



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CAMPUS I – CAMPINA GRANDE
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
CURSO DE QUÍMICA INDUSTRIAL**

ANDERSON CAETANO SOARES

**EFEITO DE UMA CULTURA NATIVA DE LACTOBACILOS SOBRE OS
PARÂMETROS DE ATIVIDADE ANTIOXIDANTE EM BEBIDA LÁCTEA
FERMENTADA CONTENDO PRODUTOS DA CASCA DE JABUTICABA**

**CAMPINA GRANDE
2017**

ANDERSON CAETANO SOARES

**EFEITO DE UMA CULTURA NATIVA DE LACTOBACILOS SOBRE OS
PARÂMETROS DE ATIVIDADE ANTIOXIDANTE EM BEBIDA LÁCTEA
FERMENTADA CONTENDO PRODUTOS DA CASCA DE JABUTICABA**

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

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

Coorientadora:
Prof.^a Dr.^a Eliane Rolim Florentino

**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.

S676e Soares, Anderson Caetano.

Efeito de uma cultura nativa de lactobacilos sobre os parâmetros de atividade antioxidante em bebida láctea fermentada contendo produtos da casca de jabuticaba [manuscrito] : / Anderson Caetano Soares. - 2017.

51 p. : il. colorido.

Digitado.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Química Industrial) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências e Tecnologia, 2017.

"Orientação : Profa. Dra. Flávia Carolina Alonso Buriti, Coordenação do Curso de Química Industrial - CCT."

1. Alimento funcional. 2. Aproveitamento de subprodutos. 3. Compostos fenólicos. 4. Lácteos probióticos. 5. Myrciaria cauliflora.

21. ed. CDD 660

ANDERSON CAETANO SOARES

EFEITO DE UMA CULTURA NATIVA DE LACTOBACILOS SOBRE OS PARÂMETROS DE ATIVIDADE ANTIOXIDANTE EM BEBIDA LÁCTEA FERMENTADA CONTENDO PRODUTOS DA CASCA DE JABUTICABA

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

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

Coorientadora:
Prof.ª Dr.ª Eliane Rolim Florentino

Aprovada em: 12/12/2017.

BANCA EXAMINADORA

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

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

Maria Roberta de Oliveira Pinto
Prof.ª Dra. Maria Roberta de Oliveira Pinto
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)
(Examinadora)

Adriana Valéria Aguiar Guimarães
Prof.ª Dra. Adriana Valéria Aguiar Guimarães
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)
(Examinadora)

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Deus que por meio de sua Graça eu fui preenchido de todo o seu amor, força, coragem e paciência para vencer os obstáculos ao longo da minha vida pessoal e acadêmica.

Aos meus pais Antonio Soares e Marileide Caetano Soares que muito se esforçaram para me proporcionar saúde e educação. Bem sei eu o esforço que via por parte deles em nunca me deixar faltar nada e serei eternamente grato. Família é à base de tudo!

Ao meu irmão pelo apoio nas horas de dificuldade ao longo de toda a minha vida acadêmica e pessoal.

A minha orientadora Flávia Carolina Alonso Buriti por seus ensinamentos, paciência e confiança a mim concedido. Muito obrigado!

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), ao Programa de Incentivo à Pós-Graduação e Pesquisa (PROPESQ/UEPB) e à Fundação Parque Tecnológico da Paraíba pelo suporte financeiro à pesquisa.

Aos meus amigos pelo apoio nos momentos de dificuldade, pelos estudos compartilhados e por me proporcionarem momentos de alegria e bom ânimo. Ter amigos nos torna mais felizes.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para minha vida acadêmica.

Quero agradecer a mim mesmo que não desisti quando me encontrava triste e cabisbaixa. A jornada foi difícil, mas eu sabia que sonhos podem ser realizados.

RESUMO

A jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) é um fruto rico em compostos fenólicos, que são antioxidantes responsáveis por combater radicais livres. O consumo dessa fruta é quase que totalmente na sua forma *in natura*, mas também possui potencial para ser processado na forma de sucos, compotas, doce, geleias, bebidas entre outros. Assim, a jabuticaba pode ser utilizada em bebidas lácteas como meio de enriquecer este produto alimentício com nutrientes e compostos bioativos sem encarecer o produto final, além de melhorar suas características sensoriais. Probióticos também têm sido inseridos, sobretudo, em produtos lácteos, ajudando de forma benéfica o desenvolvimento da microbiota do intestino e atuando na prevenção de infecções gastrointestinais. O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência de uma cultura nativa de *Lactobacillus plantarum* com potencial probiótico sobre o teor de compostos fenólicos, bem como a capacidade antioxidante em bebida láctea fermentada adicionada de produtos da casca de jabuticaba. Foram produzidas duas formulações de bebidas, em dois lotes cada: formulação controle F1 – produzida com a cultura iniciadora de *Streptococcus thermophilus* TA40; e tratamento experimental F2 – produzido com *S. thermophilus* TA40 e a cultura nativa potencialmente probiótica de *L. plantarum* CNPC003. Todos os tratamentos foram adicionados de calda, extrato hidroalcoólico e geleia, produzidos a partir da casca da jabuticaba. Estabelecendo uma comparação entre as duas bebidas observou-se uma tendência de aumento na quantidade de fenólicos e captura de DPPH para a bebida contendo *Lactobacillus plantarum* CNPC003. A cultura nativa resultou em valores significativamente menores de EC₅₀, que é a metade da resposta antioxidante máxima ao longo do armazenamento ($p < 0,05$). Dessa forma, para a captura de radicais livres seria necessária uma menor quantidade do produto com probiótico, o qual resultou em uma melhor resposta antioxidante neste trabalho.

Palavras-chave: Alimento funcional. Aproveitamento de subprodutos. Compostos fenólicos. Lácteos probióticos. *Myrciaria cauliflora*.

ABSTRACT

Jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*) is a fruit rich in phenolic compounds, which are antioxidants responsible for free radicals scavenging. The consumption of this fruit is almost totally in its *in natura* form, but also has potential to be processed in the form of juices, jams, paste, jellies, beverages among others. Thus, the jaboticaba can be used in dairy beverages as a means of enriching this food product with nutrients and bioactive compounds without increasing the cost of the final product, besides to improve its sensory properties. Probiotics have also been added mainly in dairy products, aiming in the development of the beneficial microbiota in the intestine and acting in the prevention of gastrointestinal infections. The objective of this study was to evaluate the influence of a potentially probiotic native culture of *Lactobacillus plantarum* on the content of phenolic compounds, as well as on the antioxidant capacity in fermented dairy beverages added with products of the jaboticaba peel. Two beverage formulations were produced in two batches each: F1 control formulation - produced with the *Streptococcus thermophilus* TA40 starter culture; and F2 experimental treatment - produced with *S. thermophilus* TA40 and the potentially probiotic native culture of *L. plantarum* CNPC003. All treatments were added with syrup, hydroalcoholic extract and jelly, produced with the jaboticaba peel. Comparing the two beverages, a trend of increasing in the phenolic amount and DPPH scavenging capacity was observed for the beverage containing *Lactobacillus plantarum* CNPC003. The native culture resulted in a significantly lower EC₅₀ values, which is the half of the maximum antioxidant response throughout storage (p <0.05). In conclusion, this study showed that the probiotic product might be used in a smaller amount to result in a better antioxidant response.

Keywords: Functional food. By-products upgrading. Phenolic compounds. Probiotic dairy products. *Myrciaria cauliflora*.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	9
2	OBJETIVOS	11
2.1	Objetivo geral	11
2.2	Objetivo específico	11
3	REVISÃO DE LITERATURA	12
3.1	Jaboticaba	12
3.2	Alimentos Funcionais	15
3.3	Bebida láctea	17
3.4	Probióticos	18
3.5	Antioxidantes e Compostos Fenólicos	19
3.5.1	<i>Flavonoides</i>	22
3.5.2	<i>Antocianinas</i>	23
3.5.3	<i>Taninos</i>	24
3.5.4	<i>Não-flavonoides</i>	26
3.6	Radical livre DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazila)	27
3.7	Método de Folin-Ciocalteu para análise de fenólicos totais	28
4	METODOLOGIA	29
4.1	Obtenção dos frutos da jaboticaba	29
4.2.	Preparo do extrato aquoso	29
4.3	Preparo do extrato hidroalcoólico	30
4.4	Preparo da geleia da casca de jaboticaba	30
4.5	Preparo da calda de casca de jaboticaba	31
4.6	Desenvolvimento das bebidas lácteas fermentadas probióticas	32
4.6.1	<i>Preparo da base láctea</i>	32
4.6.2	<i>Processo de fermentação</i>	33
4.6.3	<i>Produção da bebida láctea cremosa fermentada potencialmente probiótica ..</i>	33
4.7	Determinações dos compostos fenólicos totais e atividade antioxidante	34
4.7.1	<i>Amostragem</i>	34
4.7.2	<i>Obtenção do extrato das bebidas láctea</i>	34
4.7.3	<i>Preparo do ensaio do padrão fenólicos</i>	35
4.7.4	<i>Análise do conteúdo fenólico total</i>	35

4.7.5	<i>Determinação da atividade antioxidante total pela captura do radical DPPH</i>	36
4.7.6	<i>Preparação do ensaio de calibração com DPPH</i>	37
4.7.7	<i>Cálculo do EC₅₀</i>	38
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	39
6	CONCLUSÃO	42
	REFERÊNCIAS	43

1 INTRODUÇÃO

As primeiras referências que se tem da jabuticaba são do centro-sul do Brasil e, dentre as espécies mais conhecidas, destaca-se a *Myrciaria cauliflora* que produz frutos apropriados tanto para consumo *in natura* quanto para a indústria. A casca dos seus frutos maduros é fina, frágil e de cor preta, com a polpa branca, ligeiramente ácida e doce. Com a jabuticaba é possível produzir sucos, bebidas lácteas fermentadas, geleia, compotas, licor e vinagre (ANDERSEN, 1989; ASQUIERI et al., 2009; BRUNINI et al., 2004).

Diversas pesquisas evidenciaram que essa espécie de fruta é rica em compostos fenólicos, comumente chamados de antioxidantes, na qual apresentam a capacidade de prevenir várias doenças ligadas com o estresse oxidativo, como o câncer, doenças cardiovasculares, inflamações e outros (SCALBERT; WILLIAMSON, 2000).

Esses compostos fenólicos atuam no combate aos radicais livres com capacidade de evitar ou prevenir a formação de lesões e perda de integridade celular, além de terem ação antimicrobiana, anti-inflamatória e vasodilatadora. Sendo assim, uma ótima possibilidade do consumo dos compostos fenólicos através da bebida láctea fermentada com probióticos na qual é classificada com um alimento funcional.

O conceito de alimentos funcionais foi inicialmente introduzido no Japão em meados dos anos 80 e se refere aos alimentos processados, contendo ingredientes que ajudam funções específicas do corpo além de serem nutritivos, sendo estes alimentos definidos como “Alimentos para uso específico de saúde” (*Foods for Specified Health Use – FOSHU*). Caracterizam-se por oferecer vários benefícios à saúde, além do valor nutritivo inerente à sua composição química, podendo executar um papel potencialmente benéfico na redução dos riscos de doenças crônicas degenerativas (NEUMANN et al., 2000; TAIPINA et al., 2002).

Nesse contexto de promoção da saúde o estudo de probióticos foi intensificado, pois esses microrganismos se tornaram responsáveis por ajudar no controle da microbiota intestinal, promoção da resistência gastrintestinal à colonização por patógenos, diminuição da concentração dos ácidos acético e lático, de bacteriocinas e outros compostos antimicrobianos, estímulo do sistema imunológico, melhora da absorção de determinados nutrientes, controle de diarreias e efeitos anticarcinogênicos. (SAAD, 2006; SANTOS; VARAVALLO, 2012).

Os probióticos têm sido geralmente empregados em fermentados lácteos. Considerando as bebidas lácteas fermentadas como fonte para uma dieta mais saudável, seria possível adicionar probióticos, bem como polpa ou cascas de frutas, como o da jabuticaba.

Nesse conjunto de bebida láctea, probióticos e jabuticaba teríamos um alimento saudável e rico em nutrientes com ação antioxidante, que promoveria benefícios à saúde devido ao combate aos radicais livres.

Assim o objetivo dessa pesquisa foi avaliar o teor de fenólicos totais durante o armazenamento de um alimento lácteo adicionado de produtos da casca da jabuticaba e uma cultura nativa de *Lactobacillus* com potencial probiótico.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Estudar o efeito da adição de produtos da casca da jabuticaba e de uma cultura nativa potencialmente probiótica sobre os parâmetros de atividade antioxidante em bebida láctea fermentada.

2.2 Objetivo específico

Os objetivos específicos deste estudo foram:

- a) avaliar o efeito dos produtos da casca da jabuticaba e da cultura nativa potencialmente probiótica sobre a concentração de compostos fenólicos totais da bebida;
- b) avaliar o efeito dos produtos da casca de jabuticaba e da cultura nativa potencialmente probiótica 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 (EC_{50}) expressa em g de bebida láctea g^{-1} de DPPH.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Jabuticaba

A jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) é uma fruta típica da Mata Atlântica brasileira encontrada ligada aos troncos e galhos da jabuticabeira (Figura 1). Apresenta textura e aparência similar às uvas, possuindo uma casca de cor arroxeadada e, em contraste, uma polpa de cor branca e doce que envolve suas sementes (ALEZANDRO et al., 2013; LAJE et al., 2017).

