



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA - CCT
CURSO DE QUÍMICA INDUSTRIAL**

ANNA PAULA ROCHA DE QUEIROGA

**CAPACIDADE ANTIOXIDANTE E TEOR DE COMPOSTOS FENÓLICOS EM
BEBIDA LÁCTEA FERMENTADA SEM LACTOSE ADICIONADA DE CULTURA
NATIVA DE LACTOBACILOS E POLPA DE JAMBOLÃO (*Syzygium cumini*)**

**CAMPINA GRANDE
2018**

ANNA PAULA ROCHA DE QUEIROGA

**CAPACIDADE ANTIOXIDANTE E TEOR DE COMPOSTOS FENÓLICOS EM
BEBIDA LÁCTEA FERMENTADA SEM LACTOSE ADICIONADA DE CULTURA
NATIVA DE LACTOBACILOS E POLPA DE JAMBOLÃO (*Syzygium cumini*)**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Universidade Estadual da Paraíba como
requisito parcial à obtenção do título de
Bacharel em Química Industrial.

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

**CAMPINA GRANDE
2018**

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.

Q3c Queiroga, Anna Paula Rocha de.
Capacidade antioxidante e teor de compostos fenólicos em bebida láctea fermentada sem lactose adicionada de cultura nativa de lactobacilos e polpa de jambolão (*Syzygium cumini*) [manuscrito] : / Anna Paula Rocha de Queiroga. - 2018.
43 p.

Digitado.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Química Industrial) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências e Tecnologia, 2018.

"Orientação : Profa. Dra. Flávia Carolina Alonso Buriti, Departamento de Farmácia - CCBS."

1. Indústria alimentícia. 2. Ação antioxidante. 3. Probióticos. 4. Bebida láctea. I. Título

21. ed. CDD 615.36

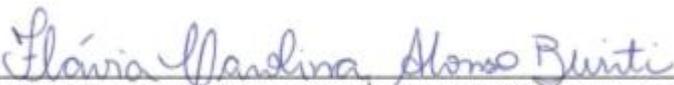
ANNA PAULA ROCHA DE QUEIROGA

**CAPACIDADE ANTIOXIDANTE E TEOR DE COMPOSTOS FENÓLICOS EM
BEBIDA LÁCTEA FERMENTADA SEM LACTOSE ADICIONADA DE CULTURA
NATIVA DE LACTOBACILOS E POLPA DE JAMBOLÃO (*Syzygium cumini*)**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Universidade Estadual da Paraíba como
requisito parcial à obtenção do título de
Bacharel em Química Industrial.

Aprovada em: 12/06/2018.

BANCA EXAMINADORA


Prof.ª Dr.ª Flávia Carolina Alonso Buriti (Orientadora)
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)


Prof.ª Dr.ª Eliane Rolim Florentino
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)


Prof.ª Dr.ª Márcia Ramos Luiz
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)

Aos meus pais, por todo apoio e dedicação.

AGRADECIMENTOS

A Deus por ter me fortalecido ao ponto de superar as dificuldades, o que permitiu alcançar esta etapa tão importante da minha vida.

Aos meus pais, Maria e José Paulo, por toda dedicação, esforço e motivação.

À minha orientadora, Dr.^a Flávia Carolina, por todo ensinamento compartilhado, dedicação e paciência durante essa jornada acadêmica.

À Dr.^a Eliane Rolim por todos os anos de orientação na pesquisa e companheirismo, com quem desenvolvi um laço afetivo que vai além da universidade.

À Dr.^a Márcia Ramos por aceitar fazer parte da minha banca examinadora e por contribuir para minha formação.

Aos companheiros de curso, por tornarem a rotina da graduação mais leve, proporcionando bons momentos durante esse tempo. Em especial, Camila, pelo apoio dentro e fora da universidade.

Aos meus amigos, em especial Raphael, que me introduziu no campo da pesquisa e sempre esteve ao meu lado, ajudando em todos os momentos.

Aos companheiros de pesquisa, em especial Lisandra, que me deu um grande suporte durante esse tempo.

A todos os membros do Núcleo de Pesquisa e Extensão em Alimentos (NUPEA), que sempre se propuseram a ajudar e pelas amizades que levarei por toda a vida.

Ao Programa de Incentivo à Pós-Graduação e Pesquisa (PROPESQ) da UEPB pelo auxílio financeiro ao projeto.

À Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária pelo fornecimento da cultura nativa utilizada. À empresa DuPont – Danisco Brasil Ltda. pelo fornecimento da cultura iniciadora empregada na fermentação das bebidas. À empresa Prozyn pelo fornecimento a enzima β -galactosidase utilizada neste estudo.

E, por fim, a todas as pessoas que de alguma forma fizeram parte do meu percurso.

RESUMO

O jambolão (*Syzygium cumini*) é um fruto encontrado em diversas regiões do Brasil, que apresenta grande quantidade de compostos fenólicos em sua composição e alto potencial antioxidante. Este fruto é muito consumido *in natura* e pode ser aproveitado na elaboração de produtos processados, como na produção de bebidas lácteas fermentadas, conferindo funcionalidade, melhores características sensoriais e nutricionais. Os probióticos são muito empregados em produtos lácteos, tendo sua sobrevivência melhorada na presença de componentes com alto teor de compostos fenólicos. O objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade antioxidante e quantidade de compostos fenólicos em bebida láctea sem lactose, fermentada com *Streptococcus thermophilus* TA40, adicionada da cultura nativa potencialmente probiótica *Lactobacillus mucosae* CNPC007 e polpa de jambolão. Foi realizado um comparativo desta bebida com um tratamento controle, sem o microrganismo nativo, como também com as bases lácteas, sem a polpa de jambolão, antes e após a fermentação. Observou-se um aumento da concentração de fenólicos totais e do sequestro de radicais 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH) ao se comparar as duas bebidas lácteas fermentadas prontas com suas respectivas bases lácteas antes e após a fermentação, evidenciando o efeito positivo da polpa do jambolão. Também foi visto que a bebida contendo a cultura nativa apresentou atividade antioxidante superior à do tratamento controle, bem como menores valores de EC₅₀, que é a quantidade de bebida láctea necessária para capturar 1 g de radicais DPPH, em vários períodos de amostragem. Sendo assim, pode-se dizer que a cultura nativa com potencial probiótico de *L. mucosae*, juntamente com a polpa do jambolão, melhoraram a ação antioxidante da bebida láctea.

Palavras-chave: *Syzygium cumini*. Antioxidante. Compostos fenólicos. Probióticos.

ABSTRACT

The fruit of *Syzygium cumini* is found in several regions of Brazil. It presents a high content of phenolic compounds and antioxidant potential. This fruit is mainly consumed *in natura* and can be used in the manufacture of processed products, such as in the production of fermented milk beverages, conferring them functionality, better sensorial and nutritional properties. Probiotics are widely used in dairy products, which have also their viability improved in the presence of components with high phenolic compounds content. The objective of this study was to evaluate the antioxidant activity and the total phenolic compounds in lactose-free milk beverage, fermented with *Streptococcus thermophilus* TA40, added with the indigenous culture potential probiotic *Lactobacillus mucosae* CNPC007 and *S. cumini* pulp. A comparison of this beverage was also carried out with a control treatment, without the indigenous microorganism, as well as with the milk bases, without *S. cumini*, before and after the fermentation process. An increase in the total phenolic concentration and in the scavenging of 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radicals was observed when comparing the two fermented dairy beverages prepared with their respective milk bases before and after fermentation, showing a positive effect of the *S. cumini* pulp on these parameters. It was also observed that the beverage containing the indigenous culture presented antioxidant activity higher than the control treatment, as well as lower values of EC₅₀, which is the amount of milk beverages required to capture 1 g of DPPH radicals, during the most of sampling periods studied. Therefore, it can be concluded that the *L. mucosae* indigenous culture with probiotic potential, together with the pulp of *S. cumini*, improved the antioxidant activity of the dairy beverage.

Keywords: *Syzygium cumini*. Antioxidants. Phenolic compounds. Probiotics.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	9
1.1	Objetivos	10
1.1.1	<i>Objetivo geral</i>	10
1.1.2	<i>Objetivos específicos</i>	10
2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	11
2.1	<i>Syzygium cumini</i> (jambolão)	11
2.2	Compostos bioativos	12
2.2.1	<i>Compostos fenólicos</i>	13
2.2.1.1	Flavonoides.....	13
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>	18
2.4.2	<i>Soro de queijo</i>	19
2.4.3	<i>Bebida láctea fermentada</i>	20
2.5.	Produtos lácteos para intolerantes à lactose	20
3	METODOLOGIA	22
3.1	Local da pesquisa	22
3.2	Matérias-primas	22
3.3	Obtenção dos frutos e polpa de jambolão	22
3.4	Obtenção do soro do queijo	23
3.5	Preparo da base láctea	23
3.6	Hidrólise da lactose da bebida láctea	23
3.7	Fabricação de bebidas lácteas probióticas fermentadas sem lactose	23
3.8	Preparação das amostras	24
3.9	Determinação de compostos fenólicos totais	25
3.10	Determinação da atividade antioxidante total pela captura do radical	26

	livre DPPH	
3.11	Obtenção do EC₅₀.....	26
3.12	Análises estatísticas.....	27
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	28
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	33
	REFERÊNCIAS.....	34

1 INTRODUÇÃO

A planta *Syzygium cumini*, popularmente denominada de jambolão (família Myrtaceae), tem origem na Indonésia, China e Antilhas. É cultivada em quase todo Brasil, principalmente em regiões de clima quente e úmido, sendo encontrada nas regiões norte, nordeste e nas áreas quentes da região sudeste (DIAS, 2017). Os frutos no período da safra apresentam alto rendimento de produção pela planta, sendo uma parte dessa produção aproveitada pela população que o consome *in natura*. Porém, pela falta de conhecimento da efetividade para a sua industrialização e perecibilidade do fruto, grande parte é desperdiçada no período da safra (AMÉRICO, 2014; LAGO; GOMES; SILVA, 2006). É importante ainda destacar que no jambolão são encontrados diversos componentes fenólicos, podendo ser taninos hidrolisáveis, antocianinas, flavonóis, flavanonóis, além de uma atividade antioxidante consideravelmente alta (GORDON et al., 2011).

