos totais e Capacidade antioxidante	49
5.4	Antocianinas por HPLC	53
5.5	Determinação de cor	56
5.6	Análises sensoriais	59
6	CONCLUSÕES	68
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	69

1 INTRODUÇÃO

A preocupação contínua e crescente dos consumidores em relação à alimentação, buscando associar a ingestão de alimentos balanceados e que tenham algum benefício à saúde, impulsionou as indústrias alimentícias a buscar alternativas para atender as necessidades do mercado. Entre os produtos desenvolvidos podemos citar os com redução de gordura trans e sódio, os integrais, orgânicos, veganos e os alimentos funcionais, incluindo os probióticos (1).

O kefir - “leite fermentado produzido pela inoculação de grãos de kefir ou cultura iniciadora, composta por *Lactobacillus kefir*, espécies dos gêneros *Leuconostoc* spp., *Lactococcus* spp. e *Acetobacter* spp. e leveduras lactose-positiva e/ou lactose-negativa, que crescem em sinergismo” (2) - é uma bebida muito popular no Oriente Médio e reconhecida como uma excelente fonte de microrganismos, que apresentam potenciais benefícios para a saúde.

Alguns microrganismos presentes nos grãos de kefir são resistentes aos sais biliares, ao baixo pH e exibem propriedades de adesão e capacidade de inibir microrganismos patogênicos intestinais (3). Os microrganismos da cultura de kefir e os produtos de sua relação simbiótica estão associados às propriedades antimicrobianas, anti-inflamatórias, e efeitos antialérgicos atribuídos à bebida (4,5,6,7).

A bebida à base de kefir apresenta características sensoriais típicas, em função dos metabólitos produzidos durante a fermentação (ácidos láctico e acético, etanol e dióxido de carbono) e da matéria-prima utilizada

(8,9,10,11). O kefir de leite de vaca é a bebida mais popular, porém o seu consumo é limitado para intolerantes à lactose, alérgicos a produtos lácteos e veganos, indicando a necessidade de adaptação da cultura a substratos não lácteos, com destaque para os obtidos a partir de cereais e leguminosas (12).

A soja (*Glicine max* (L). *Merril*) é uma leguminosa que exibe bom perfil nutricional, sendo considerada um alimento com alegação de propriedades funcionais, em função da qualidade da sua proteína (13,14,15) e presença de isoflavonas (16).

O extrato hidrossolúvel de soja (EHS), obtido a partir da hidratação e posterior esmagamento do grão da soja, pode ser utilizado como substituto do leite de vaca, em função de seu bom perfil nutricional e por não possuir lactose, sendo utilizado na elaboração de produtos destinados aos consumidores que possuem intolerância à lactose ou alergia à proteína do leite (17). O consumo do EHS ocorre na forma de bebida pronta para o consumo ou como um ingrediente em diversas formulações - bebida saborizada à base de soja, bebidas fermentadas e sobremesas, incluindo os gelados comestíveis, popularmente conhecidos como sorvetes (18).

O mercado de gelados comestíveis ou sorvetes encontra-se em expansão tornando-se cada vez mais atrativo. Segundo a Associação Brasileira de Indústrias de Sorvetes (ABIS), o consumo de sorvete no Brasil foi de 1,107 bilhões de litros somente no ano de 2019, demonstrando um interesse crescente por este produto. Nesse cenário, sorvete de massa,

picolé e sorvete *soft* correspondem a 69%, 19% e 12% do volume consumido no Brasil, respectivamente (19).

Tradicionalmente, o sorvete - produto congelado obtido a partir de uma emulsão de gorduras e proteínas ou de uma mistura de água e açúcar, permitindo a adição de outros ingredientes, que não descaracterizem o produto (20) – normalmente inclui leite (bovino, caprino, etc) em sua formulação (21). Entretanto, devido às mudanças nos hábitos alimentares da população, o mercado de sorvetes à base de vegetais tem se expandido, permitindo a incorporação de frutas com componentes funcionais, como carotenoides, fibras e compostos fenólicos. Os atributos de textura, sabor e cor interferem na aceitação do produto, e a utilização de saborizantes e corantes artificiais ou de substâncias ou ingredientes naturais, como frutas e seus componentes, pode interferir em tais propriedades.

Entre as frutas brasileiras, a jaboticaba destaca-se por apresentar um fruto com sabor adocicado e levemente picante e casca de cor púrpura escura, rica em minerais, vitamina C, fibras solúveis, e compostos fenólicos (especialmente de antocianinas). Tais compostos podem ser utilizados como corante natural e exibem propriedades antioxidantes, com potenciais efeitos benéficos à saúde, como modulação do perfil lipídico, efeitos anti-inflamatórios e antiaterogênicos (22). Devido a sua alta perecibilidade, a desidratação é a forma mais eficaz de reaproveitamento e armazenamento da casca de jaboticaba, normalmente descartada pela indústria de sucos.

Frente ao exposto, a hipótese desse estudo é que o desenvolvimento de um gelado comestível a partir de EHS, kefir de soja e casca de jaboticaba

desidratada permitirá a obtenção de produto com propriedades funcionais agregadas, com reaproveitamento de um resíduo da indústria de alimentos e que poderá ser consumido por indivíduos intolerantes à lactose, alérgicos à proteína do leite e veganos.

2 OBJETIVOS

Objetivo Geral

Desenvolver um gelado comestível potencialmente funcional à base de EHS, kefir de soja e casca de jaboticaba desidratada.

Objetivos específicos

- Determinar a proporção ideal de kefir e EHS para que o gelado comestível apresente boa aceitação sensorial.
- Verificar a viabilidade dos microrganismos potencialmente probióticos que compõem o kefir, após o preparo do gelado comestível.
- Realizar a caracterização físico-química, microbiológica e sensorial das diferentes formulações de gelado comestível.
- Determinar a concentração de compostos fenólicos totais e a atividade antioxidante dos produtos.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 KEFIR

A palavra kefir é originária da palavra turca “Keyif” que significa “boa sensação” associada à saúde e ao bem-estar (23). Os efeitos biológicos atribuídos à ingestão regular do kefir incluem: controle da obesidade, redução de lipídeos sanguíneos, melhora da digestão e da tolerância à lactose, entre outros (7).

A FAO/WHO (2) define kefir como um leite fermentado obtido pela ação de grãos de kefir ou cultura *starter*, contendo *Lactobacillus kefir*, espécies de *Leuconostoc* spp., *Lactococcus* spp. e *Acetobacter* spp. e leveduras lactose-positiva e/ou lactose-negativa que atuam em sinergismo”. De acordo com a ANVISA (24), “os grãos de Kefir são constituídos por leveduras fermentadoras de lactose (*Kluyveromyces marxianus*) e leveduras não fermentadoras de lactose (*Saccharomyces omnisporus*, *Saccharomyces cerevisiae* e *Saccharomyces exiguus*), *Lactobacillus casei*, *Bifidobacterium* spp. e *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*”. Enquanto o kefir é “um leite fermentado resultante da fermentação de leite pasteurizado ou esterilizado, realizada com cultivos ácido lácticos elaborados com grãos de kefir, *Lactobacillus kefir*, espécies dos gêneros *Leuconostoc* spp., *Lactococcus* spp. e *Acetobacter* spp. com produção de ácido láctico, etanol e dióxido de carbono” (24).

Os grãos de kefir possuem aparência irregular, de coloração branca ou amarela e textura firme, que lembra pipoca ou couve-flor. Possuem diâmetro entre 0,3 a 3,5 cm (25), sendo compostos por uma microbiota

diversa associada à proteína e polissacarídeos (26,27). Uma característica dos grãos de Kefir é que, após serem utilizados na fermentação do substrato, podem ser recuperados por separação, ocorrendo aumento na sua biomassa (28).

Devido à complexidade da população microbiana associada ao kefir e aos benefícios derivados do seu consumo, a biomassa de kefir pode ser considerada como uma fonte de potenciais microrganismos probióticos (3). Entretanto, por apresentar uma microbiota complexa e variável, a obtenção de uma bebida de kefir padronizada utilizando biomassa é uma tarefa difícil. Uma alternativa para padronização da composição e qualidade da bebida consiste na utilização culturas *starters* comerciais.

A maioria das pesquisas realizadas avaliou a produção da bebida utilizando substratos de leite de vacas, ovelhas, cabras ou outro tipo de leite (8,9,10,11). No entanto, o consumo da bebida kefir de leite é limitado para intolerantes à lactose e consumidores alérgicos a produtos lácteos. Assim, um caminho alternativo para possibilitar a ingestão do kefir por essa população seria a sua adaptação a substratos não lácteos.

A solução de açúcar mascavo é o principal substrato alternativo usado para fermentação de kefir, conhecido como uma bebida açucarada de kefir (12). Outras matérias-primas como extrato aquoso de arroz, coco, amendoim e soja também podem ser utilizadas como substratos para a fermentação pelos grãos de kefir (29).

3.2 SOJA

A soja (*Glicine Max L. Merrill*) é uma leguminosa utilizada pelos Chineses, da região leste da Ásia, desde o século XI A.C. (30). Esta leguminosa chegou ao Ocidente no final do século XV e início do XVI, mas somente a partir de 1990 assumiu uma posição de destaque no mercado mundial (31).

Na safra de 2018/2019, o Brasil foi considerado o segundo maior produtor mundial de soja, ficando atrás somente dos EUA, com uma área ocupada de 35,822 milhões de hectares e produção de 114,842 milhões de toneladas (32). No primeiro semestre desse ano houve aumento na área de produção, totalizando 111,59 milhões de toneladas e superando a produção de outros grãos e cereais como feijão, amendoim, arroz e milho (33).

As características nutricionais da soja são bem conhecidas e apreciadas pelos consumidores. O grão cru apresenta uma grande quantidade de minerais e fibras, elevado teor de proteínas com bom perfil de aminoácidos e quantidade reduzida de gordura saturada (34). Quando madura, a soja é uma ótima fonte das vitaminas K, E, tiamina, ácido fólico e riboflavina e dos minerais magnésio, ferro, cobre, fósforo e zinco. Por outro lado, a soja verde apresenta alto conteúdo de ácido ascórbico e niacina (30).

A soja é considerada um alimento com alegação de propriedades funcionais em função da qualidade da sua proteína (13,14,15) e pela presença de isoflavonas - daidzeína, a genisteína e a gliciteína e suas formas agliconas – que são compostos fenólicos pertencentes à classe dos fitoestrógenos (16). A proteína da soja auxilia no controle dos níveis de

colesterol sanguíneo, atuando na redução do risco de doenças cardiovasculares (35;36). As isoflavonas, por sua vez, apresentam efeitos estrogênicos e anti-estrogênicos e propriedades antioxidantes, inibindo a oxidação da lipoproteína de baixa densidade (LDL) e atuando na redução de risco de doenças crônicas como osteoporose, doenças cardiovasculares e câncer (37).

Os produtos derivados da soja vêm assumindo uma posição de destaque no mercado brasileiro, principalmente entre a população que busca o consumo de alimentos mais saudáveis (38). Por apresentar uma boa composição nutricional, contendo concentrações apreciáveis de proteína de alto valor biológico, fibras e isoflavonas, a soja pode ser utilizada como matéria-prima para diferentes produtos alimentícios com valor agregado, incluindo o extrato aquoso de soja saborizado, produtos fermentados e sobremesas (39).

3.3 EXTRATO HIDROSSOLÚVEL DE SOJA (EHS)

Os alimentos à base de extratos vegetais (soja, milho, castanha, arroz, etc), conhecidos por “leites vegetais”, constituem boas alternativas ao consumo de leite de vaca, especialmente para pessoas intolerantes à lactose, alérgicas à proteína do leite e veganos. Dentre estes, o extrato EHS, popularmente conhecido como “leite” de soja, se destaca por possuir um bom rendimento - um quilo de soja produz de seis a nove litros de EHS, restando aproximadamente 700g de resíduo (*okara*) (40,41). O EHS natural possui a seguinte composição nutricional média (g / 100g): sólidos totais -

6,37 a 6,71; proteína - 3,18 a 3,21, lipídeos 1,62 a 1,68, cinzas – 0,26 a 0,30 e carboidratos 1,31 a 1,49 (42,43). O processo de obtenção do EHS envolve a hidratação seguida de esmagamento do grão, dando origem ao EHS, que possui aspecto semelhante ao leite de vaca, podendo ter ou não a adição de aromatizantes em sua formulação. O EHS é consumido em grande quantidade no Oriente, na forma de bebida, ou utilizado como um ingrediente em diversos alimentos (44,45).

3.4 GELADOS COMESTÍVEIS OU SORVETE

Os colonizadores ingleses foram os responsáveis pela disseminação dos gelados comestíveis, popularmente conhecidos como sorvetes, nos Estados Unidos, e desde então sua formulação sofreu muitas mudanças, de acordo com as tradições de cada país. A primeira máquina de sorvete foi concebida por Nancy Johnson em 1843, em Nova Jersey e consistia em um congelador manual revestido de gelo adicionado de sal (46).

O sorvete é consumido em praticamente todas as partes do mundo, mesmo em países de clima mais frio. O consumo per capita brasileiro é de aproximadamente três litros por ano, quantidade considerada baixa quando comparada a indivíduos de países como Noruega, Dinamarca e Finlândia, que consomem 20 litros anuais (47).

De acordo com a resolução RDC nº 266 (20) gelados comestíveis “são os produtos congelados obtidos a partir de uma emulsão de gorduras e proteínas; ou de uma mistura de água e açúcar(es). Podem ser adicionados de outro(s) ingrediente(s) desde que não descaracterize(m) o produto” (20).

Este produto deve ser submetido ao congelamento e mantido totalmente ou parcialmente congelado, durante todas as etapas de armazenamento, transporte e entrega ao consumidor (48). A ANVISA não padroniza denominações específicas para os diferentes tipos de gelados, apenas instrui que os mesmos “devem ser designados por denominações consagradas pelo uso. Podem ser usadas expressões relativas ao ingrediente que caracteriza o produto e ou ao processo de obtenção e ou forma de apresentação e ou característica específica” (20).

O sorvete na América do Norte e na Austrália possui gordura de leite em sua composição, porém esse ingrediente não é obrigatório na União Europeia, exceto para sorvetes de base láctea (49). Apesar de não existir legislação específica, alguns tipos de gelados comestíveis são conhecidos: sorvetes de creme, sorvetes de leite, frozen yogurt, e sorbets, que diferem em relação aos ingredientes utilizados e em sua composição final (50).

