

**Efeito do tempo de armazenamento na qualidade da bebida láctea fermentada de café
com atividade probiótica**

**Storage time effect on the quality of fermented milk beverage with coffee and probiotic
activity**

**Efecto del tiempo de almacenamiento sobre la calidad de la bebida láctica fermentada
con café con actividad probiótica**

Recebido: 30/11/2020 | Revisado: 06/12/2020 | Aceito: 09/12/2020 | Publicado: 13/12/2020

Aline Prudente Marques

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5027-5000>

Universidade Federal de Lavras, Brasil

E-mail: aline_prudente@yahoo.com.br

Larissa de Oliveira Ferreira Rocha

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6321-3546>

Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Brasil

E-mail: larissa.rocha@ict.ufvjm.edu.br

Maria Emília de Sousa Gomes

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2338-2684>

Universidade Federal de Lavras, Brasil

E-mail: maria.emilia@ufla.br

Carlos José Pimenta

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9520-4855>

Universidade Federal de Lavras, Brasil

E-mail: carlospimenta@dca.ufla.br

Resumo

Este trabalho foi realizado com o objetivo de otimizar uma formulação e verificar o efeito do tempo de armazenamento nas características de qualidade da bebida láctea fermentada de café com microrganismos probióticos. Foi utilizado um fatorial completo 2^3 , com dois níveis (± 1) e três pontos centrais (0), totalizando 11 formulações. Após otimização da formulação, foram realizadas análises de acidez, viabilidade da cultura probiótica (*Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium animalis*), aceitação e microbiológica nos diferentes tempos de armazenamento a 4°C (0, 7, 14, 21 e 28 dias). Os resultados revelaram que a concentração de

soro não interferiu na aceitação do produto. As amostras 2, 3 e 4 apresentaram índice de aceitabilidade acima de 70%, sendo a amostra 4 escolhida para avaliar seu comportamento ao longo do armazenamento. O tempo de armazenamento não influenciou significativamente ($p>0,05$) na acidez e na aceitação sensorial. As bebidas atenderam aos padrões microbiológicos preconizados pela legislação. O produto manteve a atividade probiótica para *L. acidophilus* até o final do armazenamento, demonstrando que a bebida láctea constitui um importante veículo para inoculação de bactérias probióticas.

Palavras-chave: Soro lácteo; Teste de aceitação; *Lactobacillus acidophilus*; *Bifidobacterium animalis*.

Abstract

This work was carried out with the objective of optimizing a formulation and verifying the effect of the storage time on the quality characteristics of the fermented milk beverage with coffee and probiotic microorganisms. A complete factorial 2^3 was used, with two levels (± 1) and three central points (0), totaling 11 formulations. After optimizing of the formulation, analyzes of acidity, viability of the probiotic culture (*Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium animalis*), acceptance and microbiological in different storage times at 4°C (0, 7, 14, 21 and 28 days) were performed. The results revealed that the whey concentration did not interfere with the acceptance of the product. Samples 2, 3 and 4 showed an acceptability index above 70%, with sample 4 being chosen to evaluate its behavior during storage. The storage time did not significantly influence ($p> 0.05$) on acidity and sensory acceptance. The beverages met the microbiological standards recommended by the legislation. The product maintained the probiotic activity for *L. acidophilus* until the end of the storage, demonstrating that the milk beverage constitutes an important vehicle for inoculation of probiotic bacteria.

Keywords: Whey; Acceptance test; *Lactobacillus acidophilus*; *Bifidobacterium animalis*.