Estudos mostram reduções no risco de doenças crônicas e benefícios à saúde pelo consumo de alimentos ricos em compostos fenólicos e outros antioxidantes, dando mais atenção na dieta humana e na saúde do consumidor (SILVA et al., 2010). Mundialmente tem crescido o interesse por produtos alimentícios saudáveis, nutritivos e de grande aproveitamento. Assim, a indústria de laticínios, para se adequar às constantes mudanças do mercado consumidor e manter-se na liderança tecnológica na indústria de alimentos, vem aumentando a sua competitividade na seção de produtos funcionais (BRANDÃO, 2002; PUPIN, 2002; THAMER; PENNA, 2006). Estes produtos possuem alto valor nutritivo e são veículos em potencial para a ingestão de probióticos, além de apresentarem grande aceitação pelo público em geral (ANTUNES et al., 2007).

Muitos estudos têm constatado o potencial das bebidas lácteas como alimento funcional, tanto devido a sua capacidade em conduzir microrganismos probióticos pelo trato gastrointestinal quanto pelo estímulo destes microrganismos no alimento e na microbiota benéfica do intestino, em virtude das propriedades funcionais do soro de queijo (CASTRO, 2012). A bebida láctea, de acordo com a definição oficial da legislação brasileira, é o produto obtido a partir da mistura do leite e soro de queijo, fermentado ou não, com ou sem adição de outros ingredientes, onde a base láctea representa pelo menos 51% (m/m) do total de ingredientes do produto (BRASIL, 2005).

A aplicação de soro de queijo na composição de bebidas lácteas é uma ótima forma de aproveitamento deste produto secundário que apresenta elevado valor nutritivo (ALMEIDA; BONASSI; ROÇA, 2001). O soro contém quase todo o açúcar (lactose) do leite (SANTOS et

al., 2008). Entretanto, alguns indivíduos apresentam um distúrbio na digestão completa da lactose, causada pela deficiência, primária ou secundária, da enzima responsável pela hidrólise da lactose, a lactase. Este distúrbio manifesta-se na forma de uma má absorção deste açúcar, podendo causar grande desconforto abdominal e diarreia (QUILICI; MISSIO, 2015).

A bebida láctea fermentada com a adição da polpa do jambolão, juntamente com a incorporação de microrganismos probióticos torna-se um potencial alimento funcional que poderia conferir efeitos benéficos ao consumidor. Nesta perspectiva, uma bebida láctea fermentada livre de lactose, poderia estender tal benefício aos intolerantes a esse açúcar. A quantificação da concentração de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante da mesma poderia ser utilizada como medida para conhecer os potenciais efeitos benéficos deste produto.

1.1 Objetivos

1.1.1 Objetivo geral

Avaliar os efeitos do emprego da polpa do jambolão e de uma cultura nativa potencialmente probiótica de lactobacilos sobre os parâmetros de atividade antioxidante em bebida láctea isenta de lactose.

1.1.2 Objetivos específicos

Os objetivos específicos deste trabalho foram:

- a) avaliar a atividade da polpa de jambolão e do microrganismo probiótico sobre o teor 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-picrilhidrazil (DPPH);
- c) quantificar a concentração de bebida láctea fermentada responsável pela metade da resposta antioxidante máxima (EC_{50}) expressa em g de bebida láctea/g de DPPH.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 *Syzygium cumini* (jambolão)

O *Syzygium cumini* (jambolão), pertencente à família Myrtaceae, é oriundo da Indonésia, da China e das Antilhas, porém é encontrado em diversos países, inclusive em grande parte do Brasil nas planícies litorâneas, nas serras e nos planaltos (VIZZOTO; PEREIRA, 2008). O fruto também pode ser chamado cientificamente como *Eugenia jambolana* ou *Eugenia cumini* (ARAÚJO, 2014; VEIGAS et al., 2007). É conhecido popularmente por jamelão, jamun, jambu, amora indiana, ameixa roxa, azeitona preta, cereja, jalão, kambol, azeitona-do-nordeste, murta, guapê, jambuí, azeitona-da-terra e baga de freira (BEZERRA, 2015; VIZZOTO; FETTER, 2009).

A árvore do jambolão é de grande porte e se adequa às condições brasileiras, pois cresce bem em diversos tipos de solo (VIZZOTO; FETTER, 2009). O tamanho real das árvores dessa espécie geralmente é atingido em 40 anos. Possui, em média, altura de 10 metros e 3 a 4,5 metros de diâmetro de projeção da copa, com numerosa folhagem, ramos de cor cinza-clara, com ranhuras escuras e cicatrizes foliares evidentes. As folhas são simples, ligadas por pecíolos, lanceoladas e com margem ondulada. As flores são similares à forma vista em outros gêneros que pertencem à família Myrtaceae, sendo estas de coloração branca a creme, dispostas em inflorescências axilares e plurifloras compostas (ALBERTON et al., 2001; PEREIRA, 2011; SÁ, 2008).

A fruta do jambolão geralmente é consumida juntamente com casca, sendo considerada de alto rendimento, pois cerca de 80% desta é comestível (ARAÚJO, 2014; SHAJIB et al., 2013). Trata-se de uma fruta pequena e de forma ovoide, com casca fina e lustrosa, que se torna roxa escura quando se encontra totalmente madura e de polpa carnosa, pouco caldosa, cercado um caroço único. A coloração roxa ocorre devido à presença de antocianinas, pigmentos, que apresentam como vantagem a alta solubilidade em misturas aquosas (DIAS, 2017; LI et al., 2009). O jambolão sobressai-se por ser rico em diversos constituintes (BARCIA, 2009; MIGLIATO et al., 2007). A polpa do jambolão é uma fonte de compostos fenólicos, tais como flavonoides e ácidos fenólicos, como também taninos hidrolisáveis, que podem ser os principais responsáveis pelo sabor adstringente (DIAS, 2017; FARIA; MARQUES; MERCADANTE, 2011). Também é uma importante fonte de minerais como cálcio e potássio (BENHERLAL; ARUMUGHAM, 2007). O jambolão apresenta potencial como corante natural em decorrência das antocianinas presentes no fruto

(AMÉRICO, 2014; VEIGAS et al., 2007). Por outro lado, as sementes de jambolão possuem teores de compostos fenólicos totais, carotenoides totais e atividade antioxidante superiores aos encontrados nos frutos; portanto, pode ser explorado para o alcance de extratos de alto poder antioxidante e aplicações diversas, como formulações de alimentos funcionais, cosméticos e fármacos (VIZZOTO; PEREIRA, 2008). Este fruto, pelo fato de ser rico em antocianinas e antioxidantes fitoquímicos, possui um elevado potencial para obtenção de produtos de valor terapêutico ou nutracêutico, pois pode apresentar efeitos biológicos parecidos com os comprovados para outros frutos como o mirtilo e a amora (AMÉRICO, 2014; BANERJEE; DASGUPTA; DE, 2005; BENHERLAL; ARUMUGHAN, 2007). Como exemplo de ações terapêuticas do jambolão descritas na literatura, podem ser citadas as atividades hipoglicemiante, antimicrobiana, hipotensiva, diurética, cardiotônica, adstringente, anti-inflamatória, antiemética, estimulante do sistema nervoso central, antipirética, anticonvulsivante, anti-hemorragica, carminativa e antiescorbútica (BARCIA, 2009; MIGLIATO et al., 2007).

2.2 Compostos bioativos

Os compostos bioativos, algumas vezes também chamados de fitoquímicos, são compostos químicos presentes, em sua maioria, em frutas e hortaliças. Estes compostos variam amplamente em estrutura química e função biológica, e podem executar diversos papéis em benefício da saúde humana, quando consumidos em níveis significativos (AMÉRICO, 2014; CARRATÙ; SANZINI, 2005). Os compostos bioativos são componentes extranutricionais e ocorrem habitualmente em pequenas quantidades nos alimentos. A maioria deles são metabólitos secundários e estão associados com os sistemas de defesas das plantas contra a radiação ultravioleta ou as agressões de insetos ou patógenos (HORST; LAJOLO, 2009; MANACH et al., 2004).

As indústrias alimentícias e pesquisadores estão se dedicando cada vez mais no desenvolvimento de alimentos funcionais, que contém um ou mais compostos bioativos. Isto porque há evidências de que várias destas substâncias são responsáveis pelos efeitos benéficos de uma dieta rica em frutas e hortaliças, exercendo várias ações do ponto de vista biológico, como atividade antioxidante, modulação de enzimas de detoxificação, estimulação do sistema imune, redução da agregação plaquetária, modulação do metabolismo hormonal, redução da pressão sanguínea e atividade antibacteriana e antiviral (CARRATÙ; SANZINI, 2005; HORST; LAJOLO, 2009; SAMPAIO, 2015).

2.2.1 Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos são produzidos a partir do metabolismo secundário das plantas e são cruciais para aspectos funcionais destas, como seu crescimento e reprodução, atuando nas funções estruturais em diferentes tecidos de suporte ou de proteção, envolvimento em estratégias de defesa e propriedades de sinalização, em particular nas interações entre plantas e seu ambiente, além de contribuir para características sensoriais. Estes compostos apresentam como estrutura básica um grupo fenol constituído por um anel aromático hidroxilado (ANGELO; JORGE, 2007; ARAÚJO, 2014), sendo classificados em dois grupos: flavonoides e não flavonoides. Os flavonoides são compostos de baixo peso molecular, consistindo em quinze átomos de carbono, que apresentam a estrutura química descrita como C₆-C₃-C₆ (ANGELO; JORGE, 2007; JACQUES, 2009). Enquanto que os não flavonoides são compostos benzoicos e cinâmicos, normalmente chamados de ácidos fenólicos, possuindo um anel aromático com pelo menos um grupo hidroxila e com grupos funcionais distintos: aldeídos, álcoois ou ácidos; que podem formar ésteres com os ácidos orgânicos ou unir-se a açúcares (LIMA, 2008).