As principais etapas de produção dos gelados comestíveis são: homogeneização, pasteurização, maturação, cristalização e endurecimento. A etapa de homogeneização tem como objetivo a mistura e a dissolução de todos os ingredientes em uma única solução, respeitando-se as quantidades previamente definidas. A homogeneização irá resultar numa emulsão de óleo e água, que será então pasteurizada, para garantir a segurança do produto (51). Nos gelados com adição de leite, a pasteurização também tem a função de desnaturar parcialmente as proteínas do soro, que irão conferir cremosidade, textura e consistência mais suave ao gelado. A mistura já homogeneizada e pasteurizada passa por um processo de maturação em

tanques refrigerados a temperatura de 4°C, para que o produto tenha uma melhor textura. A seguir o gelado será cristalizado e bombeado para bandejas (tamanhos e formas diferentes) ou injetados para cones e copos. A última etapa de produção dos gelados compreende a fase de endurecimento, que consiste na redução rápida da temperatura (-18°C no centro do gelado), em ambientes de frio extremo (-30 a -45°C). O produto, pronto para o consumo deve ser mantido em ambiente refrigerado para manutenção das características ideais de textura (51).

Fatores como textura e derretimento são os maiores responsáveis pela aceitação de um sorvete. Espera-se que a emulsão se apresente de modo “espumoso”, que difere das seguintes fases: bolhas de ar, cristais de gelo e glóbulos de gordura parcialmente aglutinada (47).

Tradicionalmente o sorvete é produzido por leite de origem animal (bovino, caprino, etc) (21), mas devido às mudanças nos hábitos alimentares da população, o mercado de sorvetes a base de vegetais tem se expandido, permitindo a incorporação de frutas com componentes funcionais como carotenoides, fibras e compostos fenólicos.

3.5 JABOTICABA

A jaboticaba é uma frutífera nativa da Mata Atlântica e a cultivar Sabará, da espécie *Myrciaria jaboticaba* (Vell.) Berg. é a mais consumida no Brasil, possuindo frutos apropriados para o consumo *in natura* e para o processamento na forma de geleias, compotas e sucos (52).

A jaboticaba se desenvolve na mata pluvial e submatas de altitude da Mata Atlântica brasileira, e se adapta a uma grande variação de temperatura (53). Os estados de São Paulo, Minas Gerais, Rio de Janeiro, Paraná, Espírito Santo e Goiás respondem pela maior produtividade nacional (54).

A frutificação ocorre duas vezes ao ano, nos meses de agosto e novembro, e o fruto (classificado como baga), apresenta de 3-4 cm de diâmetro contendo de uma a quatro sementes grandes, casca de cor púrpura escura e polpa esbranquiçada, com sabor adocicado e levemente picante. O fruto é geralmente usado na produção de suco, geleia, licor, vinagre e vinho, não possuindo alto valor econômico em função de sua perecibilidade (55;56). Após a colheita, a fruta *in natura* tem uma vida útil média de três dias, prejudicando a sua comercialização (57).

Alezandro et al. (58) compararam a composição de duas variedades de jaboticaba – Paulista e Sabará. Os resultados evidenciaram que os teores de proteína (1,02-0,94%), carboidratos (76.5–78.2%) e fibras (17.9–19.3%) foram semelhantes entre as duas variedades (variação inferior a 8%), enquanto o teor de lipídios foi superior na variedade Paulista (0,55%).

A casca da jaboticaba se destaca por possuir um alto teor de carboidratos, minerais, vitamina C, fibras solúveis e insolúveis e de compostos fenólicos, como as proantocianidinas e antocianinas, exibindo teor de ácido elágico superior aos encontrados nas *berries* (*cranberry*, *blueberry* e morango) (59,60). Os compostos fenólicos apresentam atividade antioxidante, anti-inflamatória e anti-proliferativa, com potencial para atuar na

redução do risco de doenças como diabetes, câncer e doenças cardiovasculares (61).

A casca da jaboticaba tem sido utilizada como corante natural em diferentes alimentos, por possuir uma coloração intensa conferida pelas antocianinas. Porfírio et al. (62) desenvolveram duas formulações de bebidas isotônicas com substituição de corantes sintéticos por extratos hidroetanólicos concentrados de casca e polpa de jaboticaba. Saito et al. (63) utilizaram o extrato da casca de jaboticaba na produção de queijo *petit-suisse* com atividade antioxidante. Albuquerque et al. (64) avaliaram o efeito da adição de extrato da casca da jaboticaba rico em antocianinas, cuja extração foi otimizada pelos métodos de calor e ultrassom, em macarrons. Nesse estudo, a estabilidade do corante natural foi considerada mais estável que a do corante comercial E163 durante o tempo de armazenamento.

Devido a sua alta perecibilidade, a desidratação é a forma mais eficaz de armazenamento da casca de jaboticaba. Segundo Alves et al. (65) a desidratação em estufa com circulação de ar a 45°C e o processo de liofilização são os mais indicados para a preservação dos níveis de macronutrientes e de compostos fenólicos nesse subproduto. Tais dados da literatura indicam que a utilização da casca ou bagaço de jaboticaba, normalmente descartada pela indústria de sucos, pode melhorar o valor nutricional de diferentes produtos.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Material

4.1.1 Obtenção do EHS

O EHS foi obtido na Unidade de Produção e Desenvolvimento de Derivados de Soja (Universoja – FCF – UNESP Araraquara), de acordo com procedimento descrito por Maia, Rossi e Carvalho (66).

4.1.2 Obtenção do Kefir de soja

Para a fermentação do EHS foi utilizada uma cultura iniciadora de kefir comercial (CHOOZIT Kefir DC LYO 1000 L), gentilmente cedida pela DANISCO (DuPont), localizada na cidade de Paulínia – SP. De acordo com o fabricante, a cultura comercial consiste de uma mistura de bactérias acéticas, lácticas e uma microbiota própria do kefir, que é utilizada pelas indústrias alimentícias para a produção de bebidas á base de kefir. Após a adição de sacarose (10g por litro), o EHS foi aquecido a 95 ± 3 °C por 30 minutos, resfriado a 25 ± 2 °C e diretamente inoculado com a cultura iniciadora comercial (0,005g/ litros). A mistura foi incubada à 27 ± 2 °C até atingir o pH de 4,80.

4.1.3 Obtenção da farinha de casca de jaboticaba desidratada

Os frutos maduros foram obtidos de produtores locais da cidade de Araraquara-SP, nos meses de agosto e outubro de 2018, período da safra da jaboticaba. As frutas foram selecionadas, sanitizadas (100 mg/L de solução clorada por 30 minutos) e enxaguadas em água corrente. O bagaço, obtido por esmagamento dos frutos, foi distribuído em bandejas e

desidratado em estufas com circulação de ar, a 60°C, até teor de umidade constante. Posteriormente, o bagaço desidratado foi moído em processador de alimentos doméstico (Figura 1). A farinha obtida foi acondicionada em frascos de vidro recobertos com folha de alumínio e mantida à temperatura ambiente até o momento de sua utilização.



Figura 1. Jaboticaba *in natura* (A), cascas desidratadas (B) e cascas trituradas (C).

4.1.4 Obtenção do gelado comestível de jaboticaba à base de EHS e kefir

Foram produzidos cinco diferentes gelados, com variações nas concentrações de kefir de soja e EHS (Tabela 1).

Tabela 1. Formulações com variação na concentração de EHS e kefir de soja.

Ingredientes	Formulações (g/100g)				
	GS	GK1	GK2	GK3	GK
EHS	100,0	75,0	50,0	25,0	-
Kefir	-	25,0	50,0	75,0	100,0

Foram utilizados os seguintes ingredientes para todas as formulações produzidas, expressas em relação à quantidade de EHS, kefir de soja ou da mistura EHS e kefir de soja (g/100g): 1,3 g de glicose; 1,0 g de emulsificante (Emustab); 0,80 g de casca de jaboticaba; 5,0 g de leite condensado de soja. Após homogeneização dos ingredientes por cinco minutos, a mistura permaneceu em repouso por 24 horas, que corresponde ao período de maturação. A seguir foi realizado o congelamento e a incorporação de ar (*overrun*) em sorveteira artesanal (MDG, modelo MH 80/100) (Figura 2.)

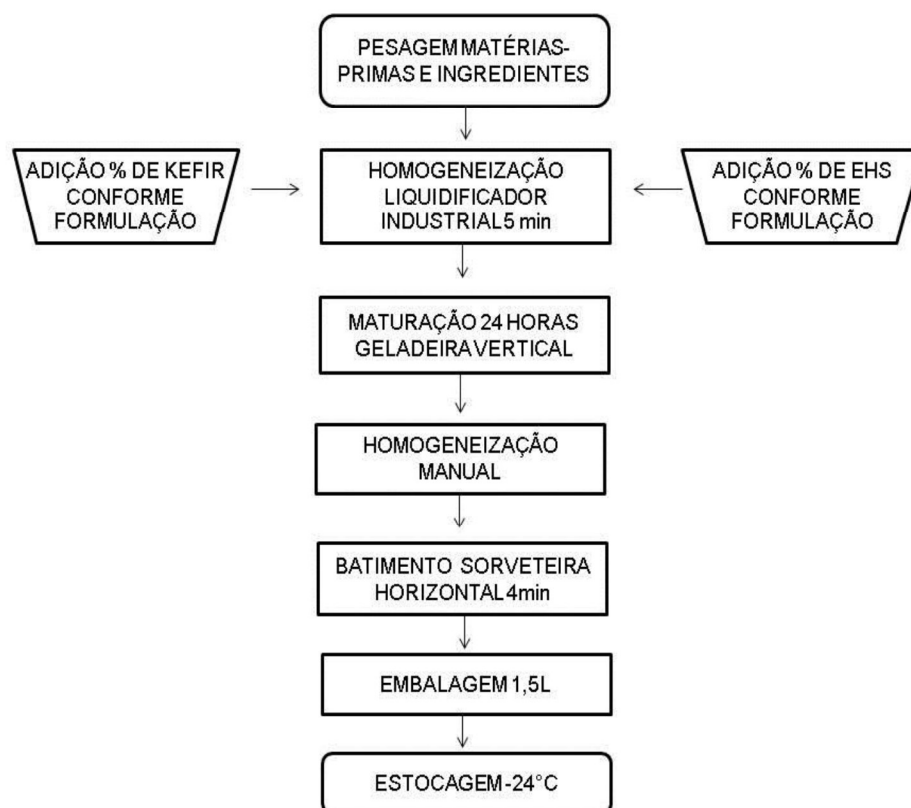


Figura 2. Fluxograma da produção dos gelados.

4.2 Métodos

As diferentes formulações foram processadas em duas ocasiões distintas e avaliadas durante um período de 90 dias de armazenamento à $-24 \pm 2^\circ\text{C}$. A composição centesimal dos gelados foi determinada no produto recém-processado e a segurança microbiológica e viabilidade dos microrganismos potencialmente probióticos foram acompanhadas em intervalos de 15 dias. Os demais parâmetros (cor, compostos fenólicos, atividade antioxidante, concentração de antocianinas e o perfil sensorial) foram avaliados imediatamente após o preparo (T0) e no final do período de armazenamento (T90). As análises físico-químicas e microbiológicas foram realizadas em triplicata.

4.2.1 Análises microbiológicas

- Segurança microbiológica

As análises de segurança microbiológica consistiram em: determinação do Número Mais Provável (NMP) de coliformes a 45°C e pesquisa de *Salmonella* spp., conforme estabelecido pela Resolução (RDC) 12/2001 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (67).

Preparo das amostras

Inicialmente, 25 gramas do produto (previamente homogeneizado) foram diluídos em 225 mL de água peptonada estéril 0,1% e realizadas diluições decimais seriadas até 10^{-8} .

Número Mais Provável – NMP de coliformes a 45°C: foi utilizada a técnica de tubos múltiplos, empregando-se três séries de três tubos contendo: Caldo Lauril Sulfato Triptose (LST) e Caldo Bile Verde Brilhante 2% (VB), com incubação a 35°C/48 h (coliformes a 35°C) e Caldo *Escherichia coli* (EC), com incubação a 44,5°C/24 h (coliformes a 45°C) (34).

Pesquisa de *Salmonella* spp: foi realizada conforme metodologia preconizada pela *International Organization for Standardization* (68).

- Viabilidade dos microrganismos potencialmente probióticos

***Lactobacillus* spp., *Bifidobacterium* spp.; Leveduras**

A enumeração de microrganismos pertencentes aos gêneros *Lactobacillus* spp. *Streptococcus* spp. e *Bifidobacterium* spp foi realizada por plaqueamento em meios de cultura específicos - *Lactobacilli* Man Rogosa Sharpe ágar - MRS (Difco, França), M17 ágar e BIM-25 (*Reinforced Clostridium* Ágar - Difco, França - com adição de ácido nalidíxico, sulfato de polimixina B, sulfato de canamicina, ácido iodoacético e cloreto trifetil tetrazólio), respectivamente - utilizando a técnica da microgota (69), As placas de MRS e M17 foram incubadas em aerobiose, a 37 °C/48 h e as placas de BIM-25 em anaerobiose, por 37 °C/72 h. (70). A enumeração de leveduras foi feita por plaqueamento em superfície, utilizando o meio *Yeast Malt* (YM, Himedia, Índia), com adição de cloranfenicol (200mg/L). A incubação foi realizada a 22°C/72-120 h. Os resultados foram expressos como unidades formadoras de colônias por grama (UFC/g).

4.2.2 Análises físico-químicas

- Composição proximal e valor calórico

Os teores de umidade, cinzas, proteínas e lipídeos foram determinados segundo as Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (71). A determinação dos teores de carboidratos totais foi realizada por diferença

(72). O valor calórico dos produtos foi estimado a partir dos teores de carboidratos (4kcal/g), proteínas (4kcal/g) e gordura (9kcal/g), e o resultado foi expresso em kcal por 100g de produto.

- Determinação de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante

- Obtenção dos extratos

Os extratos para determinação de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante foram obtidos segundo procedimento descrito por KARAASLAN. et al. (73).

- Compostos fenólicos totais

A quantificação de compostos fenólicos totais foi feita pelo método Folin –Ciocalteu, segundo Singleton et al. (74). Em um balão volumétrico de 10 mL foram adicionados: amostra de gelado comestível diluída (0,1 mL), reagente de Folin-Ciocalteau (0,5 mL), solução de carbonato de sódio a 20% (1,5 mL) e água destilada em quantidade suficiente para completar o volume. A mistura foi mantida em repouso por um período de duas horas e a leitura da absorbância foi realizada à temperatura ambiente, em espectrofotômetro (Shimadzu UV-Vis 1800/08302) a 765 nm. Os resultados foram expressos em gramas de equivalentes a ácido gálico (mgGAE) por 100 g de produto.

- Capacidade antioxidante pela técnica DPPH

A capacidade antioxidante foi determinada pela reação com o radical DPPH (75). Para a preparação do extrato, 20 mL de metanol 50% foi adicionado a um grama de amostra, seguido de homogeneização em Ultra-Turrax (IKA®/ T25 digital) e a amostra permaneceu em repouso por 60 minutos, ao abrigo da luz. O extrato foi centrifugado (25.400 G /15 minutos) e o sobrenadante armazenado em frasco âmbar. A seguir, repetiu-se a operação com a utilização de acetona 70%. Em local sem luz, os extratos obtidos foram diluídos e uma alíquota de 100 µL de cada diluição foi misturada a 1,0 mL do radical ABTS. Após a homogeneização, as amostras permaneceram em repouso por seis minutos, e a leitura da absorbância foi realizada a 734 nm, em espectrofotômetro (Shimadzu UV-1800). As análises foram realizadas em triplicata e os resultados foram expressos como µmol Trolox/g.