Resumen

Este trabajo se llevó a cabo con el objetivo de optimizar una formulación y verificar el efecto del tiempo de almacenamiento sobre las características de calidad de la bebida de café con leche fermentada con microorganismos probióticos. Se utilizó un factorial completo 2^3 , con dos niveles (± 1) y tres puntos centrales (0), totalizando 11 formulaciones. Después de optimizar la formulación, se realizaron análisis de acidez, viabilidad del cultivo de probióticos (*Lactobacillus acidophilus* y *Bifidobacterium animalis*), pruebas de aceptación y

microbiológicas en diferentes tiempos de almacenamiento a 4°C (0, 7, 14, 21 y 28 días). Los resultados revelaron que la concentración de suero no interfirió con la aceptación del producto. Las muestras 2, 3 y 4 presentaron un índice de aceptabilidad superior al 70%, eligiéndose la muestra 4 para evaluar su comportamiento durante el almacenamiento. El tiempo de almacenamiento no influyó significativamente ($p > 0.05$) en la acidez y la aceptación sensorial. Las bebidas cumplieron con los estándares microbiológicos recomendados por la legislación. El producto mantuvo la actividad probiótica para *L. acidophilus* hasta el final del almacenamiento, demostrando que la bebida láctica constituye un vehículo importante para la inoculación de bacterias probióticas.

Palabras clave: Suero; Prueba de aceptación; *Lactobacillus acidophilus*; *Bifidobacterium animalis*.

1. Introdução

As bebidas lácteas fermentadas são caracterizadas por produtos de baixa acidez, viscosidade e alto valor nutritivo, pois se trata de um alimento rico em cálcio, proteínas e vitaminas. Adicionadas de polpa de frutas e aromas, obtém-se um sabor fresco e textura agradável (Tebaldi, 2005). Atraídos pela possibilidade de optar por benefícios adicionais à saúde, os consumidores tendem a escolher produtos funcionais em substituição aos tradicionais, estimulando a expansão do mercado desse tipo de produto. A indústria de laticínios, em particular, encontrou nas culturas probióticas uma ferramenta para o desenvolvimento de novos produtos (Saad et al., 2011). Estudos demonstram a possibilidade de incorporação de bactérias probióticas em bebidas lácteas (Andrade, et al., 2019) iogurtes (Jayamanne & Adams, 2006) e leites fermentados (Casarotti, et al., 2014).

Probióticos são microrganismos vivos que, quando administrados em concentrações adequadas, conferem benefícios à saúde daqueles que o consomem, bem como aumentam ativamente o balanço da microbiota no intestino (FAO/WHO, 2002).

Lactobacillus acidophilus e *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* são as bactérias ácido-láticas mais frequentemente usadas como probióticos. Essas bactérias crescem lentamente no leite porque não possuem atividade proteolítica essencial e, por esse motivo, são geralmente combinadas com o *Streptococcus thermophilus*. *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* são também amplamente utilizados nessas combinações devido à sua formação ácida e produção de substâncias aromáticas como o acetaldeído (Casarotti, et al., 2014).

Lactobacillus acidophilus, contribuem para o equilíbrio da microbiota intestinal,

produzem ácido láctico, ácido acético, etc. (Yerlikaya, 2014). *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* promovem vários efeitos relacionados à saúde, incluindo resistência a microrganismos patogênicos (Mota, et al., 2015).

O café é um produto de grande importância para a economia nacional e fortemente presente no hábito alimentar dos brasileiros. Diferentes constituintes do café têm sido sugeridos como potencialmente quimioprotetores. A cafeína é o mais conhecido devido às suas propriedades fisiológicas e farmacológicas. Os ácidos clorogênicos constituem os principais e mais abundantes compostos fenólicos com propriedades antioxidantes no café (Monteiro & Trugo, 2005).

Diante das tendências de sustentabilidade do mercado e da possibilidade de agregar valor funcional a um novo produto, este trabalho teve como objetivo desenvolver e verificar o efeito do tempo de armazenamento refrigerado nas características de qualidade da bebida láctea fermentada a partir de microrganismos probióticos, utilizando como matérias-primas soro de leite e café solúvel como nova opção de sabor.

