



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
CURSO DE FARMÁCIA**

JULIANA MARIA SVENDSEN MEDEIROS

**Teor de compostos fenólicos e atividade antioxidante em bebida láctea
fermentada sem lactose adicionada da polpa de *Syzygium cumini* (Myrtaceae) e
*Lactobacillus casei***

**CAMPINA GRANDE
2017**

JULIANA MARIA SVENDSEN MEDEIROS

Teor de compostos fenólicos e atividade antioxidante em bebida láctea fermentada sem lactose adicionada da polpa de *Syzygium cumini* (Myrtaceae) e *Lactobacillus casei*

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Farmácia da Universidade Estadual da Paraíba, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Farmácia.

Orientadora:
Prof.^a Dr.^a. Flávia Carolina Alonso Buriti.

CAMPINA GRANDE
2017

É expressamente proibido a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano do trabalho.

M488t Medeiros, Juliana Maria Svendsen.

Teor de compostos fenólicos e atividade antioxidante em bebida láctea fermentada sem lactose adicionada da polpa de *Syzygium cumini* (Myrtaceae) e *Lactobacillus casei* [manuscrito] : / Juliana Maria Svendsen Medeiros. - 2017.

43 p.

Digitado.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2017.

"Orientação : Profa. Dra. Flávia Carolina Alonso Buriti, Coordenação do Curso de Farmácia - CCBS."

1. Compostos fenólicos. 2. Probióticos. 3. Atividade antioxidante. 4. *Syzygium cumini*.

21. ed. CDD 615.375


JULIANA MARIA SVENDSEN MEDEIROS

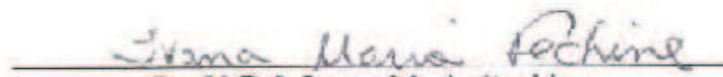
Teor de compostos fenólicos e atividade antioxidante em bebida láctea fermentada sem lactose adicionada da polpa de *Syzygium cumini* (Myrtaceae) e *Lactobacillus casei*


Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Farmácia da Universidade Estadual da Paraíba, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Farmácia.

Aprovada em: 30/11/2017.

BANCA EXAMINADORA


Prof.^a Dr.^a Flávia Carolina Alonso Buriú
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)


Prof.^a Dr.^a Ivata Maria Fechine
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)


Prof.^a Dr.^a Alessandra Teixeira
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)

AGRADECIMENTOS

Ao meu Deus, porque sem Ele nada disso seria possível.

À Universidade Estadual da Paraíba, pela oportunidade.

À todos os mestres professores.

Aos meus pais, que sacrificaram o que podiam para que eu chegasse até aqui, sempre me apoiando. Ao meu irmão, que por tantas e tantas vezes me ajudou quando precisava.

À minha orientadora, Flávia Carolina, que desde o começo sempre se prontificou a me ajudar, auxiliar e esclarecer toda e qualquer dúvida durante o desenvolvimento do trabalho. Seu compromisso e dedicação serviram como verdadeiras inspirações profissionais.

A todos do NUPEA, em especial Adna, Adriana, Thiago, Ana Paula e Luana, que sempre se propuseram a me ajudar nessa caminhada.

Às minhas amigas de curso, que sempre estiveram ao meu lado em todas as alegrias e dificuldade e que com certeza tornaram todos esses anos mais divertidos.

“Ninguém te poderá resistir, todos os dias da tua vida; como fui com Moisés, assim serei contigo; não te deixarei nem te desampararei.”
Josué 1:5

RESUMO

¹Juliana Maria Svendsen Medeiros;

²Flávia Carolina Alonso Buriti

^{1,2}Universidade Estadual da Paraíba -
UEPB. ¹jumsvendsenm@gmail.com

O jambolão, espécie *Syzygium cumini* pertencente à família Myrtaceae, é um fruto rico em compostos bioativos e outros antioxidantes, sendo consumido quase que totalmente na sua forma *in natura*, ainda apresenta potencial para ser processado na forma de sucos, compotas, doce, geleias, bebidas entre outros. Assim, o jambolão pode ser utilizado em bebidas lácteas como meio de reduzir seu custo de produção, melhorar seu valor nutritivo e suas características sensoriais, bem como também conferir funcionalidade a este produto. Probióticos também têm sido inseridos, sobretudo, em produtos lácteos, observando-se que a sobrevivência desses microrganismos pode ser melhorada por ingredientes ricos em compostos fenólicos. Neste trabalho, o objetivo foi avaliar o teor de compostos fenólicos, bem como a capacidade antioxidante de bebida láctea isenta de lactose, fermentada com *Streptococcus thermophilus* TA40, adicionada da cultura probiótica *Lactobacillus casei* BGP93 e polpa de jambolão. Esta bebida foi comparada a uma formulação controle, sem o microrganismo probiótico, e com as bases lácteas antes e após a fermentação, anteriormente à adição da polpa de jambolão. Observou-se que a polpa de jambolão foi responsável pelo aumento do teor de fenólicos totais e sequestro de DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazila) dos produtos finais quando se comparou as bebidas lácteas fermentadas prontas (controle e probiótica) com as respectivas bases lácteas antes e após a fermentação. Foi observado também que a bebida contendo *S. thermophilus* e o probiótico *L. casei* apresentou maior sequestro de DPPH, quando comparada à bebida controle apenas com *S. thermophilus*. Pode-se dizer, portanto, que o microrganismo probiótico melhorou a qualidade da capacidade antioxidante da bebida láctea.

Palavras-chave: Compostos fenólicos. Probióticos. Atividade antioxidante. *Syzygium cumini*.

ABSTRACT

¹Juliana Maria Svendsen Medeiros; ²Flávia
Carolina Alonso Buriti

^{1,2} Universidade Estadual da Paraíba - UEPB.

¹jumsvendsenm@gmail.com

The jambolan, a species *Syzygium cumini* belonging to the family Myrtaceae, is a fruit rich in bioactive compounds and other antioxidants, being consumed almost totally in its *in natura* form. This fruit also has potential to be processed in the form of juices, jams, pastes, jellies, beverages among others. Thus, the jambolan can be used in dairy drinks to reduce their cost of production, improving its nutritional value and its sensorial characteristics, as well as to confer functionality to this product. Probiotics have also been added mainly in dairy products, observing that the survival of these microorganisms can be improved by ingredients rich in phenolic compounds. The objective of this study was to evaluate the phenolic compounds content, as well as the antioxidant capacity of lactose-free dairy beverage fermented with *Streptococcus thermophilus* TA40, also added with the probiotic culture *Lactobacillus casei* BGP93 and jambolan pulp. This beverage was compared to a control formulation, without the probiotic microorganism, and also with the dairy bases before and after fermentation, prior to the addition of the jambolan pulp. It was observed that the jambolan pulp was responsible for increasing the total phenolic content and 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) scavenging capacity of the final products when compared with the ready-made fermented dairy beverage (control and probiotics) with the respective dairy bases before and after fermentation. It was also observed that the beverage containing *S. thermophilus* and the probiotic *L. casei* showed higher DPPH scavenging capacity when compared to the control trial with only *S. thermophilus*. In conclusion, the probiotic micro-organism resulted in a quality improvement of the antioxidant capacity of the dairy beverage.

Key-words: Phenolic compounds. Probiotics. Antioxidant capacity. *Syzygium cumini*.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	8
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	10
2.1 <i>Syzygium cumini</i>.....	10
2.2 Compostos bioativos.....	11
2.2.1 <i>Compostos fenólicos</i>	12
2.2.1.1 Flavonóides.....	14
2.2.1.2 Antocianinas.....	14
2.2.1.3 Taninos.....	15
2.2.1.4 Ácidos fenólicos.....	15
2.3 Radicais Livres.....	16
2.3.1 <i>DPPH</i>	17
2.4 Alimentos funcionais.....	17
2.4.1 <i>Probióticos</i>	19
2.4.2 <i>Soro de leite</i>	20
2.4.3 <i>Bebida láctea fermentada</i>	21
2.5 Produtos lácteos para intolerantes à lactose.....	22
3 OBJETIVOS.....	23
3.1 Objetivo geral.....	23
3.2 Objetivos específicos.....	23
4 METODOLOGIA.....	24
4.1 Local da pesquisa.....	24
4.2 Materias-primas.....	24
4.3 Obtenção dos frutos e polpa de jambolão.....	24
4.4 Obtenção do soro do queijo.....	24
4.5 Preparo da base láctea.....	25
4.6 Hidrólise da lactose da bebida láctea.....	25
4.7 Fabricação de bebidas lácteas probióticas fermentadas sem lactose.....	25
4.8 Período de amostragem.....	26
4.9 Preparação das amostras.....	26
4.10 Determinação de compostos fenólicos totais.....	27
4.11 Determinação da atividade antioxidante total pela captura do radical livre DPPH.....	28
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	29
6 CONCLUSÃO.....	34
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	35

1. INTRODUÇÃO

O jambolão (espécie *Syzygium cumini*) é um fruto originário da Índia, pertence à família Myrtaceae e no Brasil, tem como época de safra os meses de dezembro a fevereiro (COSTA et al., 2013). A fruta é consumida quase que totalmente na sua forma *in natura*, não sendo tão aproveitada do ponto de vista industrial no Brasil, o que acaba acarretando em um grande desperdício desse alimento. No entanto, o jambolão apresenta potencial para ser processado na forma de sucos, compotas, doce, geleias, entre outros. Sabe-se também que, tanto o fruto como as outras partes da árvore são utilizadas na medicina popular (BALIGA et al., 2011; SOARES, 2013).

Alimentos que têm compostos fenólicos e outros antioxidantes (como ácido ascórbico e carotenóides) em abundância na sua composição química têm demonstrado diversos benefícios à saúde, o que aumentou a procura por novas espécies de plantas que possuam essa propriedade, e outra atividade biológica complementar relevante (CÉSPEDES et al., 2008; EFRAIM, ALVES, JARDIM, 2011; FLOEGEL et al., 2011; SANTOS, 2015). O jambolão pode ser avaliado como uma fonte enorme de compostos fenólicos da dieta, dos quais se distinguem mais de 4000 estruturas com atividades biológicas (EVERETTE et al., 2010; SOARES, 2015).

Muitas pesquisas vêm sendo realizadas com intuito de identificar o consumo de novos compostos bioativos e a determinação de bases científicas para comprovar as argumentações de propriedades funcionais dos alimentos (SEOLIN et al., 2013; SOARES, 2015). O mercado de bebidas tem apresentado um crescimento constante e tendência de aumento do consumo de alimentos mais saudáveis e funcionais, visando à prevenção contra doenças (MONTEIRO, 2006; SOARES, 2015).

A ingestão de alimentos é o principal veículo de probióticos (micro-organismos vivos, bactérias e/ou leveduras, que podem trazer benefícios à saúde) e por isso devem ser incluídos na dieta diária dos consumidores. Dentre os alimentos, os produtos lácteos funcionais são considerados meios ideais para introdução desses probióticos, merecendo destaque os iogurtes, queijos, sorvetes, sobremesas e bebidas lácteas fermentadas (RANADHEERA, BAINES, ADAMS, 2010).

As bebidas lácteas, pela legislação brasileira, têm como definição: o produto lácteo obtido da mistura do leite e soro lácteo adicionado ou não de produtos ou substâncias alimentícias (BRASIL, 2005). Assim, a adição de soro, bactérias probióticas e prebióticos a uma bebida láctea pode resultar em um alimento funcional, se tornando uma nova alternativa

para a indústria de laticínios e para os consumidores interessados em uma dieta saudável e nutritiva, aliado a um produto com novas características sensoriais (CASTRO et al., 2009).