Figura 1 – Jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*).



Fonte: Google imagens (2017)

Esta fruta pertence à família *Myrtaceae*, sendo nativa do Brasil e com maior predominância nas regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste (ZURLO; BRANDÃO, 1990). Dentre as espécies conhecidas, destacam-se a *Plinia cauliflora* (jabuticaba paulista ou jabuticaba açú), a *Plinia jabuticaba* (jabuticaba sabará) e a *Plinia trunciflora* (jabuticaba de cabinho) (OLIVEIRA et al., 2003; MATTOS, 1983).

A jabuticaba pode ser consumida *in natura* ou processada, sendo utilizada na fabricação de vinhos, geleia, sucos, licor, sorvete, bebidas fermentadas e vinagre. Considerado um fruto tropical de grande valor nutricional, a jabuticaba é uma fonte rica em água,

carboidratos, fibras alimentares, vitaminas e sais minerais como ferro, cálcio e fósforo, conforme apresentados nas Tabelas 1 e 2 (ASCHERI et al., 2006; BOESSO, 2014; CAMPOS et al., 2002; UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS, 2011).

Vale salientar que o elevado valor nutricional desse fruto também está relacionado à presença significativa de compostos fenólicos em sua composição, principalmente na casca (LIMA et al., 2008).

Tabela 1 – Composição química da polpa de jabuticaba *in natura*.

Análises	Polpa <i>in natura</i>
Proteínas (%)	0,49
Sólidos solúveis totais (°Brix)	15,90
pH	3,75
Acidez titulável (%)	0,73
Açúcares redutores (%)	12,52
Açúcares não redutores (%)	3,08
Açúcares totais (%)	17,09
Pectina solúvel (mg 100g ⁻¹)	303,86
Pectina total (mg 100g ⁻¹)	611,09
Solubilização (%)	49,00
Tanino (mg 100g ⁻¹)	259,58
Vitamina C total (mg 100g ⁻¹)	47,22
Amido (%)	0,25
Fibra bruta (%)	0,09
Fibra em detergente neutro-FDN (%)	0,45
Lignina (%)	0,10
Hemicelulose (%)	0,18
Celulose (%)	0,18
Peroxidase (mmol (g min) ⁻¹)	40,02
Poligalaturanase (mmol (g min) ⁻¹)	36,77
Polifenoloxidase (mmol (g min) ⁻¹)	0,00

Fonte: Campos et al. (2002).

Tabela 2 – Composição centesimal de parte comestível da jabuticaba crua conforme a Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO).

Análises	Composição centesimal
Umidade (%)	83,6
Energia (kcal)	58,0
Energia (kJ)	243,0
Proteína (g)	0,6
Lipídeos (g)	0,1
Carboidrato (g)	15,3
Fibra Alimentar (g)	2,3
Cinzas (g)	0,4
Cálcio (mg)	8,0
Ferro (mg)	0,1
Fósforo (mg)	15,0
Potássio (mg)	130,0
Vitamina C (mg)	16,2

Fonte: Universidade Estadual de Campinas (2011).

Entre os compostos fenólicos, estão as antocianinas, que são pigmentos solúveis em água responsáveis por uma diversidade de cores, desde variam do vermelho alaranjado ao vermelho vivo, azul e roxo, de frutos, folhas e flores e asseguram efeitos benéficos à saúde humana devido à atividade antioxidante (LIMA et al., 2008).

Segundo Terci (2004) a jabuticaba possui teores de antocianinas entre 310 e 315 mg por 100 g da fruta, valor considerado alto, semelhante ou maior que outras frutas, como jambolão (de 378 a 386 mg 100 g⁻¹), amora (de 261 a 292 mg 100 g⁻¹) e uva (227 a 235 mg 100 g⁻¹).

Quimicamente, as antocianinas são compostos fenólicos pertencentes ao grupo dos flavonoides, na qual garante um poder oxidativo a jabuticaba atuando na captura de radicais livres e podendo prevenir várias doenças associadas com o estresse oxidativo, como o câncer, doenças cardiovasculares, inflamações, diarreia e outros (SCALBERT; WILLIAMSON, 2000).

Diante do exposto, tem-se que o valor nutricional é um dos principais fatores que conduzem ao crescente interesse pelo consumo dessa fruta, além de seus inúmeros benefícios a saúde humana.

3.2 Alimentos funcionais

Alimentos funcionais são aqueles que produzem efeitos fisiológicos ou metabólicos, através do desempenho de algum nutriente, na manutenção das funções do organismo humano, ou seja, todos aqueles que, além de cumprir as funções nutricionais básicas, trazem outros benefícios para a saúde, prevenindo ou reduzindo a incidência de algumas doenças. (VIDAL et al., 2012)

Os alimentos de competência da ANVISA que veiculem essas afirmações citadas no parágrafo anterior, devem ser enquadrados e registrados na categoria de alimentos com alegações de propriedades funcionais ou de saúde (Resolução n. 19, de 30 de abril de 1999) ou na categoria de substâncias bioativas e probióticos isolados (Resolução n. 02, de 07 de janeiro de 2002) (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2016)

No ano 1991, no Japão, foi definido o termo FOSHU (*Foods for Specified Health Use*) para os alimentos com uso específico para saúde. Estes alimentos produzem comprovadamente um efeito específico sobre a saúde devido à presença de certos componentes bioativos, não alergênicos e que não apresentam riscos para a saúde, na qual irão atuar no combate aos radicais livres (MAZZA, 2000; VIZZOTTO et al., 2010).

Segundo Hasler (1998) e Salgado (2009), desde a década de 1980, o termo funcional, aplicado aos alimentos, tem assumido diferente conotação que é a de proporcionar um benefício fisiológico adicional, além daquele de satisfazer as necessidades nutricionais básicas.

Os alimentos e ingredientes funcionais podem ser classificados de acordo com a fonte, de origem vegetal ou animal, ou quanto aos benefícios que podem trazer ao ser humano, de maneira que vão atuar em seis áreas do organismo: no sistema gastrointestinal; no sistema cardiovascular; no metabolismo de substratos; no crescimento, no desenvolvimento e diferenciação celular; no comportamento das funções fisiológicas e como antioxidantes (MORAES; COLLA, 2006; SOUZA et al., 2003). Assim, os alimentos funcionais se caracterizam por oferecer vários benefícios à saúde, além do valor nutritivo devido a sua composição química, podem desempenhar um papel potencialmente benéfico na redução do risco de doenças como câncer, doença cardiovascular, catarata, hipertensão, doenças neurodegenerativas do sistema central e diabetes, além das patologias intestinais (NEUMANN et al., 2000; TAIPINA et al., 2002).

Vidal, et al. (2012) ressalta que os alimentos funcionais apenas previnem o aparecimento de doenças e não são responsáveis por curas, sendo, assim, estes não devem ser utilizados como remédios.

Os alimentos que são ingeridos ao longo do dia possuem funções que vão além alterar a forma física do ser humano. Seus efeitos sobre o organismo é que fazem a diferença entre o desenvolvimento de uma doença crônica e uma vida saudável e cheia de energia (PRATT; MATTHEWS, 2005).

Segundo Bidlack e Wang (2004) foi descrito que os alimentos funcionais podem variar desde nutrientes isolados, suplementos dietéticos e dietas até alimentos “planejados” e fabricados geneticamente, produtos herbáceos e produtos processados tais como cereais, sopas e bebidas.

Entre os componentes químicos que dão funcionalidade aos alimentos (Figura 2) estão: os carotenoides, os flavonoides, os ácidos graxos como ômega 3, os probióticos, as fibras alimentares (FAs) dentre outros (CARVALHO et al., 2013).

Quadro 1 – Substâncias benéficas encontradas nos alimentos.

SUBSTÂNCIA	BENEFÍCIOS	ONDE ENCONTRAR
Flavonoides	Antioxidantes; ajudam na prevenção do câncer, além de apresentarem ação anti-inflamatória.	Frutas cítricas, tomate, pimentão, alcachofra, cereja, salsa.
Ácidos graxos ômega-3	Redução do colesterol ruim (LDL); ação anti-inflamatória.	Peixes do mar como salmão, sardinha, atum, anchova, arenque.
Ácido alfa-linolênico	Estimula o sistema imunológico e tem ação anti-inflamatória.	Óleos de linhaça, soja; nozes e amêndoas.
Licopeno	Antioxidante, reduz o risco de certos tipos de câncer, como o de próstata.	Alimentos vermelhos em geral: tomate e derivados, melancia, goiaba vermelha, pimentão vermelho.
Isoflavonas	Antioxidante, diminui o colesterol e reduz sintomas da menopausa.	Soja e derivados.
Catequinas	Reduzem a incidência de certos tipos de câncer, reduzem o colesterol e estimulam o sistema imunológico.	Chá verde, cerejas, amoras, framboesas, mirtilo, uva roxa, vinho tinto.
Fibras solúveis e insolúveis	Melhoram o funcionamento intestinal e com isso reduzem o risco de câncer de cólon. Podem ajudar no controle do colesterol e da glicemia.	Cereais integrais como aveia, centeio, cevada, farelo de trigo etc., hortaliças e frutas.
Probióticos Lactobacilos	Melhoram o funcionamento intestinal e reduzem o risco de constipação e câncer de cólon.	Leites fermentados e iogurtes.

Fonte: Associação Brasileira de Nutrição Esportiva.

3.3 Bebida láctea

De acordo com o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade, Bebida Láctea é definida como um produto lácteo resultado 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) adicionado ou não de produto(s) ou substância(s) alimentícia(s), gordura vegetal, leite(s) fermentado(s), fermentos lácteos selecionados e outros produtos lácteos. A base Láctea representa pelo menos 51% (cinquenta e um por cento) do total de ingredientes do produto (BRASIL, 2005).

A bebida láctea fermentada é o produto lácteo resultante 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 mediante ação de microrganismos específicos e/ou adicionados de leite (s) fermentado(s) e que não poderá ser submetido a tratamento térmico após a fermentação. Deve apresentar contagem total de bactérias lácticas viáveis de no mínimo 10^6 UFC g^{-1} , no produto final, para o (s) cultivo (s) láctico (s) específico (s) empregado (s), durante todo o prazo de validade (BRASIL, 2005).

O soro de leite, que é um dos constituintes da bebida láctea, é um líquido de cor amarelo-esverdeada (CALDEIRA et al., 2010), com sabor levemente ácido ou doce e sua composição pode variar de acordo com o processamento do queijo do qual o mesmo foi obtido (SOUZA et al., 2005).

No soro encontra-se cerca de 50% dos sólidos do leite, e a composição média deste soro, compreende 6,6% dos sólidos totais; 0,8% de proteínas; 5,0% de lactose; 0,7% de cinzas e 0,1% de gordura. A fração de proteínas contém aproximadamente 50% de β -lactoglobulina, 25% de α -lactoalbumina e 25% de outras frações protéicas incluindo imunoglobulinas (VENTURINI FILHO, 2010).

Além disso, o soro também possui vitaminas hidrossolúveis, em grandes quantidades, que passaram do leite sendo elas tiamina, riboflavina, ácido pantotênico, vitamina B6 e B12 e sais minerais, como cálcio, magnésio, zinco, potássio e fósforo (VENTURINI FILHO, 2010).

Segundo Venturini Filho (2010), a composição de aminoácidos das proteínas do soro ultrapassa os níveis de todos os aminoácidos essenciais da proteína de referência da FAO (*Food and Agriculture Organization*), caracterizando-as assim como proteínas de alto valor biológico e de boa digestão.

As bebidas lácteas fazem parte de um mercado bastante promissor, pois constituem uma forma racional e lógica de aproveitamento do soro e são uma realidade do mercado brasileiro, sendo processadas de diversas maneiras e em diversos sabores (PFLANZER et al., 2010).

A produção de bebida láctea adicionada de soro de queijo em sua formulação possui um grande destaque no mercado devido atuarem como componentes bioativos para a saúde e a possibilidade de adição de microrganismos probióticos (THAMER; PENNA, 2006).

No Brasil, a produção de bebidas lácteas é uma das principais formas de aproveitamento do soro, mas mesmo assim, apenas 15% do total de soro produzido é utilizado para este fim (CAPITANI et al., 2005), sendo então muito importante o desenvolvimento de novos produtos e novas tecnologias afim de mudar essa realidade já que O soro de leite tem elevada capacidade poluente e quando é considerado resíduo líquido industrial e despejado junto aos demais resíduos das indústrias de laticínios pode significar duplicação do sistema de tratamento, pois possui elevada demanda biológica de oxigênio (DBO) (GIROTO; PAWLOWSKY, 2001).

Em razão do que foi dito no parágrafo anterior, muitos trabalhos foram desenvolvidos em vários países, com o objetivo de criar alternativas para a utilização do lactossoro, evitando que o mesmo funcione como agente de poluição ambiental (ALMEIDA et al., 2001).

Assim a indústria tem utilizado ingredientes opcionais na elaboração de bebidas, como por exemplo, os substitutos de gorduras, edulcorantes, vitaminas, fibras, prebióticos e probióticos, dependendo das características do produto que se deseja alcançar e do público alvo (VENTURINI FILHO, 2010).