2. Metodologia

Este estudo é quantitativo, pesquisa experimental realizada através de amostragem, produzindo assim resultados numéricos precisos e seguros (Pereira, et al., 2018). A obtenção das bebidas lácteas fermentadas e as análises foram realizadas nos laboratórios do Departamento de Ciência dos Alimentos, na Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais.

2.1 Obtenção das Bebidas Lácteas Fermentadas de Café

Foram elaboradas 11 formulações de bebida láctea, conforme delineamento experimental fatorial completo, do tipo composto central, envolvendo 3 variáveis independentes (proporção soro/leite, açúcar e café solúvel). A Tabela 1 apresenta os níveis das variáveis independentes, compreendendo os pontos inferior (-1), superior (+1) e central (0). Para cada ensaio, o produto foi elaborado a partir da mistura de leite em pó semidesnatado reconstituído (Itambé®, Pará de Minas, Brasil), soro lácteo proveniente da fabricação de queijo Minas frescal (Indústria de Laticínios Verde Campo, Lavras, Brasil) (20, 35 e 50%), sacarose (marca Monte Alegre) (9, 10.5 e 12%), estabilizante Estabigem 073 (Gemacon®, Juiz de Fora, Brasil) (1%), cultura láctica mista probiótica ABT 4 contendo *Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium animalis* e *Lactobacillus acidophilus* (Chr-

Hansen®, Valinhos, Brasil) (0,2%) e café solúvel (Nescafé®, Brasil) (0,2, 0,5 e 0,8%). A mistura de soro, leite, açúcar e estabilizante foi submetida a tratamento térmico (90 °C por 5 minutos, sob agitação constante) e imediatamente resfriada até a temperatura de inoculação (42-45 °C). Foi adicionado o inóculo, constituído por cultura mista probiótica. O volume de cultura utilizado seguiu as recomendações do fabricante para a obtenção de um produto com características probióticas. A fermentação foi conduzida em estufa à 43°C até pH 5,0. Finalizada esta etapa, o produto foi resfriado (12 °C) e procedeu-se o rompimento do coágulo e adição do café solúvel. Posteriormente o produto foi envasado em garrafas de polietileno de alta densidade (500 mL).

Tabela 1. Matriz do planejamento fatorial 2³ com as variáveis codificadas e reais e o índice de aceitabilidade das 11 formulações de bebida láctea fermentada de café.

Formulações	Variáveis codificadas*			Variáveis reais			Índice de aceitabilidade
				Soro/Leite % (v/v)	Açúcar % (m/v)	Café Solúvel % (m/v)	
1	-1	-1	-1	20/80	9	0,20	67,76
2	1	-1	-1	50/50	9	0,20	70,15
3	-1	1	-1	20/80	12	0,20	74,73
4	1	1	-1	50/50	12	0,20	73,86
5	-1	-1	1	20/80	9	0,80	61,52
6	1	-1	1	50/50	9	0,80	61,76
7	-1	1	1	20/80	12	0,80	58,61
8	1	1	1	50/50	12	0,80	60,57
9	0	0	0	35/65	10,50	0,50	68,85
10	0	0	0	35/65	10,50	0,50	65,14
11	0	0	0	35/65	10,50	0,50	67,97

*Os limites máximos e mínimos para as variáveis foram determinados por meio de pré-testes sensoriais.

Fonte: Autores.

2.2 Otimização

Teste de aceitação: a otimização da formulação foi realizada através de teste de aceitação com 51 consumidores, entre funcionários e alunos da Universidade Federal de Lavras. A avaliação foi conduzida em cabines individuais e sob luz branca. Foram servidos monadicamente e de forma balanceada (Wakeling & Macfie, 1995), 30 mL de amostra (temperatura ± 10 °C) em copos descartáveis de 50 mL, codificados com números de três dígitos. Para avaliação das amostras em relação aos atributos aparência, aroma, sabor, textura e impressão global, foi utilizado uma escala hedônica de nove pontos (1 – desgostei extremamente e 9 – gostei extremamente) (Minim, 2010). Para evitar a fadiga sensorial dos consumidores, o teste foi dividido em três sessões.