No Brasil, a produção de bebida láctea é uma das principais formas de aproveitamento do soro de queijo. As mais comercializadas são as bebidas fermentadas, que mostram características sensoriais semelhantes ao iogurte (CALDEIRA et al., 2010). Complementarmente, o teor de lactose e outros nutrientes presentes no soro, fazem desse subproduto uma matéria-prima potencial para o cultivo de microrganismos probióticos, viabilizando a produção de bebidas lácteas fermentadas funcionais (SIQUEIRA; MACHADO; SATAMFORD, 2013).

No entanto, existe uma população intolerante a lactose, que é uma condição da mucosa intestinal (intestino delgado) que impossibilita a digestão da lactose e absorção deste carboidrato na dieta, sendo causada por baixa atividade ou baixa síntese da enzima β -D-galactosidase, geralmente conhecida como lactase (PEREIRA, FURLAN, 2004; OLIVEIRA, 2013).

Segundo Sun-Waterhouse et al. (2013), a introdução de polifenóis em produtos lácteos fermentados é uma abordagem pertinente e acessível para aumentar a ingestão diária desses compostos bioativos. Sendo assim, o presente trabalho tem como interesse aplicar o uso do jambolão e uma cultura potencialmente probiótica no preparo de bebida láctea fermentada isenta de lactose, bem como detalhar a concentração de compostos fenólicos e atividade antioxidante da bebida.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 *Syzygium cumini* (jambolão)

O jambolão, *Syzygium cumini*, pertence à família Myrtaceae. Originário da Ásia tropical, especificamente na Índia, é também denominado de *Eugenia jambolana* ou *Eugenia cumini* (ARAÚJO, 2014; AYYANAR, BABU, 2012;). As mirtáceas no Brasil apresentam cerca de 26 gêneros e 1000 espécies (SOUZA; LORENZI, 2008). Dentre os gêneros mais recorrentes no Brasil, destacam-se por uma maior diversidade os gêneros *Eugenia*, com 1000 espécies (MERWE et al., 2005), o gênero *Myrcia* com 300 espécies e o gênero *Psidium* composto de 100 espécies (JUDD et al., 2007; PIERI, 2012).

No Brasil pode ser conhecida popularmente por azeitona preta, jamelão, cereja, jalão, kambol, jambú, azeitona-do-nordeste, ameixa roxa, murta, baga de freira, guapê, jambuí, azeitona-da-terra, entre outros nomes (ARAÚJO, 2014; VIZZOTO; PEREIRA, 2008). A árvore começa a florescer entre os meses de setembro e novembro, e o seu fruto, jambolão, tem a safra abundantemente nos meses de dezembro a fevereiro (OLIVEIRA, AKISUE, 2000; ALBERTON et al., 2001).

É uma árvore perenifólia, de grande porte, tendo a copa frondosa e densa, medindo aproximadamente entre 15 a 20 metros de altura, com tronco na maioria das vezes tortuoso (RUFINO, 2007; SOUSA, 2012). É uma planta rústica e se desenvolve bem no clima quente e úmido, por isso, adapta-se em qualquer tipo de solo (DONADIO, 2007; SOUSA, 2012). As folhas são simples, coriáceas, glabras, aromáticas, lustrosas, variando de 8 a 14 cm de comprimento, com a nervura principal em destaque e o pecíolo de 1 a 3 cm, e as flores apresentam coloração de branca a creme (AYYANAR; SUBASH-BABU, 2012; SOUSA, 2012).

O fruto é pequeno, com forma elipsóide, que adquire coloração roxa escura quando completamente maduro, tendo pele fina, lustrosa e aderente. Sua polpa, também roxa, é carnosa e envolve apenas uma única grande semente. Na época da safra, as árvores ficam carregadas de frutos, e quando maduros despencam e acabam se acumulando no solo (SÁ, 2008; SOUSA, 2012).

As sementes apresentam em sua composição alcalóides, como a jambosina, e glicosídeos, como a jambolina e a antimelina (AYYANAR; SUBASH-BABU, 2012; SOARES, 2013). Elas vêm sendo estudadas por serem ricas em flavonóides, compostos

conhecidos por sua capacidade antioxidante, que agem na captura de radicais livres e protegem as enzimas antioxidantes das células (RAVI et al., 2004; SOARES, 2013).

A composição química de frutas e hortaliças apresenta vários componentes, os quais são responsáveis pelas características de cor, de sabor e de aroma, além dos efeitos nutricionais e nutracêuticos. Os vegetais possuem metabólitos de dois tipos: primários e secundários. Os metabólitos primários respondem pela sobrevivência do vegetal, exercendo função nos processos de fotossíntese, respiração e assimilação de nutrientes; já os metabólitos secundários estão associados diretamente às estratégias de defesa das plantas, sendo os principais divididos em três grupos de acordo com sua rota biossintética: terpenos, compostos fenólicos e compostos contendo nitrogênio (SILVA et al., 2010; SOARES, 2015).

Entre alguns dos componentes mais importantes presentes no jambolão, incluem-se a água, pigmentos antocianínicos, vitaminas, minerais e outros componentes resultantes do metabolismo secundário, denominados fitoquímicos. São estas substâncias, naturalmente sintetizadas pelas plantas, que fornecem proteção contra o ataque de pragas e doenças, e também auxiliam a aguentar condições adversas do ambiente (SÁ, 2008; SOUSA 2012).

Além de exercer essa função protetora na planta, esses compostos possuem algumas propriedades farmacológicas, sendo muito utilizado na medicina popular (SOUSA, 2012; VIZZOTO; PEREIRA, SANTOS, 2015) por ter ação hipoglicemiante, antimicrobiana, hipotensiva, diurética, cardiotônica, antiinflamatória, antiemética, estimulante do sistema nervoso central, antipirética, anticonvulsivante, anti-hemorragica e antiescorbútica (CHAUDHARY; MUKHOPADHYAY, 2012, SANTOS, 2015).

Além do uso medicinal, o jambolão e outras partes da planta podem ser também utilizados na cosmetologia e/ou indústria alimentícia (SÁ, 2008; SOUSA, 2012). Na cosmetologia, se utiliza principalmente as folhas, das quais é possível obter os óleos essenciais, e a fragrância é normalmente incorporada a sabões e/ou a outras substâncias na produção de perfumes. Já na indústria de alimentos o fruto é a principal matéria prima, podendo ser usado como ingrediente em vários produtos, por exemplo, doces, geleias, sucos e bebidas como vinho, produtos que se encontram facilmente no mercado asiático, e que vêm sendo explorados no Brasil (CHAUDHARY; MUKHOPADHYAY, 2012; SOUSA, 2012).

2.2 Compostos bioativos

Compostos bioativos integram vários compostos que se diferenciam amplamente em estrutura química (esteróis de vegetais, carotenóides, indóis e compostos fenólicos, por

exemplo) e, sendo assim, na função biológica. Contudo, existem características compartilhadas: fazem parte de alimentos do reino vegetal, são substâncias orgânicas, normalmente de baixa massa molecular, e não são necessários nem produzidos pelo organismo humano (HORST; LAJOLO, 2009; SAMPAIO, 2015).

Essas substâncias têm chamado a atenção dos cientistas, especialmente, pela eficiência em proteger o organismo dos danos gerados por radicais livres, atuando, assim, na prevenção de doenças produzidas como resultado do estresse oxidativo. De acordo com Manach et al. (2004) e Sampaio (2015), estudos com enfoque, principalmente, em uma dieta rica em alimentos de origem vegetal propõem que esses são capazes de desempenhar influência na redução do risco de desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis, como cardiovasculares, cânceres, distúrbios metabólicos, doenças neurodegenerativas e enfermidades inflamatórias.

2.2.1 Compostos fenólicos

Os polifenóis são os compostos mais difundidos no reino vegetal, dentre todos os metabólitos secundários produzidos pelas plantas. Têm como característica apresentar pelo menos um anel aromático com um ou mais grupamento hidroxila. São biossintetizados a partir da via dos fenilpropanóides e são normalmente conjugados com açúcares, outros fenólicos e/ou poliamidas (SOARES, 2013; TORRAS-CLAVERIA et al., 2012). Esses compostos, mesmo não sendo classificados atualmente como nutrientes, têm ganhado bastante atenção por causa de sua atividade biológica, visto que estudos propõem que os alimentos vegetais integram compostos metabólicos secundários, que quando ingeridos, constantemente através da dieta, mostram efeitos benéficos à saúde, dentre os quais os de antiinflamatório, antioxidante, antimicrobiano, analgésico e vasodilatador (EFRAIM; ALVES; JARDIM, 2011; SANTOS, 2015).

Entre as potenciais propriedades medicinais do jambolão, a maioria está correlacionada à atividade antioxidante, que é citada como decorrente da presença de compostos fenólicos já identificados, como é o caso de ácidos fenólicos, como o ácido elágico, os flavonoides, como a quercitina e a rutina, e antocianinas, como a delphinidina-3-glicosídeo, a petunidina-3-glicosídeo e a malvidina-3-glicosídeo (LIMA et al., 2007; REYNERTSON et al., 2008; VEIGAS et al., 2007).

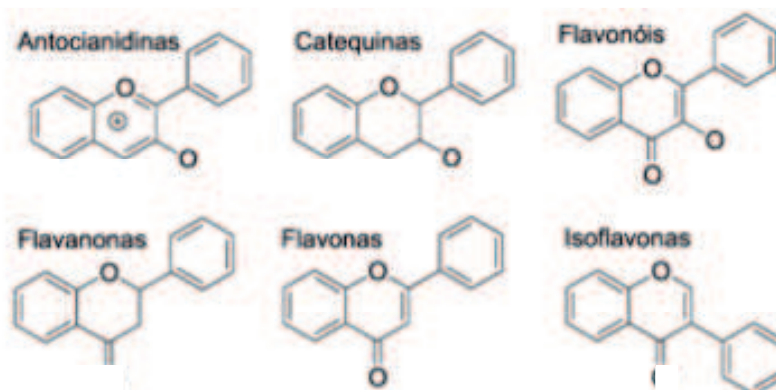


Figura 1. Estrutura química dos principais tipos de flavonóides³

Fonte: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422008000500051

Com relação às substâncias antioxidantes, elas podem operar em diferentes categorias na proteção do organismo. O primeiro mecanismo de defesa contra radicais livres é impossibilitar sua formação, especialmente pela inibição das reações em cadeia com o ferro e o cobre. Os antioxidantes são aptos a deter os radicais livres causados pelo metabolismo celular ou por fontes exógenas, evitando o ataque sobre os lipídeos, os aminoácidos das proteínas, a dupla ligação dos ácidos graxos poliinsaturados e as bases do DNA, impedindo a geração de lesões e a perda da integridade celular (ABRAHÃO, 2007; PEREIRA, 2011).

Outro mecanismo de proteção é a restauração das lesões causadas pelos radicais. Esse processo é semelhante à extração de danos da molécula de DNA e a recomposição das membranas celulares lesadas. Em determinadas situações pode acontecer uma adequação do organismo em resposta a produção desses radicais com o crescimento da síntese de enzimas antioxidantes (BIANCHI; ANTUNES, 1999; PEREIRA, 2011).

Em conjunto com terpenoides e alcaloides, os compostos fenólicos correspondem aos principais grupamentos de metabólitos secundários de plantas, dos quais as funções não estão diretamente associadas à fotossíntese, respiração, crescimento ou desenvolvimento do organismo (metabólitos primários), e sim no seu sistema de defesa (CROZIER, 2003; SOARES, 2015). Podem ser classificados em dois grupos: os flavonóides e os não flavonóides. Os flavonóides, que possuem a maior classe de fenólicos vegetais, apresentam em sua estrutura química dois anéis aromáticos unidos por um heterociclo oxigenado (BARCIA, 2009); dependendo do grau de hidrogenação e da substituição do heterociclo, diferenciam-se em flavanois, flavonas, flavonóis, flavanonas, antocianinas, antocianidinas e isoflavonoides (KARAKAYA, 2004).