A maioria dos produtos lácteos disponíveis atualmente apresenta em sua composição polpas e extratos de frutos (ZICKER, 2011). No entanto, durante o processamento de algumas frutas, a maioria das substâncias de interesse são encontradas em partes que são desprezadas como cascas e bagaços, então para evitar esse desperdício o que pode ser feito é usar, por exemplo, a casca de jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) que apresentar um alto potencial de aproveitamento no desenvolvimento de produtos lácteos e grande valor nutricional e antioxidante (ZICKER, 2011).

3.4 Probióticos

Os probióticos são definidos como microrganismos vivos que podem ser agregados como suplementos na dieta, ajudando de forma benéfica o desenvolvimento da flora

microbiana no intestino. São também reconhecidos como bioterapêuticos, bioprotetores e bioprofiláticos e possuem a função de prevenir as infecções entéricas e gastrointestinais (MORAES; COLLA, 2006; REIG; ANESTO, 2002). A definição internacional atualmente aceita é de que os probióticos são microrganismos vivos, administrados em quantidades adequadas, que conferem benefícios à saúde do hospedeiro (SAAD, 2006).

O termo probiótico, foi inicialmente definido como compostos ou extratos de tecidos com capacidade de estimular o crescimento microbiano e a sua palavra é de origem grega que significa “para vida” (ISABELLE, 2009; LILLY; STILLWELL, 1965).

Os principais benefícios da ingestão de culturas probióticas estão relacionados ao: controle da microbiota intestinal, estabilização da microbiota intestinal após o uso de antibióticos, promoção da resistência gastrintestinal à colonização por patógenos, diminuição da concentração dos ácidos acético e láctico, de bacteriocinas e outros compostos antimicrobianos, possibilidade da digestão da lactose em indivíduos intolerantes à lactose, melhora do sistema imune, alívio da constipação e aumento da absorção de minerais e vitaminas” (SAAD, 2006).

Os principais probióticos são: *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus paraca sei*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium lactis*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium adolescentis*, *Saccharomyces boulardii*, *Propionibacterium freudenreichii*. São considerados também *Escherichia*, *Enterococcus* e *Bacillus* e o fungo *Saccaromyces boulardii*. No entanto, apesar de serem benéficos ao organismo e de serem frequentemente adicionados à alimentação infantil, *Lactobacillus bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus* não são considerados probióticos (MORAIS; JACOB, 2006).

3.5 Antioxidantes e Compostos Fenólicos

Antioxidantes são compostos que podem retardar ou inibir a oxidação de lipídios ou outras moléculas, evitando o início ou propagação das reações em cadeia de oxidação. São responsáveis por impedir o desenvolvimento de radicais livres pela inibição das reações em cadeia com o ferro e o cobre; são capazes de interromper os radicais livres gerados pelo metabolismo celular ou por fontes externas além de inibir o ataque sobre lipídeos, aminoácidos, a dupla ligação dos ácidos graxos poli-insaturados e as bases do DNA, evitando a formação de lesões e perda da integridade celular; reconstroem lesões causadas por radicais,

removendo danos das moléculas de DNA e reconstituem membranas celulares danificadas (HEIM et al., 2002; LAGE, 2014).

Um bom antioxidante pode ser caracterizado por possuir: presença de substituintes doadores de elétrons ou de hidrogênio ao radical, devido ao seu potencial de redução; capacidade de deslocamento do radical formado em sua estrutura, capacidade de formar complexos hidrossolúveis nos metais de transição implicados no processo oxidativo; e acesso ao local de ação, dependendo de sua hidrofília ou lipofília e de seu coeficiente de partição (LAGE, 2014; MANACH et al., 2004).

Na indústria de alimentos, o uso de antioxidantes sintéticos é de grande valia para manter a integridade dos produtos, pois são responsáveis por preservar as características sensoriais e nutricionais e prologar a vida de prateleira dos produtos, no entanto desde o início dos anos 80 até os dias atuais, o interesse em encontrar antioxidantes naturais para o emprego em produtos alimentícios e até para uso farmacêutico, tem aumentado consideravelmente, com o intuito de substituir antioxidantes sintéticos que são suspeitos de terem potencial carcinogênese, bem como pela comprovação de diversos outros males como: aumento do peso do fígado e significativa proliferação do retículo endoplasmático. (MELO; GUERRA, 2002; SIMÃO, 1985; YILDIRIM et al., 2001; ZHENG; WANG, 2001).

Assim, muitos estudos visando à identificação e adição de antioxidantes naturais em produto alimentícios, como na bebida láctea, têm sido realizados, na qual ao serem adicionados aos alimentos a ação antioxidante natural desejável deve seguir parâmetros com eficiência em baixas concentrações (0,001% a 0,01%), ausência de efeitos indesejáveis na cor, no odor, no sabor e em outras características do alimento além de compatibilidade com o alimento, fácil aplicação e estabilidade nas condições de processo e armazenamento (SOUZA, 2013).

Entre os antioxidantes naturais, temos os compostos fenólicos que são detentores de propriedades óxido-redução, as quais podem desempenhar um importante papel na absorção e neutralização de radicais livres, quelando o oxigênio triplete e singlete ou decompondo peróxidos (ANTUNES; CANHOS, 1984; BRENNAN; PAGLIARINI, 2001; FENNEMA, 1993; SIMÃO, 1985; ZHENG; WANG, 2001).

Assim, os compostos fenólicos são substâncias amplamente distribuídas na Natureza sendo mais de 8000 compostos fenólicos já identificados em plantas. Esse complexo grupo faz parte dos constituintes de uma variedade de vegetais, frutas e produtos industrializados. Podem ser pigmentos, que dão a aparência colorida aos alimentos, ou produtos do metabolismo secundário, normalmente derivado de reações de defesa das plantas contra

agressões do ambiente. Os fenólicos atuam como agentes antioxidantes, não somente pela sua capacidade em doar hidrogênio ou elétrons, mas também em decorrência de seus radicais intermediários estáveis, que impedem a oxidação de vários ingredientes do alimento, particularmente de lipídios (BRAND-WILLIAMS et al., 1995; SILVA et al., 2010).

Compostos fenólicos estão incluídos na categoria de interruptores de radicais livres e são eficientes na prevenção da autooxidação. Ou seja, quando os Compostos fenólicos reagem com os radicais livres, os radicais formados são estáveis, o que impossibilita a oxidação de vários componentes dos alimentos, particularmente ácidos graxos e óleos que é devido a sua estrutura química formada por pelo menos um anel aromático com grupamentos hidroxilas (ANGELO; JORGE, 2007; LAGE, 2014; SOARES et al., 2008).

Em geral, os compostos fenólicos são multifuncionais como antioxidantes, pois agem combatendo radicais livres; doando um átomo de hidrogênio de um grupo hidroxila (OH) da sua estrutura aromática. A estrutura aromática é capaz de suportar um elétron desemparelhado através do deslocamento deste elétron ao redor do sistema de elétrons da molécula e, além disto, são capazes de quelar metais de transição como Fe^{2+} e Cu^{+} , interromper a reação de propagação dos radicais livres na oxidação lipídica e reparar as lesões de células atacadas por radicais livres (LAGE, 2014; PODSEDEK, 2007).

As principais fontes de compostos fenólicos são frutas cítricas, como limão, laranja e tangerina, além de outras frutas à exemplo da jabuticaba, cereja, uva, ameixa, pêra, maçã, mamão, sendo encontrados em maiores quantidades na polpa que no suco da fruta. Pimenta verde, brócolis, repolho roxo, cebola, alho e tomate também são excelentes fontes destes compostos (MELO et al., 2008; ZAGO, 2014).

A casca de jabuticaba apresenta elevado teor de compostos fenólicos totais, sendo de $9,79 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1} \text{ MS}$ e os que se destacam são as antocianinas com $2,06 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1} \text{ MS}$ (LIMA et al., 2011a).

As frutas que são constituídas da coloração vermelha/azul são as mais importantes fontes de compostos fenólicos em dietas alimentares. Especialmente os derivados do ácido hidroxibenzóico e do ácido hidroxicinâmico dentre estes podemos citar: as antocianinas, os flavonóis, as catequinas e os taninos (hidrolisados ou condensados) nas quais estão frequentemente presentes. A grande maior parte destes compostos apresenta uma grande número de efeitos biológicos, incluindo ações antioxidantes, antimicrobiana, anti-inflamatória e vasodilatadora. Estes compostos fenólicos apresentam diversas funções de defesa para as plantas, não somente contra agentes do meio ambiente (luz, temperatura e umidade), mas para fatores internos incluindo diferenças genéticas, hormônios, nutrientes, contribuindo para a sua

síntese. (AHERNE; O'BRIEN, 2002; BURNS et al., 2001; DEGÁSPARI; WASZCZYNSKYJ, 2004; KÄHKÖNEN et al., 2001; SELLAPAN et al., 2002; SLUIS et al., 2001; ZHENG; WANG, 2001).

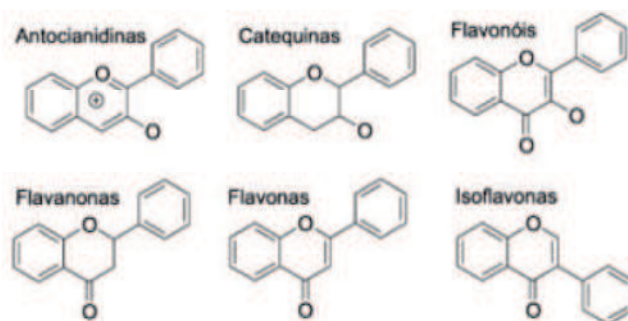
A atividade anticarcinogênica dos fenólicos tem sido relacionada à inibição dos cânceres de cólon, esôfago, pulmão, fígado, mama e pele. Os compostos fenólicos que possuem este potencial são resveratrol, quercetina, ácido caféico e flavonóis (PIMENTEL, 2005). Para o preparo de formulações de produtos, a ingestão de compostos fenólicos deve ser de até 1g por dia (BARROS et al., 2010).

Os compostos fenólicos possuem, em sua estrutura, vários grupos benzênicos característicos, tendo como substituintes grupamentos hidroxilas (HERNÁNDEZ et al., 1999; SILVA et al., 2010). Esta classe de compostos apresenta uma grande diversidade e divide-se em flavonoides (polifenóis) e não-flavonoides (fenóis simples ou ácidos).

3.5.1 Flavonoides

Os flavonoides são classificados como um grupo de compostos fenólicos amplamente distribuídos nas frutas e nos vegetais, apresentando-se sob muitas variações como flavonóis, flavonas, flavanonas, catequinas, antocianinas, isoflavonas e chalconas (figura 2). As principais fontes dos flavonoides encontram-se na jabuticaba, café, cebola, maçã, uva, cerveja, vinho tinto e especialmente chá, que contém em maior quantidade as catequinas em sua composição (GRAHAM, 1992; SILVA et al., 2010; VAN ACQUIRE, 1996).

Figura 2 – Estrutura química dos principais flavonoides encontrados em frutas



Fonte: MARÇO et al. 2008

Os flavonoides atuam promovendo a inativação dos radicais livres nos compartimentos celulares lipofílicos e hidrofílicos e possuem a capacidade de doar átomos de

hidrogênio, fazendo com que as reações em cadeia provocadas pelos radicais livres sejam inibidas (DEGÁSPARI; WASZCZYNSKYJ, 2004).

A capacidade de provocar oxidação dos flavonoides vai depender do número e da posição dos grupos hidroxilas e sua conjugação, assim como da presença de doadores nos anéis aromáticos (KUSKOSKI et al., 2004).

Os átomos de hidrogênio dos grupos hidroxila adjacentes (orto-difenóis) que estão localizados em várias posições dos anéis A, B e C, além das duplas ligações dos anéis benzênicos e da dupla ligação da função oxo (C=O) de algumas moléculas de flavonoides garantem a esses compostos sua alta de promover uma atividade antioxidante (HRAZDINA et al., 1970; MAMEDE; PASTORE 2004; RICE-EVANS et al., 1996).

Estima-se que a ingestão diária de flavonoides por humanos deve ser de 1 g. Existem relatos documentados que o consumo dessas substâncias pode reduzir a mortalidade por insuficiência cardíaca coronariana, além de atuarem como antibacteriana, antiviral, anti-inflamatório, vasodilatadora, inibidores da oxidação de lipoproteína de baixa densidade livre (LDL-C) e efeito protetor em sistemas biológicos (LAGE, 2014; ZHANG et al., 2001).

3.5.2 Antocianinas

Dentro do grupo de flavonoides temos as antocianinas que são glicosídeos de antocianidinas, na qual sua estrutura básica é o cátion flavílio/2-fenilbenzopirilium. As antocianinas são definidas como pigmentos solúveis em água, responsáveis pela coloração entre laranja e vermelho de frutos e raízes e a cor azul em flores. Essa coloração está relacionada pelo número de hidroxilas, de grupos metóxi e de glicosídeos existentes na estrutura do composto. A intensidade da cor vermelha é devida a quantidade de grupos metoxila, enquanto a cor azul está relacionada aos grupos hidroxila e glicosídeos. A ação da vitamina C, Oxigênio, temperatura e pH do meio são os responsáveis por causarem a degradação desses pigmentos que são muito instáveis. (LIMA et al, 2011a).

Devido à alta capacidade antioxidante das antocianinas atuando na captura de radicais livres muitos problemas cardiovasculares, diabetes, mal de Alzheimer e carcinogênicos são prevenidos (KUSKOSKI et al, 2006; LIMA et al, 2008; LAJE, 2014).