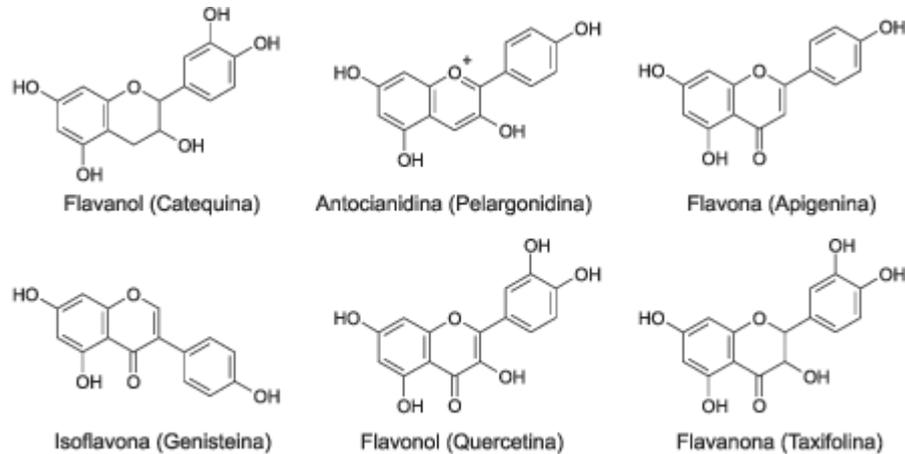
Estes compostos bioativos atuam de várias formas como antioxidantes: combatendo os radicais livres; interrompendo a reação de propagação dos radicais livres na oxidação lipídica; modificando o potencial redox do meio; reparando a lesão a moléculas atacadas por radicais livres; bloqueando a ação de enzimas específicas que causam inflamação; modificando as rotas metabólicas das prostaglandinas (KYUNGMI; EBELER, 2008; LIMA, 2008; PODSEDEK, 2007; VALKO et al., 2006).

2.2.1.1 Flavonoides

Os flavonoides são pigmentos naturais amplamente distribuídos em plantas, frutas e vegetais, que protegem o organismo contra danos produzido por agentes oxidantes, como os raios ultravioletas, poluição ambiental, substâncias químicas presentes na alimentação, entre outros (MARTÍNEZ-FLÓREZ et al., 2002). Quanto às tonalidades de cores, os flavonoides são classificados em dois grandes grupos: antocianinas, cujas cores variam desde rosa, passando por vermelho, roxo, azul até preto; antoxantinas, variando do incolor ao amarelo (CHITARRA; CHITARRA, 2005; GAMARRA et al., 2009; SAMPAIO, 2015).

Na Figura 1, são apresentadas as estruturas químicas das principais classes de flavonoides.

Figura 1 – Estrutura das principais classes de flavonoides.



Fonte: Cerqueira, Medeiros e Augusto (2007).

Os flavonoides têm despertado interesse por ser um dos principais ingredientes nutracêuticos ativos em plantas. Estudos indicam que eles podem atuar como potentes antioxidantes e quelantes de metais. Também são reconhecidos por possuir ação anti-inflamatória, antialérgica, hepatoprotetora, antitrombóticos, antivirais e anticancerígenas (TAPAS; SAKARKAR; KAKDE, 2008). O organismo humano não pode produzir essas substâncias químicas, então elas devem ser obtidas através da alimentação ou sob a forma de suplementos (MARTÍNEZ-FLÓREZ et al., 2002).

2.2.1.2 Antocianinas

As antocianinas são pigmentos que se encontram dispersos nos vacúolos celulares dos vegetais, bem como o grupo mais importante de compostos hidrossolúveis (GAMARRA et al., 2009; SAMPAIO, 2015). Uma ou mais das hidroxilas presentes nas antocianinas estão ligadas a açúcares, sendo os mais comuns: glicose, xilose, arabinose, ramnose, galactose ou dissacarídeos constituídos por esses açúcares, aos quais podem estar ligados a ácidos fenólicos, como *p*-coumárico, cafeico, fenílico e vanílico (MARÇO; POPPI, 2008).

Falcão et al. (2003) e Malacrida e Motta (2006) ressaltaram que, além de contribuir para a cor de flores e frutos e atuarem como filtro das radiações ultravioleta das folhas, as antocianinas apresentam propriedades farmacológicas como atividades anticarcinogênicas,

antioxidantes e antivirais. Também têm apresentado participação na inibição da peroxidação de lipídeos, na desagregação de plaquetas e ação antitumoral e antimutagênico (AMÉRICO, 2014; SÁ, 2008). As antocianinas dispõem da vantagem da eminente solubilidade em misturas aquosas, facilitando sua integração em produtos alimentícios e de outros tipos (AMÉRICO, 2014; VEIGAS et al., 2007).

2.2.1.3 Taninos

Os taninos são compostos fenólicos de alto peso molecular que precipitam proteínas presentes em muitas frutas. Possuem solubilidade em água e peso molecular entre 500 e 3000Da, apresentando a capacidade de formar complexos insolúveis em água com proteínas, gelatinas e alcaloides. Quanto à estrutura química, são classificados em dois grupos: hidrolisáveis e condensados (MONTEIRO; ALBUQUERQUE; ARAÚJO, 2005; ROCHA et al., 2011). Os taninos condensados são polímeros de flavonoides, nos quais os monômeros são mantidos juntos por uma ligação carbono-carbono. Enquanto que os taninos hidrolisáveis são ésteres de ácido gálico e de ácido hexahidroxi-difênico e glicose, além de outros polióis (AGOSTINI-COSTA; LIMA; LIMA, 2003).

Estes compostos contribuem para o sabor adstringente em alimentos e bebidas (BARCIA, 2009). Também operam como captadores de radicais livres, possuindo atividade antimicrobiana, antiviral, antifúngica, antidiarreica e antisséptica (ARAÚJO, 2008; MONTEIRO; ALBUQUERQUE; ARAÚJO, 2005).

2.2.1.4 Ácidos fenólicos

Os ácidos fenólicos destacam-se entre os compostos antioxidantes presentes na forma livre ou complexada. As frutas são fontes significativas desses compostos (ROCKENBACH et al., 2008). Eles são caracterizados pelo aparecimento de um anel benzênico, um grupamento carboxílico e um ou mais grupamentos de hidroxila e/ou metoxila na molécula, que proporcionam propriedades antioxidantes. São separados em três grupos: o primeiro é composto pelos ácidos benzóicos, que apresentam sete átomos de carbono (C_6-C_1); o segundo grupo é formado pelos ácidos cinâmicos, que dispõem nove átomos de carbono (C_6-C_3), sendo sete os mais comumente encontrados no reino vegetal; as cumarinas, que constituem o terceiro grupo, são derivadas do ácido cinâmico por ciclização da cadeia lateral do ácido *o*-cumárico (RAMALHO; JORGE 2006; SOARES, 2002).

Além de se apresentarem perante sua forma natural, os ácidos fenólicos também podem se ligar entre si ou com outros compostos. A associação mais importante destes ácidos acontece com o ácido cafeico, o qual, combinado a um álcool-ácido cíclico, chamado ácido quínico, forma o ácido clorogênico (SOARES, 2002). Estes compostos além de impossibilitarem a formação de radicais livres e desativarem espécies radicalares, algumas vezes atuam como quelantes de metais, operando tanto na etapa de iniciação como na propagação do processo oxidativo, prevenindo danos ao DNA (GRUZ et al., 2011; RAMALHO; JORGE, 2006; SAMPAIO, 2015).

2.3 Radicais livres

Os radicais livres de oxigênio, conhecidos simplesmente por radicais livres (RL), são moléculas que possuem elétrons desemparelhados em sua órbita externa, capazes de transformar outras moléculas com as quais se encontram, como proteínas, carboidratos, lipídeos e o ácido desoxirribonucleico (JÚNIOR et al., 2005). Essa situação resulta em alta instabilidade energética e cinética, para se manterem estáveis precisam doar ou retirar um elétron de outra molécula. A formação de RL leva ao estresse oxidativo, processo em que estes iniciarão uma cadeia de reações, causando alterações em proteínas extracelulares e a modificações celulares. O maior dano ocasionado pelo estresse oxidativo é a peroxidação dos ácidos graxos integrantes da dupla camada lipídica que, em última instância, leva à morte celular (HIRATA; SATO; SANTOS, 2004).

Os radicais livres de oxigênio são produzidos espontaneamente no organismo por meio de processos metabólicos oxidativos (SCHNEIDER; OLIVEIRA, 2004). A principal fonte de RL em sistemas biológicos é a molécula de oxigênio. Desta forma, a mais abundante fonte endógena geradora são as mitocôndrias, que usam cerca de 90% do oxigênio usado pelo corpo humano. Outra fonte endógena de RL incluem enzimas que podem indiretamente produzir espécies reativas (HIRATA; SATO; SANTOS, 2004).

Os radicais livres e outros oxidantes são grandes causadores do envelhecimento, de doenças autoimunes e doenças infecciosas e/ou inflamatórias e de doenças degenerativas, como câncer, doenças cardiovasculares, hepatopatias, catarata, declínio do sistema imune e disfunções cerebrais. Também ocasionam danos no DNA e exercem um papel importante nos processos de mutagêneses e carcinogênese (ABRAHÃO, 2007; ATOUI et al., 2005; PEREIRA, 2011).

2.3.1 DPPH

O 1,1-difenil-2-picril-hidrazil (DPPH) é um radical livre estável que tem um elétron de valência em um átomo de nitrogênio (SHARMA; BHAT, 2009; EKLUND et al., 2005). A determinação da atividade antioxidante utilizando DPPH• é um método muito utilizado, sendo fundamentada na capacidade do 1,1-difenil-2-picril-hidrazil em reagir com substâncias doadoras de H ($\text{DPPH}\cdot + [\text{AH}]_n \rightarrow \text{DPPH-H} + [\text{A}\cdot]_n$), envolvendo compostos fenólicos (FERREIRA, 2009; MENSOR et al., 2001; SÁNCHEZ-MORENO et al., 1998).

A solução de DPPH apresenta uma coloração roxa intensa e a ação antioxidante das amostras testadas pode ser vista pela progressiva perda de cor da solução, ao final do qual a mesma torna-se amarelada, devido à formação de difenil-picril-hidrazina, com conseqüente desaparecimento da absorção, podendo a mesma ser verificada pelo decréscimo da absorvância (NASCIMENTO et al., 2011; VICENTINO; MENEZES, 2007).

O EC₅₀ (concentração efetiva) ou IC₅₀ (concentração inibitória) é uma técnica utilizada para determinar se as estruturas moleculares do composto testado têm propriedades específicas e desejadas (SEBAUGH, 2010). O valor de EC₅₀ trata-se de um parâmetro indicativo da concentração inibitória necessária para diminuir em 50% o radical livre DPPH (PINHEIRO et al., 2013).