2.2.1.1 Flavonoides

A atividade bioquímica dos flavonóides e de seus metabólitos é consequência da estrutura química e da orientação relativa dos grupamentos na molécula. Nas plantas, os flavonóides desempenham a função de absorver a radiação UV nociva que pode provocar um dano celular (SOARES, 2013; TAKAHASHI, OHNISHI, 2004).

Nos seres humanos, os flavonóides são citados por determinarem efeitos benéficos em algumas doenças incluindo câncer, desordens neurodegenerativas e doenças cardiovasculares. Várias ações biológicas dos flavonóides são conhecidas por conferir propriedades antioxidantes, através da capacidade de redução, doação de hidrogênio e influência no estado redox intracelular. (HUSAIN et al., 1987; SOARES, 2013; WILLIAMS et al., 2004).

Eles são altamente metabolizados *in vivo*, gerando uma considerável alteração no seu potencial redox. Desse modo, estudos revelam que independente da capacidade antioxidante, os flavonóides podem atuar do mesmo modo na cascata de sinalização de várias proteínas quinases e lipídios quinases, o que pode ter relação com os efeitos benéficos destes compostos (SOARES, 2013; WILLIAMS et al., 2004).

2.2.1.2 Antocianinas

A palavra antocianina é derivada de duas palavras gregas: *anthos* (flor) e *kyanos* (azul). Estes compostos estão entre os pigmentos flavonoides de maior disposição no reino vegetal e são responsáveis pelas cores nas plantas, como azul, roxo, violeta, magenta, vermelho e laranja. São encontradas em frutas comestíveis, vegetais folhosos, raízes, tubérculos, bulbos, ervas, temperos, legumes, chá, café e vinho tinto (DAMODARAN et al., 2010). Esses pigmentos apresentam a eficácia de captar radicais livres (atividade antioxidante), como também efeitos na prevenção de doenças cardiovasculares e circulatórias, cancerígenas, entre outras (KATSUBE et al., 2003; SOARES, 2015; STOCLET et al., 2004)

Como já mencionado, as antocianinas são compostos naturais aptos a agir como antioxidantes. Essa competência é regulada por suas diferenças na estrutura química, dado que varia a posição e os tipos de grupamentos químicos em seus anéis aromáticos, consequentemente, a capacidade de aceitar elétrons desemparelhados de moléculas de radicais varia da mesma forma. Importante lembrar que seu potencial antioxidante é dependente do número e da posição dos grupos hidroxilas e sua conjugação, do mesmo jeito que da presença

de elétrons doadores no anel da estrutura, devido à eficiência que o grupo aromático dispõe de suportar o desemparelhamento de elétrons (SANTOS, 2015; VOLP et al., 2008).

Com relação à presença de bioativos no jambolão, Veigas et al. (2007) e Soares (2015) constataram em seus estudos a presença de grandes teores de antocianinas. Esses resultados insinuam que a atividade antioxidante do extrato de jambolão, junto ao enorme potencial corante do mesmo, com características necessárias de solubilidade e estabilidade, poderia levar a agregação de extrato como aditivo natural para ser utilizado em alimentos e em formulações farmacêuticas.

2.2.1.3 Taninos

Os taninos são relevantes componentes gustativos, responsáveis pela adstringência de alguns frutos e produtos vegetais, são solúveis em água, possuindo massa molecular entre 500 e 3000 Da, mas podem gerar complexos insolúveis em água com alcalóides, gelatina e outras proteínas. Os mecanismos de ação dos taninos no organismo estão associados a três propriedades: a complexação com íons metálicos (ferro, manganês, vanádio, cobre, alumínio, cálcio, entre outros), a atividade antioxidante e sequestradora de radicais livres, e a capacidade de complexar com macromoléculas, tais como proteínas e polissacarídeos (NIEMETZ, GROSS, 2005; PEREIRA, 2011; SIMÕES et al., 2007).

No organismo humano operam como antioxidante, anti-séptico, cicatrizante e vasoconstritor. Porém, em excesso, podem restringir consideravelmente a biodisponibilidade mineral e a digestibilidade protéica de uma refeição (COZZOLINO, 2009; HASLAM, 1996; PEREIRA, 2011).

Estas moléculas são divididas em dois grupos principais: taninos hidrolisáveis e taninos não-hidrolisáveis (ou condensados). Os taninos hidrolisáveis são facilmente hidrolisados com ácidos, bases ou enzimas. O ácido tânico, tanino hidrolisável mais popular, pode ser esterificado com cinco unidades de ácido gálico. Os taninos condensados não são espontaneamente hidrolisados com tratamento com ácido, e estabelecem a fração fenólica mais importante responsável pelas características de adstringência dos frutos (GIADA, 2013).

2.2.1.4 Ácidos fenólicos

Os ácidos fenólicos são integrantes funcionais dos frutos, podendo constituir quase de um terço dos compostos fenólicos da alimentação humana. Além de impossibilitar a geração

de radicais livres e inutilizar espécies radicalares, certas vezes trabalham como quelantes de metais, operando tanto na etapa de iniciação como na disseminação do processo oxidativo e, conseqüentemente, prevenindo danos ao DNA (GRUZ et al., 2011; RAMALHO; JORGE, 2006).

Esses ácidos possuem dois grupos principais, o ácido hidroxibenzóico e ácido hidroxicinâmico, ambos provenientes de ácidos não fenólicos: benzóico e cinâmico, respectivamente. Quimicamente, estes compostos apresentam ao menos um anel aromático em que pelo menos um átomo de hidrogênio é trocado por um grupamento hidroxila (GIADA, 2013; HELENO et al., 2015).

Os ácidos hidroxibenzóicos são os mais simples encontrados na natureza, tendo como mais importantes: gálico, p-hidroxibenzóico, protocatequínico, vanílico, sirígico, gentísico e salicílico. Dentre os ácidos hidroxicinâmicos, o p-cumárico, ferúlico, cafeico e sinápico são os mais comuns na natureza (GIADA, 2013; SAMPAIO, 2015).

2.3 Radicais livres

Radical livre (RL) é todo átomo ou molécula que apresenta elétrons não pareados na camada externa. São intermediários inconstantes que se proliferam em cascata, possuem uma vida média bastante curta e podem ser impedidos de dois modos: pela ação dos agentes antioxidantes endógenos e/ou exógenos, ou pelo mecanismo de oxidorredução (OLSZEWER, 2008; PEREIRA, 2011).

Os RL cujo elétron localiza-se entre os átomos de oxigênio ou nitrogênio são chamados, respectivamente, de espécies reativas de oxigênio (*reactive oxygen species*, ROS) e espécies reativas de nitrogênio (*reactive nitrogen species*, RNS). No organismo estão relacionados com a produção de adenosina trifosfato (ATP), fagocitose, regulação do crescimento celular, entre outros (ABRAHÃO, 2007; PEREIRA, 2011).

A síntese de RL acontece espontaneamente como um processo fisiológico. Toda via, em algumas condições, pode haver aumento na produção de ROS, gerando um estresse oxidativo, durante o qual algumas destas espécies reativas, tais como o radical superóxido ($O_2\bullet$), radical hidroxil ($OH\bullet$) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2), podem ocasionar danos ao organismo como a lipoperoxidação de lipídios insaturados das membranas celulares (LEMOS, 2006; PEREIRA 2011).

Os RL, por serem bastante reativos e instáveis, envolvem-se em reações com substâncias químicas orgânicas e inorgânicas, proteínas, lipídeos, carboidratos,

principalmente moléculas significativas nas membranas celulares e ácidos nucleicos (LEMOS, 2006; PEREIRA 2011).

Nos últimos anos, uma quantidade considerável de evidências tem apontado o papel chave dos radicais livres e outros oxidantes como grandes responsáveis pelo envelhecimento, pelas doenças auto-imunes e doenças infecciosas e/ou inflamatórias e pelas doenças degenerativas, como câncer, doenças cardiovasculares, hepatopatias, catarata, declínio do sistema imune e disfunções cerebrais (ABRAHÃO, 2007; ATOUI et al., 2005; PEREIRA, 2011).

2.3.1 DPPH

Para avaliar atividade antioxidante utilizando DPPH se observa a capacidade do radical livre estável 2,2-difenil-1-picril-hidrazil em reagir com substâncias doadoras de H ($DPPH^{\bullet} + [AH]_n \rightarrow DPPH-H + [A^{\bullet}]_n$), como por exemplo, os compostos fenólicos, sendo um método bastante empregado (FERREIRA, 2009; MENSOR et al., 200; SÁNCHEZ-MORENO et al., 1998).

Esse novo radical formado (A^{\bullet}) pode seguir a interação radical-radical para formar moléculas estáveis, a partir da colisão de radicais com a abstração de um átomo de um radical para outro ($DPPH^{\bullet} + A^{\bullet} \rightarrow DPPH^{\bullet} -A$; $A^{\bullet} + A^{\bullet} \rightarrow A-A$), ainda que essas reações secundárias sejam mais difíceis. O consumo de $DPPH^{\bullet}$ pode ser um índice para avaliar a capacidade antioxidante na captura de radicais livres presentes no meio.

No ensaio espectrofotométrico, a absorvância em 517 nm (nanômetros) resulta em uma diminuição como um resultado da mudança na coloração violeta para amarelo, visto que o radical é capturado por antioxidantes presentes na amostra através da doação de um átomo de H para formar a molécula estável DPPH-H (ESPÍN et al., 2000; FERREIRA, 2009).

2.4 Alimentos funcionais

Os alimentos funcionais podem ser definidos como sendo aqueles alimentos que beneficiam uma ou mais funções orgânicas, além da nutrição básica, colaborando para melhorar o estado de saúde e bem-estar e reduzir o risco de doenças (DIPLOCK et al., 1999; ZERBIELLI, 2014). São consumidos em dietas convencionais, mas apresentam capacidade de regular funções corporais de forma a auxiliar na proteção contra doenças como hipertensão,

diabetes, câncer, osteoporose e coronariopatias (SOUZA, NETO, MAIA, 2003; ZERBIELLI, 2014).

Representações que afirmem ou sugiram a existência de uma relação entre o consumo de determinado alimento ou seu constituinte e a saúde podem ser veiculadas quando forem atendidas as diretrizes básicas para comprovação de propriedades funcionais ou de saúde estabelecidas na Resolução n. 18, de 30 de abril de 1999. Além da segurança do alimento, essas diretrizes visam que as alegações sejam comprovadas cientificamente e não induzam o consumidor ao engano. As alegações podem descrever o papel fisiológico do nutriente ou não nutriente no crescimento, desenvolvimento e nas funções normais do organismo. As alegações podem, ainda, fazer referência à manutenção geral da saúde e à redução do risco de doenças (ANVISA, 2016).

Propriedade funcional são aquelas que descrevem o papel metabólico ou fisiológico que o nutriente ou outros constituintes (ex. substâncias bioativas em microrganismos) possuem no crescimento, desenvolvimento, manutenção e outras funções normais do organismo humano. Já as alegações de propriedades de saúde afirmam, sugerem ou implicam na existência de relação entre o alimento ou ingrediente com determinada doença ou condição relacionada à saúde. (ANVISA, 2016).

Esses produtos surgiram de uma geração de alimentos lançada no Japão na década de 80, por meio de um programa de governo que tinha como propósito o desenvolvimento de alimentos saudáveis para uma população que mostrava uma grande expectativa de vida (ANJO, 2004; MARQUES, 2012).

As propriedades que alguns alimentos funcionais possuem referentes à saúde podem ser resultantes de componentes normais destes alimentos, ou através do acréscimo de ingredientes que mudam as propriedades originais. Podem incluir fibras alimentares, oligossacarídeos, proteínas modificadas, peptídeos, carboidratos, antioxidantes, minerais e outras substâncias naturais e microrganismos (VIEIRA, 2001).