Análise microbiológica do produto: foram realizadas análises de coliformes a 30 °C e coliformes a 45 °C, pela análise do número mais provável (NMP), conforme metodologias descritas na Instrução Normativa (IN) nº 62. (Brasil, 2003).

2.3 Efeito do Tempo de Armazenamento nas Características da Bebida

Visando garantir a qualidade higiênico-sanitária do produto, em cada tempo de armazenamento, foram realizadas análises de coliformes a 30 °C e coliformes a 45 °C, pela análise do número mais provável (NMP), conforme IN nº 62 (Brasil, 2003).

Para avaliar o efeito do tempo de armazenamento a 4 °C (0, 7, 14, 21 e 28 dias) nas características da bebida, foram determinadas a acidez titulável, a viabilidade das culturas probióticas e a aceitação.

Acidez: a acidez foi determinada por titulometria com solução de hidróxido de sódio (NaOH) 0,1N, utilizando como indicador a fenolftaleína, sendo o resultado expresso em porcentagem de compostos com caráter ácido, como o ácido láctico, conforme Instituto Adolfo Lutz, 2008.

Viabilidade da cultura probiótica: a viabilidade dos microrganismos probióticos *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium animalis* foram avaliados utilizando Ágar MRS (Man Rogosa and Sharpe). Para a contagem de *L. acidophilus* o MRS foi modificado com adição de solução de maltose 10%, de acordo com metodologia adaptada descrita por Silva et al. (2010). Para a quantificação de *B. animalis* o MRS foi modificado com adição de 0,2% (m/v) de cloreto de lítio e 0,3% (m/v) de propionato de sódio segundo Vinderola e

Reinheimer (1999). Para ambos os microrganismos as placas foram incubadas em anaerobiose (Anaerobac ®, Brasil) a 37 °C por 72 h.

Aceitação: o teste de aceitação foi realizado com 120 consumidores, entre funcionários e alunos da Universidade Federal de Lavras. A avaliação foi conduzida em cabines individuais e sob luz branca. Foram servidos 30 mL de amostra (temperatura \pm 10 °C) em copos descartáveis de 50 mL, codificados com números de três dígitos. Foi utilizada uma escala hedônica de nove pontos (1 – desgostei extremamente e 9 – gostei extremamente) (Minim, 2010) para avaliação do aspecto global das bebidas lácteas.

2.4 Análise Estatística

Avaliou-se os efeitos das variáveis independentes (%soro, %açúcar e %café) sobre as variáveis dependentes (aparência, aroma, sabor, textura e impressão global), por meio da análise de Pareto. As análises estatísticas foram realizadas no programa estatístico SiSMapp versão 2.0. O Índice de Aceitabilidade (IA) foi calculado em função dos resultados de impressão global através de metodologia utilizada por Bispo et al. (2004). Para avaliar o efeito do tempo nas características da bebida, os resultados da análise de acidez, viabilidade da cultura probiótica e aceitação foram submetidos à análise de variância (ANOVA). O processamento dos dados foi realizado no software Sisvar.