- Antocianinas por HPLC

As antocianinas foram extraídas de acordo com Zanatta et al. (76). As extrações foram realizadas a partir de 0,5 g de amostras liofilizadas, que foram diluídas (solução metanólica de HCL 1%) e homogeneizadas (Ultra-Turrax®). As extrações foram repetidas até desaparecimento de cor das amostras. Após a extração, as amostras foram filtradas a vácuo (filtro Millex LCR 0,45 µm, 13 mm), e os extratos obtidos foram armazenados à 7±1°C, até a realização das análises Schimidt (77).

A quantificação das antocianinas seguiu metodologia proposta por Vargas et al. (78), com a utilização de um cromatógrafo (Agilent®, Série 1100, Santa Clara, EUA), equipado com sistema de bomba quaternária e detector UV-visível. Uma coluna de fase reversa C18 Shim-pak CLC-ODS (5 μ m, 250 x 4,6 mm) foi utilizada para a separação das antocianinas. A fase móvel foi constituída de um gradiente de eluição linear de ácido fórmico (5%) e metanol, respeitando a proporção de 85:15 (v/v) a 20:80 em 25 minutos, mantida por 15 minutos. O fluxo da fase móvel, o volume injetado e a temperatura da coluna utilizados foram: 1,0 mL.min⁻¹, 5 μ L e 29 °C, respectivamente. O processamento dos cromatogramas foi realizado a 520 nm. Para a quantificação das antocianinas, foram utilizadas curvas padrão construídas a partir de padrões conhecidos de cianidina 3-glicosídeo, delphinidina 3-glicosídeo (Sigma- Aldrich). Schmidt (77).

- Determinação de Cor

Os parâmetros de cor das amostras foram determinados em colorímetro Konica Minolta portátil (CR-410), utilizando iluminante D65 e ângulo visual de 10°. Valores de luminosidade L* (próximos de 100 – amostras mais claras e próximos de zero – amostras mais escuras); a* (verde a vermelho); e b* (azul a amarelo), foram utilizados como indicadores de luminosidade, índice de cor vermelha e índice de cor amarela, respectivamente (75). Os índices Chroma (C*) cromaticidade ou saturação

de cor e Hue ($H^{\circ*}$) ângulo de tonalidade cromática foram calculados de acordo com as equações:

$$C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$$

$$H^{\circ} = \tan^{-1} (b^*/a^*)$$

- pH e acidez titulável

O pH das amostras foi determinado por leitura direta em pHmetro digital e a acidez titulável por titulação com solução de hidróxido de sódio 0,1N, e expressa em % de ácido láctico, conforme metodologia descrita pelo Instituto Adolfo Lutz (71).

4.2.3 Análise sensorial

Os testes foram realizados no laboratório de análise sensorial da Faculdade de Ciências Farmacêuticas – UNESP – Araraquara e o protocolo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da FCF – Araraquara - Número 003167/2019. Os consumidores foram recrutados com o auxílio de questionários para avaliar a presença de alergias, intolerâncias ou doenças que impedissem a participação nos testes, além de identificar possível aversão a algum constituinte dos gelados.

- Teste de Aceitação e Intenção de Compra

No teste de aceitação, os consumidores avaliaram as amostras em relação aos atributos de aparência, aroma e sabor, utilizando uma escala

hedônica estruturada de nove pontos, variando de “gostei muitíssimo” a “desgostei muitíssimo” (Apêndice 1) (79). No teste de intenção de compra foi utilizada uma escala de categoria nominal de cinco pontos, variando de “certamente compraria o produto” a “certamente não compraria o produto” (80). As amostras foram apresentadas, aos 115 consumidores (81) que participaram do teste, codificadas com algarismos de três dígitos, aleatorizadas e de forma monádica.

- *Check All That Apply (CATA)*

Este teste foi realizado segundo metodologia descrita por Ares et al. (82). Os consumidores foram instruídos a responder um questionário do tipo *Check All That Apply*, contendo atributos ou frases que descrevem as amostras (APÊNDICE 2). Tais atributos foram gerados previamente pelo método de rede, utilizando dez assessores habituados à ingestão de produtos à base de soja e à realização de testes descritivos (83). No levantamento dos atributos, os assessores avaliaram individualmente as amostras, que foram apresentadas em pares, em todas as combinações possíveis e indicaram as similaridades e diferenças entre as mesmas. A lista final dos atributos foi definida em consenso, em reunião realizada com todos os assessores. A seguir, os 115 consumidores que participaram do teste CATA foram instruídos a assinalar todos os atributos que considerassem apropriados para descrever as amostras de gelado comestível.

4.2.4 Análise estatística dos dados

Os dados dos testes microbiológicos e físico-químicos foram avaliados por análise de variância e teste de médias de Tukey ou Teste T, ($p < 0,05$). Os resultados do teste de aceitação foram analisados por análise de variância, considerando amostra e provador como fontes de variação, e teste de médias de Tukey ($p < 0,05$). Para o CATA foi determinada a frequência de indicação de cada termo e o teste Q de Cochran foi aplicado para inferência das diferenças dos produtos por atributo. Em adição, Análise de Correspondência Múltipla (*Multiple Correspondence Analysis* - MCA) foi realizada na tabela de frequência, contendo as amostras em linhas e os termos do questionário CATA em colunas

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Análises microbiológicas

Os gelados (GS, GK1, GK2, GK3 e GK) apresentaram ausência de *Salmonella* spp. e contagem de coliformes a 45°C < 3 NMP/g durante todo o período de armazenamento (90 dias) (Tabela 2), estando de acordo com a RDC 12/2001 que estabelece ausência de *Salmonella* spp. e contagem máxima de $5,0 \times 10$ NMP/g para coliformes a 45°C. Desta forma, os gelados apresentaram-se seguros para o consumo, sem potencial para provocar qualquer dano à saúde do consumidor, durante os 90 dias de armazenamento.

Em relação aos microrganismos potencialmente probióticos, não foi detectada a presença de leveduras nos gelados, nos tempos 0, 15 e 30 dias de armazenamento a $-22^{\circ}\text{C} \pm 2$. Porém, a partir dos 45 dias de armazenamento a contagem de leveduras ficou acima de 8 log UFC/g para todas as formulações, indicando uma possível adaptação às condições do produto. A população de *Bifidobacterium* spp., *Lactobacillus* spp e *Streptococcus* spp. nas diferentes formulações foi superior a 10 log UFC/g, durante todo o período de armazenamento, indicando que esses três gêneros de microrganismos se adaptaram bem ao EHS e às condições de processamento dos gelados. (Tabela 3).

Tabela 2. Avaliação da qualidade microbiológica do gelado.

Tratamentos	Tempo (dias)	<i>Salmonella sp</i>	Coliformes a 45°C
GS	0	ausência	< 3 NMP/g
	30	ausência	< 3 NMP/g
	60	ausência	< 3 NMP/g
	90	ausência	< 3 NMP/g
GK1	0	ausência	< 3 NMP/g
	30	ausência	< 3 NMP/g
	60	ausência	< 3 NMP/g
	90	ausência	< 3 NMP/g
GK2	0	ausência	< 3 NMP/g
	30	ausência	< 3 NMP/g
	60	ausência	< 3 NMP/g
	90	ausência	< 3 NMP/g
GK3	0	ausência	< 3 NMP/g
	30	ausência	< 3 NMP/g
	60	ausência	< 3 NMP/g
	90	ausência	< 3 NMP/g
GK	0	ausência	< 3 NMP/g
	30	ausência	< 3 NMP/g
	60	ausência	< 3 NMP/g
	90	ausência	< 3 NMP/g

GS (100% EHS - extrato hidrossolúvel de soja), GK1 (75% EHS, 25% kefir), GK2 (50% EHS, 50% kefir), GK3 (25% EHS, 75% kefir) e GK (100% kefir). Média da triplicata de dois processamentos.

Usualmente, a bebida kefir é obtida a partir de leite de vaca, que é considerado um meio propício para a fermentação láctica, uma vez que possui lactose em sua composição, além de um bom perfil de aminoácidos. No presente estudo, a substituição de leite de vaca por EHS (adicionado de 10% de sacarose) não reduziu a viabilidade das bactérias pertencentes aos gêneros *Bifidobacterium* spp. e de *Lactobacillus* spp., demonstrando a adaptação de tais gêneros à matéria-prima.

Resultados semelhantes foram observados por outros autores. SANTOS et al. (84) estudaram a otimização da fermentação do leite de soja com adição de inulina, utilizando grãos de kefir como cultura iniciadora. Após os 28 dias de armazenamento, a contagem das células viáveis dos gêneros *Lactococcus* spp., *Lactobacillus* spp. e leveduras foi superior a 10^7 UFC/mL, indicando uma adaptação da cultura iniciadora ao meio. No trabalho realizado por WALTER et al. (85), uma bebida fermentada por *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 e *Lactobacillus acidophilus* LA-5, utilizando diferentes matérias-primas à base de soja (grão de soja da cultivar BRS 232 e extratos de soja em pó comerciais obtidos por extração líquida e extração sólida), exibiu população média de microrganismos probióticos superior a 10^8 UFC por porção de 200 mL.

As etapas de obtenção do gelado (homogeneização, batimento, com consequente incorporação de oxigênio, e baixas temperaturas de armazenamento) podem resultar em redução na população dos microrganismos benéficos nos gelados. A flutuação de temperatura durante o armazenamento, com consequente formação de cristais de gelo, também podem reduzir a sobrevivência das cepas (85).

Em estudo conduzido por Gon et al. (87) foram utilizadas cepas microencapsuladas de *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium* spp. e *Streptococcus thermophilus* como estratégia para manter a viabilidade dos microrganismos em *frozen yogurt*. Todos os microrganismos exibiram população de células viáveis acima de 10^6 UFC/g até o final da vida de prateleira do produto. Fernandez (88) desenvolveu gelados probióticos á

base de EHS, utilizando cinco cepas de *Lactobacillus* spp. Os gelados apresentaram contagens de células viáveis superiores a 10^6 UFC/g, com redução inferior a um log na população de microrganismos ao longo de 150 dias de estocagem a -23°C .

No presente estudo, as cepas de bactérias láticas presentes na cultura iniciadora de kefir mostraram-se resistentes às situações de estresse a que foram submetidas durante o processamento, sem a necessidade de utilização de estratégias adicionais para protegê-las.

A não detecção de leveduras no primeiro mês do período de armazenamento pode estar relacionada ao estresse decorrente das etapas do processamento do gelado (homogeneização e batimento da mistura, congelamento e baixas temperaturas de armazenamento) (89). Ademais, a competição com bactérias láticas e acéticas e a presença de ácidos produzidos durante a fermentação do EHS com os grãos de kefir, também podem ter causado injúria celular e levado a não detecção das leveduras nos tempos iniciais (89,51).

Não existe consenso sobre a concentração mínima de microrganismos probióticos necessária para que os efeitos benéficos sejam observados. Um documento da *International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics*, publicado em 2014, sugere uma quantidade de 9 log UFC por porção do produto ingerida diariamente (90). Entretanto, a Agência Nacional de Vigilância sanitária revisou os requisitos para comprovação da segurança e dos benefícios à saúde dos probióticos para uso em alimentos (14) e determinou que o microrganismo deva ser adequadamente identificado

(nomenclatura binomial, identificação fenotípica, genotípica e origem) e estar depositado em coleção de cultura internacionalmente conhecida. A sua segurança deve ser comprovada por estudos científicos e documentos técnicos que incluam: histórico de uso seguro, ausência de eventos adversos, de fatores de virulência, de patogenicidade, de resistência potencialmente transferível a antibióticos e susceptibilidade a, pelo menos, dois antibióticos. Ademais, os benefícios à saúde devem ser comprovados por estudos clínicos, considerando a quantidade mínima de cepas probióticas sugerida para obtenção do benefício (13).

Considerando o exposto, apesar dos gelados exibirem elevada população de *Lactobacillus* spp. e *Bifidobacterium* spp., microrganismos com grande potencial para conferir efeitos benéficos à saúde, os produtos obtidos são considerados potencialmente probióticos, pois não passaram por todos os testes exigidos pela ANVISA. Ainda, de acordo com as recomendações da *International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics* o gelado desenvolvido receberia a designação de produto “contendo culturas vivas e ativas”, por possuir uma comunidade microbiana diversa e não completamente definida, em termos de composição e estabilidade das cepas, e sem comprovação do efeito benéfico.

Tabela 3. Viabilidade em leveduras, *Bifidobacterium* spp., *Lactobacillus* spp. e *Streptococcus* spp. das formulações ao longo do tempo de armazenamento à -22°C ± 2.

