

**UNIVERSIDADE DO ESTADO DO PARÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS NATURAIS E TECNOLOGIA  
CURSO SUPERIOR DE TECNOLOGIA EM ALIMENTOS  
TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO**



**SARAH SOUZA HENRIQUES  
THAYS PANTOJA BRANDÃO**

**ELABORAÇÃO, CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E  
MICROBIOLÓGICA DO DOCE DE LEITE BUBALINO (*Bubalus bubalis*)  
SABORIZADO COM CALDA DE MARACUJÁ AMARELO (*Passiflora  
edulis*).**

**BELÉM - PARÁ  
2024**

SARAH SOUZA HENRIQUES  
THAYS PANTOJA BRANDÃO

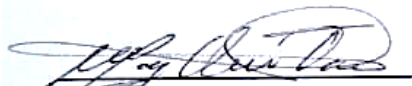
**ELABORAÇÃO, CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E MICROBIOLÓGICA DE DOCE DE LEITE BUBALINO (*Bubalus bubalis*) SABORIZADO COM CALDA DE MARACUJÁ AMARELO (*Passiflora edulis*).**

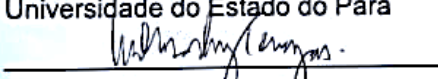
Trabalho de conclusão de curso apresentado como requisito para obtenção de grau de Tecnólogo (a) de Alimentos, da Universidade do Estado do Pará.

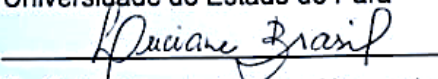
Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maricely Janette Uría Toro

Data de aprovação: 11 / 01 / 2024

Banca examinadora:

 - Orientadora  
Prof. Maricely Janette Uría Toro  
Dra. em Química  
Universidade do Estado do Pará

 - Membro  
Prof. Wener Damiano Morny Terrazas  
Dr. em Alimentos e Nutrição  
Universidade do Estado do Pará

 - Membro  
Prof<sup>a</sup>. Luciane do Socorro Nunes dos Santos Brasil  
Dr<sup>a</sup>. em Química Analítica  
Universidade do Estado do Pará

BELÉM  
2024

Dedico este trabalho a pequena garota que  
confiou na grandeza de seus sonhos e aos seus  
pais, Josiany Barbosa de Souza e Mario José  
Henriques.

## **AGRADECIMENTOS**

Ao senhor Deus por ter me dado a oportunidade de realizar um sonho, escutado minhas sinceras orações e me concedido a chance de conhecer pessoas incríveis que compartilharam desse sonho comigo.

A minha família, a qual me incentivou no caminho do aprendizado, em especial aos meus pais, Josiany Barbosa de Souza e Mario José Henriques, minha prima, Ana Carolina de Souza Miranda e minha avó, Raimunda Barbosa de Souza, exemplos de dedicação e força que sempre me inspirei.

A minha tia Joseli e seu marido Thomas, que não mediram esforços pra me ajudar a obter a matéria prima para esse trabalho.

Aos meus irmãos, Jordan Barbosa de Souza e Zayra Manoella Barbosa Aguiar que sempre me ensinaram a ser mais paciente, corajosa e me ajudaram a perceber como é bom compartilhar e viver momentos.

Ao Paulo Lourinho, que me incentivou como uma figura paterna, além acreditar no meu potencial e desejar o melhor para o meu caminho.

Aos meus amigos que a universidade trouxe, Marcela Almeida, Joyce Mikaelly, Yago Rodrigo, Karina Mano, Naomi Miyake, Vanessa Almeida, Caio Mendonça e Isadora Blanc, que estiverem comigo ao longo dessa caminhada acadêmica, compartilhando momentos, histórias, aprendizados e a colaboração essencial para a construção desse trabalho, em especial, agradeço a Danielle Walquíria, por ter me ajudado a prevalecer e me escutado nos momentos mais difíceis.

A minha dupla de TCC, Thays Brandão, por ser resiliente e paciente nessa jornada e compartilhar comigo esse momento especial em nossas vidas.

A minha orientadora, Maricely Janette Uría Toro, por todo seu tempo, paciência, dedicação e fé em nosso trabalho, sendo essencial para sua conclusão,

expresso a minha gratidão a todos os outros professores do curso que também compartilharam os conhecimentos de nossa profissão.

Ao time da Holística, que possui muita parte na pessoa que sou hoje, na confiança e determinação que tenho para construir, concluir e apresentar esse trabalho.

Ao time do Lab Safety, por ter me auxiliado em momentos de dúvidas e permanecido na torcida por esse trabalho.

*- Sarah Souza Henriques*

Dedico este trabalho à Deus pelo seu amor e zelo para comigo em todos os momentos.

*“Que preciosos para mim, ó Deus, são os teus pensamentos! E como é grande a soma deles!”.*

(Salmos 139:17)

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, pela minha vida, por me permitir viver este sonho e por me auxiliar a ultrapassar todos os obstáculos ao longo da dessa trajetória.

A minha família, Silvia Sheila, Nivaldo Brandão e Flávia Adriane, que tanto me incentivaram e apoiaram para a realização desse sonho em todos esses anos.

A minha orientadora prof<sup>a</sup>. Dra. Maricely Janette Uría Toro, por toda sua dedicação e pelos ensinamentos que foram fundamentais ao longo do curso e para o desempenho deste trabalho.

A minha dupla de TCC, Sarah Henriques, por compartilhar dessa jornada comigo, por compartilhar seus conhecimentos e por todo apoio prestado para a realização deste trabalho.

Ao Marcelo Anderson, meu querido, por seu apoio e companheirismo durante essa jornada na realização deste sonho e conclusão deste trabalho.

Aos meus amigos que a universidade me proporcionou, Danielle Walquíria, Marcela Almeida, Karina Mano, Joyce Mikaelly, Naomi Miyake, Vanessa Almeida, Caio Mendonça, Yago Rodrigo e Isadora Blanc. Meus sinceros agradecimentos a vocês que desempenharam um papel significativo nesta jornada.

*- Thays Pantoja Brandão*

HENRIQUES, S. S; BRANDÃO, T. PANTOJA. **Elaboração, caracterização físico-química e microbiológica de doce de leite bubalino (*Bubalus bubalis*) saborizado com calda de maracujá amarelo (*Passiflora edulis*)**. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Tecnologia em Alimentos) – Universidade do Estado do Pará, Belém – Pará, 2024.

## RESUMO

O doce de leite é um produto versátil muito utilizado para elaborações de diversos produtos de confeitaria, panificação, sorveteria e entre outros. Devido ser um produto característico, pode apresentar qualidades funcionais em sua composição físico-química, tanto nutricional como tecnológica. O trabalho de pesquisa tem como objetivo elaborar e desenvolver um novo produto, analisar a caracterização físico-química e microbiológica do doce de leite bubalino (*Bubalus bubalis*) saborizado com calda de maracujá amarelo (*Passiflora edulis*). O leite apresenta características nutritivas para o consumo, com alto teor de proteína e gordura e minerais, como também a polpa do maracujá rica em compostos bioativos que fornecem vitaminas, compostos de  $\beta$ -caroteno que estão presentes em sua estrutura química apresentando propriedades medicinais e funcionais em sua composição. O leite de búfala utilizado apresentou teor de acidez em 14,55° Dornic, densidade 1,029g/cm<sup>3</sup>, umidade 85,82g/100g, teor de cinzas 0,71 g/100g, valor de proteínas 3,58g/100g, gordura 8,60% e valor de pH 6,80. A polpa apresentou valores considerado satisfatório por meio da determinação de acidez em ácido cítrico de 3,88%, sólidos solúveis em °Brix de 16,0, ácido ascórbico 5,05mg/100g, valor de pH 2,92 e teor de carotenoides 1.622  $\mu$ g/100g. O doce de leite elaborado com leite de búfala saborizado com calda de maracujá-amarelo, foram caracterizados por DCA e DCB, onde apresentaram resultados considerado satisfatório em seu teor de acidez para DCA de 52,71° Dornic, gordura 8,83g/100g, cinzas 1,18g/100g, umidade 30,18g/100g, pH 5,81, proteínas 7,15g/100g, carotenoides 119,33 $\mu$ g/100g, carboidratos 52,66g/100g e valor calórico de 318,71 Kcal/100g. Para o DCB o valores obtido em acidez foram de 92,68°Dornic, umidade 29,83g/100g, cinzas 1,11g/100g, gordura 8,43g/100g, proteínas de 5,93g/100g, pH 5,0, teor de carotenoides 143,33 $\mu$ g/100, carboidratos 54,70g/100g e 318,39 Kcal/100g teor calórico. Os produtos denominados por DCA E DCB apresentam valores nutricionais por meio de suas matérias-primas utilizadas, onde o mesmo foi avaliado por meio das mesmas determinações físico-químicas realizadas no leite de búfala, estando de acordo com a legislação vigente do produto e suas respectivas análises microbiológicas, os resultados encontrados na formulação DCA foram de 4,0 NMP/g, e para a formulação DBC encontra-se o valor de <1,8 NMP/g para coliformes totais à 35°C, para bolores e leveduras DCA apresentou 1,0x10<sup>1</sup> est e DCB 2,0x10<sup>1</sup> est, os resultados de ambas as formulações na análise de *Staphylococcus aureus* coagulase positiva foi ausência, resultados de acordo com o estabelecido por meio da legislação vigente. Conclui-se que o produto elaborado apresentou resultados consideráveis, dentro do estabelecido pelas legislações vigentes, com às literaturas encontradas e de padrões de higiene e qualidade, estando apropriado para consumo.

**Palavra Chave:** doce de leite, maracujá, leite de búfala, carotenoides.

HENRIQUES, S. S; BRANDÃO, T. PANTOJA. **Elaboration, chemical and microbiological characterization of buffalo milk jam (*Bubalus bubalis*) flavored with yellow passion fruit syrup (*Passiflora edulis*)**. Course completion work (Graduation in Food Technology) – State University of Pará, Belém - Pará, 2024.