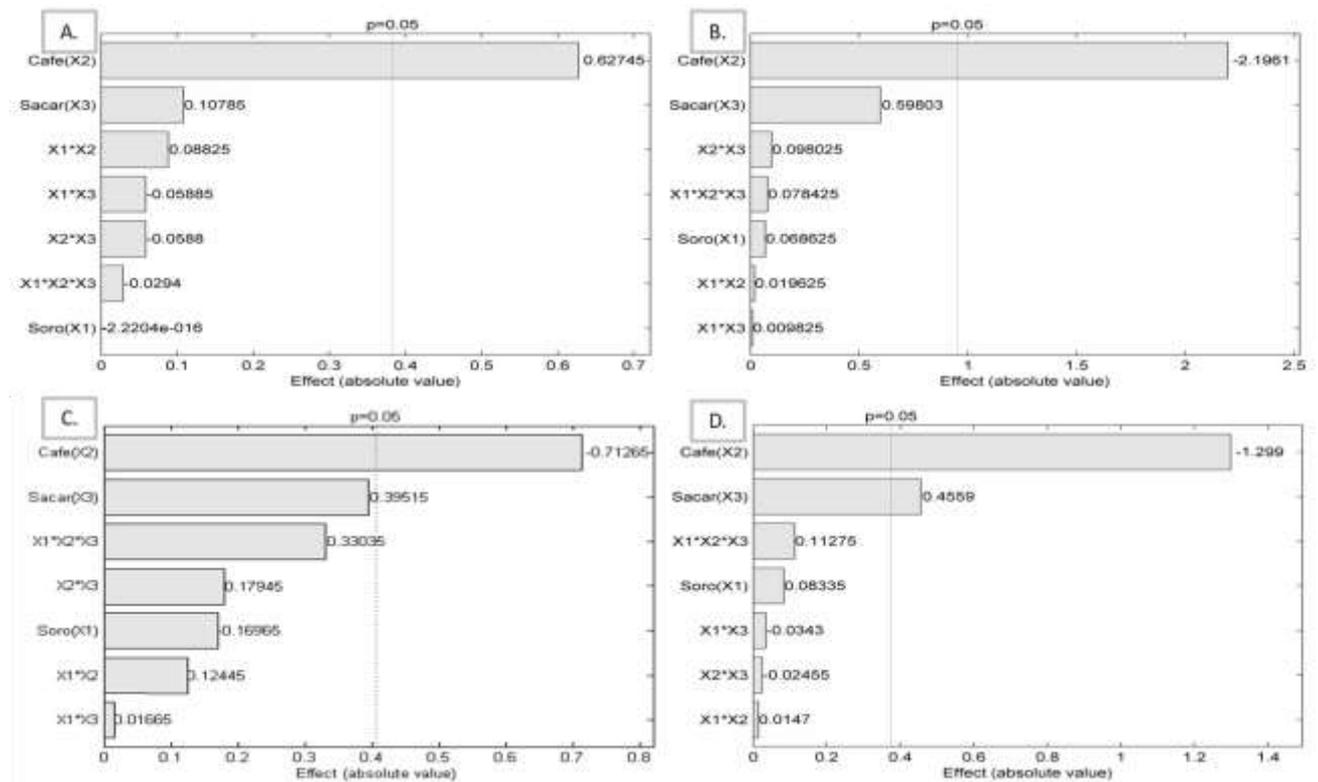
3. Resultados e Discussão

3.1 Otimização

O Regulamento técnico de identidade e qualidade de bebida láctea através da Instrução Normativa nº 16 de 2005 (Brasil, 2005) estabelece que, para a bebida láctea fermentada sejam realizadas análises de coliformes a 30 °C e coliformes a 45 °C. Portanto, imediatamente, após sua fabricação e antes da sensorial foram realizadas as análises de coliformes das onze formulações de bebida láctea fermentada de café, as quais atenderam aos padrões microbiológicos preconizados pela legislação, apresentando contagem de coliformes abaixo de 3,0 NMP MI-1.

Na Figura 1 são apresentados os resultados da análise de Pareto sobre os atributos aroma, sabor, textura e impressão global das 11 formulações da bebida láctea.

Figura 1. Análise da influência das variáveis soro, açúcar e café solúvel (PARETO) sobre os atributos aroma (A.), sabor (B.), textura (C.) e impressão global (D.) das 11 formulações de bebida láctea fermentada sabor café.



Fonte: Autores.