A capacidade antioxidante das antocianinas está relacionada com sua estrutura química sendo influenciada pelas posições e tipos de grupos químicos ligados aos anéis aromáticos e pela variada capacidade de aceitar elétrons desemparelhados (GALVANO et al., 2004). Utilizando o método ORAC (*Oxygen radical absorbance capacity*) para captura de

radicais peroxil, Wang Cao e Prior (1997) determinaram a capacidade antioxidante de 14 antocianinas e seus derivados glicosilados em solução aquosa e pH neutro, na qual eles identificaram que a antocianina cianidina-3-glicosídeo apresentou um valor de atividade antioxidante 3,5 maior que a vitamina E (LAJE, 2014).

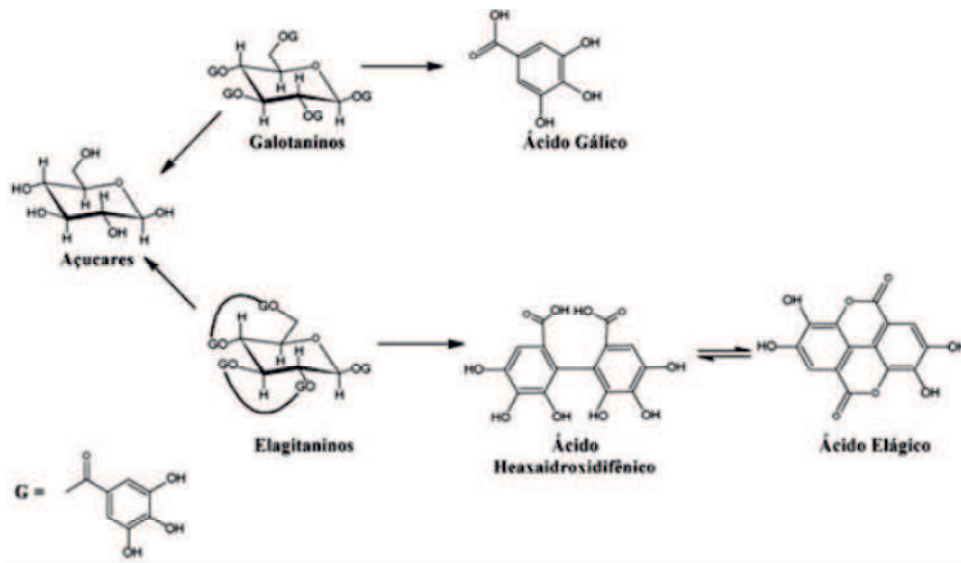
3.5.3 Taninos

Os taninos são compostos fenólicos solúveis em água com massa molecular entre 500 e cerca de 3.000 Daltons sendo capazes de formar complexos fortes, insolúveis em água com alcaloides, gelatina e outras proteínas. Estes complexos são geralmente instáveis e suas ligações químicas são constantemente quebradas e refeitas, e são divididos de acordo com o tipo de ligação: 1) ligação de hidrogênio (reversível e dependente de pH) entre o radical hidroxila do grupo fenol e o oxigênio do grupo amida nas ligações de proteína, 2) ligação hidrofóbica (reversível e dependente do pH) entre o anel aromático e a região hidrofóbica da proteína, 3) ligações iônicas (reversível) entre o íon fenolato e o sítio catiônico da proteína (exclusivo para taninos hidrolisáveis) e 4) ligações covalentes (irreversíveis), resultante da oxidação de polifenóis que gera quinonas, as quais reagem e se condensam com grupos nucleofílicos de proteínas (CORDÃO et al., 2010; FRUTOS et al., 2004)

Os taninos são classificados em dois grupos principais, cujas estruturas são muito diferentes entre si, embora todos tenham molécula poli-hidroxifenóis ou seus derivados. (DESHPANDE et al., 1986; LIMA, 2009).

Os pertencentes ao primeiro grupo são denominados taninos hidrolisáveis, que incluem os galitaninos e os elagitaninos, polímeros derivados dos ácidos gálico e elágico, que são hidrolisáveis com ácidos, bases ou enzimas (Figura 3).

Figura 3 – Hidrólise de taninos hidrolisáveis.

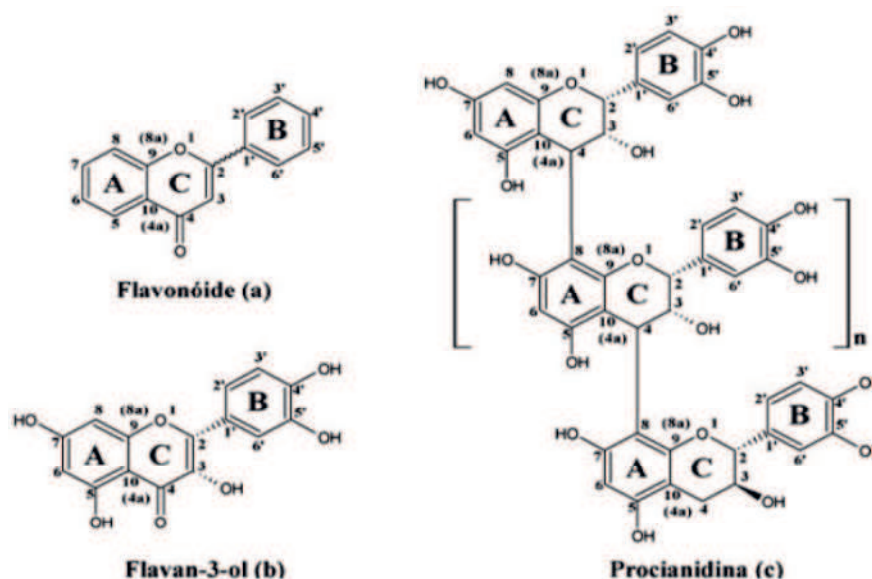


Fonte: Queiroz, Morais e Nascimento (2002).

A hidrólise do ácido tânico, um típico tanino hidrolisável, pode acontecer espontaneamente ou pela ação de enzimas, e tem como resultado a glicose e o ácido gálico. Este grupo de taninos é bastante utilizado para a curtição de couros. (BOBBIO; BOBBIO, 1989; CORDÃO et al., 2010; DEGÁSPARI; WASZCZYNSKYJ, 2004; FENNEMA, 1993; MELO; GUERRA, 2002; SINGLETON; KRATZER, 1973).

Os outros tipos de taninos são chamados de taninos condensados ou não hidrolisáveis e são encontrados em maior quantidade e apresenta maior importância em alimentos. Possuem uma estrutura semelhante aos flavonoides, com coloração variando do vermelho ao marrom, e são formados predominantemente por unidades de flavan-3-ols (catequina) e flavan 3,4-diols (leucoanto-cianidina) unidas através de ligações carbono-carbono não susceptíveis de quebra por hidrólise (Figura 4) (CANNAS, 2001; CORDÃO et al., 2010).

Figura 4 – Taninos condensados.



Fonte: Queiroz, Morais e Nascimento (2002).

A presença de pequenas quantidades de taninos em frutos confere-lhes características sensoriais desejáveis, ditas como “o corpo da fruta”. No entanto, quantidades maiores conferem aos frutos e outros alimentos características adstringentes. A sensação de adstringência é gerada devido à propriedade que os taninos apresentam de precipitar proteínas. Quando em contato com as proteínas da saliva, forma um complexo insolúvel que popularmente se caracteriza pela sensação “amarrando a língua”. (BOBBIO; BOBBIO, 1989; DEGÁSPARI; WASZCZYNSKYJ, 2004).

Os taninos apresentam propriedades antimicrobianas e ação como sequestradores de radicais livres. Suas propriedades antioxidantes são importantes na prevenção de danos oxidativos celulares, incluindo a peroxidação lipídica. Essas propriedades também podem estar relacionadas com seu potencial anticarcinogênico e antimutagênico. (DEGÁSPARI; WASZCZYNSKYJ, 2004; SOARES, 2002).

3.5.4 Não-flavonoides

Na classe dos não-flavonoides estão os derivados dos ácidos hidroxicinâmico e hidroxibenzóico (Figura 5). Sua atividade antioxidante está envolvida com a posição dos grupos hidroxilas e também com a proximidade do grupo $-COOH$ em relação ao grupo fenil. Assim, quanto mais próximo esse grupo estiver do grupo fenil, maior será a capacidade antioxidante do grupo hidroxila na posição meta (HRAZDINA et al., 1970; SILVA et al., 2010).

Figura 5 Moléculas dos ácidos hidrocinnâmico (A) e do hidroxibenzoico (B).



Fonte: Silva et al. (2010).

Os principais compostos fenólicos não-flavonoides derivados dos ácidos hidroxicinnâmicos são os ésteres dos ácidos caféico, cumárico e felúrico, que estão presentes em alimentos como maçã, pêra, cereja. Quanto aos derivados dos ácidos hidroxibenzoicos, podemos destacar os ácidos salicílicos, gálico, elágico, protocatéico e vanílico, que são encontrados em morango, uva, laranja, limão e tangerina (BELITZ; GROSCH, 2004).

Os ácidos hidroxicinnâmicos são dotados de funções biológicas com ação anti-inflamatória, antimicrobiana e anticarcinogênica (LUZIA; JORGE, 2010). Normalmente ocorrem como ésteres de ácidos orgânicos ou glicosídeos. Afetam a estabilidade, a cor e o sabor de alimentos. Seu maior representante é o ácido caféico, que ocorre em alimentos na forma esterificada como ácido clorogênico. Tanto ácido caféico como ácido clorogênico demonstram atividade antioxidante *in vitro*. (GASPAR et al., 2010; SOARES, 2002).

3.6 Radical livre DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazila)

O DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazila) é um radical livre orgânico, amplamente utilizado como indicador de atividade antioxidante de fenóis, alimentos e amostras biológicas, sendo vantajoso por ser um radical estável. O método do DPPH foi descrito inicialmente por Blois (1958) e adaptado por Brand-William et al. (1995), os quais estabeleceram e popularizaram seu uso nas pesquisas de antioxidantes. Algumas condições como tipo de solvente, pH, concentração das amostras e tempo de reação influenciam o método. Além disso, há a necessidade do radical estar dissolvido sempre em solventes orgânicos como, por exemplo, metanol e etanol (CHENG et al., 2009; PIRES et al., 2017).

O radical DPPH é estável, de coloração púrpura, porém quando reduzido passa a ter coloração amarela. O método está baseado na capacidade do DPPH em reagir com doadores

de hidrogênio, na qual estando na presença de substâncias antioxidantes o mesmo recebe H^+ e sofre uma redução na sua quantidade. Pode ser facilmente detectado por espectroscopia devido a sua intensa absorção na região visível. O ensaio é iniciado pela adição do DPPH e a amostra, em solução. A capacidade da amostra de reduzir o DPPH, ou seja, evitar sua oxidação é evidenciado pelo decaimento da absorbância a 515/517 nm e pela porcentagem de DPPH restante no sistema. Sendo assim, a porcentagem de DPPH restante é proporcional à concentração de antioxidante (SANCHEZ-MORENO, 2002; BONDET et al., 1997; TOMEI; SALVADOR, 2005).

3.7 Método de Folin-Ciocalteu para análise de fenólicos totais

A quantificação de compostos fenólicos é realizada por meio de diversos métodos. NO entanto, o que utiliza o reagente de Folin-Ciocalteu é o mais extensivamente empregado. Assim, o ensaio de Folin-Ciocalteu tem sido utilizado para mensurar os fenólicos totais em produtos naturais e o seu mecanismo básico é uma reação de oxi-redução (REZENDE, 2010).

O referido reagente consiste em uma mistura dos ácidos fosfomolibdico e fosfotungstico, onde o molibdênio e o tungstênio se encontram em um estado de oxidação +4. Na presença de agentes redutores, ocorre a formação de molibdênio e tungstênio azul, cujo estado de oxidação se encontra entre +5 e +6. Esta mudança na coloração permite que seja determinada a concentração de substâncias redutoras, neste caso, os compostos de natureza fenólica (CHAVES et al., 2010).

O método espectroscópico de Folin-Ciocalteu é um dos mais utilizados para a determinação de fenólicos totais em vegetais e bebidas e tem como intuito provocar a redução dos ácidos fosfomolibdico-fosfotungstico pelas hidroxilas fenólicas, originando óxidos azuis de tungstênio (W_8O_{23}) e de molibdênio (Mo_8O_{23}), um complexo que absorve em $\lambda_{m\acute{a}x}=760$ nm. Toda a reação ocorre em meio alcalino e a solução de Na_2CO_3 é a base mais utilizada e indicada no processo (MOYER et al., 2002, REZENDE, 2010).

4 METODOLOGIA

O presente trabalho seguiu a metodologia de Almeida (2016), Cruz (2013), Florentino (2017) e foi voltado ao desenvolvimento de uma bebida láctea fermentada potencialmente probiótica, fazendo uso de produtos da casca de jabuticaba e de uma cultura nativa de lactobacilos.

Após a obtenção, lavagem e sanitização dos frutos de jabuticaba, foi realizado o despulpamento manual e coleta das cascas que foram congeladas para uso no preparo de extrato hidroalcoólico, calda e geleia, os quais foram incorporados na bebida láctea fermentada.

As análises consistem na determinação dos teores de compostos fenólicos totais presentes na bebida láctea de jabuticaba, além do ensaio de capacidade de captura do DPPH e cálculo do EC_{50} .