2.4 Alimentos funcionais

As evidências científicas destacam a relação entre dieta e saúde, o que têm permitido o surgimento de um mercado de alimentos diferenciados, de rápido crescimento na década passada, com foco no extraordinário potencial dos alimentos em melhorar o estado de saúde dos consumidores, em especial na redução da incidência de doenças crônicas (BALDISSERA et al., 2011). Alimentos funcionais são quaisquer substâncias ou componentes de um alimento que conferem benefícios para a saúde, incluindo a prevenção e o tratamento de doenças. Estes devem fazer parte da alimentação usual e proporcionar efeitos positivos, alcançados com quantidades não tóxicas e que exerçam esses efeitos mesmo após a suspensão da ingestão e que não se destinem a tratar ou curar doenças, estando seu papel ligado à redução do risco de contrair doenças (ANJO, 2004).

Segundo Moraes e Colla (2006), os alimentos funcionais apresentam as seguintes características: são consumidos na dieta normal/usual; são compostos por substâncias naturais, algumas vezes, em elevada concentração ou presentes em alimentos que

normalmente não os supririam; possuem efeitos positivos além do valor básico nutritivo, que pode aumentar o bem-estar e a saúde e/ou reduzir o risco de ocorrência de doenças, promovendo benefícios à saúde além de aumentar a qualidade de vida, incluindo os desempenhos físico, psicológico e comportamental; possuem propriedade funcional com embasamento científico e referem-se ao alimento no qual a bioatividade de uma ou mais substâncias tenham sido modificadas.

2.4.1 Probióticos

Inicialmente, os probióticos estavam mais relacionados somente ao equilíbrio da microbiota intestinal; entretanto, com o progresso dos estudos, descobriram-se novas espécies e o conceito foi aprimorado. De acordo com a definição mais aceita, probióticos são descritos como “microrganismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde do hospedeiro” (CASTRO, 2012; FOOD AND AGRICULTURAL ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS AND WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2001; HILL et al., 2014). O espectro de atividade dos probióticos pode ser dividido em efeitos nutricionais, fisiológicos e antimicrobianos (NAIDU; CLEMENS, 2000; OLIVEIRA et al., 2002). Têm como mecanismo de ação três efeitos principais: articular o recebimento de respostas inflamatórias; efetuar efeitos diretos contra bactérias patogênicas e gerar efeitos indiretos contra estas bactérias. A maioria dos probióticos são dos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*, podendo ser encontrados em vários veículos como pastilhas, goma, leite, queijo, iogurte, sorvete, entre outros (LALEMAN; TEUGHEL, 2015).

Para um microrganismo ser considerado probiótico, deve atender alguns requisitos. São eles: fazer parte normal da microbiota intestinal do hospedeiro; não ser tóxico e/ou patogênico; ser capaz de aderir ao epitélio intestinal do hospedeiro; ser cultivável em escala industrial; ser estável na preparação comercial; sobreviver à ação das enzimas digestivas; sobreviver e colonizar rapidamente o intestino do hospedeiro; ter ação antagonista aos microrganismos patogênicos (ALMEIDA, 2012). De acordo com a literatura, para serem alcançados os benefícios funcionais atribuídos pelos probióticos é necessária uma ingestão semanal mínima de 300 a 500 g de produtos lácteos fermentados contendo entre 10^6 a 10^7 UFC/mL, ou seja, entre 1 milhão e 10 milhões das células probióticas por mililitro de produto (ANTUNES et al., 2007). Porém números menores podem ser aceitos, desde que sua eficácia

seja comprovada, uma vez que é preciso que um mínimo de probióticos sobreviva à travessia do trato gastrointestinal e colonize o organismo (CASTRO, 2012).

Apesar de existir um número razoável de cepas probióticas bem caracterizadas acessíveis para uso comercial em todo o mundo, o isolamento e determinação de novas cepas para a formulação de alimentos probióticos ainda é fundamental, principalmente em países em desenvolvimento, em razão de que as pequenas indústrias têm um acesso limitado a microrganismos probióticos. Desta forma, a pesquisa, o desenvolvimento e a incorporação de cepas nativas com potencial probiótico em alimentos funcionais, além de proporcionar benefícios à saúde, possibilitam produtos com menor custo e com maior acesso da população (SOUSA, 2016; VINDEROLA et al., 2008).

2.4.2 Soro de queijo

O soro é um subproduto decorrente da fabricação de queijos, por coagulação da caseína, obtido por adição de ácido ou de enzima (soro doce). Possui alto valor nutricional, devido a presença de proteínas com alto teor de aminoácidos essenciais, sobressaindo-se no conteúdo em sulfurados (CAPITANI et al., 2005). Representa, em média, 85% a 90% do volume de leite empregado na elaboração de queijos, retém cerca de 55% dos nutrientes do leite, sendo apontado como fundamental, levando em conta o volume produzido e sua composição nutricional (LEITE; BARROZO; RIBEIRO, 2011). O soro líquido é composto essencialmente de água (93%), lactose (5%), proteínas (0,85%), minerais (0,53%) e gorduras (0,36%). As proteínas do soro são consideradas seguras, GRAS (*Generally Recognised As Safe*), para serem incorporadas em produtos alimentícios, possuem valor biológico elevado e superior ao de outras proteínas (ovo, soja e caseínas do leite), além de apresentarem grande quantidade de aminoácidos sulfurados com função antioxidante (CASTRO, 2012; SINHA et al., 2007; SMITHERS, 2008).

O soro também contém alto teor de cálcio e de peptídeos bioativos, os quais apresentam possíveis efeitos sobre a síntese proteica muscular esquelética, redução da gordura corporal, modulação da adiposidade e melhora do desempenho físico. São evidenciados benefícios para a saúde humana em estudos envolvendo a análise de seus compostos bioativos. Entre esses possíveis benefícios destacam-se seus efeitos hipotensivo, antioxidante e hipocolesterolêmico (HARAGUCHI; ABREU; DE PAULA, 2006). No Brasil, a quantidade de soro resultante dos queijos produzidos é considerável, havendo uma preocupação recorrente em produzir aplicabilidade ao soro de queijo em novos alimentos, uma vez que, no

território brasileiro, cerca de 50% do soro não é aproveitado, gerando desperdícios nutricional, financeiro e impacto ambientais relevante, já que é um resíduo com alto teor orgânico (SIQUEIRA; MACHADO; STAMFORD, 2013).

A produção de bebidas lácteas é uma das principais opções de aproveitamento do soro do queijo no Brasil, sendo as mais comercializadas as bebidas fermentadas, com características sensoriais semelhantes ao iogurte, e bebidas lácteas não-fermentadas (CAPITANI et al., 2005). Houve um aumento considerável do consumo de bebidas lácteas no país, o que promove uma utilização racional de soro de queijo na elaboração desses produtos, aproveitando, assim, este subproduto que possui excelente valor nutritivo (SANTOS et al., 2008).

2.4.3 Bebida láctea fermentada

De acordo com a definição da legislação brasileira, a bebida láctea fermentada é:

[...] o produto lácteo [decorrente] da mistura do leite (*in natura*, pasteurizado, esterilizado, UHT, reconstituído, concentrado, em pó, integral, semidesnatado ou parcialmente desnatado e desnatado) e soro de queijo (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).

As bebidas lácteas contêm proteínas, gorduras, lactose, minerais e vitaminas, sendo consideradas nutritivas (THAMER; PENNA, 2006). Estas proporcionam energia e água para a digestão, regulam a temperatura corporal, previnem a desidratação, amenizam a sede e reduzem tensões psicológicas (MARQUES, 2012; MEENA et al., 2012). A indústria de laticínios tem interesse na produção de bebidas lácteas pelo fato do seu processo simples de fabricação, da possibilidade de utilização dos mesmos maquinários para tratamento do leite, das ótimas propriedades funcionais das proteínas do soro, além da redução dos gastos com tratamento de efluentes (CASTRO, 2012).

2.5 Produtos lácteos para intolerantes à lactose

Encontram-se no mercado produtos lácteos com baixo teor de lactose que são opções para o público que apresenta má digestão da mesma, oportunizando ao consumidor a ingestão

apropriada de nutrientes (PEREIRA et al., 2012). Deve-se salientar que as bactérias lácticas contribuem para a quebra da lactose no intestino, desempenhando uma de suas funções vitais na microbiota intestinal que é a produção da enzima β -galactosidase (lactase), sendo fundamental para indivíduos com intolerância à lactose (LOURENS-HATTINGH; VILJOEN, 2001; SAAD, 2006).

3 METODOLOGIA

3.1 Local da pesquisa

As análises foram realizadas no Núcleo de Pesquisa e Extensão e Alimentos (NUPEA) e no Laboratório de Química Analítica Aplicada, ambos do Departamento de Química – Centro de Ciências e Tecnologia, bem como no Laboratório de Genética do Departamento de Biologia – Centro de Ciências Biológicas e Saúde, todos localizados no Campus I da Universidade Estadual da Paraíba (UEPB), no município de Campina Grande – PB.

3.2 Matéria-prima

As matérias-primas utilizadas no presente trabalho foram: 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 cultura nativa potencialmente probiótica de *Lactobacillus mucosae* (CNPC 007, fornecida pela Embrapa Caprinos e Ovinos, Sobral, Ceará). Para uso neste estudo, a cultura nativa de *L. mucosae* CNPC007, previamente isolada de leite de cabra, foi avaliada por De Moraes et al. (2017) quanto às suas propriedades funcionais, exibindo características compatíveis com as de bactérias lácticas candidatas a probióticos, portanto apta a ser incorporada como potencialmente probiótica em uma das formulações de bebida láctea avaliada.

3.3 Obtenção dos frutos e polpa de jambolão

Os frutos foram coletados no período da safra de 2017, no estádio de maturação maduro no município de Lagoa Seca-PB, a partir de plantas adultas selecionadas. Após seleção e pesagem, os frutos foram lavados em água corrente, posteriormente, higienizados em água clorada a 200ppm por 30 minutos e escorridos. A obtenção da polpa foi realizada manualmente, separando a polpa e semente. Em seguida, a polpa do jambolão foi triturada em liquidificador doméstico, tratada termicamente a 85°C durante 5 minutos, embalada em sacos de policloreto de polivinila (PVC), selados e congelados em freezer horizontal doméstico (-18°C).

3.4 Obtenção do soro de queijo

O soro foi adquirido após a coagulação de queijo Minas frescal, de acordo com a metodologia relatada por Florentino (1997) para queijo coalho, com adaptações de Almeida (2016). Em seguida, o soro coletado foi acondicionado a $-18\pm 3^{\circ}\text{C}$ até sua posterior utilização.