### ABSTRACT

Dulce de leche is a versatile product widely used in the creation of various confectionery, bakery, ice cream products, among others. Because it is a characteristic product, it can present functional qualities in its physical-chemical composition, both nutritional and technological. The research work aims to elaborate and develop a new product, analyze the physical-chemical and microbiological characterization of buffalo milk candy (*Bubalus bubalis*) flavored with yellow passion fruit syrup (*Passiflora edulis*). Milk has nutritious characteristics for consumption, with high protein, fat and mineral content, as well as passion fruit pulp rich in bioactive compounds that provide vitamins,  $\beta$ -carotene compounds that are present in its chemical structure, presenting medicinal and functional properties in its composition. The buffalo milk used had an acidity level of 14.55° Dornic, density 1.029g/cm<sup>3</sup>, moisture 85.82g/100g, ash content 0.71 g/100g, protein value 3.58g/100g, fat 8.60% and pH value 6.80. The pulp presented values considered satisfactory by determining acidity in citric acid of 3.88%, soluble solids in °Brix of 16.0, ascorbic acid 5.05mg/100g, pH value of 2, 92 and carotenoid content 1,622  $\mu$ g/100g. The dulce de leche made with buffalo milk flavored with yellow passion fruit syrup, were characterized by DCA and DCB, where they presented results considered satisfactory in their acidity content for DCA of 52.71° Dornic, fat 8.83g/100g, ash 1.18g/100g, moisture 30.18g/100g, pH 5.81, proteins 7,15g/100g, carotenoids 119.33 $\mu$ g/100g, carbohydrates 52.66g/100g and caloric value of 318.71 Kcal/100g. For DCB, the values obtained in acidity were 92.68°Dornic, humidity 29.83g/100g, ash 1.11g/100g, fat 8.43g/100g, proteins 5.93g/100g, pH 5.0, carotenoid content 143 .33 $\mu$ g/100, carbohydrates 54.70g/100g and 318.39 Kcal/100g calorie content. The products called DCA and DCB present nutritional values through their raw materials used, where it was evaluated through the same physical-chemical determinations carried out on buffalo milk, in accordance with the current legislation of the product and its respective microbiological analyses, the results found in the DCA formulation were 4.0 MPN/g, and for the DBC formulation there was a value of <1.8 MPN/g for total coliforms at 35°C, for molds and yeasts DCA presented 1.0x10<sup>1</sup> est and DCB 2.0x10<sup>1</sup> est, the results of both formulations in the analysis of positive coagulase *Staphylococcus aureus* were absence, results in accordance with what is established by current legislation. It is concluded that the product produced presented considerable results, within those established by current legislation, with the literature found and hygiene and quality standards, being suitable for consumption.

**Keyword:** milk cream, passion fruit, buffalo milk, carotenoids.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> - Criação de rebanho bubalino nos estados brasileiros (quantidades por cabeça). .....	18
<b>Figura 2</b> - Processo da Reação de Maillard.....	22
<b>Figura 3</b> - Fluxograma da elaboração do doce de leite com calda de maracujá. ....	26
<b>Figura 4</b> - Doce de leite saborizado com calda de maracujá.....	33

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Composição das formulações DCA e DCB.....	25
<b>Tabela 2</b> - Resultados de análises físico-químicas do leite de búfala.....	33
<b>Tabela 3</b> - Resultados das análises físico-químicas do maracujá amarelo.....	34
<b>Tabela 4</b> - Resultados advindos das médias de análises físico-químicas das formulações do doce de leite bubalino saborizado com calda de maracujá.....	36
<b>Tabela 5</b> - Resultados encontrados na literatura por Sousa (2002), Jacob (2017), Santos (2018) e Santos (2018) diante de parâmetros físico-químicos.....	38
<b>Tabela 6</b> - Resultados das análises microbiológicas das formulações de doce de leite bubalino saborizado com calda de maracujá amarelo.....	38

## **LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

**CCNT** – Centro de Ciências Naturais e Tecnologia

**DCA** – Doce de leite A

**DCB** – Doce de leite B

**IBGE** – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

**IN** – Instrução normativa

**Kcal** – Quilocalorias

**PPM** – Pesquisa Pecuária Municipal

**RDC** – Resolução da Diretoria Colegiada

**SAA** – Secretaria de Agricultura e Abastecimento

**UEPA** – Universidade do Estado do Pará

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	15
2. OBJETIVOS .....	17
3. REVISÃO DA LITERATURA .....	18
3.1. Composição físico-química do leite de búfala.....	19
3.2. Maracujá ( <i>Passiflora edulis</i> ).....	20
3.3. Glucose de Milho .....	21
3.4. Doce de leite .....	22
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	24
4.1. Leite bubalino.....	24
4.2. Maracujá amarelo .....	24
4.3. Sacarose .....	24
4.4. Bicarbonato de sódio .....	24
4.5. Glucose de milho .....	24
4.6. Elaboração do doce de leite bubalino com calda de maracujá .....	25
5. ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS.....	27
5.1. Determinação de Acidez .....	27
5.2. Determinação de Lipídios (método de Gerber) .....	27
5.3. Determinação de lipídeos por extração.....	27
5.4. Determinação de Proteínas .....	27
5.5. Determinação de Densidade.....	28
5.6. Determinação de pH .....	28
5.7. Determinação de Cinzas .....	28
5.8. Determinação de Umidade .....	29
5.9. Determinação de Sólidos Solúveis Totais (SST).....	29
5.10. Determinação de Carotenoides.....	29
5.11. Determinação de Ácido Ascórbico (método de Tillmans).....	30

6. ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS.....	31
6.1. Determinação de <i>Staphylococcus aureus</i> coagulase positiva .....	31
6.2. Determinação de coliformes totais a 35°C .....	31
6.3. Determinação de Bolores e Leveduras .....	32
7. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	33
7.1. ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS.....	33
7.2. ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS.....	38
8. CONCLUSÃO .....	40
9. REFERÊNCIAS.....	41

## 1. INTRODUÇÃO

O doce de leite é um produto originário da América Latina, tendo o Brasil e a Argentina como os líderes na produção. É um produto versátil, fácil de ser elaborado, sendo utilizado como ingrediente no âmbito da panificação e confeitaria, além do consumo direto (Silva, 2021).

De acordo com Brasil (1997) estabelecida pelo Ministério da Agricultura e Pecuária (MAPA), entende-se por doce de leite o produto obrigatoriamente produzido com uso de leite ou/e leite reconstituído e sacarose, com ou sem adição de outras substâncias alimentícias, obtido por concentração e ação do calor a pressão normal ou reduzida do leite, com ou sem adição de sólidos de origem láctea ou creme adicionado de sacarose.

De modo convencional, o uso de leite bovino para a produção de doce de leite é extremamente comum comparado ao uso de leite bubalino que, apresenta grande potencial comercial para a região norte, devido ao estado do Pará ser o maior produtor de bubalinos (*Bubalus bubalis*) no país, sendo Chaves, Soure e Cachoeira do Arari os municípios com maior percentual de cabeças bubalinas produzidas, segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística através da Pesquisa Pecuária Municipal (PPM), englobando os anos de 2015 à 2019 e cedido pela Secretaria de Estado de Desenvolvimento Agropecuário e da Pesca.

A búfala tem grande potencial como animal para produção de leite, apresentando o teor de seus constituintes com maior valor nutritivo e rendimento industrial quando comparados com o leite de vacas; além da sua maior rusticidade, o que permite a criação em regiões alagadas, que são inadequadas desfavoráveis para a criação de bovinos (Amaral, 2005).

Segundo Jacob et. al., (2017) e Cavali et. al., (2020), a composição do leite bubalino possui valores de proteínas, gordura, minerais, cálcio, teor de sólidos totais elevados, evidenciando seu valor nutritivo e seu rendimento industrial acima de outras espécies. Além disso, o leite de búfala é 40 - 80% mais produtivo, para elaboração de derivados como queijos, iogurtes e doce de leite, isso é, consequência de sua composição nutricional, revelando grande oportunidade comercial (Valente, 2019; Warmiling, 2018; Coelho, 2019).

Segundo a IBGE (2021), o estado do Pará é o 10° produtor de *Passiflora edulis sims*, conhecida popularmente por maracujá amarelo. É uma fruta de clima

tropical, presente em todas as regiões do Brasil. Seu uso é amplo na produção de sucos concentrados e o consumo da fruta in natura (Vieira, 2013).

Diante de tal evidência, entende-se que há potencial a ser explorado na produção de doce de leite com leite de búfala com maracujá, junto às vantagens climáticas do Brasil. Além disso, o maracujá possui grande quantidade de compostos antioxidantes, tendo alto índice de compostos fenólicos, ácidos graxos, betacaroteno e outras substâncias capazes de atribuir o título de fruta funcional ao maracujá. (Vieira, 2013).

Portanto, aliando as duas matérias primas, visa-se desenvolver por meio de tecnologias, um produto com potencial para tornar-se fonte de renda para a agricultura familiar, desenvolvimento da economia em certas regiões, valorização do leite de búfala produzido no estado do Pará.

## **2. OBJETIVOS**

### **OBJETIVO GERAL**

Desenvolver o produto denominado "Doce de Leite" com leite bubalino (*Bubalus bubalis*) saborizado com calda de maracujá amarelo (*Passiflora edulis*).

### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

Desenvolvimento de formulações utilizando a polpa e sementes de maracujá-amarelo (*Passiflora edulis*).

Caracterização e avaliação microbiológica do doce de leite bubalino.

Caracterização e avaliação físico-química do doce de leite bubalino.

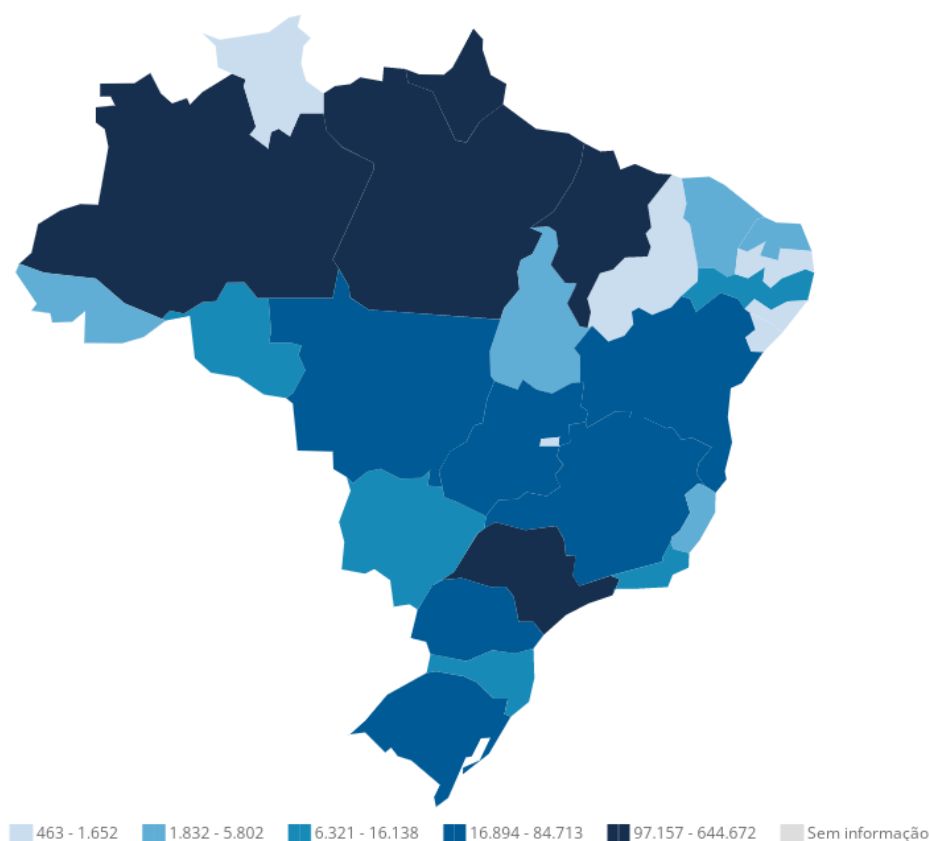
Realização da análise de carotenoides na polpa do maracujá amarelo e no doce de leite.