4.1 Obtenção dos frutos da jabuticaba

Os frutos da jabuticaba foram adquiridos no comércio local da cidade de Campina Grande-PB nos períodos de safra de jabuticaba, meses de março a abril dos anos de 2014 e 2015, na qual estes foram devidamente selecionados, lavados e higienizados com hipoclorito de sódio em solução (200 mg L^{-1} de cloro livre).

Cada fração da jabuticaba foi separada (polpa, casca e semente) por meio de despulpamento manual e suas cascas foram congeladas a $-18 \text{ }^\circ\text{C}$.

4.2 Preparo do extrato aquoso

Para hidrólise parcial e solubilização dos taninos, que são responsáveis pelo gosto adstringente, as cascas da jabuticaba foram tratadas em meio ácido através da adição de suco de limão na proporção de 0,15: 1,0: 2,0 (suco de limão: casca de jabuticaba: água destilada) por 45 minutos e em temperatura ambiente.

Em seguida, as cascas foram enxaguadas, trituradas com água destilada em uma proporção de 90,5 para 170 g (casca: água) e filtradas em redes de nylon (abertura de, aproximadamente, 0,300 mm) para que ocorresse a separação do resíduo de cascas do filtrado.

Assim, o filtrado obtido foi utilizado para triturações sequenciais de demais cascas, até a obtenção de um extrato aquoso contendo 2,5 g 100 g⁻¹ de sólidos solúveis que foram utilizados para produção de geleia e calda de jabuticaba. O resíduo obtido a cada trituração foi armazenado a 4 °C, para ser utilizado na produção do extrato hidroalcoólico.

4.3 Preparo do extrato hidroalcoólico

A preparação do extrato hidroalcoólico seguiu o método descrito por Cruz (2013) para o aproveitamento do resíduo da indústria vitivinícola, com adaptações.

Sendo assim, o resíduo originado pela produção do extrato aquoso da casca da jabuticaba foi hidratado durante 1 h com água autoclavada e distribuído em frascos de Erlenmeyer, juntamente com álcool potável (álcool etílico extra-neutro, Usina Giasa, Biosev, Pedras de Fogo, Brasil). Foi utilizada a proporção de 1:9 (resíduo: álcool potável a 30% em água com acidificação até pH 4,0).

A extração foi realizada em banho de ultrassom por 2 h, em temperatura de 50 °C. Posteriormente, o resíduo foi filtrado em rede de nylon (abertura de, aproximadamente, 0,300 mm), na qual o extrato hidroalcoólico obtido de três filtrações foi colocado em béqueres de 1000 mL para a secagem em estufa de circulação de ar, em temperatura constante de 50 °C, até a evaporação do etanol e atingir 5% a 6% do volume inicial.

O extrato foi devidamente armazenado em tubos criogênicos a -18 °C, sendo acrescentado nas formulações de bebida láctea na proporção de 2% (18,7 g de extrato hidroalcoólico para 935 g de base láctea), de modo a auxiliar na coloração, como também no aumento do teor de compostos fenólicos do produto final.

4.4 Preparo da geleia da casca de jabuticaba

Para o desenvolvimento da geleia utilizou-se o extrato aquoso com 2,5 g 100 g⁻¹ de sólidos solúveis, obtido conforme descrito na subseção 4.2, adicionado de açúcar (sacarose) e pectina (GrindstedPectin YF 310, Danisco Mexicana, DuPont, Apatzingán de la Constitución, México). A formulação usada para os ensaios foi produzida pela fervura, sob baixo aquecimento, dos ingredientes acima citados até a obtenção de 60% de sólidos solúveis, no qual a geleia apresenta consistência firme, porém espalhável, apropriada para o acompanhamento de bebida láctea cremosa. Na Tabela 3 são apresentadas as proporções dos

ingredientes utilizados no preparo da geleia. A geleia foi distribuída em potes plásticos na quantidade de 12 a 13 g.

Tabela 3 – Proporção de ingredientes para a produção da geleia nos ensaios definitivos.

Componentes	Proporção (g 100g ⁻¹)
Extrato aquoso (2,5% de sólidos solúveis)	66,4416
Açúcar comercial (sacarose)	33,174
Pectina (YF310, DuPont)	0,41
Corante natural carmim de cochonilha	0,0044
Total	100

Fonte: dados de pesquisa.

4.5 Preparo da calda de casca de jabuticaba

A calda de casca de jabuticaba foi utilizada para incorporação na bebida láctea com o objetivo de aumentar o teor de compostos fenólicos.

O preparo da calda foi semelhante ao preparo da geleia, no qual se utilizou o extrato aquoso (2,5 g 100 g⁻¹ de sólidos solúveis), açúcar e pectina nas proporções apresentadas na Tabela 4.

Após baixo aquecimento, obteve-se o teor de sólidos solúveis de, aproximadamente, 40 g 100 g⁻¹, sendo a calda mantida sob refrigeração a 4 °C até a sua incorporação na bebida láctea fermentada.

Tabela 4 – Produção da calda da casca de jabuticaba

Componentes	Proporção (g 100g ⁻¹)
Extrato aquoso (2,5% de sólidos solúveis)	66,39
Açúcar comercial (sacarose)	33,19
Pectina (YF310, DuPont)	0,420
Total	100

Fonte: dados de pesquisa

4.6 Desenvolvimento das bebidas lácteas fermentadas probióticas

4.6.1 Preparo da base láctea

Para o preparo da base láctea foram utilizados o soro de queijo Minas frescal, leite em pó desnatado (Molico, Nestlé, Araçatuba, Brasil) e açúcar. Assim, o soro foi previamente obtido após a coagulação do queijo, utilizando leite pasteurizado Cariri Light (Cooperativa Agropecuária do Cariri Ltda., Campina Grande, Brasil), coagulante Hannilase (Chr. Hansen, Valinhos, Brasil) e cloreto de cálcio, seguindo a metodologia descrita por Florentino (1997) para queijo coalho, com adaptações.

Após o preparo do queijo, o soro de queijo foi acondicionado em sacos de plástico de nylon e armazenado a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ até ao momento de sua utilização.

A base láctea foi produzida através de tratamento térmico dos ingredientes soro de queijo, açúcar e leite em pó desnatado reconstituído para em seguida serem adicionadas culturas microbiológicas para a fermentação e produção das bebidas lácteas.

O soro de queijo foi tratado termicamente a $85\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 5 minutos para inativação das enzimas coagulantes ainda presentes no soro e evitar a coagulação da base láctea. Os ingredientes da base láctea (antes da adição das culturas) são apresentados na Tabela 5.

Tabela 5 – Ingredientes utilizados no preparo da base láctea

Componentes	Proporção (g 100g^{-1})
Soro de queijo	84,00
Açúcar comercial (sacarose)	8,00
Leite em pó desnatado Molico (Nestlé, Araçatuba, Brasil)	8,00
Total	100,00

Fonte: dados de pesquisa

A base láctea foi tratada termicamente a $85\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 30 minutos e sendo armazenada a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ até o processo de fermentação.

4.6.2 Processo de fermentação

Antes do processo de fermentação, a base láctea pasteurizada foi aquecida a 40 °C, para ser adicionada a cultura *starter* liofilizada, constituída de *Streptococcus thermophilus* TA40 (DuPont) e da bactéria nativa, sendo mantida a 43 ± 2 °C durante o tempo necessário para alcançar valor de pH menor ou igual a 5,0 e acidez igual ou superior a 0,6 g 100 g⁻¹ de ácido láctico.

4.6.3 Produção da bebida láctea cremosa fermentada potencialmente probiótica

As proporções, estabelecidas em ensaios pilotos, para a elaboração das bebidas lácteas são demonstradas na Tabela 6.

Tabela 6 – Proporção de cada componente da bebida láctea cremosa

Componentes	Proporção (g 100g ⁻¹)
Base láctea	90
Pectina YF310 (DuPont)	1,75
Extrato hidroalcoólico	2,00
Corante natural carmim de cochonilha	0,045
Ácido láctico alimentício (solução a 85%, Purac Sínteses)	0,48
Calda	5,725
Total	100

Fonte: dados de pesquisa

Foi realizado o preparo de duas formulações, em 3 lotes cada (triplicatas verdadeiras): formulação controle F1 – produzida com a cultura iniciadora de *S. thermophilus* TA40; formulação experimental F2 – produzida com *S. thermophilus* TA40 e a cultura nativa potencialmente probiótica de *Lactobacillus plantarum* CNPC003 (EMBRAPA). A formulação F2 consiste em uma formulação nova e não disponível no mercado, produzida com uma cultura nativa de lactobacilos isolada de derivados de leite de cabra e previamente avaliada quanto ao seu potencial probiótico pela Embrapa Caprinos e Ovinos (Sobral, CE).

Por fim, foram produzidos 935 g de base láctea de cada formulação, as quais foram misturadas aos demais ingredientes, para a obtenção das bebidas lácteas cremosas.

Após a mistura em liquidificador de todos os componentes (base láctea, ácido láctico, corante carmim de cochonilha, calda da casca de jabuticaba, extrato hidroalcoólico e pectina), 75 g de cada formulação, em separado, foram acondicionadas em potes plásticos já contendo a geleia da casca de jabuticaba (12 - 13 g) e armazenadas a 4 °C, totalizando uma quantidade de, aproximadamente, 100 g de produto final em cada pote. Foram preenchidos 12 potes para cada formulação (F1 e F2) em cada lote.

4.7 Determinações dos compostos fenólicos totais e atividade antioxidante

4.7.1 Amostragem

As determinações de dosagem de fenólicos totais, captação do radical livre DPPH e EC_{50} foram realizadas em amostras que estavam congeladas a -18 °C. Antes do congelamento, as amostras foram armazenadas a 4 °C por períodos de 1, 7, 14 e 21 dias da data de fabricação.

4.7.2 Obtenção do extrato das bebidas lácteas

A obtenção do extrato das bebidas lácteas foi realizada com base nos métodos propostos por Karaaslan et al. (2011) e Santos et al. (2017), com algumas modificações.

Amostras de bebida láctea contidas criotubos ($0,2500 \pm 0,0500$) receberam 1 mL de metano acidificado (0,01 mol/L) para serem misturas em vórtex e deixadas em repouso por uma noite, sob refrigeração a 4 °C.

As misturas refrigeradas foram submetidas a centrifugação (centrífuga refrigerada Eppendorf, modelo 5810R, Hamburg, Alemanha) a $13.500 \times g$ durante 5 minutos à 4 °C. O sobrenadante foi coletado em um balão volumétrico de 25 mL e o resíduo contido no criotubo recebeu 0,5 ml de metanol acidificado. O processo segue em repetição por mais 5 vezes para garantir uma a obtenção de extrato até o esgotamento de fenólicos da amostra. O balão volumétrico contendo o sobrenadante foi completado até o menisco com metano acidificado.

Por fim, foi coletado 1 mL do conteúdo balão e adicionado e transferido para um criotubo para última centrifugação por 1 min com intuito de eliminar a caseína presente. O sobrenadante desta última centrifugação constituiu o extrato final das amostras, o qual foi utilizado para a quantificação de compostos fenólicos e avaliação da atividade antioxidante. Tais procedimentos foram realizados no escuro.

4.7.3 Preparo do ensaio do padrão fenólicos

Para o desenvolvimento do ensaio padrão de fenólicos, foi utilizado o ácido gálico anidro (Vetec, Sigma-Aldrich, Duque de Caxias, Brasil). Uma “solução mãe” foi preparada pesando-se 0,0200 g de ácido gálico, a qual foi dissolvida em metanol acidificado 9,4 mmol L⁻¹ e, em seguida, transferida quantitativamente para um balão volumétrico de 100 mL, obtendo-se uma concentração final de 200 mg de ácido gálico L⁻¹.

O metanol acidificado 9,4 mmol L⁻¹ foi preparado adicionando, num balão volumétrico de 200 mL, 12 mL de água destilada e completando o volume com metanol acidificado 0,01 mol L⁻¹.

A seguir, foram pipetados, em sequência, 0,125 mL, 0,25 mL, 0,5 mL, 1,0 mL, 1,5 mL, 2,0 mL, 2,5 mL, 3,0 mL, 3,5 mL, 4,0 mL, 4,5 mL da “solução mãe” de ácido gálico (200 mg L⁻¹) em, respectivamente, 11 balões volumétricos de 10 mL, completando até o menisco com metanol acidificado 9,4 mmol L⁻¹. Foram medidas as absorvâncias de todas as diluições contidas em cada balão. A partir dos valores de absorvância foi possível obter a equação da reta do ensaio de calibração dos fenólicos.

4.7.4 Análise do conteúdo fenólico total

Assim como a obtenção do extrato das bebidas, a análise do conteúdo de fenólicos também seguiu o método proposto por Karaaslan et al. (2011) e Santos et al. (2017).

Após a centrifugação, 60 µL de cada extrato preparado, 2.340 µL de água destilada e 150 µL de reagente Folin-Ciocalteu (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Alemanha) foram transferidos para tubos de ensaio plásticos de 15 mL e misturados.