Formulações	Tempo (dias)	Leveduras Log UFC/g	<i>Bifidobacterium</i> spp. Log UFC/g	<i>Lactobacillus</i> spp. Log UFC/g	<i>Streptococcus</i> spp. Log UFC/g
GK1	0	<1	10,46 ^{abc} ± 0,07	10,60 ^a ± 0,07	10,79 ^a ± 0,02
	15	<1	10,38 ^{bc} ± 0,04	10,49 ^{ab} ± 0,02	10,76 ^{ab} ± 0,02
	30	<1	10,32 ^c ± 0,04	10,32 ^{bc} ± 0,02	10,73 ^{abc} ± 0,01
	45	8,93 ^a ± 0,20	10,31 ^c ± 0,02	10,35 ^{bc} ± 0,07	10,69 ^{bcd} ± 0,02 ^b
	60	8,72 ^a ± 0,20	10,48 ^{ab} ± 0,04	10,42 ^{ab} ± 0,12	10,65 ^{cde} ± 0,03
	75	8,30 ^a ± 0,00	10,55 ^a ± 0,05	10,30 ^{bc} ± 0,07	10,62 ^{de} ± 0,03
	90	8,30 ^a ± 0,00	10,49 ^{ab} ± 0,10	10,21 ^c ± 0,08	10,57 ^e ± 0,04
GK2	0	<1	10,58 ^a ± 0,02	10,57 ^a ± 0,06	10,77 ^a ± 0,01
	15	<1	10,49 ^{ab} ± 0,05	10,53 ^{ab} ± 0,07	10,74 ^{ab} ± 0,01
	30	<1	10,37 ^{bc} ± 0,08	10,41 ^{abc} ± 0,11	10,71 ^{abc} ± 0,02
	45	9,77 ^a ± 0,21	10,34 ^{bc} ± 0,07	10,26 ^{bcd} ± 0,10	10,68 ^{bcd} ± 0,03
	60	9,36 ^b ± 0,10	10,41 ^{abc} ± 0,10	10,29 ^{abcd} ± 0,01	10,64 ^{cde} ± 0,04
	75	9,60 ^a ± 0,00	10,34 ^{bc} ± 0,05	10,15 ^{cd} ± 0,14	10,60 ^{de} ± 0,04
	90	9,30 ^b ± 0,00	10,29 ^c ± 0,01	10,03 ^d ± 0,14	10,56 ^e ± 0,04

(continuação)

GK3	0	<1	10,52 ^a ± 0,07	10,55 ^a ± 0,11	10,75 ^a ± 0,02
	15	<1	10,38 ^a ± 0,11	10,47 ^{ab} ± 0,02	10,71 ^{ab} ± 0,02
	30	<1	10,32 ^a ± 0,07	10,31 ^{bc} ± 0,02	10,68 ^{abc} ± 0,03
	45	9,92 ^a ± 0,08	10,40 ^a ± 0,09	10,31 ^{bc} ± 0,02	10,64 ^{bcd} ± 0,03
	60	9,70 ^{ab} ± 0,17	10,48 ^a ± 0,05	10,27 ^{bc} ± 0,04	10,60 ^{cd} ± 0,03
	75	9,36 ^b ± 0,10	10,41 ^a ± 0,05	10,14 ^{cd} ± 0,12	10,56 ^{de} ± 0,03
	90	9,40 ^b ± 0,17	10,35 ^a ± 0,06	10,06 ^d ± 0,10	10,50 ^e ± 0,04
GK	0	<1	10,48 ^a ± 0,09	10,57 ^a ± 0,08	10,79 ^a ± 0,03
	15	<1	10,35 ^{ab} ± 0,08	10,46 ^{ab} ± 0,09	10,77 ^{ab} ± 0,03
	30	<1	10,29 ^b ± 0,01	10,38 ^{ab} ± 0,11	10,74 ^{ab} ± 0,03
	45	9,77 ^a ± 0,21	10,34 ^{ab} ± 0,07	10,37 ^{ab} ± 0,08	10,70 ^{abc} ± 0,03
	60	9,46 ^a ± 0,15	10,40 ^{ab} ± 0,07	10,43 ^{ab} ± 0,13	10,66 ^{bcd} ± 0,04
	75	9,60 ^a ± 0,00	10,48 ^{ab} ± 0,07	10,34 ^{ab} ± 0,04	10,62 ^{cd} ± 0,04
	90	9,56 ^a ± 0,07	10,34 ^{ab} ± 0,03	10,29 ^b ± 0,01	10,58 ^d ± 0,04

Médias (± desvio padrão) seguidas de letras minúsculas diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente entre si, de acordo com o teste de Tukey ($p \leq 0,05$). GS (100% EHS), GK1 (75% EHS, 25% kefir), GK2 (50% EHS, 50% kefir), GK3 (25% EHS, 75% kefir) e GK (100% kefir). Média da triplicata de dois processamentos.

5.2 Análises físico-químicas

O pH das formulações de gelado variou de 4,76 a 6,15 e a acidez titulável de 6,36% a 10,92% (Tabela 4). A formulação GS (100% EHS) apresentou as maiores médias de pH e as menores de acidez, enquanto a GK (100% Kefir) exibiu valores inversos, diferindo significativamente das demais amostras. A adição de kefir provocou diminuição nos valores de pH e aumento na acidez titulável dos gelados. Essa característica deve-se ao fato do kefir ser um produto fermentado por bactérias lácticas e acéticas, que metabolizam carboidratos e etanol presentes no produto, com consequente produção de ácidos, principalmente ácido lático, acético, cítrico, propiônico e butírico (91,92). Destaca-se que o aumento na quantidade de kefir não resultou em aumento proporcional nos valores de pH, provavelmente por falta de homogeneidade do gelado.

A composição proximal (% - g/100g) variou entre: umidade - 69,61 a 80,25; proteína - 4,55 a 5,74 ; teor de cinzas - 0,64 a 0,77; lipídios - 3,32 a 4,22 e carboidratos - 11,36 a 21,59 (Tabela 4).

A adição de kefir às formulações de gelado provocou decréscimo significativo no teor de umidade das bebidas, com a formulação GK (100% kefir) apresentando o menor teor de umidade (69,61%). Esse resultado pode ser explicado pela umidade do kefir ($84,47\% \pm 0,18$) ser inferior a do EHS ($94,25\% \pm 0,08$).

Houve acréscimo significativo no teor de carboidratos das formulações de gelado à medida que a concentração de kefir aumentou. A formulação GK (100% kefir) apresentou o maior teor de carboidratos (21,59%), quase o

dobro do tratamento GS (100% EHS) (11,36%). Esse comportamento deve-se, provavelmente, à adição de açúcar (10% m/v) ao EHS utilizado para obtenção do kefir.

Não foi constatada diferença significativa nos teores de proteínas e lipídios das formulações, indicando que a adição do kefir às formulações não altera tais parâmetros.

Os resultados mostram ainda que o gelado GK e GS apresentaram o maior e menor valor calórico - 139,52 e 98,02 Kcal/ 100g, respectivamente, diferindo estatisticamente entre si em função dos teores de carboidratos presentes nas amostras.

Tabela 4. Análises físico-químicas e valor calórico das cinco formulações de gelado (% - g/100g).

Formulação	pH	Acidez %	Cinzas	Proteínas %	Lipídeos %	Umidade %	Carboidratos%	Kcal 100g
GS	6,15 ^a ± 0,05	6,36 ^d ± 0,36	0,64 ^d ± 0,00	4,55 ^a ± 0,24	3,82 ^a ± 0,51	80,25 ^a ± 0,14	11,36 ^c ± 0,14	98,02 ^c ± 3,17
GK1	4,92 ^c ± 0,02	10,06 ^b ± 0,32	0,72 ^b ± 0,01	5,33 ^a ± 0,04	4,24 ^a ± 0,39	74,91 ^b ± 1,52	15,49 ^b ± 1,35	121,44 ^b ± 7,91
GK2	5,04 ^b ± 0,02	10,61 ^{ab} ± 0,09	0,77 ^a ± 0,01	5,11 ^a ± 1,25	3,32 ^a ± 0,42	72,70 ^c ± 0,18	18,16 ^b ± 1,47	122,96 ^b ± 5,77
GK3	4,92 ^c ± 0,01	10,86 ^a ± 0,15	0,76 ^a ± 0,01	5,74 ^a ± 0,10	3,67 ^a ± 0,89	73,36 ^{bc} ± 0,36	17,20 ^b ± 1,08	124,79 ^b ± 3,72
GK	4,76 ^d ± 0,06	10,92 ^c ± 0,11	0,68 ^c ± 0,01	5,37 ^a ± 0,02	3,52 ^a ± 0,45	69,62 ^d ± 0,33	21,59 ^a ± 0,12	139,52 ^a ± 0,38

Médias (± desvio padrão) seguidas de letras minúsculas diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente entre si, de acordo com o teste de Tukey ($p \leq 0,05$). GS (100% EHS), GK1 (75% EHS, 25% kefir), GK2 (50% EHS, 50% kefir), GK3 (25% EHS, 75% kefir) e GK (100% kefir). Média da triplicata de dois processamentos.

5.3 Compostos fenólicos totais e capacidade antioxidante

Na tabela 5 estão apresentadas as médias de compostos fenólicos totais e capacidade antioxidante das diferentes formulações, nos tempos 0 e 90 dias de armazenamento.

No produto recém-processado (T0), a formulação GS apresentou o menor teor de compostos fenólicos totais (567,65 mgGAE/100g), diferindo significativamente das demais formulações. Nas formulações com adição de kefir as concentrações foram, no mínimo, dez vezes superiores a da GS e a formulação GK diferiu das demais, exibindo a maior média de tais compostos. Foi verificada ainda uma maior estabilidade no teor de fenólicos totais após 90 dias de armazenamento para as formulações GK3, GK e GK2 com redução de 6,94%, 7,73% e 8,29%, respectivamente. Por outro lado, a GS foi a menos estável em relação aos fenólicos totais, com redução de 52,26%.

As concentrações de fenólicos totais nas formulações de gelado foram superiores às encontradas outros por autores que utilizaram jaboticaba no processamento de diferentes produtos. BARTNIKOWSKY et al. (93) desenvolveram um iogurte concentrado simbiótico com adição de 1% de farinha de casca de jaboticaba. A jaboticaba *in natura* e o iogurte apresentaram $738,4 \pm 10,5$ mg GAE/100 g e $292,5 \pm 2,5$ mg GAE / 100 g de compostos fenólicos totais, respectivamente. Inada et al. (94) desenvolveram um suco de jaboticaba com teor médio de fenólicos totais de 150.4 ± 0.6 mg/L. Contrariando os resultados obtidos em nosso estudo, constataram

aumento de 58,7% na concentração de compostos fenólicos ao final de 90 dias de armazenamento. Esse aumento foi atribuído à elevação na concentração dos ácidos gálico e elágico, em função de uma provável despolimerização de elagitaninos e galotaninos (95).

A casca de jaboticaba é rica em compostos fenólicos, como ácido gálico e elágico, rutina, taninos e quercetina (96,97) e o EHS também é fonte de tais compostos, exibindo quantidades variadas de isoflavonas e ácidos ferúlico, gálico e vanílico (98), o que pode explicar os teores elevados de fenólicos totais nos gelados comestíveis. A maior concentração de compostos fenólicos totais nas amostras com adição de kefir deve-se, provavelmente, a atividade metabólica dos microrganismos presentes na cultura iniciadora e que são capazes de alterar a concentração de tais compostos. Enzimas derivadas de microrganismos, como a β -glicosidase, hidrolizam compostos fenólicos complexos em outros mais simples, levando a um aumento no teor de fenólicos totais. Ademais, a fermentação por bactérias lácticas foi associada a um aumento no teor de compostos fenólicos (99) e Sabokbar e Khodaiyan (100) constataram que a fermentação por grânulos de kefir aumentou a concentração de compostos fenólicos em uma bebida à base de suco de romã e soro de leite.

As formulações com adição de kefir também exibiram a maior capacidade antioxidante no tempo inicial (T0), sem diferirem entre si. Porém, durante o período de armazenamento somente a amostra GS (sem kefir) não apresentou redução significativa nesse parâmetro, passando a exibir a maior atividade antioxidante. Esse resultado não pode ser atribuído à

concentração de compostos fenólicos totais, pois as formulações com kefir apresentaram baixa redução desses compostos no final do período de armazenamento. PLETSCHE et al (101) desenvolveram um gelado comestível de kefir adicionado de polpa de jaboticaba e morango e constataram que o produto apresenta atividade antioxidante superior ($11,23 \pm 0,88$ g Eq. Trolox g^{-1}), apesar da menor concentração de fenólicos totais ($153,186 \pm 2,45$ mg EAG 100g^{-1}).

A atividade antioxidante de um alimento está relacionada a concentração e estrutura química de compostos bioativos presentes (compostos fenólicos, vitaminas e enzimas superóxido desmutase, catalase e peroxidase) que podem sofrer alteração durante o armazenamento. Além disso, a sinergia entre os compostos pode resultar em aumento da atividade antioxidante (102) (63) e explicar as diferenças observadas em relação aos resultados obtidos com os gelados.

Tabela 5. Compostos fenólicos totais e capacidade antioxidante dos gelados no tempo 0 e 90 dias de armazenamento à 22°C ± 2.

Formulações	Fenólicos Totais (mgEAG/100g*)		Atividade Antioxidante (µmol Trolox/g)	
	T0	T90	T0	T90
GS	567,65 ^{aD} ± 35,60	271,00 ^{bD} ± 18,82	2,14 ^{aB} ± 0,46	1,80 ^{aA} ± 0,10
GK1	5970,93 ^{aC} ± 595,43	4755,51 ^{bC} ± 58,59	3,32 ^{aA} ± 0,05	1,84 ^{bA} ± 0,04
GK2	6783,94 ^{aB} ± 78,10	6221,41 ^{bB} ± 23,27	3,35 ^{aA} ± 0,02	1,95 ^{bA} ± 0,07
GK3	6670,40 ^{aBC} ± 32,63	6207,21 ^{aB} ± 19,74	2,81 ^{aAB} ± 0,20	1,93 ^{bA} ± 0,06
GK	7631,69 ^{aA} ± 47,73	7042,00 ^{bA} ± 48,34	2,99 ^{aA} ± 0,27	1,89 ^{bA} ± 0,05

Médias (± desvio padrão) seguidas de letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem estatisticamente entre si, de acordo com o Test T (tempos - $p \leq 0,05$). Médias (± desvio padrão) seguidas de letras maiúsculas diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente entre si (formulações - $p \leq 0,05$), de acordo com o teste de Tukey ($p \leq 0,05$). GS (100% EHS), GK1 (75% EHS, 25% kefir), GK2 (50% EHS, 50% kefir), GK3 (25% EHS, 75% kefir) e GK (100% kefir), *valor expresso em mg/100g de produto.

5.4 Antocianinas por HPLC

A concentração de antocianinas nas diferentes formulações foi expressa como cianidina 3 - glicosídeo e delphinidina 3 – glicosídeo (Tabela 6), compostos encontrados em maior concentração na casca de jaboticaba e relacionados à sua cor púrpura característica (103).

A concentração de antocianinas presente nos gelados está relacionada à quantidade de casca adicionada (0,02%), que no presente estudo foi idêntica para todas as formulações. A delphinidina foi a antocianina mais abundante, contrariando os dados obtidos por Reynertson et al., (96) e Inada et al. (104) que relataram a predominância de cianidina na jaboticaba e suco de jaboticaba, respectivamente. A formulação sem adição de kefir (GS) exibiu os maiores valores para cianidina 3 - glicosídeo e delphinidinas 3 - glicosídeo, diferindo significativamente das demais formulações nos dois períodos avaliados. Entre as formulações com kefir, a GK1 e GK3 apresentaram os maiores teores de cianidina e delphinidina, respectivamente. Observou-se ainda redução significativa na concentração das antocianinas, durante o período de armazenamento em todas as formulações. Esse resultado era esperado, em função da instabilidade das antocianinas na presença de fatores como: temperatura, oxigênio, luz, pH e acidez do meio (105,106). Tais substâncias também são afetadas por uma mistura de cobre, ferro e manganês, minerais encontrados na casca da jaboticaba, que atuam como catalisadores da reação de oxidação das antocianinas (55).

A concentração de antocianinas nos gelados foi inferior às obtidas por outros autores que também utilizaram antocianinas da casca de jaboticaba como corante em diferentes alimentos como: suco de jaboticaba (104); sorvete (107); presunto (108); queijo petit suisse (109) e iogurte grego (110). Entretanto, devemos considerar que a maioria dos estudos utilizou antocianinas extraídas da casca da jaboticaba, como Almeida et al., (111); Baldin et al., (112); Leonídio et al., (113); Rodrigues et al., (114) e Ferreira et al., (115), enquanto no presente estudo, a casca foi desidratada em estufa e adicionada diretamente aos gelados. Esse procedimento, provavelmente, interferiu nos teores de compostos fenólicos totais e de antocianinas, compostos sensíveis à variação de temperatura (116).