### 3. REVISÃO DA LITERATURA

Segundo o IBGE (2022), o rebanho bubalino no Brasil possui cerca de 1.598.268 milhões de cabeças, tendo a cada ano um aumento considerável ao observar a série histórica de 2010 a 2022. O Estado do Pará concentrou em torno de 40,33% do rebanho nacional em 2022 conforme ilustra a figura.

**Figura 1** - Criação de rebanho bubalino nos estados brasileiros (quantidades por cabeça).

Mapa (BR) - Bubalinos (Búfalos) - Tamanho do rebanho (Cabeças)



Fonte: IBGE, 2021.

Atualmente o Estado do Pará conta com 644.672 mil cabeças, tomando a liderança no ranking de rebanho de búfalos do Brasil, tendo a Ilha do Marajó o principal centro de produção bubalina (Adepará, 2020).

Com valores tão expressivos e acentuados na região norte, observa-se que a concentração desses rebanhos se encontra na ilha do Marajó registrando percentual de 71,67% no ano de 2019. (Adepará, 2020).

A ilha do Marajó por sua vez possui grande destaque na produção e beneficiamento do leite de búfala, tendo importância econômica, social e cultural para a região (Lopes, 2016), sendo que, entre todas as aptidões físicas dos bubalinos, a produção leiteira ganha maior destaque (Coelho, 2019).

O leite de búfala tem alto valor nutritivo e é rico em gordura, proteína e minerais, sendo utilizado tanto para consumo *in natura* quanto como matéria-prima para a elaboração de produtos lácteos (Cavali e Pereira 2020; Jacob et. al., 2017).

Diversos fatores influenciam na variação das características do leite, sendo essas variações de origem genética, entre os animais, e diferenças não genéticas, que podem ser causadas por fatores ligados ao meio físico ou por funções de natureza fisiológica, recebendo ambas, a denominação geral de fatores de meio ou ambientais (Rangel et al., 2011).

### **3.1. Composição físico-química do leite de búfala**

A composição do leite de búfala apresenta características físico-próprias, que variam conforme o período de lactação, a raça e a alimentação, entre outros fatores (Teixeira et al., 2005).

Na composição do leite de búfala encontram-se muitos nutrientes essenciais à dieta humana, e sua microbiota natural o torna um excelente meio para o crescimento de microrganismos, o que o torna perecível e requer processos tecnológicos adequados que possam garantir sua integridade e proteger sua capacidade como matéria-prima importante para a produção de derivados (Freitas, 2001; Gonçalves e Vieira, 2002; Amaral et al., 2005).

É importante enfatizar a inexistência de uma legislação federal para o leite búfala, todavia, a Secretaria de Agricultura e Abastecimento (SAA) do estado de São Paulo publicou uma resolução válida para o estado, onde, estabelece valores de pH (entre 6,40 e 6,90), acidez em graus Dornic de 14 a 23 °D, gordura (mínimo de 4,5%), extrato seco desengordurado (mínimo de 8,57%), densidade a 15°C (de 1,028 a 1,034) e índice crioscópico (-0,520 a -0,570 °C) para caracterização de leite bubalino normal (São Paulo, 2008).

Na composição do leite de búfala são encontrados nutrientes essenciais para a dieta humana, como qualidade nutricional, por apresentar níveis de gordura, como os ácidos graxos, cáprico, mirístico, palmítico, esteárico, palmitoleico e linoleico,

proteína, calorias, vitamina A e cálcio mais elevados se comparado ao leite da vaca (Freitas, 2001; Gonçalves e Vieira, 2002).

Em relação ao teor de minerais, o leite de búfala é mais rico em cálcio e magnésio do que o leite da vaca, porém, tem baixa quantidade de sódio, potássio e cloro, o que é considerado positivo para uma alimentação saudável. O leite de búfala apresenta também 25,5% de aminoácidos essenciais a mais do que o leite de vaca. Sua microbiota natural o torna um excelente meio para o crescimento de microrganismos, o que faz com que seja perecível, necessitando de processos tecnológicos adequados, capazes de garantir sua integridade e proteger sua capacidade como matéria-prima essencial para produção de derivados (Amaral et al., 2005; Valente, 2019).

### **3.2. Maracujá (*Passiflora edulis*)**

O maracujá como é popularmente conhecido, provém do gênero Passifloraceae, apresentando coloração e formato variados. Existem mais de 500 espécies distribuídas em regiões tropicais e subtropicais no mundo, sendo inúmeras delas nativas do Brasil (Junghans, 2022).

Segundo o IBGE (2021), o Brasil é o maior produtor mundial de maracujá. A produção nacional, de acordo com o IBGE, foi de 683.993 toneladas, os principais municípios produtores são: Livramento de Nossa Senhora (BA), Viçosa do Ceará (CE), Tianguá (CE), Ubajara (CE) e Ibiapina (CE).

Os frutos do maracujá amarelo possuem em média  $9,5 \text{ cm} \pm 0,3$  de comprimento médio, possuem coloração verde amarelada quando atinge estado de maturação para colheita, sua presença está em todos os estados brasileiros (Junghans, 2022).

A espécie de maracujazeiro de maior importância econômica no Brasil é a *Passiflora edulis sims* (maracujá-amarelo ou maracujá-azedo), mas outras espécies também são cultivadas comercialmente, apesar de ocuparem pequenas áreas de plantio, tais como, *Passiflora alata curtis* (maracujá-doce), *P. setacea DC.* (Maracujá-do-sono ou maracujá-sururuca) e *P. cincinnata mast.* (Maracujá-do-mato ou maracujá-da-caatinga) (Junghans, 2022).

Conhecido como maracujá azedo ou amarelo, tal espécie é a mais produzida e comercializada (Zeraik et al., 2010), representando 95% dos pomares (Meletti &

Brukner, 2001). Seu cultivo é predominantemente voltado para fins industriais de sucos integrais a 14° Brix, néctar e sucos concentrados a 50° Brix, polpas, além de sorvetes e mousses, isso deve-se em especial ao seu sabor mais ácido e maior rendimento (Zeraik et al., 2010; Sandi et al., 2003; Brignani-neto, 2002).

O gênero *Passiflora* é conhecido popularmente em diferentes países, por suas propriedades medicinais e funcionais. Nas áreas rurais brasileiras, por exemplo, frutas frescas, frutas secas, chás e suco da polpa de maracujás silvestres, são consumidos e comercializados para controlar ansiedade, insônia, tremores em idosos, diabetes e obesidade, entre outras indicações (Costa & Tupinambá, 2005).

Para Zeraik (2010), que realizou um estudo aprofundado sobre a polpa, sementes e cascas da *Passiflora edulis*, seus estudos relatam sobre a composição físico-química, nutricional e farmacológica, onde descreve os polifenóis e flavonoides como determinantes para a atividade antioxidante.

As cascas da *Passiflora edulis* correspondem entre 65 a 70% do peso do fruto, possui grande valor nutricional auxiliando na prevenção de doenças cardiovascular e gastrointestinal, câncer de cólon, diabetes e obesidade (Zeraik, 2010).

As cascas do Maracujá também são ricas em niacina, ferro, cálcio, e fósforo conforme relata Zeraik (2010), ademais, Miranda et al. (2013), desenvolveu farinha de casca de maracujá como fonte de fibras, enfatizando o uso da casca de maracujá como um subproduto e não um resíduo agroindustrial.

Os ácidos graxos polinsaturados presentes na semente do maracujá, desempenham funções na manutenção das membranas celulares como também nas funções cerebrais e da transmissão de impulsos nervosos (Martin, 2006).

Seu fruto possui compostos bioativos como, flavonoides, carotenoides e provitamina A, cujas propriedades são benéficas à saúde e têm sido relacionados à redução do risco de doenças degenerativas (Diniz et al. 2007).

### **3.3. Glucose de Milho**

A glucose de milho é um tipo de adoçante natural, obtido pelo amido de milho, muito utilizado para confeitaria. Ele é utilizado para aumentar a viscosidade e maciez, transformando a textura do alimento elaborado, tornando-os mais macios e

cremosos. Segundo a Rovedo et al, (1991), para o doce de leite, o uso de glucose deve ser de 2,0%, como espessante, em relação ao volume de leite utilizado.

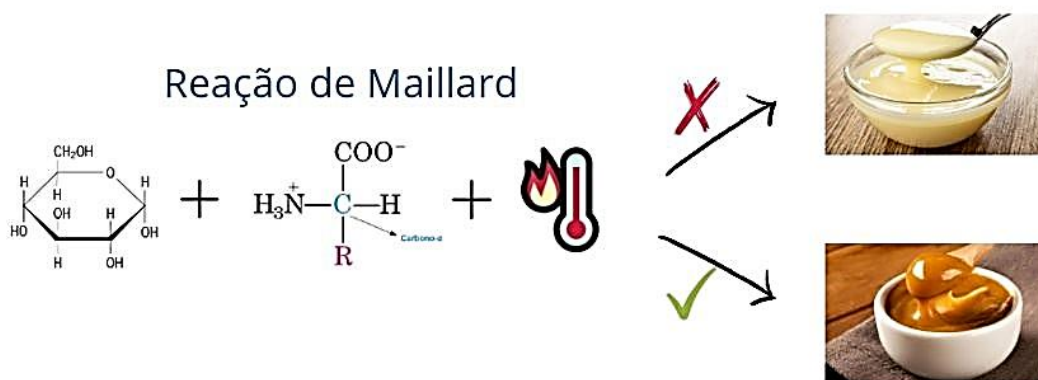
### 3.4. Doce de leite

O doce de leite é um produto derivado do leite, geralmente muito consumido na América do Sul, principalmente na Argentina e no Brasil. Pode ser de consistência sólida ou pastosa. Pode ser empregado na elaboração de outros alimentos ou ser consumido diretamente, acompanhado de pães, torradas e queijo (Demiate et al., 2001).