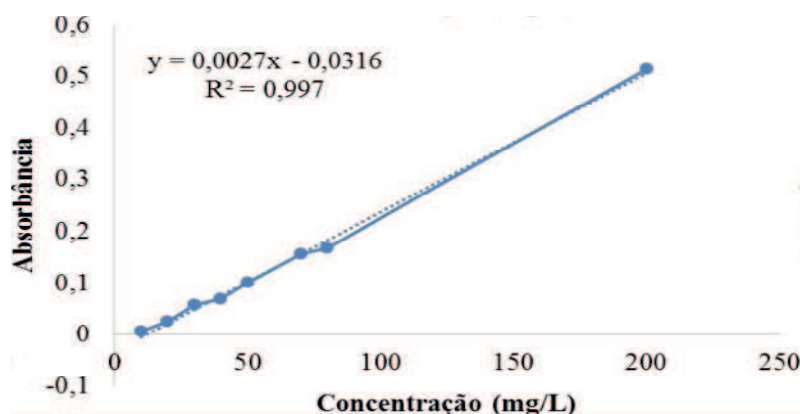
A amostra controle foi preparada adicionando 60 µL de metanol acidificado na concentração de 9,4 mmol no tubo falcon que é misturado com os 2.340 µL de água destilada e 150 µL de reagente Folin-Ciocalteu.

Depois de 8 min, foram adicionados aos tubos 450 µL de solução de Na₂CO₃ (preparada com 30 g de Na₂CO₃, Neon, Suzano, Brasil, em água destilada para um volume total de 100 mL). A mistura sofreu agitação e novamente foi deixada em repouso durante 30 min em temperatura ambiente.

Em espectrofotômetro (SP 2000 UV, Spectrum, Tucumán, Argentina) foi realizada a leitura da absorbância em 750 nm, utilizando o metanol acidificado 0,01 mol/L para correção das leituras.

Para os cálculos dos resultados, utilizou-se a equação do ensaio de calibração de fenólicos, realizado com diferentes concentrações de ácido gálico, conforme descrição a seguir (Figura 6).

Figura 6 – Ensaio de calibração com ácido gálico.



Fonte: dados da pesquisa.

4.7.5 Determinação da atividade antioxidante total pela captura do radical DPPH.

Este procedimento foi adaptado de Karaaslan et al. (2011), Larrauri et al. (1997) e Rufino et al. (2007).

A solução de DPPH 0,1 mmol L⁻¹ (Aldrich Chemistry, Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri, EUA) foi preparada com etanol P.A (0,0010 g de DPPH e completado o volume para 25 mL com etanol). O mesmo álcool foi utilizado para a correção das absorbâncias em 517 nm.

A partir do extrato, obtido conforme a descrição no item 4.7.2, foram feitas preparações em tubos de ensaio plásticos de 15 mL de três diluições diferentes em triplicata, conforme a descrição nos parágrafos seguintes.

Os controles foram preparados em três tubos, em que no primeiro tubo foram adicionados 50 µL de etanol e 2950 µL da solução de DPPH, no segundo tubo 100 µL de etanol e 2900 µL da solução de DPPH e no terceiro tubo 200 µL de etanol e 2800 µL da solução de DPPH.

As amostras de extrato também foram preparadas em três tubos. No primeiro foi coletado 50 µL de extrato e adicionado de 2950 µL da solução de DPPH. No segundo tubo

tipo foram utilizados 100 μL do extrato e 2900 μL da solução de DPPH e no terceiro tubo 200 μL de extrato e 2800 μL da solução de DPPH.

Após o preparo, os controles e as amostras foram agitados e suas leituras de absorvância foram obtidas em 517 nm no espectrofotômetro imediatamente (tempo inicial, 0 min) e após 30 min e 60 min do início da leitura.

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

$$\% \text{ de sequestro de DPPH} = \frac{(\text{ABSC}_{60\text{min}} - \text{ABSA}_{60\text{min}})}{\text{ABSC}_{60\text{min}}} \times 100 \quad (1),$$

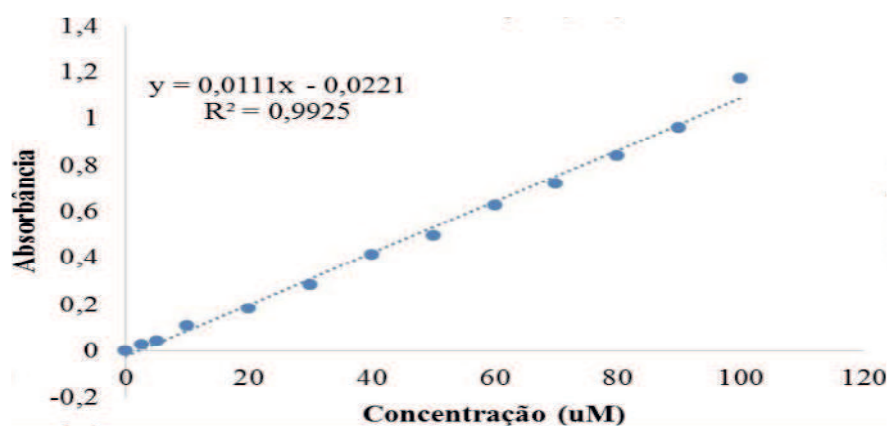
onde $\text{ABSC}_{60 \text{ min}}$ é a absorvância do controle, na concentração de 200 μL em 2800 μL , no tempo de 60 min, $\text{ABSA}_{60 \text{ min}}$ é a absorvância da amostra, na concentração de 200 μL em 2800 μL , no tempo de 60 min.

As leituras das absorvâncias no tempo de 60 min e nas três concentrações preparadas do controle e das amostras foram utilizadas para o cálculo do EC50.

4.7.6 Preparação do ensaio de calibração com DPPH

O ensaio de calibração para análise de atividade antioxidante pela captura de radicais DPPH (Figura 7) é realizado a partir do preparo da solução padrão de DPPH 0,1 mmol L^{-1} em etanol. Para esse fim, pesou-se 0,004g de DPPH, o qual foi diluído em etanol P.A. e, em seguida, transferido quantitativamente para um balão volumétrico de 100 mL. A partir desta solução foram obtidas outras diluições, sendo as concentrações de 0, 2,5, 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 e 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ utilizadas para o ensaio de calibração.

Figura 7 – Ensaio de calibração com DPPH.



Fonte: dados da pesquisa.

4.7.7 Cálculo do EC_{50}

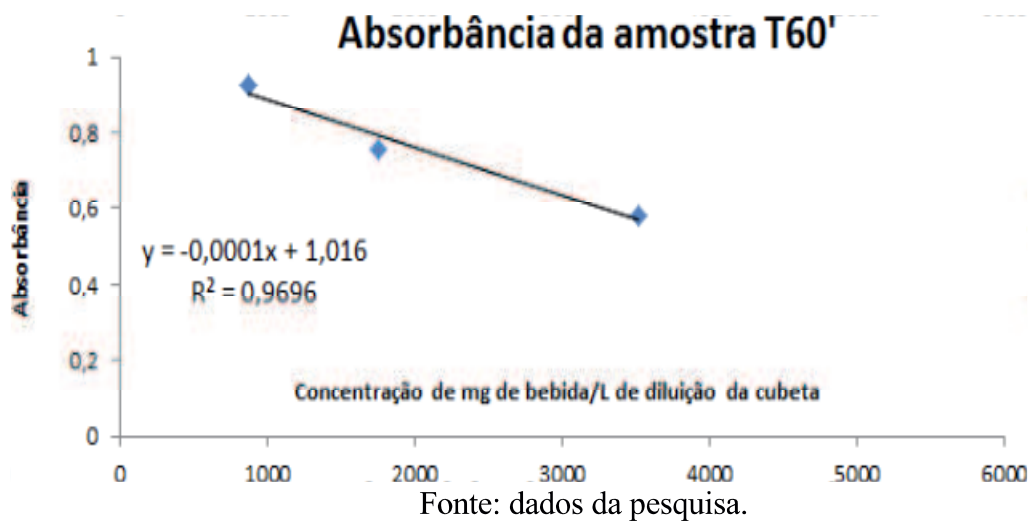
O EC_{50} corresponde à quantidade de amostra necessária para reduzir em 50% a concentração inicial do radical DPPH, conforme apresentado na equação (2):

$$y = -ax + b \quad (2),$$

onde y é igual à metade da absorbância do controle no tempo 60 min e x é igual ao EC_{50} em mg de bebida L^{-1} de solução de DPPH ($0,1 \text{ mmol } L^{-1}$).

Assim, após a leitura em espectrofotômetro no comprimento de onda de 517 nm, substituiu-se o valor correspondente à metade da absorbância do controle no tempo 60 min pelo y da equação do ensaio de calibração com DPPH (Figura 8) e encontrou-se o valor de x correspondente ao EC_{50} ($mg L^{-1}$).

Figura 8 – Exemplo de gráfico com a concentração de bebida *versus* absorbância para o cálculo do EC_{50} .



Sabendo que 1 mol de DPPH equivale a 394,3 g, o resultado final de EC_{50} deste estudo foi expresso como massa de bebida láctea (g) necessária para capturar 1 g de DPPH (g de bebida g^{-1} de DPPH).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos das análises de compostos fenólicos totais estão apresentados na Tabela 7.

Tabela 7 – Fenólicos totais (mEq de ácido gálico/100 g) nas amostras de bebida láctea.

Tempo de armazenamento (dias)	Formulação	
	Controle (F1) TA-40	Experimental (F2) TA-40 + CNPC003
1	54,09 ± 9,27Aa	50,03±18,63Aa
7	75,34 ± 37,11Aa	68,37±15,80Abc
14	68,35 ± 31,29Aa	85,65±23,06Ac
21	62,77 ± 21,60Aa	56,56±14,92Aab

Fonte: dados da pesquisa.

Comparando-se a bebida láctea controle com a formulação de bebida láctea adicionada da cultura nativa potencialmente probiótica *L. plantarum* CNPC003, percebe-se que não existe diferença significativa entre eles considerando o mesmo dia de armazenamento ($p > 0,05$). Igualmente, fazendo-se a comparação entre os tempos de armazenamento para a bebida contendo apenas o microrganismo controle, não houve diferença significativa ($p > 0,05$). Porém, quando analisando os tempos referentes aos armazenamentos somente para a bebida com a cultura nativa *L. plantarum*, observa-se que há uma diferença significativa entre o primeiro dia e os dias 7 e 14, assim como entre os dias 14 e 21 ($p < 0,05$). Percebe-se na primeira semana de armazenamento há um aumento significativo de concentração dos compostos fenólicos ($p < 0,05$). Apesar de não significativo ($p > 0,05$), há uma tendência de aumento para a comparação entre os dias 7 e 14. No entanto, relacionando os valores dos dias 14 e 21, ocorre uma queda significativa na concentração ($p < 0,05$). É possível que certos rearranjos na estrutura dos compostos fenólicos sejam intensificados na presença de diferentes microrganismos no produto, que apresentam atividade metabólica sobre tais compostos. Segundo Cordão et al. (2010) e Frutos et al. (2004), o complexo formado entre taninos e proteínas ou outros compostos são, na maioria das vezes, instáveis, e suas ligações químicas são constantemente quebradas e refeitas, e são divididos conforme com o tipo de ligação: 1) ligação de hidrogênio (reversível e dependente de pH) entre o radical hidroxila do grupo fenol e o oxigênio do grupo amida nas ligações de proteína, 2) ligação hidrofóbica (reversível e

dependente do pH) entre o anel aromático e a região hidrofóbica da proteína, 3) ligações iônicas (reversível) entre o íon fenolato e o sítio catiônico da proteína (exclusivo para taninos hidrolisáveis) e 4) ligações covalentes (irreversíveis), resultante da oxidação de polifenóis que gera quinonas, as quais reagem e se condensam com grupos nucleofílicos de proteínas.

Com embasamento na literatura, explica-se estes resultados devido ao rearranjo dos compostos fenólicos, paralelo à uma complexação dos mesmos com as proteínas da base láctea. Esta seria uma das possíveis explicações para essa ocorrência. Os fenólicos iniciais presentes na bebida podem ter sido complexados, talvez por consequência da ação de alguma mudança de pH ou acidez ocorrida ou até mesmo da ação da bactéria. Com isso, faz-se com que os fenólicos da bebida se liguem à outras moléculas da base láctea para seu aumento em massa, assim como tais ligações são posteriormente desfeitas pelo metabolismo microbiano.

Observando-se a Tabela 8, nas análises das bebidas quanto às formulações (controle e experimental com *L. plantarum* CNPC003), não houve diferença significativa entre elas no mesmo dia de armazenamento ($p > 0,05$). Também não houve diferenças significativas entre os tempos de armazenamento para cada formulação ($p > 0,05$). Porém, existe uma tendência de maior capacidade de captação de radicais livres no tratamento com *L. plantarum* no D7.

Tabela 8 – Captação de radicais DPPH (%) pelas amostras de bebida láctea.

Tempo de armazenamento (dias)	Formulação	
	Controle (F1) TA-40	Experimental (F2) TA-40 + CNPC003
1	29,65 ± 13,23 Aa	32,16 ± 14,45 Aa
7	27,45 ± 15,61 Aa	39,08 ± 0,99 Aa
14	28,26 ± 14,39 Aa	33,75 ± 2,08 Aa
21	35,03 ± 15,21 Aa	28,58 ± 12,03 Aa

Fonte: dados de pesquisa.