O principal fator limitante para a utilização das antocianinas como corantes naturais em alimentos é a sua instabilidade frente a variações de pH, que afetam a cor conferida por esses compostos. Enquanto o baixo pH é associado à maior estabilidade do composto, o aumento do pH resulta em redução da intensidade e modificação no padrão de cor conferida (117). No presente estudo, o pH não interferiu positivamente na concentração e estabilidade das antocianinas, pois a formulação mais ácida (GK) exibiu a menor concentração de cianidina 3 – glicosídeo e a maior redução de delphinidina 3- glicosídeo (34,31%) no final do período de armazenamento. Nesse sentido, as diferentes etapas de processamento, que levam à incorporação de oxigênio e problemas na homogeneização das amostras podem ter influenciado os resultados obtidos.

Tabela 6. Quantificação das antocianinas cianidina 3 - glicosídeo e delphinidina 3 – glicosídeo nos gelados no tempo 0 e 90 dias de armazenamento.

Formulações	Cianidina 3 - glicosídeo (mg/100g)		Delphinidina 3- glicosídeo (mg/100g)	
	T0	T90	T0	T90
GS	0,29 ^{aA} ± 0,00	0,26 ^{bA} ± 0,00	11,11 ^{aA} ± 0,07	9,89 ^{bA} ± 0,00
GK1	0,23 ^{aB} ± 0,01	0,22 ^{bB} ± 0,01	8,77 ^{aC} ± 0,30	8,26 ^{aB} ± 0,00
GK2	0,22 ^{aBC} ± 0,00	0,18 ^{bD} ± 0,00	8,36 ^{aC} ± 0,07	7,07 ^{bC} ± 0,00
GK3	0,21 ^{aC} ± 0,00	0,18 ^{bC} ± 0,00	8,15 ^{aC} ± 0,10	6,95 ^{bC} ± 0,00
GK	0,19 ^{aD} ± 0,00	0,17 ^{bD} ± 0,00	10,23 ^{aB} ± 0,02	6,72 ^{bC} ± 0,00

Médias (± desvio padrão) seguidas de letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem estatisticamente entre si, de acordo com o Test T (tempos - $p \leq 0,05$). Médias (± desvio padrão) seguidas de letras maiúsculas diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente entre si (formulações - $p \leq 0,05$), de acordo com o teste de Tukey ($p \leq 0,05$). GS (100% EHS), GK1 (75% EHS, 25% kefir), GK2 (50% EHS, 50% kefir), GK3 (25% EHS, 75% kefir) e GK (100% kefir).

5.5 Determinação de cor

Na tabela 7 são apresentados os resultados para os parâmetros de cor (L^* , a^* , b^* , C^* e H°) das formulações de gelados no tempo inicial e após 90 dias de armazenamento.

A coloração característica do pigmento antocianina é variável, podendo conferir ao produto cor rosa, vermelha ou azul, dependendo da fonte. Apesar de terem sido utilizadas concentrações iguais de casca de jaboticaba desidratada, a presença de kefir em diferentes proporções e suas consequências na composição do gelado, podem interferir na cor do produto, bem como em sua estabilidade.

As formulações GK2 e GS apresentaram as menores médias para L^* , porém, após 90 dias de armazenamento houve redução nesse parâmetro para GK1 e GK2, indicando que tais amostra eram mais escuras. Por outro lado, a amostra GK exibiu as maiores médias para L^* diferindo das demais formulações no T0.

Os valores para o parâmetro a^* foram positivos para todas as formulações, sinalizando predomínio da coloração vermelha. Os gelados GK e GK3 apresentaram as maiores médias para a^* , sem diferirem da GK1 no T0 e entre si durante os dois tempos avaliados. Somente a GK1 apresentou redução significativa nesse parâmetro após 90 dias de armazenamento.

O valor de b^* também foi positivo para todas as formulações, indicando tendência à cor amarela. No T0 houve diferença apenas entre as formulações GK3 e GK para esse parâmetro. Porém, após 90 dias de

armazenamento a GK2 apresentou redução significativa em b^* , diferindo das demais amostras.

O Croma (C^*) é um parâmetro quantitativo, relacionado à intensidade de cor percebida pelo olho humano. As amostras GK1, GK3 e GK apresentaram as maiores médias para esse parâmetro, sem diferirem entre si. No T90 houve redução no C^* para as formulações GK, GK1 e GK2 sendo que a formulação com adição de 50% de kefir (GK2) foi a mais instável. Cabe destacar que os valores para C^* foram baixos indicando que a intensidade de cor das amostras não era pronunciada.

O ângulo hue (h°) é considerado um atributo qualitativo da cor. No T0 as formulações GK e GK3 apresentaram os menores valores de h° , sem diferirem da GK1. No final do período de armazenamento, a GK1 apresentou a maior média de h° , diferindo das outras formulações. Tais resultados indicam que as formulações GK e GK3 (T0 e T90) e GS e GK2 (T0) são caracterizadas por coloração avermelhada, enquanto nas demais amostras prevaleceram à cor amarela.

Em geral, os resultados indicam que os gelados são caracterizados como escuras (baixa luminosidade), com coloração variando entre o vermelho e o amarelo (ângulo da matriz) e com baixa saturação. Entre as diferentes formulações de gelado avaliadas, GK1 e GK2 exibiram a menor estabilidade na cor durante o armazenamento e a preparada com 100% de kefir (GK) apresentou tendência à cor vermelha mais acentuada.

Tabela 7. Parâmetros instrumentais de cor (L*, a*, b*, C* e H°) dos gelados nos tempos 0 e 90 dias de armazenamento.

		Formulações			
		GS	GK1	GK2	GK3
L *	T 0	0,60 ^{ca} ± 0,12	0,84 ^{ba} ± 0,07	0,47 ^{ca} ± 0,08	0,91 ^{ba} ± 0,07
	T 90	0,59 ^{ba} ± 0,10	0,26 ^{cb} ± 0,22	0,32 ^{bcb} ± 0,06	1,02 ^{aa} ± 0,05
a *	T 0	0,15 ^{ba} ± 0,05	0,22 ^{abA} ± 0,07	0,15 ^{ba} ± 0,05	0,29 ^{abA} ± 0,04
	T 90	0,16 ^{abA} ± 0,06	0,05 ^{bb} ± 0,01	0,09 ^{ba} ± 0,05	0,20 ^{abA} ± 0,14
b *	T 0	0,27 ^{abA} ± 0,07	0,33 ^{abA} ± 0,02	0,33 ^{abA} ± 0,02	0,25 ^{ba} ± 0,08
	T 90	0,22 ^{aA} ± 0,04	0,25 ^{ab} ± 0,02	0,11 ^{bb} ± 0,03	0,23 ^{aA} ± 0,08
C *	T 0	0,31 ^{ba} ± 0,07	0,40 ^{abA} ± 0,04	0,36 ^{ba} ± 0,01	0,38 ^{abA} ± 0,08
	T 90	0,28 ^{aA} ± 0,05	0,26 ^{abB} ± 0,02	0,15 ^{bb} ± 0,03	0,25 ^{abA} ± 0,11
h °	T 0	60,78 ^{aA} ± 6,99	56,50 ^{abB} ± 7,97	65,47 ^{aA} ± 8,67	40,00 ^{ba} ± 7,50
	T 90	54,32 ^{ba} ± 11,38	78,71 ^{aA} ± 3,18	41,35 ^{bb} ± 8,06	53,50 ^{ba} ± 14,02

Médias (± desvio padrão) seguidas de letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem estatisticamente entre si, e letras maiúsculas diferentes na mesma coluna estatisticamente de acordo com o teste de Tukey ($p \leq 0,05$). GS (100% EHS), GK1 (75% EHS, 25% kefir), GK2 (50% EHS, 50% kefir), GK3 (25% EHS, 75% kefir) e GK (100% kefir).

5.6 Análises sensoriais

Os gelados foram submetidos a dois testes sensoriais: aceitação utilizando escala hedônica (Tabela 8) e *Check All That Apply* (CATA). As análises foram realizadas no produto recém-processado (T0) e no final do período de armazenamento (T90) e envolveram a participação de 115 consumidores não treinados (33 homens e 82 mulheres), com idades entre 18 e 59 anos, recrutados entre estudantes e funcionários da Faculdade de Ciências Farmacêuticas, UNESP – Araraquara.

No T0 as formulações GK e GK2 apresentaram as maiores médias de aceitação para o atributo sabor, não diferindo significativamente da GK3 e GS. Para os parâmetros aparência, cor e aroma não foram verificadas diferenças significativas ($p>0,05$) entre os gelados. Após 90 dias de armazenamento, não houve diferença entre as amostras para em relação ao aroma. A formulação GK continuou a apresentar as maiores médias hedônicas em relação aos demais atributos avaliados, sem diferir das formulações GK2 e GK3 em relação à cor e aparência e diferindo de todas as formulações em relação ao sabor. Destaca-se ainda que, na análise entre tempos, a amostra com 100 % de kefir (GK) foi a única que não exibiu redução na aceitação do atributo cor.

Tabela 8. Aceitação dos gelados no tempo inicial e após noventa dias de armazenamento.

Tempo	Formulações			
	GS	GK1	GK2	GK3
T0				
Aparência	6,73 ^{aa} ± 1,66	6,88 ^{aa} ± 1,67	7,09 ^{aa} ± 1,60	7,21 ^{aa} ± 1,37
Cor	6,75 ^{aa} ± 1,64	6,79 ^{aa} ± 1,56	7,02 ^{aa} ± 1,50	7,23 ^{aa} ± 1,36
Aroma	5,73 ^{aa} ± 1,62	5,63 ^{aa} ± 1,56	5,98 ^{aa} ± 1,44	5,90 ^{aa} ± 1,40
Sabor	5,57 ^{abA} ± 2,05	5,18 ^{ba} ± 1,98	5,92 ^{aa} ± 1,85	5,84 ^{abA} ± 1,91
				7,17 ^{aa} ± 1,58
				7,18 ^{aa} ± 1,48
				5,95 ^{aa} ± 1,67
				6,06 ^{ab} ± 2,12
T90				
Aparência	6,31 ^{ba} ± 1,86	6,28 ^{bb} ± 1,94	6,56 ^{abB} ± 1,67	6,69 ^{abB} ± 1,64
Cor	6,22 ^{bb} ± 1,87	6,24 ^{bb} ± 1,83	6,55 ^{abB} ± 1,71	6,59 ^{abB} ± 1,71
Aroma	5,90 ^{aa} ± 1,71	5,85 ^{aa} ± 1,51	5,84 ^{aa} ± 1,47	6,10 ^{aa} ± 1,54
Sabor	5,87 ^{ba} ± 1,98	5,02 ^{ca} ± 1,88	5,47 ^{bcA} ± 1,83	5,95 ^{ba} ± 1,70
				7,15 ^{aa} ± 1,59
				7,03 ^{aa} ± 1,62
				6,29 ^{aa} ± 1,65
				6,86 ^{aa} ± 1,94

Médias (± desvio padrão) seguidas de letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem estatisticamente entre si, e letras maiúsculas diferentes na mesma coluna estatisticamente de acordo com o teste de Tukey ($p \leq 0,05$). GS (100% EHS), GK1 (75% EHS, 25% kefir), GK2 (50% EHS, 50% kefir), GK3 (25% EHS, 75% kefir) e GK (100% kefir).

Na Figura 3 estão expressos os resultados de intenção de compra em porcentagem para as cinco formulações de gelado.

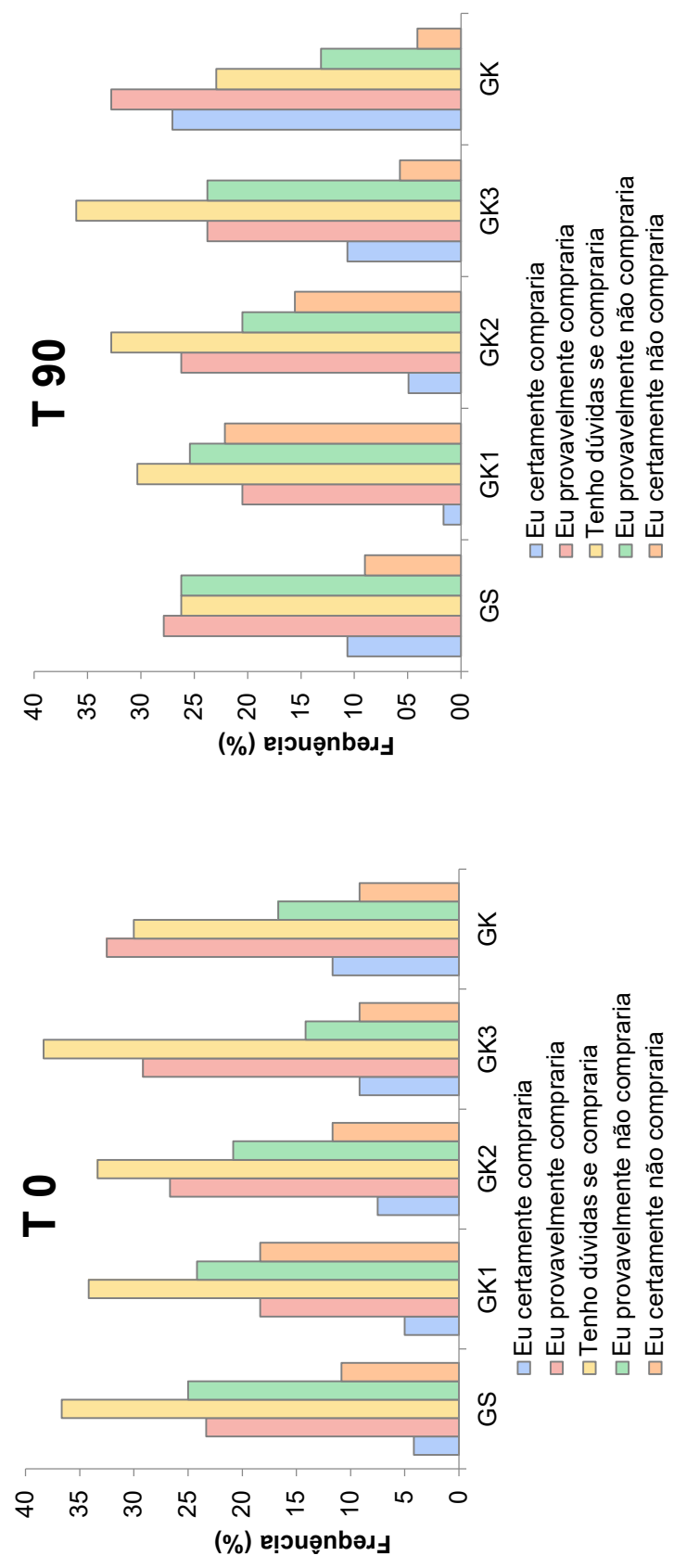


Figura 3. Frequência relativa de intenção de compra dos gelados processados no tempo inicial e final. GS (100% EHS), GK1 (75% EHS, 25% kefir), GK2 (50% EHS, 50% kefir), GK3 (25% EHS, 75% kefir) e GK (100% kefir).