Produtos enriquecidos, fortificados, alterados e *commodities* (alimentos genéricos, como ovos ou frutas) com suas características naturalmente intensificadas por condições especiais de germinação e crescimento, podem fazer parte da categoria de alimentos funcionais. No entanto, não há um acordo mundial para o termo, o que cria dificuldade nos estudos, visto que os parâmetros podem ser múltiplos (FOOD AND AGRICULTURAL ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS, 2007; SIRÓ et al., 2008).

2.4.1 Probióticos

O termo probiótico foi proposto primeiramente por Lilly e Stillwell, em 1965, que determinaram como “substâncias secretadas por um microorganismo para estimular o crescimento de outro” (ANTUNES et al., 2007; MARQUES, 2012).

Em 1989, Fuller propôs uma definição de que probióticos seriam suplementos alimentares que incluísse bactérias vivas capazes de provocar efeitos benéficos no hospedeiro, colaborando com o equilíbrio da microbiota intestinal. Havenaar e Huis In't Veld, em 1992, propuseram outra definição recomendado que probióticos fossem culturas únicas ou mistas de microrganismos que aplicados a animais ou humanos desempenhariam efeitos benéficos no hospedeiro por melhora das propriedades da microbiota nativa (COPPOLA, TURNES, 2004; MARQUES, 2012).

Em 2014, Hill, Garner e Reid propuseram uma atualização da definição da Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação/Organização Mundial da Saúde, estabelecendo que probióticos seriam microrganismos vivos que, quando administrados em quantidades aceitáveis, são capazes de conferir benefícios à saúde do hospedeiro. Os gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* são os mais empregados como probióticos, sendo as espécies mais frequentemente utilizadas na fabricação de derivados lácteos *L. acidophilus*, *L. casei* (LEE; SALMINEN, 1995; MARQUES, 2012) e *L. rhamnosus* (FERREIRA; TESHIMA, 2000).

Para que um microorganismo seja considerado um probiótico, alguns critérios devem ser observados: (1) ainda que determinadas cepas probióticas comercialmente acessíveis não sejam de origem humana, imagina-se que se um probiótico estiver isolado do trato gastrointestinal (TGI) dos humanos é estável para o consumo humano e pode ser mais ativo no ecossistema intestinal; (2) as culturas probióticas precisam ser declaradas como seguras (status GRAS - geralmente reconhecido como seguro) para consumo humano mediante evidências científicas ou experiência, baseada na história do consumo de bactérias do gênero *Bifidobacterium spp.* e *Lactobacillus spp.* sem qualquer relação de efeitos prejudiciais para a saúde; (3) a preparação de probióticos em grande escala deve ser possível, e é relevante que esses microrganismos sejam viáveis e ativos nos produtos em que são incorporados; (4) os probióticos devem apresentar resistência aos sucos gástricos e intestinais, já que o baixo pH é um dos meios de proteção do hospedeiro contra os microrganismos ingeridos, incluindo os probióticos; (5) probióticos devem incorporar-se às células intestinais humanas, o que aumenta a sua persistência e concede o crescimento no intestino e beneficia a exclusão

competitiva de possíveis agentes patogênicos na superfície da mucosa; (6) os probióticos têm de sintetizar substâncias antimicrobianas contra patógenos intestinais para restituir a composição saudável da microbiota; (7) probióticos devem apresentar segurança quando ingeridos através do consumo de alimentos e durante o uso clínico, mesmo para indivíduos imunocomprometidos; (8) probióticos devem ter sua defesa e eficácia especificada a partir de ensaios clínicos randomizados e controlados por placebo (TANNOCK, 1998; KOLIDA; GIBSON, 2011).

Já está bem definido, na literatura científica, que o consumo de microrganismos probióticos pode aumentar a composição da microbiota intestinal. Os probióticos geram diversos benefícios para a saúde, desempenhando atividades importantes para funções digestivas, imunes e respiratórias no nível intestinal. Os microrganismos probióticos têm sido inseridos sobretudo em produtos lácteos (ALEXANDRAKI, 2013) e observou-se que a sobrevivência de culturas probióticas nesses alimentos pode ser melhorada por ingredientes ricos em compostos fenólicos (MA, 2015).

2.4.2 Soro de leite

O soro é o subproduto líquido decorrente do processo de fabricação de queijos, representando, em média, 85% a 90% do volume de leite empregado na elaboração desses produtos retém cerca de 55 % dos nutrientes do leite, sendo considerado relevante, tendo em vista o volume produzido e sua composição nutricional (LEITE et al., 2012).

Nesses nutrientes estão contemplados a lactose, as proteínas solúveis, os lipídeos, os sais minerais e as vitaminas. O sabor do soro pode tender de ácido a doce e a sua composição depende do tipo de coagulação do leite e do processo de fabricação do queijo. Obtém-se o soro doce a partir da coagulação enzimática do leite pela adição de renina, atingindo pH entre 6,3 e 6,6 (GIRALDO-ZUÑICA et al., 2004; MARQUES, 2012).

As proteínas de soro apresentam quase todos os aminoácidos essenciais em quantidades maiores às recomendadas, com exceção dos aminoácidos aromáticos (fenilalanina, tirosina) que não se mostram em excesso; entretanto, correspondem às recomendações para todas as idades. Tais proteínas apresentam altas concentrações de triptofano, cisteína, leucina, isoleucina e lisina (SGARBIERI, 2004; ZERBIELLI, 2014) e também possuem um dos mais altos coeficientes de eficácia proteica (*protein efficiency ratio* - PER) conhecidos, 3,2, excedendo a caseína que é de 2,5 e o da proteína da carne que é de 2,9 (ANTUNES, 2003; ZERBIELLI, 2014).

Segundo Haraguchi et al. (2006) e Oliveira (2012), as proteínas do soro do leite (α -lactalbumina, β -lactoglobulina, albumina de soro bovino, imunoglobulinas) demonstram um excelente perfil de aminoácidos essenciais, caracterizando-as como proteínas de alto valor biológico. Além disso, as proteínas do soro apresentam peptídeos bioativos (exorfinas, imunopeptídeos e fosfopeptídeos), que dão a essas proteínas diferentes propriedades funcionais (OLIVEIRA, 2012).

Um dos meios de utilização do soro é a produção de bebidas lácteas, que de acordo com a legislação brasileira (BRASIL, 2005), é decorrente da mistura do leite e soro de leite ou substância alimentícia, cuja base láctea represente no mínimo 51% no total de ingredientes. A aromatização dessas bebidas é geralmente otimizada com a adição de polpas de frutas, fazendo com que a aceitação sensorial do produto seja mais expressiva. Além disso, usar polpa de fruta em bebidas lácteas fermentadas é uma opção para resolver o problema do excedente de produção e/ou pouco aproveitamento de frutos que não são normalmente de consumo “de mesa” ou para exportação (SANTOS et al., 2008).

2.4.3 Bebida láctea fermentada

Segundo a legislação brasileira, a bebida láctea fermentada é o produto lácteo subsequente da mistura do leite (*in natura*, pasteurizado, esterilizado, UHT, reconstituído, concentrado, em pó, integral, semidesnatado, ou parcialmente desnatado e desnatado) e soro de leite (líquido, concentrado e em pó) fermentado através da ação de microrganismos específicos e/ou incorporado de leite (s) fermentado (s) e que não pode ser submetido a tratamento térmico depois da fermentação. A contagem total de bactérias lácticas viáveis deve ser no mínimo de 10^6 UFC/g no produto final, para o (s) cultivo (s) láctico (s) específico (s) empregado (s), durante todo o prazo de validade (BRASIL, 2005).

Para laticínios, a conversão do soro líquido em bebidas, fermentadas ou não, é uma opção bastante interessante para o aproveitamento do soro para consumo humano, devido à simplicidade do processo, utilização de equipamentos de beneficiamento do leite, além das excelentes propriedades funcionais da proteína do soro (GANDHI; PATEL, 1994; MARQUES, 2012). Além disso, bebidas lácteas de maneira geral fornecem energia e água para a digestão, controlam a temperatura corporal, previnem a desidratação, aliviam a sede e diminuem tensões psicológicas (MARQUES, 2012; MEENA et al., 2012).

Também pode ser feita a adição de ingredientes às bebidas lácteas como meio de reduzir seu custo de produção, melhorar seu valor nutritivo e suas características sensoriais e também conferir funcionalidade a este produto (THAMER, PENNA, 2006).

2.5 Produtos lácteos para intolerantes à lactose

A lactose, açúcar predominante no leite, é um dissacarídeo do qual a absorção requer hidrólise por β -galactosidase (lactase) no intestino delgado. A deficiência desta enzima pode gerar digestão inadequada e conseqüentemente intolerância. Estima-se que em média 75% da população mundial perde a capacidade de digerir lactose em algum momento (MATTAR et al., 2012).

Leites com baixo teor de lactose são fabricados para pessoas intolerantes à lactose e que querem continuar consumindo leite e produtos lácteos, já que estes produtos são as mais importantes fontes de cálcio. A hidrólise enzimática é o método mais utilizado para diminuir o teor de lactose nos produtos lácteos, visto que não modifica as concentrações dos outros nutrientes dos leites (HENG; GLATZ, 1994). O leite sem lactose (ou com lactose hidrolisada) é comumente vendido como produto ultrapasteurizado (ADHIKARI et al., 2010). No entanto, outras possibilidades de produtos lácteos sem lactose também existem.

É importante ressaltar também que as bactérias probióticas são extensivamente conhecidas por reduzir os sintomas da má absorção de lactose (PRASANNA et al., 2014), ainda que o mecanismo do efeito dos probióticos na ajuda à hidrólise da lactose não esteja totalmente compreendido. Contudo, sabe-se que o pH no intestino varia assim como a atividade da enzima β -galactosidase, gerando um efeito positivo na microbiota intestinal e uma conseqüente melhora do funcionamento intestinal (HE et al., 2007).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Estudar o efeito da adição da polpa do jambolão e de uma cultura potencialmente probiótica sobre os parâmetros de atividade antioxidante em bebida láctea isenta de lactose.

3.2 Objetivos específicos

Foram objetivos específicos deste estudo:

- a) avaliar o efeito da polpa de jambolão e do microrganismo probiótico sobre a concentração de compostos fenólicos totais da bebida;
- b) avaliar o efeito da polpa de jambolão e do microrganismo probiótico sobre a capacidade de captação de radicais 1,1-difenil-2-picrilhidrazila (DPPH);
- c) obter a concentração de bebida láctea fermentada responsável pela metade da resposta antioxidante máxima (EC50) expressa em g de bebida láctea/g de DPPH.

4 METODOLOGIA

4.1 Local da pesquisa

Todas as análises foram feitas no Núcleo de Pesquisa e Extensão em Alimentos (NUPEA), tendo sido desenvolvida em parte, também, no Laboratório de Genética (CCBS), no prédio das Três Marias, ambos localizados na Universidade Estadual da Paraíba (UEPB), Campus I.

4.2 Matérias-primas

Soro de queijo Minas frescal, leite em pó desnatado (Molico®, Nestlé®), β -galactosidase (Prozyn® Lactase), sacarose (açúcar granulado Estrela, Biosev), polpa de jambolão, cultura iniciadora de *Streptococcus thermophilus* (TA40, DuPont) e culturas potencialmente probiótica de *Lactobacillus casei* (BGP93, Sacco).

4.3 Obtenção dos frutos e polpa de jambolão

A coleta dos frutos de jambolão foi realizada no Estado da Paraíba, no município de Lagoa Seca, no período de safra do ano de 2017. Estes frutos foram selecionados, lavados e higienizados com hipoclorito de sódio. Após trituração e pasteurização, foram imediatamente congelados a -18°C .