Na Tabela 9, observa-se que as bases lácteas, com e sem adição da cultura nativa, dentro de um mesmo tempo de amostragem, não diferem significativamente entre elas nos dias 1, 14 e 21 ($p > 0,05$). No entanto, para o dia 7, os valores foram significativamente menores para a formulação com *L. plantarum* ($p < 0,05$). Nesta bebida, também foram verificados uma tendência de aumento do teor de fenólicos e da captação de radicais DPPH nesse período de amostragem (Tabelas 7 e 8). Por esta razão, aos 7 dias seria necessária uma menor quantidade de bebida láctea para a captura de 1g de DPPH.

Tabela 9 – Valores de EC₅₀ (g de bebida/g de DPPH) obtidos para as amostras de bebida láctea.

Tempo de armazenamento (dias)	Formulação	
	Controle (F1) TA-40	Experimental (F2) TA-40 + CNPC003
1	329,75 ± 121,61Ab	367,06±201,10Abc
7	349,72±137,83Bc	184,47±42,49Aab
14	300,05±108,05Aa	313,29±91,00Ac
21	387,81±270,42Aabc	226,92±153,34Aa

Fonte: dados da pesquisa.

Para a formulação controle, houve diferenças significativas nos valores de EC₅₀ entre as duas primeiras semanas de armazenamento ($p < 0,05$). Comparando-se os tempos de armazenamento dessa formulação, nota-se que no dia 14 uma menor quantidade de bebida láctea seria exigida para captar 1g de DPPH. Comparando as duas formulações, possivelmente, a bebida controle teria menor capacidade de transformação dos compostos fenólicos que a bebida experimental com *L. plantarum*, pelo fato dessa última conter dois microrganismos presentes para trabalhar na modificação estrutural dessas moléculas existentes na bebida, conseguindo resultar em menores valores de EC₅₀ para a formulação com a cultura nativa ao final da primeira semana de armazenamento.

6 CONCLUSÃO

Mediante os resultados apresentados, foi possível concluir que a bebida láctea adicionada de produtos da casca de jabuticaba e fermentada com o microrganismo *Streptococcus thermophilus* TA-40 apresentou um aumento do teor de fenólicos, assim como uma maior capacidade de atividade antioxidante na captura de radicais livres. Também se destaca a importância da adição de uma cultura nativa potencialmente probiótica *L. plantarum* CNPC003 que foi fundamental para promover uma melhora significativa dos valores de EC₅₀ nas bebidas lácteas.

Considerando-se que a Jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) demonstrou ser rica em compostos fenólicos e ser capaz de promover o aumento da capacidade antioxidante, este estudo comprovou ser possível o aproveitamento da casca de jabuticaba em conjunto ao uso da cepa probiótica CNPC003 para a produção de bebidas lácteas fermentadas adicionadas com potencial funcional.

REFERÊNCIAS

- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA – ANVISA. **Alimentos com alegações de propriedades funcionais e ou de saúde, novos alimentos/ingredientes, substâncias bioativas e probióticos**. Dez. 2016. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/alimentos/alegacoes>>. Acessado em: 05 dez. 2017
- AHERNE, S.A.; O'BRIEN, N.M. Dietary flavonols: chemistry, food content, and, metabolism. **Nutrition**. New York: v. 18, n. 1, p. 75-81, 2002.
- ALEZANDRO, M. R.; DUBÉ, P.; DESJARDINS, Y.; LAJOLO, P. M.; GENOVESE, M. Comparative Analysis of chemical and phenolic composition of two species of jaboticaba: *Myrciariajaboticaba* (Vell.) Berg and *Myrciariacauliflora* (Mart.) O. Berg. **Food Research International**, n. 51, p. 468-477, 2013.
- ALMEIDA, K. E.; BONASSI, I. A; ROÇA, R. O. Características físicas e químicas de bebidas lácteas fermentadas com soro de queijo minas frescal. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 21, n. 2, p. 187–192, maio/ago. 2001.
- ALMEIDA, R. L. J. **Análises bromatológicas em bebidas láctea potencialmente probiótica com soro de queijo e ingredientes obtidos do aproveitamento da casca da jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*) [manuscrito] / 41 p.: il.color**. Universidade Estadual da Paríba, Centro de Ciências e Tecnologia, 2016.
- ANDERSEN, O. **As frutas silvestres brasileiras**. São Paulo: Globo, 1989.
- ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos: uma breve revisão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 66, n. 1, p. 232-240,
- ANTUNES, A. J.; CANHOS, V. **Aditivos em Alimentos**. Campinas: Editora da UNICAMP, 1984.
- ASCHERI, D.P.R.; ASCHERI, J.L.R.; CARVALHO, C.W.P. Caracterização da farinha do bagaço da jaboticaba e propriedades funcionais dos extrusados. **Ciência de Tecnologia de Alimentos**, v. 26, p.867-905, 2006.
- ASQUIERI, E. R.; SILVA, A. G. M.; CÂNDIDO, M. A. Aguardente de jaboticaba obtida da casca e borra da fabricação de fermentado de jaboticaba. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, 29(4): 896-904, out. dez. 2009.
- BARROS, J. Â. C.; CAMPOS, R. M. M.; MOREIRA, A. V. B. Atividade antioxidante em vinhos de jaboticaba e de uva. **Nutrire: Revista da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição**, v. 35, n. 1, p.73-83, abr. 2010.
- BELITZ, H. D.; GROSCH, W. **Food chemistry**. New York: Springer Verlag, 2004. 774p.
- BIDLACK, W.R. WANG, W.; Planejamento de alimentos funcionais, in SHILS, M.E, OLSON, J.A.; SHIKE, M.; ROSS, A.C.. **Tratado de Nutrição Moderna na Saúde e na Doença**. 9 ed., p.1959/1970,São Paulo: Manole,2004.

BOBBIO, F.O.; BOBBIO, P. A. **Introdução à química de alimentos**. 2.ed. São Paulo: Varela, 1989.

BOESSO, F.F. **Caracterização físico-química, energética e sensorial de refresco adoçado de jaboticaba**. 2014. 75 f. Dissertação (mestrado em Agronomia) – Faculdade de Ciências Agrônômicas da UNESP, Botucatu, São Paulo. 2014.

BONDET, V.; BRAND-WILLIAMS, W.; BERSET, C. Kinetics and mechanisms of antioxidant activity using the DPPH free radical method. **Food Sci. Technol.-Leb.** V.30, p.609-615, 1997.

BRAND-WILLIAMS, W; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensmittel-Wissenschaft Technologie**, London, v. 28, p. 25-30, 1995.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº16, de 23 de agosto de 2005. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Bebida Láctea. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 24 agosto 2005, sec. 1, p. 7.

BRENNA, O.V.; PAGLIARINI, E. Multivariate analyses of antioxidant power and polyphenolic composition in red wines. **J. Agric. Food Chemistry**. Chicago: v.49, p.4841-4844, 2001.

BRUNINI, M. A.; OLIVEIRA, A. L.; SALANDINI, C. A. R.. Influência de embalagens e temperatura no armazenamento de jaboticabas (*Myrciaria jaboticaba* (Vell) Berg) cv ‘Sabará’. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 24, n. 3, p. 378-383, 2004.

BURNS, J.; GARDNER, P. T.; MATTHEWS, D.; DUTHIE, G. G.; LEAN, M. E. J; CROZIER, A. Extraction of phenolics and changes in antioxidant activity of red wines during vinification. **J. Agric.Food Chemistry**. Chicago: v.49, p. 5797-5808, 2001.

CALDEIRA, L. A.; FERRÃO, S. P. B.; FERNANDES, S. A. A.; MAGNAVITA, A. P. A.; 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**, Santa Maria, Online, 2010.

CAMPOS, C. R. et al. Avaliação do processo fermentativo da bebida alcoólica de jaboticaba (*Myrciaria cauliflora* Berg). In: **congresso brasileiro de Ciências e Tecnologia de Alimentos**, 13.,2002, Porto Alegre. Anais. Porto Alegre: SBCTA, 2002,p.932-935. 1 CD-ROM.

CANNAS, A. Tannins: **fascinating but sometimes dangerous molecules**. Itaka, 2001. Pesquisado em:<<http://www.ansci.cornell.edu/plants/toxicagents/tannin.htm>>. Acessado em: 20 de out. 2017.

CAPITANI, C. D.; PACHECO, M. T. B.; GUMERATO, H. F.; VITALI, A.; SCHMIDT, F. L. Recuperação de Proteínas do Soro de Leite por meio de Conservação com Polissacarídeo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.40, n.11, p.1123-1128, nov. 2005.

CARVALHO, J. A; SANTOS, C. S. S; CARVALHO, M. P; SOUZA, L. S. A. O alimento como remédio: Considerações sobre o uso dos alimentos funcionais. **Revista Científica do ITPAC**, Araguaína, v.6, n.4, Pub.1, Outubro 2013.

CHAVES M. H; CITÓ, A. M. G. L; LOPES, J.A. D; COSTA, D. A; OLIVEIRA, C. A. A; COSTA, A. F et al. **Fenóis totais, atividade antioxidante e constituintes químicos de extratos de *Anacardium occidentale L.*, *Anacardiaceae*. *Braz J Pharmacogn.* 2010;20(1):106-12.**

CHEN, O; ZHUANG, J; GUZZETTA, F; LYNCH, J; ANGERHOFER, A; CAO, Y. C. Synthesis of water-soluble 2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl nanoparticles: A new standard for electron paramagnetic resonance spectroscopy. **J.Amer. Chem. Soc.**, 131: 12542-12543, 2009.

CORDÃO, M.A; FILHO, J. M. P; BAKKE, O. A; BAKKE, I. A. Taninos e seus efeitos na alimentação animal: Revisão bibliográfica. **PUBVET**, Londrina, V. 4, N. 32, Ed. 137, Art. 925, 2010.

CRUZ, A. P. G. **Recuperação de compostos bioativos a partir de resíduos da indústria vitivinícola**. 2013. 202 f. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) - Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2013.

DEGÁSPARI, C. H; WASZCZYNSKYJ, N. Propriedades antioxidantes de compostos fenólicos. **Visão Acadêmica**, Curitiba, v. 5, n. 1, p. 33-40, Jan.- Jun./2004.

DESHPANDE, S. S. et al. Tannin analysis of food products. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Cleveland, v. 24, n. 4, p. 401-449, 1986.

FENNEMA, O.R. **Química de los alimentos**. 2.ed. Zaragoza: Acribia, 1993.

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

FRUTOS, P.; MIGUEL RASO, M.; HERVÁS, G.; MANTECÓN A. R.; PÉREZ, V.; F. JAVIER GIRÁLDEZ, F. J. **Condensed tannin content of several shrub species from a mountain area in northern Spain, and its relationship to various indicators of nutritive value**. *Animal Feed Science and Technology*, v.92, p.215-226, 2002.

GALVANO, F. et al. Cyanidins: metabolism and biological properties. **Journal of Nutritional Biochemistry, Stoneham**, v. 15, n. 1, p. 2-11, 2004.

GASPAR, A. et al. Dietary phenolic acids and derivatives. evaluation of the antioxidante activity of sinapic acid and its alkyl esters. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 58, n. 21, p. 11273-11280, 2010.

GIROTO, J. M.; PAWLOWSKY, U. O soro de leite e as alternativas para o seu beneficiamento. **Brasil Alimentos**, São Paulo, n. 10, p. 43-46, set./out. 2001.

GRAHAM, H. D. Stabilization of the Prussian blue color in the determination of polyphenols. **J. Agric. Food Chem.**, Columbus, v. 40, n. 5, p. 801-805, 1992.

HASLER C. M. Functional Foods for Health Program, Department of Food Science and Human Nutrition da University of Illinois, Urbana, Illinois, **Food Technology** 52(2):57-62, 1998.

HEIM, K. E; TAGLIAFERRO, A. R; BOBILYA, D.J. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. **Journal of Nutritional Biochemistry**, Stoneham, v. 13, n. 10, p. 572-584, 2002.

HERNÁNDEZ, A. M.; PRIETO GONZÁLES, E. A.. Plantas que contienen polifenoles. **Revista Cubana de Investigaciones Biomedica**, Ciudad de La Habana, v.18, n. 1, p. 12-14, 1999.

HRAZDINA, G.; BORZEL, A. J.; ROBINSON, W. B. Studies on the stability of the anthocyanidin-3,5-diglucosides. **Am. J. Enol. Vitic.**, v. 21, n. 4, p. 201-204, 1970.

ISABELLE, F. **Isolamento, identificação e caracterização molecular de bactérias candidatas a probióticos em organismos aquáticos**. 2009. 65 f. Dissertação (mestrado em Ciência Animal nos Trópicos) - Escola de Medicina Veterinária da Universidade Federal da Bahia, Salvador, Bahia. 2009.

KÄHKÖNEN, M.P.; HOPIA A.I.; HEINONEN, M. Berry. phenolics and their antioxidant activity. **J. Agric. Food Chemistry**. Chicago: v.49, p. 4076-4082, 2001.

KARAASLAN M, OZDEN M, VARDIN H and TURKOJLN H, Phenolic fortification of yogurt using grape and callus extracts. **LWT – Food Sci Technol** 44:1065–1072 (2011).

KUSKOSKI, E. M; ASUERO, A. G; PARILLA, C.G Frutos tropicais silvestres e polpas de frutas congeladas: atividade antioxidante, polifenóis e antocianinas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 4, p. 1283-1287, jul./ago. 2006.

KUSKOSKI, E. M; ASUERO, A. G; PARILLA, C.G; TRONCOSO, A. M; FETT, R. Atividade antioxidante de pigmentos antocianínicos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 24, n. 4, p. 691-693, 2004.