As formulações GK, GK3 e GK2 obtiveram as maiores frequências de intenção de compra positiva (“certamente ou provavelmente comprariam os produtos”), nos tempos avaliados. Por outro lado, as amostras GS e GK1 apresentaram as maiores frequências de intenção de compra negativa “provavelmente ou certamente não compraria”. Esses resultados estão de acordo com os obtidos no hedônico, onde a formulação GS e GK1 exibiram as menores médias de aceitação para todos os atributos avaliados e a GK foi a mais bem aceita.

Check All That Apply (CATA)

A Tabela 9 mostra as frequências de cada um dos 24 atributos utilizados para descrever as formulações de gelado e os resultados do teste Q de Cochran no produto recém-processado (T0). Os atributos mais selecionados pelos consumidores foram: sabor de soja, sabor residual, sabor refrescante, sabor de jaboticaba natural e doce. O teste Q de Cochran evidenciou diferença significativa em seis dos 24 atributos analisados e todos são relacionados ao sabor das amostras, indicando a sua importância para a detecção de diferenças e caracterização dos gelados.

Tabela 9. Frequência dos atributos sensoriais e teste Q de Cochran associados a cada amostra dos gelados no tempo inicial (T0).

Atributos	FORMULAÇÕES					p
	GS	GK1	GK2	GK3	GK	
Doce	24	32	32	30	53	< 0,0001
Sabor de leite	22	19	30	26	16	0,065
Sabor de jaboticaba artificial	20	19	19	23	23	0,822
Sabor de jaboticaba natural	24	25	25	33	38	0,032
Textura cremosa	48	51	49	43	58	0,299
Textura macia	48	39	44	41	40	0,680
Sabor suave	42	36	49	41	40	0,413
Aguado	23	31	29	25	19	0,243
Gosto ácido	04	05	14	18	26	< 0,0001
Sabor refrescante	31	23	31	38	44	0,005
Aroma de baunilha	17	19	19	20	18	0,970
Aroma de fruta	22	18	13	22	23	0,240
Sabor residual	47	46	32	38	35	0,062
Sabor fermentado	26	28	24	29	27	0,890
Aroma artificial	10	14	12	09	10	0,695
Sabor de soja	77	69	57	58	55	0,001
Aspereza	37	38	31	40	35	0,649
Aroma ácido	03	03	05	08	05	0,380
Aroma fermentado	24	21	21	25	26	0,808
Sabor de iogurte	21	20	30	25	36	0,033
Adstringência	15	18	20	17	20	0,791
Cor de frutas roxas (<i>berries</i>)	44	42	42	39	45	0,805
Cor natural de jaboticaba	39	38	39	48	42	0,218
Cor atraente	42	37	47	47	50	0,138

n=24. $P \leq 0,05$ indica diferença significativa no teste Q de Cochran.

Na Figura 4, a análise de correspondência dos dados do CATA mostrou que a primeira e a segunda dimensões explicam 92,86% da variação do experimento. Nota-se que o teste estatístico utiliza somente os atributos mais citados, pois os com baixa frequência podem ter um impacto errado nos resultados (118). Os gelados foram posicionados em três grupos diferentes e obtiveram boa separação de atributos entre os três quadrantes.

As formulações GS e GK1 foram caracterizadas por sabor residual e sabor de soja, a GK3 por sabor refrescante, sabor de iogurte e a GK2 não obteve nenhuma relação com os termos descritores. A formulação GK, que exibiu a maior média absoluta para o atributo sabor, foi caracterizada por doce e sabor de jaboticaba natural, evidenciando as características importantes para o consumidor do produto.

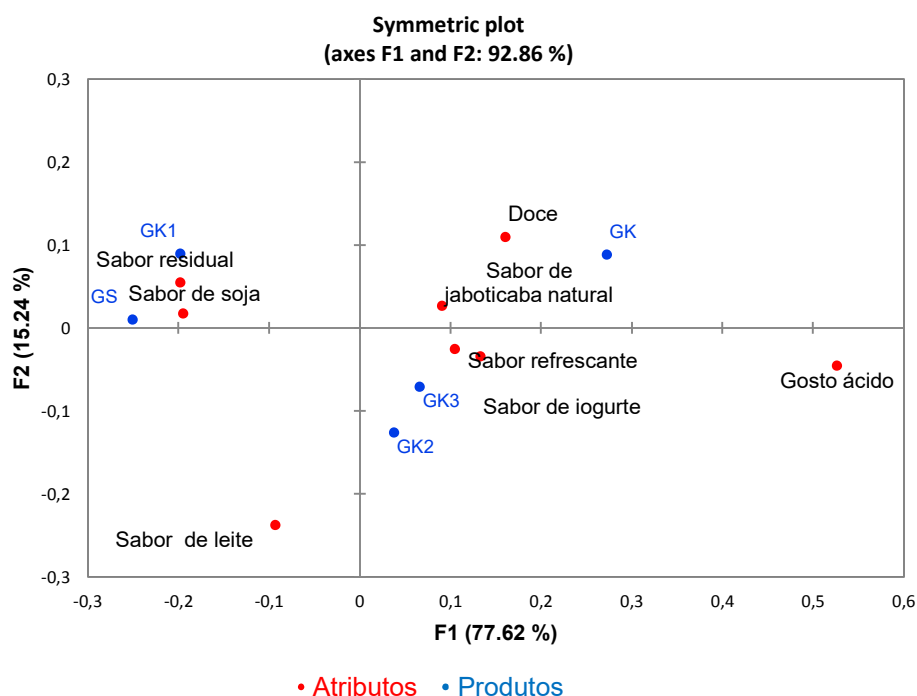


Figura 4. Análise de correspondência dos descritores sensoriais na análise CATA para o tempo inicial (T0).

Após 90 dias de armazenamento, o teste CATA foi novamente aplicado para identificar possíveis alterações sensoriais em função do tempo. Os resultados do teste Q de Cochran mostraram diferença significativa ($p < 0,05$) em 14 dos atributos analisados (Tabela 10). Os atributos doce, textura cremosa, sabor de soja, sabor de jaboticaba natural, aspereza, cor de frutas

roxas (*berries*) e cor atraente foram citados com maior frequência, evidenciando uma mudança no perfil sensorial das formulações durante o período de armazenamento.

Tabela 10. Frequência dos atributos sensoriais e teste Q de Cochran associados a cada amostra dos gelados do tempo final (T90).

Atributos	FORMULAÇÕES					p
	GS	GK1	GK2	GK3	GK	
Doce	50	26	28	40	75	< 0,0001
Sabor de leite	29	25	21	19	22	0,369
Sabor de jaboticaba artificial	22	22	25	26	19	0,702
Sabor de jaboticaba natural	32	25	31	43	50	< 0,0001
Textura cremosa	76	51	43	51	72	< 0,0001
Textura macia	53	40	43	38	47	0,182
Sabor suave	56	39	47	45	49	0,186
Aguado	15	39	36	38	16	< 0,0001
Gosto ácido	03	10	10	22	24	< 0,0001
Sabor refrescante	28	19	27	38	52	< 0,0001
Aroma de baunilha	28	27	27	21	24	0,694
Aroma de fruta	23	16	22	30	38	0,001
Sabor residual	39	44	45	40	30	0,115
Sabor fermentado	20	27	23	35	29	0,081
Aroma artificial	18	19	16	12	11	0,238
Sabor de soja	57	67	65	43	34	< 0,0001
Aspereza	31	41	44	49	37	0,044
Aroma ácido	03	06	05	09	09	0,225
Aroma fermentado	15	10	17	19	20	0,192
Sabor de iogurte	16	17	27	29	39	0,000
Adstringência	17	32	28	32	18	0,001
Cor de frutas roxas (<i>berries</i>)	47	41	57	48	56	0,002
Cor natural de jaboticaba	39	37	42	41	45	0,590
Cor atraente	26	29	37	44	53	< 0,0001

n=24. $P \leq 0,05$ indica diferença significativa no teste Q de Cochran.

A análise de correspondência múltipla dos dados do CATA (Figura 5) mostrou que a primeira e a segunda dimensões foram capazes de explicar

94,62% da variação entre as amostras. Os gelados foram posicionados em quatro quadrantes diferentes, sendo caracterizados por atributos distintos. A formulação GS foi caracterizada por textura cremosa; GK1 e GK2 por cor de frutas roxa (berries) e GK3 por sabor fermentado e cor atraente. Novamente a formulação com 100% de kefir (GK) apresentou perfil sensorial distinto, sendo associada a atributos desejáveis como: aroma de fruta, sabor refrescante, sabor de jaboticaba natural, cor atraente, sabor de iogurte.

A alteração no perfil descritivo gerado pelo CATA após 90 dias de armazenamento pode estar associada a alterações nas características físico-químicas de cor e teor de antocianinas, já que atributos sensoriais relacionados à cor não foram considerados importantes no produto recém-processado.

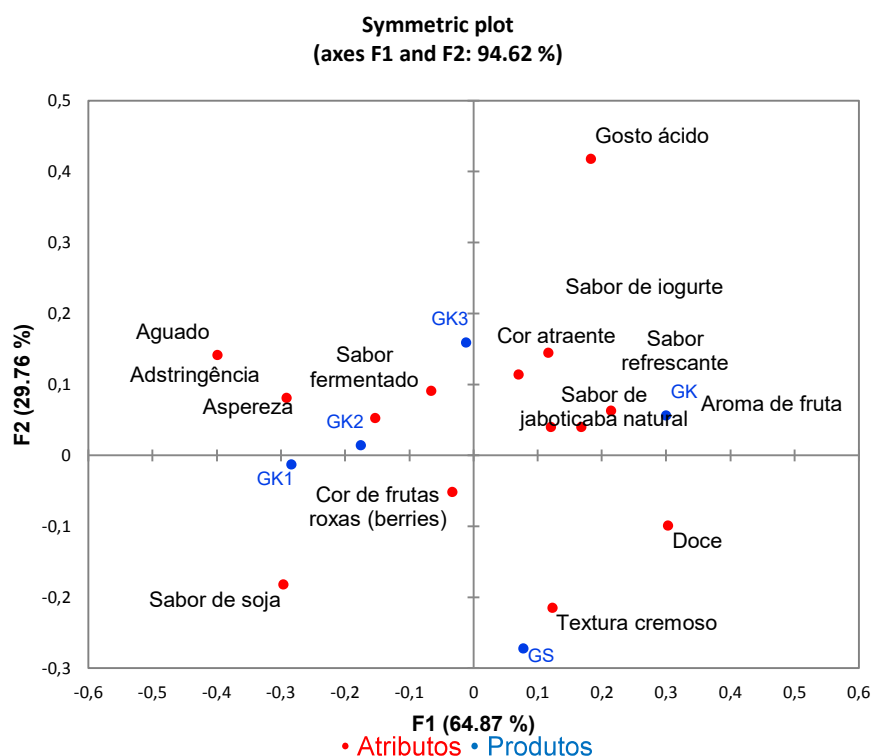


Figura 5. Análise de correspondência dos descritores sensoriais na análise CATA para o tempo final (T90).

6 CONCLUSÕES

Foi possível obter um gelado comestível vegetal, à base de kefir de soja, EHS e casca de jaboticaba, com características microbiológicas adequadas e propriedades sensoriais que atendem às expectativas do público alvo do produto. A utilização de EHS não interferiu no processo fermentativo para a obtenção do kefir e a viabilidade das cepas se manteve elevada durante o período de armazenamento. A adição de casca de jaboticaba conferiu cor característica e melhorou a capacidade antioxidante, e o perfil de antocianinas dos produtos. A formulação com 100 % de kefir (GK) apresentou o melhor perfil sensorial e a melhor resposta hedônica. O gelado comestível desenvolvido possibilitou a utilização de matérias-primas alternativas e o aproveitamento da casca de jaboticaba, um subproduto da indústria de sucos, para a obtenção de um produto com potencial funcional e que pode ser consumido por indivíduos com restrição de ingestão de lactose, proteína do leite ou alimentos de origem animal.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Avelar AE, Fatores de influência no consumo de alimentos e alimentação fora do lar. Tese de Mestrado. Universidade Federal de Lavras. 2010.
2. Food and Agriculture Organization. World Health Organization. Codex Standard for Fermented Milks. Washington. 2003;(243):8.
3. Romanin D, Serradell M, Maciel DG, Garrote GL, Rumbo. Down-regulation of intestinal epithelial innate response by probiotic yeasts isolated from kefir. *International Journal of Food Microbiol.* 2010;140(2-3):102–108.
4. Lee M, Ahn K, Kwon O, Kim M, Kim M, Lee I, et al. Anti-inflammatory and anti-allergic effects of kefir in a mouse asthma model. *Immunobiology.* 2007;212(8):647–654.
5. Rodrigues KL, Caputo LRG, Carvalho JCT, Evangelista J, Schneedorf JM. Antimicrobial and healing activity of kefir and kefir extract. *International Journal Antimicrobial Agents*, 2005;25(5):404–408.
6. Otles S, Çağındı Ö. Kefir: a probiotic dairy-composition nutritional and therapeutic aspects. *Pakistan Journal of Nutrition.* 2003;2(2):54–59.
7. Rosa DD, Dias MMS, Grzeskowiak LM, Reis AS, Conceição LL, Peluzio MCG. Milk Kefir: Nutritional, microbiological and health benedits. *Nutrition Research Reviews.* 2017;30:82–96.
8. Bensmira M, Nsabimana C, Jiang B. Effects of fermentation conditions and homogenization pressure on the rheological properties of kefir. *LWT-Food Science and Technology.* 2010;43:1180–1184.
9. Garofalo C, Osimani A, Milanović V, Aquilanti L, de Filippis F, Stellato G, et al. Bacteria and yeast microbiota in milk kefir grains from different Italian regions. *Food Microbiology.* 2015;49:123–133.

10. Kabak B, Dobson ADW. An introduction to the traditional fermented foods and beverages of Turkey. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2011;51:248–260.
11. Magalhães KT, Dragone G, Pereira GVM, Oliveira JM, Domingues L, Teixeira JÁ, et al. Comparative study of the biochemical changes and volatile compound formations during the production of novel whey-based kefir beverages and traditional milk kefir. *Food Chemistry*. 2011;126:249–253.
12. Schneedorf JM. Kefir D'Aqua and Its Probiotic Properties. In: *Probiotic in Animals*. InTech. 2012;53–76.
13. ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria nº 398, de 30 de abril de 1999. 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 da União*. 1999.
14. ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº. 241, de 26 de julho de 2018. Requisitos para comprovação da segurança e dos benefícios à saúde dos probióticos para uso em alimentos. *Diário Oficial da União*. 2018.
15. Buckley ND, Champagne CP, Masotti AI, Wagar LE, Tompkins TA, Green-Johnson JM. Harnessing functional food strategies for the health challenges of space travel – fermented soy for astronaut nutrition. *Acta Astronautica*. 2011;68:731–738.
16. Tseng YG, Xiong YL. Effect of inulin on the rheological properties of silken tofu coagulated with glucono-d-lactone. *Journal of Food Engineering*. 2009;90:511–516.
17. Góes-Favoni SP, Beléia ADP, Carrão-Panizzi MC, Mandarino JMG. Isoflavonas em produtos comerciais de soja. *Ciência e Tecnologia dos Alimentos*. 2004;24:582–586.