Já no preparo da polpa, retirou-se manualmente os caroços e a parte comestível do fruto foi destacada e, posteriormente, processada em liquidificador industrial. A polpa homogeneizada foi separada em porções de 500 mL cada, em embalagens de PVC e selados. Antes do armazenamento em freezer a polpa foi tratada termicamente em banho-maria a 85°C por 3 minutos.

4.4 Obtenção do soro de queijo

O soro lácteo foi obtido a partir do processamento de queijo Minas frescal, no NUPEA da Universidade Estadual da Paraíba, segundo a metodologia descrita por Almeida (2016) adaptada da produção de queijo coalho descrita por Florentino (1997).

O soro coletado foi tratado termicamente e armazenado a $-18\pm 3^{\circ}\text{C}$ até o momento do seu uso para o preparo da base láctea desenvolvida com base em ensaios pilotos previamente realizados no projeto “Obtenção de bebida láctea funcional com baixo teor de lactose” PROPESQ/UEPB, Edital 2015, em andamento.

4.5 Preparo da base láctea

O soro, após seu descongelamento sob refrigeração a $4\pm 1^{\circ}\text{C}$, foi transferido para frascos de vidro de borosilicato e aquecido a 85°C por 5 minutos para inativação das enzimas do coagulante utilizado na fabricação de queijos. Em seguida, adicionou-se leite em pó desnatado e sacarose, ambos na proporção de 8g/100g. A mistura foi agitada até a completa dissolução dos ingredientes e tratada termicamente a 85°C por 30 minutos.

4.6 Hidrólise da lactose da base láctea

A base láctea tratada termicamente permaneceu mantida em frascos de vidro de borosilicato e adicionada da enzima β -galactosidase, segundo a recomendação do fabricante. Para a hidrólise da lactose, a base láctea foi mantida na presença da enzima durante 24 h, sob refrigeração a $4\pm 1^{\circ}\text{C}$. O teor de lactose foi determinado nas bases lácteas com a adição da enzima β -galactosidase a partir de cromatografia líquida de alta eficiência na Embrapa Agroindústria de Alimentos (Rio de Janeiro, RJ), tendo sido obtido resultados desse dissacarídeo abaixo do limite de detecção do método (menor que 100 mg/100 g), sendo portanto consideradas isentas de lactose segundo a legislação vigente (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2017).

4.7 Fabricação de bebidas lácteas probióticas fermentadas sem lactose

Para esta etapa foi realizada uma adaptação das metodologias de produção de bebidas lácteas probióticas utilizada por Ferreira et al. (2011), Buriti et al. (2014) e Almeida et al. (2015), de forma que o soro com baixo teor de lactose pudesse ser usado na formulação.

A base láctea adicionada da enzima β -galactosidase foi aquecida a $43 \pm 1^{\circ}\text{C}$ para a adição das culturas. Para a fermentação, utilizou-se a cultura *starter* de *Streptococcus*

thermophilus (TA 40) na proporção de 0,003g/100 g e a cultura probiótica comercial de *Lactobacillus casei* (BGP93), na proporção de 0,02g/100 g.

A base láctea foi fermentada a $43 \pm 2^\circ\text{C}$ até atingir acidez superior a 0,7 g de ácido láctico/100g, sendo imediatamente adicionada da polpa da fruta jambolão, na proporção de 15g/100g de produto final. As bebidas lácteas foram embaladas em garrafas plásticas de 150 ml previamente sanitizadas e armazenadas a $4 \pm 1^\circ\text{C}$ durante 21 dias. As bebidas lácteas foram produzidas em três lotes (triplicatas independentes). As variáveis utilizadas para a elaboração das bebidas lácteas deste trabalho são apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1 – Variáveis utilizadas na elaboração das bebidas lácteas

Cultura	Tratamentos	
	Controle	Probiótico
BGP93	-	+
TA 40	+	+

+ = presente; - = ausente; BGP93= *Lactobacillus casei* (Sacco); TA 40 = *S. thermophilus* TA 40 (DuPont).
Fonte: dados da pesquisa.

4.8 Períodos de amostragem

Foram analisadas amostras congeladas a -18°C das bases lácteas antes e após a fermentação (T0 e Tf, respectivamente) e das bebidas lácteas após 1, 7, 14 e 21 dias de armazenamento (D1, D7, D14 e D21, respectivamente).

4.9 Preparação das amostras

Nessa etapa, foi utilizada a metodologia de Santos et al. (2017), adaptada às condições e equipamentos dos laboratórios onde esse estudo foi feito.

Para o preparo dos extratos para as análises de fenólicos totais e atividade antioxidante eram retiradas 5 alíquotas, de cada amostra (de cada tempo da bebida: T0, Tf, D1, D7, D14, D21) e pesados em balança analítica, $\pm 0,2500\text{g}$ de cada, em criotubos de 2mL, totalizando $\pm 1,2500\text{g}$. Para este fim, também foi preparado metanol acidificado na proporção de 100 μl de ácido clorídrico P.A. para cada 100 ml de metanol. Posteriormente, eram adicionados 1mL do metanol acidificado em cada alíquota de amostra, seguido de agitação no vórtex para a homogeneização do conteúdo. As amostras com adição de metanol acidificado eram então

armazenadas, sendo necessário permanecer no mínimo 12 h em repouso, refrigeradas a 4°C, e também protegidas da luz.

Após o tempo em repouso, as amostras eram agitadas em vórtex e em seguida centrifugadas (Eppendorf 5810R), na rotação de 13500 g, durante 5 min na temperatura de 4 °C. Ao final da primeira centrifugação, os sobrenadantes das 5 alíquotas correspondentes ao período de amostragens das bases e bebidas eram passados para um balão volumétrico de 10 ml. Para a segunda centrifugação era realizada adição de 250 µl de metanol acidificado em cada precipitado remanescente nos tubos, que em seguida eram agitados em vórtex (para homogeneização) e levados à centrífuga sob as mesmas condições da primeira centrifugação. Novamente, o sobrenadante era transferido para o balão volumétrico.

Para a terceira centrifugação, após a retirada do sobrenadante, eram adicionados 170 µl de metanol acidificado aos precipitados remanescentes da segunda centrifugação, que posteriormente passavam por agitação em vórtex. Em seguida foram submetidos à centrifugação, sob as mesmas condições de rotação, temperatura e tempo, que a primeira e segunda centrifugação. Ao final, o sobrenadante era passado para o balão volumétrico e, então, realizava-se a aferição do seu menisco com adição de metanol acidificado.

Após aferir o menisco, era feita a homogeneização do conteúdo e retirado 1,5 ml do conteúdo do balão, sendo transferido para um novo tubo tipo Eppendorf. Esse procedimento foi realizado para todas as amostras de cada base láctea e bebida dos diferentes lotes e tempos de amostragens. Na última centrifugação, apenas a condição do tempo era alterada, de 5 min passava para 1 min.

4.10 Determinação de compostos fenólicos totais

A análise foi adaptada e realizada a partir da metodologia de Santos et al. (2017).

Para esta análise, utilizando tubos de ensaio plásticos de 15 mL, foram adicionados sequencialmente: 60 µL da amostra (obtido do sobrenadante da última centrifugação descrito na etapa anterior), 2340 µL de água destilada e 150 µL do reagente de Folin – Ciocalteu (Sigma-Aldrich).

Nessa metodologia, inclui-se uma prova em branco que foi preparado utilizando 60 µL de metanol acidificado (na proporção de 100 ml de metanol para 94 µL de ácido clorídrico apenas para o branco) no lugar da amostra, 2,340 µL de água destilada e 150 µL do reagente de Folin – Ciocalteu.

Após adição do reagente de Folin – Ciocalteu em cada amostra e na prova em branco, realizou-se agitação rápida de forma manual e, após 8 min foram adicionados 450 µL de solução aquosa de carbonato de sódio (Na₂CO₃) a 30%. Posteriormente, agitou-se manualmente mais uma vez e deixava em repouso por 30 min, no escuro e em temperatura ambiente. Após o tempo de 30 min, era medida a absorvância no comprimento de onda de 750 nm.

4.11 Determinação da atividade antioxidante total pela captura do radical livre DPPH

Nesta etapa, foi realizada uma adaptação do protocolo de Rufino et al. (2007). Para o preparo de 50ml da solução mãe de DPPH, pesou-se 0,0020g deste reagente, o qual foi diluído em etanol P.A. Foram utilizados três tubos de ensaio plásticos, sendo no primeiro tubo pipetados 2,950 µL da solução mãe de DPPH e 0,05 µL de amostra. No segundo e no terceiro foram pipetados 2,900 µL e 2,800 µL de solução mãe de DPPH, respectivamente e, em seguida, adicionados de 100 µL e 200 µL de amostra, respectivamente. Foram realizadas provas em branco para cada concentração de DPPH, em que a amostra era substituída por igual volume de etanol P.A.

Após a adição da amostra foi realizada a leitura da absorvância rapidamente em 517 nm, onde era anotado o primeiro valor e a hora (tempo 0 min). As amostras foram lidas após 30 min e 60 min (em relação ao tempo 0 min).

A partir dos resultados obtidos foram calculados a porcentagem de sequestro de radicais DPPH e o EC50 para cada amostra.

A porcentagem de sequestro de radicais DPPH foi calculada segundo a equação (1)

$$\% \text{ de sequestro de DPPH} = \frac{(ABSC_{60\text{min}} - ABSA_{60\text{min}})}{ABSC_{60\text{min}}} \times 100, \text{ onde:}$$

ABSC_{60 min} é a absorvância do controle no tempo de 60 min, ABSA_{60 min} é a absorvância da amostra no tempo de 60 min.

Para a obtenção do EC50 foram realizados cálculos de retorno a partir do ensaio de calibração com diferentes concentrações de DPPH e das equações obtidas a partir da massa de DPPH correspondente à metade da absorvância do controle, dos gráficos de dispersão das absorvâncias das diferentes amostras nas diferentes concentrações de extrato, conforme descrito no protocolo de Rufino et al. (2007). O resultado final foi expresso em g de amostra/g de DPPH captado.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos das análises de compostos fenólicos totais estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2 – Teor de fenólicos totais (mg Eq de ácido gálico/100 g de amostra) obtidos para as amostras de base láctea antes e após a fermentação (T0 e Tf, respectivamente) e nas bebidas lácteas durante o armazenamento de 1, 7, 14 e 21 dias (D1, D7, D14 e D21, respectivamente).

Períodos de amostragem	Tratamento	
	Controle (TA40)	Probiótico (TA40 + BGP93)
T0	15.81 ± 4.67Aa	17.45 ± 2.45Aa
Tf	16.45 ± 2.79Aa	19.36 ± 3.13Ab
D1	41.93 ± 10.01Ab	43.88 ± 2.67Ad
D7	40.22 ± 7.71Ab	36.80 ± 3.07Ac
D14	36.77 ± 3.49Ab	35.98 ± 5.14Ac
D21	38.61 ± 12.14Ab	35.75 ± 4.44Ac

A,B letras maiúsculas iguais na mesma linha não diferem significativamente ($p > 0,05$) para um mesmo período de amostragem, comparando os dois tratamentos.

a,b letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem significativamente ($p > 0,05$) para um mesmo tratamento ao longo dos diferentes períodos de amostragem.

Fonte: dados da pesquisa

Na análise de fenólicos totais, com base na Tabela 2, observa-se que as bases lácteas com e sem adição do microrganismo, dentro de um mesmo tempo de amostragem, não diferem significativamente entre elas ($p > 0,05$). Segundo Mustonen et al., (2009) compostos fenólicos podem ser obtidos a partir dos constituintes vegetais que fazem parte da dieta da vaca. Além do mais, esses compostos fenólicos de origem bovina são gerados pela atividade da microbiota intestinal sobre os compostos fenólicos da planta, gerando metabólitos secundários que provavelmente serão detectados no leite de vaca leiteira, o que pode justificar o teor de fenólicos encontrados na base láctea.