LAGE, C.A; CARDOSO, N; CARMO, L.A. M; ELIAS, M.A. A versatilidade do consumo da jaboticaba: Descobrendo possibilidades de aproveitamento dessa fruta no dia a dia. **Ces revista**, Juiz de Fora, v.1, n. 1 jan./jul. 2017.

LAGE, F. F. **Casca de jaboticaba: inibição de enzimas digestivas, antioxidante, efeitos biológicos sobre o fígado e perfil lipídico**. 140 p. Tese (doutorado) – Universidade Federal de Lavras, 2014.

LILLY, D. M.; STILLWELL, R. H. Probiotics: Growth promoting factors produced by microorganisms. **Science**, Washington, US, v.147, n.3659, p.747-748, 1965.

LIMA, A de .J.B.; CÔRREA, A.D.; DANTAS-BARROS, A.M.; NELSON, D.L.; AMORIM, A.C.L. Sugars,organic acids, minerals and lipids in jaboticaba. **Revista Brasileira de fruticultura, Jaboticabal**, v.33, n. 2, p. 540-550, 2011b.

- LIMA, A de J.B. **Caracterização e atividade antioxidante da Jabuticaba** [*Myrciariacauliflora (mart.) O. Berg*]. 2009. 175 f. Tese (doutorado) – Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais.2009.
- LIMA, A. de J.B.; CORRÊA, A.D.; ALVES, A.P.C.; ABREU, C.M.P.; DANTAS-BARROS, A.M. Caracterização do fruto jabuticaba (*Myrciariacauliflora*Berg) e de suas frações. **Archivos Latino Americanos de Nutricion**, v. 58, n. 4, p. 416-421,2008.
- LUZIA, D. M. M.; JORGE, N. Antioxidant potential of lemon seed extracts (*Citrus limon*). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 30, n. 2, p. 489-493, 2010.
- MAMEDE, E..O; PASTORE, G. M. **Compostos fenólicos do vinho: Estrutura e ação antioxidante**. B.CEPPA, Curitiba, v. 22, n. 2, p. 233-252, jul./dez. 2004.
- MANACH, C; SCALBERT, A; MORAND, 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; SCARMINIO I.S. Procedimentos analíticos para identificação de antocianinas presentes em extratos naturais. **Quím. Nova**. São Paulo Vol.31, no. 5,.2008.
- MATTOS, J.R. **Fruteiras nativas do Brasil: jabuticabeiras**. Porto Alegre: Nobel, 1983. 92p.
- MAZZA, G. **Alimentos funcionales: aspectos bioquímicos y de procesado**.Zaragoza: Editora Acribia, 2000.
- MELO, E. A.; MACIEL, M. I. S., DE LIMA, V. L. A. G.; NASCIMENTO, R. J. Capacidade antioxidante de frutas. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, São Paulo, v. 44,n. 2, p. 193-201, 2008.
- MELO, E.A.; GUERRA, N.B. Ação antioxidante de compostos fenólicos naturalmente presentes em alimentos. **Boletim da SBCTA**. Campinas: v.36, n. 1, p.1-11, 2002.
- MORAES, F.P ; COLLA, L.M. Alimentos funcionais e nutracêuticos: Definições, legislação e benefícios à saúde. **Revista Eletrônica de Farmácia**. Vol 3 (2), 99-112, 2006.
- MORAIS, M. B; JACOB, C.M.A. The role of probiotics and prebiotics in pediatric practice. **J Pediatr**. 82 (5): S189-S197, 2006.
- MOYER, R. A; HUMMER, K. E; FINN, C.E; FREI, B; WROLSTAD, R. E. Anthocyanins, phenolics, and Antioxidants capacity in diverse small fruits: *Vaccinium*, *Rubus*, and *Ribes*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 3, p. 519-525, 2002.
- NEUMANN, A. I. C. P; ABREU, E. S; TORRES, E. A. F. S. Alimentos saudáveis, alimentos funcionais, fármaco alimentos, nutracêuticos....você já ouviu falar? **Higiene Alimentar**. v. 14, p. 19-23, 2000.
- OLIVEIRA, A. L.; BRUNINI, M. A.; SALANDINI, C. A. R.; BAZZO, F. R. Caracterização tecnológica de jabuticabas Sabará provenientes de diferentes regiões de cultivo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 25, p. 397-400, 2003.

PFLANZER, S. B.; CRUZ, A. G.; HATANAKA, C. L.; MAMEDE, P. L.; CADENA, R.; FARIA, J. A. F.; SILVA, M. A. P.. Perfil sensorial e aceitação de bebida láctea achocolatada. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, p. 391-398, 2010.

PIMENTEL, C. V. M. B, FRANCKI, V. M, GOLLÜCKE, A. P. B. **Alimentos funcionais: introdução às principais substâncias bioativas em alimentos**. São Paulo: Varela; 2005.

PIRES, J; TORRES, P. B; SANTOS, D. Y. A. C; CHOW, F. **Ensaio em microplaca do potencial antioxidante através do método de sequestro do radical livre DPPH para extratos de algas**. 2017.

PODSEDEK, A. Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: a review. **Food Science and Technology**, Trivandrum, v. 40, n. 1, p. 1-11, Jan. 2007.

PRATT, S.; MATTHEWS, K.; **Super alimentos**. São Paulo: Prestígio, 2005.

QUEIROZ, C. R. A. dos A; MORAIS, S. A. L; NASCIMENTO, E. A. Caracterização dos taninos da aroeira-preta (*myracrodruon urundeuva*). **Rev. Árvore**, Viçosa, v.26, n.4, p.485-492, 2002.

REIG, A. L. C.; ANESTO, J. B. Prebióticos y probióticos, una Relación Beneficiosa. Instituto de Nutrición e Hiene de los Alimentos. **Revista Cubana de Alimentação e Nutrição**. v. 16, n. 1, p. 63-8, 2002.

REZENDE, L.C. **Avaliação da atividade antioxidante e composição química de seis frutas tropicais consumidas na Bahia**. Tese (doutorado em Química) – Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2010.

RICE-EVANS C.A, MILLER N.J, PAGANGA G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. **Free Radic. Biol.Med.**,v.20, p.933-956, 1996.

RUFINO, M. S; ALVES, R. E; BRITO E. S; MORAIS, S. M; SAMPAIO, C. G; JIMÉNEZ, J. P; CALIXTO, F.D.S. Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre DPPH. **Comunicado técnico online**. Embrapa. Fortaleza, CE. P. 1- 4, 2007.

SAAD, S. M. I. Probióticos e prebióticos: o estado da arte. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. v. 42, n. 1, p. 1-16. 2006.

SALGADO, J.M. Mercado de Alimentos Funcionais Desafios e Tendências. **Clínica de Nutrição**. 2009.

Disponível em: <<http://www.clinicadenutricao.com.br/nutricaoesaudefinal.php?id=907>>. Acessado em: 05 dez. 2017.

SANCHEZ-MORENO, C. Review: Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. **Food Sci. Technol. Int**. V.8 p.121 137, 2002.

SANTOS, K. M.O; OLIVEIRA, I. C; LOPES, M.A. C; CRUZ, A. P. G. C; BURITI, F. C. A; CABRAL, L. M. Addition of grape pomace extract to probiotic fermented goatmilk: the effect

on phenolic content, probiotic viability and sensory acceptability. **J Sci Food Agric** 2017; **97**; p. 1108–1115, 2016.

SANTOS, T. T.; VARAVALLO, M. A. Conhecimento de universitários sobre probióticos e suas implicações na promoção de saúde. **Interbio**, 6(1), p 35-40, 2012.

SASSO, S.A.Z. **Propagação vegetativa de jabuticabeira**. 2009. 64 f. Dissertação (mestrado em Agronomia) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco. 2009.

SCALBERT, A.; WILLIAMSON, G. Dietary Intake and Bioavailability of Polyphenols. **Journal of Nutrition**, 130: p.2073-2085, 2000.

SCALBERT, A.; WILLIAMSON, G. Dietary Intake and Bioavailability of Polyphenols. **Journal of Nutrition**, 130: p.2073-2085, 2000.

SELLAPPAN, S.; AKOH, C.C.; KREWE. Phenolic compounds and antioxidant capacity of Georgia-grown blueberries and blackberries. **J. Agric. Food Chemistry**, Chicago: v.50, n. 8, p. 2432-2438, 2002.

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 Agrárias**, Londrina, v. 31, n.3, p. 669-682, jul./set. 2010.

SIMÃO, A.M. **Aditivos para alimentos sob o aspecto toxicológico**. São Paulo: Nobel, 1985.

SINGLETON, V.L., KRATZER, F.H. Plant phenolics. In: NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES. **Toxicants occurring naturally in foods**. Washington, p.309-345, 1973.

SLUIS, A.A; DEKKER, M; JAGER, A; JONGEN, W.M. Activity and concentration of polyphenolic antioxidants in apple: effect of cultivar, harvest year, and storage conditions. **J. Agric. Food Chemistry**. Chicago: v.49, p. 3606-3613, 2001.

SOARES, M; WELTER, L; GONZAGA, L; LIMA, A; MANCINI-FILHO, J; FETT, R.. Avaliação da atividade antioxidante e identificação dos ácidos fenólicos presentes no bagaço de maçã cv. Gala. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28, n. 3, p. 727-732, 2008.

SOARES, S. E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista Nutrição**, Campinas, v.15, n. 1, p. 71-81, 2002.

SOUZA, J.R.M. de; BEZERRA, J.R.M.V; BEZERRA, A.K.N.A. Utilização de Soro de Queijo na Elaboração de Pães. **Revista Ciências Exatas e Naturais**, v. 7, 2005.

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

SOUZA, W. **Avaliação da atividade antioxidante e compostos fenólicos de extratos vegetais**. 2013. 37 f. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, 2013.

TAIPINA, M. S.; FONTS, M. A. S.; COHEN, V. H. Alimentos funcionais-nutracêuticos. **Higiene Alimentar**. v. 16, n. 100, p 28-29, 2002.

TERCI, D. B. L. **Aplicações analíticas e didáticas de antocianinas extraídas de frutas**. 2004. 213p. Tese (Doutorado em Química Analítica)-Instituto de Química, Universidade de Campinas, Campinas, 2004.

THAMER, K. G.; PENNA, A. L. B. Caracterização de bebidas lácteas funcionais fermentadas por probióticos e acrescidas de prebiótico. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 3, p. 589–595, jul./set. 2006.

TOMEI R.R; SALVADOR, M.J. Metodologias analíticas atuais para avaliação da atividade antioxidante de produtos naturais. **XI Encontro Latino Americano de Iniciação Científica e VII Encontro Latino Americano de Pós-Graduação – Universidade do Vale do Paraíba**. São José dos Campos – SP. P. 1963 – 1967, 2005.

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS. Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação. **Tabela brasileira de composição de alimentos: TACO**. 4. ed. Campinas, 2011. 161 p.

VAN ACQUIRE, S. A. Structural aspects of antioxidant activity of flavonoids. **Free Radic Biol Med.**, v. 20, n. 3, p. 331-342, 1996.

VENTURINI FILHO, W.G. (coordenador). **Bebidas não alcoólicas: Ciência e Tecnologia**. V. 2. São Paulo: Editora Blucher, 2010.

VIDAL, A.M.; DIAS, D. O; MARTINS, E. S. M; OLIVEIRA, R. S; NASCIMENTO, R. M. S; CORREIA, M. G. S. A ingestão de alimentos funcionais e sua contribuição para a diminuição da incidência de doenças. **Cadernos de Graduação - Ciências Biológicas e da Saúde**. Aracaju. v. 1, n.15, p. 43-52 , 2012.

VIZZOTTO, M., KROLOW, A. C., TEIXEIRA, F. C. Alimentos funcionais: Conceitos básicos. **Embrapa Clima Temperado**. Pelotas, RS. 1ª edição, p. 10. 2010.

WANG, H.; CAO, G.; PRIOR, R. L. Oxygen radical absorbing capacity of anthocyanins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.45, n. 2, p. 304-309, Feb. 1997.

YILDIRIM, A.; MAVI, A.; KARA, A.. Determination of antioxidant and antimicrobial activities of *Rumex crispus* L.extracts. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. Chicago: v.49, p. 4083-4089, 2001.

ZAGO,M.F.C. **Aproveitamento de resíduo agroindustrial de Jaboticaba no desenvolvimento de formulação de cookie para a alimentação escolar**. 2014. 128 f. Dissertação (mestre em ciências e tecnologia de alimentos) – Universidade Federal de Goiás, Goiânia.2014.

ZHANG, Z; CHANG, Q; ZHU, M; HUANG, Y; WALTER, K.K;CHEN, Z. Characterization of antioxidants present in hawthorn fruits. **Journal of Nutritional Biochemistry**, Stoneham, v. 12, n. 3, p. 144-152, 2001.

ZHENG, W.; WANG, S.Y. Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Chicago, v.49, p. 5165-5170, 2001.

ZICKER, M.C. **Obtenção e utilização do extrato aquoso de jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba* (Vell) Berg) em leite fermentado: caracterização físico-química e sensorial.** 2011. 139 f. Dissertação (Mestrado em Farmácia) - Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, 2011.

ZURLO, C.; BRANDÃO, M. **As ervas comestíveis: descrição, ilustração e receitas.** 2. ed. São Paulo: Globo, 1990.