O doce de leite é um produto obtido através da mistura de sacarose ou glicose e leite. É elaborado através da concentração sob adição do calor sobre a mistura. A coloração, consistência e sabor do doce de leite são provenientes da reação de escurecimento não enzimático ocasionado pela reação de Maillard (Demiate et al., 2001).

Apresenta uma coloração marrom castanho, sabor, viscosidade, aparência brilhosa e aroma, que são resultantes da Reação de Maillard que provoca o escurecimento não enzimático no alimento decorrente da descoloração provocada pela reação entre carbonila e os grupos amina livre, ocorrendo à formação do pigmento melanoidina. Portanto, esta reação deriva da complexação dos aminoácidos presentes no leite e dos açúcares redutores utilizados (Albuquerque et al., 2011). A figura 1 demonstra o processo da Reação de Maillard.

Figura 2 - Processo da Reação de Maillard.



Fonte: Gusmão et al. 2023.

O doce de leite deve conter no máximo 2 % de cinzas, mínimo 5 % de proteínas, no máximo 30 % de umidade e de 6,0 a 9,0 % de gordura (Brasil, 1997).

A consistência deve ser cremosa ou pastosa, sem cristais perceptíveis sensorialmente. A consistência poderá ser pastosa ou em pote, no caso do doce de leite para Confeitaria e/ou Sorveteria. Poderá ainda apresentar consistência semissólida ou sólida e parcialmente cristalizada quando a umidade não supere 20%*m/m* (Brasil, 1997).

## **4. MATERIAIS E MÉTODOS**

### **4.1. Leite bubalino**

O leite de búfala provém do município de Soure, da Fazenda Araruna, localizada na Tv. Quatorze - Para, Soure - PA, 68870-000, sendo transportado congelado e levado para a Universidade do Estado do Pará - CCNT Belém, nas dependências dos laboratórios, tendo sido armazenado em temperatura inferior à 0° C.

### **4.2. Maracujá amarelo**

O maracujá foi obtido in natura no supermercado do bairro do Guamá, em Belém (PA). Após recepção, fez-se a lavagem e sanitização, deixando o fruto submerso por 15 minutos em uma solução, diluída em água, de hipoclorito de sódio a 200ppm, com concentração de 2,5%. Suas cascas, sementes e polpa foram devidamente pesados e destinados às análises.

### **4.3. Sacarose**

A sacarose foi obtida no supermercado no do bairro do Guamá, em Belém (PA). A sacarose obtida consiste em açúcar cristal refinado.

### **4.4. Bicarbonato de sódio**

O bicarbonato de sódio foi obtido no supermercado no do bairro do Guamá, em Belém (PA). O mesmo foi utilizado para correção de acidez, induzir a Reação de Maillard e inibir a precipitação da caseína do leite no doce de leite.

### **4.5. Glucose de milho**

A glucose de milho foi obtida em loja de confeitaria (Casa do Sorveteiro) localizado no do bairro do Guamá, em Belém (PA). A mesma foi utilizada para dar brilho, viscosidade e maciez ao doce de leite.

#### 4.6. Elaboração do doce de leite bubalino com calda de maracujá

O doce de leite foi elaborado no Laboratório de Alimentos da Universidade do Estado do Pará (UEPA), CCNT, Campus V, em Belém.

Foram realizados teste preliminares para definição das formulações tendo variações da porcentagem de polpa de maracujá. As formulações escolhidas foram as formulações com 10% e 15% de polpa de maracujá, cujo, aroma, cor e textura apresentaram-se aceitáveis para um doce de leite, sendo denominadas DCA e DCB, ambas submetidas ao mesmo processo, tendo em suas composições a variação de sacarose e polpa de maracujá amarelo, como mostra a tabela 1.

**Tabela 1** - Composição das formulações DCA e DCB.

<b>Matérias Primas</b>	<b>DCA</b>	<b>DCB</b>
Leite de Búfala	2,5 L	2,5 L
Sacarose	18%	15%
Glucose de milho	2%	2%
Polpa de Maracujá	10%	15%
Bicarbonato de sódio (g)	0,373	0,373

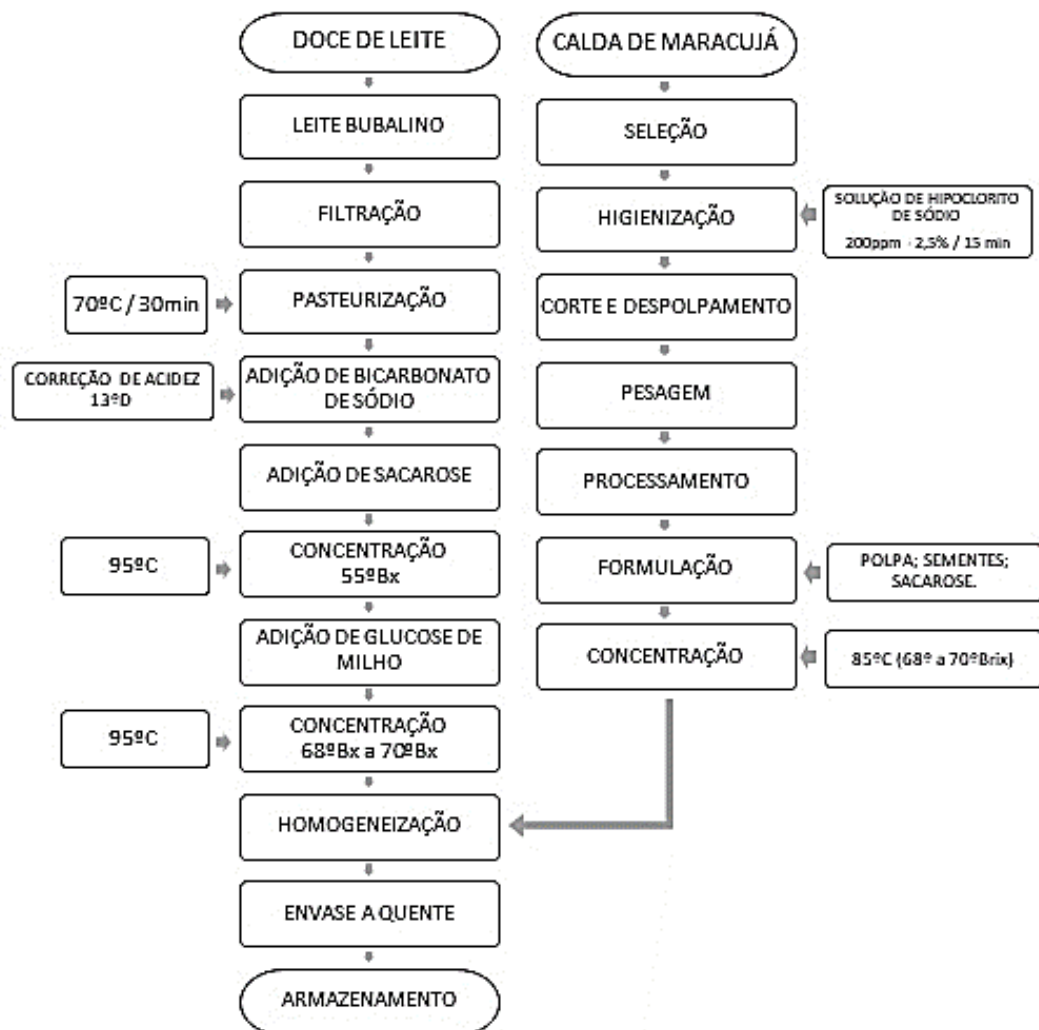
DCA formulação de doce de leite bubalino a 18% de sacarose e 10% de calda de maracujá-amarelo. DCB formulação de doce de leite bubalino a 15% de sacarose e 15% de calda de maracujá-amarelo.

Fonte: Autores, 2024.

As etapas de filtração e pasteurização do leite foram realizadas para garantir a qualidade do produto, a pasteurização foi realizada em temperatura de 70° C por 30 minutos.

Após sua filtração e pasteurização, adicionou-se o bicarbonato de sódio para correção da acidez do leite para 13° Dornic com base no cálculo de acidez, tendo sido adicionado em seguida a sacarose. Após as adições, o mesmo foi submetido a cocção, onde ocorreu a evaporação de água e concentração dos sólidos solúveis até valor verificado de 55° Brix, indicando o ponto exato para adição da glucose de milho, tendo sua cocção encerrada ao atingir 68° - 70° Brix. A calda de maracujá foi elaborada, com adição da sacarose em cocção, até atingir sua concentração igual a 68° - 70° Brix. Após a concentração do doce de leite, foram homogeneizados com a calda de maracujá ainda quente à 95°C, sendo envasado e armazenado em potes de vidros herméticos. A figura 2 demonstra o processo em etapas.

**Figura 3** - Fluxograma da elaboração do doce de leite com calda de maracujá.



Fonte: Adaptado de Carvalho, 2007; Brasil et al, 2020.

## 5. ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

### 5.1. Determinação de Acidez

A determinação de acidez foi realizada por método de titulação, utilizando hidróxido de sódio (NaOH). O resultado será expresso em ácido láctico e ácido cítrico para obtenção da acidez do leite de búfala e da polpa maracujá, conforme a metodologia do Instituto Adolfo Lutz (2008). Para o resultado, o cálculo foi utilizado conforme abaixo:

$$\%Acidez = \frac{Vg \times M \times Fc \times PE \times 100}{A \times 1000}$$

Onde:

Vg = volume de hidróxido de sódio (NaOH) gasto (ml)

M = molaridade da solução de NaOH

Fc = fator de correção de NaOH

PE = Peso equivalente, expresso em ácido láctico ou ácido cítrico

A = peso da amostra

### 5.2. Determinação de Lipídios (método de Gerber)

Para determinação utilizou-se o método de Gerber, segundo a metodologia do instituto Adolfo Lutz (2008), que consiste na ação do ácido sulfúrico; os lipídios separam- as dos outros componentes do leite com o auxílio do álcool isoamílico e subsequente centrifugação. Os resultados são expressos em porcentagem de gordura.

### 5.3. Determinação de lipídeos por extração

A gordura é determinada gravimetricamente, após a desnaturação das proteínas e carboidratos, utilizando ácido clorídrico sob aquecimento. O resíduo contendo a gordura é separado por filtração, seco e extraído com éter de petróleo, segundo a metodologia do instituto Adolfo Lutz (2008).