3.5 Preparo da base láctea

O soro de queijo, após seu descongelamento, passou por tratamento térmico a 85°C durante 5 minutos para inativação das enzimas coagulantes, evitando assim a coagulação da base láctea. Posteriormente, acrescentou-se açúcar e leite em pó desnatado, na proporção de 8g/100g cada. A mistura foi agitada até completa dissolução e passou por um tratamento térmico a 85°C por 30 minutos.

3.6 Hidrólise da lactose da base láctea

A base láctea após seu tratamento térmico e resfriamento foi adicionada da enzima β -galactosidase, de acordo com as recomendações do fabricante e acondicionada durante 24 horas sob refrigeração, a $4\pm 1^{\circ}\text{C}$, para a hidrólise da lactose.

Na Embrapa Agroindústria de Alimentos (Rio de Janeiro, RJ), por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), determinou-se o teor de lactose na base láctea adicionada da enzima β -galactosidase. Obteve-se valores abaixo do limite de detecção do método (menor que 100mg/100g), podendo assim ser considerada livre de lactose segundo a legislação vigente (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2016).

3.7 Fabricação de bebidas lácteas probióticas fermentadas sem lactose

As bebidas lácteas probióticas foram produzidas a partir de adaptações das metodologias utilizadas por Ferreira, Soares e Santos (2011), Buriti et al. (2014) e Almeida (2016), de maneira que o soro com baixo teor de lactose pudesse ser empregado na formulação.

Para a fermentação, empregou-se a cultura *starter* de *Streptococcus thermophilus* (TA 40) na proporção de 0,003g/100g no tratamento controle e no tratamento probiótico. A cultura

nativa de *Lactobacillus mucosae* (CNPc 007) foi adicionada apenas no tratamento probiótico. Estas culturas de acordo com cada tratamento produzido foram acrescidas à base láctea adicionada da enzima β -galactosidase previamente aquecida a $43\pm 2^\circ\text{C}$, como apresentado na Tabela 1.

Especificamente para o tratamento probiótico, antes da adição à base, a cultura nativa foi multiplicada em quatro tubos de ensaio estéreis, contendo 5mL de caldo de Man Rogosa Sharpe (MRS) cada, a 36°C por 24 horas. Após este período, a cultura foi agitada em vortex, distribuída em criotubos de 2mL e levada à centrifugação, a fim de que se separasse a cultura sedimentada dos demais componentes. O sobrenadante foi descartado e, para a recuperação da cultura, o precipitado foi lavado com solução salina (0,85% m/v) por três vezes para completa retirada do material usado para a liofilização e do caldo MRS. A cultura contida nos criotubos foi armazenada sob refrigeração até o momento do seu uso para a fermentação, na proporção do conteúdo de quatro criotubos para 1L de base láctea.

As bases lácteas dos tratamentos controle e probiótico foram fermentadas a $43\pm 2^\circ\text{C}$ até atingir acidez superior a 0,7g de ácido láctico/100g, sendo logo em seguida adicionadas da polpa da fruta jambolão, na proporção de 15g/100g de produto final. As bebidas lácteas foram acondicionadas em garrafas plásticas higienizadas de 150mL e armazenadas a $4\pm 1^\circ\text{C}$ durante 21 dias. Os dois tratamentos foram produzidos em três lotes (triplicatas independentes).

Tabela 1 – Variáveis utilizadas na elaboração nos tratamentos deste estudo.

Cultura	Tratamentos	
	Controle	Probiótico
CNPc 007	-	+
TA 40	+	+

+ = presente; - = ausente; CNPc007 = *Lactobacillus mucosae* (Embrapa); TA 40 = *S. thermophilus* TA 40 (DuPont).

Fonte: dados da pesquisa.

3.8 Preparação das amostras

Foram examinadas as amostras congeladas a -18°C de três lotes 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). Estas foram preparadas de acordo com a metodologia descrita por Santos et al. (2017) com as adaptações descritas a

seguir. Para cada amostra foram recolhidas 5 alíquotas em criotubos de 2mL, contendo aproximadamente 0,2500g pesados em balança analítica, totalizando $\pm 1,2500$ g por amostra. Em seguida, em cada alíquota adicionou-se 1mL de metanol acidificado, na proporção de 100 μ L de ácido clorídrico P.A. para cada 100mL de metanol, homogeneizou-as em agitador de tubos vortex e estas foram acondicionadas sob refrigeração a 4°C por no mínimo 12 horas, evitando a incidência de luz.

Depois do tempo de armazenamento, as amostras foram agitadas no vortex e centrifugadas em centrífuga refrigerada Eppendorf (5810R, Eppendorf), na rotação de 13500 \times g, por 5 minutos na temperatura de 4°C. Posteriormente, transferiu-se os sobrenadantes para balões volumétricos de 10mL e os precipitados foram submetidos a duas lavagens seguidas. Na primeira lavagem, adicionou-se em cada criotubo 250 μ L da solução de metanol acidificado, agitou-se no vortex e centrifugou-se na mesma rotação, duração e temperatura inicial. Novamente o sobrenadante foi transferido para o balão volumétrico. A segunda lavagem prosseguiu da mesma maneira; entretanto, o volume adicionado por criotubo foi de 170 μ L. Logo depois, os balões foram aferidos com metanol acidificado.

De cada balão volumétrico, após aferição e homogeneização, foi retirado 1,5mL, transferido para um novo criotubo e sujeito a uma nova centrifugação diferindo das demais apenas no tempo, sendo este de 1 minuto.

3.9 Determinação de compostos fenólicos totais

O procedimento para a análise de compostos fenólicos totais foi realizado no escuro e em temperatura ambiente, utilizando o extrato obtido nas centrifugações, seguindo a metodologia de Santos et al. (2017) com adaptações. Em tubos cônicos de centrífuga de 15mL foram adicionados em sequência 60 μ L da amostra, 2.340 μ L de água destilada e 150 μ L do reagente Folin – Ciocalteu (Sigma-Aldrich). Agitou-se até a completa homogeneização e estes ficaram em repouso durante 8 minutos. Após este tempo, adicionou-se 450 μ L de uma solução aquosa de carbonato de sódio (Na_2CO_3) a 30%. Os tubos foram novamente agitados e aguardou-se 30 minutos. Passado o último tempo de repouso, a absorbância foi medida em espectrofotômetro (Spectrum Meter SP-2000UV) no comprimento de onda de 750nm, sendo este anteriormente zerado com metanol acidificado. A prova controle utilizada nesta análise foi preparada da mesma maneira acima descrita, porém, utilizando 60 μ L de metanol acidificado (na proporção de 100mL de metanol para 94 μ L de ácido clorídrico apenas para o controle) no lugar da amostra.

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

A atividade antioxidante total pela captura do radical livre DPPH foi efetuada a partir de adaptações dos procedimentos de Rufino et al. (2007). A princípio, preparou-se 25mL da solução mãe de DPPH pesando-se em balança analítica 0,0020g deste e diluindo-o em álcool etílico P.A. Para cada amostra foram utilizados 3 tubos cônicos de centrífuga, realizando-se 3 diluições diferentes. Foram pipetados 2,95mL, 2,90mL e 2,80mL da solução de DPPH nos tubos e em seguida adicionados 0,05mL, 0,10mL e 0,20mL da amostra, respectivamente. A prova controle foi preparada da mesma forma, sendo que ao invés da amostra foi adicionado etanol P.A. na mesma quantidade.

Imediatamente, depois das amostras serem adicionadas aos tubos, em um espectrofotômetro (Spectrum Meter SP-2000UV) zerado com etanol P.A., em comprimento de onda em 517nm, leu-se os valores da absorbância de cada solução. A leitura foi realizada após 0, 30 e 60 minutos da adição da amostra. Com base nos resultados, calculou-se a porcentagem de sequestro de radicais DPPH e o EC₅₀ para cada amostra. A porcentagem de sequestro de radicais DPPH foi calculada de acordo com a equação (1):

$$\% \text{ de sequestro de DPPH} = \frac{(ABSC_{60\text{min}} - ABSA_{60\text{min}})}{ABSC_{60\text{min}}} \times 100 \quad (1)$$

onde:

ABSC_{60 min}: absorbância do controle no tempo de 60 min;

ABSA_{60 min}: absorbância da amostra no tempo de 60 min.

3.11 Obtenção do EC₅₀

O EC₅₀ foi obtido a partir de cálculos de retorno do ensaio de calibração com diferentes concentrações de DPPH e das equações obtidas a partir da massa de DPPH análogo à metade da absorbância do controle, dos gráficos de dispersão das absorbâncias das diferentes amostras nas diferentes concentrações de extrato, segundo relatado no protocolo de Rufino et al. (2007), apresentando o resultado final em g de amostra/g de DPPH captado.

3.12 Análises estatísticas

Os resultados foram apresentados como média \pm desvio padrão. Para a análise estatística, os dados foram inicialmente analisados quanto à normalidade usando o teste de Shapiro-Wilk e homogeneidade de variâncias usando o teste de Bartlett. Em casos onde a normalidade e/ou homogeneidade de variâncias foram confirmadas, os dados foram analisados por análise de variância de medidas repetidas (RM-ANOVA), seguidos pelo teste de Tukey para a identificação dos contrastes, considerando nível de significância de $p < 0,05$. Nos demais, os dados foram analisados através de testes não paramétricos equivalentes também considerando $p < 0,05$.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

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

Tabela 2 – Teor de fenólicos totais obtidos para as amostras de base láctea antes e após a fermentação e nas bebidas lácteas durante o armazenamento.

Períodos de amostragem	Tratamento	
	Controle (TA40)	Probiótico (TA40 + CNPC007)
	Teor de fenólicos totais (mg Eq de ácido gálico/100 g de amostra)	
T0	15,81 ± 4,67 Aa	18,19 ± 3,12 Aa
Tf	16,44 ± 2,79 Aa	15,96 ± 2,28 Aa
D1	41,93 ± 10,01 Ab	33,78 ± 2,51 Ab
D7	40,22 ± 7,71 Ab	39,47 ± 7,17 Abc
D14	36,77 ± 3,48 Ab	37,67 ± 4,06 Abc
D21	38,61 ± 12,14 Ab	41,74 ± 2,90 Ac

T0 = início da fermentação; Tf = término da fermentação; D1, D7, D14, D21 = 1, 7, 14, 21 dias de armazenamento, respectivamente.