Ainda na Tabela 2 observa-se que houve uma tendência de aumento do teor de fenólicos totais das bases lácteas durante a fermentação, sendo que para o tratamento probiótico este aumento foi significativo ($p < 0,05$). Dentre os constituintes das bases lácteas produzidas, destacam-se proteínas do soro, segundo Libardi (2010) proteínas do soro como a β -lactoglobulina e a soroalbumina podem assumir conformações diferentes de acordo com as

variações de pH do meio. Sabe-se que durante a fermentação da base láctea ocorre uma redução do seu pH devido ao seu processo fermentativo. Estas mudanças de pH e de conformação protéica poderiam favorecer a complexação dos compostos fenólicos com as proteínas da base láctea, o que explicaria o aumento da concentração de fenólicos em massa. No entanto, ainda segundo Libardi (2010) esse aumento em massa nem sempre é acompanhado de aumento da capacidade redutora dos polifenóis, uma vez que as ligações intramoleculares podem comprometer certos grupos funcionais dos compostos fenólicos responsáveis pela atividade antioxidante.

Por outro lado, partir da adição da polpa de jambolão, percebe-se uma maior concentração de fenólicos totais nas bebidas quando comparadas às respectivas bases lácteas (ausente de polpa) antes após a fermentação, sendo que os tempos T0 e Tf diferiram significativamente de todos os períodos de amostragem dos produtos finais ($p < 0,05$). Porém, dentro de cada tempo analisado, não houve diferenças significativas entre os dois tratamentos de bebida láctea, controle e probiótico ($p > 0,05$).

Observa-se também a ausência de diferença significativa entre os dias de armazenamento do tratamento controle, o que pode significar que a bactéria desse tratamento não influencia diretamente na concentração de compostos fenólicos ao longo dos tempos analisados. Ao contrário, no caso do tempo D1 e D7 do tratamento probiótico, há diferença significativa e uma queda na concentração de fenólicos, sugerindo que houve uma possível modificação e consumo dos compostos fenólicos pelo microrganismo *L. casei*. Isto poderia significar que o probiótico teria provocado a hidrólise dos polifenóis de maior massa molar, utilizando-os em parte e, dessa forma, diminuindo a sua quantidade. Porém a qualidade dos compostos ainda disponíveis teria sido aumentada, uma vez que a hidrólise exporia os grupos funcionais capazes de desempenhar atividade antioxidante. Tal fato pode ser comprovado pelos resultados da Tabela 3, em que é observado um maior sequestro de DPPH no mesmo tempo em que a redução dos compostos fenólicos foi verificada.

Tabela 3 – Sequestro de radicais DPPH (%) obtido para as amostras de base láctea antes e após a fermentação (T0 e Tf, respectivamente) e nas bebidas lácteas durante o armazenamento de 1, 7, 14 e 21 dias (D1, D7, D14 e D21, respectivamente).

Períodos de amostragem	Tratamento	
	Controle (TA40)	Probiótico (TA40 + BGP93)
T0	10.90 ± 8.11Aa	17.34 ± 7.11Aa
Tf	3.66 ± 2.93Aa	7.64 ± 1.84Aa
D1	18.92 ± 4.11Aa	28.27 ± 3.25Ba
D7	21.46 ± 5.84Aa	37.50 ± 0.40Ba
D14	24.97 ± 3.36Aa	36.99 ± 5.58Ba
D21	22.96 ± 7.16Aa	31.10 ± 0.49Aa

A,B letras maiúsculas iguais na mesma linha não diferem significativamente ($p > 0,05$) para um mesmo período de amostragem, comparando os dois tratamentos.

a,b letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem significativamente ($p > 0,05$) para um mesmo tratamento ao longo dos diferentes períodos de amostragem.

Fonte: dados da pesquisa

Observando os dados da análise de sequestro de DPPH, pode-se afirmar que não houve diferença significativa ao longo da fermentação das bases lácteas, bem como durante todo o decorrer dos dias de armazenamento das bebidas lácteas. Contudo, houve uma tendência de maior capacidade de seqüestro de radicais na presença de jambolão nas bebidas lácteas quando comparadas às respectivas bases, especialmente no término da fermentação em que os menores valores foram observados.

Embora sem diferenças significativas ($p > 0,05$), ao comparar todos os tempos entre si, observa-se uma diferenciação do tempo D1 dos tempos D7 e D14, e dos valores da segunda e terceira semana em comparação ao D21. Conforme explicado anteriormente, o aumento do sequestro na primeira semana poderia ser devido ao metabolismo dos microrganismos sobre os fenólicos. É conhecido que a biodisponibilidade e o impacto dos polifenóis sobre o consumidor de pende em grande parte de sua transformação por bactérias específicas da microbiota intestinal, via mecanismos de desmetilação, desidroxilação, descarboxilação, além da ação das enzimas esterase e glicosidade (DUDA-CHODAK et al., 2015). Uma vez que as bebidas lácteas fermentadas contêm bactérias viáveis e metabolicamente ativas, parte dos mecanismos citados também poderia ocorrer em produtos fermentados contendo compostos fenólicos.

Os resultados de EC50 para as bases lácteas e bebidas dos tratamentos controle e probiótico estão apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 – Valores de EC50 (g de bebida láctea/g de DPPH) obtidos para as amostras de base láctea antes e após a fermentação (T0 e Tf, respectivamente) e nas bebidas lácteas durante o armazenamento de 1, 7, 14 e 21 dias (D1, D7, D14 e D21, respectivamente).

Períodos de amostragem	Tratamento	
	Controle (TA40)	Probiótico (TA40 + BGP93)
T0	554.29 ± 184.49Abc	600.26 ± 180.61Ad
Tf	1294.46 ± 065.01Ac	6239.68 ± 4860.29Be
D1	316.85 ± 37.50Ab	312.56 ± 28.34Ac
D7	321.59 ± 42.25Bb	251.00 ± 9.33Aa
D14	272.20 ± 13.43Aa	278.56 ± 25.79Abc
D21	310.02 ± 42.50Bab	271.53 ± 10.28Ab

A,B letras maiúsculas iguais na mesma linha não diferem significativamente ($p > 0,05$) para um mesmo período de amostragem, comparando os dois tratamentos.

a,b letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem significativamente ($p > 0,05$) para um mesmo tratamento ao longo dos diferentes períodos de amostragem.

Fonte: dados da pesquisa

Analisando os valores do tempo T0 nos tratamentos controle e probiótico, verifica-se que não houve diferenças significativas entre esses tratamentos nesse período de amostragem quanto ao EC50 ($p > 0,05$). Quando se observa o tempo Tf, nos tratamentos controle e probiótico, existe uma diferença bastante significativa, a partir da adição do probiótico. Segundo os dados obtidos seria necessário um consumo muito maior da base láctea probiótica fermentada para seqüestrar 1g de DPPH. Ainda, comparando os valores de T0 dos dois tratamentos com o Tf do probiótico, observa-se que a quantidade de base láctea desse tratamento que deveria ser consumida para garantir captação de 1g de DPPH, é quase 10 vezes maior que a das bases antes da fermentação.

Porém quando é analisado o efeito da adição de jambolão, percebe-se que a partir do D1 ocorre uma redução significativa do EC50 ($p < 0,05$), o quer dizer que nesse período de amostragem confirmou-se o aumento no sequestro de DPPH, tornando aceitável o nível (quantidade) de consumo da bebida, aproximadamente 300 g para capturar 1 g de DPPH.

Após a adição do jambolão (D1), ao longo da primeira semana (D7) pode-se constatar uma redução significativa do EC50 no tratamento probiótico ($p < 0,05$). No tratamento controle o valor de EC50 não diferiu significativamente durante a primeira semana; apenas aos 14 dias foi verificado um valor significativamente menor em relação a D1 e D7 ($p < 0,05$). Estes resultados mostram que o microrganismo *L. casei* teve uma importância bastante significativa para melhor aproveitamento dos fenólicos da bebida láctea.

Considerando que teria havido biotransformação dos polifenóis no tratamento probiótico, o uso destes compostos pelos microrganismos da bebida provavelmente ocorreu entre D7 e D14, uma vez que foi verificado um leve, porém, significativo aumento dos valores de EC50 ($p < 0,05$). Uma tendência semelhante, porém não significativa, foi verificada entre os valores de EC50 do controle aos 14 e 21 dias. Isso significaria dizer que os microrganismos passaram a consumir os compostos fenólicos para combater radicais livres que os mesmos acabam gerando durante o tempo de armazenamento. Segundo Li et al., (2016), alguns metabólitos oxigênicos podem ser produzidos pelas bactérias lácticas em produtos lácteos fermentados, os quais poderiam prejudicar a viabilidade destes microrganismos ao longo do armazenamento. Ainda segundo os autores, certas bactérias lácticas são aptas a utilizar os polifenóis adicionados em produtos lácteos fermentados sendo um método efetivo para manter a viabilidade destes microrganismos, combatendo os radicais livres que prejudicariam a sua sobrevivência nos produtos. Por outro lado, observa-se que entre D14 e D21 ocorre a estabilização do EC50.

Assim, observou-se neste estudo que a adição da polpa de jambolão à essa base láctea torna a bebida uma ótima fonte de obtenção de compostos antioxidantes. É importante ressaltar que a bebida desenvolvida, pelo fato de ser isenta de lactose, pode ser consumida pela população intolerante a esse dissacarídeo, sendo uma importante fonte de fenólicos para esse público.

6 CONCLUSÃO

Pode-se afirmar que a adição da polpa de jambolão em bebida láctea fermentada, isenta de lactose, gerou um aumento do teor de fenólicos bem como uma maior atividade antioxidante à bebida.

Destaca-se, também, que a cultura probiótica *L. casei* foi importante para potencializar uma resposta antioxidante ainda mais significativa às bebidas lácteas, particularmente na primeira semana de armazenamento.

Sabendo que compostos fenólicos, quando ingeridos, podem interagir e ser metabolizados por bactérias intestinais, produzindo metabólitos biologicamente ativos, as bebidas analisadas neste trabalho poderão exercer múltiplos efeitos benéficos no organismo, incluindo àqueles com intolerância à lactose.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABRAHÃO, S. A. **Qualidade da bebida e atividade antioxidante do café in vivo e in vitro**. 2007. 91 f. Dissertação (Mestrado em Ciências dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2007.
- ADHIKARI K, DOOLEY. L. M.; CHAMBERS, E.; BHUMIRATANA, N. Sensory characteristics of commercial lactose-free milks manufacture in the United States. **LWT Food Science and Technology**, v. 43, p 113–118, 2010.
- ALBERTON, J. R.; RIBEIRO, A.; SACRAMENTO, L. V. S.; FRANCO, S. L. Caracterização farmacognóstica do jambolão (*Syzygium cumini* (L.) Skeels). **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, João Pessoa, v. 11, n. 1, p. 37 - 50, 2001.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Gerência Geral de Alimentos. Gerência de registro de Alimentos. **Perguntas & respostas: rotulagem de lactose**. Brasília, 2017.
- ALEXANDRAKI, V.; TSAKALIDOU, E.; PAPADIMITROU, K.; HOLZAPFEL, W. **Status and trends of the conservation and sustainable use of microorganisms in food process**. Rome: Commission on Genetic Resources for Food and Agriculture FAO, 2013. 160 p. (Background Study Paper, 65).
- ALMEIDA, R. L. J. **Análises bromatológicas em bebida láctea potencialmente probiótica com soro de queijo e ingredientes obtidos do aproveitamento da casca da jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*)**. 2016. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Química Industrial) - Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2016.
- ANJO, D. L. C. Alimentos funcionais em angiologia e cirurgia vascular. **Jornal Vascular Brasileiro**, São Paulo, v. 3, n. 2, p. 145-154, 2004.
- ATOUI, A. K. et al. Tea antioxidant activity and phenolic profile. **Food Chemistry**, Reading, v. 89, n. 1, p. 27, 2005.
- ANTUNES, A. E. C.; SILVA, E. R. A.; MARASCA, E. T. G.; MORENO, I.; LERAYER, A. L. S. Probióticos: agentes promotores de saúde. **Nutrire**, São Paulo, v. 32, n. 3, p. 103-122, 2007.
- ANTUNES, A. J. **Funcionalidade de proteínas do soro de leite bovino**. São Paulo. 3. ed. Manole, 2003.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Alimentos com alegações de propriedades funcionais e ou de saúde**, Brasília, 2016.
- ARAÚJO, A. L. M. **Polpa de jambolão (*Syzygium cumini*) desidratada por liofilização e secagem em leite de jorro: caracterização físico-química e funcional e impacto da secagem**. 2014. 92 p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Natal, 2014.