Na Figura 1, são apresentados os resultados da influência da variável soro, açúcar, café solúvel e suas interações (PARETO) sobre os atributos aroma, sabor, textura e impressão global das 11 formulações de bebida láctea. No eixo y de cada gráfico são apresentadas as variáveis analisadas e suas interações. O eixo x refere-se ao efeito causado no produto para cada variável analisada ao nível de 5% de significância. Ou seja, quando a variável apresentar efeito após o valor de $p=0,05$ (demonstrado no gráfico), há efeito significativo, podendo este ser positivo ou negativo.

Os resultados (Figura 1) revelaram que a adição de café influenciou negativamente nos atributos sensoriais de sabor (Figura 1B), textura (Figura 1C) e impressão global (Figura 1D), portanto, quanto maior a concentração de café nas amostras avaliadas, menor foi a aceitação. O açúcar apresentou influência positiva na impressão global (Figura 1D), indicando que quanto maior a concentração de açúcar, maior a aceitação das amostras pelos consumidores em relação ao aspecto global do produto. Para o atributo aroma, a concentração de café solúvel apresentou influência positiva (Figura 1A). Somente para o atributo aparência, as

variáveis independentes não exerceram efeito significativo. O soro não influenciou em nenhum dos atributos estudados, demonstrando que a concentração de soro não interferiu na aceitação do produto, portanto, maiores concentrações de soro podem ser utilizadas, visando um melhor aproveitamento deste.

Ferreira e colaboradores (2012) encontraram resultados semelhantes para doce de leite com adição de soro e café. Segundo os autores os consumidores optaram pelas amostras com baixas concentrações de café independente da concentração de soro.

Segundo Bispo et al. (2004) para que um produto seja sensorialmente aceito é necessário que se obtenha um Índice de Aceitabilidade (IA) igual ou superior a 70%. Portanto, diante dos resultados obtidos, as únicas amostras que apresentaram um valor acima de 70% foram as amostras 2, 3 e 4 (Tabela 1). As amostras 3 e 4 foram as amostras com os maiores índices de aceitação. No entanto, como a amostra 4 apresenta maior proporção de soro em relação à amostra 3, adequou-se melhor a proposta principal do estudo, que é o aproveitamento do soro de leite, em função disso, a formulação 4 foi escolhida para avaliação do efeito do tempo de armazenamento no produto.

3.2 Efeito do Tempo de Armazenamento

Os resultados obtidos para coliformes demonstraram que, em todos os tempos, as amostras de bebida láctea fermentada atenderam aos padrões microbiológicos preconizados pela Instrução Normativa nº 16 de 2005 (Brasil, 2005).

O tempo de armazenamento não influenciou significativamente ($p > 0,05$) na acidez das bebidas (Tabela 2), o que pode estar relacionado aos microrganismos utilizados na fermentação do produto (cultura ABT), conhecidos por promover uma baixa pós-acidificação.

Tabela 2. Valores médios \pm desvio padrão para acidez, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium animalis* e aceitação com respectivos p valores das bebidas lácteas fermentadas de café.

Tempo (dias)	Acidez (g/100mL)	<i>L. acidophilus</i> log ₁₀ UFC/mL	<i>B. animalis</i> log ₁₀ UFC/mL	Aceitação (aspecto global)
0	0,52	8,67	8,65	6,17
7	0,53	8,57	8,60	6,28
14	0,53	9,15	9,24	6,55
21	0,53	8,75	8,80	6,51
28	0,54	7,66	5,10	6,40
p valor	0,9239	0,0000**	0,0000**	0,1455

**Significativo ao nível de 1% pelo teste F.
Fonte: Autores.

A contagem de *Bifidobacterium animalis* e *Lactobacillus acidophilus*, foram significativamente diferentes nos tempos de armazenamento (Tabela 2). A contagem de *B. animalis* decresceu de 8,65 log₁₀ UFC mL⁻¹ no tempo zero para 5,11 log₁₀UFC mL⁻¹ ao final dos 28 dias de armazenamento, enquanto a contagem de *L. acidophilus* passou de 8,67 log₁₀ UFC mL⁻¹ para 7,66 log₁₀UFC mL⁻¹ ao final do armazenamento.

O Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Bebidas Lácteas caracteriza que as bebidas lácteas fermentadas adicionadas devem apresentar uma contagem mínima de 10⁶ UFC g⁻¹ de bactérias lácticas viáveis (Brasil, 2005). Portanto, para ser considerado um probiótico, o produto deve apresentar uma concentração de microrganismos probióticos acima de 10⁶ UFC g⁻¹ (Jayamanne & Adams, 2006).

Portanto, a bebida desenvolvida apresentou atividade probiótica, pois manteve contagens acima de 10⁶ UFC g⁻¹ durante todo o período de armazenamento.

Andrade e colaboradores (2019) relataram contagens de 10⁷ a 10⁸ UFC g⁻¹ de *Lactobacillus* spp. em bebidas láctea preparadas com adição de polpa de frutas e cultura mista probiótica ABT-5 (Christian Hansen) composta de *Bifidobacterium animalis* subsp. lactis BB-12, *Lactobacillus acidophilus* LA-5 e *Streptococcus thermophilus*.

O tempo não influenciou na aceitação das bebidas, ou seja, não houve diferença significativa ($p \geq 0,05$) em relação ao aspecto global. De maneira geral, o produto apresentou boa aceitação pelos consumidores ao longo dos diferentes tempos de armazenamento, sendo

que as notas médias variam entre 6,17 e 6,55, que correspondem aos termos hedônicos “gostei ligeiramente” e “gostei moderadamente”.

4. Conclusões

A análise de Pareto revelou que a concentração de soro não interferiu na aceitação do produto. Observou-se que tempo de armazenamento refrigerado da bebida láctea fermentada de café não influenciou significativamente ($p>0,05$) na acidez titulável e na aceitação sensorial. As bebidas atenderam aos padrões microbiológicos preconizados pela legislação. O produto manteve número de células viáveis para *L. acidophilus* até o final do armazenamento, demonstrando que a bebida láctea constitui um importante veículo para inoculação de bactérias probióticas.

Para futuros trabalhos sugere-se aprofundar o estudo em relação ao efeito do tempo de armazenamento em diferentes formulações, com concentrações diferentes de soro e café, para que se possa avaliar o efeito de diferentes porcentagens do soro e café nas características da bebida durante o armazenamento.

Referências

- Andrade, M. R., Martins, T. R., Rosenthal, A., Hauck, J. T., & Deliza, R. (2019). Bebida de leite fermentado: formulação e processo. *Ciência Rural*, 49 (3), 1-12. doi: 10.1590/0103-8478cr20180382.
- Bispo, E. S., Santana, L. R. R., Carvalho, R. D. S., Leite, C. C., & Lima, M. A. C. (2004). Processamento, estabilidade e aceitabilidade de marinado de vongole (*Anomalocardia brasiliensis*). *Food Science and Technology*, 24 (3), 353-356. doi: 10.1590/S0101-20612004000300008.
- Brasil (2005). Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. *Aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Bebidas Lácteas*. Instrução Normativa Nº16, de 23 de agosto de 2005. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 24 ago. 2005. Recuperado de https://freitag.com.br/files/uploads/2018/02/portaria_norma_382.pdf.

Brasil. (2003). Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. *Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água*. Instrução Normativa Nº 62, de 26 de agosto de 2003. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 18 set. 2003. Recuperado de <https://www.defesa.agricultura.sp.gov.br/legislacoes/instrucao-normativa-sda-62-de-26-08-2003,665.html>.

Casarotti, S. N., Monteiro, D. A., Moretti, M. M. S., & Penna, A. L. B. (2014). Influence of the combination of probiotic cultures during fermentation and storage of fermented milk. *Food Research International*, 59, 67-75. doi: 10.1016/j.foodres.2014.01.068.