### 5.4. Determinação de Proteínas

A determinação de proteínas foi realizada pelo método de micro Kjeldahl, que consiste em três etapas: digestão, destilação e titulação. Iniciando pela digestão feita no bloco digestor, seguida da decomposição do nitrogênio feita através do destilador de nitrogênio e a terceira etapa realizada por meio de titulação direta para a quantificação do nitrogênio na amostra, utilizando uma solução de ácido clorídrico. O

método submetido e realizado está de acordo com a metodologia do Instituto Adolfo Lutz (2008). Para obter o resultado de teor de proteína, será utilizado o cálculo abaixo:

$$\%N = \frac{Vg \times M \times Fc \times CN \times 0,014 \times 100}{A}$$

Onde:

Vg = volume de ácido clorídrico gasto na titulação da amostra

Fc = fator de correção da solução de HCl

M = molaridade da solução

CN = Conversão de Nitrogênio = 6,38 para leites e derivados.

A = nº de grama da amostra

### **5.5. Determinação de Densidade**

A análise de determinação de densidade foi realizada conforme a metodologia do Instituto de Adolfo Lutz (2008), feita com o termolactodensímetro de Quevenne, que realizará a leitura de densidade e temperatura da amostra. Para obtenção do resultado, o cálculo de correção de densidade, será feito por meio do valor apresentado no termolactodensímetro a 15°C, sendo acrescido ou subtraído do valor de 0,0002.

### **5.6. Determinação de pH**

Para determinação de pH das amostras, utilizou-se o método potenciométrico por meio do pHmetro e auxílio de água destilada, segundo a metodologia do Instituto Adolfo Lutz (2008). O resultado foi expresso diretamente em unidade de pH, fornecida pelo aparelho utilizado.

### **5.7. Determinação de Cinzas**

Para determinação de resíduos por incineração (cinzas), foi realizado de acordo com a metodologia da Adolf Lutz (2008). Pesou-se 3g da amostra em cápsula de porcelana, levada a forno mufla a 550 ±10°C, pelo período de 4 horas. Após esse período, as cinzas serão resfriadas em dessecador. O cálculo para obtenção do peso da amostra foi realizado conforme abaixo:

$$\%Cinzas = \frac{Resíduo \times 100}{Peso \ da \ Amostra}$$

## 5.8. Determinação de Umidade

A análise de determinação de umidade se dá por meio gravimétrico, onde foi pesado 2 – 5g da amostra, seguido da estufa a 105°C por 3 horas. Após esse processo, a amostra foi resfriada em dessecador, posteriormente pesada em balança analítica e realizou-se o cálculo abaixo para obtenção do resultado do teor de umidade da amostra, de acordo com a metodologia Adolf Lutz (2008).

$$\%Umidade = \frac{(cadinho + amostra \text{ úmida}) - (peso do cadinho + amostra \text{ seca}) \times 100}{\text{peso da amostra}}$$

## 5.9. Determinação de Sólidos Solúveis Totais (SST)

Para determinação da concentração de sólidos solúveis totais, fez-se segundo a metodologia segundo (AOAC, 1997), onde foi utilizado refratômetros portáteis de escala de 0° a 32° Brix, 32° a 60° Brix e 60° a 90 ° Brix.

## 5.10. Determinação de Carotenoides

A análise dos carotenóides totais foi realizada com a extração com acetona. A mistura foi filtrada em papel de filtro até que não houvesse coloração característica de carotenóides. O extrato cetônico foi transferido para funil de separação com éter de petróleo. A mistura foi então lentamente lavada, e o extrato etéreo foi filtrado em sulfato de sódio anidro, com o auxílio de funil e papel filtro e recolhido em balão volumétrico e avolumado com éter de petróleo.

Para a determinação de carotenoides presentes na polpa e sementes do maracujá, realizou-se por leitura em espectrofotômetro a 450 nm. Utilizando-se a solução de referência (branco) para zerar o espectrofotômetro. A leitura foi realizada em triplicata. O cálculo utilizado está de acordo com a equação abaixo, que foi expresso em micrograma (µg/g) (Rodriguez-Amaya, 1989; Rodriguez-Amaya, 2001; Rodriguez-Amaya; Kimura, 2004).

$$\text{Teor de carotenóides } (\mu\text{g}/100\text{g}) = \frac{AxVx10^4}{E_{1cm}^{1\%} \times M \times 100}$$

Onde:

A = absorvância da solução no comprimento de onda (450nm).

V = volume final da solução.

M = massa da amostra.

$E_{1cm}^{1\%}$  = coeficiente de extinção ( $\beta$ -caroteno = 2592 em éter de petróleo).

### 5.11. Determinação de Ácido Ascórbico (método de Tillmans)

O teor de ácido ascórbico foi determinado por titulação oxidativa (titulometria), utilizando 2,6 diclorofenol indofenol, segundo metodologia descrita na AOAC (2005). Tal método baseia -se na redução do sal sódico de 2,6-diclorofenolindofenol (DCFI) pelo ácido ascórbico. O resultado está expresso em mg de ácido ascórbico por 100 g.

$$\text{Ácido Asc.} = \frac{VgxFcxFd}{Ax100}$$

Onde:

V= volume da solução de DCFI gasto para titular a amostra

Fc = fator do corante

A = peso ou volume da amostra titulada.

Fd = Fator de diluição

## 6. ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

As análises microbiológicas do doce de leite foram realizadas no Laboratório de Microbiologia da Universidade Estado do Pará, de acordo com os padrões microbiológicos exigidos pela Resolução da Diretoria Colegiada, N° 724, de 1 de julho de 2022 e pela Instrução Normativa N° 161 de 1 de julho de 2022 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). As análises realizadas são: coliformes totais e termotolerantes, *Staphylococcus aureus* coagulase positiva e bolores e leveduras, de acordo com a metodologia descrita por Silva et al. (2010).

### 6.1. Determinação de *Staphylococcus aureus* coagulase positiva

Para determinação foi utilizado o método de semeadura em superfície por contagem direta em placas, tendo diluições seriadas após a fusão da amostra com o meio nutritivo peptona simples (PS), as diluições tiveram cada uma, três placas contendo ágar baird - parker (BP) para serem inoculadas. Após a inoculação de 0,1 mL da amostra com o auxílio da alça de Drigalsky, as placas foram levadas invertidas para incubação em 35° C por 48 horas. Foram selecionadas as placas que apresentaram em torno de 20 - 200 colônias por contagem. Para as colônias típicas, realiza-se às provas bioquímicas de coagulação, onde, uma vez inoculadas em tubos contendo caldo infusão cérebro coração (BHI), foram incubadas em 37°C por 24 horas.

A partir da incubação de BHI, realizou-se o teste bioquímico de coagulase, transferindo 0,2ml do tubo de ensaio contendo BHI com a cultura para um tubo de ensaio contendo 0,3 mL de Coágulo de Plasma EDTA, além do uso de um tubo controle, contendo somente o Caldo BHI e o Coágulo de Plasma EDTA, levando-os para Incubação em 35°C por 6 horas. Entende-se como negativo ou positivo para *Staphylococcus aureus* o conteúdo do tubo coagular (positivo) ou não (negativo). Além disso, a inoculação da amostra que estava em Caldo BHI para tubos de TSA em caso de necessidade de testes adicionais.

### 6.2. Determinação de coliformes totais a 35°C

Para a análise de coliformes totais, utilizou-se a técnica de teste de tubos múltiplos para três tubos, e a sua quantificação foi baseada no método do Número Mais Provável (NMP). Para realizar tal análise foi realizado diluições seriadas,

nomeadas de  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  e  $10^{-3}$ . Foram transferidos para tubos contendo 10mL de caldo lauril lactosado (CLL) em triplicata, totalizando 9 tubos para cada amostra contendo tubos de Duhran invertido. Após passar 24 horas de incubação em 35°C, os tubos com presença de gás e presença de sinal microbiano foram considerados positivos. Para o teste confirmativo, os tubos considerados positivos tiveram de ser transferidos em uma alçada para tubos contendo 10mL de caldo verde brilhante (2% de bile) (VB), sendo levados para incubação por 48 horas a 35°C, os tubos contendo formação de gás e crescimento bacteriano (aspecto turvo) foram considerados positivos.

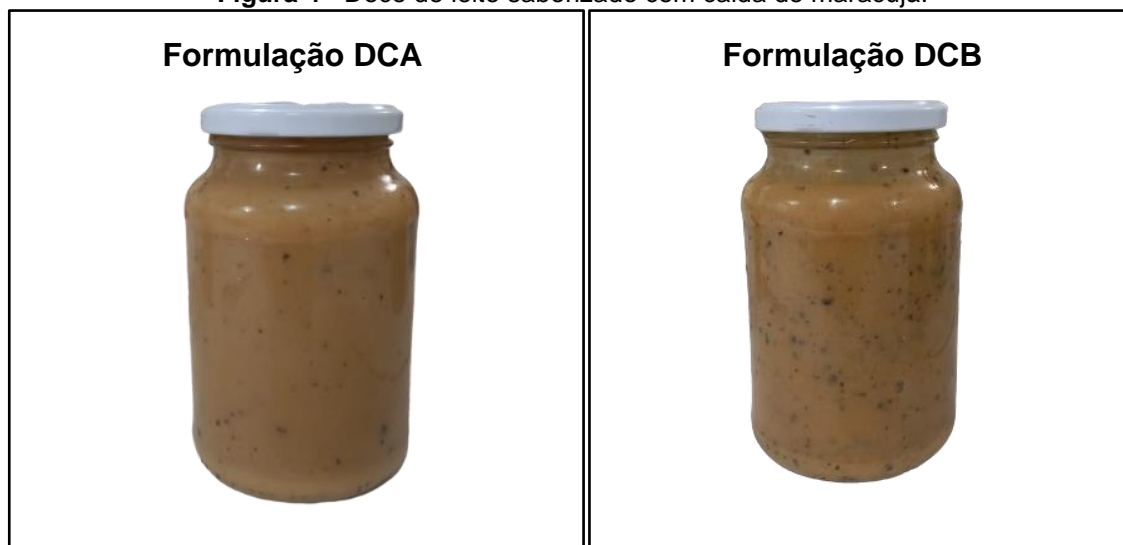
### **6.3. Determinação de Bolores e Leveduras**

Para determinação de bolores e leveduras utilizou-se do método de plaqueamento em superfície sendo os resultados da análise contabilizados por meio da quantificação de unidades formadoras de colônias (UFC/g). Foram realizadas diluições seriadas e em triplicata, com auxílio de pipetas e posteriormente alça drigalski, 0,1 mL foi inoculada de cada diluição para placas de Petri contendo ágar batata dextrose (PDA). Com incubação a 22 - 25 ° C durante 5 dias, após período de incubação, as placas foram contabilizadas.