A, letra maiúscula igual na mesma linha não difere significativamente ($p > 0,05$) para um mesmo período de amostragem, comparando os dois tratamentos.

a, b, c letras minúsculas diferentes na mesma coluna 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, de acordo com a Tabela 2, verifica-se que não houve diferenças significativas entre as bebidas lácteas com e sem adição do microrganismo probiótico, durante o mesmo período de amostragem ($p > 0,05$).

Observa-se que os tempos T0 e Tf, que correspondem as bases lácteas (ausente de polpa) antes e após a fermentação, diferiram significativamente de todos os períodos de amostragem em ambos os tratamentos ($p < 0,05$), evidenciando um aumento da concentração de fenólicos totais a partir da adição da polpa do jambolão. Percebe-se também que no tratamento controle, não houve diferença significativa entre os dias de armazenamento ($p > 0,05$), provavelmente porque a bactéria desse tratamento não exerceu influência direta na

concentração de compostos fenólicos no intervalo de tempo analisado. Já na bebida contendo o probiótico, no tempo D1 e D21 houve diferença significativa ($p < 0,05$), apresentando uma tendência de aumento dos valores de fenólicos ao longo dos dias de armazenamento, o que pode estar associado à complexação dos compostos fenólicos com as proteínas da base láctea que, segundo Limbardi (2010), são favorecidas pelas alterações de pH e consequente alterações estruturais das proteínas do soro.

Ambos os tratamentos apresentaram teor de compostos fenólicos totais superior ao de Bezerra (2015) que obteve um valor de 7,95mg/100g para um *frozen yogurt* preparado a partir de *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* e *S. thermophilus* com adição de polpa de jambolão. Os resultados maiores do presente estudo podem ser atribuídos a diferente forma de extração destes compostos.

Na Tabela 3 são apresentados os resultados do sequestro de radicais DPPH para as bases lácteas e bebidas dos tratamentos controle e probiótico.

Tabela 3 – Sequestro de radicais DPPH obtido para as amostras de base láctea antes e após a fermentação e nas bebidas lácteas durante o armazenamento.

Períodos de amostragem	Tratamento	
	Controle (TA40)	Probiótico (TA40 + CNPC007)
	Sequestro de radicais DPPH (%)	
T0	13,84 ± 8,86 Bab	13,69 ± 2,18 Aab
Tf	5,97 ± 5,20 Aa	15,06 ± 4,03 Ba
D1	18,92 ± 4,11 Abc	34,48 ± 13,66 Bbc
D7	21,46 ± 5,84 Abc	34,80 ± 14,98 Bbc
D14	24,97 ± 3,36 Ac	42,78 ± 7,97 Bc
D21	22,96 ± 7,16 Ac	38,40 ± 14,93 Bc

T0 = início da fermentação; Tf = término da fermentação; D1, D7, D14, D21 = 1, 7, 14, 21 dias de armazenamento, respectivamente.

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

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

Fonte: dados da pesquisa.

Com base na Tabela 3, observou-se diferença significativa em todos os pontos de amostragem no sequestro de radicais DPPH entre as duas formulações ($p < 0,05$), sendo que o tratamento com probiótico apresentou uma capacidade antioxidante superior ao controle, havendo, dessa forma, a colaboração tanto do jambolão, como também da cultura para esta atividade.

No tratamento controle, observou-se uma redução de T0 para Tf, possivelmente devido ao efeito da fermentação e consequente redução do pH, prejudicando a interação dos grupos funcionais dos fenólicos sobre os radicais livres. Embora não significativa, houve uma tendência de aumento na captação dos radicais livres entre D1, D7 e D14 e de perda no D21, possivelmente, devido à complexação dos fenólicos (LIMBARDI, 2010), como mencionado anteriormente, com provável perda dos grupos hidroxilas, consequentemente, reduzindo a ação antioxidante. Já na bebida com probiótico, aparentemente houve um aumento da captação de radicais do primeiro dia ao décimo quarto dia de armazenamento e uma redução no vigésimo primeiro, que pode ser devido ao metabolismo dos microrganismos sobre os fenólicos (LI et al., 2016) ou à complexação destes compostos (LIMBARDI, 2010), conforme mencionado anteriormente. Em ambos os tratamentos, comparando Tf e D1, após a adição do jambolão houve um aumento significativo da captação de DPPH ($p < 0,05$).

Osuntoki e Korie (2010), ao comparar o desenvolvimento de atividade antioxidante no soro de queijo fermentado com cepas do gênero *Lactobacillus* (*L. casei*, *L. delbrueckii*, *L. brevis*, *L. plantarum*, *L. fermentum*) isolados de alimentos fermentados nigerianos, constataram efeitos consideravelmente positivos da fermentação sobre a atividade antioxidante do soro, pois esta aumentou ao longo do período de fermentação de 24 horas, sendo o maior nível no que utilizou-se *L. brevis* isolado, com uma captação de radicais DPPH de 33,7%, mostrando que microrganismos do gênero *Lactobacillus* podem contribuir para o aumento da capacidade antioxidante do soro lácteo.

Gjorgieyski et al. (2014) também observaram um aumento do potencial antioxidante em leites fermentados adicionados de culturas lácticas probióticas, partindo do valor inicial de 6,3% na bebida sem adição das culturas e atingindo, após quinze dias de armazenamento, valores de captação de radicais livres de DPPH de 47,42% a partir da adição das culturas de iogurte (*Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus bulgaricus*) em simbiose e de 54,55% , 52,64% e 45,31% a partir, respectivamente, da adição das monoculturas probióticas *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium*.

O efeito promotor de culturas de bactérias lácticas sobre a atividade antioxidante de alimentos também foi verificado para produtos não lácteos. Kwaw et al. (2018) avaliaram o

efeito das cepas de *Lactobacillus* no perfil fenólico, atributos de cor e atividade antioxidante em suco de amora fermentado com ácido láctico, em que foi observado uma variação da captação de radicais livres de DPPH de $59,17 \pm 1,12$ para a bebida controle (sem lactobacilos) e $73,64 \pm 1,20\%$ para a bebida fermentada com *Lactobacillus plantarum*, evidenciando efeitos bastante favoráveis da fermentação sobre a atividade antioxidante do suco.

A tendência observada para o presente estudo no sequestro de radicais livres foi inversamente proporcional aos valores de EC_{50} apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 – Valores de EC_{50} obtidos para as amostras de base láctea antes e após a fermentação e nas bebidas lácteas durante o armazenamento.

Períodos de amostragem	Tratamento	
	Controle (TA40)	Probiótico (TA40 + CNPC007)
	Valores de EC_{50} (g de bebida láctea/g de DPPH)	
T0	1068,60 ± 288,84 Abde	1079,12 ± 274,79 Ad
Tf	1420,72 ± 61,70 Be	1063,06 ± 335,77 Acd
D1	829,92 ± 120,98 Bcd	676,44 ± 85,94 Abc
D7	710,59 ± 136,03 Aab	747,99 ± 359,40 Aabc
D14	634,27 ± 66,98 Ba	525,91 ± 82,03 Aa
D21	758,49 ± 164,14 Aac	604,52 ± 93,07 Ab

T0 = início da fermentação; Tf = término da fermentação; D1, D7, D14, D21 = 1, 7, 14, 21 dias de armazenamento, respectivamente.

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

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

Fonte: dados da pesquisa.

Segundo os dados da Tabela 4, no controle, entre Tf e D1, houve diferença significativa ($p < 0,05$), em que o valor de EC_{50} diminuiu, ou seja, existiu uma maior captação dos radicais livres com a presença do jambolão, aumentando o poder antioxidante do produto. Aparentemente, este efeito do jambolão melhorou ao longo do armazenamento, possivelmente por influência da cultura *starter*. Ao longo da primeira semana (D7) verificou-se uma redução significativa do EC_{50} ($p < 0,05$) e, em seguida, permaneceu estável, sem diferenças

significativas até 21 dias ($p > 0,05$), o que provavelmente foi devido ao próprio metabolismo do microrganismo.

Por outro lado, nos pontos de amostragem Tf, D1 e D14, foi possível identificar uma melhor captação dos radicais livres da bebida com probiótico com relação ao tratamento controle, diferindo significativamente ($p < 0,05$). Possivelmente, os menores valores de EC_{50} na bebida probiótica ocorre pelo fato desta conter dois microrganismos para trabalhar na transformação estrutural das moléculas existentes na bebida, enquanto que o tratamento controle teria menor capacidade para modificar os compostos fenólicos.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A adição da polpa de jambolão na bebida láctea fermentada, sem lactose, proporcionou um acréscimo do teor de compostos fenólicos, como também um maior potencial antioxidante à bebida.

Pode-se afirmar, também, que a cultura probiótica *L. mucosae* CNPC007 foi fundamental para intensificar significativamente a captação dos radicais livres das bebidas lácteas.

Sendo assim, as bebidas lácteas produzidas com a polpa do jambolão em conjunto com a cultura probiótica poderão desempenhar diversos benefícios ao consumidor, inclusive os que apresentam intolerância à lactose.

REFERÊNCIAS

- 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.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Alimentos com alegações de propriedades funcionais e ou de saúde**. Brasília, 22 dez. 2016. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/alimentos/alegacoes>>. Acesso em: 23 maio 2018.
- AGOSTINI-COSTA, T. S.; LIMA, A.; LIMA, M. V. Determinação de tanino em pedúnculo de caju: método da vanilina versus método do butanol ácido. **Química Nova**, São Paulo, v. 26, n. 5, p. 763-765, 2003.
- ALBERTON, J. R.; RIBEIRO, A.; SACRAMENTO, L. V. S; FRANCO, S. L.; LIMA, M. A. P. Caracterização farmacognóstica do jambolão (*Syzygium cumini* (L.) Skeels). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, João Pessoa, v. 11, n. 1, p. 37-50, 2001.
- ALMEIDA, E. **Aditivos digestivos e equilibradores da microbiota intestinal para frangos de corte**. 2012. 48 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, 2012.
- ALMEIDA, K. E.; BONASSI, I. A.; ROÇA, R. O. Características físicas e químicas de bebidas lácteas fermentadas e preparadas com soro de queijo minas frescal. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 21, n. 2, p. 187-192, 2001.
- 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. 36 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Química Industrial) – Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2016.
- AMÉRICO, G. V. **Otimização da pasteurização da polpa de jambolão (*Syzygium cumini* Lamarck)**. 2014. 71 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Instituto de Tecnologia, Universidade Federal do Pará, Belém, 2014.
- ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos - uma breve revisão. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 66, n. 1, p. 34-56, 2007.
- ANJO, D. L. C. Alimentos funcionais em angiologia e cirurgia vascular. **Jornal Vascular Brasileiro**, São Paulo, v. 3, n. 2, p. 145-154, 2004.
- ANTUNES, A. E. C.; MARASCA, E. T. G.; MORENO, I.; DOURADO, F. M.; RODRIGUES L. G.; LERAYER, A. L. S. Desenvolvimento de *buttermilk* probiótico. **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**, Campinas, v. 27, n. 1, p. 83-90, 2007.
- ARAÚJO, A. L. M. **Polpa de jambolão (*Syzygium cumini*) desidratada por liofilização e secagem em leito de jorro: caracterização físico-química e funcional e impacto da secagem**. 2014. 92 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Centro de Tecnologia, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2014.