FAO/WHO - Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization. (2002). *Guidelines for the evaluation of probiotics in food*. London.

Ferreira, L. O., Pimenta, C. J., Santos, G., Ramos, T. M., Pereira, P. A. P., & Pinheiro, A. C. M. (2012). Adição de soro de leite e café na qualidade do doce de leite pastoso. *Ciência Rural*, 42 (7). 314-319. doi: 10.1590/S0103-84782012000700028.

Instituto Adolfo Lutz. (2008). *Métodos físico-químicos para análise de alimentos*. (4ª ed.) São Paulo: Instituto Adolfo Lutz.

Jayamanne, V. S., & Adams, M. R. (2006). Determination of survival, identity and stress resistance of probiotic bifidobacteria in bioyoghurts. *Letters in Applied Microbiology*, 42 (3), 189-194. doi: 10.1111/j.1472-765X.2006.01843.x.

Minim, V. P. R. (2010). *Análise sensorial: estudos com consumidores*. Viçosa: Editora UFV.

Monteiro, M. C., & Trugo, L. C. (2005). Determinação de compostos bioativos em amostras de café torrado. *Química Nova*, 28 (4), 637-641. doi: 10.1590/S0100-40422005000400016.

Mota, M. J., Lopes, R. P., Delgadillo, I., & Saraiva, J. A. (2015). Probiotic yogurt production under high pressure and the possible use of pressure as an on/off switch to stop/start fermentation. *Process Biochemistry*, 50 (6), 906 – 911. doi: 10.1016/j.procbio.2015.03.016.

Pereira, A. S., Shitsuka, D. M., Parreira, F. J., & Shitsuka, R. (2018). Metodologia da pesquisa científica. [e-book]. Santa Maria. Ed. UAB/NTE/UFSM. Recuperado de https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/15824/Lic_Computacao_Metodologia-Pesquisa-Cientifica.pdf?sequence=1.

Saad, S. M. I., Komatsu, T. R., Granato, D., Branco, G. F., & Buriti, F. C. A. (2011). Probióticos e prebióticos em alimentos: aspectos tecnológicos, legislação e segurança no uso. In *Probióticos e Prebióticos em Alimentos: Fundamentos e Aplicações Tecnológicas*. São Paulo: Varela.

Silva, N., Junqueira, V. C. A.; & Silveira, N. F. A. (2010). *Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos*. São Paulo: Varela.

Singh, K., Kallali, B., Kumar, A., & Thaker, V. (2011). Probiotics: a review. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 1 (2), 287–290.

Tebaldi, V. M. R. (2005). *Elaboração de bebida láctica de soro de ricota e extrato hidrossolúvel de soja*. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Lavras, Lavras, Brasil.

Vinderola, C. G.; & Reinheimer, J. A. (1999). Culture media for the enumeration of *Bifidobacterium bifidum* and *Lactobacillus acidophilus* in the presence of yoghurt bacteria. *International Dairy Journal*, 9 (8), 497–505. doi: 10.1016/S0958-6946(99)00120-X.

Wakeling, I. N.; & Macfie, J. H. (1995). Designing consumer trials balanced for first and higher orders of carry-over effect when only a subset of K samples from t may be tested. *Food Quality and Preference*, 6(4), 299-308. doi: 10.1016/0950-3293(95)00032-1.

Yerlikaya, O. (2014). Starter cultures used in probiotic dairy product preparation and popular probiotic dairy drinks. *Food Science and Technology*, 34, 221-229. doi: 10.1590/fst.2014.0050.

Porcentagem de contribuição de cada autor no manuscrito

Aline Prudente Marques – 25%

Larissa de Oliveira Ferreira Rocha – 25%

Maria Emília de Souza Gomes – 25%

Carlos José Pimenta – 25%