## 7. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A figura a seguir expõe os resultados obtidos da elaboração das formulações do doce de leite bubalino saborizado com calda de maracujá, nomeados como DCA e DCB.

Figura 4 - Doce de leite saborizado com calda de maracujá.



Fonte: Autores, 2024.

### 7.1. ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

Os resultados das análises físico-químicas do leite de búfala encontram -se presentes na tabela 2.

Tabela 2 - Resultados de análises físico-químicas do leite de búfala.

Parâmetros	Leite Bubalino	SAA * (2008)
Acidez (°D)	14,55 ± 0,30	14 – 23
Densidade (g/cm³)	1,029	1,028 – 1,034 (15°C)
Umidade (g/100g)	85,82	--
Cinzas(g/100g)	0,71	--
Proteína (g/100g)	3,58	--
Gordura (g/100g)	8,60	mín 4,5
pH	6,80	6,40 – 6,90

\*Resolução de Secretaria de Agricultura e Abastecimento (SAA), São Paulo, 2008.  
Fonte: Autores, 2024.

O valor médio encontrado de acidez foi de 14,55 °D em comparação com valores encontrados por Pinto (2018) e Pignata et al. (2014), respectivamente de 18°D e 15°D, revela-se abaixo, porém, dentro dos valores estabelecidos pela legislação. O resultado de 1,029 g/cm<sup>3</sup> encontrado para densidade, está próximo dos valores de Pinto (2018) encontrou 0,18% para acidez titulável e 1,031 g para densidade a 15° C. e Pignata et al. (2014).

O teor de gordura de 8,60g/100g obtido, supera os valores encontrados por Amaral (2005) e Pignata et al. (2014), sendo respectivamente de 6,85g/100g e 4,26g/100g, bem como os valores de proteínas encontrados por ambos os autores, respectivamente alcançando 4,19g/100g e 3,05g/100g, tendo o resultado alcançado nesse trabalho de 3,58g/100g. Todos os parâmetros analisados estão de acordo com São Paulo (2008), sendo a legislação mais recente para o controle de qualidade do leite bubalino.

Em um estudo comparando as características físico-químicas do leite de búfala ao leite de vaca, encontrou-se 6,72 de pH, 15° Dornic, 1,029 g de densidade, 4,26 ± 0,71 % de gordura, 3,05 ± 0,21 % de proteína, 4,27 ± 0,26 % de lactose, 86,53 ± 0,23 % de umidade, 12,47 ± 0,29 de Sólidos Totais e 8,21 ± 0,41 de extrato seco desengordurado. (Pignata et. al., 2014).

Os resultados das análises físico-químicas do maracujá amarelo, encontram-se na tabela 3.

**Tabela 3** - Resultados das análises físico-químicas do maracujá amarelo.

<b>Parâmetros</b>	<b>Maracujá Amarelo</b>	<b>Brasil (2000)</b>
<b>Acidez (ácido cítrico)</b>	3,88	mín 2,50
<b>Ph</b>	2,92	2,7 – 3,8
<b>SST (°brix)</b>	16,0	mín 11,0
<b>Ácido ascórbico (mg/100g)</b>	5,05	--
<b>Carotenoides (µg/100g)</b>	1.622	--

Fonte: Autores, 2024.

Para a análise de acidez titulável a amostra da polpa de maracujá apresentou média de 3,88% em ácido cítrico. Para Costa et al. (2001) o valor de acidez média deve ser 2,9 a 5,0. O valor apresentado está dentro do teor mínimo de 2,50/100g de

ácido cítrico estabelecido pelo Regulamento técnico para fixação dos padrões de identidade e qualidade para polpa de maracujá, Brasil (2000)

A determinação de vitamina C a amostra da polpa apresentou 5,05 mg/100g de ácido ascórbico presente em sua polpa, na qual apresentou valores de ácido ascórbico superior ao encontrado por Choque (2016) foi de 2 mg/100g) no suco de maracujá.

Para os resultados obtidos de sólidos solúveis, foram indicados em °Brix, onde o resultado foi de 16,0°Brix da polpa do maracujá estando de acordo com o mínimo de 11°Brix estabelecido pelo Regulamento técnico para fixação dos padrões de identidade e qualidade para polpa de maracujá, Brasil (2000). O resultado obtido foi superior aos valores encontrados por Ferreira et al. (2016), no qual indica que a variação pode ocorrer devido ao cultivo do fruto ou grau de maturidade do fruto.

O pH da polpa apresentou o valor de 2,92, considerado ácido, que também obteve resultado acima do mínimo permitido pela legislação, Brasil (2000). Onde o máximo deverá ser 3,8, valor obtido diretamente do equipamento medidor pHmetro digital.

Para a determinação de carotenoides, o valor obtido por espectrofotometria foi de 1.622 µg/100g na polpa do maracujá amarelo (*Passiflora edulis*), valor próximo ao encontrado de β-caroteno por Couto (2011) foi de 1750,59 µg/100g-1, e superior ao de β-caroteno encontrado por Nachbar (2013), que apresentou valor de 269,1 µg/100 g. Às condições de amadurecimento, transporte e congelamento, são fatores que influenciam nos resultados obtidos na determinação final do teor carotenoides da fruta de gênero *P. edulis*.

Os resultados encontrados das análises físico-químicas do doce de leite, encontram - se descritos na tabela 4 a seguir, e autores utilizados como referências para a avaliação dos resultados encontram-se na tabela 5.

**Tabela 4** - Resultados advindos das médias de análises físico-químicas das formulações do doce de leite bubalino saborizado com calda de maracujá.

<b>Parâmetros</b>	<b>DCA</b>	<b>DCB</b>	<b>Brasil (1997)</b>
<b>Acidez (°D)</b>	52,71	92,68	-
<b>Umidade (g/100g)</b>	30,18	29,83	30,0 máx.
<b>Cinzas(g/100g)</b>	1,18	1,11	2,0
<b>Gordura (g/100g)</b>	8,83	8,43	6,0 a 9,0
<b>Proteínas (g/100g)</b>	7,15	5,93	5,0 mín.
<b>pH</b>	5,81	5,00	-
<b>Carotenoides (µg/100g)</b>	119,33 ± 5,73	143,33 ± 5,79	-
<b>Carboidrato (g/100g)</b>	52,66	54,70	-
<b>Valor Calórico (Kcal/100g)</b>	318,71	318,39	-

Fonte: Autores, 2024.

O valor de acidez em °Dornic encontrado para a formulação DCA foi de 52,71°D e para a formulação DCB é de 92,68°D, resultado semelhante foi encontrado por Santos, D. B (2018) na produção de doce de leite bubalino saborizado com bacuri e cupuaçu, na região de Parauapebas, tendo os respectivos valores de 59°D e 101°D. A legislação vigente para doce de leite não possui parâmetro de acidez em ácido láctico.

Quanto aos valores de umidade encontrado para o DCA é de 30,18g/100g e para o DCB 29,68 g/100g, valor próximo encontrado por Santos, D.B (2018) de 30,92 g/100g e 30,08 g/100g e relativamente alto comparado aos valores de Jacob (2017) de 3,54 g/100g, em seu trabalho visando observar possíveis mudanças na caracterização físico-química no doce de leite bubalino utilizando leite fresco e armazenado por nove meses. Os valores correspondentes a umidade encontra-se dentro da legislação, cujo valor máximo é de 30.0, com ressalva para a formulação DCA que excede 0,18 g/100g mesmo com desvio padrão de  $\pm 0,16$ .

Em relação aos valores obtidos de cinzas, obteve-se para DCA 1,18 g/100g e DCB 1,11g/100g, não tendo variação considerável entre as formulações nesse parâmetro. Em trabalhos realizados por Santos (2018), observa-se valores semelhantes de 0,97 g/100g e 1,13 g/100g, bem como resultado encontrado por Jacob (2017), com valores de 1,46 g/100g e 1,76 g/100g em suas duas formulações. Esses valores, contrapõem os resultados encontrados por Santos, L. G. T (2018), em seu trabalho realizado no estado de Pernambuco, com a produção de doce de

leite bubalino com geleia de goiaba, tendo valor de 3,1 g/100g de cinzas. Conforme Brasil (1997), o valor máximo permitido de cinzas no doce de leite é de 2 g/100g.

Para o teor de gordura, ambas as formulações apresentaram valores semelhantes, sendo DCA 8,83g/100g e DCB 8,43g/100g. Os resultados de teor de gordura estão de acordo com a legislação, uma vez que ela admite valor mínimo e máximo de 6 g/100g a 9g/100g de matéria gorda. O teor de gordura obtido de ambas as formulações era esperado devido as análises do leite bubalino já indicar seu volume, bem como sua parte sensorial, demonstrando cheiro e textura bem característica. Os resultados divergiram aos estudos de Santos, D. B (2018) de doce de leite bubalino com geleia de goiaba que encontrou valor de 0,2417 g/100g, e Santos (2018) com doce de leite bubalino com doce de bacuri e massa de cupuaçu, relatando valores abaixo de 4,59 g/100g.

Um estudo desempenhado por Sousa (2002) avaliando a qualidade físico-química de 18 amostra de doce de leite bubalino artesanais, produzidas na Ilha do Marajó (PA), apontou valores extremamente acima do que preconizado na Portaria, com valores alcançando 14 g/100g de matéria gorda. Desse modo, observa-se a dificuldade na padronização do teor de gorduras no doce de leite bubalino.

Para o valor de proteína encontrado, DCA apresentou 7,15g/100g, já o DCB apresentou 5,93g/100g. Resultados inferiores do que encontrado por Santos, D. B (2018), tendo suas formulações de doce de leite de bacuri e cupuaçu alcançado valor de 14,64 g/100g e 11,71 g/100g, respectivamente. Semelhantemente como Santos (2018) alcançou 11,12 g/100g de proteínas. Os resultados da formulação DCA assemelham-se aos resultados de 3 amostras encontrados por Sousa (2002), sendo 7,81 a 7,93 g/100g de proteínas e ambas as formulações encontram -se conforme ao valor mínimo exigido de 5 g/100g de proteínas.

Os resultados de pH encontrado para DCA foi de 5,81 e para DCB de 5,00, o valor encontrado era esperado, devido as análises do maracujá amarelo apresentar resultados bem ácidos, além disso, pela concentração de maracujá presente no DCB ser maior, considerou-se que seria a formulação com maior teor de acidez.

Encontrou-se valores de carboidratos para as formulações de 52,66 g/100g para DCA e 54,70 g/100g de DCB. Valor aproximado dos estudos de Sousa (2002) e Santos (2018).