18. Dos Santos PA, Leite ND, Martins LSA, Lodete AR, Motta RG. Bebida fermentada a base de soja com sabor de ameixa e suplementada com inulina em substituição ao iogurte tradicional. *Veterinária e Zootecnia*. 2017;24(4):24–733.
19. Associação Brasileira das Indústrias de Sorvetes. Estatísticas. Produção e consumo de Sorvetes no Brasil [página na internet]. Disponível em: http://www.abis.com.br/estatistica_producaoconsumodesorvetesnobrasil.html [acesso em 01 outubro de 2019].
20. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº. 266, de 22 de setembro de 2005. Aprovado pelo Decreto 3.029, de 16 de abril de 1999 do Art. 111, do Regime Interno aprovado pela Portaria n. 593, de 25 de agosto de 2000, “Regulamento Técnico para Gelados Comestíveis e Preparados para Gelados Comestíveis”. Republicado no Diário Oficial da União, de 22 de dezembro de 2000. Brasília. 2005.
21. Haenlein GFW. Goat milk in human nutrition. *Small Ruminant Research*. 2004;51(2):155–163.
22. Cipriano PA. Antocianinas de açaí (*Euterpe oleraceae* Mart.) e casca de jabuticaba (*Myrciaria jabuticaba*) na formulação de bebidas isotônicas. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2011. Dissertação de mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos.
23. Chaitow L, Trenev N. Probiotics [página na internet]. 2002. [acesso em agosto de 2018]. Disponível em <http://www.natren.com>.
24. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Resolução nº. 05 de 13 de novembro de 2000. Padrão de identidade e qualidade de leites fermentados. Diário Oficial da União. Brasília. 2007.
25. Farnworth ER. Kefir – a complex probiotic. *Food Science e Technology Bulletin: Functional Foods*. 2005;2:1–17.

26. Tamime AY, Wszolek M, Muir DD, Barclay MNI. Properties of kefir made in Scotland and Poland using bovine, caprine and ovine milk with different starter cultures. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.* 2001;34:251–261.
27. Sarkar S. Potential of kefir as a dietetic beverage – a review. *British Journal of Nutrition.* 2007;109:280–290.
28. Satir G. Guzel-Seydimb Z.B. How kefir fermentation can affect milk composition. *Small Ruminant Research.* 2016;134(1):1–7.
29. Nielsen B. Gürakan GC. Ünlü G. Kefir: A multifaceted fermented dairy product. *Probiotics and Antimicrobial Proteins.* 2014;6:123–135.
30. Morais AAC. Silva AL. A soja: suas aplicações. Rio de Janeiro: Medsi. 1996; 259.
31. Tashima EH. Cardello HMAB. Perfil sensorial de extrato hidrossolúvel de soja (Glicine Max L. Merrill) comercial adoçado com sacarose e com sucralose. *Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos.* 2003;21(2).
32. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Embrapa soja [página na internet]. Soja em número (safra 2018/2019) [acesso em 01 jun 2019]. Disponível em: <https://www.embrapa.br/soja/cultivos/soja1/dados-economicos>.
33. CONAB. Acompanhamento da safra brasileira: grãos. Monitoramento agrícola – Safra 2018/2019. 2019 [acesso em 1 ago 2019]. 5:142. Disponível em: <http://www.conab.gov.br>.
34. Silva N, Junqueira VCA, Silveira NFA, Taniwaki MH, Santos RFS, Gomes RAR. Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos. 3. ed. São Paulo: Livraria Varela; 2007.
35. Cavallini DCU, Abdalla DSP, Vendramini RC, Bedani R, Bomdespacho LQ, Pauly-Silveira ND, et al. Effects of isoflavone-supplemented soy yogurt on lipid parameters and atherosclerosis development in hypercholesterolemic

- rabbits: a randomized double-blind study. *Lipids in Health and Disease*. 2009;8(1):40–50.
36. Penha LAO, Fonseca ICB, Mandarino JM, Benassi VT. A soja como alimento: valor nutricional, benefícios para a saúde e cultivo orgânico. *Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos*. 2007;25(1):91–102.
 37. Souza G, Valle JLE; Moreno I. Efeitos dos componentes da soja na alimentação humana. *Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos*. 2000;34(2):61–69.
 38. Bedani R, Miguel DP, Chaves IR, Jung EB, Oliveira PF, Guaglianoni DG, et al. Consumo de soja e seus produtos derivados na cidade de Araraquara-SP: um estudo de caso. *Alim Nutr*. 2007;18(1):27–34.
 39. Guerreiro L. Dossiê Técnico: Produtos de Soja. Rio de Janeiro: Rede de Tecnologia do Rio de Janeiro - REDETEC, Serviço Brasileiro de Respostas Técnicas – SBRT; 2006;25.
 40. De Oliveira JED, Scatena L, Netto NO, Duarte GG. The nutritive value of soya milk and cow's milk in malnourish children: a comparative study. *Jornal de Pediatria*. 1996;69:670.
 41. Fourreau D, Peretti N, Hengy B, Gillet Y, Courtil-Teyssedre S, Hess L, et al. Complications carentielles suite a l'utilisation de laits vegetaux, chez de nourrissons de deux mois et demi à 14 mois. *Presse Med*. 2012;42.
 42. Maia MJL, Rossi E, Carvalho MRB. Qualidade e rendimento do “leite” de soja da unidade de produção de derivados da soja. *Alimentos e nutrição*. 2006;17(1):65–72.
 43. Mello, MC. Efeito do descascamento e do pre-aquecimento do grão de soja no sabor e nos rendimentos de sólidos totais, proteínas e processo do extrato hidrossolúvel de soja, Rio de Janeiro. Itaguaí: Universidade Federal

- Rural do Rio de Janeiro, 1992. Dissertação de Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos.
44. Benedetti ACEP, Falcão DP. Monitoramento da qualidade higiênico sanitária no processamento do “leite” de soja na Unisoja, Araraquara, S.P. Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos. 2003;23:200–205.
 45. Wang SH, Biet KRA, Barros LM, Souza NL. Efeito da proporção soja: água e aquecimento sobre rendimento e qualidade protéica do leite de soja. Revista Pesquisa Agropecuária Brasileira. 1997;32(10).
 46. Abrahão PRS. Ocorrência de listeria monocytogenes e de outros microrganismos em gelados comestíveis fabricados e comercializados na região metropolitana de Curitiba, Paraná. Curitiba: Universidade Federal do Paraná, 2005. Dissertação de Mestrado em Microbiologia, Parasitologia e Patologia.
 47. Correia RTP, Magalhães MMA, Pedrini MRS, Cruz AVF, Clementino I. Sorvetes elaborados com leite caprino e bovino: composição química e propriedades de derretimento. Revista Ciência Agronômica. 2008;39(2):251–256.
 48. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC n.º 267, de 25 de setembro de 2003. Aprova o regulamento técnico de Boas Práticas de Fabricação para Estabelecimentos Industrializadores de Gelados Comestíveis e a lista de verificação das Boas Práticas de Fabricação para Estabelecimentos Industrializadores de Gelado Comestíveis. Diário Oficial da União. Brasília. 2003.
 49. Goff HD. Ice cream and frozen desserts. Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry. 2015;1–15.
 50. EUROGLACES. [página na internet]. European Ice Cream Association [acesso em 4 de maio de 2020]. Disponível em : <https://www.euroglaces.eu>

51. Santos MRVS. Análise crítica de um processo de fabrico de gelados artesanais. Lisboa: Universidade de Lisboa, 2019. Dissertação de Mestrado em Engenharia Alimentar.
52. Donadio LC. Jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba* (Vell. Berg). Jaboticabal: FUNEP. 2000;55.
53. Alezandro MR. Caracterização e biodisponibilidade de derivados de ácidos elágico da jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*). São Paulo: Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, 2013. Tese de Doutorado em Bromatologia.
54. Instituto de Economia Agrícola [página na internet]. Jaboticaba do Quintal para Produção de Mercado. [acesso em 9 de maio de 2020]. Disponível em: <http://www.iea.agricultura.sp.gov.br/out/TerTexto.php?codTexto=14735>
55. Inada KOP, Oliveira AA, Revoredo TB, Martins ABN, Lacerda ECQ, Freire AS et al. Screening of the chemical composition and occurring antioxidants in jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*) and jussara (*Euterpe edulis*) fruits and their fractions. J. Funct. Foods. 2015;(17):422–433.
56. Leite AV. Avaliação da composição e da capacidade antioxidante "in vivo" e "in vitro" de antocianinas da casca de jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba* (Vell.) Berg) liofilizada em ratos Wistar. Campinas: Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas, 2010. Dissertação de Mestrado em Alimentos e Nutrição.
57. Sato ACK, Cunha RL. Effect of particle size on rheological properties of jaboticaba pulp. Journal of Food Engineering. 2009;91(4):566–570.
58. Alezandro MR, Dubé P, Desjardins Y, Lajolo FM, Genovese MI. Comparative study of chemical and phenolic compositions of two species of jaboticaba: *Myrciaria jaboticaba* (Vell.) Berg and *Myrciaria cauliflora* (Mart.) O. Berg. Food Research International. 2013;54(1):468–477.

59. Cunha MG. Avaliação do efeito de extratos de compostos fenólicos da jabuticaba Sabará (*Myrciaria jaboticaba* (Vell.) Berg) administrados a camundongos C57BL/6 alimentados com dieta hiperlipídica com alto teor de sacarose. São Paulo: Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, 2016. Dissertação de Mestrado em Bromatologia.
60. Lenquist AS, Marineli RS, Moraes EA, Dionisio AP, Brito ES, Junior MRM. Jaboticaba peel and jaboticaba peel aqueous extract shows in vitro and in vivo antioxidant properties in obesity model, *Food Research International*. 2015;77(2):162–170.
61. Lin D, Xiao M, Zhao J, Li Z, Xing B, Li X, et al. An Overview of Plant Phenolic Compounds and Their Importance in Human Nutrition and Management of type 2 Diabetes. *Molecules*. 2016;21(10):1374.
62. Porfírio MCP, Gonçalves MS, Borges MV, Leite CXS, Santos MRC, Silva AG et al. Development of isotonic beverage with functional attributes based on extract of *Myrciaria jaboticaba* (Vell) Berg. *Food Science and Technology*. 2019.
63. Saito T, Martins-Madalão MC, Bernardes PC, Bosi MG, Della Lucia SM, Saraiva SH et al. Jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*) peel extract increases bioactive compounds in petit-suisse cheese. *International Food Research Journal*. 2019;26(1).
64. Albuquerque BR, Pinela J, Barros Lillian, Oliveira MBPP, Ferreira ICFR. Anthocyanin-rich extract of jaboticaba epicarp as a natural colorant: Optimization of heat-and ultrasound-assisted extractions and application in a bakery product. *Food Chemistry*. 2020;316:126364.
65. Alves APC, Correa AD, Oliveira FC, Isquierdo EP, Abreu CMP, Borém FM. Influence of drying temperature on the chemical constituents of jaboticaba

- (Plinia Jaboticaba (Vell.) Berg) skin. *Acta Scientiarum. Technology Maringá*. 2014;36(4):721–726.
66. Maia MJL, Rossi EA, Carvalho MRB. Qualidade e rendimento do "leite" de soja da unidade de produção de derivados da soja. Araraquara: Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual Paulista, 2006. Dissertação de Mestrado em Alimentos e Nutrição; 17(1):65–72.
 67. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº. 12, de 02 de janeiro de 2001. Aprova o regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. *Diário Oficial da União, Poder Executivo*, Brasília, DF. 2001.
 68. International Organization for Standardization. ISO 6579: Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection of *Salmonella* spp.. ISSO; 2002. 4.Ed:27. Alterado 1:15/07/2007.
 69. Herigstad B, Hamilton M, Heersink J. How to optimize the drop plate method for enumerating bacteria. *J Microbiol Methods*. 2001;44(2):121–9.
 70. Silva N, Junqueira VCA, Silveira NFA. Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos. São Paulo: Varela, 1997
 71. Instituto Adolfo Lutz. Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz: Métodos Químicos e Físicos para Análises de Alimentos. 4. Ed. Brasília: Ministério da Saúde. 2005; 1:1018.
 72. Fuchs RHB, Borsato D, Bona E, Haully MCO. Iogurte de soja suplementado com oligofrutose e inulina. *Ciência Tecnologia dos Alimentos*. 2005;25(1):175–181.
 73. Karaaslan M, Ozden M, Vardin H, Turkoglu H. Phenolic fortification of yogurt using grape and callus extracts. *LWT - Food Science and Technology*. 2011;44:1065–1072.

74. Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventós RM. Analysis of total phenols and other oxidantion substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzimology*. 1999;299:152-178.
75. Rufino MSM, Alves RE, Brito ES, Moraes SM, Sampaio CG, Pérez-Jiménez J et al. Comunicado Técnico on line. *Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre DPPH*. 2007;1679-6535.
76. Zanatta CF, Cuevas E, Bobbio FO, Winterhalter P, Mercadante AZ. Determination of anthocyanins from Camu-camu (*Myrciaria dubia*) by HPLC-PDA, HPLC-MS, and NMR. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2005;53(24):9531–9535.
77. Schimidt, H. (2018). *Caracterização físico-química, nutricional e de compostos bioativos de sete espécies da família Myrtaceae nativas da região sul do Brasil*. (Dissertação Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
78. Vargas EF, Jablonsky A, Flores SH, Rios AO. Pelargonidin 3-Glucoside Extraction from the Residue from Strawberry Processing (*Fragaria X Ananassa*), *Current Bioactive Compounds*. 2016;12(4) DOI: 10.2174/1573407212666160512120242.
79. Stone H, Sidel J. *Sensory evaluation practices*. 3. Ed. San Diego: Elsevier Academic Press; 2004. *Descriptive Analysis*.; p. 215-235.
80. Meilgaard MC, Civille GV, Carr BT. *Sensory Evaluation Techniques*. New York: Boca Raton. 2006; 4. Ed: p.276.
81. Hough G, Wakeling I, Mucci A, Chambers IV E, Gallardo IM, Alves LR. Number of consumers necessary for sensory acceptability tests. *Food Qual. Pref*. 2006;17:522.