ARAÚJO, T. A. S. **Taninos e flavonoides em plantas medicinais da caatinga: um estudo de etnobotânica quantitativa.** 2008. 68 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Pernambuco, Recife, 2008.

ATOUI, A. K.; MANSOURI, A.; BOSKOU, G.; KEFALAS, P. Tea and herbal infusions: Their antioxidant activity and phenolic profile. **Food Chemistry**, London, v. 89, n. 1, p. 27-36, 2005.

BALDISSERA, A. C.; BETTA, F. D.; PENNA, A. L. B.; LINDNER, J. D. Alimentos funcionais: uma nova fronteira para o desenvolvimento de bebidas proteicas a base de soro de leite. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 32, n. 4, p. 1497-1512, 2011.

BANERJEE, A.; DASGUPTA, N.; DE, B. In vitro study of antioxidant activity of *Syzygium cumini* fruit. **Food Chemistry**, London, v. 90, n. 4, p. 727-733, 2005.

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.

BENHERLAL, P. S.; ARUMUGHAN, C. Chemical composition and in vitro antioxidant studies on *Syzygium cumini* fruit. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 87, n. 14, p. 2560-2569, 2007.

BEZERRA, M. F. **Polpa de jambolão (*Eugenia jambolana* Lam.) fresca e desidratada: características físico-químicas, bioativas e funcionais, efeitos biológicos em *Caenorhabditis elegans* e uso para produção de frozen yogurt caprino probiótico.** 2015. 195 f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Centro de Tecnologia, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2015.

BRANDÃO, S. C. C. Novas gerações de produtos lácteos funcionais. **Indústria de Laticínios**, São Paulo, v. 6, n. 37, p. 64-66, 2002.

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 ago. 2005. Seção 1, p. 7-10.

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**, Amsterdam, v. 59, n. 1, p. 196-203, 2014.

CAPITANI, C. D.; PACHECO, M. T. B.; GUMERATO, H. F.; VITALI, A.; SCHMIDT, F. L. Recuperação das proteínas do soro do leite por meio de coacervação com polissacarídeo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 40, n. 11, p. 1123-1128, 2005.

CASTRO, W. de F. **Efeito da concentração de soro de queijo na produção e qualidade sensorial de bebidas lácteas probióticas.** 2012. 143 f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2012.

CARRATÙ, E.; SANZINI, E. Sostanze biologicamente attive presenti negli alimenti di origine vegetable. **Annali dell'Istituto Superiore Di Sanita**, Roma, v. 41, n. 1, p. 7-16, 2005.

CERQUEIRA, F. M.; MEDEIROS, M. H. G.; AUGUSTO, O. Antioxidantes dietéticos: controvérsias e perspectivas. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 2, p. 441-449, 2007.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio**. 2. ed. Lavras: UFLA, 2005. 785 p.

DE MORAES, G. M. D.; DE ABREU, L. R.; EGITO, A. S.; SALLES, H. O.; DA SILVA, L. M. F.; NERO, L. A.; TODOROV, S. D.; DOS SANTOS, K. M. O. Functional properties of *Lactobacillus mucosae* strains isolated from Brazilian goat milk. **Probiotics and Antimicrobial Proteins**, New York, v. 9, n. 3, p. 235-245, 2017.

DIAS, B. F. **Utilização do jambolão (*Syzygium cumini*) e palha de milho roxo (*Zea mays* L.) no desenvolvimento de novos produtos**. 2017. 197 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Escola de Agronomia, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2017.

EKLUND, P. C.; LANGVIK, O. K.; WARNA, J. P.; SALMI, T. O.; WILLFOR, S. M.; SJOHOLM, R. E. Chemical studies on antioxidant mechanisms and free radical scavenging properties of lignans. **Organic and Biomolecular Chemistry**, v. 21, n. 18, p. 3336–3347, 2005.

FALCÃO, L. D.; BARROS, D. M.; GAUCHE, C.; LUIZ, M. T. Copigmentação intra e intermolecular de antocianinas: uma revisão. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, Curitiba, v. 21, n. 2, p. 351-366, 2003.

FARIA, A. F.; MARQUES, M. C.; MERCADANTE, A. Identification of bioactive compounds from jambolão (*Syzygium cumini*) and antioxidant capacity evaluation in different pH conditions. **Food Chemistry**, London, v. 126, n. 4, p. 1571–1578, 2011.

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.

FLORENTINO, E. R. **Produção de Queijo coalho com leite pasteurizado**. Campina Grande: UEPB, 1997.

FOOD AND AGRICULTURAL ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS AND WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria: Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation on Evaluation of Health and Nutritional Properties of Probiotics in Food including Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria**, Cordoba, Argentina 1-4 Oct. 2001. 33 p.

GAMARRA, F. M. C.; LEME, G. C.; TAMBOURGI, E. B.; BITTENCOURT, E. Extração de corantes de milho (*Zea mays* L.). **Ciência Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 29, n. 1, p. 62-69, 2009.

- GJORGIEVSKI, N.; TOMOVSKA, J.; DIMITROVSKA, G.; MAKARIJOSKL, B.; SHARIATI, M. A. Determination of the antioxidant activity in yogurt. **Journal of Hygienic Engineering and Design**, Skopje, v. 8, p. 88-92, 2014.
- GORDON, A.; JUNGFER, E.; SILVA, B. A.; MAIA, J. G. S.; MARX, F. Phenolic Constituents and antioxidant capacity of four underutilized fruits from the Amazon Region. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 59, n. 14, p. 7688–7699, 2011.
- 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**, London, v. 124, n. 1, p. 271–277, 2011.
- HARAGUCHI, F. K.; ABREU, W. C.; DE PAULA, H. Proteínas do soro do leite: composição, propriedades nutricionais, aplicações no esporte e benefícios para a saúde humana. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 19, n. 4, p. 479-488, 2006.
- HILL, C.; GUARNER, F.; REID, G.; GIBSON, G. R.; MERENSTEIN, D. J.; POT, B.; MORELLI, L.; CANANI, R. B.; FLINT, H. J.; SALMINEN, S.; CALDER, P.C.; SANDERS, M. E. Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. **Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology**, London, v. 11, n. 8, p. 506-514, 2014.
- HIRATA, L. L.; SATO, M. E. O.; SANTOS, C. A. M. Radicais livres e o envelhecimento cutâneo. **Acta Farmacéutica Bonarense**, Buenos Aires, v. 23, n. 3, p. 418-424, 2004.
- 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.
- JACQUES, A. C. **Estabilidade de compostos bioativos em polpa congelada de amora-preta (*Rubus fruticosus*) cv.TUPY**. 2009. 49 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial) – Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2009.
- JÚNIOR, D. R. A.; SOUZA, R. B.; SANTOS, S. A.; ANDRADE, D. R. Os radicais livres de oxigênio e as doenças pulmonares. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, Brasília, v. 31, n.1, p. 60-68, 2005.
- KWAW, E.; MA, Y.; TCHABO, W.; APALIYA, M. T.; WU, M.; SACKKEY, A. S.; XIAO, L.; TAHIR, H. E. Effect of lactobacillus strains on phenolic profile, color attributes and antioxidant activities of lactic-acid-fermented mulberry juice. **Food Chemistry**, London, v. 250, p.148-154, 2018.
- KYUNGMI, M, S.; EBELER, E. Flavonoid effects on DNA oxidation at low concentrations relevant to physiological levels. **Food and Chemical Toxicology**, Oxford, v. 46, n. 1, p. 96-104, 2008.
- LAGO, E.S.; GOMES, E.; SILVA, R. Produção de geleia de jambolão (*Syzygium cumini* Lamarck): Processamento, parâmetros físico-químicos e avaliação sensorial. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 4, p.847-852, 2006.

LALEMAN, I.; TEUGHEL, W. Probiotics in the dental practice: a review. **Quintessence Internacional**, Barcelona, v. 46, n. 3, p. 255-264, 2015.

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**, London, v. 2012, p. 1-9, 2011.

LI, L. S.; ADAMS, S.; CHEN, C.; KILLIAN, A.; AHMED, N. P. *Eugenia jambolana* Lam. berry extract inhibits growth and induces apoptosis of human breast cancer but not non-tumorigenic breast cells. **Journal Agriculture Food Chemistry**, Washington, v. 57, n. 1, p. 826-831, 2009.

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**, Amsterdam, 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, A. **Caracterização química, avaliação da atividade antioxidante *in vitro* e *in vivo*, e identificação dos compostos fenólicos presentes no Pequi (*Caryocar brasiliense*, Camb.)**. 2008. 335 f. Tese (Doutorado em Ciência dos alimentos) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

LOURENS-HATTINGH, A.; VILJOEN, B. C. Yogurt as probiotic carrier food. **International Dairy Journal**, Amsterdam, v. 11, p. 1-17, 2001.

MALACRIDA, C. R.; MOTTA, S. Antocianinas em suco de uva: composição e estabilidade. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, Curitiba, v. 24, n. 1, p. 59-82, 2006.

MANACH, C.; SCALBERT, A.; MORAND, C.; RÉMÉSY, C.; JIMÉNEZ, L. Polyphenols: food sources and bioavailability. **The American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 79, n. 5, p. 727-747. 2004.

MARÇO, P. H.; POPPI, R. J. Procedimentos analíticos para identificação de antocianinas presentes em extratos naturais. **Química Nova**, São Paulo, v. 31, n. 5, p. 1218-1223, 2008.

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.

MARTÍNEZ-FLÓREZ, S.; GONZÁLEZ-GALLEGO, J.; CULEBRAS, J. M.; TUÑÓN, M. J. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. **Nutrición Hospitalaria**, Madrid, v. 6, n. 17, p. 271-278, 2002.