Valores de 318,71 Kcal/100g e 318,39 Kcal/100g foram encontrados respectivamente para DCA e DCB. Os Resultados variam minimamente entre si, ao comparar os valores com Santos, D.B (2018), observa-se resultados de 296,19 Kcal/100g e 288,89 Kcal/100g, em comparação ao trabalho de Sousa (2002) que apresenta o valor mais baixo entre as 18 amostras, valor calórico de 356,58 Kcal/100g, as formulações encontram-se inferiores, portanto, aceitáveis.

**Tabela 5** - Resultados encontrados na literatura por Sousa (2002), Jacob (2017), Santos (2018) e Santos (2018) diante de parâmetros físico-químicos.

<b>Parâmetros</b>	<b>Sousa (2002)</b>	<b>Jacob (2017)</b>	<b>Santos, L. G. T (2018)</b>	<b>Santos, D. B (2018)</b>
<b>Acidez</b>	4,60	3,54	--	0,93
<b>pH</b>	--	7,02	4,63	7,45
<b>Umidade</b>	33,44	3,54	27,63	34,77
<b>Cinzas</b>	2,03	1,46	3,1	1,37
<b>Gordura</b>	14,00	--	0,2417	3,98
<b>Proteínas</b>	10,00	--	11,12	15,34
<b>Carboidratos</b>	68,48	--	59,87	44,73

Fonte: Autores, 2024.

## 7.2. ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

**Tabela 6** - Resultados das análises microbiológicas das formulações de doce de leite bubalino saborizado com calda de maracujá amarelo.

<b>Ensaio</b>	<b>DCA</b>	<b>DCB</b>	<b>Brasil (2022)</b>
<b>Coliformes Totais a 35°C</b>	4,0 NMP/g	<1,8 NMP/g	--
<b>Bolores e leveduras</b>	1,0x10 <sup>1</sup> est	2,0x10 <sup>1</sup> est	50 UFC/g a 10 <sup>2</sup>
<b><i>Staphylococcus aureus</i> coagulase positiva</b>	<10 est* UFC/g	<10 est* UFC/g	10 a 10 <sup>2</sup>

\*Valores expressos como < 10 est UFC/g significam a ausência de crescimento considerando os limites do método.

Fonte: Autores, 2024.

No grupo dos coliformes, encontra-se as enterobactérias, capazes de metabolizar a lactose e produzir gás em 24 a 48 horas em temperatura específica de 35°C. (Silva et al. 2010).

Os resultados encontrados na formulação DCA foram de 4,0 NMP/g, e para a formulação DBC encontra-se o valor de <1,8 NMP/g, valores relativamente baixos semelhantemente ao trabalho de Santos (2018) que encontrou valores de <10 UFC. Tal análise não é exigida pela RDC, N° 724, de 1 de julho de 2022 e pela IN 161 de julho de 2022, mas podem auxiliar na identificação de possíveis falhas nos processamentos.

De acordo com os dados dispostos na tabela, os resultados encontrados para bolores e leveduras estão de acordo com a Instrução Normativa nº 161 de 01 de junho de 2022 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária que estabelece os padrões microbiológicos dos alimentos, indicando boas condições higiênico sanitárias e processos térmicos eficazes. A formulação DCA apresentou o valor estimado de 10 UFC/g, e a formulação DCB apresentou valor estimado de 20 UFC/g, valores abaixo do que encontrados no trabalho realizado por Sousa (2002) ao encontrar resultados maiores que  $1,5 \times 10^2$  a  $7,4 \times 10^3$  em amostras de doce de leite artesanais coletadas na ilha do marajó.

Os bolores e leveduras possuem certa resistência a adversidade dos fatores intrínsecos e extrínsecos, em temperatura de 35–37°C possuem dificuldade de crescimento e raramente são encontrados em temperatura que elevem 45° C (Silva, et al.2010). Desse modo, a temperatura de concentração que as formulações foram submetidas e as condições higiênico sanitárias foram importantes para o resultado final do produto.

Os resultados de ambas as formulações na análise de *Staphylococcus aureus* coagulase positiva foi ausência, estando em conformidade com a Instrução Normativa nº 161 de 01 de julho de 2022 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária.

Ainda que, *S. aureus* seja uma bactéria patogênica com um faixa de pH com limites de crescimento entre 4,2 e 9,3, o mesmo não detém resistência ao calor, sendo destruído facilmente na pasteurização ou na cocção de alimentos (Silva et al. 2010 apud ICMSF, 1996).

## 8. CONCLUSÃO

Conclui-se que o estudo realizado no leite de búfala apresentou em seus parâmetros, valores condizentes com as legislações vigentes e literaturas encontradas, possibilitando o desenvolvimento do produto, além de apresentar valores consideráveis de gordura e proteínas.

O uso do maracujá para a saborização do doce de leite proporcionou a criação de um produto com pigmentação acentuada e diferencial, além disso, observou-se a inibição e redução de micro-organismos presentes ao comparar as formulações, sendo os micro-organismo analisados: bolores e leveduras, coliformes totais e *staphylococcus aureus*.

Ambas as formulações DCA e DCB desenvolvidas apresentaram parâmetros físico-químicos conforme estabelecido pelo Brasil (1997), onde, os parâmetros para carotenoides, acidez e proteínas obtiveram diferenças consideráveis devido a concentração da polpa de maracujá, além do que, os resultados das análises físico químicas apresentaram valores superiores ou mostram-se qualitativamente elevados comparados aos observados pela literatura.

De modo que também, às formulações apresentaram teor de carotenoides consideráveis no doce de leite bubalino mesmo após ser concentrado em altas temperaturas. Sendo assim, os produtos possuem consideravelmente valor nutricional e de compostos em  $\beta$ -caroteno.

## 9. REFERÊNCIAS

- ADEPARÁ - Agência de Defesa Agropecuária do Pará. **Panorama Agropecuário do Pará: Efetivo de Bubalinos 2015 – 2019**, 2020. Disponível em: <<http://www.sedap.pa.gov.br/content/bubalinos> >. Acesso em: 18 mar. 2023.
- ALBUQUERQUE, Alicinez; CIRINO, Ana Carolina; MARTINS, Cecilia; GOMES, Mônica. **Influência do tipo de açúcar nas propriedades organolépticas do doce de leite**. *Nutrire*. vol.36, p.60-60, 2011.
- AMARAL, F. R.; et al. Qualidade do leite de búfalas: composição. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. Belo Horizonte, v.29, p.106-110, 2005.
- AOAC. Association of Analytical Chemists. **Standard Official Methods of Analysis of the Association of Analytical Chemists**. 16ª ed., 3ª rev. Gaithersburg: Published by AOAC International, 1997. v.2, cap. 32, p.1-43.
- AOAC. Association of Analytical Chemists. **Standard Official Methods of Analysis of the Association of Analytical Chemists**. 18 ed. Gaithersburg, 2005. ISBN 0-935584-77-3.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERTSET, C. **Use of a radical method to evaluate antioxidant activity**. *Lebensm-WissTechnol*, v.28, p.25-30,1995.
- BRASIL, Ministério da Agricultura e Pecuária. Portaria N° 354, de 4 de setembro de 1997. Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de Doce de Leite. **Diário Oficial da União**. Brasília, DF, 1997.
- BRASIL - Ministério da Agricultura. **Regulamento técnico para fixação dos padrões de identidade e qualidade para polpa de maracujá**. 2000. Disponível em: <<https://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do>>. Acesso em: 23 dez. 2023.
- BRASIL et al. **Manual de aulas práticas de tecnologia de frutas e hortaliças**. 2020. 25 f. Belém-Pará, 2020.
- BRASIL, Instrução Normativa N° 161, de 1 de julho de 2022. Regulamento Estabelece as listas de padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 23 dez. 2019.
- BRASIL, Resolução da Diretoria Colegiada, N° 724, de 1 de julho de 2022. Dispõe sobre os padrões microbiológicos dos alimentos e sua aplicação. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 23 dez. 2019.
- BRIGNANI NETO, F. Produção integrada de maracujá. **Biológico**, v. 64, n. 2, p. 195-197, 2002.
- CARVALHO, R.F. **Doce de leite pastoso e em barra**. Rede de tecnologia da Bahia – RETEC/BA, 2007.

- CAVALI, J; PEREIRA, R. G. A. Produção leiteira de búfalos. **EMBRAPA, Pecuária leiteira da Amazônia**. cap. 17, p. 391 - 399, 2020.
- CHOQUE, Melina Gabriela Condori. **Estudio químico de la cáscara de la especie "Passiflora edulis f. flavicarpa"(Maracujá) para su aprovechamiento en la industria**. Orientador: José Luis Vila Castro. 2016. 57 f. Tese (Doutorado em química industrial) – Universidad Mayor de San Andres, Facultad de Tecnologia, Bolívia, 2016.
- COELHO, P. **ENGQUIMICASANTOSSP - Método de Kjeldahl – Teste para determinar o teor de nitrogênio e proteínas**. 2019. Disponível em: <<https://www.engquimicasantoss.com.br/2019/07/metodo-kjeldahl-teste-nitrogenio.html>> Acesso em 13 mar. 2023.
- COSTA, A. M.; Tupinambá, D. D. O maracujá e suas propriedades medicinais – estado da arte. In: Faleiro, F.G.; Junqueira, N.T.V.; Braga, M.F. (Eds.) Maracujá: germoplasma e melhoramento genético. Planaltina,DF: **Embrapa Cerrados**, 2005. p. 475-506.
- COSTA, J.R.M.; Lima, C.A.A.; Lima, E.D.P.A.; Cavalcante, L.F. e Oliveira, F.K.D. 2001. Caracterização dos frutos de maracujá amarelo irrigados com água salina. **Rev. Bras. Eng. Agríc Ambient.**, 2001.
- COUTO, A.B.B.; Aguiar, I.B.; Oliveira, C.S.; Gomes, F.S.; Freire Junior, M.; Cabral, L.M.C.; Leal J.R., W.F. **Caracterização físico-química maracujá-amarelo (passiflora edulis fo. flavicarpa) cultivado em sistema orgânico e convencional**. Embrapa Agroindústria de Alimentos. 2011.
- DA SILVA, M. A. A. P. Análise sensorial e instrumental de alimentos. **Apostila de Disciplina**. FEA/UNICAMP, Campinas, SP, 1998.
- DAVIES, B.H. Carotenoid. In: GOODWIN, T. W. (ed.), Chemistry and biochemistry of plant pigments. **New York: Academic Press**, 1976. p. 38-165.
- DEMIATE, I. M.; KONKEL, F. E.; PEDROSO, R. A. Avaliação da qualidade de amostras comerciais de doce de leite pastoso - composição química. **Food Science and Technology**, v. 21, n. 1, p. 108–114, jan. 2001.
- DINIZ et al. Alteração dos metabólitos secundários em plantas de *Hypericum perforatum*L. (Hypericaceae) submetidas à secagem e ao congelamento. **Acta Botanica Brasilica**, Belo Horizonte, v. 21, n. 2, p. 443-450, 2007.
- FERREIRA, A. F. N.; KRAUSE, S.; OLIVEIRA, E. A. de; SILVA, M. L. S.; KRAUSE, W. Qualidade do fruto e produtividade de cultivares de maracujá em diferentes épocas de colheitas. **Enciclopédia Biosfera**, v. 13, n. 23, p. 1107-1116, 2016.
- FREITAS, J.A. Qualidade do leite frente seu beneficiamento e obtenção de derivados. In: **Seminário de Zootecnia, I**. 2001, Belém-Pará. Faculdade de Ciências Agrárias do Pará. Belém, set. 2001.