82. Ares G, Varela P, Rado G, Giménez A. Identifying ideal products using three different consumer profiling methodologies. Comparison with external preference mapping. *Food Quality and Preference*. 2011;22:581-591.
83. Moskowitz HR. Product testing and sensory evaluation of foods. Westport: Food e Nutrition Press. 1983; p.605.
84. Santos DC, Oliveira Filho JG, Santana ACA, Freitas BSM, Silva FG, Takeuchi KP et al. Otimização da fermentação do leite de soja com kefir e adição de inulina: características físico-químicas, sensoriais e tecnológicas. *LWT -Ciência e Tecnologia de Alimentos*. Elsevier, mai/2019. Acesso em 01 novembro 2019.
85. Walter EHM, Carneiro MS, Felberg I, Oliveira DR, Costa SDO, Conte C. Comunicado Técnico. Obtenção de bebidas fermentadas por probióticos a partir de diferentes matérias-primas da soja. Embrapa Agroindústria de Alimentos. 2016.
86. Davidson RH, Duncan SE, Hackney CR, Eigel WN, Boling JW. Probiotic culture survival and implications in fermented frozen yogurt characteristics. *J. Dairy Sci*. 2000;83:666-673.
87. Gon RLR, Gonzales, RS, Sereia MJ. Aplicação e viabilidade de *L. acidophilus*, *Bifidobacterium* e *S. thermophilus* microencapsulados em frozen yogurt de soja. *Brazilian Journal of Food Research*. 2015;6(2):43–56.
88. Fernández LC. Desenvolvimento de sorvetes probióticos à base de extrato solúvel de soja. Lorena: Escola de Engenharia de Lorena da Universidade de São Paulo, 2015. Dissertação de Mestrado em Microbiologia Aplicada. p.86.
89. Cherubin RA. Efeitos da viabilidade da levedura e da contaminação bacteriana na fermentação alcoólica. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” da Universidade de São Paulo, 2003. Tese de Doutorado em Agronomia, área de concentração: Microbiologia Agrícola.

90. Hill C, Guarner F, Reid G, Gibson GR, Merenstein DJ, Pot B et al. Expert consensus document. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*. 2014;11(8):506-514.
91. Leite AMO, Leite DCA, Del Aguila EM, Alvares TS, Peixoto RS, Miguel MAL et al. Microbiological and chemical characteristics of Brazilian kefir during fermentation and storage processes. *Journal of Dairy Science*. 2013;96(7):4149–4159. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-6263>.
92. Peres MC. Microbiota e benefícios a saúde, quanto ao kefir como alimento funcional. *Revista FAROL*. 2019;8(8):451-470.
93. Bartnikowsky S, Pelegrini J, Olivo I, Ribeiro DHB, Chaves ACSD. Desenvolvimento e caracterização de iogurte concentrado simbiótico de jabuticaba com farinha de casca de jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*). In: Embrapa Agroindústria de Alimentos-Resumo em anais de congresso (ALICE). In: 24th Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos; 4th Congresso do Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia de Frutos Tropicais, 2014 Set 19-22; Aracaju, SE. Inovação e sustentabilidade em ciência e tecnologia de alimentos: resumos. [Campinas]: SBCTA.
94. Inada KOP, Duarte PA, Lapa J., Miguel MAL, Monteiro M. Suco de jabuticaba (*Myrciaria jaboticaba*) obtido por extração a vapor: perfil de compostos fenólicos, capacidade antioxidante, estabilidade microbiológica e aceitabilidade sensorial. *Jornal de Ciência e Tecnologia de Alimentos*. 2018;55(1):52-61. <http://dx.doi.org/10.1007/s13197-017-2769-3>. PMID: 29358795

95. Plaza M, Rodríguez-Meizoso I. Advanced Extraction Processes to Obtain Bioactives from Marine Foods. *Bioactive Compounds from Marine Foods*. 2013;343-371. <https://doi.org/10.1002/9781118412893.ch16>
96. Reynertson KA, Wallace AM., Adachi S, Gil RR, Yang H, Basile MJ et al. Bioactive depsides and anthocyanins from jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*). *Journal of Natural Products*. 2006;69(8):1228-1230.
97. Reynertson KA, Yang H, Jiang B, Basile MJ, Kennelly EJ. Quantitative analysis of antiradical phenolic constituents from fourteen edible Myrtaceae fruits. *Food Chemistry*. 2008;109(4):883-890
98. Tyug TS, Prasad KN, Ismail A. Antioxidant capacity, phenolics and isoflavones in soybean by-products, *Food Chemistry*. 2010;123(3):583-589.
99. Coda R; Lanera A; Trani A; Gobetti M; Cagno R. Yogurt-like beverages made of a mixture of cereals, soy and grape must: microbiology, texture, nutritional and sensory properties. *International Journal of Food Microbiology*. 2012;155:120–127.
100. Sabokbar N, Khodaiyan F. Total phenolic content and antioxidant activities of pomegranate juice and whey based novel beverage fermented by kefir grains. *International Journal of Food Science and Technology*. 2016;53:739–747.
101. Pletsch LBH, Severo J, Hermanns G, Preichardt LD. Gelado comestível de kefir adicionado de polpa de jaboticaba e morango. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*. 2019;74(1):223-234. DOI: 10.14295/2238-6416.v74i1.701.
102. Kirakosyan A, Seymour EM, Noon KR, Llanes DEU, Kaufman PB, Warber SL et al. Interactions of antioxidants isolated from tart cherry (*Prunuscerasus*) fruits. *Food Chemistry*. 2010;122:78-83.

103. Kahkonen MP, Hopia AI, Heinonen M. Berry phenolics and their antioxidant activity. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2001;49(8):4076-4082.
104. Inada KOP, Oliveira AA, Revoredo TB, Martins ABN, Lacerda ECQ, Freire AS et al. Screening of the chemical composition and occurring antioxidants in jabuticaba (*Myrciaria jaboticaba*) and jussara (*Euterpe edulis*) fruits and their fractions. *Journal of Functional Foods*. 2015;17:422–433.
105. Shimamoto GG, Rossi AV. Antocianinas e gelo seco para visualizar equilíbrios ácido/base numa abordagem contextualizada. *Educación Química*. 2010;7(3):31-36. DOI: 10.2436/20.2003.02.53.
106. De Paula AGP, Heemann ACW, Heemann R, De Lima CP. Avaliação da estabilidade das antocianinas do açaí no período de 28 dias em diferentes condições/Evaluation of the stability of the anthocyanins of açaí in the period of 28 days under different conditions. *Brazilian Journal of Health Review*. 2019;2(5):4811-4823.
107. Lamounier ML, Andrade FC, Mendonça CD, Magalhães MS. Desenvolvimento e caracterização de diferentes formulações de sorvetes enriquecidos com farinha da casca da jabuticaba (*Myrciaria Cauliflora*)/Development and characterization of ice cream enriched with different formulations flour jabuticaba bark (*Myrciaria cauliflora*). *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*. 2015;70(2):93–104.
108. Alves APC, Marques TR, Carvalho TCL, Pinheiro CM, Ramos EM, Corrêa AD. Elaboration and acceptability of restructured hams added with jabuticaba skin. *Food Science and Technology*. 2017;37(2).
109. Pereira EPR, Cavalcanti RN, Esmerino EA, Silva R, Guerreiro LRM, Cunha RL et al. Effect of incorporation of antioxidants on the chemical, rheological, and sensory properties of probiotic petit suisse cheese. *Journal of Dairy Science*. 2016;99(3):1–11.

110. Kassada AT, Januario JGB, Paraíso CM, Madrona GS. Efeitos da adição de colágeno hidrolisado e farinha da casca da jabuticaba na textura do iogurte grego desenvolvido. In: Anais do 11th Encontro Internacional de Produção Científica [eletrônico]; 2019 Out 29-30; Maringá, PR. Disponível em: <http://rdu.unicesumar.edu.br/handle/123456789/3991>
111. Almeida PL, Lima SN, Costa LL, Oliveira CC, Damasceno KA, Santos BA et al. Effect of jabuticaba peel extract on lipid oxidation, microbial stability and sensory properties of Bologna-type sausages during refrigerated storage. *Meat Science*. 2015;110:9–14.
112. Baldin JC, Michelin EC, Polizer YJ, Rodrigues I, Godoy SHS, Fregonesi RP et al. Microencapsulated jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) extract added to fresh sausage as natural dye with antioxidant and antimicrobial activity. *Meat Science*. 2016;118:15–21.
113. Leonídio ARA. Utilização do extrato etanólico de jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) no controle de *Salmonella Heidelberg* na produção de frangos de corte. Goiânia: Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás, 2018. Tese de Doutorado em Ciência Animal.
114. Rodrigues MAV, Bertolo MRV, Marangon CA, Martins VCA, Plepis AMG. Chitosan and gelatin materials incorporated with phenolic extracts of grape seed and jabuticaba peel: Rheological, physicochemical, antioxidant, antimicrobial and barrier properties. *International Journal of Biological Macromolecules*. Forthcoming 2020;160:769–779.
115. Ferreira PR, Marins JCB, Oliveira LL, Bastos DSS, Junior DTS, Silva CD et al. Beverage based on whey permeate with phenolic extract of jabuticaba peel: A pilot study on effects on muscle and oxidative stress in trained individuals. *Journal of Functional Foods*. 2020;65:103749.

116. Hellström J, Mattila P, Karjalainen R. Stability of anthocyanins in berry juices stored at different temperatures. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2013;31(1):12-19.
117. Araújo AC. Obtenção e estabilidade de corante de antocianinas extraídas do repolho roxo (*Brassica oleracea*). Campina Grande: Centro de Tecnologia e Recursos Naturais da Universidade Federal de Campina Grande, 2019. Dissertação de Mestrado em Engenharia Agrícola.
118. Popper R, Abdi H, Williams A, Kroll BJ. Multi-Block Hellinger Analysis for Creating Perceptual Maps from Check-All-That-Apply Questions. 9th Rose-Marie Sensory Science Symposium; 2011 Sep 7; Toronto, ON, Canada.

APÊNDICE 1. FICHA DE TESTE DE ACEITABILIDADE

Prove a amostra e indique sua opinião em relação à aparência, cor, aroma e sabor, utilizando a escala abaixo:

AMOSTRA: _____

- 9 - Gostei muitíssimo
- 8- Gostei muito
- 7- Gostei moderadamente
- 6- Gostei ligeiramente
- 5- Indiferente
- 4- Desgostei ligeiramente
- 3- Desgostei moderadamente
- 2- Desgostei muito
- 1- Desgostei muitíssimo

Aparência: _____

Cor: _____

Aroma: _____

Sabor: _____

Assinale qual seria sua atitude em relação à compra do produto:

- () Eu certamente compraria este produto.
- () Eu provavelmente compraria este produto.
- () Tenho dúvidas se compraria este produto.
- () Eu provavelmente não compraria este produto.
- () Eu certamente não compraria este produto.

APÊNDICE 2. FICHA DO TESTE CHECK ALL THAT APPLY (CATA)

Nome: _____ Data: _____

Amostra: _____

Você está recebendo uma amostra de gelato. Coloque uma quantidade que julgar necessária na boca e anote todos os atributos que descrevam as características do produto:

- | | |
|---|---|
| ☐ Doce | ☐ Sabor residual |
| ☐ Sabor de leite | ☐ Sabor fermentado |
| ☐ Sabor de jaboticaba artificial | ☐ Aroma artificial |
| ☐ Sabor de jaboticaba natural | ☐ Sabor de soja |
| ☐ Textura cremoso | ☐ Aspereza |
| ☐ Textura macia | ☐ Aroma ácido |
| ☐ Sabor suave | ☐ Aroma fermentado |
| ☐ Aguado | ☐ Sabor de iogurte |
| ☐ Gosto ácido | ☐ Adstringência |
| ☐ Sabor refrescante | ☐ Cor de frutas roxas
(Berries) |
| ☐ Aroma de baunilha | ☐ Cor natural de jaboticaba |
| ☐ Aroma de fruta | ☐ Cor Atraente |

APÊNDICE 3. TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Eu _____, RG _____, Estado
Civil _____, Idade _____ anos, Residente na _____, nº
_____, Bairro _____, Cidade _____, Telefone _____,

Declaro ter sido esclarecido sobre os seguintes pontos:

1. O trabalho tem por finalidade o desenvolvimento de um gelado (sorvete) com potencial de conferir benefícios à saúde do consumidor. O sorvete será obtido a partir de “leite” de soja, kefir e jaboticaba.
2. A minha participação nesse trabalho irá colaborar para o desenvolvimento do produto em questão, oferecendo novas opções de produtos mais saudáveis para o consumidor.
3. A minha participação como voluntário terá a duração máxima de 30 minutos e deverei informar o quanto gosto ou desgosto do produto e indicar as suas principais características, utilizando fichas apropriadas. As análises sensoriais serão realizadas uma vez por mês, durante 90 dias (totalizando três sessões).
4. Ao participar dessa pesquisa serei submetido a riscos mínimos, pois o produto será obtido com ingredientes que já fazem parte da dieta da maioria da população. Além disso, os produtos serão submetidos a análises para comprovar sua segurança. No entanto, ressaltamos que alguns componentes do produto, tais como o kefir, a soja e a jaboticaba podem, eventualmente, causar alguma reação alérgica ou desconforto intestinal em indivíduos que possuem sensibilidade a tais componentes. Nesse caso, o voluntário poderá se retirar da pesquisa no momento em que observar os primeiros sinais de uma possível alergia. Destacamos que no momento do recrutamento os voluntários responderão um questionário onde será possível identificar alergias e intolerâncias alimentares pré-existentes.
5. Todas as vezes que houver necessidade de retorno, voltarei à Faculdade de Ciências Farmacêuticas do Câmpus de Araraquara da UNESP.
6. Não terei despesas de transporte para participar desse estudo, uma vez que as análises serão realizadas no Laboratório de Análise Sensorial da FCF – Araraquara, em horários de aula e/ ou expediente normal de

trabalho. Destacamos que os voluntários serão recrutados entre alunos e funcionários da FCF.

7. Meu nome será mantido em sigilo, assegurando assim a minha privacidade e se desejar, serei informado sobre os resultados dessa pesquisa.
8. Poderei me recusar a participar ou mesmo retirar meu consentimento a qualquer momento da realização dessa pesquisa, sem nenhum prejuízo ou penalização;
9. Qualquer dúvida ou solicitação de esclarecimentos poderá entrar em contato com a equipe científica do projeto pelo telefone (Laboratório de Pesquisa em Probióticos: 3301-6932 / Giovana Maria Navarro de Mendonça).
10. Para notificação de qualquer situação, relacionada com a ética, que não puder ser resolvida pelos pesquisadores deverei entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Farmacêuticas do Câmpus de Araraquara da UNESP, pelo telefone (0XX16) 3301-6897.

Diante dos esclarecimentos prestados, concordo em participar, como voluntária (o), do estudo “Desenvolvimento de gelado comestível á base de extrato aquoso de soja, kefir e jaboticaba”.

Araraquara, ____/____/____

Assinatura do Voluntário

Assinatura do Pesquisador