AYYANAR, M.; SUBASH-BABU, P. *Syzygium cumini* (L.) Skeels: A review of its phytochemical constituents and traditional uses. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v.2, p.240-246, 2012.

BALIGA, M. S.; BHAT, H. P.; BALIGA, B. R. V.; WILSON, R.; PALATTY, P. L. Phytochemistry, traditional uses and pharmacology of *Eugenia jambolana* Lam. (black plum): A review. **Food Research International**, v.44, n.7, p.1776-1789, 2011.

BARCIA, M. T. **Composição centesimal e de fitoquímicos em jambolão (*Syzygium cumini*)**. 2009. 64 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2009.

BIANCHI, M. L. P.; ANTUNES, M. G. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. **Revista de Nutrição**, Campinas, 1999. v. 12, n. 2, p. 123-130.

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Instrução Normativa nº 16, de 23 de agosto de 2005. Regulamento técnico de identidade e qualidade de bebida láctea. **Diário Oficial da União**, Brasília, 24 de agosto de 2005.

BURITI, F.C.A.; FREITAS, S.C.; EGITO, A.S.; SANTOS, K.M.O. Effects of tropical fruit pulps and partially hydrolysed galactomannan from *Caesalpinia pulcherrima* seeds on the dietary fibre content, probiotic viability, texture and sensory features of goat dairy beverages. **LWT - Food Science and Technology**, v. 59, n. 1, p. 196-203, 2014.

CASTRO, F. P.; CUNHA, T. M.; OGLIARI, P. J.; TEÓFILO, R. F.; FERREIRA, M. M. C.; PRUDÊNCIO, E. S. Influence of different content of cheese whey and oligofructose on the properties of fermented lactic beverages: Study using response surface methodology. **LWT - Food Science and Technology**, v. 42, n. 5, p. 993-997, 2009.

CALDEIRA, L. A.; FERNANDES, S. A. A.; MAGNAVITA, A. P. A.; FERRÃO, S. P. B.; SANTOS, T. D. R. Desenvolvimento de bebida láctea sabor morango utilizando diferentes níveis de iogurte e soro lácteo obtidos com leite de búfala. **Ciência Rural**, v. 40, n. 10, p. 2193-2198, 2010.

CÉSPEDA, C. L.; EL-HAFIDI, M.; PAVON, N.; ALARCON, J. Antioxidant and cardioprotective activities of phenolic extracts from fruits of Chilean blackberry *Aristotelia chilensis* (Elaeocarpaceae), Maqui. **Food Chemistry**, v.107, p. 820-829, 2008.

CHAUDHARY, B.; MUKHOPADHYAY, K. *Syzygium cumini* (L.) Skeels: a potential source of nutraceuticals. **International Journal of Pharmacy and Biological Sciences**, v. 2, n. 1, p. 2230-7605, 2012.

COPPOLA, M. M.; TURNES, C. Probióticos e resposta imune. **Ciência Rural**, Santa Maria, 2004. v. 34, n. 4, p. 1297-1303.

CORRÊA, P. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional; Ministério da Agricultura, 1984. p. 499-501. v.3.

COSTA, A. G. V.; GARCIA-DIAZ, D. F.; JIMENEZ, P.; SILVA, P. I. Bioactive compounds and health benefits of exotic tropical red-black berries. **Journal of Functional Foods**, v. 5. n. 2, p.539-549, 2013.

CRAVEIRO, A. C.; CRAVEIRO, A. A. **Alimentos funcionais: a nova revolução**. Fortaleza: PADETEC, 2003.

CROZIER, A. Classification and biosynthesis of plants and secondary products: na overview. In: GOLDBERG, G. (Ed). **Plants: diet and health**. Iowa: Blackwell Science for the British Nutrition Foundation, 2003, cap. 2, p. 27-48.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. **Química de Alimentos de Fennema**. v. 4. ed. Porto Alegre: **Artmed**, 2010. 900 p.

DIPLOCK, A. T.; AGGETT, P. J.; ASHWELL, M.; BORNET, F.; FERN, E. B.; ROBERFROID, M. B. 1999. Scientific concepts of functional foods in Europe: consensus document. **British Journal of Nutrition**, v. 88, 1999.

DONADIO, L. C. **Dicionário das frutas**. Jaboticabal, 2007. 300 p.

DUDA-CHODAK, A.; TARKO, T.; SATORA, P.; SROKA, P. Interaction of dietary compounds, especially polyphenols, with the intestinal microbiota: a review. **European Journal of Nutrition**, v. 54. p. 325–341, 2015.

EFRAIM, P.; ALVES, A. B.; JARDIM, D. C. P. Polifenóis em cacau e derivados: teores, fatores de variação e efeitos na saúde. **Brazilian Journal of Food Technology**. 2011. v. 14, n. 3. p. 181-201.

ESPÍN, J. C.; SOLER-RIVAS, C.; WICHERS, H. J. Characterization of the total free radical scavenger capacity of vegetables oils and oil fractions using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, p. 648-656, 2000.

EVERETTE, J. D.; BRYANT, Q. M.; GREEN, A. M.; ABBEY, Y. A.; WANGILA, G. W.; WALKER, R. B. Thorough study of reactivity of various compound classes toward the Folin-Ciocalteu reagent. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, 2010. v. 58, n. 14, p. 8.139-8.144.

FOOD AND AGRICULTURAL ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **Report on functional foods**. Rome, 2007.

FERREIRA, C. L. L. F.; TESHIMA, E. Prebióticos. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, Brasília, n. 16, p. 22-25, 2000.

FERREIRA, G. **Avaliação da atividade antioxidante de espécies de *Pterocaulon* (Asteraceae)**. 2009. 57 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.

FERREIRA, K.S.M.; SOARES, D.L.; SANTOS, K.M.O. Análises microbiológicas de *Bifidobacterium lactis* (Bb12) em bebidas lácteas à base de leite e soro lácteo caprino e polpa de goiaba e graviola. In: ENCONTRO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UNIVERSIDADE ESTADUAL VALE DO ACARAÚ, 13,2011, Sobral, **Anais...**, Sobral:UVA,2011.

GANDHI, D. N.; PATEL, R. S. Technology and keeping quality of fermented whey concentrate. **Cultured Dairy Products Journal**, Washington, 1994. v. 29, n. 1, p. 25-7.

- GERHARDT, A.; MONTEIRO, B. W.; GENNARI, A.; LEHN, D. V.; SOUZA, C. Características físico-químicas e sensoriais de bebidas lácteas fermentadas utilizando soro de ricota e colágeno hidrolizado. **Revista do Instituto de Laticínios “Cândido Tostes”**, v 68, n 390, 2013.
- GIRALDO-ZUÑIGA, A. D.; COIMBRA, J. S. R.; GOMES, J. C.; MINIM, L. A.; ROJAS, E. E. G.; GADE, A. D. Tecnologias aplicadas ao processamento do soro de queijo. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, 2004. v. 59, n. 340/341, p. 53-66, set./dez.
- GRUZ, J.; AYAZ, F. A.; TORUN, H.; STRNAD, M. Phenolic acid content and radical scavenging activity of extracts from medlar (*Mespilus germanica* L.) fruit at different stages of ripening. **Food Chemistry**, v. 124, p. 271-277, 2011.
- HARAGUCHI, F. K.; ABREU, W. C.; PAULA, H. Proteínas do soro do leite: composição, propriedades nutricionais, aplicações no esporte e benefícios para a saúde humana. **Revista de Nutrição**. v. 19, n . 4, 2006.
- HELENO, S. A. et al. Bioactivity of phenolic acids: metabolites versus parent compounds: a review. **Food Chemistry**, v. 173, p. 501-513, 2015.
- HE, T.; PRIEBE, M. G.; ZHONG, C.; HUANG, C.; HARMSSEN, H. J. M.; RAANGS, G. C.; ANTOINE, J. M.; WELLING, G. W.; VONK, R. J. Effects of yogurt and bifidobacteria supplementation on the colonic microbiota in lactose-intolerant subjects. **Journal of Applied Microbiology**, v. 104, p 595-604, 2007.
- HENG, M. H.; GLATZ, C. E. Ion exchange immobilization of charged B-galactosidase fusions for lactose hydrolysis. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 44, 745-752, 1994.
- HILL, C.; GUARNER, F.; REID, G. et al. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. **Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology**, v. 11, p. 506-514, 2014.
- HORST, M. A.; LAJOLO, F. M. Biodisponibilidade de compostos bioativos de alimentos. In: COZZOLINO, S. M. F. **Biodisponibilidade de nutrientes**. 3. ed. São Paulo: Manole. p. 772-807, 2009.
- HUSAIN, S. R.; CILLARD, J.; CILLARD, P. Hydroxyl radical scavenging activity of flavonoids. **Phytochemistry**, v. 26, p. 2489-2491, 1987.
- JUDD, W. S. **Plant systematics: a phylogenetic approach**. 3rd. ed. Sunderland: Sinauer Associates, 2007.
- KARAKAYA, S. Bioavailability of phenolic compounds. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 44, n. 6, p. 453-464, 2004.
- KATSUBE, N.; KEIKO, I.; TSUSHIDA, T.; YAMAKI, K.; KOBORI, M. Induction of apoptosis in cancer cells by bilberry (*Vaccinium myrtillus*) and the anthocyanins. **Journal of Agriculture Food Chemical**, London, v. 51, n. 1, p. 68-75, 2003.
- KOLIDA, S.; GIBSON, G. R. Synbiotic in health and disease. **Annual Review of Food Science and Technology**. v. 2. p. 373-393. 2011.

LEE, Y.; SALMINEN, S. The coming of age of probiotics. **Trends in Food Science and Technology**, London, v. 6, n. 7, p. 241-245, 1995.

LEITE, M.T.; BARROZO; M.A.S.; RIBEIRO, E.J. Canonical analysis technique as an approach to determine optimal conditions for lactic acid production by *Lactobacillus helveticus* ATCC 15009. **International Journal of Chemical Engineering**, v. 2012, ID 303874, 9 p., 2012.

LEMOS, A. H. **Controle e prevenção de doenças pela medicina natural e ortomolecular**. 3. ed. São Paulo: Atheneu. 2006. 331 p.

LI, S.; MA, C.; GONG, G.; LIU, Z.; CHANG, C.; XU, Z. The impact of onion juice on milk fermentation by *Lactobacillus acidophilus*. **LWT - Food Science and Technology**, v. 65. p. 543-548, 2016.

LIBARDI, S. H. **Atividade antioxidante da vanila e do ácido vanílico e o efeito da complexação por proteínas do soro do leite na desativação de radicais e ferrilmioglobina em condições simulando o trato gastrointestinal**. 2010. 90 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Universidade de São Paulo, São Carlos, 2010.