GONÇALVES, C.A., VIEIRA, L.C. **Obtenção e higienização do leite in natura**. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Embrapa Amazônia Oriental, Belém: Documento 141. 2002. 28p.

GUSMÃO, J. V. F. et al. **Quais as diferenças entre doce de leite e leite condensado?** 2023. Disponível em:

<<https://www.milkpoint.com.br/colunas/lipaufv/quais-as-diferencas-entre-doce-de-leite-e-leite-condensado-233553/>> Acesso em: 10 jan. 2024.

IBGE. **Produção de búfalos**, 2021. Disponível em:<

<https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/bubalinos/pa>>. Acesso em: 21, mar 2023.

IBGE. **Produção de maracujá**, 2021. Disponível em:<

<https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/maracuja/br>>. Acesso em: 21, mar 2023.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ (SÃO PAULO). Métodos físico-químicos para análise de alimentos /coordenadores Odair Zenebon, Neus Sadocco Pascuet e Paulo Tiglea -- São Paulo: **Instituto Adolfo Lutz**, 2008.

JACOB et al. Aspectos de qualidade físico-química de doce de leite de búfalas da raça Murrah, a partir de leite fresco e armazenado. **Revista Agrossistemas**, v. 9, n. 2, p. 288 - 298, 2017.

JUNGHANS, T. G. Espécies de maracujazeiro: uma riqueza do Brasil, editora técnica. **EMBRAPA**. 1º ed. p. 203, Brasília, 2022.

LOPES, W. R. L. **Produção de leite bubalino na microrregião do Arari: Arquipélago de Marajó, Pará: Caracterização e recursos forrageiros**. Trabalho de Pós Graduação — Universidade Federal Rural da Amazônia, Pará, Belém, p. 72. 2016.

MARTIN, C. A. et al. Ácidos graxos poli-insaturados ômega-3 e ômega-6: importância e ocorrência em alimentos. **Revista de Nutrição**, v. 19, n. Rev. Nutr., 2006 19(6), p. 761–770, nov. 2006.

MELETTI, L.M.M.; BRÜCKNER, C.H. **Melhoramento Genético. Maracujá: tecnologia de produção, pós-colheita, agroindústria e mercado**. Porto Alegre: Cinco Continentes, 2001. p. 345-385.

MIRANDA, A. A; CAIXETA; A. C.A; FLÁVIO, E. F; PINHO, L. Desenvolvimento e análise de bolos enriquecidos com farinha da casca do maracujá (*Passiflora edulis*) como fonte de fibras. **Brazilian Journal Food Nutrition**, v. 24, n.2, p. 225 - 232, abr/jun. 2013.

NACHBAR, F.R.F. **Compostos bioativos presentes em cultivares de maracujá**. TCC de graduação em Farmácia-Bioquímica da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara. da Universidade Estadual Paulista. 2013.

NORA, F.M.D. Análise sensorial clássica [livro eletrônico]: fundamentos e métodos. Canoas, RS: **Mérida Publishers**, 2021. Disponível em <https://meridapublishers.com/l11analise/l11analise.pdf#page=63>. Acesso em mar. 2023.

PIGNATA, M. C et al. Comparative study of chemical composition, fatty acid and cholesterol and cow milk of buffalos. **Revista Caatinga**. v. 27. n.4 , p. 226-233.Out. 2014.

PINTO, G. E; PEREIRA, C. M; SOARES, B. S. D; CAMARGO, S. A; FERNANDES, S. P. A. Desenvolvimento de iogurtes de leite de búfala e cabra sabor açai. **UNICIÊNCIAS**, Goiás, v. 22 n. 3 especial, p. 7 -10, 2018. Disponível em: <<https://www.doity.com.br/ANAIS/viii-coloquio-scm/trabalho/219237> >. Acesso em: 18 mar. 2023.

RANGEL, A. H. N., Oliveira, J. P. F., Araújo, V. M., Bezerra, K. C., Medeiros, H. R., Lima, D. M. Jr., & Araújo, C. G. F. (2011). **Influência do estágio de lactação sobre a composição do leite de búfalas**. Acta Veterinaria Brasilica, 3, 306-310.

RODRIGUEZAMAYA, D. B. **Critical-review of provitamin a determination in plant foods**. Journal of Micronutrient Analysis, v. 5, n. 3, p. 191-225, 1989.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; KIMURA, M. **Harvest plus handbook for carotenoid analysis**. Washington, DC: International Food Policy Research Institute e International Center for Tropical Agriculture, 2004. p. 58.

ROVEDO, C.O.; VIOLLAZ, P.E.; SUAREZ, C. The effect of pH and temperature on the rheological behavior of Dulce de leche, a typical dairy argentine product. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.74, n.5, p.1497-1502, 1991.

RUGGIERO, C. et al. Maracujá para exportação: aspectos técnicos da produção. Brasília: EMBRAPA, SPI, 1996. 64p. **Publicações técnicas FRUPEX**, v. 19, 2003. SANDI, D.; CHAVES, J. B. P., et al. **Correlações entre características físico-químicas e sensoriais em suco de maracujá amarelo (Passiflora edulis f.Flavicarpa) durante o armazenamento**. Ciência e tecnologia de alimentos, v. 23, n. 2, pág.355-361. 2003.

SANTOS, Dayanne Bentes dos. **Elaboração e caracterização físico-química e sensorial de doces de leite pastosos bovino e bubalino a partir da adição de doce de bacuri e cupuaçu**. Orientadora: SILVA, Priscilla Andrade. 2018. 47 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Zootecnia) - Universidade Federal Rural da Amazônia, Campus Belém, 2018. Disponível em: <http://bdta.ufra.edu.br/jspui/handle/123456789/3039>. Acesso em: 06 nov. 2023.

SANTOS, L. G. T. **Desenvolvimento e avaliação da qualidade do doce de leite a base de leite de búfala com geleia de goiaba**. Trabalho de Conclusão de Curso, Graduação em Nutrição - Universidade Federal de Pernambuco. p.53, Dez, 2018. Disponível em: <<https://repositorio.ufpe.br/handle/123456789/29064>>. Acesso em: 06 nov. 2023.

SÃO PAULO. **Secretaria de Agricultura e Abastecimento**. Resolução SAA nº 03 de 10 de janeiro de 2008: Dispõem sobre as normas técnicas de produção e classificação dos produtos de origem animal e as relativas às atividades de fiscalização e inspeção dos produtos de origem animal, altera normas técnicas para condições higiênico sanitárias mínimas para sua aprovação. Disponível em: <<http://cda.sp.gov.br/lesgilação>>. Acesso em: 09 ago. 2023.

SEDAP. **Efetivo dos rebanhos (cabeças). Pará: 2000 a 2019**. 2020. Disponível em: < <http://www.sedap.pa.gov.br/dados-agropecuarios/pecuaria> >. Acesso: 28. fev., 2023.

SILVA, F. **Doce de leite**. EMBRAPA. Brasília, 2021. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/en/agenciadeinformacaotecnologica/tematicas/tecnologia-de-alimentos/processos/grupos-dealimentos/lácteos/doce-de-leite>>. Acesso em: 12 mar. 2023.

SILVA, M. s. T.; et al. **Programa de incentivo a criação de búfalos por produtores – PRONAF**. Pará, agosto de 2003. Disponível em:<[www.cpatu.br/bufalo](http://www.cpatu.br/bufalo)>. Acesso em: 20 de ago. de 2018.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M. H.; GOMES, R. A. R.; OKAZAKI, M. M. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água**. 4 ed. São Paulo: Varela, 2010.

SINGLETON V. L.; ORTOFHER, R.; LAMUELA, R.M. **Analysis of Total Phenols and Other Oxidation Substrates and Antioxidants by Means of Folin - Ciocalteu Reagent**. Rev. Meth Enzymology. 299:152-78. 1999.

SOUSA, C. et al. Avaliação microbiológica e físico-química de doce de leite e requeijão produzidos com leite de búfala na Ilha do Marajó-PA. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, v.20, n.2, p.191-202, Jul/dez, 2002.

Teixeira, L. V., Bastianetto, E., & Oliveira, D. A. A. (2005). **Leite de búfala na indústria de produtos lácteos**. Revista Brasileira de Reprodução Animal, 29, 96-100.

TEIXEIRA, L. V.; BASTIANETTO, E.; OLIVEIRA, D. A. A. Leite de búfala na indústria de produtos lácteos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 29, n. 2, p. 96-100, 2005.

VALENTE, Luana. **Qualidade do leite de búfala e benefícios à saúde**. Rádio Guaíba, 2019. Disponível em: < <https://guaiba.com.br/2019/09/14/qualidade-do-leite-de-bufala-e-beneficiosa-saude/>> Acesso em: 21, mar 2023.

VIEIRA, G. P. **Compostos fenólicos, capacidade antioxidante e alcalóides em folhas e frutos (pericarpo, polpa e sementes) de Passifloras spp**. Universidade de São Paulo. São Paulo., 2013. 81p. v

WARMLING, M. L. **Biotécnicas reprodutivas usadas em bubalinos no Brasil**. Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) — Curso de Zootecnia, Universidade Federal de Santa Catarina. Santa Catarina, p.53. 2018.

WATERHOUSE, Andrew L. **Determination of total phenolics**. Current protocols in food analytical chemistry, v. 6, n. 1, p. 11. 1.1-11. 1.8, 2002.

ZERAIK, M.L. et al. Maracujá: um alimento funcional?. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.20, p.459-471, 2010.



Universidade do Estado do Pará  
Centro de Ciências Naturais e Tecnologia  
Curso de Tecnologia de Alimentos  
Travessa Enéas Pinheiro, 2626 – Marco  
66095-490. Belém – PA  
[www.uepa.br](http://www.uepa.br)