MATTAR, R.; MAZO, D. F. de C. Intolerância à Lactose: mudança de paradigmas com a biologia molecular. **Revista da Associação Médica Brasileira**, São Paulo, v. 56, n. 2, p. 230-236, 2010.

MEENA, M. K.; ARORA, S.; SHENDURSE, A. M.; SHARMA, V.; WADHWA, B. K.; SINGH, A. K. Formulation optimisation of whey lemon beverage using a blend of the sweeteners aspartame and saccharin. **International Journal of Dairy Technology**, [Launceston], v. 65, n. 1, p. 146-151, 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**, [London], v. 15, p. 127-130, 2001.

MIGLIATO, K. F.; MOREIRA, R. R. D.; MELLO, J. C. P.; SACRAMENTO, L. V. S.; CORRÊA, M. A.; SALGADO, H. R. N. Controle da qualidade do fruto de *Syzygium cumini* (L.) Skeels. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, São Paulo, v. 17, n. 1, p. 94-101, 2007.

MONTEIRO, J. M.; ALBUQUERQUE, U. P.; ARAÚJO, E. L. Taninos: uma abordagem da química à ecologia. **Química Nova**, São Paulo, v. 28, n. 5, p. 892-896, 2005.

MORAES, F. P.; COLLA, L. M. Alimentos funcionais nutracêuticos: definições, legislação e benefícios à saúde. **Revista Eletrônica de Farmácia**, Goiânia, v. 3, n. 2, p. 109-122, 2006.

NAIDU, A. S.; CLEMENS, R. A. Probiotics. In: NAIDU, A.S. **Natural food antimicrobial systems**. Boca Raton: CRC, 2000. p.431-462.

NASCIMENTO, J. C.; LAGE, L. F. O.; CAMARGOS, C. R. D.; AMARAL, J. C.; COSTA, L. M.; SOUSA, A. N.; OLIVEIRA, F. Q. O. Determinação da atividade antioxidante pelo método DPPH e doseamento de flavonoides totais em extratos de folhas da *Bauhinia variegata* L. **Revista Brasileira de Farmácia**, Rio de Janeiro, v. 92, n. 4, p. 327-332, 2011.

OLIVEIRA, M. N.; SIVIERI, K.; ALEGRO, J. H. A.; SAADA, S. M. I. Aspectos tecnológicos de alimentos funcionais contendo probióticos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 38, n. 1, p. 1-21, 2002.

OSUNTOKI, A.; KORIE, I. Antioxidant activity of whey from milk fermented with *Lactobacillus* species isolated from Nigeriam fermented foods. **Food Technology and Biotechnology**, Zagreb, v. 48, n. 4, p. 505-511, 2010.

PEREIRA, M. C. S.; BRUMANO, L. P.; KAMIYAMA, C. M.; PEREIRA, J. P. F.; RODARTE, M. P.; PINTO, M. A. O. Lácteos com baixo teor de lactose: uma necessidade para portadores de má digestão da lactose e um nicho de mercado. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 67, n. 389, p. 57-65, 2012.

PEREIRA, R. J. **Composição centesimal, aspectos fitoquímicos, atividade antioxidante, hipoglicemiante e anti-hiperlipidêmica de frutos do gênero *Syzygium***. 2011. 156 f. Tese (Doutorado em Ciência dos alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2011.

PINHEIRO, E. M.; PORTO, R. G. C. L.; ARAÚJO, M. A. M.; MOREIRA-ARAÚJO, R. S. R.; ROCHA, M. M. Capacidade antioxidante e efeito do cozimento em genótipos elite de feijão-caupi. In: CONGRESSO NACIONAL DE FEIJÃO-CAUPI, 2013, Recife, **Anais...** Recife: Instituto Agrônomo de Pernambuco, 2013.

- PODSEDEK, A. Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: A review. **LWT: Journal of Food Composition and Analysis**, [New York], v. 40, n. 1, p.1-11, 2007.
- PUPIN, A. M. Probióticos, prebióticos e simbióticos: aplicações em alimentos funcionais. **Seminário Novas Alternativas de Mercado – ITAL**, Campinas, p. 133-145, 2002.
- QUILICI, F. A.; MISSIO, A. **Intolerância à lactose**. Campinas: Sociedade Integrada de Gastroenterologia, 2004. Disponível em: <<http://euossoisso.com/wp-content/uploads/2015/02/intolerancia.pdf>>. Acesso em: 24 maio 2018.
- RAMALHO, V. C.; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Química Nova**, São Paulo, v. 29, n. 4, p. 755-760, 2006.
- ROCHA, W. S.; LOPES, R. M.; SILVA, D. B.; VIEIRA, R. F.; SILVA, J. P.; AGOSTINI-COSTA, T. S. Compostos fenólicos totais e taninos condensados em frutas nativas do cerrado. **Revista Brasileira de Fruticultura**, São Paulo, v. 33, n. 4, p. 1215-1221, 2011.
- ROCKENCACH, I. I.; RODRIGUES, E.; CATANEO, C.; GONZAGA, L. V.; LIMA, A.; MANCINI-FILHO, J.; FETT, R. Ácidos fenólicos e atividade antioxidante em fruto de *Physalis peruviana* L. **Alimentos e Nutrição**, São Paulo, v. 19, n. 3, p. 271-276, 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. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2007. 4 p. (Comunicado Técnico, 127).
- SAAD, S. M. I. Probióticos e prebióticos: o estado da arte. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, São Paulo, v. 42, n. 1, p. 1-16, 2006.
- SÁ, A. P. C. S. **Potencial antioxidante e aspectos químicos e físicos das frações comestíveis (polpa e cascas) e sementes de Jamelão (*Syzygium cumini*, L. Skeels)**. 2008. Dissertação (Mestrado em Ciências e Tecnologia de alimentos) – Instituto de Tecnologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2008.
- 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.
- 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**, London, v. 76, n. 2, p. 270-276, 1998.
- SANTOS, C. T.; COSTA, A. R.; FONTAN, G. C. R.; FONTAN, R. C. I. Influência da concentração de soro na aceitação sensorial de bebida láctea fermentada com polpa de manga. **Alimentos e Nutrição**, São Paulo, 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**, London, v. 97, n. 4, p. 1108-1115, 2017.

- SCHNEIDER, C. D.; OLIVEIRA, A. R. Radicais livres de oxigênio e exercício: mecanismos de formação e adaptação ao treinamento físico. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, São Paulo, v. 10, n. 4, p. 308-313, 2004.
- SEBAUGH, J. L. Guidelines for accurate EC50/IC50 estimation. **Pharmaceutical Statistics**, New York, v. 10, p. 128-134, 2011.
- SHAJIB, M. T. I.; KAWSER, M.; MIAH, M. N.; BEGUM, P.; BHATTACHARJEE, L.; HOSSAIN, A.; FOMSGAARD, I. S.; ISLAM, S. N. Nutritional composition of minor indigenous fruits: cheapest nutritional source for the rural people of Bangladesh. **Food Chemistry**, London, v. 140, n. 3, p. 466-470, 2013.
- SHARMA, O. P.; BHAT, T. K. DPPH antioxidant assay revisited. **Food Chemistry**, London, v. 113, n. 4, p. 1202-1205, 2009.
- SILVA, M. L. C.; COSTA, R. S.; SANTANA, A. S.; KOBLITZ, M. G. B. Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais. **Semina: Ciências da Agregação**, Londrina, v. 31, n. 3, p. 669-681, 2010.
- SINHA, R.; RADHA, C.; PRAKASH, J.; KAUL, P. Whey protein hydrolysate: functional properties nutritional quality and utilization in beverage formulation. **Food Chemistry**, London, v. 101, n. 4, p. 1484-1491, 2007.
- SIQUEIRA, A. M. O.; MACHADO, E. C. L.; STAMFORD, T. T. Bebidas lácteas com soro de queijo e frutas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 43, n. 9, p. 1693-1700, 2013.
- SMITHERS, G. W. Whey and whey proteins – from ‘gutter-to-gold’. **International Dairy Journal**, Amsterdam, v. 7, n. 18, p. 695-704, 2008.
- SOARES, E. S. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 15, n. 1, p. 71-81, 2002.
- SOUSA, M. C. **Obtenção de sobremesa láctea de jabuticaba (*Myrciaria cauliflora* Berg) com potencial funcional utilizando cepas nativas de *Lactobacillus* sp.** 2016. 110 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2016.
- TAPAS, A. R.; SAKARKAR, D. M.; KAKDE, R. B. Flavonoids as nutraceuticals: A Review. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, Benin city, v. 7, n. 3, p. 1089-1099, 2008.
- THAMER, K. G.; PENNA, A. L. B. Caracterização de bebidas lácteas funcionais fermentadas por probióticos e a crescidas de prebiótico. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 3, p. 589-595, 2006.
- VALKO, M.; LEIBFRITZ, D.; MONCOL, J.; CRONIC, M. T. D.; MILAN, M.; TELSER, J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. **International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, Amsterdam, v.32, n. 3, p. 3-41, 2006.
- VEIGAS, J. M.; NARAYAN, M. S.; LAXMAN, P. M.; NEELWARNE, B. Chemical nature, stability and bioefficacies of anthocyanins from fruit peel of *Syzygium cumini* Skeels. **Food Chemistry**, London, v. 105, n. 2, p. 619-627, 2007.

VICENTINO, A. R. R.; MENEZES, F. S. Atividade antioxidante de tinturas vegetais, vendidas em farmácias com manipulação e indicadas para diversos tipos de doenças pela metodologia do DPPH. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, João Pessoa, v. 17, n. 3, p. 384-387, 2007.

VINDEROLA, G.; CAPELLINI, B.; VILLARREAL, F.; SUAREZ, V.; QUIBERONI, A.; REINHEIMER, J. Usefulness of a set of simple in vitro tests for the screening and identification of probiotic candidate strains for dairy use. **LWT - Food Science and Technology**, Amsterdam, v. 41, n. 9, p. 1678-1688, 2008.

VIZZOTTO, M.; FETTER, M. R. **Jambolão**: o poderoso antioxidante. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2009, (Site cultivar). Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CPACT-2010/12299/1/jambolao-Marcia.pdf>>. Acesso em: 24 maio 2018.

VIZZOTTO, M.; PEREIRA, M. C. **Caracterização das propriedades funcionais do jambolão**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2008. 26 p. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 79).