LIMA, L. A.; SIANI, A. C.; BRITO, F. A.; SAMPAIO, A. L. F.; OLIVEIRA, M. G. M.; RIEHL, H. C. A. S. Correlation of anti-inflammatory activity with phenolic content in the leaves of *Syzygium cumini* (*L.*) *skeels* (Myrtaceae). **Quimica Nova**, São Paulo, v. 30, n. 4, p. 860-864, 2007.

MANACH, C. SCALBERT, A.; MORAND, C.; RÉMÉSY, C.; JIMÉNEZ, L. Polyphenols: food sources and bioavailability. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 79, p. 727-747. 2004.

MARQUES, A. P. **Desenvolvimento de bebida láctea fermentada à base de soro lácteo e café solúvel com atividade probiótica**. 2012. 110 f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2012.

MATTAR, R.; MAZO, D. F. C.; CARRILHO, F. J. Lactose intolerance: diagnosis, genetic, and clinical factors. **Clinical and Experimental Gastroenterology**. v. 5. p. 113–121. 2012

MA, C.; GONG, G.; LIU, Z.; MA, A.; CHEN, Z. Stimulatory effects of tea supplements on the propagation of *Lactobacillus casei* in milk. **International Dairy Journal** . p. 1–6, 2015.

MEENA, M. K. et al. Formulation optimisation of whey lemon beverage using a blend of the sweeteners aspartame and saccharin. **International Journal of Dairy Technology**, Huntingdon, v. 65, n. 1, p. 146–151, Feb. 2012.

MENSOR, L. L.; MENEZES, F. S.; LEITÃO, G. G.; REIS, S.; DOS SANTOS, T. C.; COUBE, C. S.; LEITÃO, S. G. Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. **Phytotherapy Research**, v. 15, p. 127-130, 2001.

MERWE, M. M. van der; VAN WYK, A. E.; BOTHA, A. M. Molecular phylogenetic analysis of *Eugenia* L. (Myrtaceae), with emphasis on southern African taxa. **Plant Systematics and Evolution**, New York, v. 251, p. 21- 34, 2005.

- MONTEIRO, S. Fruta para beber – O caminho da industrialização é alternativa para melhor aproveitamento da matéria-prima e oportunidade para fruticultores obterem melhores ganhos financeiros. **Revista Frutas e Derivados**, São Paulo, v. 1, n. 1, p. 28-31, 2006.
- MUSTONEN, E. A.; TUORI, M.; SAASTAMOINEN, I.; TAPONEN, J.; WAHALA, K.; SALONIEMI, H.; VANHATALO, A. Equol in milk of dairy cows is derived from forage legumes such as red clover. **British Journal of Nutrition**, v. 102. p. 1552–1556. 2009.
- NIEMETZ, R.; GROSS, G. G. Enzymology of gallotannin and ellagitannin biosynthesis. **Phytochemistry**, Egham Hill, n. 66, p. 2001-2011, June 2005.
- OLIVEIRA, A. M. **Desenvolvimento de Bebida Láctea sabor graviola com potencial atividade funcional**. 2012. 91 f. Tese (Doutorado em Nutrição) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2012.
- OLIVEIRA, F.; AKISUE, G. Fundamentos de farmacobotânica. 2. ed. São Paulo: Atheneu, p. 67 -139, 2000.
- OLIVEIRA, V. C. D. **Alergia à proteína do leite de vaca e intolerância à lactose: abordagem nutricional, pesquisa qualitativa e percepções dos profissionais da área de saúde**. 2013. 105 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2013.
- OLSZEWER, E. **Clínica Ortomolecular**. 2. ed. São Paulo: Rocca, 2008. p. 544
- PEREIRA F., D.; FURLAN, S. A. Prevalência de intolerância à lactose em função da faixa etária e do sexo: experiência do laboratório Dona Francisca, Joinville (SC). **Revista Saúde e Ambiente**, Joinville, v.5, n.1, p. 24-30, 2004.
- PEREIRA, R. J. **Composição centesimal, aspectos fitoquímicos, atividades antioxidantes, hipoglicemiantes e anti-hiperlipidêmica de frutos do gênero *Syzygium***. 2011. 153 f. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2011.
- PIERI, C. **Caracterização de *Puccinia psidii*, identificação de mirtáceas diferenciadoras de raças fisiológicas e estudos anatômicos do limbo foliar relacionados à resistência**. 2012. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu, 2012.
- PRASANNA, P. H. P.; GRANDISON, A. S.; CHARALAMPOPOULOS, D. Bifidobacteria in milk products: an overview of physiological and biochemical properties, exopolysaccharide production, selection criteria of milk products and health benefits. **Food Research International**, v. 55. p. 247–262. 2014
- RAMALHO, V. C.; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Química Nova**, v. 29, n. 4, p. 755–760, 2006.
- RANADHEERA, R.D.C.S.; BAINES, S.K.; ADAMS, M.C. Importance of food in probiotic efficacy. **Food Research International**, v. 43, n. 1, p. 1-7, 2010.
- RAVI, K.; RAMACHANDRAN, B.; SUBRAMANIAN, S. Effect of *Eugenia Jambolana* seed kernel on antioxidant defense system in streptozotocin-induced diabetes in rats. **Life Science**. v. 75. p. 2717-2731. 2004.

REYNERTSON, K. A.; YANG, H.; JIANG, B.; BASILE, M. J.; KENNELLY, E. J. Quantitative analysis of antiradical phenolic constituents from fourteen edible Myrtaceae fruits. **Food Chemistry**, Amsterdam, v. 109, n. 4, p. 883-890, 2008.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; MORAIS, S. M.; SAMPAIO, C. G.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. D. **Metodologia científica**: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH. Embrapa Agroindústria Tropical: Fortaleza, 2007. 4 p. (Comunicado Técnico 127).

SAMPAIO, C. R. P. **Caracterização físico-química, capacidade antioxidante e compostos bioativos de frutos de murici vermelho (*Byrsonima ligustrifolia* A. Juss) em cinco estádios de maturação**. 2015. 102 f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2015.

SANTOS, C.T.; COSTA, A. R.; FONTAN, G. C. R.; FONTAN, R. C. I.; BONOMO, R. C. F. Influência da concentração de soro na aceitação sensorial de bebida láctea fermentada com polpa de manga. **Alimentos e Nutrição**, v.19, n. 1, p.55-60, 2008.

SANTOS, K. M.; OLIVEIRA, I. C.; LOPES, M. A. C.; CRUZ, A. P.; BURITI, F. C. A.; CABRAL, L. M. Addition of grape pomace extract to probiotic fermented goat milk: the effect on phenolic content, probiotic viability and sensory acceptability. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 97, p. 1108–1115, 2016.

SANTOS, W. O. **Extração de Compostos Bioativos da Polpa de Jambolão (*Syzygium cumini* Lamark) com CO₂ supercrítico**. 2015. 68 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Instituto de Tecnologia, Universidade Federal do Pará, Belém, 2015.

SÁNCHEZ-MORENO, C.; LARRAURI, J.A.; SAURA-CALIXTO, F. A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 76, p. 270-276, 1998.

SEOLIN, V. J.; SCAPIM, M. R. da S.; PIERETTI, G. G.; TONON, L. A. C.; MADRONA, G. S. Substituição de sacarose por frutooligosacarídeo em sorvete. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, Ponta Grossa, v. 7, n. 2, p. 106-1073, 2013.

SGARBIERI, V. C. Propriedades fisiológicas-funcionais das proteínas do soro de leite. **Revista de Nutrição**, v 17, n 4, p. 397-409, 2004.

SILVA, M. L. C.; COSTA, R. S.; DOS SANTOS SANTANA, A.; KOBLITZ, M. G. B. Phenolic compounds, carotenoids and antioxidant activity in plant products. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 31, n. 3, 669-682, 2010.

SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia**: da planta ao medicamento. Porto Alegre: UFRGS, 2007. 1102 p.

SIQUEIRA, A. M. O.; MACHADO, E. C. L.; STAMFORD, T. L. M. Bebidas lácteas com soro de queijo e frutas. **Ciência Rural**, v. 43, n. 9, p. 1693-1700, 2013.

SIRÓ, I et al. Functional food, product development, marketing and consumer acceptance – a review. **Appetite**. v. 51. p. 456-467. 2008.

SOARES, J. C. **Aproveitamento alimentar do jambolão**. 2015. 188 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Escola de Agronomia, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2015.

SOARES, J. J. **Avaliação da atividade antioxidante in vitro e in vivo de extratos preparados a partir das folhas de *Syzygium cumini* (L.) Skeels**. 2013. 80 f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica) – Universidade Federal do Pampa, Uruguaiana, 2013.

SOUSA, M. M. **Compostos bioativos e atividade antioxidante do fruto e do licor de jambolão (*Syzygium cumini*)**. 2012. 99 f. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição) - Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2012.

SOUZA, P. H. M.; NETO, M. H. S.; MAIA, G. A. Componentes funcionais nos alimentos. **Boletim da SBCTA**. v. 37, n. 2, p. 127-135, 2003.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica sistemática**. 2. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2008. 704 p.

STOCLET, J. C.; CHATAIGNEAU, T.; NDIAYE, M.; OAK, M. H.; EL BEDOUI, J.; CHATAIGNEAU, U. M.; SCHINI-KERTH, V. B. Vascular protection by dietary polyphenols. **European Journal of Pharmacology**, Berlin, v. 500, n. 1, p. 299-313, 2004.

SUN-WATERHOUSE D.; ZHOU, J.; WADHWA, S. S.; Drinking yoghurts with berry polyphenols added before and after fermentation. **Food Control**. v. 32. p.450–460. 2013.

TANNOCK, G. W. Studies on the intestinal microflora: a prerequisite for the development of probiotics. **International Dairy Journal**, p. 527–533. 1998.

TAKAHASHI, A., OHNISHI, T. The significance of the study about the biological effects of solar ultraviolet radiation using the exposed facility on the internal space station. **Biological Sciences in Space**, v. 18. p. 255-260. 2004.

THAMER, K. G.; PENNA, A. L. B. Caracterização de bebidas lácteas funcionais fermentadas por probióticos e a crescidas de prebiótico. **Ciência em Tecnologia de Alimentos**, v. 26. p. 589-595, 2006.

TORRAS-CLAVERIA, L.; JÁUREGUI, O.; CODINA, C.; TIBURCIO, A. S.; BASTIDA, J.; VILADOMAT, F. Analysis of phenolic compounds by high-performance liquid chromatography coupled to electrospray ionization tandem mass spectrometry in senescent and water-stressed tobacco. **Plant Science**. v. 182. p. 71-78. 2012.

VEIGAS, J. M.; NARAYAN, M. S.; LAXMAN, P. M.; NEELW ARNE, B. Chemical nature, stability and bioefficacies of anthocyanins from fruit peel of *Syzygium cumini* Skeels. **Food Chemistry**, Amsterdam, v. 105, n. 2, p. 619-627, 2007.

VIEIRA, S.M. **Biscoito tipo cookie com adição de quitosana**. Fortaleza, 2001. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos). Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Federal do Ceará, 2001.

VIZZOTTO, M.; PEREIRA, M. C. **Caracterização das propriedades funcionais do jambolão**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2008. 27p. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento).

VOLP, A. C. P.; RENHE, I. R. T.; BARRA, K.; STRINGUETA, P. C. Flavonóides antocianinas: características e propriedades na nutrição e saúde. **Revista Brasileira de Nutrição Clínica**, v. 23, n.2, p. 141-149, 2008.

WILLIAMS, R. J.; SPENCER, J. P. E.; RICE-EVANS, C. Flavonoids: Antioxidant or signaling molecules? **Free Radical Biology & Medicine**. v. 36. p. 838-849. 2004.

ZERBIELLI, K. M. **Bebida Láctea Fermentada com Cultura Probiótica Adicionada de Semente de Chia (*Salvia hispanica* L)**. 2014. Dissertação (Mestrado) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina, 2014.